

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 CH_3OH . 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 cm^3 n NaOH, czyli przeciętnie ok. 3 moli na 8 moli kwasów heksuronowych; liczba kwasowa — 40 — 80 cm^3 n NaOH (czyli przeciętnie ok. 1,3 mola na 8 moli kwasów heksuronowych).

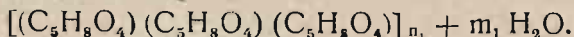
C z ę ś ć VII.

Skład i budowa związków pektynowych.

W pierwszych częściach naszych badań, ogłoszonych drukiem w 1923 r.¹⁾, 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:

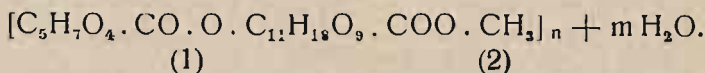
¹⁾ K. Smoleński, Roczniki Chemji, 3, 86 (1923).

$[(C_5H_8O_5CO)(C_5H_7O_4CO.O.CH_3).(C_6H_{10}O_5)]_n + mH_2O$
oraz dla arabanu:



Założyliśmy przytem, że jednej cząsteczce galakturonidu odpowiada jedna cząsteczka arabanu.

Próbując rozwiązać budowę najprostszej cząsteczki („elementu”) galakturonidu, przyjęliśmy dla niej wzór:



wykazujący, że mamy tu: cząsteczkę kwasu heksuronowego, połączoną przez grupę — COOH (1) z cząsteczką kwasu heksozo-heksuronowego, w którym znów grupa — COOH (2) związana jest z resztką CH₃OH.

Wzór ten musimy dziś uznać za mylny. Pomyłka nasza znajduje wytłumaczenie w tem, żeśmy wtedy nie wiedzieli jeszcze o obecności w cząsteczce galakturonidu grupy acetylowej, którą wykryliśmy nieco później, a dla wytłumaczenia znalezionej liczby estrowej przyjęliśmy estrowe wiązania dla obudwu grup karboksylowych. Popelnieniu po myłki sprzyjał też fakt rzekomego wykrycia przez Ehrlich'a wśród produktów kwasowej hydrolizy galakturonidu kwasu galaktozo-galakturonowego. W ostatniej swej publikacji Ehrlich dochodzi do wniosku że kwas ten nie istnieje.

W dalszym ciągu tej części spróbujemy raz jeszcze podać syntezę dzisiejszej wiedzy o składzie i budowie związków pektynowych buraka cukrowego, z uwzględnieniem obszernego materiału doświadczalnego, podanego przez nas w III — VI częściach pracy niniejszej. Dla umożliwienia czytelnikowi porównania naszych wniosków z wnioskami zawartymi w pracach Ehrlicha podajemy przedewszystkiem zestawienie, nomenklatury stosowanej przez nas i przez Ehrlicha.

1. W sprawie nomenklatury.

Pierwotną całkowitą substancję pektynową, zawartą w miąższu, nazywa Ehrlich „*protopektyną*”. Uważamy, że lepiej narazie pozostać przy bardziej ogólnej nazwie, „*pierwotna substancja pektynowa*”, a to ze względu na brak dokładnych wiadomości, które składniki miąższu, poza białkiem i celulozą, należy zaliczać, a których nie zaliczać do związków pektynowych, oraz ze względu na brak ścisłego udowodnienia przypuszczenia, że główne składniki (galakturonid, araban, galaktan) są między sobą w pierwotnej substancji chemicznie związane.

Surową substancję pektynową, wyciągniętą przez gotowanie miąższu (pod ciśnieniem) z wodą nazywa Ehrlich „*hydropektyną*”. I ta nazwa wydaje się nam przedwczesna i niewłaściwa, albowiem, nawet przy wyciąganiu wodą, zależnie od

temperatury i czasu ogrzewania można otrzymać surową substancję pektynową, o rozmaitym składzie i własnościach. Dotyczy to jeszcze bardziej wyciągania wodą zakwaszoną. Używamy więc tu w dalszym ciągu ogólniejszej nazwy „surowa substancja pektynowa”.

Część surowej substancji pektynowej, rozpuszczalną w 75% alkoholu nazywamy obydwaj „arabanem”. Część nierozpuszczalną w 75% alkoholu, a właściwie otrzymany z niej wolny kwas, nazwał Ehrlich „kwasem pektynowym”. My zaś część tę, w tej postaci, w jakiej zostaje strącona alkoholem z roztworu surowej substancji pektynowej ze względu na to, że głównym jej składnikiem jest kwas galakturonowy—określamy (tymczasowo, aż do czasu ściślejszego rozgraniczenia poszczególnych indywiduów) zbiorową nazwą „galakturonidu”. Wprowadzeniu nazwy „kwas pektynowy” dla substancji wskazanego rodzaju jesteśmy przeciwni z następujących względów. Nazwa ta („kwas pektynowy”) wprowadzona została do literatury związków pektynowych jeszcze przez Frémy i Chodnev’a dla oznaczenia produktu otrzymanego z „pektyny” przez działanie ługu, w tem znaczeniu była zawsze używana, a ostatnio potwierdzona przez Fellenberg’a, który dowiódłszy, że „pektyna” (nasz „galakturonid”) jest estrem metylowym, zatrzymał nazwę kwasu pektynowego dla produktu zmydlenia tego estru. Dowolne użycie przez Ehrlich’a tej samej nazwy dla oznaczenia pierwotnego estru metylowego mogłoby znaleźć swoje uzasadnienie w jakichś specjalnie ważnych przyczynach, których Ehrlich nie wskazuje, albo choćby w tem, że ta w nowem znaczeniu użyta nazwa odpowiada ściśle określonemu związkowi. Tak jednak nie jest. Brakuje jeszcze ścisłych dowodów stwierdzających, że wszystkie składniki Ehrlich’owskiego „kwasu pektynowego” (który jest identyczny z naszym „galakturonidem”, otrzymanym „zwykłą” metodą), a więc również araban i galaktan, znajdują się ze sobą w związku chemicznym, a nie w mieszaninie; co ważniejsze, zależnie od sposobu wyciągania substancji pektynowej można otrzymać preparaty o rozmaitym składzie, np. preparat, niezawierający zupełnie galaktanu (nasze galakturonidy Nr. 5 i Nr. 6).

Nazwę „kwasu pektynowego” w nomenklaturze naszej zachowujemy w jej dawnem znaczeniu, t. j. dla oznaczenia kwasu, który otrzymuje się przez działanie ługu na pierwotny galakturonid, czyli przez oderwanie CH_2OH i kwasu octowego. Substancję tę nazywamy „pierwotnym kwasem pektynowym”, jeżeli otrzymany on został tylko przez hydrolizę alkaliczną i nie przechodził przez działanie kwasu, a więc zachował wszystkie składniki galakturonidu (araban, galaktan), oprócz CH_2OH i kwasu octowego.

Produkt, otrzymany z pierwotnego kwasu pektynowego przez bardziej energiczne działanie hydrolizujące kwasu, a niezawierający już galaktanu (w preparatach Ehrlicha podobno także arabanu), nazywamy obydwaj „kwasem poligalakturonowym”. Nazwa ta odpowiada Ehrlich’owskiemu „kwasowi poligalakturonowemu a”. Według Ehrlich’a kwas ten może być otrzymany także przez energiczne ogrzewanie pierwotnego galakturonidu lub nawet „hydropektyny”. Produkty stopniowej hydrolizy kwasowej pierwotnego galakturonidu (w skróceniu G_I) nazywamy tymczasowo w skróceniu galakturonidami: G_{II} , G_{III} , G_{IV} . Ten ostatni jest bardzo zbliżony do Ehrlich’owskiego „kwasu poligalakturonowego b”.

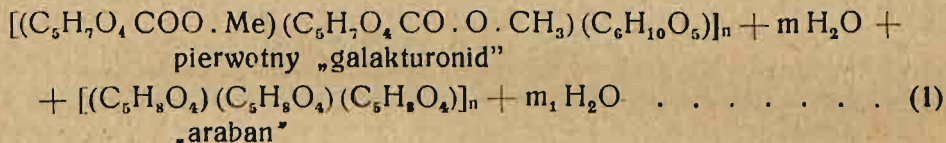
2. Pierwotna substancja pektynowa.

Wykonana przez nas całkowita analiza miąższu buraka cukrowego rzuca pewne światło na domniemaną „pierwotną substancję pektynową” (protopektynę). Jeżeli przypuścimy, że wszystkie składniki miąższu,

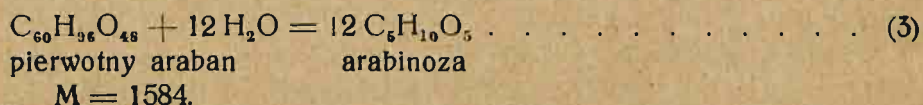
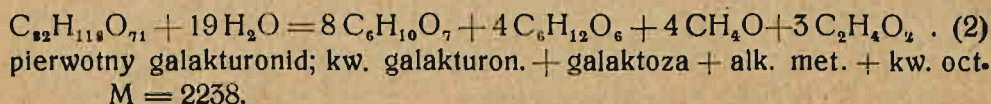
oprócz celulozy i białka, wchodzi w skład „protopektyny”, a składnik „nieoznaczony” analitycznie przyjmujemy dla powodów wyluszczonych w części III rozdz. 5, za galaktan, to całkowita substancja pektynowa składać się będzie:

z kwasów heksuronowych w ilości	8 Mol.
alkoholu metylowego	4 „
kwasu octowego	3 „
arabanu	13 „
galaktanu	4 „
Ca + Mg	4 „

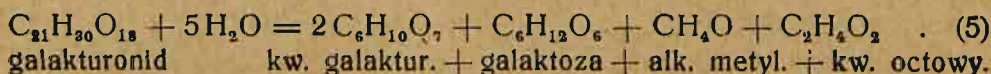
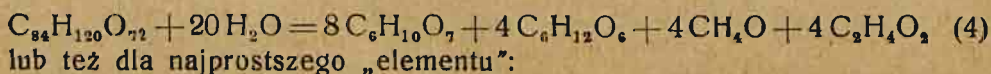
Jeżeli zamiast 13 Mol. arabanu przyjmujemy 12 Mol., to znalezione stosunki będą odpowiadały przypuszczalnemu schematycznemu wzorowi pierwotnej całkowitej substancji pektynowej, przyjętemu przez nas w pierwszych częściach badań, a mianowicie:



Wzór ten nie uwzględnia grup acetylowych. Przyjmując, że kwas octowy związany jest tylko z kwasem galakturonowym, oraz przypuszczając, że $n = 4$, a m i $m_1 = 0$, znajdziemy następujące przypuszczalne wzory głównych części składowych „protopektyny” i równania ich hydrolizy:



Ze względu na otrzymanie przez nas galakturonidów (Nr. 6), w których na 8 moli kwasów heksuronowych przypada 4 mole kwasu octowego, możemy też przypuścić, że galakturonid zawarty w miąższu posiadał taki właśnie skład, lecz utracił 1 mol kwasu octowego już w czasie przygotowywania miąższu. Wtedy pierwotny galakturonid posiadałby następujące: wzór i równanie całkowitej hydrolizy:



Dalsze rozważania, dotyczące składu pierwotnej substancji pektynowej, a prowadzące do nieco odmiennych wniosków, podane będą niżej w rozdziale 5.

Element dwugalakturonowy. Już analiza miąższu prowadzi do konieczności przyjęcia założenia, że najprostszym elementem poligalakturonidowym jest element, składający się z 2 cząsteczek kwasu galakturonowego, *dwugalakturonid*; grupa karboksylowa jednej z tych cząsteczek jest złączona estrowo z CH_2OH , drugiej z — metalem (Ca, Mg), ewentualnie jest wolna. Założenie to znajduje swój wyraz już we wzorze (1) Liczba n elementów, składająca się na cząsteczkę galakturonidu, jest nam nieznana. Przyjęliśmy ją tu tymczasowo, bez dostatecznego uzasadnienia, jako równą 4.

3. *Ester jednometylowy kwasu jednoacetylodwugalakturonowego.*

(jego polimer).

Z pomiędzy różnych preparatów „galakturonidów”, opisanych w części III-ej niniejszej pracy, dwa, a mianowicie preparaty Nr. 5 i Nr. 6, wyraźnie różnią się od pozostałych przez zupełną nieobecność „składnika nieoznaczonego”, a więc przez nieobecność galaktanu. Pierwszy z nich (Nr. 5) otrzymany był przez wyciąganie miąższu buraczanego czystą wodą w temperaturze ok. 100° , drugi przez wyciąganie wodą, zakwaszoną niedostateczną ilością kwasu solnego (ok. 0,9 ilości teoretycznej) w temperaturze ok. 70° , a więc obydwie otrzymane zostały w warunkach w których hydrolizujące działanie jonów wodorowych w bardzo słabym tylko przejawie się mogło stopniu. Dotyczy to szczególnie Nr. 5, otrzymanego przez działanie czystej wody.

Zawartość grup charakterystycznych, wyrażona w molach, jest dla tych preparatów następująca:

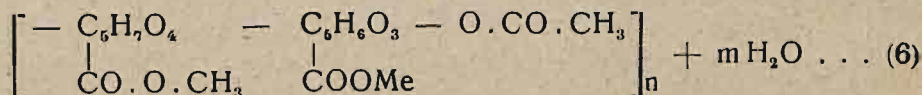
	Nr. 5	Nr. 6
Kwas galakturonowy	8	8
Araban	2,7	2,4
Alkohol metylowy	4,0	4,2
Kwas octowy	2,0 (1,8)	4,0 (3,8)
Galaktan	0	0
Liczba kwasowa + liczba soli kw. organ. . .	3,40	4,0 (3,90)
Liczba estrowa	8,50	8,0

Jeżeli araban uważać za składnik niezwiązany lub luźno tylko związany z właściwym galakturonidem, to galakturonidy Nr. 5 i Nr. 6 uznać należy za *polimery acetylowanego estru jednometylowego kwasu dwugalakturonowego*, zawarte w miąższu w postaci *soli wapniowo-gmanezowej*.

