

I.

AZ ACETALDEHID ÁTALAKULÁSA A MAGASABBREN-  
DŐ NÖVÉNYEKBEN.

II.

A FORMALDEHID - ASSZIMILÁCIÓS HIPOTÉZIS KI-  
GÉRKELTI BIZONYÍTÉKAI.

Doktori értekezés

Írta

BERNAUER KLÁRA.

A 1457



Tegőszintőbb hálámat és köszönetemet  
rovom le e helyen méltóságos Dr. Bodnár János ny.r.  
egyetemi tanár urnak, akitől doktori értekezésem té-  
máját kaptam s aki munkámat vezette s annak előrevi-  
telében megbecsülhetetlen szaktudásu utbaigazításai-  
val és jó tanácsai/val mindvégig segítségemre volt.



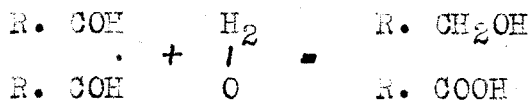
I.

AZ ACETALDEHID ÁTALAKULÁSA A MAGASABBRENĐÜ MŰVÉNYEKBEN.

Az aldehidek mint igen reakcióképes vegyületek ismeretesek, maga az acetaldehid számos organikus szintézisnek képezheti a kiindulási anyagát. Ezért igen nagy fontossággal bírnak az élőszervezetek kémiai folyamatainak a megismerése szempontjából azok a vizsgálatok, amelyek az acetaldehid keletkezésének, átalakulásának és különböző reakciókban való részvételének a módjait igyekeznek kikutatni. Az etilalkohol igen közeli vonatkozásban lévén az acetaldehiddel, könnyen érthető, hogy légelsősorban az élesztő okozta alkoholos erjedéssel kapcsolatosan foglalkoztak az acetaldehidnek biokémiai szempontokból való tanulmányozásával. Neuberg számos munketésével csak hosszas előtanulmányok után tudta ama természetnek látszó feltevésnek kísérleti bizonyítékát adni, hogy az alkoholos erjedésnél az etil-

alkohol az acetaldehidből, mint az alkoholos erjedés egyik közbeeső termékéből keletkezik. Reuberg vizsgálatai felvilágosítással szolgálnak az acetaldehid keletkezésére nézve is, sikerült az élesztőben egy olyan - karboxiláznak elnevezett - enzim jelenlétét kimutatni, amelynek hatására a piroszőlősavból  $\text{CO}_2$  és acetaldehid keletkezik.

Az aldehidekre jellemző Cannizzaro-féle reakcióban 2 molekula aldehid közül az egyik alkohol-lá redukálódik, a másik pedig acettsavvá oxidálódik:



Legelőször Batelli és Stern<sup>1</sup> mutatták ki, hogy az állati sajtók egy olyan enzimet tartalmaznak, amelynek hatására a Cannizzaro reakció értelmében történik az aldehidek átalakulása.

1./ F. Batelli u. L. Stern, Biochem. Zeitsch. 25, 145, 191

Neuberg és munkatársai <sup>2 ax</sup> alkoholos erjedés le-

folyását alkalikus anyagok jelenlétében tanulmányozva, azt tapasztalták, hogy alkohol mellett ecetsav is keletkezik, még pedig olyan mennyiségben, hogy 1 molekula alkoholra 1 molekula ecetsav jutott, tehát a közbeeső termékként keletkező acetaldehid, alkalikus anyag jelenlétében nem egyszerűen redukálódott alkohollá, hanem a Cannizzaro-féle reakció értelmében szenvedett átalakulást. A Cannizzaro reakciót katalizáló enzime /aldehid-mutáz/ az élesztőnek csak erősen alkalikus közegben fejti ki hatását s ezért a rendes alkoholos erjedésnél ecetsav legfeljebb csak nyomokban keletkezik.

Neuberg és Hirsch <sup>3</sup> az acetaldehid átalakulásának egy másik igen érdekes módját az alkoholos erje-

-----

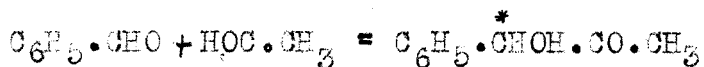
2./ C. Neuberg u. J. Hirsch, Biochem. Zschr. 96, 175, 1919;  
100, 304, 1919

C. Neuberg und W. Ursum, Bioch. Zschr. 110, 193, 1920

3./ C. Neuberg u. J. Hirsch, Bioch. Zschr. 127, 327, 1921

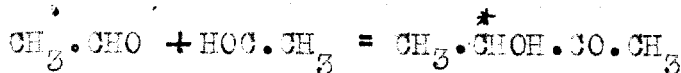
V. Neuberg u. E. Ohle, Bioch. Zschr. 115, 232, 1921 ↓↑

désnél abban találták, hogy erjedő cukoroldathoz adott benzaldehid a bözbeeső termékként keletkező acetaldéhiddel



egyenlet szerint, lép reakcióba s egy optikailag aktív ketonalkohol az l-phenyl-acetyl-carbinol keletkezik, itt egy hosszabb alifatikus szénláncot létrehozó enzimás szintézissel állunk szemben s ezt a folyamatot katalizáló élesztőenzimet elnevezték carbóligáznak.

Neuberg és Reinfurth<sup>1</sup> kimutatták, hogy két molekula acetaldéhid is képes hasonló módon összerakódni ha az erjedő cukoroldathoz acetaldéhidet adtak s ekkor a carbóligáz hatására



egyenlet értelmében az acetoin néven ismeretes ketonalkohol /metil-acetil-carbinol/ keletkezik.

-----  
1./ C. Neuberg u. E. Reinfurth, Bioch. Zschr. 143, 553  
1923



Az elmondottakból kitűnik, hogy az élesztősejtekben közbeeső termékként fellépő acetaldehid vagy mint ilyen maradhat meg, vagy pedig a változó körülmények szerint keletkezhetik belőle

1, alkohol .

