

O kwaśnej saponinie buraczanej.

Sur la saponine acide du jus de la betterave à sucre.

(Otiżym. 18.XI. 1935.)

Substancję, o której tu będzie mowa, wykryłem w 1903 r., pracując jako chemik w cukrowni Sumsko-Stepanówka.

Mając wtedy zamiar zbadania substancyj białkowych soku buraczanego, próbowałem otrzymać je z soku dyfuzyjnego przez ogrzewanie tego soku po dodaniu pewnej ilości kwasu mineralnego. Otrzymany strął przemyty i wysuszony, ekstrahowałem w celu oczyszczenia spirytusem.

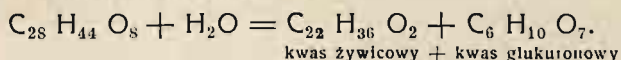
Z ekstraktu, po odparowaniu spirytusu, otrzymałem substancję, rozpuszczalną w roztworze NaOH, z którego można ją było strącić zpowrotem przez dodanie kwasu; substancja ta miała punkt topnienia ok. 200°, Sposób otrzymania i pewne barwne reakcje zbliżały tę substancję do kwasu buraczano-żywicowego, otrzymanego na parę lat przedtem z soku buraczanego przez Andrlík'a i Votočka¹⁾). Większą ilość tej substancji otrzymałem z osadów, powstających w cukrowniach podczas ogrzewania soku dyfuzyjnego w specjalnych zagrzewaczach rurkowych do 80°—85°. Surową substancję udało się rozdzielić na zasadzie różnej rozpuszczalności w eterze i t. p. na dwa składniki: 1) dobrze rozpuszczalny w eterze, benzenie i chloroformie, a nierozpuszczalny w rozcieńczonym wodnym NaOH *kwas buraczano-żywicowy*, o p. t. ok. 300° i 2) nierozpuszczalną w eterze, benzenie i chloroformie, dobrze rozpuszczalną w zimnym alkoholu etylowym oraz w roztworze NaOH „nową” substancję o p. t. ok. 212°. Obydwie substancje dawały pewne barwne reakcje, właściwe kwasom żywicowym, przy ogrzewaniu między szkiełkami zegarkowymi dawały białą „sublimat” i t. p., co zdawało się świadczyć o zachodzącym między nimi pokrewieństwie.

Główne badania, które doprowadziły do rozpoznania nowej substancji, jako związku sprzężonego z kwasu żywicowego i kwasu glukuronowego, wykonane były w 1907—1910 r. w pracowni technologii węglowodanów Petersburskiego Instytutu Technologicznego, którego byłem wtedy docentem. Wyniki ogłoszone zostały jako komunikat tymczasowy w 1911 r.²⁾.

Badania prowadzone były dalej, aż do 1915 r. i dalsze wyniki częściowo podane zostały do wiadomości publicznej na Mendelejewskim Zjeździe Chemików Rosyjskich w 1912 r.²⁾.

Całość pracy referowana była w krótkości na posiedzeniu Polskiego Towarzystwa Chemicznego w 1921 r.⁴⁾

W wyniku tych badań przypisałem nowej substancji wzór $C_{28}H_{44}O_8$, a hydrolizę jej wyraziłem równaniem:



1. Otrzymywanie i oczyszczanie substancji.

Dobrym i łatwo dostępnym materiałem do otrzymywania kwaśnej saponiny buraczanej są osady, które tworzą się w rurkach zagrzewaczy soku dyfuzyjnego w cukrowniach. Przy czyszczeniu tych rurek otrzymuje się czarny, mazisty osad, składający się, według moich analiz⁵⁾, głównie z substancyj białkowej i z magnezowej soli kwaśnej saponiny, której zawartość w osadach tych (po odmyciu resztek soku) wynosi zwykle 20—30%.

Wysuszony osad poddaje się przedewszystkiem ogrzewaniu na łaźni wodnej przez ok. 1 godz. z ok. 5% kwasem solnym, użytym w ok. 10-krotnej ilości. Celem tej operacji jest odmycie resztek soku oraz otrzymanie nierozpuszczalnego w wodzie wolnego kwasu (saponiny) z jego soli magnezowej. Nierozpuszczony osad substancyj białkowych i kwaśnej saponiny starannie przemywa się gorącą wodą aż do zaniku kwaśnego odczynu, poczem osad suszy się, ekstrahuje parokrotnie wrzącym 95% spirytusem. Po odpędzeniu spirytusu i wysuszeniu otrzymuje się surową saponinę.