Preparat Nr. 6 różni się od Nr. 5 przez wyższą zawartość w nim kwasu octowego, którego ilość odpowiada 1 molowi kwasu octowego na 2 mole kwasu galakturonowego, podczas kiedy ilość kwasu octowego w preparacie Nr. 5 odpowiada 1 molowi na 4 mole kwasu galakturonowego. Na zasadzie posiadanego materiału doświadczalnego, nie możemy odpowiedzieć, czy ta różnica między Nr. 5 i Nr. 6 odpowiada dwum różnym galakturonidom, które mogą być zawarte już w mięszu, czy też uważać należy preparat Nr. 6 o większej zawartości kwasu octowego, jako pierwotny rzeczywiście w mięszu zawarty, zaś mniejszą zawartość kwasu octowego w Nr. 5 tłumaczyć przez hydrolityczne oderwanie części kwasu octowego w czasie otrzymywania galakturonidu. W dzisiejszym stadium badań gotowi jesteśmy przechylić się raczej na stronę drugiego przypuszczenia. Grupa acetylowa galakturonidów ulega, jak o tem pisaliśmy wyżej, bardzo łatwo zmydleniu szczególnie pod wpływem jonów OH. Przy wyciąganiu z mięszu preparatu Nr. 5 czystą wodą odczyn roztworu, przynajmniej w pierwszym stadium, winien był być bardzo słabo alkaliczny od obecności soli słabych kwasów organicznych i silnych zasad (Ca, Mg); przy wyciąganiu Nr. 6, z niedostateczną ilością kwasu mineralnego, odczyn był bardzo słabo kwaśny, prawie obojętny; zmydlenie grup acetylowych w pierwszym przypadku mogło być już dosyć energiczne, w drugim—bardzo jeszcze słabe, szczególnie jeżeli uwzględnić, że w pierwszym przypadku temperatura przy wyciąganiu wynosiła ok. 100°, w drugim ok. 70°. Częściowego potwierdzenia słuszności takiego przypuszczenia możnaby się też dopatrywać w tym fakcie, że preparat Nr. 11, otrzymany przez dalsze wyciąganie mięszu po otrzymaniu Nr. 5, ale teraz już wodą, zakwaszoną niedostateczną ilością kwasu solnego ($\frac{3}{4}$ ilości teoretycznej), zawiera stosunkowo większą ilość kwasu octowego, niż Nr. 5, mianowicie 3 mole na 8 moli kwasów heksuronowych.

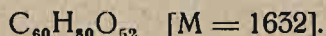
Preparat Nr. 6 (bez uwzględnienia arabanu) zawiera na 2 mole kwasu galakturonowego 1 mol CH_3OH i 1 mol $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ oraz ilość popiołu i liczbę kwasową, które w sumie odpowiadają 1 molowi kwasu wreszcie liczbę estrową, odpowiadającą dwum molom kwasu.

Wszystkie te dane zgodnie prowadzą do wniosku, że galakturonid ten, w najprostszym swym „elemencie”, jest *estrem jednometylowym soli wapniowo-magnezowej kwasu jednoacetylodwugalakturonowego* o wzorze:

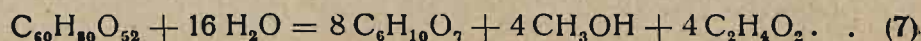


w którym pozycja grupy acetylowej wybrana została dowolnie.

Przyjmując $n = 4$, a $m = 0$, znajdziemy dla wolnego kwasu wzór:

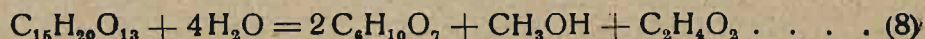


Całkowita hydroliza tego kwasu wyrazi się wzorem:



kw. galakturonowy, alk. metyl., kw. octowy

lub też dla najprostszego elementu:

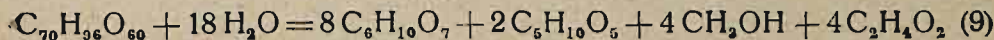


Substancja taka, którą można nazwać estrem metylowym kwasu acetyldwugalakturnonowego, winna dawać przy hydrolizie następujące ilości grup charakterystycznych:

	Znaleziono	Obliczono
Kwasu galakturonowego:	96,7%	95,1%
Alkoholu metylowego:	8,8%	7,8%
Kwasu octowego:	14,0%	14,7%
Liczba estrowa:	513 cm ³ n NaOH	490 cm ³ n NaOH

Czy związki takie, jak estry metylowe kwasu acetyldwugalakturnonowego, nie zawierające galaktanu i arabanu, istnieją już w pierwotnym miąższu w tej postaci, t. j. niezwiązane (lub tylko bardzo luźno związane) z galaktanem i arabaniem, czy w pierwotnym miąższu istnieją w postaci bardziej złożonej, zawierającej grupy galaktonowe i arabanowe, które ulegają całkowitemu lub częściowemu oderwaniu w czasie wyciągania z miąższu przez hydrolityczny rozkład, na to pytanie w obecnym stadium badań całkiem pewnej odpowiedzi dać nie możemy. Skłonni jesteśmy tylko myśleć raczej, że w pierwotnym miąższu istnieją galakturonidy w rodzaju Nr. 5 i Nr. 6, t. j. niezawierające galaktanu; w tem przypuszczeniu opieramy się głównie na tym fakcie, że preparaty te otrzymane zostały w takich warunkach, które albo zupełnie wykluczały hydrolizujące działanie jonów wodorowych (preparat Nr. 5) albo dopuszczały je tylko w stopniu bardzo słabym (Nr. 6).

Gdyby uważać, że araban jest nieodzowną częścią składową galakturonidów w rodzaju Nr. 5 i Nr. 6, to wobec tego, że znaleziona ilość arabanu (dla Nr. 6) odpowiada mniej więcej 2 molom na 8 moli kwasów heksuronowych, najprostszy wzór galakturonidu byłby C₃₅H₄₈O₃₀. Przyjmując zaś, jak wyżej, 4 cząsteczki kwasu dwugalakturnonowego, mieliśmy:



\downarrow \downarrow \downarrow \downarrow
 M = 1896 Kwas galakturon.; arabinoza; alk. metyl.; kwas octowy.

Dla substancji takiej:

	Znaleziono	Obliczono
Kwasu galakturonowego:	80,5%	81,9%
Alkoholu metylowego	7,3%	6,8%
Kwasu octowego	11,7%	12,7%
Arabinozy:	16,7%	15,9%
Liczba estrowa:	427 cm ³	422 cm ³ n NaOH

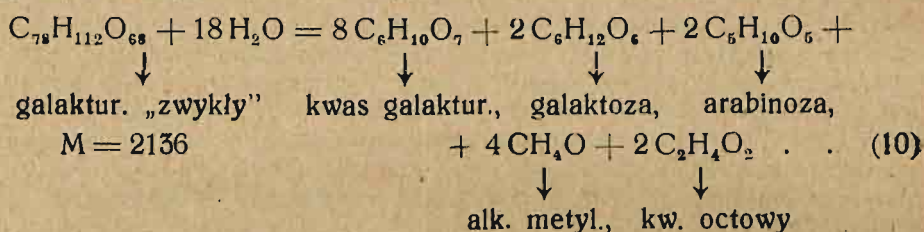
Zwracamy uwagę, że galakturonidy, niezawierające zupełnie galaktanu, otrzymane zostały z miąższu buraczanego wyłącznie przez nas; inni badacze (np. F. Ehrlich) o związkach takich nie wspominają. Takie właśnie galakturonidy, niezawierające galaktanu, jak ester metylowy kwasu acetyldwugalakturnonowego są, zdaniem naszym, istotną podstawą związków pektynowych i specjalnie zasługują na dalsze badanie.

4. Galakturonidy „zwykłe”.

Dla galakturonidów tych znaleźliśmy wyżej (część III, rozdz. 4) następujący przeciętny skład molowy:

Kwasów heksuronowych . . .	8 Moli
Alkoholu metylowego . . .	4 „
Kwasu octowego	2 „
Arabanu	2 „
Galaktanu	2 „

Jeżeli będziemy uważali araban i galaktan za istotne części składowe tych galakturonidów, to znalezionym stosunkom będą odpowiadały następujące wzory:



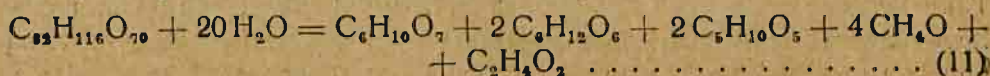
Dla substancji o takim wzorze mielibyśmy następujące ilości produktów hydrolizy:

	Znalez. — Oblicz.
Kwasu galakturonowego	70,6% — 72,7%.
Alkoholu metylowego	5,8% — 5,9%.
Kwasu octowego	5,2% — 5,6%.
Galaktozy	16,6% — 16,8%.
Arabinozy	13,2% — 14,0%.

Skład elementarny znaleziono (dla substancji, zawierającej 5% białka).

	Znalez. — Oblicz.
C	43,6% — 43,8%.
H	5,58% — 5,24%.
O	50,82% — 50,96%.
$\frac{O}{H}$	9,1% — 9,7%.

Gdyby przypuścić, że w pierwotnym galakturonidzie na 8 moli kwasów heksuronowych przypadało 4 mole kwasu octowego, z których 2 mole uległo oderwaniu podczas otrzymywania galakturonidu, to mielibyśmy dla pierwotnego galakturonidu wzory:



Można też patrzeć na taki „zwykły” galakturonid, w myśl wyluszcanych przez nas w poprzednich częściach poglądów, jako na mieszaninę trzech związków: właściwego („czystego”) galakturonidu, galaktanu i arabanu, lub też jako na substancję, w której te trzy związki związane są z sobą bardzo luźno i zawarte być mogą w różnych stosunkach.

Element dwugalakturonowy. Rozważania, przytoczone w poprzednim i niniejszym rozdziałach, prowadzą w dalszym ciągu do wniosku, że najprostszym elementem poligalakturonidowym jest element dwugalakturonowy.

Stosunek galaktanu, arabanu i kwasu octowego do kwasów heksuronowych w „zwykłych” galakturonidach (po 2 mole na 8 moli) zmusza do przyjęcia w tych galakturonidach kompleksów, składających się conajmniej z dwóch cząsteczek dwugalakturonidu czyli z 4-ch cząsteczek kwasu galakturonowego.

5. *Galakturonidy, otrzymane przez bardziej energiczną hydrolizę*
(Nr. Nr. 12 i 13); *pierwotny galakturonid.*

Galakturonidy te różnią się znacznie od „zwykłego” galakturonidu: 1) przez mniejszą zawartość CH_3OH , co należy tłumaczyć przez oderwanie części tego alkoholu przez hydrolizę kwasową podczas wyciągania substancji pektynowej; 2) przez większą zawartość galaktanu i arabanu: w galakturonidzie Nr. 12 — po mniej więcej 4 mole (3,7 M.) jednego i drugiego, w Nr. 13 — po 3 mole jednego i drugiego, zamiast po 2 mole, jak otrzymywano w galakturonidzie zwykłym.

Uderzające jest stale powtarzające się dla wszystkich galakturonidów, z wyjątkiem otrzymanych przez łagodną hydrolizę, jednakowe ustosunkowanie się ilości galaktanu do ilości arabanu: 1 molowi arabanu odpowiada 1 mol galaktanu. Fakt ten prowadzi do ważnego wniosku, niestety niesprawdzonego dotychczas doświadczalnie, o istnieniu w „pierwotnej substancji pektynowej” — kompleksu „arabanogalakturonowego”.

Przy uważnem rozpatrzeniu tablicy, zestawiającej skład molowy pierwotnego miąższu i galakturonidów Nr. Nr. 5, 11, 12 i 13 (p. część III, rozdz. 4) zauważyć jeszcze można, że podczas kiedy galakturonidy Nr. 5 i Nr. 11, otrzymane przez łagodną hydrolizę, nie zawierają wcale galaktanu lub zawierają go w ilości nieznacznej, to galakturonid Nr. 12, otrzymany przez bardziej energiczną hydrolizę, zawiera już ok. 4 moli galaktanu i tyleż arabanu; następny galakturonid Nr. 13, otrzymany przez jeszcze bardziej energiczną hydrolizę, zawiera znów nieco mniej galaktanu (i arabanu), bo ok. 3 moli, co łatwo wytłumaczyć tem, że przez energiczną hydrolizę przy wyciąganiu substancji pektynowej część galaktanu przeszła do t. zw. „arabanu” i rzeczywiście w „arabanie” Nr. 13 znajdujemy znaczną zawartość galaktozy (ok. 32%).

Wolno stąd wnioskować, że ustosunkowanie w pierwotnych galakturonidach miąższu galaktanu i arabanu do właściwego („czystego”) galakturonidu (estru metylowego kwasu acetylodwugalakturonowego) jest: 4 mole galaktanu i 4 mole arabanu na 8 moli kwasu galakturonowego.

W „pierwotnej substancji pektynowej”, zawartej w miąższu, znaleźliśmy taki właśnie stosunek ilości galaktanu (4 mole) do kwasów heksuronowych (8 moli). Gdyby przyjąć na zasadzie wyżej wyluszczonych względów, iż araban jest zawarty w pierwotnym galakturonidzie w ilości molowej równej ilości galaktanu, wtedy jako najprawdopodobniejszy skład *pierwotnego galakturonidu* (do którego najbardziej zbliżony jest galakturonid Nr. 12) mielibyśmy:

8 Moli kwasu galakturonowego + 4 Mole galaktanu + 4 Mole arabanu +
+ 4 Mole alkoholu metylow. + 4 Mole kwasu octowego
lub w najprostszym „elemencie”:

2 M. kw. galakturon. + 1 M. galaktanu + 1 M. arabanu + 1 M. CH_3OH +
+ 1 M. $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$.

Skąd wzór takiego galakturonidu:

$\text{C}_{104}\text{H}_{152}\text{O}_{88} + 24 \text{H}_2\text{O} + 8 \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7 + 4 \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 4 \text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5 + 4 \text{CH}_4\text{O} +$
 $\text{M} = 2808 \quad \quad \quad + 4 \text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2 \dots \dots \dots (12)$

lub dla najprostszego elementu:

$\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_{22} + 6 \text{H}_2\text{O} = 2 \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7 + \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5 + \text{CH}_4\text{O} +$
 $\text{M} = 702 \quad \quad \quad + \text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2 \dots \dots \dots (13)$

6. Domniemany skład substancji pektynowej miąższu buraczanego.

Według rozważań, podanych w rozdziale poprzednim, najprawdopodobniejszy skład pierwotnego (niezmienionego) galakturonidu jest następujący:

4 Mole kwasu galakturonowego + 2 Mole galaktanu + 2 Mole arabanu +
+ 2 Mole CH_3OH + 2 Mole $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$.

