

Kazimierz Smoleński i Wanda Włostowska.

Badania nad związkami pektynowymi.

Recherches sur les matières pectiques.

Część III, IV, V, VI i VII.

W pierwszych częściach pracy naszej¹⁾, streszczających wyniki badań, wykonanych w latach 1918–1923, podaliśmy: a) opracowaną przez nas metodę otrzymywania związków pektynowych z surowego materiału (np. z miąższu buraka cukrowego), b) metodę rozdzielania surowej substancji pektynowej na „araban”, rozpuszczalny w 75% alkoholu, i „galakturonid”, w tym alkoholu nierozpuszczalny, c) główne własności arabanu i galakturonidu, d) kilka analiz galakturonidu, dających oznaczenia grup charakterystycznych. Na zasadzie tego materiału podjęliśmy próbę podania przypuszczalnego wzoru galakturonidu i arabanu.

Podawane obecnie do druku dalsze części naszej pracy, obejmujące wyniki badań, wykonanych w latach 1923, 24, 25 i 26, dają streszczenie naszych usiłowań, dążących do poznania składu i budowy związków *pektynowych buraka cukrowego* oraz produktów ich rozkładu hydrolytycznego²⁾.

Zadania, któreśmy sobie postawili, nie uważamy i dziś jeszcze za całkowicie rozwiązane. Pozostaje wciąż dużo punktów niejasnych i wątpliwych. Do przedwczesnego może ogłoszenia wyniku naszych badań jesteśmy pobudzeni przez obszerną pracę F. Ehrlich'a, dotyczącą tego samego tematu, a która niedawno ukazała się w druku³⁾.

¹⁾ K. Smoleński, Roczniki Chemji t. III, (1923), 86; Chem. Zentr. 95 (1924), 316.

²⁾ Niektóre wyniki tych badań podane były w postaci komunikatów tymczasowych. Porównaj: K. Smoleński: Kwas octowy, jako produkt hydrolyzy substancji pektynowej, Roczniki chemji. t. IV, str. 72, Chem. Zentr., 95 (1924), 2140. K. Smoleński i W. Włostowska, O kwasie *d*-galakturonowym z substancją pektynowych, Roczniki Chemji t. VI, str. 743 (1928).

³⁾ F. Ehrlich i R. Sommerfeld, Die Zusammensetzung der Pektinstoffe der Zuckerrübe, Biochem. Ztsch., 168, 263–323, Chem. Zentr., 97, (1926), 2367.

C z ę ś ć III.

Skład chemiczny związków pektynowych.

Dla poznania związków tak wysoce złożonych, jak substancje pektynowe, zwykła analiza elementarna nic prawie nie daje, podobnie jak dla związków białkowych. Natomiast, dużo światła na ich skład i budowę chemiczną rzucić może ilościowe oznaczenie właściwych im „grup charakterystycznych”. Tę właśnie drogę postępowania zapoczątkowaliśmy w pierwszych częściach badań i tą drogą idziemy konsekwentnie dalej.

Jako „grupy charakterystyczne” oznaczamy: 1) *popiół*, 2) *pentozany*, przeliczane na araban lub arabinozę, 3) *kwasy heksuronowe* (kwas galakturonowy), obliczane jako bezwodnik $[C_6H_8O_6]_n$ — za pomocą metody Tollens’a i Lefèvre’a, 4) *grupy galaktozydowe i galakturonidowe*, z ilości kwasu śluzowego, 5) *alkohol metylowy*, metodą Denigès i Fellenberg’a, 6) *liczbę kwasową*, 7) *liczbę estrową*, przez działanie nadmiaru ługu i odmianowanie wolnego NaOH.

Do tych oznaczeń, które stosowaliśmy już w pierwszej części pracy, dodaliśmy jeszcze następujące: 8) *Liczbę kwasów lotnych*, którą przeliczamy na *kwas octowy*; kwas octowy został wykryty przez nas, jako stały składnik „galakturonidów”¹⁾.

Oznaczenie to wykonywamy w sposób następujący: roztwór substancji pektynowej zmydlamy na zimno nadmiarem ługu, jak przy oznaczaniu liczby estrowej, poczem zadajemy nadmiarem kwasu fosforowego, destylujemy *pod próżnią* prawie do suchości i destylację kontynuujemy, również pod próżnią, z parą wodną póty, póki destylat zawiera jeszcze kwas. Otrzymane destylaty mianujemy $\frac{n}{5}$ NaOH wobec fenolofaleiny. Przy takim postępowaniu destylat zawiera, jak się o tem przekonałszy doświadczalnie, zaledwie ślady kwasu mrówkowego i wolny jest od innych kwasów lotnych, które wytworzyłyby się mogły przez działanie w wyższej temperaturze kwasu mineralnego na kwasy heksuronowe, cukry i inne substancje organiczne.