Zanieczyszczeniami są w niej: kwas żywicowy, tłuszcze i kwasy tłuszczowe, fosfatydy (lecytyna), fitosteryna i inne lipoidy, które można usunąć, gotując parokrotnie proszek surowej saponiny z mieszaniną eteru i benzenu, w tych bowiem rozczynnikach wymienione zanieczyszczenia są dobrze rozpuszczalne⁶⁾). Wśród zanieczyszczeń możliwa jest też obecność: obojętnej saponiny buraczanej i estru etylowego kwaśnej saponiny.

W pewnych przypadkach oczyszczaliśmy saponinę dodatkowo, ogrzewając ją na łaźni wodnej z wodą, zakwaszoną niewielką ilością (0,1%) kwasu solnego.

Otrzymana i oczyszczona wskazanymi metodami saponina jest prawie chemicznie czysta. Otrzymanie jej w krystalicznym stanie jest dość trudne i wymaga utrafienia na pewne warunki, które niezawsze udaje się odtworzyć. W absolutnym alkoholu saponina nawet na zimno jest bardzo silnie rozpuszczalna; roztwór, otrzymany na gorąco, po dłuższym stanie zastyga na żelatynową masę, z której niesposób jest oddzielić saponinę. Ze słabszego alkoholu (np. 50—60%) saponina „wykryształizo-

*) Dobre rezultaty daje też uprzednie, przed ogrzewaniem z roztworem kwasu, wygotowywanie osadów z zagrzewaczy z 95% spirytusem, ewentualnie jeszcze z eterem i benzenem.

wuje" się w postaci „napęczniałej"; z jeszcze słabszego (np. 30—40%) zastęga w postaci kłajstru (gelu).

Po dodaniu wody do roztworu w alkoholu lub acetonie wypada objętościowy, gelowaty osad, nie nadający się również do oddzielenia.

Znośną krystalizację otrzymuje się dopiero, jeżeli do rozpuszczania na gorąco użyć 90% C_2H_5OH , licząc na 100 cm^3 ok. 20 g substancji, i przesącz, zabezpieczony od szybkiego stygnięcia, pozostawić na 24 — 48 godz.

Otrzymane, drobno-krystaliczne preparaty dobrze jest raz jeszcze poddać oczyszczeniu eterem w celu usunięcia niewielkiej ilości estru, jaki tworzy się przy długotrwałem działaniu C_2H_5OH na kwaśną saponinę.

2. *Fizyczne własności kwaśnej saponiny.*

Zachowanie się względem rozpuszczalników. W zachowaniu się tem uwydatnia się dwulicowy charakter saponiny, jako substancji, której jedna połowa, kwas żywiczny, jest typowym lipoidem, nierozpuszczalnym w wodzie, a dobrze rozpuszczalnym we właściwych lipoidom (np. tłuszczom) rozpuszczalnikach, jak to: w benzenie, chloroformie, eterze — druga zaś połowa, kwas glukuronowy, posiada właściwości cukrów — nie rozpuszcza się w benzenie, eterze i t. p., dobrze natomiast rozpuszcza się w wodzie. Kwaśna saponina nie rozpuszcza się, w zwykłym znaczeniu tego słowa, w czystej wodzie. Jeżeli jednak zupełnie czystą saponinę w postaci subtelnego proszku rozcierać przez czas pewien z ciepłą (30—40°) wodą, to można otrzymać mleczną zawiesinę lub emulsję saponiny w wodzie, przechodzącą przez filtr. Dodanie do takiej emulsji elektrolitów, np. HCl, powoduje koagulację. Jeszcze łatwiej otrzymać taką koloidalną emulsję, jeżeli do wody dodać bardzo nieznaczna ilość NaOH. Nie rozpuszcza się również saponina, w zwykłym znaczeniu tego słowa, w węglowodorach, np. w zimnym benzenie, toluenie i t. p. Jeżeli jednak ogrzewać ją przez czas pewien z wysokowrzącymi węglowodorami lub pewnemi ich pochodnemi, np. z nitrobenzenem, to część saponiny przechodzi do roztworu, z którego po dłuższem staniu wydziela się w postaci gelu. Mamy tu więc, podobnie jak w przypadku użycia wody, do czynienia z koloidalnemi roztworami. Koloidalny charakter kwaśnej saponiny uwiadcza się także w pęcznieniu, jakiemu ulega ona w zetknięciu z wodą (ciepłą) i z węglowodorami.

