

BIOCHÉMIA VÝROBY KORENINOVEJ PAPRIKY (III) FENOLICKÉ LÁTKY

V. ZITKO, Ž. ĎURIGOVÁ

Chemický ústav Slovenskej akadémie vied v Bratislave

Katedra chemickej technológie uhlohydrátov Slovenskej vysokej školy technickej
v Bratislave

V práci sme sa zaoberali výskytom fenolických látok v koreninovej paprike. Hoci je ich výskyt v rastlinách pomerne dobre známy, koreninovej paprike sa v tomto smere dosiaľ nevenovala pozornosť. Kapsaicín, spôsobujúci pálivú chuť plodov ostrých sort koreninovej papriky, zrejme vzniká v plode v rámci metabolismu fenolických látok. Možno preto predpokladať rozdiel v zložení fenolických látok plodov sladkých a ostrých sort. V literatúre sme nenašli práce, ktoré by v koreninovej paprike sledovali obsah iných fenolických látok ako kapsaicínu. Preto sme vykonali kvalitatívnu chromatografickú analýzu fenolických látok v plodoch niektorých sort koreninovej papriky.

Okrem toho sme hľadali vhodnú rozpúšťadlovú sústavu pre papierovú chromatografiu kapsaicínu, ktorá by umožnila jednak kvalitatívne stanovenie kapsaicínu v extraktoch koreninovej papriky, t. j. v ktorej by sa kapsaicín dobre oddeľoval od karotenoidných farbív, jednak analýzu čistoty kapsaicínových preparátov.

Výskytu a metodike sledovania fenolických látok v rastlinách je v literatúre venovaný veľký počet prác [1—6]. Hoci chromatografia na kolónkach sa už používa pri viacerých metódach stanovenia, príp. izolácie kapsaicínu [7—11], o papierovej chromatografii kapsaicínu sme našli v literatúre iba dve stručné zmienky [12, 13]. V jednom prípade sa používa na vyvíjanie chromatogramov benzén nasýtený metanolom, v druhom prípade zmes roztokov uhličitanu a hydroxydu sodného. Originály uvedených prác sú však neprístupné, preto sme vypracovali vlastný postup papierovej chromatografie kapsaicínu.

Experimentálna časť

Rastlinný materiál a príprava extraktov

Použili sme plody sorty Maďarská ostrá (MO), a to jednak nezrelé — zelené, jednak zrelé — červené. Sladké sorty reprezentovali Agronómka (A) a hrubostenná žitavská krajová Fekete (TŽK-F), v oboch prípadoch šlo o zrelé červené plody. Čerstvé plody sme rozdelili na oplodie, stopky a semená. Extrakciu sme robili horúcim 80 % metanolom. Pri oplodí a stopkách sme vychádzali z množstva 200 g, ktoré sme rozdrvili v turmixe s horúcim metanolom (200 ml) na kašu. Túto kašu sme štyrikrát extrahovali 200 ml dávkami metanolu. Semená na extrakciu sme rozotreli v trecej miske s morským pieskom. Z metanolových extraktov sme pretrepávaním s extrakčným benzínom oddelili karotenoidné farbivá. Extrakty sme zahustili za vakuu na objem 50 ml a ďalej sledovali papierovou chromatografiou.

Okrem toho sme sledovali obsah fenolických látok v suchých stopkách. Suché stopky sme odobrali z prevádzkového odpadu, a preto neboli sortove definované. Extrakt z rozomletých stopiek sa pripravil týmto postupom [17]: 50 g rozomletých stopiek sme najskôr extrahovali éterom 8 hodín v Soxhletovom prístroji. Zvyšok sme extrahovali 5 krát 200 ml dávkami vody. Získaný vodný extrakt sa zahustil na 100 ml, nečistoty sa vyzrážali metanolom v pomere 4 diely metanolu : 1 dielu extraktu. Metanol sa za vákua oddestiloval, vodný zvyšok sa použil na chromatografické sledovanie.

Kapsaicín sme izolovali metódou G. Schenka [10].

