

# Különlenyomat a Magyar Orvosi Archivum 1941. évi XLII. kötet I. számából

---

(A m. kir. Ferenc József Tudományegyetem belgyógyászati  
klinikájának közleménye. Igazgató: Rusznyák István ny.  
r. tanár.)

## KÜLÖNBÖZŐ IONOK HATÁSA AZ ASCORBINSAV KATALYTICUS OXYDATIOJÁRA.

Irta: *Armentano Lajos dr.* egy. magántanár.

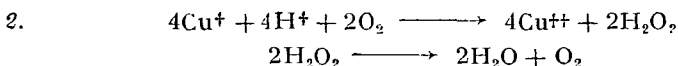
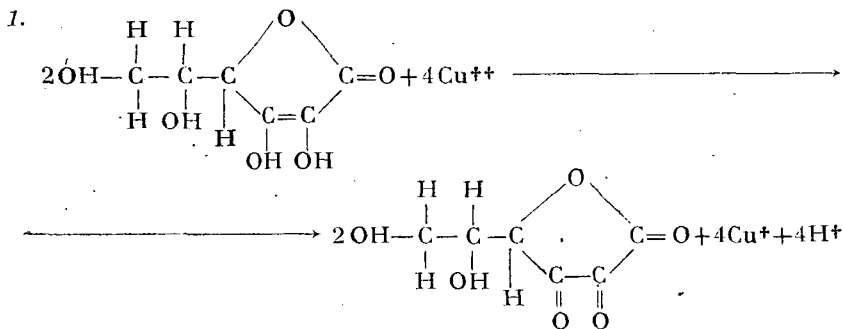
A C-vitamin tisztán való előállítása előtt már ismeretes volt, hogy a levegő oxygenje által gyorsan bomlik, amiáltal elveszti chemiai és biológiai tulajdonságait. Az ascorbinsav ezen spontan oxydatiojára vonatkozólag ellentétes vélemények uralkodtak. Tekintettel arra, hogy a növényi szövetekben az oxydatio sokkal lassabban következik be, tehát a C-vitamin itt sokkal stabilabb, mint vizes oldatban, arra gondoltak, hogy ezekben a növényekben védő anyagok vannak, amelyek a C-vitamin gyors oxydatioját gátolják. Mások viszont ezen növényekben az oxydase ferment hiányának tulajdonították a C-vitamin nagyobb stabilitását. Az utóbbi évek vizsgálatai azonban rámutattak arra, hogy az ascorbinsav spontán oxydatioja tulajdonképpen katalyticus oxydatio, amelyben legnagyobb szerepe egyes nehéz fémsóknak van, különösen a cupri és ferri ionoknak. *Hess* még a kristályos C-vitamin előállítása előtt rámutatott arra a lehetőségre, hogy a nehéz fémsóknak szerepük lehet a C-vitamin gyors bomlásában. *Euler*, *Myrbäck* és *Larsson* a C-vitamin oxygen felvevő képességét mérték különböző körülmények között és azt találták, hogy a cupri és ferri ionok erősen fokozzák a felvételt. *Kellie* és *Zilva* mutattak rá először arra, hogy az ascorbinsav abszolút tiszta destillált vízben oxygen jelenlétében sem autoxydabilis. Quarz üvegben tartva és háromszor dest. vízben oldva az ascorbinsavat az autoxydatio lényegesen csökkent. viszont 0.01 mg  $\text{CuCl}_2$  vagy  $\text{FeCl}_3$  hatására erősen fokozódott. Ugyanerre az eredményre jutottak *Barron*, *Meio* és *Klemperer*. Ha ugyanis réz ionok jelenlétét sikerült kizárniok (pyrex üvegből készült Warburg csövek, paraffinozott edényben tartott oldatok stb.),