Najlepiej rozpuszcza się saponina w organicznych rozpuszczalnikach, zajmujących pośrednie miejsce między wodą a węglowodorami, w rozpuszczalnikach, dobrze rozpuszczalnych w wodzie, jako to: w etylowym i metylowym alkoholu (najlepiej), w acetonie, w lodowatym kwasie octowym, słabiej w bezwodniku octowym, w fenolu. W eterze i chloroformie prawie nie rozpuszcza się.

W rozcieńczonych NaOH, NH_3 i t. p. saponina przechodzi do roztworu jako sól; przez zakwaszenie np. HCl strąca się jako bezposta-

ciowy osad. Dobrze się rozpuszcza w ogrzanych: pirydynie, anilinie, chinolinie i innych zasadach organicznych.

Saponina, strącona z roztworu, np. kwasem z roztworu w NaOH, daje bezpostaciowy osad, który pochłania z roztworu pewne jego składniki, np. jod (barwiąc się przytem na brunatno-czerwony kolor), barwniki, szczególniejsze zasadowe i barwne ciała, co utrudnia otrzymanie zupełnie czystych, bezbarwnych preparatów.

Ogrzewana w rurce saponina w temperaturze powyżej 200° topi się i jednocześnie rozkłada, z wydzieleniem gazów, szybko ogrzewana w kapilarze daje *punkt topnienia* dla najczystszych preparatów 216—218°. Szybko zaś ogrzana bez dostępu powietrza, np. między szkiełkami zegarkowymi, daje sublimującą, białą, krystaliczną substancję, podobnie jak kwas żywicowy Andrlika, ale pozostawia przytem smolistą resztę. Pali się silnie kopcącym płomieniem, wydzielającym charakterystyczny, aromatyczny zapach, podobnie jak kwas żywicowy. *Skręcalność właściwą* oznaczaliśmy z roztworu w absolutnym alkoholu. Dla najczystszych (krystalicznych) preparatów znaleźliśmy:

$$[\alpha]_D^{20} = +24^{\circ},7 - 24^{\circ},9 \text{ dla } c = 5-10 \text{ g/100 cm}^3.$$

Mniej czyste preparaty dają wyższe $[\alpha]_D$, dochodzące do 27° — 30°, zapewne z powodu obecności kwasu żywicowego. *Cieężar cząsteczkowy*. oznaczaliśmy bądź metodą krioskopową, z roztworów w bezwodnym kwasie octowym, fenolu, naftalenie, nitrobenzenie, bądź metodą ebulioskopową, z absolutnego alkoholu etylowego i acetonu. Roztwory w C₂H₅OH i w acetonie dały wysokie ciężary cząsteczkowe, ok. 1000 do 2000; roztwory w naftalenie i nitrobenzenie nie dały uchwytne go obniżenia punktu zamarzania, były to więc roztwory koloidalne. Roztwory w fenolu dały $M = \text{ok. } 500$, a więc zgodny z najprostszym przyjętym wzorem C₂₂H₄₄O₈. Roztwory w bezwodnym kwasie octowym, które dla kwasu żywicowego C₂₂H₃₆O₂ dały normalne $M = \text{ok. } 350$, dla saponiny dały ciężar cząsteczkowy znacznie poniżej normalnego, mianowicie ok. 300.

3. Chemiczne własności saponiny.

Reakcje jakościowe. Kwaśna saponina daje cały szereg barwnych reakcyj, z których pewne przypisać należy kwasowi żywicowemu, inne— kwasowi glukuronowemu. Do pierwszych należy zaliczyć np. następującą: do roztworu saponiny w bezwodniku octowym dodaje się ostrożnie stężonego kwasu siarkowego tak, ażeby otrzymać dwie warstwy: przy ostrożnem ich mieszaniu w miejscu zetknięcia się warstw ukazuje się barwny pierścień, początkowo różowy, następnie coraz to bardziej karminowy, później szybko zmieniające się barwy: fioletowa, niebieska, zielona. Reakcje na kwas glukuronowy lepiej się dają wykonać po uprzedniej hydrolizie, np. po gotowaniu roztworu w alkoholu lub kwasie octowym z do-