9) *Liczbę soli kwasów organicznych*, wyrażaną, podobnie jak i wyżej wskazane „liczby”, w cm^3 nNaOH na 100 gr. substancji. Liczba ta odpowiada ilości zasad (CaO, MgO), związanych z kwasami organicznymi.

Oznaczamy ją albo przez rozpuszczenie popiołu w określonej ilości mianowanego kwasu i odwrotne mianowanie ługiem wobec metyloranżu, albo przez podwójne oznaczenia popiołu, w postaci tlenków i węglanów, obliczenie ilości CO_2 i odpowiednie przeliczenie. Ostatnia metoda może znaleźć zastosowanie wtedy, kiedy popiół składa się z CaO i MgO, w razie obecności Na_2CO_3 lub K_2CO_3 dałaby, oczywiście, fałszywe wyniki.

¹⁾ K. S m o l e ń s k i, Roczniki chemji, t. IV, str. 72.; Chem. Znr., 95 (1924), 2140.

10) *Białko*—z oznaczenia azotu metodą Kjeldahl'a. Mnożnik 6,25.

Co do oznaczeń, które stosowaliśmy już w pierwszej części pracy, to uległy one stopniowo drobnym udoskonaleniom, gwarantującym większą pewność wyników.

„Grupy galaktozydowe i galakturonidowe” oznaczamy według ilości kwasu słuzowego, otrzymywanego przy utlenianiu substancji kwasem azotowym, ściśle według metody, opisanej w książce Haar'a, „Anleitung zum Nachweis zur Trennung und Bestimmung der Monosaccharide und Aldehydsäuren, Berlin, 1920 r., str. 123—130, stosując opracowane przez Haar'a tablice. Stosujemy odważki 0,5—1,0 gr; utleniamy substancję (galakturonid) bez uprzedniej hydrolizy kwasowej; sacharozy nie dodajemy; obliczamy galaktozę według tablicy II; jako „grupy galakturonidowe i galaktozydowe” podajemy wprost galaktozę. [Porównaj dalej rozdział: „składnik nieoznaczony galakturonidów” oraz Aneks Nr. 3]

Przy wykonaniu oznaczeń CH_3OH według Denigès'a i Fellenberg'a stosujemy roztwór fuksyny według przepisu Grosse-Bohle'go [Rosenthaler, Der Nachweis organischer Verbindungen, r. 1914, str. 954]. Przy porównywaniu zabarwień w kolorymetrze staramy się, przez zastosowanie rozmaitych ilości „typu”, osiągnąć prawie identyczne zabarwienia badanego roztworu i typu. Wreszcie przy wykonaniu metody Lefèvre'a—Tollens'a oznaczania kwasów heksuronowych staramy się nie przekroczyć w łaźni olejowej temperatury 145° — 150° , zauważyliśmy bowiem, że przy zastosowaniu zbyt wysokiej temperatury ług w kaliparacie żółknie i otrzymane wyniki są za wysokie.

1. Skład miąższu buraczanego.

Przekonawszy się w dalszym ciągu pracy, że ilość i jakość otrzymanych związków pektynowych zależy w pewnej, dość znacznej, mierze od metody ich otrzymywania, oraz podejrzewając, że niektóre składniki ulegają zmianom lub stratom (przez ulotnienie, przez rozkład) w czasie operacji, związanych z przygotowywaniem substancji pektynowych, postanowiliśmy ustalić, jaki jest stosunek głównych „grup charakterystycznych” w materiale wyjściowym, t. j. w miąższu buraczanym.

Miąższ otrzymujemy, jak następuje. Oczyszczone i wymyte buraki poddawane są rozdrobniению na tarce i wyciśnięciu w silnej prasie, poczem trzykrotnie zalewane są gorącą wodą (tak że temperatura po wymieszaniu wynosi ok. 60 — 70°) i wyciskane, następnie macerowane dwukrotnie 50%-ym alkoholem i ostatecznie 95%-ym, wreszcie wysuszone w powietrzu.

Celulozę (włókno surowe) oznaczano w miąższu metodą Henneberg'a i Stohmann'a¹⁾. Przy oznaczaniu liczby estrowej wykonano też szereg pomiarów, dających pojęcie o szybkości zmydlania. Doświadczenia te opisane są w „Aneksach” w końcu pracy niniejszej (Nr. 1). Liczbę soli kwasów organicznych oznaczono przez analizę popiołu (patrz niżej), a prócz tego jeszcze następującą metodą

¹⁾ J. König, Die Untersuchung landwirtschaftl. u. gewerbl. wichtiger Stoffe Berlin, 1898, str. 228.

bezpośrednią. Do 10 gr. miąższu, ogrzewanego w łaźni wodnej z wodą, dodawano $\frac{n}{5}$ HCl półty, póki nie otrzymano słabego niebieskiego zabarwienia papierka Congo.