2, alkohol és **ecetsav**

3, ketonalkohol / acetoin /

Régóta ismert, hogy a magasabbrendű növényekben bizonyos körülmények között alkohol keletkezik. Számos esetben sikerült az anaerob viszonyok mellett eltartott növényrészekben / magvak, gumók / alkoholt kimutatni. Godlewski és Polzeniusz<sup>1</sup> kísérletei alapján a borsómagvak anaerob lélegzése az alkoholos erjedéssel egyenértékű folyamatnak tekinthető. Stoklasa<sup>2</sup>

1./ M. Godlewski u. F. Polzeniusz, Bull. de l'Acad. des sciences de Cracovie 1901, n. 247.

2./ J. Stoklasa, A. Ernst u. Z. Chocensky, Zschr. f. physiol. Chem. 50, 303, 1907; 51, 156, 1907.

<sup>1</sup>  
valamint Bodnár vizsgálataiból kitűnik, hogy bargo-  
nyából és cukorrépából egy olyan **enzim**készítmény nyer-  
hető, amely a cukrot elerjesztik és az alkoholos **xx-**  
**jjézt** erjedésre jellemző mennyiségi viszonyban kelet-  
kezik a  $\text{CO}_2$  és alkohol.

Zaleski<sup>2</sup> és Iwanoff<sup>3</sup> azt tapasztalták,  
hogy vízzel átnesztett borsóliszt levegőn is termel  
alkoholt. Hoffner Piroska dr.<sup>4</sup> vizsgálatai szerint a  
borsóliszt aerob lélegzési folyamatának  $\frac{\text{C}_2\text{H}_6\text{O}}{\text{CO}_2}$  arány-  
száma megegyezik az alkoholos erjedéssel.

Ezideztől alapján legelső sorban is az a  
kérdés merülhet fel, hogy vajjon a magasabbrendű nö-  
vények alkoholos erjedési folyamatában is szerepel-e  
az acetaldehyd mint közbeeső termék?

1./ J. Bodnár, Bioch. Zschr. 73, 192, 1916.

2./ M. Zaleski u. J. Reinhardt, Bioch. Zschr. 35, 225,  
1911.

3./ E. Iwanoff, Ber. d. Bot. Ges. 29, 563, 1911

4./ Dr. Hoffner Piroska, Újabb adatok a növényi post-  
mortális lélegzés biokémiai ismeretéhez /doktori  
értékezés/

1

Szepesi Sarolta Dr. vizsgálataiból kitűnik, hogy a Reuberg-féle szulfitos módszerrel sikerült az anaerob körülmények közt eltartott borsómagvakban az acetaldehidnek mint közbelső terméknek a keletkezését megállapítani. Miután ilyen módon bebizonyítást nyert az acetaldehid képződésének lehetősége a magasabbrendű növények anyagcseréjében, szilárdabb alátámasztást nyerhet pl. az a feltevés, amely a növényi zsírsavak képződését is a szénhidrátokból keletkező acetaldehidből kiindulva egyekszik megmagyarázni.

Az acetaldehid átalakulásának a lehetőségeiről a magasabbrendű növényekben, eltekintve annak alkohollá való redukálásától, semmi biztosat nem tudunk, kérdés, hogy a magasabbrendű növények tartalmaznak-e a Cannizzero-reakciót katalizáló enzimet.

-----  
1./ Szepesi Sarolta Dr. Az acetaldehid mint a növényi anaerob lélegzés közbeeső terméke. /Doktori értekezés/.

Az acetaldehyd átalakulásáról Zaleski

a következőket mondja: "So haben wir beobachtet, dass abgetötete Erbsensamen auf Kosten von Brennstraubensäure Ethylalkohol bilden, während Lupinensamen zu einer solchen Umwandlung nicht befähigt sind. Diese Erscheinung steht in Zusammenhang mit den reduzierenden Eigenschaften dieser Objekte. Weiter haben wir gefunden, dass die Erbsensamen nur 40 bis 50 % von Acetaldehyd in Ethylalkohol überführen. Der bei der Versetzung des Brennstraubensäure durch die Carboxylase in den Pflanzen auftretende Acetaldehyd wird je nach den Bedingungen zu Alkohol reduziert, oder weiter oxydiert."

Hoffner Piroška Dr. a növényi carboxilázról

vonatköz vizsgálatával kapcsolatosan tapasztalta, hogy

1./ W. Zaleski u. W. Marx. Bioch. Zschr.: 43, 175, 1912.  
W. Zaleski Ber. d.d. Bot. Ges. 31, 349, 1913.

2./ Hoffner Piroška dr. loc.cit.

borsó-, csillagfűrt- és buzalisztépéhez adott acetaldehidből 20 óra elteltével szobahőfokon a borsóliszt-nél 70 % a csillagfűrt és buzaliszt-nél pedig 20 illetve 3.5 % alakult át közelibbről nem vizsgált módon.

Megemlítendő még Cianician és Ravenna<sup>1</sup> valamint Abelohs<sup>1</sup> ama észlelete, hogy sponotépéhez illetve burgonyaléhez adott salicilaldehidből salicilsav keletkezik. Anna vonatkozólag, hogy a salicilsav a salicilaldehidből oxidáz<sup>2</sup> enzim vagy pedig aldehidmutáz hatására keletkezett, nevezettek-vizsgálatai nem nyújtanak felvilágosítást.