daniem stężonego kwasu solnego lub H_2SO_4 . Zresztą, najważniejszą z tych reakcji, znaną dziś powszechnie reakcję Tollensa z naftorezorcyną (intensywne błękitno-fioletowe zabarwienie warstwy eterowej, charakterystyczne dla kwasów heksuronowych), można wykonać bezpośrednio z saponiną. Roztwór, otrzymany przez hydrolizę np. w kwasie octowym, silnie redukuje płyn Fehlinga i daje prócz reakcji z naftorezorcyną znane reakcje pentozowe: z floroglucyną i orcyną. Gdy wykonywać hydrolizę w roztworze alkoholowym z 10% H_2SO_4 , otrzymuje się łatwy do rozpuszczania kwas żywicowy i przesącz, dający reakcję kwasu glukuronowego, jednak nie redukujący płynu Fehlinga (powstaje etyloglukuronid).

Spalanie organiczne najczystszych preparatów, wysuszonych w 100°, wielokrotnie powtórzone, dało,

$$\text{C} = 66,09; 66,12; 66,00$$

$$\text{H} = 8,58; 8,60; 8,65$$

co dobrze zgadza się z wzorem $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_8$.

Krystaliczne preparaty, wysuszone na powietrzu, traciły po suszeniu w 100°—6,7%, co prowadziłoby do prawdopodobnego wzoru $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_8 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$.

Warto zauważyć, że saponina, podobnie jak kwas żywicowy, należy do substancji, trudno poddających się spalaniu.

Saponina, o której tu cały czas mówimy, jest kwasem. Mianowanie w alkoholowym roztworze wobec fenoloftaleiny daje 32 cm³ 0,1 n KOH na 1 g substancji. Wzór $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_8$ w założeniu, że substancja zawiera jedną kwasową grupę — COOH (kw. glukuronowego), wymagałby 19,7 cm³ 0,1 n KOH. Świadczy to, zdaniem naszym, o tem, że kwas żywicowy Andriika o wzorze $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_2$ zawiera nie karboksylową grupę — COOH, lecz dwie grupy OH, z których jedna (alkoholowa) ulega sprzęgnięciu z kwasem glukuronowym, druga (fenolowa) — pozostaje wolna i ulega mianowaniu, z powodu jednak wielkiej słabości tej kwasowej (fenolowej) grupy zużywa (wobec fenoloftaleiny) tylko ok. 12,5 cm³ zamiast 19,7 cm³. Przypuszczenie to zgadza się z wynikiem mianowania kwasu żywicowego.

Sole sodowa, potasowa i amonowa saponiny są dobrze rozpuszczalne w wodzie. Roztwory ich posiadają napięcie powierzchniowe znacznie niższe od wody i wstrząsane silnie się pienią. Sole wapniowe, barowe i metali ciężkich, otrzymane przez podwójną wymianę z soli sodowej, są w wodzie prawie nierozpuszczalne i strącają się w postaci bezpostaciowych osadów lub gelów. Można też otrzymać sole z zasadami organicznymi, np. z pirydyną, aniliną, z alkaloidami.

Hydroliza kwaśnej saponiny. Hydroliza saponiny za pomocą wodnego roztworu mineralnych kwasów zachodzi dość opornie, głównie zapewne z powodu nierozpuszczalności w wodzie. Np. kilkugodzinne gotowanie z 10% H_2SO_4 daje zaledwie ok. 4—5% cukrów redukujących; nieco

lepszy skutek otrzymuje się, jeżeli saponinę strącić, np. z roztworu w NaOH lub w spirytusie, w postaci silnie rozproszonej. Większą szybkość hydrolizy osiąga się dopiero przez gotowanie saponiny pod ciśnieniem, np. z 1% H_2SO_4 w $130^\circ - 135^\circ$ w przeciągu 2 — 3 godz. Ponieważ kwas glukuronowy jest substancją, względnie łatwo ulegającą rozkładowi pod wpływem ogrzewania w wysokiej temperaturze w kwaśnym roztworze, lepiej jest zamiast gotować jednym ciągiem 3 — 4 godziny, po upływie 1 godz. przerwać gotowanie, odcedzić roztwór, a pozostałość zalać świeżą porcją kwasu, powtórnie ogrzewać 1—1½ godz., odcedzić i powtórzyć to samo raz jeszcze. Przez taką hydrolizę kwasową pod ciśnieniem otrzymuje się jako pozostałą część nierozpuszczalną dość czysty kwas buraczano-żywicowy w ilości 60 — 65%, który po wysuszeniu wyekstrahowany eterem uzyskuje się w czystej krystalicznej postaci. Łatwo go było po wysuszeniu w 100° zidentyfikować: z punktu topnienia, ok. 300° , ze skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20} = +78^\circ,5$, z analizy elementarnej i z charakterystycznych barwnych reakcyj.