Wykonano też całkowitą analizę popiołu, która dała następujące wyniki:
W 100 częściach popiołu:

	CO ₂	:	32,0%
Części nierozpuszcz. w HCl		:	11,8%
	CaO	:	24,1%
	MgO	:	17,0%
Inn. składn.		:	15,1%

Istotnymi składnikami popiołu są CaO i MgO; stosunek ich ilości odpowiada ściśle stosunkowi równoważnikowemu (CaO : MgO), ogólna zaś ich ilość zgadza się z liczbą soli kwasów organicznych.

Wyniki osiągnięte przy analizie miąższu podajemy w tablicy I.

T a b l i c a I.

Skład miąższu buraczanego (w 100 cz. subst. organ. such.).

Celulozy	22,4%
Białka	6,0%
Kwasów heksuronowych, jako (C ₆ H ₈ O ₆) _n	25,5%
Arabanu	31,1%
Alkoholu metylowego	2,4%
Kwasu octowego	3,4%
Liczba kwasowa	0,0 cm ³ nNaOH
Liczba octowa	178,0 cm ³ „
Liczba soli kwasów organicznych	60,0 cm ³ „
Liczba kwasów lotnych	57,0 cm ³ „
Popiołu w 100 cz. suchej substancji	3,9%, jako węglany
Popiołu w 100 cz. suchej substancji	2,7%, jako tlenki

Bilans składników miąższu (subst. organ.):

Celulozy	22,40%
Białka	6,00%
Kwasów heksuronowych	25,50%
Arabanu	31,10%
CH ₃ OH — H ₂ O	1,06%
C ₂ H ₄ O ₂ — H ₂ O	2,38%
	<hr/> 88,44%
Składnik nieoznacz. (x)	11,56%
	<hr/> 100,00%

Jeżeli do składu substancji pektynowej zaliczyć wszystkie składniki miąższu, oprócz celulozy i białka, to ilość substancji pektynowej, zawartej w miąższu, wyniosłaby ok. 71%.

2. Skład arabanów i galakturonidów, otrzymanych z różnych materiałów.

Arabany i galakturonidy, których analizy podane będą w tym rozdziale, otrzymane były według jednej i tej samej metody, którą najczęściej stosujemy w naszej pracowni, jako metodę łatwą i dającą dobrą wydajność związków pektynowych. Metodę tę będziemy w dalszym ciągu naszej pracy nazywali metodą „zwykłą”. Jest to ta sama metoda, która w krótkości opisana już była w pierwszej części pracy.

Wykonanie jej jest następujące:

100 gr. materiału wyjściowego (miąższu lub oczyszczonych wyśtoków) zalewamy 2 l. wrzącej wody, do której dodano uprzednio odpowiednią ilość HCl . Ilość potrzebnego kwasu oznaczamy w oddzielnej próbie miąższu, mianując go, po zalaniu wodą i ogrzaniu w łaźni wodnej, HCl aż do niebieskiego zabarwienia papierka Congo. W ten sposób znajdujemy „teoretyczną”, ilość kwasu, do której dodajemy 25% nadmiaru w celu przyspieszenia wyciągania substancji pektynowych. Ilość teoretyczna wynosi zwykle ok. 50 cm^3 HCl , a faktyczna ok. 62 cm^3 na 100 gr. miąższu. Taki nadmiar HCl (12 cm^3 HCl w 2 l. wody) daje mniej więcej $\frac{n}{200}$ HCl . Naczynie z miąższem, zalanym zakwaszoną wodą, wstawiamy do dużej wrzącej łaźni wodnej i ogrzewamy ok. 3 godzin (często mieszając zawartość naczynia) Temperatura wewnętrznej gotowanej masy miąższu winna wynosić 95°—97°. Wskaźnikiem wyciągnięcia substancji pektynowych jest „rozgotowanie” miąższu, który daje się wtedy z łatwością rozcierać między palcami. Po rozgotowaniu zlewamy płyn przez płótno, umieszczone w dużym leju, pozostałość wyciskamy pod prasą. Pozostałość od prasowania poddajemy jeszcze dwukrotnemu wyciąganiu, stosując już teraz czystą wodę i skracając czas ogrzewania.

