

4. *Porównanie kwasu poligalakturonowego z galakturonidem  $G_{IV}$ , otrzymanym przez hydrolizę kwasową pierwotnego galakturonidu.*

(Porównaj część IV, rozdział 4).

Skład obudwu produktów jest prawie identyczny; jeden z nich jest wolnym kwasem, drugi — kwaśną solą wapniową. Pomimo jednakowego składu substancje te bardzo wyraźnie różnią się między sobą. Kwas poligalakturonowy jest prawie nierozpuszczalny w wodzie zimnej i gorącej; galakturonid  $G_{IV}$  — w wodzie gorącej i zimnej rozpuszcza się z łatwością. Kwas poligalakturonowy daje sól sodową względnie mało rozpuszczalną w zimnej wodzie; roztwór soli przez dodanie nadmiaru NaOH ulega częściowo strąceniu. Preparat  $G_{IV}$  nawet w stężonym roztworze nie ulega strąceniu przez NaOH. Z roztworu soli sodowej kwas poligalakturonowy strąca się kwasem mineralnym. Z roztworu soli galakturonidu  $G_{IV}$  kwas mineralny nic nie strąca nawet przy znacznym stężeniu galakturonidu.

Dodanie do roztworu  $G_{IV}$  wodorotlenku baru lub zasadowego octanu ołowiu strąca galaretowaty osad, podobnie jak dla kwasu poligalakturonowego. Prócz tego różnica polega na tem, że kwas poligalakturonowy zawiera całkiem nieznaczną ilość grup redukujących, galakturonid zaś  $G_{IV}$  — zawiera tych grup ok. 25%.

Dotychczasowe badania nie dają odpowiedzi na pytanie, na czym polega różnica między galakturonidem  $G_{IV}$ , otrzymanym wyłącznie przez hydrolizę kwasową pierwotnego galakturonidu, a kwasem poligalakturonowym, otrzymanym przez działanie ługu na galakturonid i hydrolizę kwasową otrzymanego kwasu pektynowego. Być może, że różnica ta polega na wielkości cząsteczki, na stopniu hydrolizy (kwasowej): kwas poligalakturonowy posiada znacznie większą cząsteczkę, niż galakturonid  $G_{IV}$ ? Może być jednak również, że różnica między nimi sięga głębiej i dotyczy samej budowy cząsteczki jednego i drugiego związku.

## C z ę ś ć VI.

### Ostateczne produkty hydrolizy galakturonidu i arabanu.

#### 1. *Kwas d-galakturonowy.*

Kwas ten otrzymaliśmy w krystalicznym stanie przez ostateczną, bardziej energiczną hydrolizę kwasową kwasu pektynowego, otrzymanego według metody, opisanej w części V, rozdz. 2. Kwas pektynowy zawierał ok. 70% kwasów heksuronowych.

25 g tego kwasu zalano 500 cm<sup>3</sup>  $\frac{n}{10}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i ogrzewano w autoklawie przez 2½ godz. w temperaturze 125°—130°. Po wykonaniu hydrolizy odsączono ciemny

roztwór od niewielkiej ilości nierozpuszczalnych produktów rozkładu, w przesączu strącono  $H_2SO_4$  odmierzoną ilością  $\frac{n}{4} Ba(OH)_2$ , odsączono od  $BaSO_4$ , zagęszczono otrzymany roztwór do 200 cm<sup>3</sup>, odbarwiono oczyszczonym węglem z krwi i wreszcie zalano 600 cm<sup>3</sup> 95% alkoholu. Stracił się przytem osad, który odsączono i przemyto alkoholem. Osadu otrzymano ok. 2 g.

Osad ten, otrzymany z paru doświadczeń w ilości ok. 5 g. poddany został badaniu. Oczyszczono go przedewszystkiem przez rozpuszczanie w gorącej wodzie, dodanie węgla z krwi, odsączenie, zagęszczenie i strącenie alkoholem.

Analiza dała następujące wyniki:

T a b l i c a   X X X .

|                              | W 100 cz.<br>subst. such. | W 100 cz. substancji<br>organ. suchej |           |
|------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|-----------|
| Popiół                       | 22,3%                     |                                       |           |
| Kwasy heksuronowe            | 71,2%                     | 96,0%                                 | 2 Mole    |
| Grupy galaktozydowe          | 73,2%                     | 100,9%                                |           |
| Grupy reduk., jako galaktoza | 30,6%                     | 41,2%                                 | 1)        |
| „ „ po hydrolizie            | 55,1%                     | 74,3%                                 | 2)        |
| Liczba kwasowa               | 45 cm <sup>3</sup>        | 60,5 cm <sup>3</sup>                  |           |
| $[\alpha]_D$                 | 154°                      | + 207°                                |           |
| Liczba soli kw. organ.       | 409 cm <sup>3</sup>       | 528 cm <sup>3</sup>                   | 1,94 Mola |

Popiół składa się głównie z  $CaO$  i  $BaCO_3$ . Substancja ta rozpuszcza się w zimnej wodzie mało, w gorącej dobrze; rozpuszcza się z łatwością w rozcieńczonych kwasach mineralnych. Sądząc z analizy mamy tu do czynienia z solą  $Ca$ 'ową z domieszką  $Ea$ 'owej kwasu dwugalakturonowego. Część więc pierwotnego kwasu poligalakturonowego nie została zhydrolizowana do końca. Przesącz od tego osadu po strąceniu alkoholem i oddestylowaniu części alkoholu, tak ażeby w pozostałości otrzymać ~50%-owy alkohol, zadano wodorotlenkiem baru aż do reakcji słabo alkalicznej na fenolaftaleinę. Wypadł osad soli barowej koloru żółtego, który odsączono, przemyto alkoholem 50%-ym i zaraz rozłożono, rozcierając z nadmiarem  $H_2SO_4$ . Roztwór odsączony od  $BaSO_4$  po usunięciu nadmiaru baru przez  $H_2SO_4$  i ponownem odsączeniu od  $BaSO_4$  zagęszczono. Przesącz alkoholowy od strącenia soli barowej zakwaszono nadmiarem  $H_2SO_4$ , odsączono od  $BaSO_4$  i t. d.

Otrzymane w ten sposób dwa przesącze, z których a) winien zawierać kwas galakturonowy a b) cukry proste, pochodzące z kwasu pektynowego — poddano analizie, przyczem znaleziono:

1) Uwzględniając mniejszą zdolność redukcyjną kwasu galakturonowego, możemy przyjąć, że w rzeczywistości odpowiada ona tu ok. 50% kwasu galakturonowego.

2) około 85% kwasu galakturonowego.

T a b l i c a XXXI.

|  | <i>a</i>              | <i>b</i> |
|--|-----------------------|----------|
| Ilość subst. suchej na 100 cz. kwasu pektyn. | 24.0%                 | 21.0%    |
| W 100 cz. substancji organicznej:            |                       |          |
| Kwasy heksuronowe                            | 79.8%                 | 20.1%    |
| Galaktoza (z kw. śluzowego)                  | 82.8%                 | 59.2%    |
| Cukry redukujące                             | 81.6%                 | 74.6%    |
| Liczba kwasowa                               | 606.0 cm <sup>3</sup> | —        |
| [α] <sub>D</sub>                             | + 56.6                | + 52.0   |

Według danych analizy roztwór *a* zawiera prawie wyłącznie kwas galakturonowy.

Roztwór *a*, zagęszczony do nieznacznej objętości (ok. 25 cm<sup>3</sup>) zadano alkoholem w takiej ilości, aby otrzymać ok. 70%-y alkohol, odsączono od nieznacznego osadu i pozostawiono w eksykatorze próżniowym do krystalizacji. Przy dłuższym staniu roztworu krystalizowała, w miarę jego odparowywania, substancja w postaci mikroskopijnych igielek.

Ilość otrzymanej substancji wyniosła 1,3 gr. W podobny sposób otrzymano w innym doświadczeniu z 50 g kwasu pektynowego ok. 3,0 g substancji. Substancję tę przekrystalizowano parokrotnie z alkoholu 70%-go, oddzielając część trudno rozpuszczalną.

Otrzymano 3,5 g prawie białej krystalicznej substancji, która wykazała następujące własności.

*Krystalizuje* z 70%—80% alkoholu w postaci skupień drobnych, cienkich igielek, mało rozpuszczalnych w zimnym 95%-ym alkoholu, lepiej we wrzącym, prawie nierozpuszczalnych w eterze.

*Punkt topnienia* waha się w granicach 116°—120° C., zależnie od szybkości ogrzewania; przy powolnem ogrzewaniu substancja zaczyna mięknąć, już poczynając od 100°, a przy długim ogrzewaniu nawet od 90°; wyraźnie mięknie w 105°—110°. Około p. t. zachodzi rozkład substancji, związany z pociemnieniem.