Chromatografická technika

Na chromatografiu opísaným spôsobom pripravených extraktov sme používali papier Schleicher—Schüll 2043A, pri chromatografii extraktov kapsaicínu sa nám lepšie osvedčil chromatografický papier Whatman 3. Chromatografiu sme robili vzostupnou technikou vo valcových nádobách. Použili sme tieto rozpúšťadlové sústavy:

S 1: *n*-butanol — kyselina octová — voda 4 : 1 : 5 [1, S 43a]

S 2: *n*-butanol — kyselina octová — voda 4 : 1 : 2,2 [2, str. 275]

S 3: *n*-butanol nasýtený 5 $\times$ amoniakom [1, S 67]

S 4: benzén — *n*-butanol — voda 19 : 1 : 20 [1, S 113]

S 5: petroléter — pyridín — voda 10 : 2 : 10

S 6: *n*-butanol — kyselina octová — voda 4 : 1 : 5 vodná vrstva [2, str. 267]

S 7: kyselina octová — kyselina soľná — voda 30 : 3 : 10 [19]

S 8: amylalkohol — kyselina octová — voda 4 : 1 : 5 [1, S 88]

S 9: octan etylnatý — 2 $\times$ kyselina soľná 1 : 1 [2, str. 267]

S 10: petroléter nasýtený vodou, papier impregnovaný borátovým tlmivým roztokom o pH = 11,0 [1, S 108]

S 11: petroléter — 85 % etanol 100 : 25

Sústavu S 1 sme použili pri delení fenolických látok. Všetky uvedené sústavy sme použili pri štúdiu chromatografického chovania kapsaicínu.

Použili sme tieto spôsoby detekcie:

D 1: fluorescencia v ultrafialovom svetle (výbojka Philora HPW 125) [1, 2, 4—6]

D 2: fluorescencia v ultrafialovom svetle v parách amoniaku [1, 2, 4—6]

D 3: 1 % dusitan sodný v 10 % metanolickej kyseline octovej [4]

D 4: D 3 s nasledovným postrekom 0,5 $\times$ hydroxydom draselným [4]

D 5: diazotovaný benzidín podľa Wachtmeistera [1, D 76 b]

D 6: diazotovaný *p*-nitroanilín [1, D 74 b]

D 7: diazotovaný 2,4-dichlóranilín, pripravený ako D 6

D 8: diazotovaná kyselina sulfanilová [14]

D 9: 1 % metanolickej chlorid hlinitý [1, D 83]

Na detekciu fenolických látok sme použili činidlá D 1—D 4 a D 9. D 1 a detekčné činidlá D 5—D 8 sme skúšali pri hľadaní najvýhodnejšieho spôsobu detekcie kapsaicínu. Za najvýhodnejšie činidlo pre detekciu kapsaicínu pokladáme D 5.

Ako pomocný extrakt pre identifikáciu kyseliny chlorogénovej sme použili extrakt zo zelenej kávy. Rozomletú kávu sme extrahovali metanolom. Zvyšok po oddestilovaní metanolu za vákua sme rozpustili v malom objeme vody. Tento roztok sme nanášali na chromatogramy. Charakteristiky získaných škvŕn sú uvedené v tab. 1.

Pri identifikácii sme použili ako štandard i kyselinu ferulovú, ktorú sme pripravili postupom podľa K. Herrmanna [5]. Charakteristiky škvŕny kyseliny ferulovej sú uvedené v tab. 1.

Tabuľka 1

Prehľad zistených škvrín a údajov literatúry

Číslo škvrny	R_F (S 1)	Detekcia						Abs. maximum v etanole $m\mu$	Výskyt v extrakte	Identifikácia
		D1	D2	D3	D4	D15	D15 + + D1			
Skupina hydroxyškoricových kyselín										
1	0,80	—	—	—	—	—	ŽH		1, 3, 4, Fl, Al, 3	
2	0,70	M	Z	ŽH	Č	—	M	218 273 325	1—6, Fl, 2, Al—3, S	chlorogénová kyselina
3	0,60	MZ	ŽZ	ŽH	Č	—	M	220 320	1—6, Fl—3, Al—3, S	chlorogénová kyselina
4	0,51	M	ŽZ	ŽH	Č	—	M	210 295 328	S	
5	0,21	M	—	ŽH	Č	—	M	205 215 279 323	1—4, Fl, 2, Al, S	
6	0,10	M	ŽZ	ŽH	Č	—	M	260 335	1,6 Al, S	
Skupina flavonoidných derivátov										
7	0,49	H	Ž	—	—	ŽZ	ŽZ		3, 4, 6, Fl, 3 Al, 3	
8	0,39	—	ŽH	—	—	—	ŽZ		Fl, A3	
9	0,18	H	—	—	—	—	ŽH	214 265	6 S	
10	0,13	MŠ	ŽH	—	—	—	ŽH	214 245 265	S	
Ostatné nezatriedené látky										
11	0,40	—	MZ	—	—	—	M		2—4, Fl—3, Al, 2	
12	0,31	M	ŽZ	—	—	—	MZ		3, 6, Fl—3, A, 23	