úgy 7.6 ph-ig az ascorbinsav oxygent nem vett fel. Ezen érték felett azonban már megindult az oxygen felvétel. 0.00002 mg  $\text{CuCl}_2$  azonban már savanyú közegben is megindította az ascorbinsav oxydatióját. Ezen oxydatio sebessége arányos a cupri ionok concentratiojával, amit a következő kísérletsorozat igazol (l. táblázat). Ugyanazon ascorbinsav mennyiség teljes oxy-

1. táblázat

Idő	50 mg ascorbinsav 50 cm <sup>3</sup> dest. vízben		
	+0.25 cm <sup>3</sup> m/10 $\text{CuCl}_2$	+0.5 cm <sup>3</sup> m/10 $\text{CuCl}_2$	+1.0 cm <sup>3</sup> m/10 $\text{CuCl}_2$
	(5.36 mg)	(10.72 mg)	(21.44 mg)
5'	8.4 mg	11.3 mg	16.7 mg
10'	10.7 »	12.5 »	17.4 »
15'	11.6 »	13.5 »	22.0 »
25'	13.5 »	19.6 »	23.5 »
35'	17.8 »	22.7 »	25.8 »
55'	21.2 »	27.5 »	38.0 »
75'	22.3 »	30.3 »	40.5 »
2h	—	—	50.0 »
3h	—	50.0 »	—
4h	50.0 »	—	—

datioja a jelenlevő réz ionok mennyiségével arányos idő alatt fejeződik be. Mindezen kísérletek alapján feltehető, hogy a réz a C-vitamin oxydatios folyamatában, mint katalysator szerepel. E folyamat *Barron, Meio és Klemperer* szerint a következőképpen megy végbe:



Számos kísérlet történt abban az irányban, hogy az ascorbinsav ezen katalitikus oxydatióját megakadályozzák. *Kellie és Zilva* szerint a  $\text{NaCN}$ , *de Caro* szerint a n/10  $\text{NaCl}$ , *Bezso-*

*noff* szerint a HCN, CO, fehérjék, bizonyos aminosavak és glutathion, *Giri* szerint a Napyrophosphát, *Leibovitz és Guggenheim* szerint a KCNS és KJ, *Lyman, Schultze és King* szerint a metaphosphorsav, *Wachholder* szerint a sulfosalicylsav és glutathion, *Klodt és Stieb* szerint 0.5—2.0%-os NaCl és cukoroldat hatnak gátlólag a katalyticus oxydatiora. Kétségtelenül ezen anyagok nagy része lassítja a reactio sebességét, azonban szövetekben és vizeletben pl. az oxydatio tökéletes megakadályozása eddig senkinek sem sikerült. Még azok az eljárások is, amelyek különböző savak segítségével különösen a ph alacsony segítségével igyekeztek stabilizálni a C-vitamint, csak bizonyos ideig hatásosak.

Békamájon végzett átáramoltatási kísérleteimmel kapcsolatosan feltűnt, hogy a béka Ringer-oldatban a C-vitamin aránylag hosszú ideig stabil marad. Míg egyszer dest. vízben az oxydatio azonnal megindul, addig a béka Ringerben csak 4—5 óra múlva, míg dest. vízben 24 óra múlva az ascorbinsav 34—46%-a, addig Ringer-oldatban csak 24—28%-a oxydalodott el. Természetesen rögtön felmerült az a kérdés, hogy a béka Ringerben melyik só gyakorol védő hatást ezen folyamatra. E célból a Ringer-oldatban előforduló sókból külön-külön azonos töménységű oldatokat készítettünk és vizsgáltuk az egyes sóoldatokban az ascorbinsav oxydatioját összehasonlítva a dest. vízben történő oxydatio gyorsaságával. Kiderült, hogy a NaCl oldatban történik a leglassabban. Minthogy azonban a béka Ringerben a NaCl a legconcentraltabb, megismételtük a fenti kísérletet m/10 KCl, CaCl<sub>2</sub>, NaCl, Na HCO<sub>3</sub>, sőt ezeken kívül még BaCl<sub>2</sub> és MgCl<sub>2</sub> oldatokban is. (2. táblázat.) Itt ismét

