

(np: ugrupowanie kwasu aceto-octowego)? Czy odgrywają tu rolę ciała amfoterne, takie jak białka i pierwsze produkty ich hydrolizy? Dla preparatów, otrzymanych przez energiczniejsze działanie kwasu, które zawierają już pewną ilość grup redukujących płyn Fehling'a, a więc wolnych grup aldehydowych lub ketonowych, zwiększenie liczby estrowej mogłoby też być wynikiem działania NaOH na grupy aldehydowe, przy którym tworzą się kwasy. W aneksach (Nr. 4) podane są doświadczenia wykonane przez nas nad działaniem NaOH na cukry redukujące. Wynika z nich, że część NaOH zostaje przy tem działaniu związana przez tworzące się kwasy (częściowo lotne).

Według wyrażonego wyżej mniemania z dwóch grup — COOH dwóch związanych z sobą cząsteczek kwasów heksuronowych: jedna jest związana z alkoholem metylowym, druga zaś wolna lub związana z Me (jako sól). W takim razie suma moli: alkohol metylowy + liczba kwasowa + liczba soli kwasów organicznych powinna się równać liczbie moli kwasów heksuronowych. Rzeczywiście równość tę, w granicach dopuszczalnych błędów analitycznych, znajdujemy dla miąższu i wszystkich galakturonidów, z wyjątkiem Nr. 11 i 12, otrzymanych przez bardziej energiczne działanie kwasu. Ta suma wskazanych składników przewyższa ilość kwasów heksuronowych. Świadczy to o tem, że w tych preparatach mamy oprócz kwasów heksuronowych jeszcze pewną ilość innych (prostszych?) kwasów, głównie w postaci soli, nierozpuszczalnych w 75% alkoholu.

## C z ę ś ć I V.

### Hydroliza kwasowa galakturonidu I „arabanu“.

Badania nad hydrolizą kwasową galakturonidu miały nam dać odpowiedź na następujące pytania: a) jakie są produkty ostatecznej hydrolizy, b) jakie są produkty przejściowe, c) jakie jest zachowanie się poszczególnych składników galakturonidu przy hydrolizie stopniowej, t. j. początkowo łagodnej, a później bardziej energicznej. W niniejszej części pracy dajemy odpowiedź głównie na dwa ostatnie pytania. Produkty ostatecznej hydrolizy rozpatrzymy szczegółowo dopiero w części VI.

#### 1. Szybkość hydrolizy galakturonidu.

Ażeby zorjentować się, jaka jest szybkość hydrolizy w zależności od warunków jej wykonania, zrobiono dwa doświadczenia wstępne. W pierwszym 1%-ym roztwór galakturonidu „zwykłego“ poddano hydrolizie z  $\frac{n}{20}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> w temperaturze wrzącej łaźni wodnej w przeciągu 20 godzin. Co pewien czas odbierano próbki i oznaczano w nich cukry redukujące, przeliczając je na galaktozę. Galakturonid pierwotny

grup redukcyjnych nie zawierał. Doświadczenie II wykonano z  $\frac{n}{2} \text{H}_2\text{SO}_4$  w przeciągu 30 godz. Tablica X i XI podają wyniki tych doświadczeń.

T a b l i c a X.

Hydroliza galakturonidu  $\frac{n}{20} \text{H}_2\text{SO}_4$  w  $t = 98^\circ - 99^\circ$

Nr.	Czas hydrol. godz.	% cukrów redukuj.
1	1	7,6%
2	2	11,0
3	3	13,2
4	6	17,6
5	10	22,8
6	20	33,1

UWAGA. Cukry redukujące obliczono, jako galaktozę, w %-tach na suchą organiczną substancję „węglowodanową“, t. j. po potrąceniu białka, alkoholu metylowego i kwasu octowego.

T a b l i c a XI.

Hydroliza galakturonidu  $\frac{n}{2} \text{H}_2\text{SO}_4$  w  $t = 98^\circ - 99^\circ$

Nr.	Czas hydrol. godz.	% cukr. redukuj.
1	1	20,7%
2	2	28,4
3	3	33,9
4	6	44,9
5	10	51,1
6	20	64,7
7	30	63,6

UWAGA. Cukry redukujące obliczono, jako galaktozę, w %-tach na suchą organiczną substancję „węglowodanową“, t. j. po potrąceniu białka, alkoholu metylowego i kwasu octowego.

Z danych tych doświadczeń widzimy, że przy działaniu słabego kwasu ( $\frac{n}{20} \text{H}_2\text{SO}_4$ ) hydroliza idzie powoli, przyczem hydrolizie ulegają głównie araban i galaktan (jak o tem przekonamy się dalej). Pod wpływem mocniejszego ( $\frac{n}{2}$ ) kwasu hydroliza idzie początkowo znacznie szybciej, później coraz wolniej i po dojściu do ok. 65% cukrów redukujących zatrzymuje się prawie zupełnie. W przypuszczeniu, że araban i galaktan (których zawartość w galakturonidzie wynosi w substancji „węglowodanowej“ ok. 32%) ulegają hydrolizie względnie łatwo, właściwy zaś poligalakturonid (którego zawartość wynosi ok. 67%) trudno, dojdziemy do wniosku, że hydroliza zatrzymuje się wtedy, kiedy po uprzednim całkowitem zhydrolizowaniu arabanu



i galaktanu właściwy poligalakturonid będzie zhydrolizowany mniej więcej do połowy t. j. do związku o 50% grup redukujących, a więc do kwasu dwugalakuronowego.