*Skład elementarny:*

|   | Znaleziono     | Obliczono dla C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> · H <sub>2</sub> O |
|---|----------------|--|
| C | 33,92%; 33,82% | 33,95%   |
| H | 6,02%; 6,00%   | 5,70%  |

*Woda „krystalizacyjna“* nie wydziela się przy staniu w eksykatorze, ani przy suszeniu w temperaturze poniżej 80° C. W 90° C. substancja zaczyna tracić wodę i jednocześnie zaczyna mięknąć, po 1 godzinie suszenia—strata na wadze wynosi 9,5%, teoretycznie jednej cząsteczce wody odpowiada 8,5%. Przy dalszym suszeniu w temperaturze 100°—102° C. substancja mięknie, ciemnieje i traci dalej na wadze, po godzinie strata wynosi 19% (2 H<sub>2</sub>O?).

*Kwasowość:* na 100 g substancji w cm<sup>3</sup> n NaOH

znaleziono . . . . . 452 cm<sup>3</sup>

obliczono dla C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub> · H<sub>2</sub>O . 471 cm<sup>3</sup>

*Zdolność redukcyjna.* Roztwór substancji, zubożony przez NaOH, redukuje plyn F e h l i n g ' a dopiero przy ogrzewaniu powyżej 75°. 81,4 mg substancji,

czyli 74,5 mg  $C_6H_{10}O_7$ , dało 106,5 mg Cu, co odpowiada 60,3 mg galaktozy. Stąd wniosek, że zdolność redukcyjna kwasu galakturonowego jest mniejsza, niż galaktozy w stosunku ok. 0,81 = 1,00.

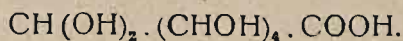
Przy utlenianiu kwasem azotowym substancja daje kwas śluzowy. 106 mg substancji dało (według metody H a a r'a) 47,3 mg kwasu śluzowego, co odpowiada 89 mg galaktozy, czyli w przeliczeniu 105 mg  $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$ .

*Skręcalność właściwa.*  $[\alpha]_D^{20} = +49,4$ , dla  $c = 1.85$  gr/100  $cm^3$  dla  $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$ ,

skąd w przeliczeniu dla  $C_6H_{10}O_7$ :  $[\alpha]_D^{20} = +54,0$ .

*Reakcje jakościowe.* Roztwór substancji daje reakcje z naftorezorcyną na kwas heksuronowy: reakcję T o l l e n s'a (z eterem) intensywną z fiołkowym zabarwieniem, reakcję N e u b e r g'a (z benzenem) słabszą z niebieskim zabarwieniem. Z roztworu wodnego zasadowy octan ołowiu strąca obfity biały osad;  $Ba(OH)_2$  i  $Ca(OH)_2$  — dopiero po dodaniu alkoholu.

Na zasadzie przytoczonych danych doświadczalnych można twierdzić, że otrzymana substancja jest wodzianem kwasu d-galakturonowego,  $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O = C_6H_{12}O_8$ . Wobec tego, że F. Ehrlich otrzymał w podobny sposób z kwasu poligalakturonowego bezwodny kwas d-galakturonowy, o p. t.  $158^\circ - 159^\circ$ , można wypowiedzieć przypuszczenie, że kwasy heksuronowe, podobnie jak cukry proste, mogą istnieć w postaci wodzianu i bezwodnika. Wolno też przez analogję z cukrami prostymi przypuszczać, że wodziany tych kwasów zawierają  $H_2O$  nie jako wodę krystalizacyjną, lecz jako wodę konstytucyjną, przyłączoną do grupy —  $C \leq \overset{O}{H}$ , a wodzianowi kwasu galakturonowego przypisać wzór:



W innym doświadczeniu otrzymano, w sposób podobny do opisanego, ok. 3 g. kwasu galakturonowego, który następnie przekrystalizowano: 1) z 70% alkoholu, 2) z 80%, odsączając za każdym razem nieznaczną część nierozpuszczalną. Otrzymano 2,3 g. oczyszczonej substancji, która po wysuszeniu w powietrzu posiadała następujące własności.

*Suszone w eksykatorze* nad świeżym  $CaCl_2$  pod próżnią w przeciągu 4 dób nie zmieniała ciężaru. Przy suszeniu w suszarce w temperaturze stopniowo podwyższonej od  $60^\circ$  do  $80^\circ - 85^\circ$  stopniowo utraciła na wadze 8,5% (1 Mol  $H_2O$ ), a przy dalszem suszeniu w tej samej temperaturze  $80^\circ - 85^\circ$  już na wadze nie traciła.

*Przy ogrzewaniu w kapilarze:* w temper.  $108^\circ - 112^\circ$  mięknie (jakby zaczyna się topić), poczem przy dalszem ogrzewaniu w  $118^\circ - 120^\circ$  zaczyna zmieniać barwę, w  $130^\circ$  — różowieje, w  $145^\circ$  — kurczy się i ciemnieje, w  $154^\circ - 156^\circ$  — topi i zaraz potem pieni się (rozkłada).

*Skręcalność właściwa*  $[\alpha]_D^{20} = +53^\circ$  dla  $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$  czyli  $+57,9^\circ$  dla  $C_6H_{10}O_7$ , przy  $c = 1.6$  gr/100  $cm^3$  i wykonaniu polaryzacji w  $\frac{1}{2}$  godziny po rozpuszczeniu.

*Kwasowość* wyniosła 457,3  $cm^3$  n NaOH na 100 gr substancji.

Obliczono: dla  $C_6H_{10}O_7$  — 515,5  $cm^3$   
 „  $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$  — 471,0  $cm^3$ .

**Zdolność redukcyjna.** 96 mg substancji, czyli 87,8 mg  $C_6H_{10}O_7$  dało (jako przeciętną z 2-ch oznaczeń) 131 mg Cu, co odpowiada 73,7 mg galaktozy, skąd wynika, że zdolność redukcyjna kwasu galakturonowego wynosi 83% zdolności redukcyjnej galaktozy.

**Ilość kwasu śluzowego** przy utlenianiu kwasem azotowym (według Haara'a): 250 mg substancji, czyli 229 mg  $C_6H_{10}O_7$  dało 110 mg kwasu śluzowego, co odpowiada 161 mg galaktozy, skąd wniosek, że kwas galakturonowy daje 70% tej ilości kwasu śluzowego, którą daje galaktoza.

**Skład elementarny:**

|   | Znaleziono |       | Obliczono      |                           |
|---|------------|-------|----------------|---------------------------|
|   |            |       | $C_6H_{10}O_7$ | $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$ |
| C | 34,31;     | 33,91 | 37,11          | 33,95                     |
| H | 5,76;      | 5,74  | 5,15           | 5,70                      |

Pozostała od opisanych oznaczeń ilość substancji (ok. 0,6 g.) poddana została raz jeszcze przekryształowaniu, przyczem jako rozpuszczalnika użyliśmy 90% alkoholu (na 0,6 g. wypadło użyć 40  $cm^3$ ), po odsączeniu od minimalnej części nierozpuszczonej dodaliśmy 5  $cm^3$  eteru, wytworzony męt odcedziliśmy po dodaniu szczypty węgla, poczem do przesączu dodaliśmy duży nadmiar eteru i pozostawiliśmy w eksykatorku próżniowym do krystalizacji, która trwała kilka dni. Otrzymane kryształy, przemyto eterem, suszono przez dwa dni nad  $CaCl_2$  pod próżnią.

Otrzymana zupełnie biała krystaliczna substancja posiada następujące własności.

**Punkt topnienia:** ogrzewana w kapilarze (pograżonej do kwasu siarkowego uprzednio ogrzanego do 90°) w 110°—ostro mięknie, jakby topiąc się, w 120°—lekkociemnieje, dalej ciemnieje silniej, wreszcie w 157° — 159° topi się i rozkłada; przy szybszym ogrzewaniu w 110° wyraźnie topi się po raz pierwszy, poczem w 158° — 159° — topi się po raz wtóry i rozkłada; przy wstawieniu do kwasu siarkowego uprzednio ogrzanego do 125°—topi się ostro, dając białą ciecz.

**Skრęcalność właściwa.** Dla  $c = 0,61$  gr/100  $cm^3$   $[\alpha]_D^{20}$ :

|                        | dla $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$ | dla $C_6H_{10}O_7$ |
|------------------------|-------------------------------|--------------------|
| zaraz po rozpuszczeniu | + 56°,7                       | + 62°,0            |
| w 1 1/2 godziny        | + 53°,0                       | + 57°,9            |
| 4 „                    | + 50°,5                       | + 55°,2            |
| 24 „                   | + 49°,9                       | + 54°,5            |

**Kwasowość.** 445,2  $cm^3$  nNaOH na 100 g substancji.

**Zdolność redukcyjna.** 97,3 mg substancji, cz. 89 mg  $C_6H_{10}O_7$  dało 126,1 mg Cu, co odpowiada 70,7 mg galaktozy, skąd stosunek zdolności redukcyjnej kwasu galakturonowego do zdolności redukcyjnej galaktozy = 0,80 i 1,00.

**Ilość kwasu śluzowego.** Przy utlenieniu  $HNO_3$  192 mg substancji, czyli 176 mg  $C_6H_{10}O_7$  dało 97,3 mg kwasu śluzowego, co odpowiada 147 mg galaktozy, a więc tej samej ilości kwasu śluzowego odpowiada 83,5% kwasu galakturonowego w porównaniu z galaktozą.

