

Jan Bielecki i Józef Sztencel

Z badań nad związkami fosforowemi w owocach orzecha włoskiego (*Juglans regia*).

Contribution à l'étude sur les combinaisons phosphorées
qui se trouvent dans les fruits du noyer (*Juglans regia*).

Jakkolwiek w ciągu ostatnich ośmiu dziesiątków lat już wielokrotnie różne organy orzecha włoskiego, jak drewno, kora, liście, korzenie, lupiny i owoce, były przedmiotem badań licznych uczonych¹⁾, to jednak znajomość nasza zarówno składników chemicznych tego drzewa, jak i ich sposobów powstawania i ich przemian jest dotąd bardzo niedostateczna.

Jednym z takich przykładów jest brak dotychczasowy wiadomości o charakterze chemicznym związków fosforu, którego obecność w stosunkowo większej ilości wykazały były

¹⁾ 1) Glasson. *Ann.* 61, 343 (1847); 2) J. Müller. *Archi Pharm.* 51, 39 (1847); 3) Staffel, *ibid.* 64, (1850); 4) Turner, *ibid.* [3], 14, 75; 5) Mylius, *Ber.* 17, 241; 20, 937; 6) Phipson, *Compt. rend.* 69, 1372; 7) Tanret i Villiers, *J. pharm. chim.* 23, 455 (1876); 25, 276 (1877), *Bull. soc. chim.* 31, 138; *Compt. rend.* 84, 393 (1877); 8) Maquenne, *Compt. rend.* 104, 225, 297, 1853. (1887); *Ann. chim.* [6], 12, 89 — 155; 9) BrisseMORET i Combes, *Compt. rend.* 141, 838 (1905); 10) Martin, *Amer. J. Pharm.* 468 (1886); 11) Bernthsen, *Ber.* 496 (1877); 1945 (1884); 12) Arnaud, *Bull. soc. chim.* 46, 64 (1887); *Compt. rend.* 109, 911 (1889); 13) Griessmayer i Reischauer, *Ber.* 10, 1542 (1877); 14) Braconnet, *Ann. Chim.* 74, 303; 15) Hazura i Grüssner, *Monatsh.* 9, 198 (1888); 16) Leclerc du Salbon, *Compt. rend.* 123, 845 (1896); 17) Ritthausen, *J. prakt. Chem.* 24, 257 (1881); 18) Osborne i Campbell, *J. Am. Chem. Soc.* 18, 609 (1898); 19) Kühl, *Pharm. Ztg.* 54, 58 (1908); 20) Fallot, *J. d'agric. prat.* 628 (1898); 21) Schulze i Godet, *Z. physiol. Chem.* 58, 156 (1908); 22) Langlois, *Compt. rend.* 17, 505, 619 (1848); 23) Sestini, *Experim. agrar. ital.* 10; 24) Rochleder, *Sitz. Akad. Wiss. Wien*, 54, 556 (1867).

już wczesne analizy popiołu z różnych organów orzecha włoskiego. Znajdywany w popiele kwas fosforowy mógł być nieorganicznie, albo też organicznie związany, a w tym ostatnim przypadku mogły go dostarczyć czy związki fitynowe, czy lecytyny, czy też fosfoproteidy.

Badając w roku 1921 wraz z p. Kazimierzem Hertykiem ekstrakty młodych liści orzecha włoskiego, wykryliśmy w nich obecność kwasu inozyto-fosforowego pod postacią soli wapniowo-magnezowej; ale, nie rozporządzając wówczas dostateczną ilością wyekstrahowanego czystego związku fosforowego, nie dostarczyliśmy dowodów, że nie mamy do czynienia z mieszaniną soli różnych kwasów inozytofosforowych, lecz z solą jednego tylko kwasu inozytofosforowego. Znane są obecnie kwasy inozytofosforowe następujące: sześćiofosforowy, którego sól wapniowo-sodowa bywa stosowana w medycynie pod nazwą fityny, a także kwasy pięcio, cztero, trój i inozytodwufosforowy.

Przewidując, że organiczne związki fosforowe, występujące w liściach orzecha, znajdują się również i w jego owocach, i pragnąc zarazem uniezależnić się od pory roku, podjąłem wraz z p. Józefem Sztenclem badania nad związkami fosforowymi typu fityny w orzechach, jakie napotkaliśmy w handlu.

* * *

Część doświadczalna.