-----

Az acetaldehidnek a magasabbrendű növényekben végbemenő enzimás átalakulására vonatkozó első kísérleteim<sup>2</sup>et burgonyalével végeztem. A burgonyalevet reszelt burgonyának vászonrongyon át kézzel való kiprésel-

-----  
1./ Capek, Bioch, der Pflanzen.. II. Aufl. III. Band  
S. 152-153.

seléssel nyertem. A burgonyalé<sup>a</sup> hatását oly módon vizsgál-  
tam az acetaldehidre, hogy ismert mennyiségű acet-  
aldehidet adtam a léhez és bizonyos időközökben a Rip-  
per-féle módszerrel oly módon határoztam meg az elegy  
acetaldehid tartalmát, hogy a meghatározáshoz használt  
próbából az acetaldehidet vízgőzzel desztilláltam át  
ismert titerű  $\text{KHSO}_3$  oldatba s acetaldehid által le ner-  
kötött  $\text{KHSO}_3$ -at  $\frac{n}{10}$  jóoldattal mértem. Az acetaldeh-  
id desztillálásának ellenőrzésére a desztillátum néhány  
cseppjében a Rimini-féle reakcióval vizsgáltam acet-  
aldehidre és a további vizsgálataimmál is minden esetben  
ezt a reakciót használtam az acetaldehid kimutatására.  
Mielőtt a burgonyalé hatását az acetaldehidre vizsgál-  
tam volna, szükségesnek bizonyult előbb arról meggyő-  
ződni, hogy magának a burgonyalének vízgőzös desztilla-  
tuma tartalmaz-e számbavehető mennyiségben  $\text{KHSO}_3$ -tal  
reakáló vegyületet. E célból különböző ideig tolnol-  
lal eltartott 100-100  $\text{cm}^3$  burgonyalevelet desztillál-  
tam le s az I táblázat adatai szerint a burgonyalé es-

~~acetyl~~ igen csekély számba nem vehető mennyiségben tartalmaz ecetaldehidnek számított vegyületet.

1. Táblázat.

| Kísérleti<br>idő<br>napokban | Acetaldehid<br>mg. |
|------------------------------|--------------------|
| 1                            | 0.0                |
| 2                            | 0.2                |
| 3                            | 0.4                |
| 4                            | 0.8                |
| 6                            | 0.6                |

A burgonyalé hatását az ecetaldehidre olyan kísérletssorozatban tanulmányoztam, amelyben teljesen kizárható levegő esetleges oxidáló hatását az ecetaldehidre. E célból egyforma összetételű jól záró üvegdu-  
gós üvegekbe belemértem 40 cm<sup>3</sup> friss burgonyalevet bi-  
zonyos mennyiségű ecetaldehidet, 0.5 cm<sup>3</sup> toluol és kloroform / 3:1 / elegyből álló antiszeptikumot, szinül-  
tig megtöltöttem vízzel, úgy dugtam be az üvegeket, hogy  
levegőbuborékok ne maradjanak vissza; az ilyen módon  
megtöltött üvegeket vízzel felt kádba merítettem és a

vizkádából bizonyos időközökben kivett üvegekben meghatároztam az acetaldehid mennyiségét. A friss, aktív burgonyalével párhuzamosan felfőzéssel inaktív lével is beállítottam egy kísérletsorozatot. A nyert eredményeket a 11. táblázat tartalmazza.

11. Táblázat.

| Kísérleti idő<br>órákban | Acetaldehid<br>mg |            |
|--------------------------|-------------------|------------|
|                          | aktív lé          | inaktív lé |
| 0                        | 51.6              | 51.4       |
| 1                        | 51.4              | 51         |
| 2                        | 50.2              | -          |
| 4                        | --                | 49.2       |
| 6                        | 47.0              | 46.0       |

Ezen táblázat adataiból kitűnik, hogy a burgonyaléhez hozzáadott /0.1%-os kísérlet/ és a napok múlva vizsgázott acetaldehid mennyiségek között olyan csekély a különbség, hogy abból eset negatív ártalomban lehet a burgonyalé acetaldehidet átalakí-



té képesége követészetni.

Az acetaldéhid enzimas átalakulásának a tanulmányozására a legalkalmasabb objektumnak a borsómag szolgált, miután a borsómagvak anaerob lélegzése az alkoholos erjedéssel azonos folyamatnak tekinthető, továbbá Hoffner Piroska Dr.<sup>1</sup> kísérletai szerint a borsómagból készített liszt jelentékeny mértékben képes acetaldéhidet átalakítani.

A borsó-, csillagfűrt- és búzaliszt acetaldéhidet átalakító képességének összehasonlítása céljából végzett kísérleteim eredményei / III. táblázat / minden tekintetben megerősítik Hoffner Dr. észleleteit. Ezeket a kísérleteket úgy végeztem, hogy 200 cm<sup>3</sup>-es gyöcsyszerűvekbe belemértam 5 - 5 gm. lisztet hozzáengedtem ismert mennyiségű acetaldéhidet tartalmazó vizet / annyit, hogy a lisztet péppé lehessen átalakítani/.

-----

1./ Hoffner Piroska Dr. loc.cit.

1/3 - 1/2 cm<sup>3</sup> toluolt. és a Hönner Dr. által előírt módon keverten ösze. A bedugaszolt üvegeket - miután előbb a levegőt kiszivattuk belőlük - lezártam 35-40<sup>o</sup> os termosztátba helyeztem és 20 óra leletével a vízzel felhígított lisztgégekben megletároztam a burgonyalénél <sup>3</sup>alább it módon az ecet/aldehid mennyiségét.

III. Táblázat.

| Kísérleti objektum | Víz cm <sup>3</sup> | Acetaldehid mg |              |            |
|--------------------|---------------------|----------------|--------------|------------|
|                    |                     | hozzászótt,    | visszanyert, | átala kult |
| borsóliszt         | 7                   | 22.5           | 7.2          | 15.3       |
| csillagfürt-liszt  | 8                   | 23.6           | 14.7         | 8.9        |
| buzaliszt          | 6                   | 24.7           | 20.2         | 4.5        |

Ezen kísérletek megismétlése hasonló eredményeket adott.