Otrzymane po opisanych hydrolizach roztwory poddano polaryzacji i znaleziono:

Nr I po hydrolizie  $\frac{n}{20}$   $H_2SO_4$   $[\alpha]_D = +153^{\circ},8$

Nr II " "  $\frac{n}{2}$   $H_2SO_4$   $[\alpha]_D = +53^{\circ},2$

Roztwory zagęszczono i strącono alkoholem. Znaleziono:

Nr I — strątu — 67% pierwotnego galakturonidu

Nr II — " — 40% " "

Dla części rozpuszczalnej w alkoholu:

	Nr I	Nr II
$[\alpha]_D$	58,°0	55,°1
cukrów redukujących	62%	77%.

## 2. Stopniowa hydroliza kwasowa galakturonidu.

Biorąc pod uwagę wyniki doświadczeń wstępnych, wykonaliśmy kilka doświadczeń, w których galakturonid poddawano kolejno hydrolizie:

a)  $\frac{n}{20}$   $H_2SO_4$  w temperaturze wrzącej łaźni wodnej przez 10 godzin,

b) następnie  $\frac{n}{20}$   $H_2SO_4$  przez 10 godz. i c) wreszcie  $\frac{n}{4}$   $H_2SO_4$  przez 5 godz., ewentualnie 10 godz. lub  $\frac{n}{2}$   $H_2SO_4$  przez 5 godz.

Doświadczenia wykonywano w sposób następujący. Galakturonid pierwotny (GI) (w 3%-wym roztworze) hydrolizowano przedewszystkiem pierwszy raz  $\frac{n}{20}$   $H_2SO_4$  przez 10 godz. w  $t = 98^{\circ}-99^{\circ}$ . Roztwór po ochłodzeniu zubożniano roztworem wodorotlenku baru, użytym w takiej ilości, ażeby stracić cały  $H_2SO_4$ .  $Ba(OH)_2$  dodawano powoli, energicznie mieszając, ażeby uniknąć miejscowego działania nadmiaru ługu, który mógłby oderwać alkohol metylowy lub kwas octowy. Zubożniony roztwór zagrzewano i odcedzano. Przesącz zagęszczano pod próżnią, aż do stężenia 10—20% suchej substancji, poczem zadawano roztwór 3—4-krotną ilością alkoholu, strącając „galakturonid II-gi” (GII). Roztwór alkoholowy po zagęszczeniu poddawano badaniu. Galakturonid zaś II-gi (po wykonaniu analizy) poddawano drugiej hydrolizie w tych samych warunkach, w jakich wykonano pierwszą, t. j.  $\frac{n}{20}$   $H_2SO_4$  przez 10 godz. Z roztworem po hydrolizie II postępowano w ten sam sposób, jak po I-szej, uzyskując znów roztwór alkoholowy i „Galakturonid III (GIII). Ten ostatni poddawano ostatniej trzeciej hydrolizie, z mocniejszym kwasem, otrzymując, jako pozostałość od hydrolizy „galakturonid IV” (GIV).

Wykonano ogółem 3 serie takich doświadczeń, które nazwiemy serjami: A, B i C. Dwie pierwsze hydrolizy we wszystkich 3-ch serjach wykonano jednakowo (jak wyżej opisano), III-cią zaś hydrolizę jak następuje:

w serii A —  $\frac{n}{4}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 5 godzin

w serii B —  $\frac{n}{4}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 10 godzin

w serii C —  $\frac{n}{4}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez 5 godzin

Podajemy przedewszystkiem bilanse hydroliz w każdej serii:

### T a b l i c a XII.

*Bilanse produktów stopniowej hydrolizy galakturonidu  
(na subst. organ. suchą).*

#### Serja A.

Otrzymano:	I hydroliza	II hydroliza	III hydroliza	Suma
1) Substancji rozpuszczaln. w 70—80% alkoholu				
a) ze 100 cz. galakt. użyt. do hydr.	8,9%	14,2%	13,7%	
b) ze 100 cz. pierwotnego galaktur.	8,9%	10,2%	6,7%	
2) Galakturonidu po hydrolizie				
a) j. w.	72,0%	67,9%	54,4%	
b) j. w.	72,0%	48,9%	26,6%	
3) Straty				
a) j. w.	19,1%	17,9%	31,9%	
b) j. w.	19,1%	12,9%	15,6%	47,6%

#### Serja B.

Otrzymano:	I hydroliza	II hydroliza	III hydroliza	Suma
1) Substancji rozpuszczaln. w 70—80% alkoholu				
a) j. w.	11,9%	11,2%	45,7%	
b) j. w.	11,9%	8,4%	25,5%	
2) Galakturonidu po hydrolizie				
a) j. w.	74,8%	74,6%	30,9%	
b) j. w.	74,8%	55,8%	17,2%	
3) Straty				
a) j. w.	13,3%	14,2%	23,4%	
b) j. w.	13,3%	10,6%	13,0%	36,9%



## Serja C.

Otrzymano:	I hydroliza	II hydroliza	III hydroliza	Suma
1) Substancji rozpuszczal. w 70–80% alkoholu				
a) j. w.	22,7%	15,7%	39,8%	
b) j. w.	22,7%	9,6%	15,7%	
2) Galakturonidu po hydrolizie				
a) j. w.	61,0%	65,0%	47,9%	
b) j. w.	61,0%	39,6%	19,0%	
3) Strat				
a) j. w.	16,3%	19,3%	12,3%	
b) j. w.	16,3%	11,8%	4,9%	33,0%

Pozycja „strat” sumuje się: 1-o ze składników lotnych (alkohol metylowy, kwas octowy, inne), 2-o z części substancji zaadsorbowanej przez  $\text{BaSO}_4$  (główna część strat) oraz 3-o ze strat mechanicznych.

## 3. Skład galakturonidów, otrzymywanych przez stopniową hydrolizę.

W serji B wykonano całkowite analizy galakturonidów otrzymanych po każdej hydrolizie. Otrzymane wyniki podaje Tablica XIII (A, B, C, D i E).

T a b l i c a XIII.