## Skład elementarny:

$$C = 34,72\%$$

$$H = 5,67\%$$

Porównyując osiągnięte rezultaty z danymi Ehrlicha, który pracując według podobnej metody, parokrotnie otrzymał bezwodny kwas galakturonowy  $C_6H_{10}O_7$ , o p. t.  $159^\circ$  i  $[\alpha]_D = +53,5^\circ - 54,2^\circ$ , dochodzimy raz jeszcze do wniosku, że kwas galakturonowy, otrzymany przez nas jest wodzianem tego kwasu,  $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$ . Wodzian ten posiada swój punkt topnienia, który trudno jest dokładnie ustalić, gdyż zależnie od warunków ogrzewania jest on nieco wyższy lub nieco niższy, albowiem przy ogrzewaniu, jeszcze poniżej punktu topnienia, zaczyna zachodzić utrata wody.

Najprawdopodobniejszy wydaje się nam p. t. wodzianu ok.  $110^\circ - 112^\circ$ . Powyżej tego punktu substancja, tracąc  $H_2O$ , przechodzi w bezwodny kwas d-galakturonowy, który topi się (zgodnie z danymi Ehrlicha) w  $158^\circ - 159^\circ$ . Warunki powstawania bezwodnego kwasu i wodzianu nie zostały bliżej poznane, można przypuszczać, że podobnie jak dla cukrów prostych, z roztworów alkoholowych bardziej wodnych krystalizuje wodzian, z wysokoprocentowego alkoholu — bezwodny kwas, ewentualnie, że można otrzymać wodzian lub kwas bezwodny, zależnie od tego, jaki wprowadzono zarazek.

Zdolność redukcyjna kwasu galakturonowego wynosi ok. 80% zdolności redukcyjnej galaktozy.

Ilość kwasu śluzowego, powstającego przy utlenianiu  $HNO_3$ , nie została dokładnie ustalona: otrzymano trzy rozbieżne rezultaty, co zdaje się świadczyć o tem, że drobne nawet uchylenia w wykonaniu utleniania już wpływają na bieg i wynik utleniania kwasu galakturonowego. W każdym razie wydaje się prawdopodobne, że ilość kwasu śluzowego jest mniejsza dla kwasu galakturonowego, niż dla galaktozy, wynosząc ok. 85% tej ostatniej, t. j. przy korzystaniu z tablic Haar'a należy dzielić znalezione z kwasu śluzowego miligramy galaktozy prawdopodobnie przez 0,85 — 0,90, ażeby otrzymać kwas galakturonowy  $C_6H_{10}O_7$  lub przez 0,75 — 0,80, aby otrzymać grupy galakturonidowe,  $(C_6H_8O_6)_n$ .

Wydałość krystalicznego kwasu galakturonowego z kwasu pektynowego (o 70—75% kwasu heksuronowego) w opisanych doświadczeniach była nieznaczna, ok. 4—5%. W ługu nieczystym po krystalizacji kwasu galakturonowego zawarte są jeszcze znaczne ilości substancji organicznej (ok. 20%, licząc na wyjściowy kwas pektynowy); według analizy główna część tej substancji (ok. 75%) jest kwasem galakturonowym. Jednakże z roztworu tego dalsza krystalizacja nie następuje. Przez częściowe strącanie wodnego roztworu zasadowym octanem ołowiu można z frakcji środkowych uzyskać jeszcze pewną ilość kwasu galakturonowego.

Wobec tego, że hydroliza kwasu pektynowego  $\frac{n}{10} H_2SO_4$  w t. =  $125^\circ - 130^\circ$  przez  $2\frac{1}{2}$  godz., okazała się niedość energiczna, gdyż część produktów otrzymano

w postaci kwasu dwu-galakturonowego, wykonano próby hydrolizy w  $t = 130^{\circ} - 135^{\circ}$  przez 3 godz. Jednakże i w ten sposób nie osiągnięto lepszej wydajności krystalicznego kwasu dwu-galakturonowego.

Wykonano też próby, w których zamiast strącania kwasu galakturonowego z alkoholowego roztworu produktów hydrolizy wodorotlenkiem baru, strącano z wodnego roztworu zasadowym octanem ołowiu, przemyty osad soli ołowiowych rozkładano  $H_2S$  i t. d. Jednakże osiągnięto tu znacznie gorszą wydajność kwasu galakturonowego.

Natomiast znacznie lepszą wydajność krystalicznego kwasu osiągnięto, strącając wodorotlenkiem barowym z alkoholowego roztworu częściowo: początkowo dodając  $\frac{1}{4}$  ogólnej ilości  $Ba(OH)_2$ , później do przesącza resztę. Z drugiego osadu otrzymano wtedy 8,5% kwasu galakturonowego, licząc na wyjściowy kwas pektynowy.

Próbowano też otrzymać kwas ggalakturonowy z soli barowej kwasu pektynowego, otrzymanej przez działanie  $Ba(OH)_2$  na galakturonid, wynik próby był ujemny.

Również ujemny wynik dała próba otrzymania kwasu galakturonowego z kwasu poligalakturonowego (GIV), otrzymanego wyłącznie przez kwasową hydrolizę galakturonidu.

## 2. Inne kwasy heksuronowe? (Utlenianie galakturonidu kwasem azotowym).

Skład galakturonidów, według analiz, przytoczonych w części III, nie wyklucza jeszcze ostatecznie możliwości istnienia obok kwasu galakturonowego innych kwasów heksuronowych, takich jak np. kwas glukuronowy, ewentualnie kwasów penturonowych (jak np. nieznany jeszcze kwas aroburonowy) lub też nawet, ogólniej biorąc, także innych kwasów, posiadających tę własność, iż przy gotowaniu z 12%  $HCl$  odrywa się z nich  $CO_2$ .

Z kwasów heksuronowych dokładniej znany jest tylko kwas glukuronowy. Kwas ten wykryty został przez K. Smoleńskiego w soku buraczanym w postaci związku, w którym kwas ten sprzężony jest z kwasem buraczano-żywicowym: t. zw. *glukuronidu kwasu buraczano-żywicowego* czyli *kwaśnej saponiny buraczanej*. Obecność kwasu glukuronowego w galakturonidzie wydała się nam możliwa. W celu sprawdzenia tego przypuszczenia podjęliśmy szczegółowe zbadanie kwasów, tworzących się przy utlenianiu galakturonidu kwasem azotowym,  $d = 1,15$ , w celu przekonania się, czy obok kwasu śluzowego i trójoksyglutarowego nie występuje kwas cukrowy, którego obecność wśród produktów utlenienia świadczyłaby o zawartości w galakturonidzie kwasu glukuronowego lub też glukozy.

Wobec braku w literaturze prac, w którychby szczegółowo było opisane badanie produktów utleniania mieszaniny, zawierającej galaktozę, arabinozę i glukozę obok siebie, wykonano przedewszystkiem doświadczenia, w których utleniano kwasem azotowym najpierw każdy z tych cukrów oddzielnie, a następnie ich mieszaninę. Przy *utlenianiu czystej galaktozy* (Kahlbauma) 12-krotną ilością  $HNO_3$  ( $d = 1,15$ ) postępowano jak następuje. Po zagęszczeniu roztworu w zlewce na łaźni wodnej do  $\frac{1}{4}$  objętości odpędzono kwas azotowy przez kilkakrotne dodawanie wody

i zagęszczenie do początkowej objętości. Po 48 godz. odcedzono kwas śluzowy; wydajność—66% na wagę użytej galaktozy, p. t. 207° — 208°. Sprawdzono wygląd krystaliczny kwasu i charakterystycznej dla niego soli talowej. Surowy kwas oczyszczono przez rozpuszczenie w NaOH i strącenie HCl; p. t. oczyszczonego kwasu — 212° C.