Az acetaldehidnek a Cannizzero-féle átalakulása az élesztőnél az aldehidmutáz-hatására, alkalikus közegben megy végbe. A közeg meglugosítására erősebb lúgot / KOH, NaOH / nem lehet használni, mert

amint <sup>1</sup>Hammarsten. vizsgálataiból kitűnik, az erősebb  
bázisok már megakadályozva is tartják az ecetsav-  
a Cannizzaro reakció értelmében. A  $\text{NaHCO}_3$  amint ezt  
Neuberg és Hirsch<sup>2</sup> legújabbán pedig Josephson és Euler<sup>3</sup>  
vizsgálatai bizonyítják, nincs hatással az ecetsav-  
ra, tehát a  $\text{NaHCO}_3$  a legalkalmasabb a közeg megglugosi-  
tására, ha az ecetsav-átalakítását akarjuk tanul-  
mányozni.

A IV. táblázatban közölt adatokból kitűnik,  
hogy  $\text{NaHCO}_3$  jelenléte erősen emeli mind a három liszt  
ecetsav-átalakító képességét.

A táblázatban közölt adatok jól egyező pa-  
rallel meghatározások középértékei.

-----  
1./ H. Hammarsten. Ann. der Chem. 420, 262, 1920.

2./ C. Neuberg u. J. Hirsch, Bioch. Zschr. 100, 304, 1919

3./ K. Josephson, und H. Euler, Zschr. f. physiol. Chem.  
135, 49, 1924.

### IV. Táblázat.

| Kísérleti<br>objektum | Víz<br>cm <sup>3</sup> | 2 %-os<br>NaHCO <sub>3</sub><br>olajat<br>cm <sup>3</sup> | Acetaldehid mg. |              |                |
|-----------------------|------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------|--------------|----------------|
|                       |                        |                                                           | hozzáadott      | vis. zanyert | átela-<br>kult |
| borsóliszt            | 5                      | 2                                                         | 24.4            | 2.5          | 21.9           |
| csillagfürt<br>liszt  | 6                      | 2                                                         | 23.6            | 6.0          | 17.6           |
| buzaliszt             | 4                      | 2                                                         | 24.7            | 14.7         | 10.0           |

Az 5 g borsóliszt által NaHCO<sub>3</sub> jelenlétében átalakított 21.9 mg acetaldehid nem jelenti a maximumot, 5 g borsóliszt a hozzáadott acetaldehid növelésével és hosszabb kísérleti idő mellett jóval nagyobb mennyiségű acetaldehidet is képes átalakítani, amint ezt az V. táblázatban közölt adatok bizonyítják.

Ezen táblázat adataiból az is kiolvasható, hogy az NaHCO<sub>3</sub> mennyiségének a változtatása nem befolyásolja lényegesen az átalakult acetaldehid mennyiségét.

V. Táblázat.

| Kísérle-<br>ti objekt. | Víz<br>cm <sup>3</sup> | 2 %-os<br>NaHCO <sub>3</sub><br>old.<br>cm <sup>3</sup> | Kísér -<br>leti idő<br>órákban | Acetaldehid mg. |                  |           |
|------------------------|------------------------|---------------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------|------------------|-----------|
|                        |                        |                                                         |                                | hozzá-<br>adott | vissza-<br>nyert | átalakult |
| borsóliszt             | 5                      | 2                                                       | 24                             | 260             | 120              | 140       |
| "                      | 5                      | 2                                                       | 48                             | 260             | 110              | 150       |
| "                      | 6                      | 1                                                       | 24                             | 257             | 124              | 133       |
| "                      | 6                      | 1                                                       | 48                             | 257             | 113              | 144       |
| "                      | 2                      | 5                                                       | 24                             | 265             | 109              | 156       |
| "                      | 6.5                    | 0.5                                                     | 24                             | 264             | 141              | 123       |
| "                      | 5                      | 2                                                       | 6X24                           | 192             | 0                | 192       |
| "                      | 5                      | 2                                                       | 6X24                           | 980             | 150              | 830.      |

Ha az acetaldehid átalakulása a borsólisztben a Cannizzaro reakció értelmében történik, akkor első sorban is emetsavat kell tudni a borsólisztben kimutatni.

ECETSAV KIMUTATÁSA.

Acetaldehiddel NaHCO<sub>3</sub> és toluol jelenlétében állott több borsópépmintát vízzel összekevertem, hozzáadtam kevéshegynyi konjhasót, néhány csepp hígított kénsavat és redős szűrőn leszűrtem. A szűrődéket kénsavval vagy foszforsavval erősen megsevénnyitottam és víz-

gőzzel ledesztilláltam. A desztillátumhoz hozzáadtam a  $\text{CaCO}_3$ -at, felfőztem, leszűrtem az ecetsavat Ca-acetát alakban tartalmazó szűrletet besűrítettem 10 cm<sup>3</sup>-re és nagy  $\text{FeCl}_3$ -del ecetsavra vizsgáltam. A reakció negatívnak bizonyult. A különböző körülmények mellett megismételt kísérletek mindig negatív eredményt adtak.

Végeztem olyan kísérletet is, hogy szalicilaldehydet adtam a borsóliszthez, a pépből készített alkoholos kivonatban azonban salicilsavnak nyomát sem tudtam kimutatni.

Legközelebb fekvőnek mutatkozott, hogy a borsóliszt a hozzáadott acetaldehydet egyszerűen csak alkohollá redukálja. Az alkoholnak egyszerű kimutatása a borsópépben azonban még nem bizonyítja a liszthez adott acetaldehydnek alkohollá való redukálását, mert a borsólisztben magában / a csak vízzel elkevert lisztben / is keletkezik alkohol.