A. Skład galakturonidów: wyjściowego i po kolejnych hydrolizach.  
(na 100 gr. subst. organ. suchej).

	GI	GII	GIII	GIV
Białko	6,1%	5,5%	4,3%	4,1%
Kwasy heksuronowe	60,3%	71,9%	77,8%	93,1%
Grupy galaktozydowe i galakturonidowe	63,0%	72,6%	81,6%	94,5%
Araban	11,5%	10,4%	13,0%	8,0%
Alkohol metylowy	5,5%	4,8%	4,3%	0,1%
Kwas octowy	4,5%	3,2%	—	—
Liczba kwasowa $\text{nNaOH}$	83 $\text{cm}^3$	125 $\text{cm}^3$	172 $\text{cm}^3$	231 $\text{cm}^3$
Liczba estrowa $\text{nNaOH}$	365 $\text{cm}^3$	270 $\text{cm}^3$	274 $\text{cm}^3$	—
Liczba kwasów lotnych $\text{nNaOH}$	74 $\text{cm}^3$	54 $\text{cm}^3$	—	—
Liczba soli kwas. organ. $\text{nNaOH}$	109 $\text{cm}^3$	81 $\text{cm}^3$	70 $\text{cm}^3$	300 $\text{cm}^3$

*B. Bilanse składników galakturonidów I, II, III i IV.*

	GI	GII	GIII	GIV
Białko	6,1%	5,5%	4,3%	4,1%
Kwasy heksuronowe	60,3%	71,9%	77,8%	93,1%
Araban	11,5%	10,4%	13,0%	8,0%
CH <sub>2</sub> OH — H <sub>2</sub> O	2,4%	2,1%	1,9%	—
Kwas octowy — H <sub>2</sub> O	3,1%	2,2%	—	—
	83,4%	92,1%	97,0%	105,2%
Składnik nieoznaczony (galaktan)	16,6%	7,9%	3,0%	—

*C. Skład molowy galakturonidów I, II, III i IV*

	GI	GII	GIII	GIV
Kwasy heksuronowe	8,0 M.	8,0 M.	8,0 M.	8,0 M.
Araban	2,0 M.	1,57 M.	1,8 M.	1,1 M.
Alkohol metylowy	4,0 M.	2,9 M.	2,4 M.	—0—
Kwas octowy	1,76 M.	1,0 M.	—	—0—
Galaktan (składn. nieozn.)	2,4 M.	1,0 M.	0,3 M.	—0—
L. kwas. + l. soli kwas. or.	4,48 M.	4,1 M.	4,3 M.	8,0 M.
Liczba estrowa	8,53 M.	5,4 M.	4,9 M.	—
Alk. metyl. + kw. octowy	5,8 M.	3,9 M.	—	—
Alk. met. + liczba kwaso- wa + l. soli kwas. org.	8,5 M.	7,0 M.	6,7 M.	8,0 M.

W serii C znaleziono:

D.	GI	GII	GIII	GIV
Kwasy heksuronowe	56,5%	73,6%	80,1%	89,8%
	8,0 M.	8,0 M.	8,0 M.	8,0 M.
Liczba estrowa	9,3 M.	6,2 M.	2,9 M.	—

W serii A oznaczono lepkość galakturonidów. Znaleziono:

E.	GI	GII	GIII	GIV
Lep. roztw. 4 gr./100 cm <sup>3</sup>	8,5	1,75	1,5	1,1

Posiadając dla serii B analizy poszczególnych galakturonidów oraz ilości każdego z nich, możemy obliczyć ubytek każdego ze składników przy poszczególnych hydrolizach.



Odpowiednie obliczenia (podane w aneksach Nr. 5) prowadzą do wniosku, że składnikiem najbardziej opornym na hydrolizujące działania kwasu są grupy heksuronowe, które w większym stopniu poddają się dopiero działaniu silniejszego kwasu  $\left[ \frac{n}{4} - \frac{n}{2} \text{H}_2\text{SO}_4 \right]$ . Natomiast: grupy acetylowe i metoksyłowe, szczególnie pierwsze, poddają się łatwo działaniu (już  $\frac{n}{20} \text{H}_2\text{SO}_4$ ; dość łatwo też poddają się działaniu kwasu: araban, „nieoznaczony składnik” (galaktan) i ciała białkowe.

W ten sposób przez umiarkowaną hydrolizę kwasową możemy ostatecznie, po oderwaniu alkoholu metylowego, kwasu octowego, galaktanu i znacznej części arabanu, otrzymać, jako nierozpuszczalny w 75%-ym alkoholu, galakturonid, o zawartości kwasów heksuronowych 90 — 95% (G IV); brak w nim „składnika nieoznaczonego” (galaktanu), więc kwasy heksuronowe są tu wyłącznie kwasem galakturonowym. Araban, według danych analizy, jest wciąż jeszcze, choć już w nieznacznej tylko ilości, obecny w tym galakturonidzie; część arabanu ulega widocznie hydrolizie kwasowej z trudnością<sup>1)</sup>.

#### 4. Szczegółowe badanie galakturonidu $G_{IV}$ , otrzymanego przez

hydrolizę  $\frac{n}{2} \text{H}_2\text{SO}_4$ .

Galakturonid  $G_{IV}$ , otrzymany w serii C, poddany został szczegółowej analizie.

Przed analizą został on oczyszczony przez rozpuszczenie w wodzie z dodatkiem 10% alkoholu, odsączenie osadu i strącenie zagęszczonego przesącza alkoholem 96%-ym.

Araban w tym preparacie oznaczano tylko analitycznie z ilości floroglucydu po odjęciu ilości floroglucydu, odpowiadającej kwasom heksuronowym. Przyjęto przytem, zgodnie z danymi L e t é v r e ' a - T o l l e n s ' a, że ilość floroglucydu z laktonu kwasu glukuronowego równa się  $\frac{1}{3}$  wagi laktonu. Czy zależność ta ściśle jest zachowana dla kwasu galakturonowego, nie wiemy, gdyż odpowiednich doświadczeń nie mieliśmy jeszcze możliwości wykonać.