Galakturonid taki został otrzymany jako preparat Nr. 12 i Nr. 13, oraz wchodzi częściowo w skład Nr. 11. Galakturonidy zaś Nr. 5 i Nr. 11 (w głównej części) pozbawione są galaktanu, a zawarty w nich araban nie jest też, prawdopodobnie, istotną ich częścią składową. Ilość grup galakturonidowych w galakturonidach Nr. 5 i Nr. 11 — wynosi (według bilansu, podanego w aneksie Nr. 2) ok. 50%, czyli ok. połowy ogólnej ich ilości, zawartej w pierwotnym miąższu.

Jeżeli przyjmiemy ogólną ilość grup galakturonidowych, zawartych w miąższu, jako równą 8 molom, wtedy w postaci galakturonidów typu Nr. 5 i Nr. 11, mamy 4 mole i w postaci galakturonidów typu Nr. 12 i Nr. 13 — drugie 4 mole.

Galakturonidy typu Nr. 5 i Nr. 11, nie zawierające galaktanu, możemy sobie wyobrazić, jako produkt hydrolizy pierwotnego galakturonidu typu Nr. 12 (hydroliza ta zaszła już w samym buraku pod wpływem enzymów), przez którą obok galakturonidu typu Nr. 5, powstały: galaktan i araban. Z 4 moli galakturonidu powstać powinny w ten sposób 2 mole galaktanu i 2 mole arabanu.

Otrzymamy wtedy następujący bilans substancyj, zawartych w miąższu:

I. Według analizy, w miąższu:	{	Kw. heksur.—Arabau—Galaktanu—Alkoh. met.—Kw. octow.
	{	8 Moli — 13 Moli — 4 Mole — 4 Mole — 3 (ewent. 4)
		(ewent. 12)

II. Otrzymano w

1) Galakturonidzie typu Nr. 5	4 Mole	—	—	2 Mole—2 Mole
2) Galakturonidzie typu Nr. 12	4 Mole—2 Mole—2 Mole—2 Mole—1 Mol (ewent. 2)			
3) Galaktanie	—	—	2 Mole	—
4) Arabanie z galakturonidu	—	2 Mole	—	—

Razem 8 Moli — 4 Mole — 4 Mole — 4 Mole — 3 Mole (ewent. 4)

Dla wyrównania rachunku pozostaje:

5) „Arabau pierwotnego”	—	8 Moli	—	—
-------------------------	---	--------	---	---

Ostatecznie 8 Moli—12 Moli—4 Mole—4 Mole—3 (ewent 4) M.

Araban, wymieniony w pozycji 5, jest to ten araban (ilość jego wynosi $\frac{2}{3}$ ogólnej ilości), który od początku nie jest związany lub jest związany tylko bardzo luźno z galakturonidem. Nazwiemy go „*arabanem a*”. Jest to ten araban, który otrzymujemy przedewszystkiem, jako t. zw. „araban” przy otrzymywaniu galakturonidu „zwykłą” metodą, jako część surowej substancji pektynowej, rozpuszczalną w 75% alkoholu. Ulega on z łatwością ostatecznej hydrolizie kwasowej, dając arabinozę. Jest w niezmiennionej postaci silnie lewoskrętny. Araban, wymieniony w pozycji 4, jest to część tego arabanu (ilość jej wynosi ok. $\frac{1}{6}$ ogólnej ilości arabanu, zawartego w miąższu), który początkowo związany był (dosyć trwale) z galakturonidem. Nazwiemy go „*arabanem b*”. Różni się on od „arabanu a” tem, że nieco trudniej poddaje się wyciąganiu z miąższu: jako t. zw. „araban”, t. j. część rozpuszczalna w 75% alkoholu, otrzymuje się dopiero przy bardziej energicznem wyciąganiu substancji pektynowej z miąższu (główna część t. zw. „arabanów” Nr. 12 i Nr. 13). O wiele trudniej, niż „araban a”, poddaje się hydrolizie kwasowej. Widać to np. z tego, że podczas kiedy przy otrzymywaniu „zwykłych” galakturonidów

ilość cukrów redukujących w t. zw. „arabanie”, wynosząca normalnie ok. 35—40%, wzrasta do 60—65% przy nieznacznym nawet przekroczeniu kwasowości wody przy wyciąganiu miąższu, to przy otrzymywaniu galakturonidów Nr. 12 i Nr. 13 ilość cukrów redukujących wynosi 47%.

i 35%, pomimo że do wyciągania stosowano $\frac{n}{40}$ i $\frac{n}{5}$ HCl.

Ten sam „araban b” zawarty jest w postaci dosyć trwale związanej w galakturonidach „zwykłych” oraz takich, jak Nr. 12 i Nr. 13, otrzymanych przez bardziej energiczną hydrolizę. Mieliśmy już parokrotnie sposobność wskazać (porówn. część IV, rozdz. 5), że araban ten o wiele trudniej poddaje się hydrolizującemu działaniu kwasu, aniżeli zwykły t. zw. „araban” czyli „araban a”. Ogólna ilość „arabanu b” wolnego i zawartego w galakturonidzie wynosi $\frac{1}{3}$ ogólnej ilości arabanu, zawartego w miąższu.

Galaktan, wskazany w pozycji 3, jest wolnym galaktanem, nie związanym z galakturonidem, ale pochodzącym z pierwotnego galakturonidu. Ilość jego wynosi połowę ogólnej ilości galaktanu, zawartego w miąższu. Ten galaktan poddaje się wyciąganiu z miąższu z dość znaczną trudnością: on to pozostaje w miąższu po otrzymaniu galakturonidu Nr. 13,

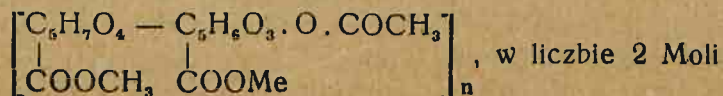
t. j. po wyciąganiu $\frac{n}{5}$ HCl.

Druga połowa galaktanu zawarta jest w galakturonidzie, wskazanym w pozycji 2, czyli w pierwotnym niezmienionym galakturonidzie, posiadającym całkowitą właściwą mu ilość arabanu (*b*) i galaktanu. Taki galakturonid wraz ze związanym z nim galaktanem poddaje się łatwiej wyciąganiu wodą, aniżeli wolny galaktan (preparaty Nr. 12 i Nr. 13).

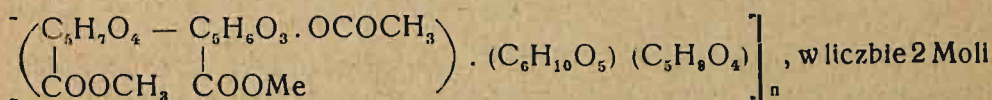
Galakturonid, wskazany w poz. 1, wyciąga się z miąższu najłatwiej, bo już czystą (Nr. 5) wodą lub wodą zakwaszoną małą ilością kwasu (Nr. 11 i Nr. 6). Obecny w galakturonidach tego typu araban należy uznać za „araban a”, t. j. niezwiązany z galakturonidem. Obecność jego w galakturonidzie tłumaczy się tem, że „araban a”, jako łatwo przechodzący z miąższu do wody, został wyciągnięty razem z galakturonidem w postaci mało zmienionej, wobec bardzo słabego hydrolizującego działania środowiska i jako taki, strącony został 75%-ym alkoholem razem z galakturonidem.

Reasumując, przypuszczamy, że w miąższu buraczanym zawarte są następujące związki:

- 1) Polimer estru metylowego kwasu acetylodwugalakturonowego:



2) Polimer estru metylowego kwasu arabo-galakto-acetylodwugalakturnonowego:

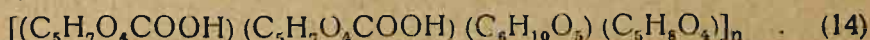


- 3) Galaktan, $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$, w liczbie 2 Moli {
 4) Araban *b*, $(\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4)_n$, w liczbie 2 Moli { ewentualnie i arabano-galak.
 5) Araban *a*, $(\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4)_n$, w liczbie 8 Moli.

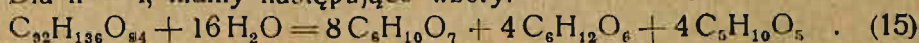
Galakturonidy, otrzymane „zwykłą” metodą, pośrednią między łagodną metodą, według której otrzymano preparaty takie jak Nr. 5 i Nr. 6, a dość energiczną metodą, według której otrzymano preparaty takie, jak Nr. 12 i Nr. 13, zawierają mieszaninę obudwu wyżej wymienionych galakturonidów (pod poz. 1 i 2) w ilościach mniej więcej jednakowych. Wobec tego skład ich jest przeciętną arytmetyczną ze składu tych dwóch galakturonidów: na 8 moli kwasów heksuronowych mamy w „zwykłych” galakturonidach 2 mole arabanu i 2 mole galaktanu.

7. Kwasy pektynowe i kwasy poligalakturnonowe.

Kwasami pektynowymi nazywamy produkty działania alkaliu na galakturonidy. Jeżeli podstawowym galakturonidem miąższu buraczanego jest według rozważań, podanych w poprzednim rozdziale, polimer estru metylowego kwasu arabo-galakto-acetylo-dwugalakturnonowego, wtedy podstawowym kwasem pektynowym jest polimer kwasu arabo-galakto-dwugalakturnonowego, o najprostszym wzorze:



Dla $n = 4$, mamy następujące wzory:



$$M = 2584$$

Kwas galak. + galaktoza + arabinoza

lub dla najprostszego „elementu”:



Galakturonid, otrzymany przez łagodne wyciąganie, (jak Nr. 6), który według rozważań poprzedniego rozdziału jest polimerem estru metylowego kwasu acetylodwugalakturnonowego, da kwas pektynowy, nie zawierający arabanu ani galaktanu: kwas polidwugalakturnonowy lub, krócej, kwas poligalakturnonowy, o najprostszym wzorze:



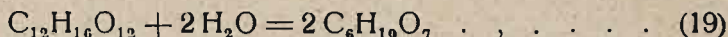
Dla $n = 4$ mamy wzory:



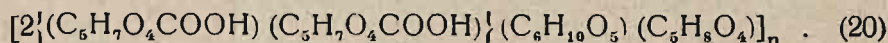
$$M = 140$$

Kwas galakturonowy

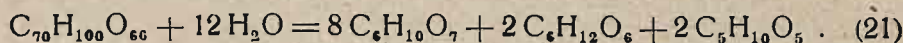
lub dla najprostszego „elementu”:



Galakturonidy „zwykłe”, są według rozważań poprzedniego rozdziału, mieszaniną dwóch poprzednich wziętych w równych ilościach. Otrzymany z nich kwas pektynowy posiadać będzie skład, odpowiadający najprostszemu wzorowi:



Dla $n = 2$ mamy wzory:



$M = 1996$

Kw. galakturon.; galaktoza; arabinoza.

Substancji tej odpowiada kwas pektynowy, otrzymany przez nas ze „zwykłego” galakturonidu w postaci soli sodowej (tablica XXII, część V, rozdz. 1).

Przypuszczenie, iż kwas pektynowy, otrzymany ze „zwykłego” galakturonidu, jest mieszaniną kwasu poligalakturonowego i podstawowego kwasu pektynowego, czyli polimeru kwasu arabo-galakto-dwugalakturonowego, znajduje swoje potwierdzenie w tem, że ten „zwykły” kwas pektynowy przy ogrzewaniu z wodą lub z rozcieńczonym kwasem daje się rozdzielić na dwie mniej więcej równe części, z których pierwsza, w wodzie łatwiej rozpuszczalna, zawiera większe ilości arabanu i galaktanu, druga, w wodzie bardzo trudno rozpuszczalna, zawiera coraz mniej arabanu i galaktanu, lub wreszcie wcale ich nie zawiera, czyli jest kwasem poligalakturonowym. (Porównaj doświadczenia, opisane w części V, rozdz. 2).

Przez ogrzewanie kwasu pektynowego, czyli polimeru kwasu arabo-galakto-dwugalakturonowego, z nieco mocniejszym kwasem, np. z nH_2SO_4 , otrzymuje się, po hydrolitycznem oderwaniu arabanu i galaktanu, kwas poligalakturonowy, ściślej polidwugalakturonowy $(C_{12}H_{16}O_{12})_n$.

Opisane przez nas w części III rozdz. 3-im kwasy poligalakturonowe są wysoce zbliżone do czystego kwasu poligalakturonowego, ale zawierają jeszcze pewną ilość arabanu (a może i galaktanu). Ciekawą jest rzeczą zestawienie względnej rozpuszczalności w wodzie kwasu poligalakturonowego i niektórych jego pochodnych:

Kwas poligalakturonowy — b. trudno rozpuszczalny,
 ester metylowy kw. poligalaktur. — o wiele łatwiej,
 (otrzymany przez nas syntetycznie).

Kwas pektynowy (kwas arabano-galakto-poligalak-
 turonowy — lepiej niż kw. poligalaktur.),

galakturonid (ester metylowy kwasu pektynowego)
bardzo dobrze rozpuszczalny.

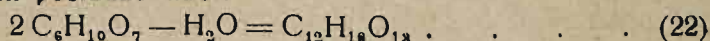
Oprócz kwasu poligalakturonowego, otrzymanego z kwasu pektynowego, a więc przez hydrolizę alkaliową galakturonidu, otrzymaliśmy jeszcze drugą substancję o składzie, odpowiadającym kwasowi poligalakturonowemu, opisaną w części IV, rozdz. 3, pod symbolem „galakturonid G_{IV}”. Kwas ten, otrzymany został (w postaci kwaśnej soli) przez wyłączną hydrolizę kwasową pierwotnego galakturonidu. Różni się on od kwasu poligalakturonowego przez dobrą rozpuszczalność w wodzie i dość znaczną zdolność redukującą. Jest prawdopodobnie inaczej zbudowany, niż kwas poligalakturonowy.