Z przesączu, zagęszczonego (pod próżnią) po uprzednim usunięciu H_2SO_4 zapomocą $\text{Ba}(\text{OH})_2$ i zarażonego pyłkiem gotowego laktonu kwasu glukuronowego, po paru dniach stania w eksykatorze, wykrystalizowała się znaczna ilość glukuronu, t. j. laktonu kwasu glukuronowego. Glukuron został zidentyfikowany przede wszystkim z niezwykle charakterystycznej, pod mikroskopem, postaci kryształów, z silnej zdolności do redukcji płynu Fehlinga i z charakterystycznych reakcyj barwnych z naftorezorcyną, floroglucyną i t. p. Po przekrystalizowaniu z wody otrzymano zupełnie czysty glukuron o p. t. $175 - 176^\circ$ i skręcalności $[\alpha]_D^{20} = +19^\circ,1$; przy spalaniu otrzymano $\text{C} = 40,8\%$, $\text{H} = 4,6\%$, zgodnie z wzorem $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$. Utlenianie kwasem azotowym dało kwas cukrowy. Wydajność czystego glukuronu wynosiła zaledwie 7—9%; z mianowania zaś uzyskanego roztworu płynem Fehlinga wyliczono ok. 15—18%. O wiele łatwiej hydroliza zachodzi, jeżeli zamiast w środowisku wodnym prowadzić ją w roztworze saponiny w alkoholu etylowym lub kwasie octowym.

1- 2-godzinne gotowanie pod chłodnicą zwrotną 10 g saponiny z 100 cm³ 90% alkoholu, do którego dodano 5—10 g H_2SO_4 , wystarcza, ażeby hydrolizę doprowadzić do końca. Z ochłodzonego roztworu po 10 — 12 godz. wykrystalizowuje się znaczna ilość kwasu żywicznego, a przesącz daje charakterystyczne reakcje z naftorezorcyną i t. d., jednakże nie redukuje płynu Fehlinga, gdyż grupa aldehydowa ulega etylowaniu.

Również łatwo zachodzi hydroliza w roztworze kwasu octowego około 90%-go, zawierającego przytem nieznaczna ilość stężonego H_2SO_4 lub kwasu solnego; 15—20 min. ogrzewanie w $70 - 80^\circ$ wystarcza, ażeby doprowadzić hydrolizę do końca. Po czterokrotnym rozcieńczeniu wodą odfiltrowuje się po pewnym czasie nierozpuszczalny, krystaliczny osad,

który jest octanem kwasu żywcowego; otrzymany przesącz silnie redukuje płyn Fehlinga, daje reakcję z naftorezorcyną i t. d. Ilość kwasu glukuronowego, oznaczonego według redukcji płynu Fehlinga, wynosi w tym przypadku ok. 25—28%. Wskutek gotowania z dość stężonym alkoholowym roztworem KOH saponina ulega również hydrolizie; jednak kwas glukuronowy ulega przytem rozkładowi; kwas żywcowy zaś otrzymuje się w postaci soli potasowej.

Wykonaliśmy też kilka prób enzymatycznej hydrolizy, stosując następujące enzymy, zdolne do rozszczepiania glukozydów: inwertynę, maltazę, emulsynę. Próbowaliśmy również działania zawierającego enzymy osadu, strąconego z soku buraczanego.

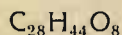
W żadnym przypadku nie osiągnęliśmy efektu hydrolizy. Zauważyliśmy kilkakrotnie, że wodne zawiesiny saponiny, pozostawione same sobie przez czas dłuższy, ulegają pewnym „fermentacjom“ (pod wpływem trafiających z powietrza grzybków pleśniowych, bakteryj), dzięki czemu powstaje z saponiny — buraczany kwas żywcowy.

Pochodne kwaśnej saponiny. Otrzymywaliśmy według zwykłych sposobów: 1) estry metylowy i etylowy, nie doszedłszy jednak do preparatów analitycznie czystych i 2) octany i benzoesany, których oczywiście istnieć może cały szereg, a których mieszaniny nie udało się nam rozdzielić na indywidualne związki.