Spalanie  $G_{IV}$  dało następujące rezultaty:

	Znaleziono:		Obliczono dla
	I	II	$[\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]_n$
C	41,1%	41,23%	40,91%
H	4,30%	4,58%	4,54%
O	54,6%	54,19%	54,55%
$\frac{\text{O}}{\text{H}}$	12,7	11,8	12,0.

<sup>1)</sup> Możliwe jest też, że galakturonid ten nie zawiera już arabanu; analityczne oznaczenie obliczone jest w przypuszczeniu, że kwas galakturonowy daje tyleż furfurołu, co kwas glukuronowy; może to być niezupełnie zgodne z rzeczywistością; oznaczenia ilości furfurołu, tworzącego się z kwasu galakturonowego, nie mieliśmy dotychczas możliwości wykonać.

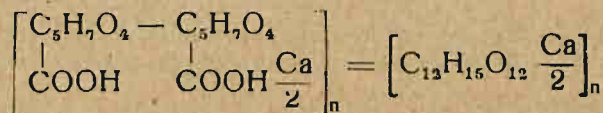
Oznaczenie ciężaru cząsteczkowego metodą ebuljoskopową dało  $M = 1115$  i  $M = 912$ . Oznaczenia te, zresztą nie są zbyt pewne.

#### T a b l i c a XIV.

Analiza galakturonidu  $G_{IV}$ , otrzymanego przez hydrolizę kwasową pierwotnego galakturonidu  $\left(\frac{n}{20} \text{ H}_2\text{SO}_4 - 20 \text{ godz. i } \frac{n}{2} \text{ H}_2\text{SO}_4 - 5 \text{ godz.}\right)$

	w %	w molach
Kwasy heksuronowe	87,9	} 8
Grupy galaktozydowe i galakturonidowe	89,7	
Araban	9,0	1,07
Alkohol metylowy	0,4	0,2
Grupy redukujące (jako galaktoza)	25,9 <sup>1)</sup>	2,9
Liczba kwasowa	309 cm <sup>3</sup> n NaOH	4,9
$[\alpha]_D^{20}$ (1,8 gr./100 cm <sup>3</sup> )	+216 <sup>0</sup> ,0	
Popiół (tlenki) na subst. organ. <sup>2)</sup>	7,4%	4,2

Dane analityczne prowadzą do wniosku, że galakturonid  $G_{IV}$  jest prawie czystą kwaśną solą wapniową kwasu dwugalakturonowego (jej polimerem). Prawdopodobny wzór tego związku (bez uwzględnienia arabanu) odpowiada:



Liczba  $n$  cząsteczek wynosi prawdopodobnie 3 lub 4.

Galakturonid  $G_{IV}$  posiada następujące własności: rozpuszcza się z łatwością w wodzie zimnej czy gorącej, dając klarowny roztwór, wykazujący reakcję słabo-kwaśną na Congo, mocno-kwaśną na lakmus.

W 70%-ym alkoholu nie rozpuszcza się ani na zimno, ani na gorąco. Dodatek kwasu mineralnego do roztworu nie wywołuje powstawania osadu; dodatek NaOH zmienia barwę roztworu na zielonkawą, osadu nie daje.  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  daje obfity osad galaretowaty barwy żółto-zielonej, zasadowy octan ołowiu — podobnie.

W V-ej części pracy zapoznamy się z innym kwasem polidwugalakturonowym, otrzymanym z galakturonidu przez uprzednią hydrolizę za pomocą alkali, po której dopiero następuje hydroliza kwasowa. Ten

<sup>1)</sup> Gdybyśmy przeliczyli „grupy redukujące” na kwas galakturonowy, to uwzględniając, że zdolność redukcyjna tego kwasu wynosi ok. 80% zdolności redukcyjnej galaktozy, znaleźlibyśmy 32,4% kwasu galakturonowego, co odpowiada 2,7 mola.

<sup>2)</sup> Popiół składa się wyłącznie z  $\text{CaO}$ .



drugi kwas poligalakturonowy, pomimo bardzo bliskiego składu chemicznego, różni się wyraźnie swymi własnościami fizycznymi od opisanego. tu kwasu poligalakturonowego (G<sub>IV</sub>).

Galakturonidy G<sub>IV</sub>, otrzymane w Serji A i B miały skład chemiczny bardzo zbliżony do opisanego.

### T a b l i c a XV.

*Analizy galakturonidów G<sub>IV</sub> serji A i B.*

	A $\frac{n}{4} H_2SO_4 - 5 \text{ godz.}$	B $\frac{n}{4} H_2SO_4 - 10 \text{ godz.}$
Kwasy heksuronowe	82,5%	93,1%
Grupy galaktozydowe i galakturonidowe	84,1%	94,5%
Araban	14,7%	8,0%
Grupy redukujące	20,4%	— (nie ozn.)
$[\alpha]_D$	+ 168°,0	+ 190°,2
Liczba kwasowa	—	232 cm <sup>3</sup> n NaOH
Liczba estrowa	—	—
Liczba soli kwas. organ.	—	300 cm <sup>3</sup> n NaOH

Spalanie organiczne galakturonidu G<sub>IV</sub> serji B dało następujące wyniki:

	I	II
C	40,95%	40,78%
H	5,01%	4,92%
O	54,04%	54,30%
$\frac{O}{H}$	10,8	11,0.

#### 5. Produkty stopniowej hydrolizy galakturonidu, rozpuszczalne w 70—80%<sub>o</sub>-ym alkoholu.

*Składniki lotne.* W wodzie, otrzymanej jako destylat przy zagęszczaniu roztworu galakturonidu po hydrolizie, stale wykrywano *alkohol metylowy* i *kwas octowy*. Oznaczenia ilościowe tych składników dawały ilości dość zgodne z ubytkiem ich, obliczonym ze składu galakturonidów. Szczegółowy opis tej części badań podany będzie w aneksach Nr. 6.