Z 1,2 kg. orzechów potłuczonych i pozbawianych łupin otrzymaliśmy 400 gr. jąder orzechowych; te zaś w odpowiednim młynku zostały zgniecione na miazgę i wyciśnięte przez otwory, pod którymi obracają się noże. Oleje zostały wyekstrahowane eterem w aparacie Soxhlet'a. W celu oddzielenia lecytyn, wyciąg eterowy zadano, według metody Bergell'a¹⁾ alkoholowym roztworem chlorku magnezu i acetonu: strącił się żółtawy osad kłaczkowaty, w którym stwierdziliśmy obecność fosforu i azotu.

¹⁾ Ber. 33, 2584 (1900).

Pozostałość po ekstrakcji eterowej wygotowano w 95%-ym alkoholu, aby usunąć resztę lecytyn i związków fosforowych nieorganicznych. Wyciąg ten alkoholowy zawierał niewielką ilość fosforu. Oddestylowawszy alkohol, w pozostałej masie brunatnej stwierdziliśmy za pomocą odczynnika Fehlinga obecność cukrów. Z 400 gr. jąder orzechowych, po dokonaniu ekstrakcji eterowej i alkoholowej, pozostało około 200 gr. mączki orzechowej koloru żółtego, o dużej objętości, o zapachu podobnym do surowych orzechów, ale o smaku mdłym.

Część otrzymanej mączki orzechowej poddano próbnej ekstrakcji w wodzie destylowanej, ale wyciąg wodny wykazał tylko ślady fosforu. Wobec tego zastosowaliśmy metodę wyciągów kwaśnych, jaką podali U. Suzuki i K. Yoshimura¹⁾.

W tym celu 400 gr. mączki orzechowej, pozostałej po ekstrakcji eterowej i alkoholowej, poddaliśmy ekstrakcji w 2 litrach kwasu solnego 0,2%-owego w ciągu 12 godzin. Z otrzymanego wyciągu koloru jasnożółtego, po zadaniu równą objętością alkoholu, strącił się biały osad bezpostaciowy, który przemyto alkoholem przez dekantację, odsączono, przemyto alkoholem bezwodnym i wysuszono w eksikatorze. Osad ten oczyszczono jeszcze dwukrotnie, rozpuszczając go za każdym razem w 0,2%-owym kwasie solnym i strącając alkoholem. Wydajność wynosiła około 3 gr. związków fosforowych, co stanowi 0,25% orzechów z łupinami, albo 0,75% orzechów bez łupin. Analiza jakościowa wykazała obecność nie tylko fosforu, ale i wapnia i magnezu. Oznaczanie popiołu w każdej próbce ponownie oczyszczonej i wysuszonej w 100°C. do stałej wagi nie daje pewności, że otrzymana substancja jest już jednolita, gdyż jest bezpostaciowa.

Substancja	Popiół	w %
I. 0,4044 gr.	0,2771	68,52
II. 0,6277 gr.	0,4295	68,42

Oznaczenie wody w wyosobnionej przez nas soli wapniowo-magnezowej, która należy do typu soli fitynowych, nasuwa duże trudności, gdyż sole te pod wpływem suszenia do 100—110° ulegają rozkładowi, tworząc, jak to wykazał Posternak²⁾,

1) Bull. Collega Agric. Tokyo, 7, 495—502 (1907).

2) Compt. rend., t. 168, 1216 (1919).

niższe kwasy inozytofosforowe i nie tracą całkowicie wody mimo suszenia do 115—120°. Zachowanie się naszej substancji podczas suszenia w 115° do stałej wagi wykazuje poniższa tablica:

Słoik + substancja	17,5427 gr.
Słoik	15,9457 gr.
Substancja	1,5970 gr.
po 4 godz. suszenia	17,4928 gr.
po 4 godz. suszenia	17,4830 gr.
po 3 godz. suszenia	17,4785 gr.
po 4 godz. suszenia	17,4766 gr. subst. brunatnieje
po 2 godz. suszenia	17,4734 gr. subst. brunatnieje
po 2 godz. suszenia	17,4755 gr. subst. przyb. na wadze
Woda	0,0693 = 4,34%

Wobec tych spostrzeżeń, do analizy ilościowej wzięliśmy substancję suszoną do stałej wagi w 100°, a rezultaty analizy przeliczyliśmy dla substancji wysuszonej w 115°. Substancja była zmieszana na łódeczce z chromianem ołowiu i przetopionym dwuchromianem potasu i spalona w prądzie tlenu w celu uniknięcia koksovania. W popiele zaś, otrzymanym przez spalenie substancji w tyglu platynowym i przez stopienie go z sodą, oznaczyliśmy w jednej części ($\frac{2}{5}$), kwas fosforowy według metody W o y ' a ¹⁾, a w drugiej części obok siebie P, Ca i Mg. Oto wyniki analiz:

Subst. suszona w 100°	w 115°	CO ₂	H ₂ O	% C	% H
I. 0,2471	0,2364	0,0885	0,0569	10,2	2,69
II. 0,4755	0,4549	0,1724	0,1014	10,3	2,5
Średnia				10,25	2,6

Analiza popiołu:

Substancja w 100°	w 115°	Mg ₂ P ₂ O ₇	% P
I. 0,6277	0,6005	0,4835	22,44
II. 0,4672	0,4469	0,3587	22,40%

Substancja w 100°	w 115°	CaO	Mg ₂ P ₂ O ₇	% Ca	% Mg
I. 0,4672	0,4469	0,0602	0,1562	9,63	7,64
II. 0,4672	0,4469	0,0625	0,1525	9,99	7,45

¹⁾ Chem. Ztg. 21, 442—69 (1897).

Substancja więc nasza wyosobniona z jąder orzechowych zawiera: 10,25% C; 2,6% H; 22,42% P; 9,81% Ca; 7,54% Mg.

Próby obliczenia wzoru na podstawie tych danych analitycznych nie prowadzą do rezultatu zadawalającego. Jest to zapewne mieszanina soli kwaśnych i obojętnych kwasu inozytopięciofosforowego, gdyż stosunek węgla do fosforu wynosi 6:5.

Otrzymanie inozytu. Aby udowodnić, że wyosobniony przez nas z mączki orzechowej związek fosforowy jest związkiem typu fityny, należało otrzymać z niego przez zmydlenie inozyt. W tym celu 5 gr. substancji ogrzewaliśmy z 20 cm.³ kwasu solnego 10% w rurze zatopionej przez 8 godz. do 140°.

Płyn w rurze przybrał barwę czerwonawą, zapachem przypominał karamel i zawierał trochę węgla. Po odsączeniu węgla, odparowaniu chlorowodoru, zadaniu otrzymanego syropu bezwodnym alkoholem, na dnie naczynia pozostało trochę białej, lepkiej masy, a alkohol zabarwił się na czerwono-brunatno. Masę lepłą rozpuszczono w odrobinie wody i zadano bezwodnym alkoholem; po kilku dniach wykrystalizowały drobne igielki, które przekrystalizowano z prawie bezwodnego alkoholu. P. t. 215 — 216°. Roztwór wodny okazał się optycznie nieczynnym. Daje charakterystyczne dla inozytu reakcje Scherer'a ¹⁾ i Gallois'a ²⁾. Analiza wysuszonego w 100° inozytu dała wyniki następujące:

Substancja	otrzymano	w %	obliczono dla C ₆ H ₁₂ O ₆
0,1212 gr.	0,1779 CO ₂	40,03 C	40,0 C
	0,0727 H ₂ O	6,71 H	6,6 H

Otrzymanie soli miedziowej. Gdy wyosobnioną przez nas sól wapniowo-magnezową typu fityny w ilości 4 gr. rozpuścimy w litrze 1%-ego kwasu octowego i roztwór otrzymany zadamy roztworem octanu miedziowego, to strąca się bezpostaciowa sól miedziowa koloru jasnoniebieskiego, która rozpuszcza się w rozcieńczonych kwasach mineralnych, oraz w rozcieńczonym amoniaku. Sól ta miedziowa przemyta przez dekantację, odsączona, wymyta, wysuszona do stałej wagi w 100°, została poddana analizie. W osobnej zaś próbce oznaczyliśmy stratę

¹⁾ J. prakt. Chem. 54, 404 (1851).

²⁾ Z. anal. Chem. 4, 264 (1865).

wody przez suszenie w 110—115° i wyniki analizy obliczyliśmy w stosunku do substancji suszonej w 115°. Oznaczanie węgla i wodoru nie nasuwa żadnych trudności, gdyż substancja spala się bardzo łatwo w prądzie tlenu, pozostawiając niebieskawy popiół fosforanów miedzi. W celu oznaczenia fosforu i miedzi, osobną próbkę substancji spaliliśmy, a popiół rozpuściliśmy w rozcieńczonym kwasie azotowym; w otrzymanym roztworze strąciliśmy miedź elektrolitycznie, a fosfor metodą W o y'a.