*Utlennianie d-glukozy* przeprowadzono w ten sam sposób, co utlenianie galaktozy. Po zobojętnieniu roztworu  $K_2CO_3$  i dodaniu stężonego kwasu octowego otrzymano kwaśną sól potasową kwasu cukrowego w postaci charakterystycznych [pod mikroskopem] kryształów; z przesączu po zagęszczeniu otrzymano jeszcze 2 porcje takich samych kryształów, razem wydajność tej soli wyniosła 40% użytej glukozy. Z soli tej otrzymano sól srebrową, która wykazała 51,3% Ag (teoret. 50,94%). Przez mianowanie kwaśnej soli potasowej (przekrystalizowanej) znaleziono w niej 16,1% K (obliczono 15,73%). Z kwaśnej soli potasowej otrzymano sól ołowiową przez rozpuszczenie soli potasowej w wodzie, zobojętnienie amoniakiem, strącenie octanem ołowiu, odsączenie i przemycie soli ołowiowej (sól ta jest prawie nierozpuszczalna w wodzie). Sól ołowiową rozłożyło  $H_2S$ , przesącz od  $PbS$  zagęszczono i gotowano z  $CaCO_3$  celem otrzymania soli wapniowej kwasu cukrowego. Sól ta, jak się później okazało, jest bardzo trudno rozpuszczalna w wodzie: 1 g soli rozpuszcza się w 7800 g wody zimnej, a w 350 g wody gorącej. Wobec tego otrzymano sól później wprost przez zadanie chlorkiem wapnia zobojętnionego roztworu kwaśnej soli potasowej. Otrzymaną w ten lub inny sposób sól wapniową kwasu cukrowego przekrystalizowywano z wrzącej wody. Sól przekrystalizowana przedstawia drobno krystaliczny proszek, pod mikroskopem podłużne słupki. Sól krystalizuje z 3 cząsteczkami wody, którą oddaje w 104°—105°:  $C_6H_{12}O_6Ca \cdot 3H_2O$ . Oznaczenie Ca dało 16,2% (obliczono 16,13%). Przy dalszem zagęszczaniu przesączu od kwaśnej soli potasowej kwasu cukrowego otrzymano kryształy zupełnie różne od pierwszych, a mianowicie duże, szerokie, wielokątne blaszki. Kryształy te okazały się po zbadaniu *obojętnym szczawianem potasowym*. Oznaczenie K dało 46,65% (obliczono 46,9%); mianowanie nadmanganianem potasowym dało również rezultat zgodny z obliczonym; inne reakcje jakościowe zgodnie świadczą, iż sól ta jest *szczawianem*.

*Utlennianie l-arabinozy* wykonano podobnie, jak utlenianie galaktozy i glukozy. Po zobojętnieniu roztworu  $K_2CO_3$  i zagęszczeniu otrzymano (w kilku frakcjach) osady krystaliczne, które, jak wykazało dalsze badanie, są mieszaniną obojętnych soli potasowych kwasu trójkwasowego (drobne trójkątne kryształy) i szczawianowego. Po poznaniu własności tych soli okazało się, że można je rozdzielić w postaci soli wapniowych, gdyż sól wapniowa kwasu trójkwasowego jest dość dobrze rozpuszczalna w wodzie wrzącej. Mieszaninę soli potasowych przeprowadzono w nierozpuszczalne w wodzie sole ołowiowe, z tych po działaniu  $H_2S$  otrzymano roztwór wolnych kwasów, z którego po zobojętnieniu  $CaCO_3$  i wygotowaniu z wodą, otrzymano roztwór soli wapniowej, z tego zaś po zagęszczeniu wykrystalizowała sól wapniowa kwasu trójkwasowego. Sól ta zawiera 2 cząsteczki wody, które oddaje przy suszeniu w 105°. W bezwodnej soli znaleziono 18,28% Ca (obliczono dla  $[COO \cdot (CHOH)_2 \cdot COO]Ca$  18,34% Ca. Spalanie organiczne wykazało:

| Znaleziono | Obliczono |
|------------|-----------|
| C — 28,0%  | 27,5%     |
| H — 3,1%   | 2,75%.    |

Oddzieloną od roztworu soli wapniowej kwasu trójkwasowego mieszaninę nadmiaru  $CaCO_3$ , i domniemanego szczawianu wapnia traktowano wodą zakwa-

szoną kwasem octowym. Nerozpuszczona sól zawiera 30,8% Ca (obliczono dla  $(\text{COO})_2\text{Ca}$  31,2% Ca) i daje reakcje szczawianu.

*Utlennianie mieszaniny d-glukozy i l-arabinozy* wykonano jak wyżej.

Z roztworu zobojętnionego  $\text{K}_2\text{CO}_3$  i zakwaszonego kwasem octowym wypadają kolejno przy stopniowym zagęszczaniu trzy frakcje kryształów:

1. *Kwaśna sól potasowa kwasu cukrowego*, łatwa do rozpoznania z charakterystycznego wyglądu kryształów szczególnie po przekrystalizowaniu; do ścisłej identyfikacji posłużyła analiza soli srebrowej—znaleziono 51,3% Ag (obliczono 50,94%) i mianowanie—znaleziono 15,5% K (obliczono 15,7%).

2. *Szczawian potasu*, stwierdzony na podstawie charakterystycznego wyglądu kryształów, oraz z oznaczenia K w przekrystalizowanej soli—znaleziono 46,3% (obliczono 46,99% K), wreszcie z reakcyj jakościowych.

3. *Obojętna sól potasowa kwasu trójoksylglutarowego*, zanieczyszczona zwykle szczawianem potasowym, (odróżnić obie sole można z wyglądu kryształów pod mikroskopem). Sole te rozdzielono w postaci soli wapniowych według metody opisanej przy utlenianiu arabinozy.

*Utlennianie mieszaniny d-galaktozy, d-glukozy i l-arabinozy*.

Po oddzieleniu kwasu śluzowego roztwór zobojętniono  $\text{K}_2\text{CO}_3$  i zakwaszono kwasem octowym. Przy zagęszczaniu stopniowo krystalizowały: 1. kwaśna sól potasowa kwasu cukrowego, 2. szczawian potasu i 3. sól potasowa kwasu trójoksylglutarowego, które zidentyfikowano z całą dokładnością według wyżej opisanych metod.

*Utlennianie galakturonidu*. Zbadano produkty utleniania kwasem azotowym 30 g galakturonidu (w kilku porcjach). Po oddzieleniu kwasu śluzowego, którego otrzymano 11 g. i który zidentyfikowano w zwykły sposób, przesącz odparowywano wielokrotnie za każdym razem dodając wody: wypadło jeszcze 5 g osadu. Osad ten gotowano w 60 cm<sup>3</sup> wody i odsączono. Przy zagęszczaniu przesączu wypadło kilka frakcji kryształów, o p. t. 212° i 207°, które okazały się *kwasem śluzowym*, poczem przy ostatecznym zagęszczaniu jeszcze kilka frakcyj o p. t. 101°, 99°—100°, które przez mianowanie  $\text{KMnO}_4$  oraz oznaczenie Ca w utworzonej soli wapniowej udało się zidentyfikować, jako *kwas szczawiowy*. Osad, nierozpuszczony przy wygotowywaniu z wodą, okazał się Ca—Mg—owa solą kwasów organicznych. Po rozpuszczeniu tych soli w kwasie solnym przez ekstrakowanie eterem wyciągnięto substancję, krystalizującą w długich pryzmatach o p. t. 99°—100°. Substancja ta według zwykłych metod została zidentyfikowana jako czysty kwas szczawiowy. Pozostały wyciąg wodny zagęszczono, przyczem wydzieliły się kryształki o p. t. 210° które w zwykły sposób zidentyfikowano, jako kwas śluzowy. Przesącz od kwasu śluzowego po zobojętnieniu  $\text{NH}_3$  zadano  $\text{CaCl}_2$ , w otrzymanym osadzie soli wapniowych znaleziono 27,5% Ca: była to mieszanina soli kwasu szczawiowego i śluzowego.

Przesącz główny, otrzymany po oddzieleniu kwasu śluzowego i opisanego osadu, zobojętniono  $\text{K}_2\text{CO}_3$  i zakwaszono kwasem octowym. Po zagęszczeniu do objętości ok. 15 cm<sup>3</sup> wypadła minimalna ilość kryształów, niepodobnych do soli kwasu cukrowego, potem niewielka frakcja kryształów, podobnych do *soli potasowej kwasu trójoksylglutarowego*.

Przesącz, zobojętniony  $\text{NH}_3$ , zadano  $\text{CaCl}_2$ . Otrzymany w nieznacznej ilości osad ogrzano z wodą, zakwaszono kwasem octowym. Z zagęszczonego wyciągu otrzymano sól wapniową o zawartości 18,7% Ca, a więc najwidoczniej *sól wapniową kwasu trójoksylglutarowego*.

Wykonane badanie wykazało z całą ścisłością, że galakturonid nie zawiera ani kwasu glukuronowego, ani glukozy.

## 3. Kwas octowy.

Kwas octowy jest tym nowym produktem hydrolizy związków pektynowych, który udało się nam wykryć w r. 1923<sup>1)</sup> w galakturonidach, i którego wykrycie zmusiło nas do zmodyfikowania wypowiedzianego w II części badań poglądu na znaczenie „liczby estrowej”, a przez to również poglądu naszego na budowę galakturonidu.

Na kwasy lotne, wydzielające się przy otrzymywaniu surowej substancji pektynowej zwróciliśmy po raz pierwszy uwagę w r. 1921 przy wyrobie na fabryczną skalę surowej substancji pektynowej, jako „kleju buraczanego”. Przy zagęszczaniu roztworu kleju i przy suszeniu kleju wydzielaly się kwaśne opary, w których papierek lakmusowy szybko czerwieniał.

Zauważyliśmy dalej, że pierwszy destylat wodny, otrzymywany przy oznaczaniu ilości  $\text{CH}_3\text{OH}$  w galakturonidzie metodą Dénigés-Fallenberg'a, jest stale mocno kwaśny.

Wobec tego podjęto w r. 1923 próby ściślejszego zbadania jakościowego i ilościowego produktów lotnych, tworzących się przy hydrolizie związków pektynowych, próby uwieńczone powodzeniem.

Oznaczono kwasy lotne w galakturonidach oraz w mięszu buraczanym.