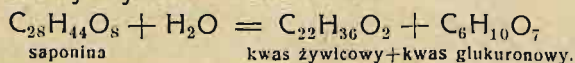
4. Wzór i budowa kwaśnej saponiny buraczanej.

Przez opisane badania udowodniliśmy niezbicie, że produktami kwasowej hydrolizy badanej saponiny są: 1) buraczany kwas żywcowy, któremu *Andrlík i Votoček* przypisali wzór $C_{22}H_{36}O_2$ i 2) kwas glukuronowy, o wzorze $C_6H_{10}O_7$.

Licząc się z wyżej przytoczonymi wynikami spalania elementarnego oraz z oznaczeniem ciężaru cząsteczkowego (z roztworu w fenolu), mamy prawo przypisać saponinie wzór



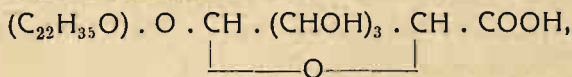
a reakcję jej hydrolizy wyrazić równaniem:



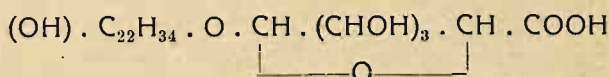
Według tego równania powinno się otrzymywać przez hydrolizę 100 części saponiny: 65% kw. żywcowego (otrzymywaliśmy 60—65%) i 38% kw. glukuronowego. Tego otrzymywaliśmy w najlepszym razie 25—28%; uwzględnić tu jednak należy, że w warunkach hydrolizy kwas glukuronowy względnie łatwo ulega rozkładowi.

Wykonaliśmy też oznaczenie ilości kwasu glukuronowego według metody *Lefèvre'a-Tollensa*, oznaczając ilość furfurolu i CO_2 , wydzielających się przy gotowaniu saponiny z 12%-owym kwasem solnym. Otrzymaliśmy wyniki bliskie do wymaganych przez przyjęty wzór. Co

dotyczy budowy badanej saponiny, to licząc się z tem, że sama saponina nie redukuje płynu Fehlinga, a redukcja występuje dopiero po hydrolizie, winniśmy jej przypisać budowę glukozydową:



albo licząc się z wypowiedzianym wyżej poglądem na budowę kwasu żywcowego:



Budowa kwasu buraczano—żywcowego nie jest jeszcze poznana; można co najwyżej zgadywać, że jest to substancja zbliżona do fitosteryn i kwasów żywcowych. Przystępujemy obecnie do badań nad budową tej ciekawej substancji.

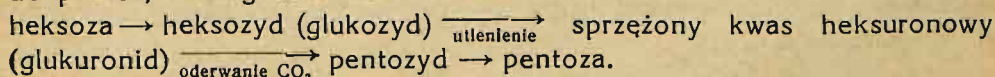
5. Biochemiczne własności kwaśnej saponiny buraczanej.

Podając w 1911 r. do wiadomości publicznej wyniki badań swych nad opisaną substancją, nazwałem ją „sprężonym kwasem żywico-glukuronowym“ albo „glukuronidem*)“ kwasu buraczano—żywcowego“. Aż do czasu ogłoszenia przeze mnie tej pracy sprężone kwasy glukuronowe znane były wyłącznie jako pewne produkty przemiany materji, występujące tylko w świecie zwierzęcym. Znajdujemy je głównie w urynie, np. ludzkiej, po spożyciu przez człowieka pewnych substancyj, obcych lub szkodliwych dla organizmu.

Miałem więc wtedy prawo napisać: „zbadała substancja jest pierwszym sprężonym kwasem glukuronowym, otrzymanym bezpośrednio z roślinnego materiału i może być jeszcze jednym dowodem ścisłego związku między sobą procesów biochemicznych, zachodzących w świecie roślin i zwierząt“.

W 1912 r. w odczycie na Mendelejewskim Zjeździe Chemików zwróciłem uwagę fizjologów roślin na rolę, jaką substancja ta mogłaby odgrywać w życiu roślin, a w szczególe na jej dwulicowy charakter w stosunku do rozpuszczalników, mogący okazywać wpływ na przepuszczalność błony protoplazmatycznej.