2. táblázat

Idő	100 mg ascorbinsav 100 cm <sup>3</sup> m/10					
	KCl	CaCl <sub>2</sub>	NaCl	BaCl <sub>2</sub>	MgCl <sub>2</sub>	Egyszer dest. víz
30'	1.3 mg	1.7 mg	∅	0.4 mg	1.3 mg	6.2 mg
1h	3.5 »	2.1 »	∅	0.9 »	3.1 »	6.7 »
2h	5.0 »	3.5 »	∅	1.8 »	4.4 »	12.9 »
4h	8.0 »	5.8 »	∅	5.7 »	6.8 »	14.4 »
15h	30.0 »	18.3 »	4.4 mg	25.9 »	26.3 »	39.0 »
18h	33.9 »	20.0 »	8.0 »	28.5 »	28.1 »	47.3 »
25h	43.7 »	25.0 »	11.1 »	38.0 »	37.0 »	51.3 »

a NaCl gyakorolta a legerősebb védő hatást, azonban most már a K és CaCl<sub>2</sub> oldatokban is lassabb lett az oxydatio, mint a dest. vízben, holott a béka Ringer-oldatnak megfelelő concentratióban a KCl még fokozta is az oxydatiot a dest. vízhez viszonyítva. Ezen jelenség tehát arra mutatott rá, hogy a sóoldatok másképpen viselkednek kis és nagy concentratióban és töménységük szerint befolyásolják az ascorbinsav katalyti-

cus oxydatioját. Ezért vizsgálat tárgyává tettük, hogy különböző concentratioju NaCl oldatban hogyan viselkedik az oxydatio sebessége.

100—100 mg ascorbinsavat 300—500 ccm-es nyitott főzőpohárban 100 ccm m/10, m/5, m/2, m és 2/m NaCl-ban oldotunk fel és különböző időközökben vizsgáltuk az oldat (2—2 ccm-ét) redukáló képességét n/100 jod, illetőleg kisebb mennyiségű ascorbinsavnál, dichlorphenol-indophenollal szemben.

E kísérleti sorozatból kiderült (3. táblázat, hogy az ascorbinsav m/2, m és 2m oldatokban — annak dacára, hogy teljesen nyitott edényben, világos helyen tartottuk, 24 óra mulva sem változott az oldat concentratioja. (3. táblázat.) Ezzel

3. táblázat

Idő	100 mg ascorbinsav 100 cm <sup>3</sup>				
	m/10 NaCl	m/5 NaCl	m/2 NaCl	m/1 NaCl	2 m NaCl
1h	∅	∅	∅	∅	∅
2h	∅	∅	∅	∅	∅
3h	∅	∅	∅	∅	∅
8h	9.4 mg	3.1 mg	∅	∅	∅
9h	9.4 »	3.1 »	∅	∅	∅
24h	25.6 »	10.0 »	∅	∅	∅
4 nap	72.2 »	59.0 »	∅	∅	∅
6 »	103.3 »	100.0 »	∅	∅	∅

szemben m/10 és m/5 NaCl oldatban már 6—8 óra mulva megindult az oxydatio, 4 nap mulva az eredeti mennyiség 72.4%, ill. 59%, 6 nap mulva pedig tökéletesen eloxydalodott; m/2, m/1 és 2m oldatokban még 28 nap mulva sem indult meg az oxydatio. (Mint hogy az edények nyitva állottak, a párolgás kö-