#### ALKOHOL ELLENETÁROZÁSA.

Acetaldehyddel, két cm<sup>3</sup> 2 %-os  $\text{NaHCO}_3$ -tal

és toluollal 24 óráig részben szobahőfokon részben pedig 37°-on állott borsópépet átmostam 100 cm<sup>3</sup>-es mérőhengerbe, hozzáadtam késhegynyi konyhasót néhány csep ecetsavat, kiegészítettem 100 cm<sup>3</sup>-re és redős szűrőn leesztürtem. A szűrletből lemértem 30 cm<sup>3</sup>-t / = 4 g borsóliszt/ báritvizzel meglugosítottam, hozzáadtam késhegynyi tannint és ledesztilláltam. A tannin a desztillálásakor mutatózó erős habzás elkerülésére szolgált. A desztillátumot újabb kétszeri desztillálással 40 cm<sup>3</sup>-re hoztam, kiegészítettem 50 cm<sup>3</sup>-re és ebben az oldatban az alkoholt Hoffner Dr. értékezésében/ismerttetett módon határoztam meg, tekintetbevéve, hogy a desztillátumban az alkohol mellett acetaldehid is van jelen. Az alkoholmeghatározások adatai a VI. táblázat tartalmazza.

VI. táblázat.

| Kísérleti<br>objektum | hozzáadott<br>acetaldehid<br>mg | alkohol,<br>mg |
|-----------------------|---------------------------------|----------------|
| 5 g borsó<br>liszt    | 248                             | 4.7            |
| 5 " "                 | 248                             | 5.5            |
| 5 " "                 | 221                             | 5.6            |
| 5 " "                 | 221                             | 6.4            |
| 5 " "                 | 109                             | 5.6            |
| 5 " "                 | 109                             | 4.9            |
| 5 " "                 | 44                              | 4.9            |
| 5 " "                 | 44                              | 4.3            |

Ezen táblázat adatai szerint csak elenyé-  
szően csököl az acetaldehiddal feltett borsólisztok  
alkoholtartalma. A csak vízzel elkevert borsólisztben



Amint azt Höffner Dr. kísérletei mutatják, jóval nagyobb mennyiségben pl. 35 mg keletkezik alkohol. Tehát a borsóliszt által átalakított acetaldehid nem redukálódik alkohollá, sőt az acetaldehid magának a borsólisztnek az alkohol kiválasztását is lecsökkenti.

Zaleski<sup>1</sup> említést tesz arról, hogy a piroszőlősavból a növényi carboxiláz hatására keletkező acetaldehid alkohollá redukálódhatik. Érdekesnek mutatkozott olyan irányú kísérletet végezni, hogy a borsóliszt képes-e a piroszőlősav lebomlása révén keletkezett acetaldehidet alkohollá redukálni. E célból 5 g borsólisztet elszórtam 5 cm<sup>3</sup> 0.3 %-os Na-piruvinát oldattal, hozzáadtam 1 cm<sup>3</sup> toluolt és 24 óra elteltével meghatároztam a liszt alkohol tartalmát. Két ilyen meghatározást végeztem, egyik esetben 19.9 másik esetben pedig <sup>alkohollal kevert</sup> 22.1 mg a vízzel feltett kontroll borsólisztben hasonló körülmények mellett 10.3 mg alkohol keletkezett. E szerint

-----  
1./ W. Zaleski, loc.cit.

a borsóliszt a piroszölösav elbontása révén keletkezett aldehidet képes alkoholá redukálni, ebből arra lehet következtetni, hogy az acetaldehid alkoholá való redukálásának feltétele az in statu nascens acetaldehid. Felmerülhet itt még annak a lehetősége, hogy a borsólisztba jelenlevő szintetizáló enzim az acetaldehidből keletkező ecetsavat és alkoholt etilacetáttá egyesíti. Ebben az irányban végzett vizsgálatok nem vezettek pozitív eredményre.

Élő borsómagvakkal, valamint más növényi objektumokkal végzett, a Cannizzaro reakció lefolyásának kimutatását célzó kísérletek szintén negatív eredménnyel jártak.

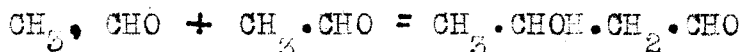
Mindezek alapján kimondható, hogy a magasabb rendű növényekben az acetaldehidnek a Cannizzaro reakció értelmében való átalakulását katalizáló enzimet nem lehet kimutatni. Az acetaldehid átalakulásának másik módja, amikor erjedő cukoroldathoz hozzáadott acetaldehid az élesztőben levő carboligáz hatá-

sára egyesül a cukorból keletkező acetaldehiddel és egy ketonalkohol: az acetoin keletkezik. Kérdés, hogy a borsóliszthez adott acetaldehiddel nem keletkezik-e acetoin. Az acetaldehiddel állott borsólisztben Neuberg<sup>1</sup> és Reinfurth által előírt módon igyekeztem az acetoin jelenlétét kimutatni. Az acetaldehides borsólisztből az alkohol meghatározásnál ismertetett módon nyert szűrletet vízfürdőben melegítettem, a kivált fahéjéről leszűrt folyadékhoz kétszerannyi abs. alkoholt adtam, a leválasszó csapadékról leszűrt oldathoz hozzáadtam alkohol + ecetsavban oldott p-nitrofenilhidrazin és visszafolyó csővel felszerelt lombikban két és fél óráig vízfürdőben melegítettem. A melegített oldatban az acetoin jelenléte mutatkozó vörösszínű csapadék nem keletkezett, tehát a borsóliszthez adott acetaldehid nem alakul át acetoinná.

Az acetaldehid alkáliák hatására részben

-----

a Cannizzaro reakció értelmében alakul át, részben pedig aldollá kondenzálódik és az u.n. aldohidgyantok keletkeznek. A legegyszerűbb aldol az acetaldol két molekula acetaldehidnek



egyenlet szerint végbemenő kondenzációja révén keletkezik. Az aldohidgyantok több molekula acetaldohid kondenzációs termékének tekinthetők.

Az alkáliák hatását az acetaldohidre H.