Pokračovanie tab. 1

Extrakt zo zelenej kávy												
1	0,87	Ž										
2	0,77	M	M	ČH	ČH	—	M				kávová kyselina	
3	0,60	M	Z	ŽH	Č	—	M				chlorogénová kyselina	
Syntetická ferulová kyselina												
	0,89	M	M	ŽH	ŽH	—	—	219	236	297	320	ferulová kyselina [5]
Hodnoty udávané literatúrou												
	0,88	M	M	ŽH	ŽH			218	233,5	296	323	ferulová kyselina
	0,82	M	M	ČH	ČH				244,	299,	326	kávová kyselina [5]
	0,80	M	ŽZ	ŽH	Č						323	izochlorogénová k. [5]
	0,66	M	Z	ŽH	Č						323	chlorogénová k. [5]
	0,62	M	Z	ŽH	Č							nechlorogénová k. [5]
	0,54	Ž				Ž	ŽZ					myricetín [2]
	0,50	H				Ž	Ž					xantoramnín [2]
	0,40		Ž				BŽ					hesperidín [2]
	0,21	BŽ				Ž	Ž					gosypetín [2]

Poznámky k tabulke 1.

Značenie farebných reakcií:

M = modrá Z = zelená Ž = žltá
H = hnedá Č = červená S = sivá
B = bledo-

Značenie extraktov:

MO zrelé plody
nezrelé plody
A
TŽK-F
Suché stopky S

oplodie	semená	stopky
1	2	3
4	5	6
A1	A2	A3
F1	F2	F3

Všetky v tab. 1 uvádzané hodnoty R_F vzťahujeme na R_F fluoroglucínu. Detekciu fluoroglucínu sme robili činidlom D 2. Za týchto podmienok fluoroglucín vykazuje intenzívne modrú fluorescenciu.

Elúcia škvrín z papiera sa robila za tepla vsádkove 95 % etanolom Merek „pre UV spektroskopiu“. UV absorpčné spektrá sme merali spektrofotometrom UVISPEC Hilger.

Diskusia

1. Analýza fenolických látok

Na základe získaných výsledkov možno použitou metódou stanovené fenolické látky v plodoch koreninovej papriky rozdeliť na hydroxyškoricové kyseliny a flavonoidy. Na niektorých chromatogramoch boli pomerne málo intenzívne škvrny ďalších dvoch látok, ktoré sa nepodarilo bližšie zatriediť (tab. 1, škvrny 11 a 12). Plody sorty Maďarská ostrá obsahujú i kapsaicín, ktorý sa však v dôsledku veľmi malej koncentrácie na chromatogramoch neobjavil.

Skupinu hydroxyškoricových kyselín reprezentuje najmä kyselina chlorogénová (škvrny 2 a 3 — pravdepodobne izoméry chlorogénovej kyseliny). Škvorna 4 dáva detekčné reakcie charakteristické pre chlorogénovú kyselinu, hodnota R_F sa však viac líši od hodnôt uvádzaných v literatúre. To isté platí i pre škvrny 5 a 6, kde však rozdiel v hodnotách R_F je už veľmi podstatný. Také nízke hodnoty sa v literatúre neuvádzajú ani pre jednu zo známych hydroxyškoricových kyselín. V tomto prípade však ide skutočne o látky daného typu, ako o tom svedčia detekčné reakcie i maximum absorpcie pri 323, resp. 335 m μ . Je možné, že ide o produkty enzymatickej oxydácie chlorogénovej kyseliny. C. Weurman a T. Swain [15] pozorovali pri enzymatickej oxydácii chlorogénovej kyseliny objavenie sa 3 nových škvrín s hodnotami R_F v rozmedzí 0,02—0,20. Podobne i v prípade škvrny 1 môže ísť o produkt enzymatickej oxydácie. Výskyt podobnej škvrny opisujú H. Tanner a H. Rentschler v prípade enzymatickej oxydácie kyseliny kávovej [16].