## T a b l i c a XVI.

## Produkty i hydrolizy.

W 100 częściach suchej substancji organicznej analiza wykazała:

	A	B	C
Cukrów redukujących, jako arabinoza, bezpośrednio	72,3%	56,4%	45,6%
Cukrów redukujących, jako arabinoza, po całkowitej hydrolizie	74,0%	66,0%	58,4%
Arabinozy (według Tollens'a)	70,0%	60,1%	53,1%
Galaktozy (z kwasu śluzowego)	—	27,2%	35,2%
$[\alpha]_D$	+ 93°,3	+ 78°,5	+ 98°,2
Kwasów heksuronowych	—	15,6%	19,3%

W serii A strącano mocniejszym alkoholem (82%), w serii B i C — słabszym (71—72%).

W serii A, sądząc z analizy, mamy w roztworze alkoholowym głównie wolną arabinozę. Z roztworu tego udało się z całą łatwością otrzymać w czystej postaci  $\alpha$ -benzylufenylohydrazon arabinozy, o p. t. 174° (szczegóły patrz w aneksach Nr. 6).

W serii B i C, oprócz arabinozy, mamy już większą ilość kwasów heksuronowych i galaktozy, (ilość grup galaktozydowych przewyższa ilość kwasów heksuronowych). Zarówno część arabinozy, jako też cała prawie ilość kwasów heksuronowych i galaktozy znajduje się w postaci związków bardziej złożonych, nierozpuszczalnych w 90—95% alkoholu. Przy rozpuszczaniu w takim alkoholu tylko ok. 50% substancji przechodzi do roztworu (związki najprostsze), druga połowa pozostaje nierozpuszczona. W pierwotnym całkowitym roztworze udało się wykazać obecność arabinozy w postaci  $\alpha$ -benzylufenylohydrazonu, natomiast obecności galaktozy wykryć się nie udało (patrz aneksy Nr. 6). Część rozpuszczalna w 95% alkoholu została przez strącanie zasadowym octanem ołowiu rozdzielona na frakcję niestrąconą (ok. 80%), zawierającą głównie wolne cukry, i część strąconą, zawierającą ciała o charakterze kwasowym (kwasy heksuronowe). Frakcja niestrącona, poddana hydrolizie n  $H_2SO_4$ , wykazała skład następujący:

## T a b l i c a XVII.

Cukrów redukuj, jako arabinoza	90,1%
Arabinozy (wedł. Tollens'a)	80,2%
Kwasów heksuronow.	10,0%
Galaktozy	0,0
$[\alpha]_D$	+ 88,8

Sądząc z analizy, mamy tu głównie arabinozę, którą też z łatwością udało się wykazać w postaci:  $\alpha$ -benzylufenylohydrazonu, o p. t. 174° i dwufenylohydrazonu, o p. t. 195°; (p. aneksy Nr. 6); galaktozy (zgodnie z analizą) wykryć się nie udało. W części strąconej zasadowym octanem ołowiu, po hydrolizie n  $H_2SO_4$ , udało



się wykryć galaktozę w postaci  $\alpha$ -benzylofenylohydrazonu, który po przekrystalizowaniu posiadał p. t. 153° — 154°; arabinozy natomiast nie wykryto. Część pierwotnej substancji, nierozpuszczalna w 95%-ym alkoholu, poddano hydrolizie  $\frac{n}{2}$   $H_2SO_4$  i rozdzielono również na część, nie strącającą się zasadowym octanem ołowiu, i na część strąconą tym odczynnikiem. W części niestraconej wykryto znów z łatwością arabinozę w postaci  $\alpha$ -benzylofenylohydrazonu i dwufenylohydrazonu; galaktozy nie wykryto. Część, strącona zasadowym octanem ołowiu, wykazała dużą zawartość kwasów heksuronowych (ok. 40%) i grup galaktozydowych (ok. 45%). Z powodu wypadku nie można było przekonać się, czy część ta zawierała galaktozę.

Wyniki badania produktów I hydrolizy prowadzą do następujących wniosków. Przy hydrolizie pierwotnego galakturonidu słabym  $\left(\frac{n}{20}\right) H_2SO_4$  (10 godz. w 98°—99°) otrzymuje się ok. 15—20% produktów, rozpuszczalnych w 70% alkoholu. Głównym składnikiem tych produktów jest arabinoza (50—60%), częściowo — wolna, częściowo — związana, jako araban (mało złożony!), ewent. arabano-galaktan. Oprócz arabinozy produkty te zawierają kwas galakturonowy i galaktozę, ale już przeważnie w postaci bardziej złożonej, trudno poddającej się ostatecznej hydrolizie. Galaktoza widocznie związana jest częściowo z kwasem galakturonowym (np. w postaci kwasu galaktozo-dwu-galakturonowego)?

Produkty II hydrolizy zostały szczegółowo zbadane w serii C. Otrzymane produkty hydrolizy rozdzielono znów na rozpuszczalne i nierozpuszczalne w 95% alkoholu, przyczem otrzymano ok. 50% każdej z tych części. Każdą z tych części poddano hydrolizie  $n$   $H_2SO_4$ , poczem rozdzielono na frakcje: strącającą i niestrającą się zasadowym octanem ołowiu. Analizy poszczególnych frakcyj dały następujące wyniki:

T a b l i c a XVIII.