W galakturonidzie Nr. 6, otrzymanym przez łagodną hydrolizę kwasową mięszu buraczanego, oznaczano kwasy lotne według dwóch metod: a) przez oddestylowanie kwasów lotnych po uprzedniej hydrolizie kwasowej [ $\text{z } \frac{n}{2} \text{H}_2\text{SO}_4$  — 1 godzina we wrzącej łaźni] i po zubożeniu głównej części ( $\frac{3}{4}$ ) użytego kwasu mineralnego, i b) przez oddestylowanie po uprzedniej hydrolizie alkalicznej [ $\text{z } \frac{n}{2} \text{NaOH}$  —  $\frac{1}{2}$  godziny w  $80^\circ$  —  $90^\circ$ ] i po zakwaszeniu nieznaczny nadmiar  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Destylację kwasów lotnych wykonywano pod próżnią, w sposób szczegółowo opisany w części III, str. 592. Znalezione: według metody a)  $125 \text{ cm}^3 \text{ nNaOH}$  na 100 gr. substancji organicznej suchej, czyli w przeliczeniu na kwas octowy — 7,5%; według metody b) —  $192 \text{ cm}^3 \text{ nNaOH}$ , czyli 11,5% kwasu octowego.

Doświadczenia te nauczyły nas, że oderwanie kwasu octowego może nastąpić zarówno pod wpływem hydrolizy kwasowej, jak ługowej, w tym ostatnim jednak przypadku łatwiej i szybciej. Następne doświadczenia potwierdziły to mniemanie i nauczyły nas, że oderwanie kwasu octowego pod wpływem ługu następuje szybko nawet na zimno przy użyciu nieznacznego stężenia  $\text{NaOH}$ , np.  $\frac{n}{10}$  roztworu, mniej więcej z tą samą szybkością, co odrywanie  $\text{CH}_3\text{OH}$ . Prowadzi to do najprost-

<sup>1)</sup> K. Smoleński, Roczniki Chemji, 4, 72. (1924).

szego wniosku, że kwas octowy w cząsteczce galakturonidu znajduje się związany estrowo z jedną z grup — OH, jako grupa acetylowa. W dalszych doświadczeniach oznaczaliśmy już zawsze kwasy lotne. (kwas octowy) po uprzednim zmydleniu NaOH.

Roztwór soli sodowych kwasów lotnych, otrzymanych z galakturonidu w jednym z doświadczeń, zagęszczono do małej objętości i zadano roztworem azotanu srebra; strącił się przytem na zimno obfity biały osad soli srebrowej, który po odcedzeniu został rozpuszczony na gorąco w wodzie; przy ogrzewaniu roztworu następuje częściowa redukcja srebra. Odcedzony na gorąco roztwór daje przy ostyganiu obfity krystaliczny osad. Osad ten porównywano pod mikroskopem z osadem octanu srebra, oba osady miały identyczny wygląd charakterystyczny. W wysuszonej soli srebrowej oznaczono ilość Ag.

Znaleziono: 64,1% Obliczono dla octanu srebra: 64,6%  
64,3%

Wobec tego, że roztwór soli redukował amonjakalny roztwór AgNO<sub>3</sub>, oznaczono w nim kwas mrówkowy metodą Porter'a i Ruys-sen'a (redukcja HgCl<sub>2</sub> do HgCl), znaleziono: kwasu mrówkowego 0,02%, czyli ślady zaledwie w porównaniu z ilością kwasu octowego (11,5%), przytem osad soli rtęciowej nie miał charakterystycznego dla HgCl krystalicznego wyglądu.

Ponieważ kwasem lotnym, redukującym silnie AgNO<sub>3</sub>, nie był prawdopodobnie kwas mrówkowy, przerobiono reakcje na inne kwasy organiczne. Otrzymano dodatnie reakcje: a) Neuberger'a z naftorezorcyną, ciemno-fioletkowe zabarwienie warstwy eterowej, b) z indolem + stęż. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> — czerwony pierścień, c) z wodą wapienną — narazie osadu niema, po pewnym czasie osad krystaliczny. Reakcje te zdają się świadczyć o tem, że kwasem lotnym, redukującym AgNO<sub>3</sub>, jest *kwas*

gliksoalowy  $\left[ \text{C} \begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \diagdown \\ \text{H} \end{array} \text{COOH} \right]$ . Mógł on powstać z kwasu galakturonowego przez działanie NaOH lub kwasu mineralnego.

W innym z doświadczeń roztwór soli sodowych kwasów lotnych strącano AgNO<sub>3</sub> *frakcyjnie*, otrzymując trzy kolejne frakcje soli srebrowych. Znaleziono w nich: w I — 64,4% Ag, w II — 64,7%, w III — 64,9%; obliczono dla octanu srebra: 64,6%.

Przy *hydrolizie kwasowej* galakturonidu już przy działaniu  $\frac{n}{20}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 10 godzin w temp. 98 — 99° główna część kwasu octowego ulega oderwaniu. Z galakturonidu o pierwotnej zawartości 4,5% kwasu octowego odnaleziono w destylatach od zagęszczania roztworu po hydrolizie

(wodnym i alkoholowym) 3,5% kwasu octowego. Z roztworu soli sodowej otrzymano i tu sól srebrową, której charakterystyczny wygląd i zawartość Ag (64,2%) nie pozostawiają wątpliwości, że jest to *octan srebra*.

Przy *hydrolizie alkalicznej* galakturonidu w celu otrzymania soli sodowej kwasu pektynowego przekonano się, że cała ilość kwasu octowego, zawarta w pierwotnym galakturonidzie, uległa oderwaniu; odnaleziono ją w postaci octanu sodu w przesączu alkoholowym od strącenia soli kwasu pektynowego. Po dodaniu kwasu fosforowego do roztworu tej soli i oddestylowaniu kwasów lotnych, otrzymano i tu sól srebrową kwasu octowego o 64,3% Ag.

Przez te oznaczenia oraz cały szereg oznaczeń kwasów lotnych w różnych galakturonidach można uważać za stwierdzone z całą ścisłością: 1) że kwas octowy jest stałym składnikiem galakturonidów, 2) że kwasy lotne, wydzielające się przy hydrolizie galakturonidów, są prawie wyłącznie kwasem octowym, obok którego wykryto nieznaczne ilości kwasu glioksalowego; 3) że kwas octowy zawarty jest w galakturonidach, według wszelkiego prawdopodobieństwa, w postaci grupy estrowej, jako grupa acetylowa, ulegająca bardzo łatwo zmydleniu pod wpływem NaOH i przy ogrzewaniu z rozcieńczonymi kwasami.

Na pytanie: z jaką grupą składnikową galakturonidów związany jest estrowo kwas octowy — odpowiedzieć można z dużym prawdopodobieństwem, że grupą tą jest kwas galakturonowy. Świadczy o tem wysoka zawartość kwasu octowego w takich galakturonidach, jak otrzymane przez łagodną hydrolizę miąższu galakturonidy Nr. 5 i Nr. 6, niezawierające galaktanu i nieznaczną tylko ilość arabanu.

Co do *liczby grup acetylowych* w cząsteczce galakturonidu, to maksymalną ilość kwasu octowego znaleźliśmy w galakturonidzie Nr. 6, otrzymanym przez łagodną hydrolizę kwasową, wyniosła ona 11,5% przy 72% kwasu galakturonowego. Odpowiada to 4 cząsteczkom kwasu octowego na 8 moli kwasu galakturonowego czyli 1 molowi  $C_2H_4O_2$  na 2 mole kw. galakturonowego, a więc możliwości istnienia kompleksu kwasu acetylodwugalakturonowego. W innych galakturonidach znajdowaliśmy: w otrzymanych „zwykłą” metodą — ok. 2 moli.  $C_2H_4O_2$  na 8 moli kwasów heksuronowych, a więc dwa razy mniej niż w poprzednio wskazanym preparacie. W galakturonidzie Nr. 11, otrzymanym przez wyciąganie substancji pektynowej „teoretyczną” ilością kwasu, 3 m.  $C_2H_4O_2$  na 8 m. kw. heksuronowych; ten sam stosunek znaleźliśmy w pierwotnym miąższu.

W galakturonidach o mniejszej zawartości  $C_2H_4O_2$  można przypuszczać oderwanie się części kwasu octowego przy otrzymywaniu substancji pektynowej. Za pierwotną zawartość kwasu octowego skłonni

jesteśmy uważać znalezioną jako maksymalną dla galakturonidu, niezawierającego galaktanu, ilość: 4 mole  $C_2H_4O_2$  na 8 moli kwasu galakturonowego.