8. Kwas dwugalakturonowy.

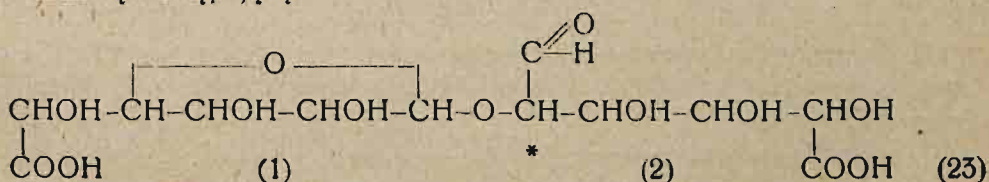
Z badania składu galakturonidów wynika, że kwas galakturonowy zawarty jest w nich w postaci najprostszego „elementu”, utworzonego z dwóch cząsteczek, a więc galakturonidu czyli kwasu dwugalakturonowego,

Sam kwas dwugalakturonowy udało się nam otrzymać przez energiczną hydrolizę kwasową kwasu pektynowego. Otrzymaliśmy go w postaci soli wapniowej nierozpuszczalnej w alkoholu; posiada on zdolność redukcyjną równą 50% zdolności redukcyjnej kwasu galakturonowego (p. Część VI, rozdz. 1).

Kwas ten winien posiadać wzór:



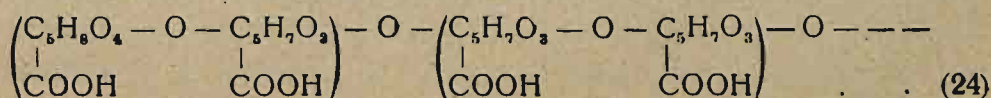
i budowę następującą:



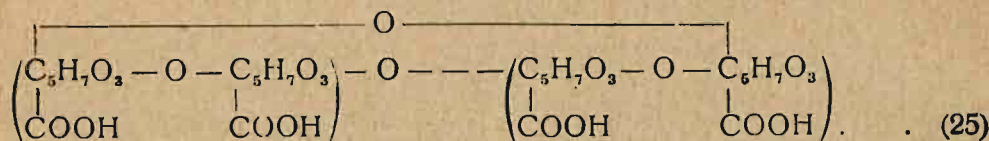
* W drugiej cząsteczce kwasu galakturonowego pozycja C, do którego dołączona jest pierwsza cząsteczka, wybrana jest dowolnie.

9. Budowa kwasu poligalakturonowego i galakturonidów.

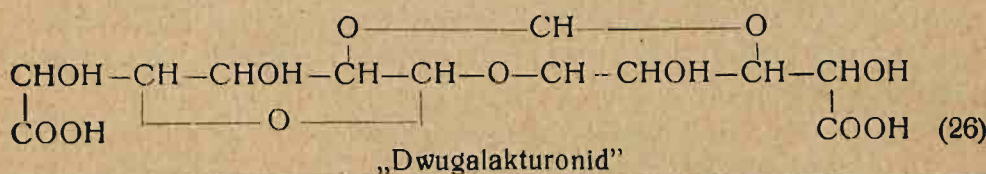
Wobec tego, że kwas poligalakturonowy: 1) posiada element dwugalakturonowy, 2) nie redukuje płynu Fehlinga i 3) posiada kwasowość, odpowiadającą dla elementu dwugalakturonowego dwum cząsteczkom kwasu galakturonowego, czyli posiada wszystkie grupy karboksylowe wolne, winna mu odpowiadać następująca budowa:



ewentualnie budowa zamknięta:

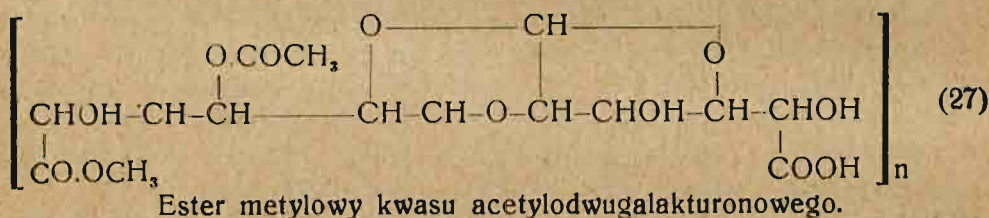


Możliwą jest rzeczą, że to zamknięcie ma miejsce już w elemencie dwugalakturonowym, z utworzeniem pierścienia o dwóch O, np.



Pozycja C, przez którą nastąpiło zamknięcie, wybrana dowolnie.

Najprostszy („czysty”) galakturonid jest polimerem estru metylowego kwasu acetylodwugalakturonowego. Budowę jego można sobie wyobrazić np. jak następuje:



Pozycja grupy acetylowej wybrana dowolnie. Według tego wzoru jedna z 2 cząsteczek kwasu galakturonowego posiadałaby tylko jedną wolną alkoholową grupę OH!

Podstawowy galakturonid zawiera, prócz tego, grupy arabanowe i galaktanowe. Nie mamy żadnych danych, ażeby sądzić o tem, w jaki sposób są one związane z elementem dwugalakturonowym; conajwyżej możemy przypuszczać, że połączenie to zachodzi przez alkoholową grupę — OH (lub grupy OH) kwasu galakturonowego.

O budowie ich też niewiele więcej powiedzieć możemy ponadto, że araban, wchodzący w skład galakturonidów, oporniejszy jest na hydrolyczne działanie kwasów, niż główna część arabanu, zawartego w miąższu oraz, iż prawdopodobnem jest, że araban ten związany jest z galaktanem, jako araban-galaktan.

10. O hydrolizującym działaniu wody na związki pektynowe miąższu.

Związki pektynowe, zawarte w miąższu, w swojej postaci pierwotnej („pierwotna substancja pektynowa”) są w wodzie, przynajmniej zimnej, najwidoczniej nierozpuszczalne. Przy działaniu gorącej wody stopniowo

przechodzą do roztworu. Najłatwiej ulega przemianie, prowadzącej do przejścia w stan rozpuszczalny w wodzie, polimer estru metylowego kwasu acetylo-dwugalakturonowego („czysty galakturonid“): już przez gotowanie z czystą wodą, a więc wobec odczynu prawie obojętnego, wyciągamy z miąższu znaczną ilość galakturonidu typu Nr. 5. Następny z kolei przechodzi do roztworu w znacznej ilości „araban a”; do przejścia tego wystarcza bardzo niski stopień kwasowości. Nieco trudniej, pod wpływem nieco wyższej kwasowości, przechodzą do roztworu galakturonidy, zawierające araban (*b*) i galaktan, oraz wolny araban *b*. Najtrudniej, bo dopiero pod wpływem znacznego stężenia jonów wodorowych, przechodzi do roztworu wolny galaktan. Przemiany, prowadzące do przejścia w stan rozpuszczalny w wodzie składników pierwotnej substancji pektynowej, mają prawdopodobnie charakter hydrolityczny, podobnie jak przemiany, którym ulega skrobia przy przejściu w stan skrobi rozpuszczalnej.

Przeszedłszy do roztworu wodnego poszczególne substancje pektynowe ulegają dalszemu hydrolizującemu działaniu wody pod wpływem jonów wodorowych. Miara stopnia tej hydrolizy może być, do pewnego stopnia, rozpuszczalność lub nierozpuszczalność otrzymanych związków w alkoholu 75%. Najłatwiej przechodzi w stan rozpuszczalny w 75% C_2H_5OH — araban *a*, który ulega przytem, pod wpływem nieco większej kwasowości, daleko posuniętej hydrolizie, wyrażającej się w wytworzeniu znacznej ilości cukrów redukujących. Trudniej — wolny araban *b*, jeszcze trudniej galaktan. Czysty galakturonid jest oporny na hydrolizujące działanie wody zakwaszonej: potrzebna jest znaczna kwasowość środowiska, ażeby część jego stała się rozpuszczalna w 75% alkoholu, traci on przytem dość łatwo CH_3OH i $C_2H_4O_2$. Arabano-galaktano-galakturonid jest też dosyć oporny na działanie hydrolizujące, dopiero przy większej kwasowości przechodzi w związki rozpuszczalne w 75% alkoholu; do roztworu przechodzą przytem głównie produkty hydrolizy arabanu i galaktanu, oraz CH_3OH i $C_2H_4O_2$, w mniejszym stopniu czysty galakturonid.

Zjawiska, zachodzące przy ogrzewaniu gotowych arabano-galaktano-galakturonidów, np. „zwykłych” galakturonidów, z kwasem mineralnym, opisane były obszernie w części IV (oraz w aneksach Nr. 6). 10–20-godzinne ogrzewanie w 97° – 98° z $\frac{n}{20} H_2SO_4$ odrywa przez hydrolizę prawie wszystek kwas octowy, połowę CH_3OH oraz przeprowadza w stan rozpuszczalny w 75%-ym alkoholu główną część arabanu (*b*) i galaktanu, natomiast z grup galakturonidowych przechodzi do roztworu zaledwie 20%. Dopiero przy działaniu $\frac{n}{4}$ – $\frac{n}{2} H_2SO_4$ (w 97° – 98° , 5–10 godzin) prze-

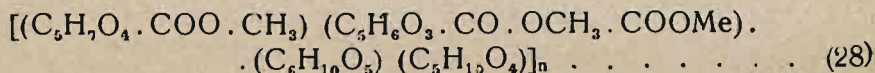
chodzi do roztworu w 75% alkoholu także znaczna część grup galakturonidowych.

Osiągnięciu całkowitej hydrolizy, aż do cukrów prostych i kwasu galakturonowego, towarzyszy rozpuszczalność produktów hydrolizy w mocnym 90–95% C_2H_5OH . To stadium hydrolizy najłatwiej może być osiągnięte dla arabanu *a*, wystarcza tu już 1–2 godz. ogrzewanie w 97°–98° z $\frac{n}{4} H_2SO_4$ (a prawdopodobnie i z jeszcze słabszym). Araban *b* i galaktan, pierwotnie wolne czy oderwane od galakturonidu, hydrolizie tej poddają się trudniej (np. przez 5 godz. ogrzewanie z $n H_2SO_4$ w 97°–98°). Najtrudniej wreszcie poddaje się ostatecznej hydrolizie czysty galakturonid; potrzebne tu jest np. 20 godz. ogrzewanie z $n H_2SO_4$ w 97°–98°.

11. Wnioski ostateczne o związkach pektynowych, zawartych w miększu buraka cukrowego.

Podstawowemi, pierwotnemi związkami, zawartemi w miększu buraka cukrowego, są:

1) *Arabano-galaktano-galakturonid*, posiadający, według wszelkiego prawdopodobieństwa, następujący skład:



a więc: *polimer soli wapniowo-magnezowej estru jednometylowego kwasu arabano-galaktano-acetylo-dwugalakturonowego*, o najprostszym wzorze:



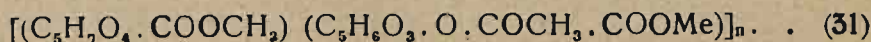
2) *Araban a*, łatwo ulegający hydrolizie kwasowej, o najprostszym wzorze



Galakturonid i araban *a* są ze sobą niezwiązane, lub związane bardzo luźno.

Część arabano-galaktano-galakturonidu ulega hydrolizie już w samym buraku cukrowym, wskutek czego w miększu obok dwóch wymienionych związków znajdują się jeszcze:

3) *Czysty galakturonid*, który według wszelkiego prawdopodobieństwa posiada następujący skład:



a więc jest *polimerem estru jednometylowego soli wapniowo-magnezowej kwasu acetylo-dwugalakturonowego*, o najprostszym wzorze:



4) *Araban b*, trudniej poddający się hydrolizie kwasowej, niż *araban a*:



i 5) *Galaktan*, o wzorze



Jak to zaznaczyliśmy we wstępie, ukończenie badań opisanych w pracy niniejszej, nie oznacza jeszcze całkowitego rozwiązania zadania, któreśmy sobie przed laty postawili: poznania składu i budowy związków pektynowych buraka cukrowego. Dotyczy to szczególnie budowy chemicznej tych związków.

Badania nasze prowadzimy w dalszym ciągu według następującego planu: 1) Najważniejszym dla poznania związków pektynowych wydaje nam się przede wszystkim wszechstronne zbadanie *kwasu poligalakturonowego*. 2) Muszą też być uzupełnione nasze wiadomości o *kwasie d-galakturonowym*; opracowujemy obecnie metodę syntezy tego kwasu przez utlenianie metylo-galaktozydu¹⁾. 3) Na dalsze uważne badanie zasługuje „czysty galakturonid“, t. j. *polimer estru metylowego kwasu acetylo-dwugalakturonowego*, który próbujemy otrzymać też syntetycznie z kwasu poligalakturonowego. 4) Winny być zbadane produkty *acetylowania i metylowania* galakturonidów. 5) Pracujemy nad sprawą hydrolizy galakturonidów pod wpływem odpowiednich *enzymów*; enzymy takie wykryliśmy w kielkujących nasionach buraka cukrowego, w soku młodych buraków oraz w wyciągu z kultur niektórych grzybków pleśniowych. 6) Oprócz stosowanych dotychczas metod wyciągania związków pektynowych (przez ogrzewanie z czystą wodą lub z wodą słabo zakwaszoną) warto zbadać metodę *wyciągania w słabo alkalicznym środowisku*. 7) Winny być dokładniej zbadane *koloidalne własności* związków pektynowych i produktów ich odbudowy. 8) Zastępuje na uwagę poznanie *produktów odtileniania* galakturonidów i t. d.

W opracowaniu części doświadczalnej opisanych badań współpracowali z nami, w różnym czasie między rokiem 1918 a 1927, oprócz wymienionych już w pierwszych częściach pracy: p. Eugenji Smoleńskiej, A. Komornickiej i W. Stypińskiego, jeszcze następujące osoby (w porządku alfabetycznym): K. Barciński, R. Behnke, S. Bi-

¹⁾ Porównaj K. Smoleński: „Próby otrzymywania metylo-glukuronidu przez utlenianie metylo-glukozydu“. *Roczniki Chemji*, 3, 153, (1923); *Chem. Zentr.*, 95, 317, (1924).

renbaum, M. Bohdanowiczówna, N. Frydman, J. Fuks, T. Jankowski, W. Jurewicz, S. Kiok, B. Kwiatkowski, J. Lewinson, W. Reicher, J. Rytlówna, H. Świderkowa, H. Teraszkiewiczówna. Wszystkim tym osobom składamy na tem miejscu serdeczne podziękowanie za ich współpracę.