Część nierozpuszczalna w 95% alk. (50%)		Znaleziono	Część rozpuszczalna w 95% alk. (50%)	
P <sub>II</sub> (37%) Cz. strącona zasadowym octanem ołowiu	P <sub>I</sub> (63%) Cz. niestracona		P <sub>IV</sub> (55%) Cz. strącona zasadowym octanem ołowiu	P <sub>III</sub> (45%) Cz. niestracona
65.4% . . . . .	30.8%	Kwasy heksuron.	61.5% . . . . .	9.8%
48.8% . . . . .	47.7%	Galaktoza	33.6% . . . . .	29.7%
10.0% . . . . .	24.3%	Arabinoza (Tollens)	3.3% . . . . .	38.2%
42.8% . . . . .	65.3%	Cukry redukujące	45.3% . . . . .	76.0%
+ 125°,8 . . . . .	+ 75°,4	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	— . . . . .	+ 73°,8
Obliczono			Obliczono	
43.6%		Kwasy heksuron.	38.2%	
48.1%		Galaktoza	31.8%	
19.0%		Arabinoza	19.0%	
57.0%		Cukry redukujące	59.0%	
+ 94°.1		[ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	—	

Wyniki, otrzymane przez obliczenie dla części nierozpuszczalnej i rozpuszczalnej w 95%-ym alkoholu, możemy tak samo przeliczyć na całkowitą substancję (t. j. substancję poddaną hydrolizie). Otrzymamy wówczas:

T a b l i c a XIX.

Przeciętny skład produktów II-ej hydrolizy, rozpuszczalnych w 70 — 75% alkoholu

Kwasy heksuronowe	40,9%
Galaktoza	39,9%
Arabinoza	19,0%
Cukry redukujące	58,0%
$[\alpha]_D$	—

Tablica XX podaje analizy części, strąconych octanem ołowiu ( $P_{II} + P_{IV}$ ) niestrąconych ( $P_I + P_{III}$ ) tym odczynnikiem (obliczone):

T a b l i c a XX.

	Część strącona octanem ołowiu (46%)	Część niestrącona octanem ołowiu (54%)
Kwasy heksuronowe	63,0%	20,9%
Galaktoza	40,5%	39,3%
Arabinoza	6,0%	30,8%
Cukry redukujące	44,3%	70,3%

We frakcji  $P_{III}$  (części rozpuszczalnej w 95%-ym alkoholu i niestrąconej octanem ołowiu) wykryto z łatwością: *arabinozę* w postaci *dwufenylohydrazonu*, o p. t. 192°—193°, oraz *galaktozę* w postaci  $\alpha$ -*metylofenylohydrazonu*, o p. t. 188° i *o-tolylohydrazonu*, o p. t. 176°. W innych frakcjach ani arabinozy, ani galaktozy wykryć się nie udało.

Przy II hydrolizie ( $\frac{n}{20}$   $H_2SO_4$  — 10 godz.) arabinoza odrywa się w dalszym ciągu, ale w ilości stosunkowo znacznie mniejszej, niż przy I hydrolizie, przyczem część arabinozy otrzymuje się w postaci związku bardziej złożonego, nierozpuszczalnego w 95% alkoholu. Również odrywa się galaktoza, przeważnie w postaci związku bardziej złożonego. Znacznie wzrasta ilość kwasów heksuronowych: po I hydrolizie 15%, po II-ej — 40,9%! Ciekawe jest zestawienie części, strąconej octanem ołowiu z częścią niestrąconą. W pierwszej przeważającym składnikiem są kwasy heksuronowe, arabinoza występuje w nieznacznej ilości; zdolność redukcyjna wynosi pomimo hydrolizy n  $H_2SO_4$  tylko 44,3%, co świadczy o istnieniu związków bardziej złożonych.

W części niestrąconej octanem ołowiu kwasy heksuronowe zawarte są w ilości nieznacznej, arabinoza zaś w dużej ilości; ilość „galaktozy” prze-



wyższa ilość kwasów heksuronowych, co świadczy o obecności galaktozy. Wysoka zdolność redukcyjna świadczy o wyłącznej prawie obecności związków prostych.

*Produkty po III hydrolizie.* Po hydrolizie n  $H_2SO_4$  wykazały one następujący skład:

T a b l i c a XXI.

Kwasy heksuronowe		48,2%
Galaktoza		36,2%
Arabinoza		12,3%
Cukry redukujące		55,4%
$[\alpha]_D$		+ 70°,3
Część strącona oct. ołowiu (62%)		
65,0%	Kwasy heksuronowe	20,7%
34,5%		39,0%
3,6%		26,6%
48,5%		66,7%
+ 73°,6		+ 65°,0
	Część niestrąc. oct. ołowiu (38%)	
	Kwasy heksuronowe	
	Galaktoza	
	Arabinoza	
	Cukry redukujące	
	$[\alpha]_D$	

Jeżeli dla produktów po II i III hydrolizie porównamy frakcje strącone i niestrącone zasadowym octanem ołowiu, to dojdziemy do wniosku, że zarówno pierwsze, jak i drugie są dla produktów po III-iej hydrolizie prawie identyczne z odpowiednimi frakcjami po II-iej hydrolizie. Natomiast ilość frakcji, strąconej octanem ołowiu, jest dla III-iej hydrolizy znacznie wyższa, niż dla II-iej. Stąd wniosek, że przez III-ą hydrolizę następuje w dalszym ciągu odrywanie tych samych składników, co przez II-ą, t. j. arabinozy, galaktozy, kwasu galakturonowego, lecz dwa pierwsze składniki występują tu w ilości mniejszej, zaś ostatni w ilości znacznie większej.

Podajemy jeszcze zestawienie analiz produktów, rozpuszczalnych w 75%-ym alkoholu, po I, II i III hydrolizach:

T a b l i c a XXII.

Po hydrolizie	I	II	III
Kwasy heksuronowe . . .	19.5%	40.9%	48.2%
Galaktoza . . . . .	35.2%	39.9%	36.2%
Arabinoza . . . . .	55.1%	19.0%	12.3%
Cukry redukujące . . .	58.4%	58.0%	55.4%
$[\alpha]_D$ . . . . .	+98°.2	—	+70°.3
Różnica: kwas. heksur. galakt.	-15.9%	+1.9%	+12.0%

W produktach każdej następnej hydrolizy wolno się domyślać obecności coraz to mniejszej ilości galaktozy.