Otrzymany roztwór substancji pektynowych po ochłodzeniu zubojeźniamy roztworem Na_2CO_3 , dodając go małymi porcjami i silnie mieszając, ażeby uniknąć miejscowego nadmiaru Na_2CO_3 , który mógłby wywołać częściowe zmydlenie grup estrowych. Przez dodanie sody zubojeźniamy tylko nadmiar użytego kwasu solnego, a więc dodajemy Na_2CO_3 tylko do zaniku niebieskiego zabarwienia papierka Congo. Na lakmus roztwór pozostaje wyraźnie kwaśny od obecnych w nim kwasów organicznych.

Zubojeźniony w ten sposób roztwór szybko zagęszczamy w dużych płaskich miskach porcelanowych, przyspieszając odparowanie przez ciągłe mechaniczne mieszanie roztworu. Po zagęszczeniu roztworu do ~ 20%-go stężenia przenosimy go do grubościennej zlewki i, mieszając, wkraplamy z początku wolno, potem szybciej 90—95%-wy alkohol, licząc po 400 cm^3 na każde 100 gr. roztworu, tak że otrzymujemy po zmieszaniu alkohol 75%-wy. W ten sposób otrzymujemy strąć t.zw. przez nas „galakturonidu” (oczyszczonej substancji pektynowej) w postaci grubo-ziarnistego osadu, szybko osiadającego na dno i dającego się łatwo odcedzić w lejku Büchnera pod próżnią przez płótno lub przez bibułę. Cedzimy zwykle na drugi dzień, gdyż dłuższe stanie osadu z alkoholem sprzyja dobremu cedzeniu. Odcedzony roztwór zawiera t.zw. „araban”. Po odcedzeniu przemycamy alkoholem i następnie eterem. Suszymy w eksykatorze próżniowym nad CaCl_2 . Otrzymujemy w ten sposób galakturonid w postaci subtelnej lekkiej, prawie białej proszku

W celu otrzymania szczególnie czystych preparatów galakturonidu, uwolnionych od postronnych soli i innych, łatwo dyfundujących substancji, poddajemy

T a b l i c a II.
Skład „galakturonidów” (oczyszczonej substancji pektynowej)
(Na 100 cz. substancji organicznej suchej).

Nr Nr	1	2	3	4	Przeciętna z Nr. 1-4
Materiał wyjściowy	Oczyszczony miąższ buraka cukrowego	Oczyszczone wy- słodki fabryczne	Oczyszczony miąższ buraka ogrodowego	Oczyszczony miąższ marchwi ogrodowej	
Sposób otrzymania	Zwykły	Zwykły	Zwykły	Zwykły	
Oczyszczenie przez dializę?	Tak	Tak	Nie	Nie	
Białka	5,4%	6,1%	5,0%	3,6%	5,0%
Kwasów heksuronowych [C ₆ H ₈ O ₆] _n	62,0%	60,3%	60,0%	61,1%	60,9%
Grup galaktozydowych i galakturonidowych	62,5%	65,0%	62,3%	61,9%	62,4%
Arabanu	11,2%	11,5%	13,3%	13,9%	12,5%
Alkoholu metylowego	5,6%	5,5%	5,4%	5,4%	5,5%
Kwasu octowego	6,0%	4,5%	4,7%	4,3%	4,9%
Liczba kwasowa nNaOH	70 cm ³	83 cm ³	44 cm ³	35 cm ³	58 cm ³
Liczba estrowa nNaOH	305 cm ³	365 cm ³	328 cm ³	298 cm ³	324 cm ³
Liczba kwasów wolnych nNaOH	70 cm ³	74 cm ³	81 cm ³	75 cm ³	75 cm ³
Liczba soli kwas. organ. nNaOH	125 cm ³	109 cm ³	137 cm ³	140 cm ³	128 cm ³
Popiołu (tlenki), na 100 cz. subst. organ.	3,0%	4,6%	7,8%	6,2%	5,4%

20%-wy roztwór galakturonidu długotrwałej dializie. Do dużych ilości roztworu stosujemy, jako dializator, przetak włosiany, nieposiadający części metalowych, uprzednio wymyty wodą, zakwaszoną małą ilością kwasu solnego. Do wnętrza przetaku wkładamy papier pergaminowy. Dializujemy w sposób ciągły, t. j. przy ciągłym równomiernym dopływie i odpływie wody, poddając dializowany roztwór mechanicznemu mieszaniu. Warunki wykonania dializy: na 500 gr. 20% roztworu 15 l. wody, przepuszczonych w ciągu 30 godzin; temperatura 40 — 50°C. Roztwór po dializie strącamy powtórnie alkoholem, jak wyżej. Ten strąć cedzi się nieco gorzej, niż pierwszy.