#### 4. Alkohol metylowy.

Wszystkie analizy pierwotnych galakturonidów zgodnie wykazały, że  $CH_3OH$  jest stałym składnikiem galakturonidów, 2) że stosunkowa ilość  $CH_3OH$  we wszystkich pierwotnych galakturonidach (z wyjątkiem Nr. Nr. 12 i 13, otrzymanych przez działanie na miąższ dużego nadmiaru kwasu) stale wynosi: 1 mol  $CH_3OH$  na 2 mole kwasów heksuronowych. Takie samo ustosunkowanie znaleźliśmy dla pierwotnej pektyny, zawartej w miąższu. Zawartość  $CH_3OH$  jest najwyższa w galakturonidach, otrzymanych przez łagodną hydrolizę miąższu, takich jak Nr. 5 i Nr. 6; wynosi ona ok. 7,0%  $CH_3OH$ . W „zwykłych” galakturonidach ilość  $CH_3OH$  wynosi ok. 5,5%. Galakturonidy, otrzymane przez energiczniejszą hydrolizę miąższu, zawierają znacznie mniej  $CH_3OH$ , np. Nr. 12 — 3,4%, Nr. 13 — 2,7%, wskutek oderwania się  $CH_3OH$  przez zmydlenie. Grupa metoksyłowa bardzo łatwo ulega zmydleniu przez  $NaOH$  już na zimno przy nieznacznym stężeniu  $NaOH$ ; na działanie rozcieńczonych kwasów mineralnych jest odporniejsza, jak to widać np. z analizy galakturonidów, otrzymanych przez hydrolizę kwasową pierwotnego galakturonidu, gdzie po 20-godzinnem ogrzewaniu z  $\frac{n}{20} H_2SO_4$  galakturonid zawiera jeszcze 4,3%  $CH_3OH$ .

Kwas pektynowy i kwas poligalakturonowy alkoholu metylowego nie zawierają.

Wysłodki fabryczne suszone zawierają około 2%  $CH_3OH$ , jak się o tem przekonałszy z licznych analiz. [Cyfrę przytoczoną w pierwszych częściach pracy (1%  $CH_3OH$ ) należy uznać za błędną lub przypadkową]. W doświadczeniach, wykonanych na większą skalę przy opracowaniu technicznej metody otrzymywania alkoholu metylowego przy suszeniu wysłodków, otrzymaliśmy z 5,5 kg fabrycznych suszonych wysłodków ok. 100 gr. chemicznie czystego 99,5%  $CH_3OH$  o p. wrzenia 64,5°—65,0° i  $n_D^{15} = 1,3307$ . Acetonu w otrzymanym alkoholu metylowym nie wykryto.

#### 5. d-Galaktoza.

Najłatwiej otrzymać można d-galaktozę z kwasu pektynowego przez energiczną hydrolizę kwasową, np. przez 2—3 godzinne ogrzewanie z  $\frac{n}{10} H_2SO_4$  w temperaturze 125°—130°, t. j. przy otrzymywaniu kwasu galakturonowego (patrz część VI, rozdz. 1). Po oddzieleniu kwasu gala-

kturonowego w postaci soli barowej, nierozpuszczalnej w 50–60%-ym alkoholu, w przesączu od niej zawarta jest cała prawie galaktoza kwasu pektynowego. Obecność galaktozy w tym przesączu udało się nam stwierdzić przez otrzymanie charakterystycznych dla niej hydrazonów, a mianowicie: *o*-tolilohydrazonu,  $\alpha$ -metylofenylohydrazonu i  $\alpha$ -benzylofenylohydrazonu.

W przesączu od przerobienia we wskazany sposób 25 g kwasu pektynowego, po usunięciu nadmiaru  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  i odpędzeniu alkoholu otrzymaliśmy roztwór, który zawierał ok. 5,5% substancji organicznej o następującym składzie:

|  |         |
|--|---------|
| cukrów redukujących . . . . .  | 76,0%   |
| kwasów heksuronowych . . . . .   | 20,1%   |
| galaktozy (z kwasu śluzowego po potrąceniu kw. śluzowego<br>utworzonego z kw. galakturonowego) . . . . . | 40,5%   |
| $[\alpha]_D$ . . . . .   | + 52,0° |

Otrzymano więc galaktozy ok. 9% na wyjściowy kwas pektynowy, co się dobrze zgadza ze znalezioną w nim zawartością galaktanu — ok. 10,5% (jako „składnika nieoznaczonego”).

W roztworze tym można było już bezpośrednio udowodnić obecność galaktozy przez otrzymanie odpowiednich hydrazonów, a jeszcze łatwiej — po uprzednim usunięciu z tego roztworu reszty kwasów heksuronowych. W tym celu zadawano roztwór zasadowym octanem ołowiu póty, póki tworzył się osad, odsączano, z przesączu usuwano Pb przez przepuszczanie  $\text{H}_2\text{S}$  i t. d., otrzymując ostatecznie czysty roztwór cukrów.

30 cm<sup>3</sup> tego roztworu, zawierające ok. 1 gr substancji suchej, zagęszczono do 6 cm<sup>3</sup>, dodano 15 cm<sup>3</sup> 96% alkoholu, odsączono od mętu, zadano 0,70 g *o*-tolilohydrazyny, gotowano 1/2 godziny. Po 24 godzinach zebrano utworzone kryształy, które pod mikroskopem przedstawiały skupienia długich, ostrych igiełek; p. t. 176°, po przekrystalizowaniu 177°. Przygotowany w ten sam sposób *o*-tolilohydrazon z czystej galaktozy posiadał ten sam wygląd i ten sam p. t., zgodny z podanym przez Haara.

20 cm<sup>3</sup> roztworu (0,67 gr. substancji suchej) zagęszczono do 5 cm<sup>3</sup>, dodano 0,6 gr.  $\alpha$ -metylofenylohydrazyny i alkoholu do rozpuszczenia się substancji. Kryształy po kilku godzinach odsączono, przemyto 30%-ym alkoholem; p. t. 182°; po dwóch krystalizacjach z 30% alkoholu otrzymano hydrazon w postaci srebrzystej krystalicznej masy (pod mikroskopem wyraźne kształtne igły), p. t. 188°–189°, dobrze rozpuszczalnej w pirydynie. Taki sam hydrazon otrzymano z czystej galaktozy. Haara podaje p. t. 190°–191° (dla bardzo czystego preparatu).

10 cm<sup>3</sup> roztworu (0,33 g substancji suchej) zagęszczono do 4 cm<sup>3</sup>, dodano 10 cm<sup>3</sup> 90% alkoholu i 0,50 g  $\alpha$ -benzylofenylohydrazyny, rozpuszczonej w 3 cm<sup>3</sup> 80% alkoholu. Ogrzewano przez 1/2 godziny, ochłodzono, krystalizacja nie nastąpiła — nieobecność arabinozy. Dodano 20 cm<sup>3</sup>  $\text{H}_2\text{O}$ , utworzył się obfity osad, po ogrzaniu na spodzie smola, z nad której zlano gorący roztwór. Otrzymane kryształy przekrystalizowano parokrotnie z 30% alkoholu, otrzymując wreszcie preparat o stałym punkcie topliwości 157°–158°. Haara podaje dla  $\alpha$ -benzylofenylohydrazonu galaktozy p. t. 157–158°.

W ten sposób udowodniona została obecność galaktozy wśród produktów hydrolizy kwasowej kwasu pektynowego, a przez to obecność grup galaktozydowych lub galaktanowych w kwasie pektynowym. Ilość znalezionej galaktozy odpowiada ilości obliczonego dla kwasu pektynowego „nieoznaczonego” analitycznie składnika, z dużym więc prawdopodobieństwem twierdzić można, że „nieoznaczony” składnik jest galaktanem. Ponieważ kwas pektynowy otrzymany był przez działanie ługu z pierwotnego galakturonidu, otrzymanego „zwykłą” metodą, więc w pierwotnym galakturonidzie należy również przyjąć obecność galaktanu w ilości równej ilości „nieoznaczonego” składnika t. j. ok. 15%.

Przez łagodniejsze, niż przy „zwykłej” metodzie, postępowanie przy wyciąganiu substancji pektynowej z miąższu, otrzymuje się galakturonidy, niezawierające galaktanu (preparaty Nr. 5 i Nr. 6). Przez hydrolizę kwasową „zwykłego” galakturonidu lub kwasu pektynowego otrzymuje się po oderwaniu grup galaktanowych preparaty (kwas poligalakturonowe), niezawierające galaktanu, składające się wyłącznie z kwasu galakturonowego (i arabanu).

Wykrycie galaktozy wśród produktów stopniowej hydrolizy kwasowej pierwotnego galakturonidu (porównaj część IV, rozdz. 5) jest utrudnione, głównie zapewne przez to, że galaktoza znajduje się w galakturonidzie dość silnie związana bądź sama z sobą, jako galaktan, bądź z kwasem galakturonowym, jako kwas galakto-galakturonowy. Zarówno galaktan, jak kwas galakto-galakturonowy są widocznie odporne na działanie hydrolizujące kwasu mineralnego, tak że nawet 4-godzinne ogrzewanie w temperaturze 98° z  $\text{nH}_2\text{SO}_4$  nie doprowadza hydrolizy do końca. Otrzymaniu odpowiednich hydrazonów galaktozy przeszkadzać też może znaczna ilość arabinozy i kwasu galakturonowego, zarówno w wolnej postaci, jakoteż w postaci związków bardziej złożonych.