Rezultaty, otrzymane przy badaniu produktów stopniowej hydrolizy kwasowej galakturonidu, rozpuszczalnych w 70%-ym alkoholu, potwierdzają wnioski, wynikające ze zbadania składu samych galakturonidów. W części rozpuszczalnej w alkoholu odnajdujemy te właśnie składniki, które uległy oderwaniu od galakturonidu. Przez łagodną hydrolizę  $\frac{n}{20}$   $H_2SO_4$  zostają oderwane głównie: kwas octowy, alkohol metylowy, araban i galaktan, w mniejszym stopniu — kwasy heksuronowe. Araban i galaktan (ten ostatni w mniejszym stopniu) ulegają częściowo hydrolizie aż do cukrów prostych (arabinozy, galaktozy), rozpuszczalnych w 95%-ym alkoholu, częściowo zaś obecne są w postaci związków bardziej złożonych (aczkolwiek stopień złożoności nie może już być zbyt znaczny, wobec rozpuszczalności ich w 70%-ym alkoholu), takich jak: araban, galaktan, ewentualnie arabo-galaktan, które dopiero pod wpływem 4—5 godzinnego gotowania z  $n$   $H_2SO_4$  dają cukry proste. Kwas galakturonowy zawarty jest też częściowo w postaci wolnej, częściowo w postaci związku bardziej złożonego (kwasu  $n$ -galakturonowego), ewentualnie w związku z galaktozą. Przy bardziej energicznej hydrolizie galakturonidu ( $\frac{n}{4}$  —  $\frac{n}{2}$   $H_2SO_4$ ) ulegają oderwaniu w większej ilości grupy heksuronidowe (galakturonidowe), oraz w dalszym ciągu reszta galaktanu i arabanu.

Warto w tem miejscu zwrócić uwagę na stwierdzenie (w postaci hydrazonów) obecności galaktozy wśród produktów łagodnej hydrolizy galakturonidu! Ciekawe jest zachowanie się arabanu, zawartego w galakturonidzie. Podczas kiedy główna masa arabanu, zawartego w pierwotnym miąższu, przy otrzymywaniu „zwykłego” galakturonidu, przechodzi



do roztworu w 70% alkoholu, dając t. zw. „araban”, który bardzo łatwo ulega hydrolizie kwasowej, dając arabinozę, mniejsza jego część strąca się razem z galakturonidem i ta część hydrolizie kwasowej ulega już znacznie trudniej. Wolno z tego wnioskować, że w arabanie pewna część (mniejsza) jest zbudowana trwale, aniżeli pozostała część główna.

Z opisanych w części niniejszej doświadczeń widzimy, że wszystkie składniki galakturonidu ulegają hydrolizującemu działaniu kwasu, ale w stopniu bardzo różnym: kwas octowy (grupa acetylowa) np. oderwany zostaje z wielką łatwością pod wpływem nieznacznych nawet stężeń jonów wodorowych, grupy galakturonidowe zaś z dużą trudnością, nawet pod wpływem stężeń dość znacznych. Ostatecznie galakturonid pierwotny pod wpływem hydrolizy kwasowej daje: kwas galakturonowy, galaktozę, arabinozę, kwas octowy, alkohol metylowy. Do sprawy takiej ostatecznej hydrolizy powrócimy jeszcze w części VI-ej. Przy hydrolizie stopniowej i łagodnej pierwotny galakturonid wyzbywa się stopniowo różnych składników (kwasu octowego, alkoholu metylowego, arabanu, galaktanu), zbliżając się coraz bardziej do kwasu poligalakturonowego (w rodzaju opisanej wyżej substancji  $G_{IV}$ ), zbudowanego wyłącznie z kwasu galakturonowego. Jednocześnie pierwotna cząstka galakturonidu, zbudowana z bardzo znacznej liczby cząsteczek, rozpada się przez hydrolizę na cząstki mniejsze, dając galakturonidy o niższym ciężarze cząsteczkowym. Zaznacza się to np. w stopniowym spadku lepkości i wzroście ilości grup redukujących.

Ten fakt, że nawet nieznaczne stężenie jonów wodorowych powoduje częściową hydrolizę galakturonidu (i „arabanu”) jest w głównej mierze przyczyną trudności otrzymania galakturonidu i „arabanu”, zawartych w miąższu, w stanie pierwotnym, niezmiennym. Nieco większe stężenia jonów wodorowych powodują już znaczne uchylenia od pierwotnych produktów miąższu. Dotyczy to szczególnie zawartości kwasu octowego i alkoholu metylowego, które łatwo ulegają oderwaniu; zwracamy uwagę na skład galakturonidów: Nr. 6 (otrzymany przy minimalnej kwasowości) i Nr. 12, otrzymany przy użyciu  $\frac{n}{40}$  HCl. W galakturonidzie Nr. 6 mamy na 8 moli kwasów heksuronowych:

Alkoholu metylow. . . .	4 Mole
Kwasu octowego . . . .	4 Mole

W galakturonidzie Nr. 12:

Alkoholu metylow. . . .	3 Mole
Kwasu octowego . . . .	2 Mole

## 5. Produkty hydrolizy kwasowej arabanów.

Z pomiędzy zbadanych przez nas t. zw. „arabanów” w warunkach najłagodniejszej hydrolizy otrzymany był preparat Nr. 8 (z „teoretyczną” ilością kwasu); zawiera on zaledwie 11,9% cukrów redukujących (arabinozy) przy 92,0% cukrów redukujących po całkowitej hydrolizie (przez ogrzewanie z  $\frac{n}{2}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> w przeciągu 2 godzin we wrzącej łaźni wodnej).