Tablica II podaje skład „galakturonidów” otrzymanych: Nr. Nr. 1 i 2 — z miąższu i wysłodków (fabrycznych) buraka cukrowego, Nr. 3 — z miąższu buraka ogrodowego czerwonego i Nr. 4 — z miąższu marchwi ogrodowej. Ilość miąższu z buraka cukrowego wynosi ok. 5%, dla buraka ogrodowego znaleźliśmy 3,1% miąższu, w marchwi ogrodowej 2,5%.

Ilość galakturonidu i arabanu ze 100 cz. miąższu wynosiła:

	„Galakturonidu”	„Arabanu”	Razem surow. subst. pektyn.
N 2 — Burak cukrowy —	25,1%	18,7%	43,8%
N 3 — Burak ogrodowy —	26,4%	17,2%	43,6%
N 4 — Marchew ogrod. —	25,2%	10,8%	36,0%

Bilans składników, podany w Tablicy III, ułożony jest w ten sposób, że kwasy heksuronowe policzone są, jako bezwodnik: $C_6H_{10}O_7 - H_2O = C_6H_8O_6$; alkohol metylowy, zawarty w postaci estrowej, jako: $CH_3OH - H_2O = CH_2$; kwas octowy, dla tej samej przyczyny, jako: $C_2H_4O_2 - H_2O = C_2H_2O$. Grupy galaktozydowe nie zostały włączone do bilansu, albowiem główna ich część wchodzi już do bilansu, jako kwas galakturonowy (kwasy heksuronowe).

Tablica III.

Bilans składników, zawartych w galakturonidach.

	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Przeciętnie
Białko	5.4%	6.1%	5.0%	3.6%	5.0%
Kwasy heksuronowe	62.0%	60.3%	60.0%	61.1%	60.9%
Araban	11.2%	11.5%	13.3%	13.9%	12.5%
Alkohol metylowy—H ₂ O	2.5%	2.4%	2.4%	2.4%	2.4%
Kwas octowy — H ₂ O	4.2%	3.1%	3.3%	3.0%	3.4%
Składnik nieoznaczony	14.7%	16.6%	16.0%	16.0%	15.8%
	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

Analiza elementarna „zwykłych” galakturonidów dała następujące wyniki:

	<i>a</i>		<i>b</i>
C . . .	43.62%	43.91%	43.25%
H . . .	5.66%	5.70%	5.38%
O . . .	50.72%	50.39%	51.37%
$\frac{O}{H}$. . .	8.96%	8.84%	9.55%

Odkładając szczegółowe omówienie wniosków, wynikających z danych tablic II i III, do dalszych rozdziałów i części pracy niniejszej, zauważymy tymczasem, że „galakturonidy” otrzymane z różnych materiałów wyjściowych według tej samej metody posiadają (w granicach błędów doświadczalnych) identyczny skład, a więc zapewne i identyczną budowę chemiczną.

Skład arabanów, otrzymanych przez zagęszczenie pod próżnią przesączów alkoholowych od strąconego galakturonidu, podaje tablica IV.

T a b l i c a IV.

Skład arabanów.

	Nr. 1 (Burak cukrowy)	Nr. 2 (Burak ogrodowy)
Arabinoza (metoda Tollens'a)	92,0%	91,5%
Cukry redukujące, jako arabinoza	36,2%	38,0%
Ditto po całkowitej hydrolizie NH_2SO_4	90,2%	89,8%
$[\alpha]_D$, bezpośrednio	-76,8	-58,5
$[\alpha]_D$ po całkowitej hydrolizie	+99,0	+97,0
Galaktoza, z kwasu śluzowego	—	4,5%
Kwasy heksuronowe	—	5,2%

3. Skład galakturonidów i arabanów, w zależności od metody otrzymywania substancji pektynowych.

Dane tablicy II, III i IV pozwalają zrobić przypuszczenie, że w różnych materiałach roślinnych znajduje się jedna i ta sama, indywidualna, substancja pektynowa, przyczem skład podstawowych jej części, arabanu i galakturonidu, jest stały i odpowiada analizom, podanym w przytoczonych tablicach. Wniosek taki jednak byłby zbyt pośpieszny i może niesłuszny, gdyż: 1) otrzymane arabany, a tembardziej galakturonidy, mogą być, również dobrze, mieszaniną kilku substancji, posiadającą stały skład dlatego tylko, że otrzymywano je zawsze w ściśle ten sam sposób; 2) otrzymywano zawsze część tylko arabanu i galakturonidu, zawartych

w mięszu, mianowicie ok. 42—43% na wagę mięszu, podczas kiedy całkowita zawartość tych substancji w mięszu wynosi zapewne ok. 70%; część, pozostająca w mięszu, może mieć inny skład, aniżeli wyciągnięta z nich „zwykłą” metodą.