V skupine flavonoidných látok sa na základe získaného materiálu nepodarilo urobiť bližšiu identifikáciu. Pre orientáciu, o aké látky by mohlo ísť, uvádzame v tab. 1 údaje literatúry o flavonoidných látkach s blízkymi hodnotami R_F a podobnými detekčnými reakciami.

Ako vidno z tab. 1, medzi sladkými a ostrými sortami koreninovej papriky niet podstatného rozdielu v obsahu fenolických látok stanovených použitou metódou.

2. Papierová chromatografia kapsaicínu

V tab. 2 sú uvedené hodnoty R_F kapsaicínu pre niektoré rozpúšťadlové sústavy. Vo väčšine bežných rozpúšťadlových sústav sa kapsaicín pohybuje takmer s celom rozpúšťadla. Tieto sústavy nie sú vhodné na oddelenie kapsai-

činu od karotenoidných farbív, ktoré sa tiež pohybujú s čelom rozpúšťadla. Sústava S 5 predstavuje druhý extrém. V tejto sústave sa síce kapsaicín a karotenoidné farbivá delia, nízka hodnota R_F kapsaicínu však pôsobí nepriaznivo pri jeho kvalitatívnom, príp. kvantitatívnom stanovení. V sústave S 10 je tiež možné oddelenie kapsaicínu a karotenoidných farbív, škvrny kapsaicínu sú však veľmi predĺžené. Dobré výsledky sme dosiahli sústavou S 11, v ktorej sa vyrovnávajú polárne vlastnosti kapsaicínu, vyvolávané jeho fenolickou skupinou a nepolárnymi vlastnosťami dlhého alifatického reťazca. V sústave S 11 karotenoidné farbivá putujú sčasti s čelom, sčasti sa nachádzajú v hornej štvrtine chromatogramu. Prítomnosť vody v rozpúšťadlovej sústave (85 % etanol) je dôležitá, pretože pri menšom obsahu vody kapsaicín putuje s čelom rozpúšťadla.

Tabuľka 2

R_F kapsaicínu v niektorých rozpúšťadlových sústavách

Sústava	S 1	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S 10	S 11
R_F	0,87	0,94	0,95	0,96	0,09	0,94	0,97	0,89	0,96	0,20	0,54

Pri izolácii kapsaicínu metódou G. Schenka sa na chromatogramoch petrol-éterických roztokov po oddelení karotenoidných farbív z pôvodného extraktu adsorpčnou stĺpcovou chromatografiou na zmesi kysličníka hlinitého a aktívneho uhlia objavila okrem škvrny kapsaicínu ďalšia škvrna s R_F 0,96 (sústava S 11). Táto škvrna fluoreskovala pod UV svetlom intenzívne modro na rozdiel od škvrny kapsaicínu, ktorá nefluoreskuje. I detekčné reakcie uvedenej škvrny sa líšia od detekčných reakcií škvrny kapsaicínu. Pri detekcii D 5 je škvrna kapsaicínu oranžovohnedá, škvrna neznámej látky fialovočervená. Pri detekcii D 6 je škvrna kapsaicínu fialová, škvrna neznámej látky červená, pri detekcii D 8 sú farby škvrn červená a oranžová. Ak robíme detekciu činidlom D 7, obe škvrny sú červené.

Malé množstvo uvedenej neidentifikovanej látky sa podarilo izolovať vo forme bielych kryštálikov s bodom topenia 55,5 °C. Ultrafialové absorpčné spektrum kapsaicínu má maximá pri 235 a 280 m μ , spektrum neidentifikovanej látky vykazuje maximá pri 235 a 292 m μ . Na rozdiel od kapsaicínu táto látka nemá páľivú chuť. Je možné, že ide o látku, o ktorej sa zmieňuje už E. K. Nelson [18], ďalšie údaje sa však v literatúre nenachádzajú. Poznamenávame, že spomínanú látku možno detegovať len na chromatogramoch kapsaicínových extraktov, ktoré neobsahujú karotenoidné farbivá. V opačnom prípade zakrýva škvrna karotenoidných farbív škvrnu uvedenej látky.