Wśród produktów stopniowej hydrolizy kwasowej galakturonidów, rozpuszczalnych w 75%-ym alkoholu, wykryto: po I-ej hydrolizie ( $\frac{\text{n}}{20} \text{H}_2\text{SO}_4$ ) — arabinozę i galaktozę, po II-ej hydrolizie ( $\frac{\text{n}}{20} \text{H}_2\text{SO}_4$ ) również arabinozę i galaktozę, po III-ej natomiast hydrolizie ( $\frac{\text{n}}{2} \text{H}_2\text{SO}_4$ ) arabinozę udało się wykryć, galaktozy zaś nie.

W celu wykrycia cukrów pierwotny roztwór rozdzielano na część rozpuszczalną w 95%-ym alkoholu i nierozpuszczalną w nim, a każdą z nich poddawano hydrolizie  $\text{nH}_2\text{SO}_4$ , poczem rozdzielano na część strąconą zasadowym octanem ołowiu i niestrąconą tym odczynnikiem. Cukry proste można było wykryć tylko

w części rozpuszczalnej w 95%-ym alkoholu i niestrąconej octanem ołowiu; w innych frakcjach oznaczenie nie udawało się lub było niepewne. Niemożność wykrycia galaktozy wśród produktów hydrolizy III tłumaczy się może tem, że zaniedbano tu rozdzielenia pierwotnego roztworu na część rozpuszczalną i nierozpuszczalną w 95% alkoholu. (Szczegółowy opis badania p. aneksy № 6).

Jeden z pierwotnych galakturonidów, mianowicie *galakturonid* Nr.13, otrzymany przez czwarte z kolei wyciąganie mięszu, przy użyciu do wyciągania  $\frac{n}{5}$  HCl, a zawierający, jak to wynikało z oznaczeń analitycznych, około 19% galaktanu, poddany został ostatecznej hydrolizie przez gotowanie z  $n$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. W roztworze cukrów, po oddzieleniu kwasu galakturonowego w postaci soli barowej, nierozpuszczalnej w 50% alkoholu, udało się z całą dokładnością stwierdzić obecność *galaktozy* w postaci  $\alpha$ -metylofenylohydrazonu o p. t. 189°—190° i o charakterystycznym wyglądzie kryształów pod mikroskopem. Z tym samym roztworem cukrów przerobiono próby fermentacyjne, stosując: a) czystą kulturę *Saccharomyces Cerevisiae*, i b) *Saccharomyces Pombe*.

*Saccharomyces Cerevisiae* fermentuje *d*-glukozę, *d*-fruktozę i *d*-mannozę w temperaturze 25°—30° już po 4—6 godzinach, *d*-galaktozę zaś dopiero po 60 godzinach; *S. Pombe* — fermentuje tylko pierwsze 3 cukry, *d*-galaktozy zaś wogóle nie jest w stanie sfermentować nawet po upływie 60—100 godzin. Roztwór cukrów z *S. Cerevisiae* przez pierwsze 10 godzin nie fermentował, co dowodzi nieobecności *d*-glukozy, *d*-fruktozy i *d*-mannozy; po 30 godzinach zaczął fermentować, a po 50—70 godzinach fermentował energicznie, co dowodzi obecności *d*-galaktozy. Roztwór *S. Pombe* nie fermentował wogóle nawet po 70—80 godzinach, co potwierdza nieobecność *d*-glukozy, *d*-fruktozy i *d*-mannozy. Próby fermentacji wykonano w naczyniach Einhorn'a, napełnionych rtęcią, tak że można było wymierzyć dokładnie ilość utworzonego przy fermentacji CO<sub>2</sub>, a przez porównanie z ilością CO<sub>2</sub>, wytworzonego przez ten sam gatunek drożdży z określonej ilości galaktozy, obliczyć ilość galaktozy zawartą w badanym roztworze cukrów.

W wyniku doświadczeń fermentacyjnych stwierdzono, że w roztworze badanym odnaleziono ok. 15,5% galaktozy, licząc na pierwotny wzięty do hydrolizy galakturonid, w którym zawartość nieoznaczonego składnika wynosi, według analizy, ok. 19%. Jeżeli uwzględnić, że przy hydrolizie musiały być dość znaczne straty, to zgodność, znalezionej przez fermentację, ilości galaktozy z zawartością nieoznaczonego składnika w pierwotnym galakturonidzie wydaje się dostateczna.

(Szczegóły badania produktów hydrolizy galakturonidu Nr.13 patrz aneksy Nr. 7).

6. *l*-Arabinoza.

Tak zwany „araban”, otrzymywany przy strącaniu roztworu surowej substancji pektynowej alkoholem, jako produkt rozpuszczalny w 75%-ym alkoholu, składa się prawie wyłącznie z pentoz (91—94%), jak to widać z przytoczonych w III-ej części tablic IV, VIII i IX D. Badanie produktów hydrolizy kwasowej „arabanu” dowodzi, że jedyną pentozą, która jest zawarta w „arabanie”, jest *l*-arabinoza. Metylopentozy oraz ksyloza są nieobecne. Hydroliza kwasowa arabanu zachodzi z łatwością tak, że 2-godzinne ogrzewanie w łaźni wodnej z  $\frac{n}{2} - n\text{H}_2\text{SO}_4$  wystarcza, aby doprowadzić ją do końca.

Jako przykład podajemy niżej opis badania produktów hydrolizy jednego z „arabanów”, otrzymanych z miąższu buraka cukrowego. Nadmieniamy, że „arabany”, otrzymane z miąższu buraka czerwonego i marchwi, dały podobne wyniki.

500 cm<sup>3</sup> roztworu t. zw. „arabanu”, otrzymanego z miąższu buraczanego według „zwykłej” metody, o zawartości 15 g suchej substancji organicznej ogrzewano, po dodaniu H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aż do stężenia 2,5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, w łaźni wodnej wrzącej przez 3 godziny. Po ochłodzeniu dodano roztworu Ba(OH)<sub>2</sub> dla strącenia H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, odsączono BaSO<sub>4</sub>, a przesącz zagęszczono do stężenia ok. 50—60% i zalano 500 cm<sup>3</sup> 95% alkoholu. Po dłuższym stanie odsączono od nieznacznego osadu, zagęszczono do małej objętości i pozostawiono w eksykatorze do krystalizacji. Po kilku dniach obficie wykryształizowała arabinoza, w postaci skupień igieł, widzialnych nawet gołym okiem. Kryształy odsączono, przemyto alkoholem; otrzymano 9 g (a). Z przesączu przez dalszą krystalizację otrzymano jeszcze 2,2 g kryształów (b).  $[\alpha]_D^{20}$  dla preparatu:

$$(a) = + 103^{\circ},5, c = 10 \text{ g/100 cm}^3$$

$$(b) = + 101^{\circ},5, c = 8,2 \text{ g/100 cm}^3$$

Po przekrystalizowaniu kryształów (a) i (b) z alkoholu otrzymano czystą arabinozę:  $[\alpha]_D^{20} = + 104,5^{\circ}$ ,  $c = 7,5 \text{ g/100 cm}^3$ .  $\alpha$ -benzylofenylohydrazony, przygotowane zarówno z preparatów czystej arabinozy, jak i surowej, dały właściwe p. t.: 173°—174° C. W przesączu od surowej arabinozy (b), zawierającym jeszcze około 3,5 gr. substancji organicznej, udało się wykryć znaczną ilość arabinozy w postaci  $\alpha$ -benzylofenylohydrazonu, który po jednorazowym przekrystalizowaniu dał p. t.: 172°—173° C. Z tego hydrazonu otrzymano z powrotem, przez działanie formaliną arabinozę (według metody Ruff’a i Ollendorff’a, opisaną u Haar’a). Otrzymano 0,4 g kryształów arabinozy,  $[\alpha]_D^{20} = + 103^{\circ},1$ .

Ten sam przesącz był badany na obecność ksylozy, według metody Bertrand’a, t.j. przez utlenienie bromem i próbę otrzymania podwójnej soli ksylonianu i bromku kadmowego. Reakcja dała wynik ujemny, co dowodzi nieobecności ksylozy. Reakcje spektralne na metylopentozy, a szczególnie reakcja Rosenthaler’a (z acetonem), dały wynik ujemny.

Oznaczanie analityczne metylopentoz w arabanie według metody Ellet’a oparte na nierozpuszczalności w nim metylofurfurolofloroglucydu, dało: obok 92%, arabinozy — 1,0—2,0% metylopentoz, a więc ilość nieprzekraczająca możliwego błędu oznaczenia.

„Arabany”, otrzymywane przy wyciąganiu substancji pektynowe z miąższu wodą, zakwaszoną większą ilością kwasu mineralnego, zawierają obok zmniejszonej ilości arabinozy, znacznie większą ilość galaktozy („składnika nieoznaczonego”), czy też względnie prostych związków galaktozydowych, rozpuszczalnych w 75% alkoholu. Jest to skutkiem hydrolizującego działania kwasu na galaktan, zawarty w galakturonidzie. Jako przykład takiego „arabanu” może służyć „araban Nr. 13”, otrzymany przy wyciąganiu miąższu  $\frac{n}{5}$  HCl. „Araban” ten zawiera, obok 44% arabinozy

(metodą Tollens’a), — 32,4% galaktozy („składnika nieoznaczonego”) Wykrycie arabinozy i galaktozy wśród produktów hydrolizy takiego „arabanu” — opisane jest szczegółowo w aneksach Nr. 7.