1

Hammarsten tanulmányozta részletesen, arra vonatkozólag, hogy ezen physiological szempontból igen nagy fontossággal / a formaldohid aldolkondenzációja / biró kondenzáció végbemehet-e valamely enzimhatására, és általában semmi biztosat nem tudunk. Különösebben érdekesnek kínálkozott ebben az irányban vizsgálatokat végezni, hogy vajjon a borsóliszthez adott acetaldohid átalakulása visszavezethető-e aldolkondenzációra. Ha az acetaldolt tartalmazó borsólisztet vizsgáljuk le-

desztilláljuk, akkor a desztillátumnak a változatlanul visszamaradt acetaldéhid mellett krotonaldehidet is kell tartalmaznia, miután az acetaldéhid a desztilláláskor egy molekula vizet veszít és átalakul-crotonaldéhidé. A krotonaldéhidnek acetaldéhid mellett való kimutatására szolgáló reakció tudomásom szerint nem ismeretes, arra nézve azonban, hogy a desztillátum az acetaldéhidon kívül tartalmaz-e még más aldehidet is, bizonyos felvilágosítást kaphatunk, ha a desztillátumhoz p-nitrofenilhidrazint adunk és meghatározzuk a keletkezett hidrazon olvadáspontját. Ha a desztillátum csak acetaldéhidet tartalmaz, a nyert hidrazon olvadáspontja meg fog egyezni az acetaldéhid- p-nitro-phenilhidrazon olvadáspontjával, ha ettől eltér, akkor az acetaldéhid mellett jelen van még egy másik aldehid is, mely a borsóliszthoz alott acetaldéhid átalakulási termékének tekintendő.

Acetaldéhidet,  $\text{H}_2\text{NCO}_3$ -tal és tolnollal a szokotti módon feltett borsólisztet azonnal desztillálva, a desztillátumból  $125^{\circ}$ -on olvadó hidrazont nyertem. Ezen kísérlet

kísérlet emellett bizonyít, hogy maga a borséliszt nem tartalmaz olyan illó vegyületet, amely az ecetaldéhid - p - nitrofenilhidrazon olvadáspontját befolyásolhatná. Ezzel szemben 35-40<sup>o</sup> os termosztátban 48 óráig tartott ecetaldéhidet tartalmazó borséliszt desztillátumából p-nitrofenilhidrazon hatására kivált hidrazon 106<sup>o</sup>-on olvadt a többszöri átkristályosítás után mutatott csak 124<sup>o</sup> olvadáspontot. Kísérlet megismétlése hasonló eredményre vezetett. Ebből arra lehet következtetni, hogy  
a borséliszthez adott ecetaldéhid oldószerű vegyülete  
v. <sup>összetétele</sup> részlegesen  
/ nagy ecetaldéhid / alakul át, amely vízgőzzel ledesztillálható / mint crotonaldéhid van jelen a desztillátumban /, p-nitrofenilhidrazon hozzáadásakor együtt leválik az ecetaldéhiddel, lenyomja az ecetaldéhid-p-nitrofenilhidrazon olvadáspontját s, csak többszöri átkristályosítással lehetett tőle megszabadítani.

Jelentő az ecetaldéhidet borsélisztre, hogy erősen megbarnul, ami az ecetaldéhid elgyantásodására enged következtetni. Hemmersten<sup>1</sup> megfigyelése  
I./7. Hemmersten. loc.cit

ezért ~~acet~~aldohid és lug egymáshatásakor keletkező sötétbarna aldohidgyanta kloroformban oldódik. A megfőrt boracilisztból kloroformból nem sikerült aldohidgyantát kioldani.

Végzetül beszámolok még az észleletemről, hogy a magasabb hőmérsékleten inaktivált boraciliszt is képes bizonyos mértékben az <sup>acet</sup>aldohid aldolszerű átalakítására, amiből erre lehet következtetni, hogy az acetaldohidnak a boracilisztban lejátszó oldalkondenzációja nagy valószínűséggel nem exzimkatalízis, hanem a boraciliszt bizonyos vegyületeinek a hatására vezethető vissza.





PHOTOSZINTÉZIS - ASSZIMILÁCIÓS HIPOTÉZIS KÍSÉRLETI BIZONYÍ-  
TÁSI.

Az élő szervezetekben lefolyó szintetikus folyamatok közül kétségen kívül a  $\text{CO}_2$ -nek az élő növényekben végbemenő asszimilációja bír a legnagyobb fontossággal. A  $\text{CO}_2$ -asszimiláció mechanizmusának a megismerése, - hogyan keletkezik a cukor  $\text{CO}_2$ -ből és vízből a klorofill és napfény együttes hatására - a biokémia egyik nagy hordozójú megoldásra váró problémáját képezi és nem kisebb tekintély, mint Fischer Emil<sup>1</sup>, a cukrok kémiajának nagynevű bűvára, mondja erről a problémáról: "Bedenkt man, dass die Assimilation der Kohlensäure durch die Pflanzen die Grundbedingung für die Existenz der lebenden Wesen ist, so muss auch die kleinste Beobachtung, welche zur Aufklärung dieses geheimnisvollen Vorganges führen kann, wertvollerscheinen."

-----

1. / E. Fischer und F. Passmore, Ber. d. d. Chem. Ges. 22, 359, 1889.

Battlerow annak megfigyelése alapján, hogy formaldehidből mézsvíz hatására cukor keletkezik, állította fel L.v. Bayér a formaldehid-asszimilációs hipotézist, mely szerint a cukor a zöld növényekben, a levelek által felvett  $CO_2$ -ból a formaldehidnek mint köztes terméknek a közvetítésével keletkezik. Azok a vizslatok, amelyek oly módon tárták a Bayér-féle hipotézis kísérleti bizonyítékát, hogy formaldehid jelenlétét igyekeztek zöld levelekben kimutatni, nem vezettek pozitív eredményhez. Több sikerrel látszottak bizonyítani az kísérletek, amelyekben azt vizsgálták, hogy formaldehidet tartalmazó atmoszférában elterített zöld növények /levelek/ vajjon képesek-e a formaldehidet felvenni és azt mint tápanyagot /Nährstoff/ értékesíteni. Ebben az irányban végzett számos kísérlet közül, különösen figyelemre méltók azok a kísérletek, amelyeket legújabb időben L. Jacoby<sup>1</sup> és Th. Sebalitschka<sup>2</sup> -

1./ L. Jacoby, Bioch. Zentr. 101, 1, 1919; 123, 119, 1922.  
2./ Th. Sebalitschka, Ber.d.d. pharm. Ges. 32, 275, 1922.  
Th. Sebalitschka u. F. Riesenb., Bioch. Zentr. 144, 545, 1924.  
192

- napfény kizárása mellett - végezték.