Ażeby zbliżyć się do rozstrzygnięcia pytania, czy substancje pektynowe, zawarte w mięszu, są jednym, indywidualnym związkiem, czy też

T a b l i c a V.

Ilość produktów, otrzymanych z tego samego materiału (mięszu buraczanego) według różnych metod (na suchą substancję organiczną)

Otrzymano ze 100 cz. mięszu	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 8	Nr. 9	Nr. 10
1. „Galakturonidu”	11,3%	9,0%	23,0%	36,0%	31,0%
2. „Arabau”	0,0%	14,0%	11,0%	16,0%	24,0%
3. Ogółem surowej subst. pektynowej	11,3%	23,0%	34,0%	52,0%	55,0%
4. Pozostałość po wyciągnięciu substancji pektynowej	87,0%	76,5%	65,0%	46,1%	41,3%
5. Straty	1,7%	0,5%	1,0%	1,9%	3,7%
	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

T a b l i c a VI.

Skład galakturonidów Nr. 5 i Nr. 6 (Na 100 cz. subst. organ. such.)

	Nr. 5	Nr. 6
Białka	1,8%	1,5%
Kwasów heksuronowych	72,0%	72,0%
Grup galaktozydowych i galakturonidowych	69,1%	70,1%
Arabau	18,0%	16,5%
Alkoholu metylowego	6,7%	7,2%
Kwasu octowego	5,4%	11,5%
Liczba kwasowa	22 cm ³	28 cm ³
Liczba estrowa	435 cm ³	421 cm ³
Liczba kwasów lotnych	90 cm ³	190 cm ³
Liczba soli kwas. organ.	152 cm ³	170 cm ³
Grupy redukujące, jako arabinozy	0,0	0,0
[α] _D	+165°	—
Lepkość (4 gr./100 cm ³)	6,0	15,8%
Popiół (tlenki) na 100 cz. subst. organ. suchej	6,4%	4,3%

U w a g a: Nr. 6 oczyszczany był przez dializę, Nr. 5 — nie.

T a b l i c a VII.

Bilans składników, zawartych w galakturonidach Nr. 5 i Nr. 6.

S k ł a d n i k	Nr. 5	Nr. 6
Białko	1,8%	1,5%
Kwasy heksuronowe	72,0%	72,0%
Araban	18,0%	16,5%
Alkohol metyl.—H ₂ O	2,9%	3,2%
Kwas octowy—H ₂ O	3,8%	8,0%
Składnik nieoznacz.	1,5%	—
	100,0%	(101,2%)

T a b l i c a VIII.

Skład „arabanów”, otrzymanych z tego samego materiału według różnych metod.

	Nr. 8	Nr. 9	Nr. 10
Cukry redukujące, jako arabinoza	11,9%	35%	61,1%
Ditto po całkowitej hydrolizie	91,8%	92,0%	85,2%
[α] _D bezpośrednio	−116°0	−81°7	+21°5
[α] _D po całkowitej hydrolizie	+99°0	+105°3	+97°1

mieszaniną kilku związków, otrzymano substancje pektynowe z tego samego materiału wyjściowego według różnych metod. Metody te, zresztą, różniły się między sobą tylko słabszym lub silniejszym działaniem hydrolizującym środowiska wodnego przy gotowaniu mięszu w celu wyciągnięcia substancji pektynowych. Tablice V, VI i VII podają ilość i skład galakturonidów oraz arabanów, otrzymanych: Nr. 5 przez ogrzewanie mięszu buraczanego z czystą wodą w 95°—97° przez 3 godziny, Nr. 6 — z ilością kwasu nieco niższą od teoretycznej (0,9 teor.) w temperaturze 70°—75°, Nr. 8 — z teoretyczną ilością kwasu w 95°—97° przez 3 godziny, Nr. 9 i Nr. 10 — ze wzrastającym ponad teoretyczny nadmiarem kwasu (30% i 50%).

Jeżeli pozostawimy na razie bez uwagi Nr. 6, to pozostałe próby (Nr. Nr. 5, 8, 9 i 10) odpowiadają kolejno coraz to energiczniejszym warunkom wyciągania: od czystej wody aż do dużego nadmiaru kwasu. Ilość wyciągniętej przytem ogółem surowej substancji pektynowej wzrasta, wzrasta również ilość „arabanu”. Ilość galakturonidu wzrasta aż do Nr. 9 (włącznie), poczem nieco spada.