Analizy pierwotnych galakturonidów, przytoczone w III-iej części wskazują, że, niezależnie od metody wyciągania substancji pektynowe, z miąższu, galakturonidy zawierają zawsze pewną ilość arabanu. Galakturonidy, otrzymane „zwykłą” metodą, posiadają 12—14% arabanu, otrzymane przez łagodniejsze traktowanie miąższu, jak Nr. 5 i Nr. 6—17—18% niektóre inne, jak Nr. 11 aż do 40%.

Analityczne oznaczenie arabanu w galakturonidach polegało na oznaczeniu ogólnej ilości furfurolofloroglucydu, otrzymanego według metody Tollens’a-Kröber’a, odjęciu od niej tej ilości, która powstać winna była z kwasów heksuronowych (ilość bezwodnika kwasu, podzielona przez trzy) i przeliczeniu pozostałości na araban.

Galakturonidy, otrzymane przez stopniową hydrolizę kwasową pierwotnego galakturonidu (np. G<sub>II</sub>, G<sub>III</sub> i G<sub>IV</sub>, patrz część IV, rozdz. 2), zawierają również, według analizy, pewną ilość arabanu. Tak samo kwas pektynowy, a nawet kwas poligalakturonowy zawierają jeszcze araban. Świadczy to o tem, że podczas kiedy główna część arabanu ulega hydrolizie z łatwością, część arabanu wykazuje dużą oporność wobec hydrolizującego działania kwasu, co rozumieć chyba należy w ten sposób, iż albo w tej części arabanu cząsteczki arabinozy związane są między sobą w sposób bardziej trwały, aniżeli w głównej części arabanu, albo też, że te cząsteczki arabinozy związane są w sposób trwały z innymi kompleksami galakturonidu — z kwasem galakturonowym, a w preparatach „zwykłych” może także z galaktozą. (Porównaj część IV, rozdz. 6).

Obecność arabanu w „zwykłych” galakturonidach udowodniona została przez badanie produktów stopniowej hydrolizy kwasowej galakturonidu, rozpuszczalnych w 70—75% alkoholu. Zarówno po I hydrolizie ( $\frac{n}{20}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), jak po II ( $\frac{n}{20}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) i III ( $\frac{n}{2}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) udało się wśród produktów hydrolizy wykazać obecność arabinozy przez otrzymanie odpowiednich hydrazonów (porównaj część IV, rozdz. 5 oraz szczegóły za-

warte w aneksach № 6). Ilość arabinozy w produktach kolejnych hydroliz jest coraz to mniejsza. Część arabinozy w produktach I i II hydrolizy znajduje się w stanie związków bardziej złożonych, nierozpuszczalnych w 95% alkoholu.

### 7. Inne cukry, oprócz *l*-arabinozy i *d*-galaktozy?

Opisane wyżej badanie produktów utleniania galakturonidu kwasem azotowym dowiodło, że galakturonid nie zawiera *d*-glukozy (ani *kwasu d-glukuronowego*). Próby fermentacyjne produktów hydrolizy galakturonidu i „arabanu” (Nr. 13), opisane w części niniejszej w rozdz. 5 i 6, oraz w aneksach Nr. 7, dowiodły, że ani galakturonid ani „araban” nie zawierają *d*-glukozy, *d*-fruktozy i *d*-mannozy. Badania, opisane w części niniejszej rozdz. 6, prowadzą do przekonania, iż wśród produktów hydrolizy „arabanu” niema ksylozy i metylopentoz. Według wszelkiego prawdopodobieństwa, *substancja pektynowa miąższu buraczanego nie zawiera innych cukrów, oprócz l-arabinozy i d-galaktozy.*

### 8. Aceton?

Fr. Tutin w badaniach swych nad substancjami pektynowymi<sup>1)</sup> doszedł do wniosku, że substancje te zawierają obok  $\text{CH}_3\text{OH}$  także *aceton*, w stosunku 1 część acetonu na 2 części alkoholu metylowego. Aceton jakoby tworzy się przy działaniu ługu na pektynę z jabłek.

Twierdzenie to p. Tutin'a zostało przez nas poddane szczegółowemu sprawdzeniu, z wynikiem całkowicie *ujemnym*.

Badano początkowo galakturonidy, szukając acetonu wśród lotnych produktów hydrolizy zarówno alkalicznej, jak i kwasowej. Jako czuły odczynnik na aceton stosowano odczynnik Denigès'a (5 g  $\text{HgO}$  + 20 cm<sup>3</sup>  $\text{H}_2\text{SO}_4$  stęż. + 100 cm<sup>3</sup> wody), który przy ogrzewaniu z roztworem, zawierającym aceton, daje obfity biały osad krystaliczny. Reakcja ta pozwala wykryć aceton nawet w tak wielkim rozcieńczeniu, jak 20 mg/l l. Poza tem posługiwano się też dodatkowo innemi próbami (np. próbą „indygową” z o-nitrobenzaldehydem + NaOH, z nitroprussydkiem sodu, z aldehydem salicylowym + KOH).

Nie wykrywszy acetonu wśród lotnych produktów hydrolizy galakturonidu zrobiliśmy przypuszczenie, że mógł on ulec oderwaniu przy otrzymywaniu substancji pektynowej i, jako ciało lotne, został stracony przy zagęszczaniu roztworu. Wobec tego szukaliśmy acetonu bezpośrednio wśród produktów hydrolizy alkalicznej i kwasowej miąższu, ale również ze skutkiem całkiem *ujemnym*.

Jedynie przy gotowaniu miąższu z 12%-ym HCl przy oznaczaniu kwasów heksuronowych udało się w wodzie, zawartej w kulkach Geissler'a, wykryć ślady acetonu. Mogły one jednak powstać tu z rozkładu kwasów heksuronowych.

<sup>1)</sup> Fr. Tutin. Chem. Zentr. 92 1229 (1921),.

## 9. Składniki popiołowe substancyj pektynowych.

Galakturonidy znajdują się w pierwotnej substancji pektynowej (w miąższu) w postaci soli. Badanie popiołu, zawartego w miąższu, wykazało, że „liczba soli kwasów organicznych”, oznaczona przez mianowanie popiołu, zgodna z liczbą, otrzymaną przez bezpośrednie „mianowanie” miąższu, odpowiada mniej więcej połowie ilości kwasów heksuronowych, znalezionych w miąższu. Wynika stąd, że z dwóch cząsteczek kwasów heksuronowych jedna, związana z metalem (Ca, Mg) tworzy sól, druga zaś, jak to wiemy, związana jest z  $\text{CH}_3\text{OH}$ . Analiza ilościowa popiołu wykazała Ca i Mg w ilościach równoważnikowych.

W galakturonidach, otrzymanych przez łagodne wyciąganie i „zwykłą” metodą, ilość popiołu (liczba soli kwasów organicznych) odpowiada również po uwzględnieniu wolnych grup kwasowych („liczba kwasowa”) mniej więcej jednej z dwóch cząsteczek kwasów heksuronowych.

Galakturonid ( $G_{IV}$ , p. część IV, rozdz. 3), otrzymany przez stopniową hydrolizę kwasową, jest kwaśną solą, t. j. zawiera z 2-ch cząsteczek kwasów heksuronowych jedną związaną z Me (Ca), drugą, od której oderwał się alkohol metylowy, wolną.

W soli sodowej kwasu pektynowego (opisanej w części V, rozdz. 1) obie cząsteczki kwasów heksuronowych tworzą sól; to samo dotyczy soli sodowej kwasu poligalakturonowego.

Otrzymanie galakturonidu w postaci kwasu oraz kwasów: pektynowego i poligalakturonowego, niezawierających zupełnie popiołu, jest rzeczą trudną.

Zawartość popiołu (jako tlenków) w galakturonidach „zwykłych” wynosi ok. 6–7%, o ile nie były one poddane dializie; po dializie ilość popiołu spada do ok. 4–5%. Liczba soli kwasów organicznych wynosi 110 — 140  $\text{cm}^3$  n NaOH, czyli przeciętnie ok. 3 moli na 8 moli kwasów heksuronowych; liczba kwasowa — 40 — 80  $\text{cm}^3$  n NaOH (czyli przeciętnie ok. 1,3 mola na 8 moli kwasów heksuronowych).

## C z ę ś ć VII.

## Skład i budowa związków pektynowych.

W pierwszych częściach naszych badań, ogłoszonych drukiem w 1923 r.<sup>1)</sup>, na zasadzie szczupłego jeszcze wtedy materiału doświadczalnego, wziętego częściowo z własnych doświadczeń, częściowo zaś zapożyczonego z badań Fellenberg'a, Ehrlicha i inn., przyjęliśmy dla galakturonidu następujący wzór schematyczny:

<sup>1)</sup> K. Smoleński, Roczniki Chemji, 3, 86 (1923).