Substancja susz.	w 100°	w 115°	H ₂ O	w %		
	0,1686	0,1622	0,0064	3,79		
Substancja susz.	w 100°	w 115°	CO ₂	H ₂ O	% C	% H
I.	0,1776	0,1709	0,0442	0,0310	7,06	2,03
II.	0,1029	0,0990	0,0260	0,0169	7,16	1,91
Średnio				7,11	1,97	

Substancja	Cu	Mg ₂ P ₂ O ₇	% Cu	% P
0,1558	0,0479	0,0877	30,75	15,7

Otrzymane wyniki analizy, a zwłaszcza stosunek między węglem, fosforem i miedzią, wyrażający się dokładnie liczbami 6:5:5, prowadzi do wzoru C₆H₂₁O₂₃P₅Cu₅, a więc do wniosku, że jest to sól pięciomiedziowa kwasu inozyto-pięcioletowego ośmiowodnego: C₆H₆ (OH) (PO₄Cu)₅ + 8H₂O czyli C₆H₂₃O₂₃P₅Cu₅.

Różnica między wzorem teoretycznym a wyliczonym z analizy, wynosząca dwa atomy wodoru, tłumaczy się dostatecznie wielkim ciężarem cząsteczkowym badanego związku.

Usiłowaliśmy również wytworzyć benzoylową pochodną kwasu inozytopięcioletowego. W tym celu na sól miedziową, zawieszoną w wodzie, działaliśmy siarko-wodorem; odsączywszy siarczek miedziowy i usunąwszy H₂S dwutlenkiem węgla, zagęściliśmy roztwór pod próżnią i działaliśmy chlorkiem benzoylu według metody Schottena i Baumanna, z uwzględnieniem modyfikacji Skraupa. Żadnego jednak produktu krystalicznego nie zdołaliśmy otrzymać. Godzi się nadmienić, że obecna w roztworze sól sodowa kwasu inozytopięcioletowego na własności żywcowate.

Otrzymanie soli ołowiowej kwasu inozytopięcioletowego. 4 gr. soli wapniowo-magnezowej, rozpuszczone w 1 litrze 1%-ego

roztworu wodnego kwasu octowego, zadano roztworem wodnym octanu ołowiawego. Powstały osad biały, bezpostaciowy przemyto wodą przez dekantację, aż do zaniku reakcji na kwas octowy, odsączono i wysuszoną do stałej wagi w 100° sól użyto do analizy. W osobnej próbce oznaczono stratę na wadze przez suszenie do 115°, przyczem substancja zmieniła swoją barwę na brązową

Substancja	115°	H ₂ O	w %
0,2163 gr.	0,2139	0,0024	1,2

Rezultaty analizy dotyczą substancji wysuszonej w 115°. Spalanie węgla i wodoru dokonano w prądzie tlenu. Podobnie jak w przypadku soli miedziowej, tak i tu, można było obserwować skraplanie się wody w przedniej części rury do spalań, zanim jeszcze substancja w łódeczce zaczęła się spalać. Popiół, pozostały na łódeczce, rozpuszczono w rozcieńczonym kwasie solnym na gorąco, a ołów strącono rozcieńczonym kwasem siarkowym. Odsączony przez tygielek Gooch'a siarczan ołowiu, przemyty wodą zakwaszoną, następnie alkoholem bezwodnym, wysuszony i łagodnie przeprażony zważono. W przesączu po siarczanie ołowiawym oznaczono kwas fosforowy mieszaniną magnezjową w zwykły sposób. Oto wyniki analiz:

Subst. susz. w 100°—w 115°	CO ₂	H ₂ O	% C	% H
I. 0,3996 0,3948	0,0614	0,0255	4,24	0,72
II. 0,7424 0,7335	0,1100	0,0396	4,1	0,68
	Średnia		4,17	0,70
Subst. susz. w 100°—w 115°	PbSO ₄	Mg ₂ P ₂ O ₇	% Pb	% P
I. 0,7424 0,7335	0,6612	0,2752	61,55	10,45
II. 0,3020 0,2984	0,2708	0,1130	61,75	10,52
	Średnia		61,65	10,48