Przy porównaniu składu galakturonidów, otrzymanych przez łagodną hydrolizę (Nr. 5 i Nr. 6) ze składem galakturonidów, otrzymana-

nych „zwykłą” metodą (p. Tabl. II), znajdziemy wyraźną i znaczną między nimi różnicę: Pierwsze zawierają znacznie więcej kwasów heksuronowych (72,0% zam. 61,0%), znacznie więcej CH_2OH (6,7 i 7,2% zam. 5,5%), więcej kwasu octowego, szczególnie Nr. 6 (11,5% zam. 4,9%), znacznie wyższą liczbę estrową (435 cm^3 i 421 cm^3 zam. 324 cm^3), natomiast znacznie mniej białka (1,8% i 1,5% zam. 5%) i, co najważniejsza, nie zawierają zupełnie „składnika nieoznaczonego”, którego zwykle galakturonidy zawierają 15,8%. Widzimy więc, że zarówno ilość, jako też skład otrzymanych galakturonidów zależą w znacznej mierze od metody wyciągania, głównie od silniejszego lub słabszego działania hydrolizującego środowiska (stężenia jonów wodorowych, temperatury, czasu). To samo dotyczy arabanów. Różnica w składzie arabanów Nr. Nr. 8, 9 i 10 zaznacza się głównie w stosunku ilości cukrów redukujących (arabinozy) bezpośrednio do cukrów redukujących po całkowitej hydrolizie. Stosunek ten wzrasta w miarę zwiększenia hydrolizującego działania środowiska. Jednocześnie lewa skręcalność arabanu stopniowo zmniejsza się, przechodząc wreszcie w prawą.

Ażeby uzyskać możność dalszego, ściślejszego wnioskowania o jednorodności czy różnorodności substancji pektynowej wykonano jeszcze jedną serję doświadczeń, w której jeden i ten sam miąższ buraczany wyciągano kolejno cztery razy, za każdym razem zwiększając hydrolizujące działanie środowiska, a mianowicie pierwsze wyciąganie (Nr. 5) wykonano czystą wodą, drugie (Nr. 11) — wodą z ilością kwasu mniejszą, niż teoretyczna ($\frac{3}{4}$ teor.), trzecie (Nr. 12) stosując $\frac{n}{40}$ HCl, (Nr. 13) — $\frac{n}{5}$ HCl. Tablice IX A, B, C, D i E podają rezultaty tej serji doświadczeń.

T a b l i c a IX

Galakturonidy i „arabany”, otrzymane z tego samego materiału (miąższu buraczanego) przez kolejne, coraz to energiczniejsze wyciąganie,
A. Ilość galakturonidu i arabanu (na subst. organ. suchą)

Otrzymano ze 100 cz. miąższu pierwotnego	Nr. 5	Nr. 11	Nr. 12	Nr. 13	Ogółem (Nr. 5+11+12+13)
1. Galakturonidu	11.3%	12.7%	12.5%	5.9%	42.4%
2. „Arabanu“	0.0%	10.0%	7.4%	2.8%	20.2%
3. Ogółem surowej substancji pektynowej	11.3%	22.7%	19.9%	8.7%	62.6%
4. Pozostałość miąższu	87.0%	63.1%	40.6%	50.0%	50.0%
5. Straty	1.7%	1.2%	2.6%	1.9%	7.4%
	100%	100%	100%	100%	100%

B. Skład galakturonidów.

Składnik	Nr. 5	Nr. 11	Nr. 12	Nr. 13
Białko	1.8%	1.3%	7.4%	8.7%
Kwasy heksuronowe	72.0%	45.8%	49.7%	55.0%
Grupy galaktozydowe i galakturonidowe	69.1%	47.4%	58.5%	59.2%
Araban	18.0%	40.4%	17.5%	15.9%
Alkohol metylowy	6.7%	4.1%	3.4%	2.7%
Kwas octowy	5.4%	5.7%	3.8%	—
Liczba kwasowa	22 cm ³	33 cm ³	80 cm ³	157 cm ³
Liczba estrowa	435 "	333 "	328 "	160 "
Liczba kwasów lotnych	90 "	96 "	64 "	—
Liczba soli kw. organ.	152 "	137 "	202,5	—
[α] _D	+165°	+90°	+226.°	+133°
Lepkość 4 gr./100 cm ³	6	11	5.5	—
Grup redukujących	0.0	—	—	11.7%