Jacoby levágott Tropaeolum majus levelekkel végeztett kísérleteiben azt tapasztalta, hogy a formálódást tartó levelek légkör hatásának kitett levelek végső eredményben nagyobb szárazanyagtartalommal bírtak, mint a teljesen hasonló körülmények mellett tiszta levegőben eltartott kontroll levelek. Különbségek Jacoby kísérletei szerint igen jelnyek, így pl.

|               |   |                                            |
|---------------|---|--------------------------------------------|
| szárazanyag % | { | formaldehydes leveleknél: 15,4, 11,9, 13,6 |
|               |   | kontroll " : 10,0, 9,6, 11,6               |

Szabolitscska egész növényekkel /Tropaeolum majus, Glodea canadensis, Phaseolus multiflorus / különféle célra szerkesztett készülékben végezte kísérleteit, s kimutatta, hogy a formaldehydes légkörben tartott növényeknél észlelhető nagyobb szárazanyagtartalom, a cukor- és keményítőtartalom növekedésével jár együtt.

Ezen kísérletekkel kapcsolatosan felmerülhet az a kérdés, hogy a formaldehyd mennyiben befolyásolja

a szénhidrátok elbontását, illetve a lélegzés folyamatát a zöld növényekben. Abban az esetben ha a formaldéhid paralizálólag hat a lélegzésre, akkor a formaldéhid és a kontroll levelek szárazanyag illetve cukor- /keményítő/ tartalma között mutatkozó különbség nem lehet biztos mértéke a formaldéhid esszenciálása következtében beálló szárazanyag-növekedésnek.

1/  
• Sabalitschka e tárgyra vonatkozó legutolsó közleményében szintén felveti azt a kérdést, hogy a formaldéhid hatására észlelt szárazanyag /cukor, keményítő/ növekedés, vajjon nem vezethető-e vissza arra, hogy a szénhidrátok elbontását végző enzimek működését a formaldéhid lassítja. Sabalitschka az élesztős cukorbonnlásra vizsgálta a formaldéhid hatását s a nyert eredményekből szerinte arra lehet következtetni, hogy a formaldéhid csak igen jelentéktelen mértékben befolyásol

-----

1./ Th Sabalitschka, Biochem. Zeitschr. 146, 370, 1924

lyásolhatja a keményítő és cukor elbomlását a formaldehides levegőben tartott zöld növényeknél s ennek alapján kimondja: "der bedeutend höhere Gehalt des Zuckers und der Stärke bei den mit Formaldehyd behandelten Pflanzen ist nicht durch eine so geringe Verzögerung des Abbaues zu erklären".

Arra a kérdésre, hogy a formaldehid milyen mértékben befolyásolja a szénhidrátok elbomlását, a zöld növényekben, úgy véltem a legbiztosabb választ adni, hogy párhuzamosan - hasonló kísérleti körülmények mellett - meghatároztam a formaldehides és a tiszta levegőben eltartott zöld levelek  $\text{CO}_2$  kiválasztását. Ha a formaldehid hatására csökken a kilélegzett  $\text{CO}_2$  mennyisége, akkor abból arra lehet következtetni, hogy a formaldehid az adott körülmények mellett paralizálólag hat a szénhidrátokat elbontó enzimek működésére.

Kísérletemhez használt Tropaeolum majus levelekkel először megismételtam a Jacoby-féle kísérleteket s Jacobyval megegyezőleg azt találtam, hogy

a formaldehides levegő hatásának kitett levelek minden esetben magasabb szárazanyagtartalommal bírtak, mint a tiszta levegőben eltartott levelek. Kísérleteim berendezésének és keresztülvitelének lényegét illetőleg minden tekintetben tartottam magamat a Jacoby által részletesen megadott előíráshoz s ezért nem tartom szükségesnek a kísérletek módszerének ismertetését s csak a nyert eredményeket közöljük az I. táblázatban, megjegyezve, hogy mindegyik számadat két párhuzamos meghatározás középértéke.

I. táblázat.

| sorsz. | Kísérlet.<br>idő órákban | Szárazanyag %            |                     |
|--------|--------------------------|--------------------------|---------------------|
|        |                          | Formaldehides<br>levelek | Kontroll<br>levelek |
| 1.     | 26                       | 14,4                     | 13,8                |
| 2.     | 29                       | 13,8                     | 11,8                |
| 3.     | 41                       | 16,2                     | 14,1                |
| 4.     | 34                       | 14,7                     | 13,7                |
| 5.     | 29                       | 14,7                     | 13,6                |

A formaldehid hatását a Tropaeolum levelek CO<sub>2</sub>-kiválasztására a következőkben ismertetendő kísérletekben tanulmányoztam.

Szublimáttal sterilizált két 1/2 literes szivatólombik aljára helyezett steril vattacsomót 20 cm<sup>3</sup> vízzel, illetve 20 cm<sup>3</sup> 3,5 %-os formaldehid-oldattal átnedvesítettem, a fölébetett száraz vattára rászórtam a lemerített mennyiségű Tropaeolum-leveleket s a lombikokat bedugtam a lombik aljáig érő derékszögű üvegesővel felszerelt gummidugókkal. A lombikok kivezető csüveire vastagfalú gummiosódarabkát húztam, fémszorítókkal légmentesen lezártam, s sötét szobában / szobahőfokon / hagytam állni. A kísérleti idő lejártával a levelek által kilélegzett CO<sub>2</sub>-t szén-savmentes levegőárammal ismert töménységű Ba(OH)<sub>2</sub>-oldatba hajtottam át és az el nem használt Ba(OH)<sub>2</sub>-et oxálsavval titráltam vissza. A nyert eredményeket a II. táblázat tartalmazza.