Otrzymane dane wskazują, że stosunek pierwiastków C : H : O : P : Pb wyraża się liczbami 6 : 12 : 24,5 : 5,5 : 5. Mnożąc przez 2, otrzymalibyśmy liczby całkowite i wzór C₁₂H₂₄O₄₉P₁₁Pb₁₀, zawierający dwa pierścienie inozytowe, połączone za pomocą jednej reszty kwasu fosforowego. Ale wzór taki nie daje się pogodzić z ogólnymi naszymi poglądami na

budowę. Uwzględniając przeto tę okoliczność, że sól nasza ołowiawa jest bezpostaciowa i może adsorbować z roztworu inne związki, a także, że przy suszeniu jej zachodzi niewątpliwie rozkład, gdyż zmienia bardzo wyraźnie swoją barwę, uważamy, że soli ołowiawej należy raczej przypisać wzór $C_6H_{12}O_{24}P_5Pb_5$ albo $C_6H_6(OH)(PO_4Pb)_5 + 3H_2O$. Wzór ten zgadza się ze wzorem analogicznej soli miedziowej kwasu inozyto-dięciofosforowego. Na wielką zdolność do rozkładu kwasów inozytofosforowych wskazuje między innymi i fakt, zaobserwowany przed paru laty przez R. J. Anderson'a ¹⁾. W mące ze zmielonych nasion klonu, badacz ten stwierdził obecność kwasu inozytosześciofosforowego, a po 2 latach w tejże mączce okazał się tylko kwas inozytopięciofosforowy. Obecności jednak czynnej fitazy nie zdołano wykryć. Oczywiście jest, że jeszcze łatwiej może zachodzić podobny rozkład i soli ołowiawej kwasu inozytopięciofosforowego podczas suszenia do 100° C.

Wyniki więc dotychczasowych badań naszych nad związkami fosforowymi w orzechach włoskich możemy streścić w następujących zdaniach:

1-o. Przez ekstrakcję zmielonych jąder owoców orzecha włoskiego za pomocą eteru, a następnie alkoholu, z organicznych związków fosforowych otrzymują się lecytyny.

2-o. Z pozostałej mączki orzechowej przez ekstrakcję 0,2%-owym kwasem solnym i strącenie alkoholem otrzymują się związki fosforowe typu fityny. W naszym przypadku jest to sól wapniowo-magnezowa kwasu inozytopięciofosforowego, albo mieszanina soli kwaśnych i obojętnych tego kwasu.

3-o. Ogrzewanie tej soli z 10%-owym kwasem solnym w rurze zatopionej do 140°, hydrolizuje ją na inozyt optycznie nieczynny i na kwas fosforowy. Inozyt został zidentyfikowany za pomocą reakcyj charakterystycznych Scherer'a i Gallois'a, punkt topienia 215° — 216° i analizę elementarną.

4-o. Z soli wapniowo - magnezowej, rozpuszczonej w 1%-owym kwasie octowym i zadanej octanem miedziowym,

¹⁾ J. Biol. Chem. 43, 469 — 75 (1920).

otrzymaliśmy jasno-niebieską, bezpostaciową sól miedziową o wzorze $C_6H_6(OH)(PO_4Cu)_5 + 8H_2O$.

5-o. W analogiczny sposób otrzymaliśmy też i sól ołowią kwasu inozytopięciofosforowego o wzorze $C_6H_6(OH)(PO_4Pb)_5 + 3H_2O$.

Badania nad pozostałymi związkami organicznymi fosforowemi w owocach orzecha włoskiego są w toku.

Politechnika Warszawska
Zakład Chemji organicznej.

Résumé.

1) Des combinaisons organiques phosphorées qui se trouvent dans les noix nous avons extrait à l'éther et à l'alcool des lécithines.

2) Ensuite de l'extrait à l'eau acidulé, ($O,2\%_o HCl$) en y ajoutant de l'alcool à $95\%_o$ nous avons précipité des sels $Mg-Ca$ de l'acide inositopentaphosphorique.

3) Par hydrolyse de ces sels nous avons obtenu de l'inosite optiquement inactif qui a été identifié par les réactions colorées de Scherer et de Gallois, par son point de fusion et par analyse élémentaire.

4) Nous avons préparé un sel cuivrique de l'acide inositopentaphosphorique dont la formule de constitution est la suivante: $C_6H_6(OH)(PO_4Cu)_5 + 8H_2O$.

5) Au sel plombique, préparé d'une façon analogue, nous attribuons la formule suivante: $C_6H_6(OH)(PO_4Pb)_5 + 3H_2O$.

Varsovie. Institut de chimie organique de l'Ecole Polytechnique.