Wypowiedziałem też wtedy przypuszczenie, że sprężone kwasy heksuronowe mogą być stadium pośredniem, prowadzącem od heksoz do pentozy, według schematu:



*) Termin „glukuronidy“ zaproponowany został przeze mnie dla związków typu „glukozydów“, w których cukier zastąpiony jest przez kwas „uronowy“ (np. heksuronowy).

W 1913 r. prof. Kobert, znany specjalista w zakresie saponin, ogłosił pracę, w której komunikuje, iż w liściach i korzeniach buraków wykrył dwie nowe saponiny: obojętną i kwaśną, i wypowiada przypuszczenie, że ta ostatnia jest zapewne identyczna z wykrytym przeze mnie glukuronidem buraczano-żywicowym.

Na prośbę prof. Koberta (1914 r.) przesłałem mu do badań biologicznych po kilka gramów czystego preparatu swojego glukuronidu i kwasu buraczano-żywicogo. W odpowiedzi prof. Kobert zakomunikował mi, że wykryta przez niego kwaśna saponina jest identyczna z moim glukuronidem, a biologiczne zbadanie mojego bardzo czystego (krystalicznego) glukuronidu wykazało, że posiada on wszystkie biologiczne cechy rzeczywistej saponiny, dla której kwas buraczano-żywicowy jest t. zw. końcową sapogeniną.

Saponinami nazywamy pewną dość szeroko rozpowszechnioną w świecie roślinnym (w korze, w liściach, w korzeniach) klasę związków organicznych, dość dobrze scharakteryzowanych pod względem biochemicznym, słabo natomiast poznanych co do budowy chemicznej. Wiadomo było, że są to związki, zbliżone do glukozydów; przez hydrolizę dają cukry proste oraz pewne inne substancje, zwykle mało rozpuszczalne w wodzie, nazwane sapogeninami. Są to najczęściej substancje o charakterze chemicznym obojętnym, ale zdarzają się także kwaśne saponiny. Saponiny dają zwykle z wodą koloidalne roztwory o znacznie obniżonym napięciu powierzchniowym, zdolne do dawania obfitej piany, pewne z pomiędzy nich stosowane są oddawna do prania delikatniejszych wełnianych tkanin zamiast mydła, jako t. zw. „mydliki”.

Charakterystyczną ich cechą biochemiczną jest zdolność do wywoływania t. zw. hemolizy krwi, t. j. wyjścia hemoglobiny (barwnika krwi) z czerwonych ciałek otaczających je roztworu. Dożylne wstrzykiwanie roztworu saponin wywołuje zwykle silne zatrucia organizmu (hemoliza). Ryby w wodzie, zawierającej choćby nieznaczную ilość saponiny, sną i szybko giną. Wiele saponin jest dość silną trucizną dla człowieka, nawet po zażyciu doustnie. Pewne z pomiędzy nich stosowane są jako środki lecznicze.

Kwaśna saponina buraczana, według prof. Koberta, wywołuje hemolizę krwi i działa trująco na ryby, dla człowieka natomiast, przyjęta doustnie, nie przedstawia żadnego niebezpieczeństwa.

Uznanie glukuronidu buraczanego za saponinę rozszerzyło znacznie zakres wiedzy chemicznej, dotyczącej saponin, w szczególności rzuciło nowe światło na kwaśne saponiny, jako na związki, zawierające kwas heksuronowy.

Kwaśna saponina buraczana jest dziś saponiną, najlepiej poznaną pod względem chemicznym, przez co nadaje się do dalszych studiów biochemicznych.

6. Rola kwaśnej saponiny buraczanej w cukrownictwie.

Saponina zawarta jest w soku buraczanym w ilości dość znacznej, bo ok. 0,3% czyli ok. 12% ogólnej ilości „niecukrów”. W baterji dyfuzyjnej częściowo przechodzi do soku, w którym zawartość jej wynosi ok. 0,1%, częściowo

pozostaje w wysłódkach i wodzie dyfuzyjnej. Jest głównym czynnikiem, powodującym pienie się soku dyfuzyjnego i wód ściekowych (dyfuzyjnej, prasowej). W wodach ściekowych ulega fermentacji, dając kwas buraczano-żywicowy, zawarty w znacznej ilości w wyschniętej pianie tych wód.