Streszczenie.

I. W części III podany jest skład: 1) miąższu buraczanego, 2) szeregu galakturonidów i t. zw. „arabanów”, otrzymanych „zwykłą” metodą (t. j. przez wyciąganie miąższu wodą zakwaszoną nieznacznym nadmiarem kwasu), 3) szeregu galakturonidów i arabanów, otrzymanych przy rozmaitym stopniu zakwaszenia wody, 4) szeregu galakturonidów i arabanów, otrzymanych przez kolejne wyciąganie tego samego miąższu wodą o rozmaitym (wzrastającym) stopniu kwasowości. Podane są oznaczenia następujących grup charakterystycznych: białko, kwasy heksuronowe (kwas galakturonowy), grupy galaktozydowe i galakturonidowe, araban, galaktan (z bilansu, jako „składnik nieoznaczony”), alkohol metylowy, kwas octowy, liczba kwasowa, liczba estrowa, liczba soli kwasów organicznych, skład elementarny etc. Podany jest też skład tych produktów w molach, licząc na 8 moli kwasów heksuronowych. Z zestawienia tych analiz nasuwa się wniosek, że skład otrzymywanych galakturonidów i arabanów może być różny w zależności od metody otrzymywania. Przez łagodne wyciąganie udało się otrzymać galakturonidy, niezawierające galaktanu. Przez coraz to bardziej energiczne traktowanie miąższu otrzymuje się galakturonidy o wzrastającej zawartości galaktanu.

II. W części IV opisane są wyniki hydrolizy kwasowej galakturonidów i arabanów. Podane są analizy produktów trzech kolejno wykonanych hydroliz, zarówno otrzymanych przytem galakturonidów, jako też produktów, rozpuszczalnych w 75% C_2H_5OH . Przy stopniowej, początkowo łagodniejszej, a potem bardziej energicznej hydrolizie rozmaite składniki galakturonidu zostają w rozmaitym stopniu oderwane i przechodzą w stan związków, rozpuszczalnych w 75% C_2H_5OH . Najłatwiej ulega oderwaniu kwas octowy, nieco trudniej — alkohol metylowy, araban i galaktan; bardzo trudno — grupy galakturonidowe. Przez bardziej energiczną hydrolizę otrzymano, jako produkt nierozpuszczalny w 75% alkoholu, galakturonid („G_{IV}”), nieposiadający już alkoholu metylowego, kwasu octowego i galaktanu, zawierający powyżej 90% kwasu galakturonowego, o znacznej zdolności redukcyjnej i wysokim $[\alpha]_D = +216^\circ$. Jest to polimer bezwodnika kwasu galakturonowego, $(C_6H_5O_6)_n$.

W destylatach od zagęszczania roztworów po hydrolizie, wykryto alkohol metylowy i kwas octowy (zidentyfikowany jako octan srebra).

W roztworach alkoholowych po strąceniu produktów reakcji, nierozpuszczalnych w 75% alkoholu, wykryto: arabinozę, w postaci: α -benzylofenylohydrazonu, dwufenylohydrazonu, galaktozę — jako *o*-tolylohydrazon, α -metylofenylohydrazon i α -benzylofenylohydrazon. Hydroliza kwasowa t. zw. „arabanów” zachodzi bardzo łatwo aż do końca (t. j. do arabinozy). Natomiast araban, zawarty w galakturonidach, ulega hydrolizie kwasowej znacznie trudniej.

III. W części V opisane są wyniki hydrolizy alkalicznej galakturonidu. Przy hydrolizie tej ulegają oderwaniu alkohol metylowy i kwas octowy. Jako produkt reakcji otrzymuje się sól sodową kwasu pektynowego, zawierającego obok kwasu galakturonowego, araban i galaktan w tej samej proporcji, co wyjściowy galakturonid. Przy rozkładzie tej soli nadmiarem kwasu mineralnego w celu otrzymania wolnego kwasu pektynowego, następuje oderwanie części arabanu i galaktanu. Przez bardziej energiczne traktowanie kwasu pektynowego kwasem mineralnym (np. 4 godz. ogrzewanie z n H_2SO_4) otrzymuje się preparat, zawierający powyżej 90% kwasu galakturonowego i nieposiadający galaktanu. Jest to kwas poligalakturonowy, $(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)_n$. Kwas ten różni się wybitnie od wyżej wskazanego galakturonidu („G_{IV}”) o tym samym składzie tem, że jest bardzo trudno rozpuszczalny w wodzie i nie redukuje płynu Fehlinga; $[\alpha]_D = +250^\circ$. Otrzymany został ester metylowy tego kwasu, $(\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_6)_n$.

IV. W części VI opisane są produkty ostatecznej hydrolizy galakturonidu i arabanu: 1) kwas *d*-galakturonowy otrzymany został przez energiczną hydrolizę (z $\frac{n}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$ przez 2½ godz. w $125^\circ - 130^\circ$) kwasu pektynowego, strącenie w alkoholowym roztworze w postaci soli barowej, rozkład tej soli i krystalizację z 70% — 80% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Otrzymano w ten sposób kilkakrotnie krystaliczny (igiełki) wodzian kwasu *d*-galakturonowego, $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$. P. t. $110^\circ - 112^\circ$, przy dalszem szybkim ogrzewaniu powtórne topnienie w $158^\circ - 159^\circ$. $[\alpha]_D$ dla wodzianu = $+49,9^\circ$; mutarotacja. Zdolność redukcyjna $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7$ wynosi ok. 80% zdolności redukcyjnej *d*-galaktozy. Ilość kwasu śluzowego przy utlenianiu HNO_3 — ok. 85% tej ilości, którą daje galaktoza. 2) kwasu glukuronowego ani glukozy nie wykryto (badanie produktów utleniania HNO_3). 3) kwas octowy, zawartość w „czystym” galakturonidzie, wynosi 11,5% (1 mol $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ na 2 mole kwasu galakturonowego), w „zwykłych” galakturonidach — ok. 5 — 5,5%; został wykryty przez jednego z autorów w r. 1923; udowodniono ściśle jego obecność wśród produktów hydrolizy kwasowej i alkalicznej galakturonidów; zawarty jest w postaci grupy acetylowej, bardzo łatwo ulegającej zmydleniu pod wpływem alkali (na zimno) i kwasów (przy ogrzewaniu);

wśród kwasów lotnych wykryto też nieznaczną ilość kwasu redukującego sole srebra, nie jest to kwas mrówkowy, lecz prawdopodobnie kwas *glioksalowy*. 4) Alkohol *metylowy*, zawarty w galakturonidach, otrzymanych przez łagodną hydrolizę w ilości 7%, w „zwykłych” — 5,5%; zawarty jest zarówno w mięszu jak w galakturonidach w ilości 1 mola na 2 mole kwasu galakturonowego; b. łatwo ulega zmydleniu przez alkalia, trudniej przez kwasy. 5) *d-Galaktoza* wykryta została przede wszystkim wśród produktów energicznej hydrolizy kwasowej kwasu pektynowego przy otrzymywaniu kwasu *d-galakturonowego* i zidentyfikowana w postaci: *o*-tolylohydrazonu, α -metylofenylo i α -benzylofenylohydrazonów; również wśród produktów stopniowej hydrolizy kwasowej „zwykłych” galakturonidów; wreszcie wśród produktów energicznej hydrolizy kwasowej galakturonidu, zarówno przez otrzymanie hydrazonów jako też przez próby fermentacyjne (*S. Cerevisiae* i *S. Pombe*.) 6) *l-arabinoza* stanowi wyłączny produkt hydrolizy kwasowej arabanu *a*; zidentyfikowana została w postaci kryształów o właściwym wyglądzie i właściwej wartości $[\alpha]_D$, a nadto w postaci α -benzylofenylohydrazonu, dwufenylohydrazonu, benzhydrazidu; została również wykryta wśród produktów energicznej hydrolizy kwasowej galakturonidów (właściwie zawartego w nich arabanu *b*).

V. W części VII podane są rozważania, dotyczące składu i budowy związków pektynowych, prowadzące do następującego wniosku ostatecznego. W mięszu buraka cukrowego zawarte są, jako podstawowe, następujące związki pektynowe: 1) *Arabano-galaktano-galakturonid*; będący: *polimerem soli wapniowo-magnezowej estru jednometylowego kwasu arabo-galakto-acetylo-dwugalakturonowego*,



czyli $(C_{26}H_{38}O_{22})_n$, i 2) *Araban a*, łatwo ulegający hydrolizie kwasowej, $(C_5H_8O_4)_n$. Część arabano-galaktano-galakturonidu ulega hydrolizie już w samym buraku cukrowym, wskutek czego w mięszu znajdują się jeszcze: 3) „Czysty” *galakturonid*, będący *polimerem estru jednometylowego soli wapniowo-magnezowej kwasu acetylodwugalakturonowego*,



4) *Araban b*, trudniej poddający się hydrolizie kwasowej, $(C_5H_8O_4)_n$ i 5) *Galaktan*, $(C_6H_{10}O_5)_n$.

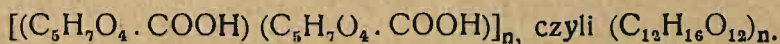
Przez hydrolizę alkaliową arabano-galaktano-galakturonidu otrzymuje się *kwas pektynowy*:



polimer kwasu arabo-galakto-dwugalakturonowego,



Przez hydrolizę alkaliową „czystego” galakturonidu lub przez hydrolizę kwasową kwasu pektynowego otrzymuje się *kwas poligalakturonowy*, będący *polimerem kwasu dwugalakturonowego*,



Warszawa, Maj—Czerwiec 1927 r.

Zakład Technologii Węglowodanów
Politechniki Warszawskiej.

R é s u m é.

I. La III-me partie de notre travail nous donne les compositions des substances suivantes: 1) du marc de la betterave, 2) d'une série des galacturonides et des „arabanes”, obtenues par la méthode ordinaire (c'est à dire par l'extraction du marc avec de l'eau, qui contient un peu de l'acide en surplus), 3) d'une série des galacturonides et des arabanes, obtenues par l'extraction avec de l'eau de différente concentration de l'acide, 4) d'une série des galacturonides et arabanes, obtenues par une extraction progressive du même marc avec de l'eau contenant chaque fois plus de l'acide. On a déterminé les suivants groupes caractéristiques: des substances protéiques, des acides hexuroniques (l'acide galacturonique), des groupes galactosidiques et galacturonidiques, d'arabane, de galactane (obtenue en décomptant de cent la somme des substances déterminées), d'alcool méthylique, d'acide acétique, l'acidité, le nombre des éthers-sels, le nombre des sels des acides organiques, l'analyse élémentaire etc. Les résultats sont aussi présentés en mols, sortant de 8 mols de l'acide hexuronique. De toutes ces analyses résulte, que la composition des galacturonides et des arabanes dépend de la méthode d'extraction qu'on a employée. Par un traitement léger on a obtenu des galacturonides, qui ne renferment pas de galactane, et par un traitement plus énergique on a produit des substances, contenant plus en plus de galactane.

II. En IV-me partie on a décrit les résultats de l'hydrolyse acide des galacturonides et des arabanes. On a noté des analyses des produits, qu'on a obtenues par l'hydrolyse progressive en trois étapes (galacturonides et partie soluble dans l'alcool de 75%). Par une hydrolyse graduelle, commençant par un traitement faible, on obtient des substances solubles dans l'alcool de 75%, lesquelles se forment par la destruction de la matière primaire. Pendant cette opération l'acide acétique se sépare le plus facilement, ensuite l'alcool méthylique, l'arabane et la galactane, les groupes galacturonides se séparent très difficilement. Par l'hydrolyse assez énergique on a obtenu une galacturonide (G_{IV}) non soluble dans l'alcool de 75%, qui ne possède pas d'alcool méthyli-

que, d'acide acétique et de galactane, renfermant plus de 90% de l'acide galacturonique et marquant des propriétés réductives et d'une rotation spécifique $[\alpha]_D = +216^\circ$. C'est le produit polymérisé de l'anhydride de l'acide galacturonique: $(C_6H_8O_6)_n$.

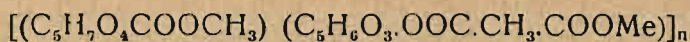
Après l'hydrolyse on a évaporé le jus et dans les liquides distillés on a trouvé l'alcool méthylique et l'acide acétique (identifié par l'acétate d'argent). En partie soluble dans l'alcool de 75%, on a découvert: l'arabinose, identifié comme *d*-benzylphénylhydrazone, biphénylhydrazone; puis le galactose identifié comme *o*-tolylhydrazone, α -méthylphénylhydrazone, et *a*-benzylphénylhydrazone. L'hydrolyse acide des „arabanes” va très facilement jusqu'à la fin, c'est à dire jusqu'à l'arabinose; d'autre part l'arabane annexée aux galacturonides se laisse hydrolyser plus difficilement.

III. En V-me partie on a décrit des résultats de l'hydrolyse alcaline de galacturonides. Par cette hydrolyse se séparent l'alcool méthylique et l'acide acétique. Le produit de la réaction est le sel du sodium de l'acide pectique, contenant auprès d'acide galacturonique aussi de l'arabane et de la galactane en même proportion, comme en galacturonide primaire. L'isolation de l'acide pectique au moyen d'acides minéraux en surplus est accompagnée par la séparation d'une partie de l'arabane et de la galactane. Par le même traitement, mais plus énergique (chauffé avec l'acide sulfurique normal pendant 4 heures) on arrive à une matière, qui contient plus que 90% de l'acide galacturonique et pas de galactane. C'est l'acide polygalacturonique $(C_6H_8O_6)_n$. Cet acide-ci se diffère beaucoup de la galacturonide G_{IV} de la même composition, car il se dissout très difficilement dans l'eau et ne réduit pas la liqueur de Fehling; $[\alpha]_D = +250^\circ$. On a préparé l'éther — sei méthylique de cet acide $(C_7H_{10}O_6)_n$.