V priebehu izolácie kapsaicínu uvedenou metódou [10] sme po oddestilovaní éteru získali malé množstvo hnedej amorfnej látky, málo rozpustnej v éteri

a petroléteri, dobre rozpustnej v etanole. Na chromatogramoch tejto látky v sústave S 1 boli 4 škvrny s hodnotami R_F 0,27; 0,60; 0,87; 0,96, modro fluoreskujúce v ultrafialovom svetle. Ich ultrafialové absorpčné spektrá sú podobné s maximami pri 220 a 270 $m\mu$.

Záver

Vykonané pokusy ukázali, že plody sledovaných sort koreninovej papriky (Maďarská ostrá, Agronómka a hrubostenná žitavská Fekete) obsahujú látky zo skupiny hydroxyškoricových kyselín, z ktorých bola identifikovaná kyselina chlorogénová. Ďalšou, dosiaľ tak isto v koreninovej paprike nesledovanou skupinou látok sú niektoré flavonoidné farbivá. Kým látky prvej skupiny sa nachádzajú tak v extraktoch z oplodia, ako aj v extraktoch zo semien a stopiek, flavonoidné farbivá sa vyskytujú prevažne v extraktoch zo stopiek. V plodoch sledovaných dvoch sladkých a jednej ostrej sorty nie sú podstatné rozdiely v obsahu fenolických látok stanovených použitou metódou. Je teda zrejmé, že tieto látky sa priamo neúčastnia pri biosyntéze kapsaicínu.

Výber vhodnej rozpúšťadlovej sústavy petroléter — 85 % etanol v objemových pomeroch 100 : 25 umožnil oddelenie kapsaicínu od karotenoidných farbív, čím bol daný podklad pre vhodnú metodiku kvalitatívneho dôkazu kapsaicínu papierovou chromatografiou. Táto sústava súčasne oddeľuje od kapsaicínu inú látku fenolického charakteru, ktorá na rozdiel od kapsaicínu nemá štiplavú chuť. Súčasne boli v extraktoch pri izolácii kapsaicínu nájdené ďalšie fenolické látky sprevádzajúce kapsaicín, ktoré však neboli bližšie identifikované.

Súhrn

V práci sa sledovali fenolické látky plodov koreninovej papriky, ktorým sa doteraz nevenovala pozornosť. Papierovou chromatografiou bola dokázaná prítomnosť látok zo skupiny hydroxyškoricových kyselín, spomedzi ktorých bola na základe hodnôt R_F , detekčných reakcií a UV absorpčných spektier identifikovaná chlorogénová kyselina. Ďalej sa v paprike našli 4 flavonoidné látky, ktoré sa nepodarilo bližšie identifikovať.

Sledovalo sa chromatografické chovanie kapsaicínu. Pre papierovú chromatografiu kapsaicínu najlepšie vyhovuje sústava petroléter — 85 % etanol v objemových pomeroch 100 : 25. Kapsaicín má v tejto sústave hodnotu $R_F = 0,54$ (papier Whatman 3). Pri izolácii kapsaicínu metódou G. Schenka bola okrem kapsaicínu nájdená ďalšia fenolická látka s $R_F = 0,96$. Látka na rozdiel od kapsaicínu nemá štiplavú chuť. Bod topenia je 55,5 °C a absorpčné maximá sú pri 235 a 292 $m\mu$.

БИОХИМИЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРЯНОГО ПЕРЦА (III)
ФЕНОЛОВЫЕ ВЕЩЕСТВА

В. ЗИТКО, Ж. ДЮРИГОВА

Химический институт Словацкой академии наук

Кафедра химической технологии углеводов Словацкой высшей технической школы
в Братиславе

Выводы

В работе исследовались феноловые вещества стручков пряного перца, на которые до сего времени не было обращено внимание. Бумажной хроматографией было доказано присутствие веществ из группы гидроксикоричных кислот, между которыми на основании величины R_F детектных реакций и UV абсорбционных спектров была идентифицирована хлорогеновая кислота. Далее в перце были найдены 4 флавоновые вещества, которые ближе пока что не удалось идентифицировать.

