Uproszczona metoda wyizolowania t. zw. glutationu z drożdży.

(Eine einfache Methode der Isolierung des sogenannten
Gluthations aus Hefen).

Napisał

ANTONI KOZŁOWSKI.

Wydzielenie glutationu z tkanek roślinnych lub zwierzęcych jest bardzo trudne z powodu jego dużej skłonności do rozkładu, jaki występuje już z chwilą zburzenia normalnej struktury komórki.

Wiadomo, że drożdże zamrażane, ogrzewane lub poddane samotrawieniu wywiązują merkaptany i siarkowodór. Ślady tego ostatniego dają się zauważyć już przy 50° C, a jeszcze wyraźniej w miarę podwyższania temperatury ¹⁾.

Ze względu na to, że glutation oczyszczony ulega podobnemu rozkładowi znacznie powolniej niż podczas jego ekstrahowania, szybka praca jest bardzo pożądana. Dotychczas stosowane wyciąganie glutationu wrzącą wodą połączone jest z dużą stratą czasu, wysiłku, chemikalijskiej i substancji (wskutek działania wyższej temperatury, powolnego filtrowania, absorpcji przez siarczany i siarczki metali etc.). Bardziej ekonomiczną pod tym względem jest metoda opisana w poniższym przykładzie.

4¹/₂ kg świeżych drożdży piekarskich wymieszano z 1¹/₂ l wody, poczem, energicznie mieszając, dodano cienkim strumieniem 2¹/₂ l acetonu. Suspensję odcentryfugowano (w braku dużej centryfugi serja filtrów Buchnera ułatwi szybkie oddzielenie płynu); kła-

¹⁾ Wywiązywanie się siarkowodoru śledzono w sposób znany, t. j. przy pomocy papierka ołowiowego. 10%-owy roztwór obojętnego octanu ołowiu zadawano po kropli 10%-owym roztworem wodorotlenku sodu, aż wystąpiło trwałe, jakkolwiek niezbyt silne zmętnienie; skrawki bibuły zwilżone tym roztworem przytwierdzano do korków lub zatyczek watowych zamykających naczynie z drożdżami.

rowny, brunatny ekstrakt ogrzano chwilowo do 45°C i mieszano z $\frac{1}{10}$ objętości 10% kwasu siarkowego; zawiesinę tlenku miedziowego (Cu_2O) dodawano ostrożnie, jak długo ten się rozpuszczał natychmiast i dopóki nie wyłoniła się obfita biała suspensja; potrząsanie przyspieszało zabicie się osadu, który oddzielono przez dekantację i centrifugowanie. Jeśli płyn z nad osadu nie dał zmętnienia po dodaniu próbki Cu_2O , mieszano go z niedużą ilością czystego ekstraktu (w tym celu zarezerwowanego), który umożliwił ponownie wytrącenie glutationu miedzi, jaki mógł ewentualnie przejść w roztwór wskutek nadmiaru Cu_2O .

Glutation miedzi, przepłukany wodą aż do reakcji słabo kwaśnej, zawieszono w 50 cm^3 wody i rozłożono siarkowodorem; płyn uwolniony od SH_2 prądem powietrza i od śladów kwasu siarkowego (zapomocą węglanu baru) wpuszczono kroplami do energicznie potrząsanej i lodem oziębianej mieszaniny alkoholu i eteru, użytej w dziesięciokrotnej objętości. Białą suspensję przechowywano przez 3 dni w chłodnym miejscu, aż krystalizacja glutationu będzie zupełna¹⁾.

W powyższy sposób otrzymywano bardzo łatwo preparat miedziawy glutationu z $4\frac{1}{2}\text{ kg}$ drożdży w ciągu czterech godzin, podczas gdy posługując się którąkolwiek z dotychczas opisanych metod dopiero w ciągu 5 dni mozolnej pracy i to w ilości 2—3 razy mniejszej.

W warunkach wyżej opisanych glutation został wytrącony z ekstraktu ilościowo. Ekstahowanie drożdży po raz wtóry zapomocą 40% acetonu powiększało wydajność pracy o 25% .

Badania natury chemicznej glutationu są w toku.

Zusammenfassung.

$4\frac{1}{2}\text{ kg}$ Hefe wurden mit $1\frac{1}{2}\text{ l}$ Wasser und $2\frac{1}{2}\text{ l}$ Aceton gemischt und abzentrefugiert. Der Extract wurde zu 45°C erwärmt, mit $\frac{1}{10}$ Vol. 10% Schwefelsäure versetzt und mit Kupferoxydul niedergeschlagen. Die Kupferverbindung wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt, von Spuren des SH_2 und der Schwefelsäure befreit und in eine zehnfache Menge einer mit Eis gekühlten Mischung von Alkohol und Aether eingetropft. Nach Aufbewahren in einem kühlen Raume wurde die Substanz krystallisiert erhalten.

¹⁾ Ślady glutationu wykrywano przy pomocy znanej reakcji nitroprusydkowej. Drobną kryształ nitroprusydku sodu rozpuszczono w 5 cm^3 wody; kropla tego roztworu wpuszczona do kropli ekstraktu (wolnego od acetonu) dała, po następnem dodaniu rozcieńczonego amonjaku, barwik czerwony. Glutation utleniony daje tę samą reakcję po uprzedniem dodaniu cyanku sodu.