IV. En VI-me partie on a décrit les produits de l'hydrolyse complète du galacturonide et de l'arabane: 1) l'acide *d*-galacturonique, on l'a obtenu par une hydrolyse énergique des acides pectiques (pendant 2½ h., avec $\frac{n}{10} H_2SO_4$ à la température de $125^\circ - 130^\circ$), précipitation dans la liqueur alcoolique en forme du sel de barium, séparation par l'acide sulfurique et cristallisation dans l'alcool de 70—80%. Cette substance purifiée est l'hydrate de l'acide *d*-galacturonique $C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O$, qui fond à $110^\circ - 112^\circ$, en continuant vite le chauffage il est de nouveau fusible à $158^\circ - 159^\circ$. Le pouvoir rotatoire de l'hydrate $= +49,9$; mutarotation. Le pouvoir réducteur du $C_6H_{10}O_7$ ne monte pas à 80% de celui de *d*-galactose. La quantité de l'acide mucique, obtenu par l'oxydation avec HNO_3 , est environ 85% de celle que fournit le galactose. 2) On n'a pas découvert ni d'acide glucuronique ni de glucose (recherches des

produits de l'oxydation avec HNO_3). 3) *L'acide acétique* dans la galacturonide „propre“ monte à 11,5% (1 mol $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ sur 2 mols de l'acide galacturonique), dans les galacturonides ordinaires environ 5 — 5,5%; il fut découvert par un des auteurs dans l'année 1923; on a éprouvé exactement sa présence dans les produits de l'hydrolyse acide et alcaline des galacturonides; il y est retenu en forme de groupe acétylique, qui se laisse saponifier très facilement avec des alcalis (en froid) et des acides (en chaud); entre les acides fugitifs on a aussi découvert une quantité mince d'un acide, qui réduit les sels d'argent, ce n'est pas l'acide formique, mais probablement *l'acide glyoxalique*. 4) *L'alcool méthylique* dans les galacturonides, obtenues par l'hydrolyse légère, monte à 7%, dans les galacturonides „ordinaires“ — à 5,5%; dans le marc, aussi que dans les galacturonides il se trouve en proportion d'un mol sur 2 mols de l'acide galacturonique; il se laisse saponifier très facilement au moyen d'alcalis, plus difficilement avec des acides. 5) Le *d-galactose* fut découvert surtout dans les produits d'une hydrolyse énergique de l'acide pectique avec des acides minéraux, en obtenant l'acide galacturonique; il fut identifié comme: *o*-tolyl-hydrazone, α -méthyl-phényl-hydrazone et α -benzyl-phényl-hydrazone; il fut aussi découvert entre les produits de l'hydrolyse graduelle des galacturonides ordinaires avec des acides; enfin, entre les produits d'une hydrolyse énergique de la galacturonide avec les acides, pareillement identifié par les hydrazones aussi par les épreuves fermentatives (*S. Cerevisiae* et *S. Pombe*). 6) *L'arabinose*. L'hydrolyse acide des arabanes-*a* fournit exclusivement de l'arabinose, identifié en cristaux caractéristiques par leur pouvoir rotatoire, ainsi qu'en forme de la α -benzyl-phényl-hydrazone, biphenyl-hydrazone et benz-hydrazone; l'arabinose fut aussi découvert entre les produits d'une hydrolyse énergique des galacturonides (c'est à dire, des arabanes-*b*, qui sont retenues dans les galacturonides).

V. La VII-me partie nous présente la discussion au sujet de la composition et de la structure des composés pectiques, qui nous porte à la conclusion suivante. Dans le marc de la betterave se trouvent des substances pectiques fondamentales de la suivante composition: 1) *L'Arabane-galactane-galacturonide*, étant un polymère sel de Ca-Mg de l'éther-sel monométhylrique de l'acide arabane-galactane-acétyl-bigalacturonique: $[(\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_4 \cdot \text{CO} \cdot \text{OCH}_3)(\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_3 \cdot \text{O} \cdot \text{OC} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{COOMe})(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)(\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4)]_n$, ou $(\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_{22})_n$, et 2) *L'Arabane a*, qui se laisse hydrolyser facilement par des acides, $(\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4)_n$. La partie de l'arabane-galactane-galacturonide se hydrolyse déjà dans la betterave, en conséquence donc on trouve dans le marc encore: 3) de la *Galacturonide „propre“*, représentant l'éther-sel monométhylrique du sel de Ca-Mg de l'acide acétyl-bigalacturonique:



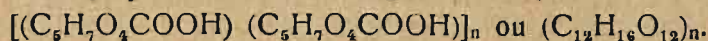
ou $(C_{15}H_{20}O_{13})_n$. 4) *L'arabane-b* qui se laisse hydrolyser plus difficilement avec des acides, $(C_5H_8O_4)_n$ et 5) *La galactane* $(C_6H_{12}O_6)_n$.

Par l'hydrolyse alcaline de l'arabane-galactane-galacturonide on obtient l'acide pectique:



le polymère de l'acide arabane-galactane bigalacturonique, $(C_{23}H_{34}O_{21})_n$.

Par l'hydrolyse alcaline de la galacturonide „propre” ou par l'hydrolyse acide de l'acide pectique on obtient l'acide polygalacturonique, représentant un polymère de l'acide bigalacturonique,



Varsovie, Mai—Juin 1927.

L'Institut de la Technologie
des hydrates de carbone
à l'Ecole Polytechnique
à Varsovie.

ANEKSY.

W aneksach tych podajemy szczegółowszy opis niektórych ważniejszych pominiętych w tekście głównym części badań doświadczalnych. Dat analitycznych nie podajemy zupełnie. W pracy tej wykonano ok. 1000 oznaczeń analitycznych, umieszczenie tak znacznej liczby dat analitycznych na łamach „Roczników Chemji” uważamy za niemożliwe i zbyteczne. Zamiast tego sprawdziliśmy parokrotnie wszystkie daty analityczne, odpowiadające rezultatom, podanym w opisie.

Nr 1. Liczba estrowa mięszu. (Szybkość hydrolizy alkalicznej).

10 porcyj mięszu, po 5 g każda, zalano każdą $140 \text{ cm}^3 \frac{n}{5} \text{ NaOH}$ i w określonych odstępach czasu oznaczano ilość pozostałego NaOH przez odwrotne mianowanie. Znalezione w ten sposób następujące liczby estrowe ($\text{cm}^3 n \text{ NaOH}$ na 100 g such. organ. subst. mięszu):

po 1/2 godz. — 167,0 cm^3	po 6 godz. — 182,0 cm^3
„ 1 „ — 173 5 „	„ 24 „ — 188,0 „
„ 2 „ — 177 5 „	„ 48 „ — 191,0 „
„ 3 „ — 178 5 „	„ 96 „ — 196,0 „
„ 4 „ — 180,0 „	

W drugim podobnie wykonanem doświadczeniu użyto znacznie słabszego ługu, bo $\frac{n}{35} \text{ NaOH}$, użytego w nieznacznym nadmiarze ($58 \text{ cm}^3 \frac{n}{35} \text{ NaOH}$ na 5 g mięszu). Znalezione następujące liczby zmydlenia:

po 15 min. — 95,5 $n \text{ NaOH}$ na 100 g subst.	
„ 30 „ — 115,7 „	„
„ 45 „ — 125,8 „	„
„ 60 „ — 136,4 „	„
„ 120 „ — 156,1 „	„
„ 240 „ — 158,5 „	„

№ 2. Bilans składników, wyciągniętych z miąższu przy otrzymywaniu galakturonidów Nr. 5, 11, 12 i 13.

Miażdż pierwotny posiadał skład następujący:

Celulozy	22,4%
Białka	6,0%
Kwas. heksur.	25,5%
Arabanu	31,1%
Alkoholu metyl.	2,4%
Kwasu octowego	3,4%
Składn. nieozn. (galaktanu)	11,6%
Liczba estrowa	178,0 cm ³ n NaOH.

Pozostałość miąższu (wyklejki) po otrzymaniu trzech pierwszych galakturonidów, t. j. Nr.Nr. 5, 11 i 12, posiadała skład następujący:

Celulozy	47,7%
Białka	10,1%
Kwasu heksuronowego	10,1%
Arabanu	8,2%
Alkoholu metylowego	0,6%
Kwasu octowego	1,7%
Składn. nieozn. (galaktanu)	22,4%
Liczba estrowa	106,0 cm ³ n NaOH.

Ilość pozostałego miąższu wyniosła 40,6% pierwotnego miąższu.

Uwzględniając dane tablicy IX (A, B, C, D, E). t. j. skład i ilość każdego i arabanów, otrzymamy następujący bilans składników:

Na 100 cz. subst. organ. pierwotn. miąższu:

Otrzymano:	Kwasu heksuron.	Alkoholu metyl.	Arabanu	Białka	Celulozy	Kwasu octowego	Składn. nieozn.	Liczba estrowa
W galaktur. Nr. 5	8,14	0,75	2,17	0,21	—	0,61	0,17	49,16
" " Nr. 11	5,82	0,51	5,13	0,16	—	0,73	0,84	42,30
" " Nr. 12	6,21	0,43	2,19	0,92	—	0,48	2,65	41,05
W arabanie Nr. 11	0,28	—	8,37	0,19	—	—	0,23	—
" " Nr. 12	0,25	—	6,12	0,33	—	—	0,27	—
W wyklejkach	4,10	0,24	3,34	4,19	19,41	0,70	9,09	42,92
Suma	24,80	1,93	27,32	6,00	19,41	2,52	13,25	175,43
Pierwotny miążż	25,52	2,43	31,08	6,02	22,45	3,42	11,45	177,08
Przyrost (+) lub strata (—)	—0,72	—0,50	—3,76	—0,02	—3,04	—0,90	+1,80	—2,4

W następnej tablicy podajemy te same dane, wyrażone w %-ch każdego ze składników w stosunku do jego zawartości w mięszu.

	Kwasy heksur.	Alkohol metylow.	Araban	Białko	Celuloza	Kwas octowy	Składnik nieozn.
Galaktur. Nr. 5	31,9%	30,9%	7,0%	3,5%	—	17,8%	1,5%
„ Nr. 11	22,8%	21,0%	16,5%	2,7%	—	21,3%	7,4%
„ Nr. 12	24,4%	17,7%	7,0%	15,3%	—	14,0%	23,2%
Araban Nr. 11	1,1%	—	26,9%	3,2%	—	—	2,0%
„ Nr. 12	1,0%	—	19,7%	5,5%	—	—	2,4%
Wyklejki	16,1%	10,0%	10,8%	69,8%	86,5%	20,5%	79,7%
Przyrost (+) lub strata (—)	97,3%	79,6%	87,9%	100,0%	86,5%	73,6%	116,2%
	— 2,7%	— 20,4%	— 12,1%	0,0%	— 13,5%	— 26,4%	+ 16,2%

Jeśli uwzględnić galakturonid i araban Nr. 13, to bilans przedstawi się, jak następuje:

	kwasy heksur.	Alkohol metyl.	Araban	Białko	Celuloza	Kwas octowy	Składnik nieozn.
w %-ch pierwotnego mięszu							
Galaktur. Nr. 13	3,24	0,16	0,94	0,51	—	?	1,12
Araban Nr. 13	0,25	—	1,09	0,43	—	—	0,91
	3,49	0,16	2,03	0,94	—	—	2,03
w %-ach poszczególnych składników							
Galaktur. Nr. 13	12,7	6,6	3,0	8,5	—	—	10,0
Araban Nr. 13	1,0	—	3,5	7,2	—	—	8,0
	13,7	6,6	6,5	15,7	—	—	18,0

Odejmując ilość poszczególnych składników, wyciągniętych z galakturonidem i arabaniem Nr. 13, od zawartości tych składników w pozostałości (wyklejkach) od wyciągu (t. j. galakturonidu + arabanu) Nr. 12, znajdziemy zawartość tych składników w pozostałości (wyklejkach) od galakturonidu i arabanu Nr. 13.

	Kwasy heksur.	Alkohol metyl.	Araban	Białko	Celuloza	Kwas octowy	Składnik nieozn.
w %-ach pierwotnego mięszu							
Ostat. wyklej.	0,61	0,08	1,31	3,25	19,41	—	7,06
w %-ach poszczególnych składników							
Ostat. wyklej.	2,4	3,4	4,5	54,1	86,5	—	61,7

Skład chemiczny ostatnich wyklejków według tych danych byłby następujący:

Kwas. heksuron.	1,9%
Alkohol metyl.	0,26%
Araban	4,1%
Białko	10,3%
Celuloza	61,2%
Składn. nieozn. (Galaktan)	22,3%

Surowa substancja pektynowa, zawarta jeszcze w tych wyklejkach w ilości 28,5% (a na miąższ pierwotny — 9,0%) miałaby skład następujący:

Kwas. heksuron.	6,6%
Alkoholu metyl.	0,9%
Arabianu	14,7%
Galaktanu	77,8%
	<hr/> 100,0%

Nr 3. Sprawdzenie metody Haar'a oznaczania galaktozy.

a) W cukrze mlecznym. Spalanie czystej laktozy dało następujące wyniki:

	1	2	Obliczono dla $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$
C	39,84	39,96	39,98
H	6,75	6,98	6,71.

Jako kwas śluzowy, dodawany przy analizie według Haar'a, użyto kwasu śluzowego, przekrystalizowanego przez rozpuszczenie w NaOH i strącenie HCl. Przydatność tak oczyszczonego kwasu śluzowego sprawdzono przez wykonanie ślepej próby, w której poddano utlenieniu HNO_3 . d = 1,15 l g sacharozy. Z dodanych. przy analizie 500 mg kwasu śluzowego ubyło (przeciętna z 4 prób) 3,5 mg, co zgadza się z danymi Haar'a. [Nieprzekrystalizowany kwas śluzowy Kahlbaum'a dał w tych samych warunkach 18—20 mg ubytku]

Utlenianie cukru mlecznego bez dodawania sacharozy.