Szkodliwe działanie cukrowniczych wód ściekowych na ryby w pewnej mierze przypisać należy obecności saponiny. Saponina, zawarta w soku dyfuzyjnym, prawdopodobnie w postaci koloidalnie rozproszonej soli magnezowej, przy ogrzewaniu w zagrzewaczach fabrycznych do 80° — 85° częściowo zostaje skoagulowana razem z substancjami białkowymi, tworząc t. zw. osady w rurkach zagrzewacza. Ogrzewanie soku, zakwaszonego do $P_H = \text{ok. } 3,0$, strąca całkowicie saponinę razem z białkiem. Na defekacji kwaśna saponina ulega prawie całkowicie strąceniu w postaci soli wapniowej, dającej pokaźny, bezpostaciowy strą, utrudniający (narówni ze związkami białkowymi i pektynowymi) cedzenie. Błoto defeko-saturacyjne zawiera prawie całą ilość kwaśnej saponiny z soku.

7. Rozpowszechnienie glukuronidów w świecie roślin.

Do roku 1910, jak już wyżej wspomniałem, występowanie „glukuronidów” znane było tylko w świecie zwierzęcym. Kwaśna saponina buraczana była pierwszym glukuronidem roślinnym. Od tego czasu znaleziono w obiektach roślinnych wiele innych glukuronidów, głównie wśród glukozydów i saponin.

W 1912 r. wykryłem pierwszy, że podstawowym składnikiem t. zw. związków pektynowych jest kwas heksuronowy. Późniejsze badania Suarez, F. Ehrlicha i moje wykazały, że jest nim kwas *d*-galakturonowy w bardzo znacznej ilości, obok *l*-arabinozy i *d*-galaktozy, zawarty w substancji pektynowej, w postaci polimeru estru metylowego kwasu acetylo-dwugalakturonowego. Jest więc substancja pektynowa również poligalakturonidem. Związki pektynowe, jak wiadomo, należą do związków bardzo rozpowszechnionych w świecie roślin (w miąższu korzeni, owoców i t. d.).

Biochemiczna rola glukuronidów w życiu roślin nie została do dziś dnia wyjaśniona. Przypuszczenie moje, przypisujące heksuronidom rolę produktu przejściowego od heksoz do pentoz (p.w.), znajduje jakby potwierdzenie w tym fakcie, że w związkach pektynowych zawarte są: *d*-galaktoza, kwas *d*-galakturonowy i *l*-arabinoza, trzy substancje cukrowe, genetycznie z sobą związane.

Dla ciekawości warto odnotować, że odkryty niedawno kwas askorbinowy, uznany za substancję identyczną z przeciwskorbutową witaminą C, jest także kwasem heksuronowym, spokrewnionym z kwasem galakturonowym.

Pragnąłbym jaknajbardziej zachęcić biochemików i biologów do dalszych studjów w tak wiele obiecującej dziedzinie, jaką są niewątpliwie „glukuronidy“.

S t r e s z c z e n i e.

Autor przedstawia wyniki swych badań nad kwaśną saponiną, wykrytą przez niego w 1903 r. Substancja ta posiada skład $C_{28}H_{44}O_8$; hydrolyza kwasowa daje kwas glukuronowy $C_6H_{10}O_7$ i kwas buraczano-żywicowy $C_{22}H_{36}O_2$. (A n d r l i k i V o t o č e k 1900).

R é s u m é.

L'auteur présente les résultats de ses études sur la saponine acide, contenue dans le jus de la betterave à sucre, saponine, découverte par lui en 1903. C'est une substance ayant la composition $C_{28}H_{44}O_8$; son hydrolyse acide conduit à l'acide glucuronique, $C_6H_{10}O_7$, ainsi qu'à l'acide résinique de betterave, $C_{22}H_{36}O_2$. (A n d r l i k et V o t o č e k, 1900).

P R Z Y P I S Y:

1) Andrlik i Votoček, Centralbl. 1898, I, 621; 2) K. Smoleński, Z. physiol. Chem. 71, 266 (1911); 3) K. Smoleński, Biul. Mend. Zjazdu Chem. Ros. 1912 r.; 4) K. Smoleński, Roczniki Chem. 1, 382 (1921); 5) K. Smoleński, Gaz. Cukr. 57, 699 (1925); Prace Centr. Lab. Cukr. 1926—7, 76; 6) Kobert, Sitzungsber. u. Abhdl. Naturforsch. Ges. Rostock 5 (1913); 7) K. Smoleński, Gaz. Cukr. 39, 409 (1913).