Было исследовано хроматографическое поведение капсаицина. Для бумажной хроматографии капсаицина лучше всего годится система петролейный эфир — 85 % этанол в объемном отношении 100:25. Капсаицин в этой системе имеет значение $R_F = 0,54$ (бумага Whatman 3). При изоляции капсаицина методом Г. Шенка кроме капсаицина было найдено дальнейшее феноловое вещество с $R_F = 0,96$. Вещество в отличие от капсаицина не имеет палющего вкуса. Точка плавления $55,5^\circ\text{C}$ и абсорбционное максимум лежит при 235 и 292 мμ.

Поступило в редакцию 9. 2. 1960 г.

BIOCHEMIE DER ERZEUGUNG VON GEWÜRZPAPRIKA (III)
PHENOLISCHE STOFFE

V. ZITKO, Ž. ĎURIGOVÁ

Chemisches Institut der Slowakischen Akademie der Wissenschaften

Lehrstuhl für chemische Technologie von Kohlehydraten an der Slowakischen Technischen Hochschule in Bratislava

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden die phenolischen Stoffe der Früchte von Gewürzpaprika untersucht, denen bisher keine Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Mittels der Papierchromatographie wurde das Vorhandensein von Stoffen aus der Gruppe der Hydroxyzimtsäuren nachgewiesen, unter denen auf der Grundlage der R_F -Werte, der Entwicklungsreaktionen und der UV-Absorptionsspektren die Chlorogensäure identifiziert wurde. Weiter wurden im Paprika 4 flavonoide Stoffe gefunden, welche näher zu identifizieren nicht gelungen ist.

Es wurde das chromatographische Verhalten von Capsaicin untersucht. Für die Papierchromatographie des Capsaicins entspricht am besten das System Petroläther — 85 %iger Äthanol in Volumsverhältnissen 100 : 25. Capsaicin besitzt in diesem System einen Wert $R_F = 0,54$ (Papier Whatman 3). Bei der Isolierung des Capsaicins nach der Methode von G. Schenk wurde ausser dem Capsaicin noch ein weiterer phenolischer Stoff gefunden mit dem Wert $R_F = 0,96$. Zum Unterschied vom Capsaicin besitzt dieser Stoff keinen

scharfen Geschmack. Der Schmelzpunkt beträgt 55,5 °C und die Absorptionsmaxima befinden sich bei 235 und 292 m μ .

In die Redaktion eingelangt den 9. 2. 1960

LITERATÚRA

1. Hais M. I., Macek K., *Papírová chromatografie*, Praha 1954. — 2. Block R. J., Durrum E. L., Zweig G., *A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis*, New York 1955. — 3. Williams A. H., *Chem. & Ind.* 1955, 120—121. — 4. Herrmann K., *Pharmazie* 11, 433—448 (1956). — 5. Herrmann K., *Pharmazie* 13, 266—276 (1958). — 6. Peach K., Tracey M. V., *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Band III, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1955. — 7. Schulte K. E., Krüger H. M., *Ztschr. Anal. Chem.* 147, 266—270 (1955). — 8. Holló J., Gál I., Sütö J., *Fette-Seifen-Anstrichmittel* 59, 1048—1049 (1957). — 9. Suzuki J. I., Tausig F., Morse R. E., *Food Technol.* 11, 100—104 (1957). — 10. Schenk G., *Scientia Pharm.* 23, 241—242 (1955).
11. Spanyol P., Kevei J., Kiszal J., kópia práce poskytnutá dr. Palotásom. — 12. Fujita M., Furuya T., Kawana A., *J. Pharm. Soc. Japan* 74, 766—770 (1954), ref. CA 49, 3472 g (1955). — 13. Sadayoshi K., Yukio I., Kin V., *J. Agric. Chem. Soc. Japan* 32, 578—581 (1958), ref. Refer. Žurn. Chimija 49706 (1959). — 14. Zitko V., *Chem. zvesti* 11, 590—601 (1957). — 15. Weurman C., Swain T., *Nature (London)* 172, 678 (1953), ref. 4. — 16. Tanner H., Rentschler H., *Fruchtsaft Ind.* 1, 231—245 (1956). — 17. Herrmann K., osobné oznámenie. — 18. Nelson E. K., *J. Ind. Eng. Chem.* 2, 419—421 (1911). — 19. Bate-Smith E. C., *Biochem. J.* 58, 122—126 (1954).

Do redakcie došlo 9. 2. 1960

Adresa autorov:

Inž. Vladimír Zitko, inž. Želmíra Ďurigová, Bratislava, Kollárovo nám. 2, Chemický pavilón SVŠT.