Ok. 0,5000 g cukru mlecznego dało kwasu śluzowego:

1) 0,5008 „ „	„	„	„	„	256 mg
2) 0,5009 „ „	„	„	„	„	245 „
3) 0,5010 „ „	„	„	„	„	244 „
4) 0,4998 „ „	„	„	„	„	251 „

Według tablicy I Haar'a (Anleitung z. Nachweis . . . , r. 1920, str. 125), która zgodnie ze wskazówkami Haar'a winna tu znaleźć zastosowanie, odpowiadałoby to następującym ilościom i %-om galaktozy:

- 1) 0,2372 gr czyli 47,4% galaktozy.
- 2) 0,2263 „ „ 45,2% „
- 3) 0,2250 „ „ 44,9% „
- 4) 0,2304 „ „ 46,1% „

Przeciętnie: 45,9% zamiast 50%, a więc rezultat zbyt

niskim

Według tablicy II (przeznaczanej przez Haar'a dla przypadku utleniania z dodatkiem sacharozy, (patrz tamże, str. 126):

- 1) 0,2560 g czyli 51,1%
- 2) 0,2447 „ „ 48,9%
- 3) 0,2436 „ „ 48,6%
- 4) 0,2510 „ „ 50,2%

Przeciętnie 49,7% zamiast 50%.

Utlenianie z dodawaniem sacharozy.

0,500 g laktozy + 0,500 g sacharozy.

Otrzymano według tablicy II:

- 1) 53,1% galaktozy
- 2) 55,0% „
- 3) 53,4% „
- 4) 54,6% „

54,0% zamiast 50%, a więc rezultat zbyt wysoki.

Według tablicy I:

- 1) 50,0%
- 2) 51,4%
- 3) 49,6%
- 4) 50,0%.

Wynika z tych danych, że tablice Haar'a, dla ilości galaktozy (w cukrze mlecznym) ok. 250 mg. nie są zbyt dokładne: tablica I (metoda bez dodania sacharozy) daje rezultat niższy o ~ 8%, tablica II (metoda z dodaniem sacharozy do 1 g) wyższy o ~ 8%.

b) W galakturonidzie o zawartości 49,6% kwasów heksuronowych znaleziono, przy użyciu odważek ok. 0,5000 gr:

metoda bez dodania sacharozy, tablica I:

tabl. II

1 } 46,4% galaktozy
2 }

49,92% galaktozy

metoda z dodaniem sacharozy (0,5 gr), tablica I.

tabl. II

1 }
2 }

40,3% galaktozy

a więc dla galakturonidu według drugiej metody znacznie mniej, podczas kiedy dla laktozy druga metoda dawała wyższe rezultaty!

Analiza innego galakturonidu o zawartości 72,0% kwasów heksuronowych dała:

metoda bez dodania sacharozy, tablica I:

tabl. II

1 } 66,1% galaktozy
2 }

69,1% galaktozy

metoda z dodaniem sacharozy, tablica I:

tabl. II

1 }
2 }

58,5% galaktozy

Nr 4. Działanie NaOH na cukry redukujące.

W celu przekonania się, czy oznaczenie „liczby estrowej“ może dać prawidłowe rezultaty dla tych galakturonidów lub produktów ich hydrolizy, które zawierają już znaczniejszą ilość „grup redukujących“ (płyn Fehling'a), wykonano

doświadczenia, w których działano NaOH na roztwór cukrów prostych w warunkach naśladowujących warunki oznaczania „liczby estrowej“.

0,5 g cukru prostego — glukozy, galaktozy, arabinozy — rozpuszczonego w 100 cm³ wody zadawano 100 cm³ $\frac{n}{5}$ NaOH i pozostawiano w temperaturze pokojowej na przeciąg 18 godzin, poczem mianowano $\frac{n}{5}$ HCl wobec fenoloftaleiny. Ilość NaOH, która została związana przez kwasy organiczne, tworzące się z cukrów, przeliczona na 100 g cukru, dała następujące *fikcyjne* „liczby estrowe“:

dla	glukozy	galaktozy	arabinozy
100,6 cm ³ n NaOH;	149,4 cm ³ ;	142,2 cm ³ .	

Wykonano też doświadczenia, w których oznaczono ilość kwasów lotnych, jaka tworzy się przy działaniu NaOH na cukry proste: arabinozę i galaktozę. Metodę oznaczania kwasów lotnych stosowano tę samą, jak przy oznaczaniu kwasów lotnych w galakturonidach. Znalezione na 100 g cukru:

	arabinozy	galaktozy
Liczbę kwas. lotn. 50 cm ³ n NaOH	20 cm ³ n NaOH.	

Doświadczenia te wykazują, że zarówno „liczba estrowa”, jako też „liczba kwasów lotnych” dla substancyj, zawierający grupy redukujące, wypadają winny wyższe od rzeczywistych.

Nr 5. *Bilanse składników przy stopniowej hydrolizie galakturonidu.*

Rachunki podane będą dla serii B, w której pierwotny galakturonid poddany był kolejno hydrolizie (w 98—99°): 1) $\frac{n}{20}$ H₂SO₄ przez 10 godzin, 2) $\frac{n}{20}$ H₂SO₄ przez 10 godzin i 3) $\frac{n}{4}$ H₂SO₄ przez 10 godzin. Dostęć znaczne straty, które miały miejsce przy poszczególnych hydrolizach, należy przypisać głównie zaadsorbowaniu części galakturonidu przez osad BaSO₄. W serii B ilości substancji organicznej, zawartej w BaSO₄, wynosiły, licząc na 100 części pierwotnego galakturonidu:

po I-ej hydrolizie	6,4%	przy ogólnej stracie	13,3%
„ II-ej „	5,5%	„ „ „	10,6%
„ III-ej „	10,0%	„ „ „	15,0%.

Tę część strat uważamy za galakturonid i doliczamy do ilości odpowiedniego galakturonidu. Wtedy ilości odpowiednich galakturonidów przedstawia się, jak następuje:

Pierwotnego galakturonidu (Gi)		100,0%
po I-ej hydrolizie (GII)	74,8% + 6,4%	81,2%
„ II-ej „ (GIII)	55,8% + 5,5%	61,3%
„ III-ej „ (GIV)	17,2% + 10,0%	27,2%

Przyjmując takie ilości galakturonidów oraz skład ich, według tablicy XIII, otrzymamy następujący obraz ubytku poszczególnych składników pierwotnego galakturonidu przy kolejnych hydrolizach:

	Białko	Kwasu heksur.	Araban	Alkohol metyl.	Kwas octowy	Galaktan
Galakturonid wyjściowy GI						
Zawartość	6,1%	60,3%	11,5%	5,5%	4,5%	16,6%
	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Galakturonid po I hydrolizie GII						
Zawartość	4,47%	58,4%	8,4%	3,89%	1,0%	6,5%
	73,3%	96,8%	73,0%	70,8%	22,2%	39,1%
Ubytek	1,63%	1,9%	3,1%	1,61%	3,5%	10,1%
	26,7%	3,2%	27,0%	29,2%	77,8%	60,9%
Galakturonid po II hydrolizie GIII						
Zawartość	2,63%	47,4%	7,9%	2,63%	0,3%	1,8%
	43,1%	78,6%	68,7%	47,9%		10,8%
Ubytek	1,84%	11,0%	0,5%	1,26%	0,7%	4,7%
	30,2%	18,2%	4,5%	22,9%	15,5%	28,3%
Galakturonid po III hydrolizie GIV						
Zawartość	1,15%	26,2%	2,2%	0,0%	0,0%	0,0%
	18,8%	43,4%	19,1%	0,0%	0,0%	0,0%
Ubytek	1,48%	21,2%	5,7%	2,63%	0,3%	1,8%
	24,3%	35,2%	49,6%	47,9%	6,7%	10,8%
Ubytek ogólny	81,2%	56,6%	80,9%	100%	100%	100%

Ilości ubytku dla kwasu octowego obliczono nie według analiz galakturonidów po hydrolizie (oznaczenia te są nieścisłe przez obecność w tych galakturonidach grup redukujących), lecz według ilości kwasu, wykrytego przez mianowanie w destylatach od zagęszczania galakturonidu.

Dla porównania skutku działania dwóch pierwszych hydroliz w sumie, a więc działania $\frac{n}{20}$ H_2SO_4 przez 20 godz., ze skutkiem działania (następczego) III hydrolizy, t. j. $\frac{n}{4}$ H_2SO_4 przez 10 godz., podajemy następujące zestawienie:

	Ubytek	
	po $\frac{n}{20}$ H_2SO_4 (20 godz.)	po $\frac{n}{4}$ H_2SO_4 (10 godz.)
Białka	56,9%	24,3%
Kwas. heksuron.	21,4%	35,2%
Arabanu	31,3%	49,6%
Alkoh. metyl.	52,0%	47,9%
Kwas. octow.	93,3%	6,7%
Galaktanu	89,2%	10,8%

№ 6. *Produkty stopniowej hydrolizy kwasowej galakturonidu, rozpuszczalne w 70%-ym alkoholu.*

Składniki lotne. Przy wykonaniu doświadczeń nad stopniową hydrolizą kwasową galakturonidu poddano też badaniu destylaty wodne, otrzymane przy zagęszczaniu pod próżnią roztworu galakturonidu, z którego po wykonaniu hydrolizy. usunięto H_2SO_4 za pomocą $\text{Ba}(\text{OH})_2$ i oddzielono przez cedzenie BaSO_4 .

Serja A. W destylacie wodnym po I-ej hydrolizie $\frac{n}{20} \text{H}_2\text{SO}_4$ (10 godzin) wykryto według reakcji Denigés i Fellenberg'a alkohol metylowy. Furfurolu i acetonu nie wykryto.

Przez mianowanie destylatu znaleziono ilość kwasu octowego, odpowiadającą 2,8% w stosunku do pierwotnego galakturonidu. Roztwór soli sodowych, otrzymanych w ten sposób, zagęszczono do małej objętości. Z roztworu tego przez strącenie AgNO_3 otrzymano octan srebra, który po przekrystalizowaniu przedstawił się w postaci charakterystycznych sześciokątnych tabliczek; analiza dała zawartość $\text{Ag}=64,21$ (teoret. 64,6% Ag). Reakcje na kwas mrówkowy wykazały, że kwas ten obecny jest w znikomej ilości; wobec tego, że pierwotny roztwór roli dość mocno zredukować amonijakalny roztwór srebra, należy przypuszczać, że obecny jest inny jeszcze kwas, posiadający tę zdolność. (W innych doświadczeniach udało się dowiedzieć, że jest to prawdopodobnie kwas gliksalowy).

W destylacie wodnym po II hydrolizie $\frac{n}{20} \text{H}_2\text{SO}_4$ (10 godz.) wykryto również alkohol metylowy i kwas octowy, ten ostatni w ilości 0,93% na galakturonid. Acetonu nie wykryto.

W destylacie wodnym po III hydrolizie $\frac{n}{4} \text{H}_2\text{SO}_4$ (10 godz.) wykryto znów CH_3OH oraz kwas octowy, ten ostatni w ilości 0,4% na galakturonid. Acetonu i furfurolu nie wykryto.

Serja C. Po I hydrolizie wykryto w wodzie oraz w alkoholu, oddestylowanych z roztworu galakturonidu, 3,5% kwasu octowego, po II hydrolizie 0,7% i po III — 0,3, razem 4,5% t. j. całą ilość, zawartą w pierwotnym galakturonidzie.

Wykryte arabinozy i galaktozy wśród produktów hydrolizy.

Serja A, po I hydrolizie. Ilość roztworu alkoholowego, odpowiadającą 0,5 gr. cukrów redukujących, odparowano do objętości około 1 cm^3 , rozpuszczono w 4 cm^3 75%-go alkoholu, dodano 0,7 gr. α -benzyllofenylohydrazyny, rozpuszczono w 2 cm^3 75%-go alkoholu. Roztwór ogrzewano czas jakiś na łaźni wodnej. Po ostudzeniu następuje obfita krystalizacja. Odsączone kryształy przekrystalizowano z 75%-go alkoholu. P. topl. — 169° — 170° . Po powtórnej krystalizacji p. t. 173° — 174° , zgodny z p. t. odpowiedniego hydrazonu arabinozy. Pod mikroskopem — cienkie igielki, zebrane w pęczki.

Serja B, po I hydrolizie. W podobny sposób otrzymany został α -benzyllofenylohydrazon arabinozy o p. t. 172° — 173° i $[\alpha]_D$ w CH_3OH ($c = 0,5 \text{ gr./100 cm}^3$) — $-13,9^\circ$.

1,0 gr. takiego hydrazonu po dodaniu 3 cm^3 35%-ej formaliny ogrzewaliśmy we wrzącej łaźni wodnej przez 2 godziny. Po oziębieniu i dodaniu 4 cm^3 wyklęcono kilkakrotnie z eterem w celu usunięcia utworzonego hydrazonu formaldehydowego. Roztwór wodny zagęszczono do maleńkiej objętości, dodano 2 cm^3 alkoholu 96%-go i znów odparowano; czynność tę powtórzono jeszcze 2 razy, ażeby usunąć ofrmaldehyd. Otrzymany syrop rozpuszczono w 5 cm^3 75%-go alkoholu i pozosta-

wiono do krystalizacji. Wykrystalizował cukier w postaci igiełek, dla których $[\alpha]_D$ znaleziono $= +103,8$.

Serja C, po I hydrolizie. W taki sam sposób, jak w serji B, wykryto *arabinozę*. W przesączu od α -benzylofenylohydrazonu arabinozy poszukiwano galaktozy. W tym celu do przesączu tego dodano 0,8 cm³ formaliny, odparowano do $\frac{1}{3}$ objętości i ogrzewano przez 2 godziny na łaźni wodnej. Dalej postępowano jak wyżej, aż do całkowitego usunięcia hydrazonów. W otrzymanym roztworze poszukiwano galaktozy, próbując wykrywać ją w postaci *o*-tolylo-hydrazonu. Hydrazonu tego nie udało się otrzymać.