II. táblázat

| Szám | Kisérleti órákban | Tropaeolum     |                | CO <sub>2</sub> mg |                | 100mg lev. 1 szám. CO <sub>2</sub> mg |                |
|------|-------------------|----------------|----------------|--------------------|----------------|---------------------------------------|----------------|
|      |                   | Formald. level | kontroll level | form. level        | kontroll level | form. level                           | kontroll level |
| 1.   | 44                | 3,555          | 3,434          | 29,5               | 47,5           | 8298                                  | 13832          |
| 2.   | 34                | 2,125          | 2,137          | 12,3               | 24,6           | 5788                                  | 11511          |
| 3.   | 24                | 2,179          | 2,123          | 9,1                | 23,8           | 4176                                  | 11210          |
| 4.   | 29                | 3,415          | 3,487          | 25,1               | 35,2           | 7349                                  | 10094          |

A 4.sz. kísérletben a lombikok nem voltak az egész kísérleti idő alatt lezárva, hanem néhány óráig levegőt áramoltattunk át a baritvizes csövekkel összeköttetésben álló lombikokon.

Ezen adatokból kitűnik, hogy a formaldehid jelentékeny mértékben csökkentette a Tropaeolum levelek  $\text{CO}_2$  kiválasztását, eszerint tehát a formaldehydes és a kontroll levelek szárazanyagtartalmában mutatható különbség nem lehet biztos mértéke a zöld levelekhez hozzájuttatott formaldehidgőzök kondenzálása révén keletkezett szárazanyag /cukor, krményítő/ mennyiségnek. Megjegyezni kívánom még, hogy az antiszeptikum nélkül lélegző kontroll levélknél észlelt nagyobb fokú  $\text{CO}_2$ -kiválasztás - tapasztalataim alapján - nem vezethető vissza baktériumok hatására.

Jacoby említett kísérleteivel kapcsolatosan olyan vizsgálatokat is végzett, hogy közvetlen a kísérletek beállítása előtt is meghatározta a kísérleteihez használt Tropaeolum levelek szárazanyagtartalmát és azt találta, hogy a formaldehydes levelek szárazanyaga az egyik kísérlet-



sorozatban teljesen megegyezett a direkte meghatározott szárazanyaggal, a másik kísérletsorozatban pedig nagyobb volt a levelek eredeti szárazanyagánál.

Sabalitschka, Elodea canadensis vízinövényvel végzett kísérleteiben meghatározta az etiolált növények eredeti cukor és keményítő tartalmát is s azt találta, hogy a kísérleti növények 100 g szárazanyagra vonatkoztatva eredetileg 192 mg cukrot és 11240 mg keményítőt, vagyis 11432 mg szénhidrátot, a formaldehid hatásának kitett növények pedig 233 mg cukrot és 10890 mg keményítőt, vagyis 11123 mg szénhidrátot tartalmaztak, tehát a növények eredeti szénhidrát tartalma a formaldehid hatására nem emelkedett, hanem valamelyest <sup>(309 mg-mal)</sup> csökkent. Egy másik, ugyancsak Elodeával végzett kísérletben a formaldehides növények az eredeténél 2670 mg-al több keményítőt tartalmaztak. Mindezek ~~előzetes~~ emellett szólnak, hogy a zöld levelek képesek volnának a formaldehidet asszimilálni.

Az I. táblázatban közölt kísérletekkel

kapcsolatosan és is meghatároztam a kísérletekhez használt etiolált *Tropaeum* levelek eredeti szárazanyagtartalmát, a nyert eredményeket - összehasonlítva a formaldehides levelek szárazanyagával - a III. táblázat tartalmazza.

III. táblázat.

| Sor<br>szám | levelek eredeti szárazanyaga % | formaldehides levelek szárazanyaga % |
|-------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| 1.          | 14,7                           | 14,4                                 |
| 2.          | 15,7                           | 13,8                                 |
| 3.          | 15,7                           | 16,2                                 |
| 4.          | 15,0                           | 14,7                                 |
| 5.          | 14,8                           | 14,7                                 |

Ezen adatokból kiszámítva a középértékeket, megkapjuk, hogy az etiolált *Tropaeum*-levelek eredeti szárazanyagtartalma /15,2 % / valamivel nagyobb a formaldehides levelek szárazanyagtartalmánál /14,8 % /.

Annak elkerülésére, hogy az eredeti levelek szárazanyagmeghatározáshoz használt/és a formaldehides levelek esetleges különböző víztartalma ne befolyásolhassa a szárazanyagmeghatározásokat, úgy is végeztem néhány vizsgálatot, hogy a formaldehides levelek szárazanyagmeghatározásához a levele-

ket nem a kísérlet befejeztével mérták le - amint ezt eddig tettek - hanem a kísérlet előtt vagyis ismert mennyiségű nyélnélküli levelet tettünk ki a formaldehid hatásának.

Az ilyen módon végzett szárazanyag meghatározások eredményei szerint a *Tropaeolum* levelek szárazanyaga eredetileg középértékben 15.7 % -nak a formaldehides levelek szárazanyaga pedig ugyancsak középértékben 15.3 % -nak tehát az eredeti szárazanyag, szemben a formaldehidekkel itt is magasabbanak adódott ki.

Kísérleteimből azt a következtést vonhatjuk le, hogy ha a zöld levelekben a hozzájuk juttatott formaldehid asszimilációja révén ténylegesen keletkező szárazanyag /keményítő, cukor / mennyiségét biztosan akarjuk ismerni, még további bizonyító kísérletekre van szükség. Ez-

~~azt~~ Különösen fontos többek között annak a megállapítása is, hogy a formaldehid hatására keletkező szárazanyag mennyisége megfelel-e

a levelek által felvett formaldehid mennyiségének.

-----