4. táblázat

Idő	100 mg ascorbinsav 100 cm <sup>3</sup> m/10						
	NaCl	NaNO <sub>3</sub>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	NaF	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Egyszer dest. víz
1h	∅	0.9 mg	3.5 mg	3.5 mg	4.0 mg	1.3 mg	2.6 mg
1.5h	∅	5.3 »	6.2 »	7.6 »	8.0 »	5.5 »	5.8 »
2.5h	0.4 mg	8.0 »	8.9 »	9.8 »	11.6 »	7.1 »	7.5 »
6.5h	7.5 »	11.3 »	18.7 »	22.3 »	19.1 »	16.5 »	16.0 »
7.5h	8.9 »	22.3 »	23.6 »	29.4 »	24.5 »	23.2 »	20.9 »
24.0h	33.9 »	44.4 »	50.4 »	70.0 »	47.8 »	59.3 »	44.8 »

Hálás köszönetet mondok a Chinoin-gyárnak, hogy ascorbinsavat por alakban (Vitaplex C) volt szíves kísérleteimhez rendelkezésmre bocsátani.

vetkeztében természetesen az oldat folyton koncentrálódott és ezzel arányosan az ascorbinsav töménysége is növekedett.) Tehát  $m/2$  és ennél töményebb  $\text{NaCl}$  oldat tökéletesen megvédi az ascorbinsavat a katalyticus oxydatiótól. Hogy ez tényleg így van, azt oly módon bizonyítottuk be, hogy a fenti kísérleteket megismételtük különböző mennyiségű  $\text{CuCl}_2$  hozzáadásával. (4. táblázat.) Ezek szerint  $m/1$  cc-u  $\text{NaCl}$  még  $0.05$ — $0.10$  mg  $\text{CuCl}_2$  katalyticus hatását is képes kivédeni;  $5.4$  mg réz hatását pedig annyira lassítja, hogy míg egyszer dest. vízben  $50$  mg ascorbinsav ezen rézmennyiség hatására már  $4$  óra alatt eloxydalódik, addig  $m/1$   $\text{NaCl}$  oldatban ez csak  $24$ — $32$  óra múlva következik be.

Annak kiderítésére, hogy a  $\text{Na}$  vagy a  $\text{Cl}$  ionok okozzák ezen gátló hatást, külön kísérleti sorozatban  $m/10$  oldatban a különböző anionok hatását vizsgáltuk a katalyticus oxydatiora. (4. táblázat.) A minket elsősorban érdeklő  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  és  $\text{NaNO}_3$ -ról kiderült, hogy különösebb gátló hatásuk nincs. A  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  és  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -ban létrejövő gyors oxydatio nem szorul különösebb magyarázatra. Feltűnő azonban a  $\text{NaF}$  igen erős oxydatiot gyorsító hatása.

Ezek szerint tehát nem a  $\text{Na}$ , hanem a  $\text{Cl}$  ionok gyakorolnak gátló hatást az ascorbinsav oxydatiojára. Hogy ez tényleg így van, azt igazolják  $m/1$   $\text{CaCl}_2$ ,  $m/1$   $\text{KCl}$  és  $m/1$   $\text{NaCl}$ -al végzett összehasonlító vizsgálatok. Ilyen concentratióban ugyanis már a  $\text{CaCl}_2$  és  $\text{KCl}$  is gátló hatást gyakorol a katalyticus oxydatiora. (5. táblázat.)

5. táblázat

Idő	100 mg ascorbinsav 100 cm <sup>3</sup>			
	$m/1$ , $\text{Ca Cl}^*$	$m/1$ , $\text{Na Cl}^*$	$m/1$ , $\text{K Cl}^*$	Egyszer dest. víz
1h	∅	∅	∅	2.6 mg
2h	∅	∅	∅	5.8 »
3h	∅	∅	∅	9.0 »
7h	∅	∅	∅	16.0 »
9h	∅	∅	∅	23.0 »
1 nap	∅	∅	∅	44.8 »
4 »	∅	∅	∅	100.0 »
7 »	∅	∅	∅	—

\* Ugyanezek voltak az eredmények  $0.05$ — $0.1$  mg  $\text{CuCl}_2$  hozzáadása után is.