Część pierwotnej substancji cukrowej, rozpuszczalnej w 75% alkoholu i nieustrąconej zasadowym octanem ołowiu, poddano hydrolizie przez 4-o godzinne ogrzewanie na łaźni wodnej z n H₂SO₄. Substancja otrzymana ostatecznie zawierała według analizy ok. 90% cukrów redukujących, w tem 80,0% arabinozy, galaktozy nie zawierała. W roztworze tej substancji udowodniono obecność *arabinozy*, w postaci:

a) α -benzylofenylohydrazonu, o p. t. 174°, otrzymanego jak wyżej.

b) dwufenylohydrazonu: 5 cm³ roztworu, zawierające 0,5 gr. cukrów redukujących zadano 0,4 gr. dwufenylohydrazyny i ogrzewano z 10 cm³ 96% go alkoholu aż do rozpuszczenia. Po ochłodzeniu (po 24 godz.) roztwór zakrzepł od wydzielających się kryształów. Otrzymany dwufenylohydrazon przekrystalizowano parokrotnie z 75%-go alkoholu z dodatkiem pirydyny. P. t. tego hydrazonu: surowego—187°, po I krystal. — 189°, po II — 192°, po III — 194°—195° (według Haar'a p. t. dwufenylohydrazonu arabinozy po paru krystalizacjach = 204°). W przesączu od surowego dwufenylohydrazonu arabinozy poszukiwano galaktozy według metody Votoček'a i Vondraček'a. Po dodaniu 0,2 gr. α -metylofenylohydrazyny i 0,7 cm³ 50% kwasu octowego słabo ogrzewano. Na drugi dzień wypadł minimalny osad, którego p. t. wynosił 162°, podany kiedy p. t. metylofenylohydrazonu galaktozy wynosi 195°—191°. Udowodniono więc nieobecność galaktozy.

W części pierwotnej, substancji cukrowej rozpuszczalnej w 95% alkoholu, a dającej się strącić zasadowym octanem ołowiu, udało się po wykonaniu hydrolizy $\frac{n}{1}$ H₂SO₄, wykazać obecność *galaktozy* oraz nieobecność *arabinozy*. Do substancji rozpuszczonej w 75% alkoholu dodano 0,3 gr. benzylofenylohydrazyny i ogrzano; w przeciągu 24 godz. nie wydzielili się kryształy (nieobecność *arabinozy*); po dodaniu wody otrzymano oleisty osad, który po pewnym czasie zakrzystalizował. Po dwukrotnej krystalizacji z 30% alkoh. p. t. 153°—154°, a więc według wszelkiego prawdopodobieństwa α -benzylofenylohydrazon galaktozy (dla czystego p. t. według Haar'a 157°).

W części pierwotnej substancji cukrowej, nierozpuszczalnej w 95% alkoholu i nieustrąconej zasadowym octanem ołowiu, po wykonaniu hydrolizy $\frac{n}{1}$ H₂SO₄, wykryto: *arabinozę*, w postaci dwufenylohydrazonu, o p. t. 195°; natomiast *galaktozy*, ani według wyżej opisanej metody Votoček'a i Vondraček'a, ani według metody strącenia arabinozy, jako benzohydrazyny, opisanej u Haar'a (str. 249 i 250), ani bezpośrednio w postaci *o*-tolylohydrazonu wykryć się nie udało.

Po II-iej hydrolizie, w *serji C* rozdzielono pierwotną substancję cukrową na 4 frakcje: a) rozpuszczalną w 95%-ym alkoholu i nie strącającą się zasadowym octanem ołowiu — PIII oraz strącającą się tym odczynnikiem — PIV; b) nierozpuszczalną w 95% alkoholu i nie strąconą zasadowym octanem ołowiu, P_I, oraz strąconą tym odczynnikiem — PII. Każdą z tych frakcyj poddano bardziej energicznej hydrolizie

n H_2SO_4 (5 godzin we wrzącej łaźni wodnej), poczem poszukiwano w nich cukrów.

We frakcji PIII wykryto: *arabinozę* w postaci dwufenylohydrazonu, który po dwukrotnej krystalizacji posiadał p. t. $192^\circ - 193^\circ$ oraz *galaktozę*; tę ostatnią: a) w przesączu od dwufenylohydrazonu arabinozy w postaci α -metylofenylohydrazonu (według metody Votoček'a i Vondraček'a), który po dwukrotnej krystalizacji z 30%-go alkoholu z dodatkiem pirydyny otrzymano w postaci charakterystycznych szerokich igiełek o srebrzystym połysku, p. t. $188^\circ - 189^\circ$ (według Haar'a — $190^\circ - 191^\circ$); w przesączu od benzhydrazynu arabinozy: 3 cm^3 roztworu, zawierającego ok. 0,6 gr suchej substancji, zadano 0,4 gr benzhydrazyny i pozostawiono na 24 godziny, odsączono wykrystalizowany benzhydrazyn arabinozy, do przesączu dodano 10 kropli formaliny, ogrzewano przez 2 godziny na łaźni wodnej i pozostawiono na 24 godziny; osad odsączono, przesącz ekstrahowano trzykrotnie eterem, poczem parokrotnie odparowano z alkoholem; po zagęszczeniu pozostałości, która mogła zawierać wolną galaktozę, rozpuszczono ją w 5 cm^3 96% alkoholu + 8 kropli wody, odcedzono od nierozpuszczonej części, do przesączu dodano 0,15 gr *o*-tolylohydrazyny i gotowano przez $\frac{1}{2}$ godz.; po 24 godz. odsączono krystaliczny osad, przemyto i wysuszono; otrzymano hydrazon o p. t. $174^\circ - 175^\circ$, po przekrystalizowaniu z 95% alkoholu p. t. $176^\circ - 177^\circ$ (według Haar'a, p. t. 176°).

We frakcjach PI, PIII i PIV nie udało się wykryć ani arabinozy, ani galaktozy.

Nr 7. Produkty hydrolizy galakturonidu i arabanu Nr. 13.

1. *Galakturonid*. 10 g suchej substancji organicznej galakturonidu + 100 cm^3 n H_2SO_4 ogrzewano przez 4 godziny na wrzącej łaźni wodnej. Po usunięciu H_2SO_4 w postaci BaSO_4 przesącz zagęszczono pod próżnią do konsystencji syropu, który zalano wielokrotną ilością 96% alkoholu. Część, rozpuszczona w alkoholu, zawiera produkty ostatecznej hydrolizy, strącony zaś osad (galakturonid nie przehydrolizowany do końca) poddano dalszej hydrolizie n H_2SO_4 .

Po usunięciu z produktu hydrolizy H_2SO_4 postąpiono ponownie, jak wyżej, otrzymując znów roztwór, zawierający produkty ostatecznej hydrolizy, który złączono z pierwszym, oraz osad (1,8 g), który poddano dalszej hydrolizie. Po tej hydrolizie wszystko przeszło do roztworu w mocnym alkoholu.

Z złączonych przesączów alkoholowych odpędzono alkohol, otrzymano około 30 g roztworu, do którego dodano 90 cm^3 mocnego alkoholu, poczem strącono kwasy heksuronowe przez dodanie 100 cm^3 0,28 n $\text{Ba}(\text{OH})_2$ do reakcji słabo alkalicznej na fenoloftaleinę. Osad soli barowych oddzielono, przemyto 50% alkoholem. Z przesączu usunięto nadmiar $\text{Ba}(\text{OH})_2$ przez H_2SO_4 i po odsączeniu zagęszczono pod próżnią do małej objętości. Otrzymany roztwór, zawierający cukry, pochodzące z hydrolizy galakturonidu, doprowadzono do objętości 20 cm^3 .

Otrzymywanie hydrazonów. 3 cm^3 roztworu zadano 400 mg dwufenylohydrazyny i alkoholem do sklarowania, ogrzewano 1 godz. na łaźni. Po ochłodzeniu kryształów nie otrzymano. Arabinozy więc [nie wykryto. Wtedy postąpiono dalej według metody Votoček'a i Vondraček'a, opisanej w Aneksie Nr. 6. Otrzymano w ten sposób kryształy α -metylofenylohydrazonu, które po 3-krotnej krystalizacji z 30%-go alkoholu dały p. t. 190° , zgodny z p. t. takiegoż hydrazonu galaktozy.

Z 2 cm^3 pierwotnego roztworu otrzymano z *o*-tolylohydrazyną kryształy odpowiedniego hydrazonu, które po przekrystalizowaniu miały p. t. $175 - 176^\circ$, odpowiadający galaktozie.

Próby fermentacyjne. Czyste kultury drożdży: a) *Saccharomyces Cerevisiae* i b) *Saccharomyces Pombe* ożywiono, zasiewając je na ekstrakcie słodowym, w którym pozostawiały 3—4 dni; gdy opadły, przeniesiono do wody sterylizowanej na 1—2 dni do opadnięcia. Po odlaniu wody z nad drożdży wstrząsano je i pobierano po 0,1 cm³ do każdej próby.

Roztwór cukrów przygotowywano do prób fermentacyjnych przez staranne usunięcie Ba⁺⁺, słabe zakwaszenie H₂SO₄ i dodanie odrobiny (NH₄)₂SO₄, poczem roztwór sterylizowano. Próby fermentacyjne wykonano w naczyniach Einhorn'a, napełnionych rtęcią. Fermentację prowadzono w temp. 25—30° C. Do każdej próby brano po 1 cm³ badanego roztworu (otrzymanego przez rozcieńczenie 4,5 cm³ pierwotnego roztworu do 10 cm³), zawierającym ok. 80 mg. cukrów (arabinozy i galaktozy) i 0,1 cm³ drożdży.

Postawiono do fermentacji 6 prób:

1) woda + *S. Cerevisiae*, 2) Woda + *S. Pombe*, 3) Roztwór badany + *S. Cerevisiae*, 4) Roztwór badany + galaktoza + *S. Cerevisiae*, 5) Roztwór badany + *S. Pombe*, 6) Roztwór badany + galaktoza + *S. Pombe*.

Rezultaty fermentacji:

Saccharomyces Cerevisiae

	po 20 godz.	— 42 —	50 —	70 —	116 godz.
Próba Nr. 1. (woda)	Nic	— Nic	— Nic	— Nic	— Nic
„ Nr. 3. (r. badany)	ślady	— sporo —	dużo —	b. dużo —	b. dużo CO ₂
Próba Nr. 4. (r. badany + galakt.)	ślady	— sporo —	dużo —	b. dużo —	b. dużo CO ₂

Saccharomyces Pombe.

Próba Nr. 2. (woda)	Nic	— Nic	— Nic	— Nic	— Nic
„ Nr. 5. (r. badany)	ślady	— b. mało —	bez zmiany		
Próba Nr. 6. (r. badany + glukoza)	dużo	— b. dużo —	b. dużo —	bez zmiany.	

Do Nr. 5 po ukróceniu fermentacji dodano glukozy, poczem nastąpiło obfite wydzielanie się CO₂; w ten sposób przekonano się, że drożdże pozostały zdolne do fermentacji.

Z tych prób wynika, że badany roztwór nie zawiera ani *d*-glukozy, ani *d*-fruktozy, ani *d*-mannozy, gdyż cukry te zarówno z *S. Cerev.* jak z *S. Pombe* fermentują już po upływie 4—6 godz., — zawiera natomiast *d*-galaktozę, która z *S. Cerev.* fermentuje dopiero po 60 godz.

Dla ilościowego oznaczenia wymierzono objętość CO₂, wytworzonego po 70 godz. z *S. Cerev.* z badanego roztworu (1 cm³), znaleziono 5,4 cm³. W tych samych warunkach 16 mg. *d*-galaktozy dało 2,4 cm³. Stąd ilość galaktozy w 1 cm³ badanego roztworu — 35 mg.; w całej zaś ilości roztworu, otrzymanego przez hydrolizę 10 g. galakturonidu ilość galaktozy wyniosłaby
$$-\frac{0,055 \times 20}{4,5} = 1,55 \text{ gr.,}$$
 czyli 15,5%.

Araban Nr. 13. Roztwór, zawierający ok. 4 gr. substancji suchej organicznej, poddano hydrolizie przez ogrzewanie z n H₂SO₄ w temper. wrzącej łaźni wodnej przez 4 godziny. Po oddzieleniu H₂SO₄ w postaci BaSO₄ i usunięciu kwasów heksuronowych w postaci soli Ba'owych, stężono roztwór do 25 cm³.

Wykrycie arabinozy i galaktozy według metody Votoček'a i Vondraček'a. Do 4 cm³ roztworu dodano 400 mg. dwufenylohydrazyny i alkoholu do sklarowania, ogrzano 1 godz. na łaźni. Po 24 godz. odessano utworzone kryształy, które przekryształizowano 2 razy z 96% alkoholu. P.t. 199 — 201° potwierdza, że jest to dwufenylohydrazon arabinozy. Do przesącza dodano 200 mg. α-metylofenylohydrazyny + 0,7 cm³ 50%-go kwasu octowego i ogrzano. Po ochłodzeniu zarażono

odrobiną kryształków α -metylofenylohydrazonu galaktozy. Po 24 godz. odessano kryształy hydrazonu, po przekrystalizowaniu z 30%-go alkoholu p. t. 187°—188° — a więc galaktoza!

Arabinozę wykryto także w postaci benzhydrazidu, który dwa razy przekrystalizowany z 96% alkoholu posiadał p. t. 204° — 205.

Próby fermentacyjne wykonano podobnie, jak dla produktów hydrolizy galakturonidu z następującym rezultatem.

Saccharomyces Cerevisiae.

		po 20 godz.	42 godz.	70 godz.
Próba Nr. 1.	— Woda + drożdże	— nic	— nic	— nic
„ „ 2.	— Glukoza + galaktoza	— b. dużo	— b. dużo	— bez zmiany
„ „ 3.	— Badany roztw. + glukoza	— b. dużo	— jeszcze więcej	— bez zmiany
„ „ 4.	— Roztwór badany	— ślady	— sporo	— b. dużo

Saccharomyces Pombe.

Próba Nr. 5.	— Woda	— nic	— nic	— nic
„ „ 6.	— Glukoza + galaktoza	— dużo	— dużo	— dużo
„ „ 7.	— Roztw. badany + glukoza	— b. dużo	— jeszcze więcej	— bez zmiany
„ „ 8.	— Roztwór badany	— ślady	— bez zmiany	

Z wyników tych wnioskujemy, że badany roztwór cukrów zawiera *d*-galaktozę, nie zawiera natomiast: *d*-glukozy, *d*-fruktozy i *d*-mannozy. Zmierzenie objętości CO₂ wydzielonego przy fermentacji z 1 cm³ roztworu, dało 2 cm³, co odpowiada $\frac{16 \times 2}{2,4} = 13,3$ -mg galaktozy, a w całej ilości roztworu (25 cm³) 0.332 gr. galaktozy na 1,3 gr. such. org. subst. czyli 25,5%. Ilość galaktozy (z bilansu, jako nieoznaczonego składnika) wynosi 32%. I tu zgodność między ilością galaktozy, znalezionej drogą fermentacyjną i drogą analityczną można uznać za dostateczną, jeżeli uwzględnić straty przy hydrolizie.