Preparatów o jeszcze niższej zawartości cukrów redukujących nie udało się nam otrzymać, zresztą przy stosowanej przez nas metodzie otrzymywania substancji pektynowych jest to prawdopodobnie rzeczą niemożliwą, gdyż araban jeszcze mniej zmieniony przez hydrolizę byłby zapewne nierozpuszczalny w 70%-ym alkoholu i uległby straceniu razem z galakturonidem; jako przykład takiego stracenia znacznej ilości arabanu razem z galakturonidem, może służyć galakturonid Nr. 11, zawierający 40,4% arabanu.

Specjalnych doświadczeń nad hydrolizą t. zw. „arabanu” przez działanie roztworów o nieznacznym stężeniu jonów wodorowych nie wykonywaliśmy. Jednakże rozpatrzenie składu szeregu t. zw. „arabanów”, otrzymywanych przy zastosowaniu do wyciągania substancji pektynowych wody o rozmaitym stopniu kwasowości (opisanych w III-ej części pracy, np. Nr. 8, Nr. 1, 3, 9, Nr. 10) prowadzi do wniosku, że araban łatwo ulega hydrolizie kwasowej nawet przy działaniu (w 97°–98° przez 3 godziny)

$\frac{n}{100} - \frac{n}{200}$  HCl: świadczą o tem preparaty Nr. 1, 3, 9, zawierające 35% cukrów redukujących; preparat Nr. 10, otrzymany przy nieco większem  $P_H$  zawiera już około 60% cukrów redukujących. „Arabany” o zawartości cukrów redukujących powyżej 30% zawierają już znaczną ilość arabinozy, którą z łatwością udało się w nich wykazać (w części wyciągniętej 95%-ym alkoholem) przez otrzymanie odpowiednich hydrazonów

Ciekawa jest zależność skręcalności właściwej t. zw. „arabanów” od stopnia hydrolizy, t. j. od ilości cukrów redukujących: im więcej tych cukrów, tem bardziej spada lewa skręcalność, przechodząc wreszcie w prawą:

	Nr. 8	Nr. 1	Nr. 10
Ilość cukr. redukuj. . .	11,9;	36,2;	61,1
$[\alpha]_D$ . .	–116°;	–76,8°;	+21,5.

Po całkowitej hydrolizie kwasowej  $\left(\frac{n}{2} - n \text{ H}_2\text{SO}_4\right)$  wszystkie te arabany dają  $[\alpha]_D = +100^\circ$  do  $+105^\circ$ , t. j. odpowiadające skręcalności arabinozy.



Jeżeli „arabany” takie jak Nr. 1 i Nr. 10 uważać za mieszaniny arabinozy (o  $[\alpha]_D = +105$ ) i niezmienionego arabanu, to z obrachunku otrzymalibyśmy dla pierwotnego arabanu

$$[\alpha]_D = \text{ok.} - 200^\circ \text{ do } - 220^\circ.$$

O wykonaniu ostatecznej hydrolizy t. zw. „arabanów”, dającej możliwość łatwego otrzymywania z dobrą wydajnością czystej krystalicznej l-arabinozy — patrz: część VI, rozdział 6!

Oprócz t. zw. „arabanów”, rozpuszczalnych w 70% alkoholu, o których dotychczas była mowa, mamy jeszcze zawsze pewną zawartość arabanu we wszystkich galakturonidach, zarówno tych, które otrzymano przy działaniu czystej wody (jak Nr. 5), jak i tych, które otrzymano przy użyciu kwasu o mniejszym czy większym stężeniu (jak Nr. 13, otrzymany z  $\frac{n}{5}$  HCl). Nie wypowiadając się tu w sprawie, czy araban ten jest związany z galakturonidem, czy też nie, — stwierdzić musimy, że araban zawarty w galakturonidzie jest o wiele bardziej oporny na hydrolizujące działanie kwasu, niż wyżej opisane t. zw. „arabany”. Wynika to już ze wskazanego faktu obecności takiego arabanu w galakturonidzie Nr. 13, otrzymanym przez działanie  $\frac{n}{5}$  HCl. Jeszcze wyraźniej uwidocznia się odporność takiego arabanu z opisanych w poprzednich rozdziałach doświadczeń nad stopniową hydrolizą kwasową galakturonidu, z których wynika, że 20 godz. ogrzewanie z  $\frac{n}{20}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, a nawet 10 godz. z  $\frac{n}{4}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nie wystarcza do całkowitego oderwania arabanu od galakturonidu i do ostatecznej hydrolizy oderwanej części.

Fakty te prowadzą do przypuszczenia, że z ogólnej ilości arabanu zawartego w miąższu pewna część, prawdopodobnie ok.  $\frac{1}{3}$  części, jest arabanem (czy też częścią cząstki arabanu) względnie trudniej poddającym się hydrolizie kwasowej, podczas kiedy główna część (ok.  $\frac{2}{3}$ ) ulega tej hydrolizie z łatwością.

Preparaty galakturonidowe, zawierające znacznie wyższą od normalnej (14—16%) ilość arabanu, posiadają niższą  $[\alpha]_D$ : tak np. galakturonid Nr. 11 o 40% arabanu posiada  $[\alpha]_D = +90^\circ$ , podczas kiedy Nr. 5 (o 18% arabanu)  $[\alpha]_D = +165^\circ$ ; zaznacza się tu jakby wpływ lewoskrętności niezmienionego arabanu.

Ze skręcalności  $[\alpha]_D = +165^\circ$  dla galakturonidu Nr. 5 (w przypuszczeniu, że  $[\alpha]_D$  arabanu = ok. — 200°) obliczyćby można  $[\alpha]_D$  czystego (bazarabanowego) galakturonidu — wyniosłaby ona  $[\alpha]_D = \text{ok.} + 250^\circ$ .