Ezekben az oldatokban oldva nyitott edényben tartva sem lehetett az ascorbinsav concentratio csökkenését kimutatni, sőt a  $\text{CaCl}_2$   $0.25$  ccm  $m/10$   $\text{CuCl}_2$  katalysáló hatásával szemben aktívabbnak bizonyult, mint pl. a  $\text{NaCl}$ . (6. táblázat.)

6. táblázat

Idő	50 mg ascorbinsav 50 cm <sup>3</sup>			
	Egyszer dest. víz	m/1 Na Cl	m/1 Ca Cl <sub>2</sub>	m/1 K Cl
	+ 0.25 cm <sup>3</sup> m/10 Cu Cl <sub>2</sub>			
15'	8.4 mg	0	0	0
30'	17.0 »	1.2 mg	1.2 mg	1.8 mg
1h	22.0 »	1.2 »	1.5 »	1.8 »
2h	40.1 »	2.4 »	1.5 »	4.2 »
4h	50.0 »	—	—	—
16h	—	28.1 »	23.7 »	38.0 »
24h	—	42.5 »	36.0 »	49.1 »

Bezssonoff vizsgálatai szerint az ascorbinsav oxydatiójának foka fordított arányban áll a kezdeti koncentrációval, ami megfelelt az általa friss oldatokban végzett potentialméréseknek. Ez annyit jelent, hogy a C-vitamin kis mennyiségben sokkal oxydabilisabb, mint koncentrált oldatban. Minthogy említett kísérleteinket 0.1%-os ascorbinsav oldattal végeztük, szükséges volt ellenőrizni, hogy kisebb töménységű oldatokban is fennáll-e a m/1 NaCl, KCl és CaCl<sub>2</sub> oxydatiót gátló hatása. Tekintettel arra, hogy 0.1‰-es ascorbinsav oldatban sem lehetett napokon keresztül veszteséget kimutatni, tehát m/1, 2m NaCl, KCl és CaCl<sub>2</sub> oldatok gátló hatása független az ascorbinsav koncentrációjától.

Hogyan fejtik ki hatásukat az említett sóoldatok? Ismeretes, hogy Brönsted a kémiai kinetikában használatos  $k$  állandót három tényezőre bontja, azaz  $k = k' km F$ , ahol  $k'$  reactiót jellemző, de a közegtől független,  $km$  a közeget jellemző és a reactiótól független állandót jelenti, míg  $F$  a kinetikai aktivitási tényező. Neutális sóknak a sebességi állandó értékére gyakorolt hatása lehet közeghatás, kinetikai sóhatás és katalysis. (Kiss Á.) A kinetikai sóhatás lehet első és másodlagos. Az elsődleges sóhatást a változó  $F$  tényezővel vesszük számításba. A másodlagos kinetikai sóhatás abban áll, hogy a neutális sók kémiai egyensúlyok eltolása révén megváltoztatják a ható anyagok koncentrációját. Végül katalysis alatt jelen esetben azokat a jelenségeket értjük, amelyeknél a neutális sók hatása nem a felsorolt tényezők megváltoztatásában áll. Hogy ebben az esetben a neutális sók hogyan fejtik ki hatásukat, azt annál nehezebb megállapítani, mint hogy tömény sóoldatokról van szó, amikor is sokkal bonyolultabbak a viszonyok, mint híg oldatok esetén. Az utóbbi esetben ugyanis feltehető, hogy a neutális sók kis mennyisége a közeget nem változtatja meg olyan mértékben, hogy ezáltal a  $km$  is megváltoznék, vagyis ilyen módon a  $kr km = k_0$  szor-

zat értéke is állandó marad. Tömény sóoldatokban mindenekelőtt számolni kell a közeg és elsődleges kinetikai sóhatással, de majdnem mindig szerepel a másodlagos kinetikai sóhatás is, amit ilyenkor nagyon nehéz számításba venni. Emellett a közeg elektrosztatikus erőtere bő alkalmat ad a fizikai katalysis számára is. Még ha a fizikai katalysistól és a másodlagos kinetikai sóhatástól el is tekintünk, akkor is maradna az elsődleges kinetikai sóhatás és közeghatás, melynek kísérleti szétválasztása egyelőre megoldhatatlan probléma. Míg híg vizes oldatokban az elsődleges sóhatást a Brönsted-féle elmélet alapján a specifikus ionhatás bizonytalanságával ki tudjuk számítani, addig tömény sóoldatokban ez sem megy. Concentralt sóoldatokban annyira változik az egyes ionok aktivitási tényezője, hogy az egy átfogó elmélet alapján nem adható meg. De tegyük fel, hogy a kinetikai aktivitási tényező minden concentratioiban használható a kinetikai sóhatás pontos mértékének kiszámítására, ez esetben az várható, hogy a kinetikai sóhatás ellentétes előjelű lesz híg, illetőleg tömény sóoldatokban. Így + sóhatást mutató reactioknál a híg oldatokban észlelhető gyorsítást tömény sóoldatokban lassításnak kellene felváltania. Éppen ellenkezők lennének a viszonyok — sóhatást mutató reactioknál. Ennek magyarázata az, hogy az *ionok aktivitási tényezői* másként viselkednek híg, mint tömény oldatokban. Híg oldatokban csökken, míg tömény oldatokban nő az aktivitási tényezők értéke. Sajnos, a közeghatásnak sem az előjelére, sem a nagyságára nézve elméleti alapon sem tudunk semmit.

Az elmondottak rávilágítanak kísérleteim helyes értelmezésére. Az elmondott jelenségek úgy foghatók fel, mint a neutralis sóknak az ascorbinsav és  $O_2$  között lezajló reactiona kifejtett hatásának. Minthogy ez a hatás változik aszerint, hogy kis vagy nagy concentratioval van dolgunk, kis concentratioiban +, nagy concentratioiban — volt a sóhatás, valószínűnek tartom, hogy *jelen esetben kinetikai sóhatással van dolgunk*, bár az elmondottak rávilágítottak e kérdés eldöntésének nehézségeire. Lehetséges azonban, hogy híg oldatokkal végzett kísérletek megoldják majd ezt a problémát is.

A neutralis sóknak a C-vitamin katalyticus oxydatiojára kifejtett hatásának ismerete számos gyakorlati és elméleti kérdést vet fel, így a neutralis sok szerepe a vérben, vizeletben, a neutralis sók hatása az oxydase fermentre stb. Mind ezekre a problémákra más alkalommal térek ki.

**Irodalom:** *Barron, Meio and Klemperer:* J. of biol. Chem. 112. 625. 1936. 116: 563. 1936. — *Bezssonoff et Wolosyn:* C. r. Soc. Biol. Paris. 125. 884. 1937. *Žbl.* 91. 604. 1937. — *de Caro u. Gianti:* Z. physiol. Chem. 228. 13. 1934. — *Euler, Myrbäck u. Larsson:* Z. physiol. Chem. 217. 1. 1933. — *Giri.* cit. *Klodt és Stieb* után. — *Hess, Boston:* Med. Surg. J. 187. 101. 1922. — *Kellie and Zilva:*

Biochem. J. 29. 1935. — *Klodt u. Stieb, Naunyn-Schmiedeberg's A.*: 188. 21. 1937, 190. 341. 1938. — *A. Kiss*: M. chem. folyóirat. 37. évf. 21. — *A. Kiss*: Acta Chem. Min. et Phys. Tom. 1. F. 2. — *Leibowitz u. Guggenheim*: Z. f. Vitaminf. 8. 1. 1938. — *Lyman u. Schultze a. King*: J. of biol. Chem. 118. 757. 1937. — *Wachholder u. Okrent*: Biochem. Z. 306. 6. 1940.

---

Felelős kiadó: Armentano Lajos dr.