C. Bilans składników galakturonidów.

Składnik	Nr. 5	Nr. 11	Nr. 12	Nr. 13
Białko	1.8%	1.3%	7.4%	8.7%
Kwasy heksuronowe	72.0%	45.8%	49.7%	55.0%
Araban	18.0%	40.4%	17.5%	15.9%
Alkoh. metyl. — H ₂ O	2.9%	1.8%	1.5%	1.2%
Kwas octowy — H ₂ O	3.8%	4.0%	2.7%	19.2%
Składnik nieoznacz. (x)	1.5%	6.7%	21.2%	
	100 %	100 %	100 %	100 %

D. Skład arabanów.

Składnik	Nr. 5	Nr. 11	Nr. 12	Nr. 13
Arabinoza wdl. Tollens'a	Części rozpuszczalnej w 75%ym alkoholu nie było.	94.5%	94.2%	44.2%
Cukry redukujące, jako arabinoza, bezpośrednio		65.1%	47.5%	35.6%
Ditto po całkowitej hydrolizie $\frac{n}{2}$ H ₂ SO ₄		95.3%	88.9%	65.7%
Galaktoza (z kw. śluzowego)		2.8%	3.6%	14.5%
Kwasy heksuronowe		2.8%	3.3%	8.9%
Białko		1.9%	4.4%	15.5%

E. Bilans składników arabanów.

Składnik	Nr. 5	Nr. 11	Nr. 12	Nr. 13
Arabinoza		65.1%	47.5%	35.6%
Araban		27.9%	41.1%	7.6%
Kwasy heksuronowe		2.8%	5.3%	8.9%
Białko		1.9%	4.4%	15.5%
Składnik nieoznacz		2.3%	3.7%	32.4%

Rozpatrując dane powyższych tablic, dochodzimy do wniosku, że kolejno otrzymywane galakturonidy i arabany znacznie się między sobą różnią swym składem. Szczególnie rzuca się w oczy różnica w zawartości „składnika nieoznaczonego”, którym, jak to dalej udowodnione będzie, jest *galaktan* (respective galaktoza): w miarę przejścia do bardziej energicznego wyciągania ilość tego składnika zwiększa się. Co dotyczy galakturonidów, to dwa pierwsze (Nr. 5 i Nr. 11) staną się bliskimi sobie, jeżeli skład ich przerachować na substancję bezarabanową; również bardzo są do siebie zbliżone dwa drugie.

Możnaby stąd wyciągnąć wniosek, że miąższ buraczany zawiera conajmniej dwa indywidualne galakturonidy: jeden o składzie zbliżonym do Nr. 5 lub Nr. 6 (patrz wyżej), niezawierający galaktanu, i drugi o składzie zbliżonym do Nr. 12 lub Nr. 13, zawierający znaczną ilość galaktanu. Można też przypuszczać, że w miąższu zawarte są obok siebie trzy indywidualne substancje: właściwy (czysty) *galakturonid*, *araban* i *galaktan*, niezwiązane ze sobą lub związane bardzo luźno.

Według ilości wyciągniętych kolejno galakturonidów i arabanów oraz ich składu ułożony został bilans poszczególnych składników (podany w aneksach № 2), z którego, przez porównanie ze składem miąższu pierwotnego, wynika, że w pozostałości po ostatnim wyciągnięciu, a której ilość wynosi 30% na miąższ pierwotny, zawarte są już głównie, obok celulozy, tylko białko i *galaktan* (składnik nieoznaczony), grup zaś heksuronowych i związanych z nimi grup CH_3OH i $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ niema prawie zupełnie. Z ogólnej ilości galaktanu, zawartego w miąższu (11,6%, porównaj wyżej „Bilans składników miąższu”), ok. 60% zawarte jest w pozostałości po ostatnim wyciągnięciu. Fakt ten świadczy o trudności, z jaką *galaktan* przechodzi z miąższu do roztworu pod wpływem hydrolizy i zdaje się potwierdzać przypuszczenie, iż *galaktan* (lub część jego) albo wcale nie jest związany z galakturonidem, albo związany jest tylko luźno.

4. Rozważania nad składem i budową związków pektynowych na zasadzie wyżej podanych analiz miąższu, galakturonidów i arabanów.

Ponieważ stałym składnikiem wszystkich galakturonidów są „kwasy heksuronowe” i ponieważ oznaczenie tych kwasów według metody

Lefèvre'a — Tollens'a daje, jak o tem wielokrotnie przekonałiśmy się, dokładne wyniki, obliczyliśmy dla różnych preparatów liczbę cząsteczek innych składników, przypadającą na 8 moli kwasów heksuronowych.

a) *Skład miąższu buraczanego*, według analizy, przytoczonej w Tablicy I-ej, da się wtedy wyrazić, jak następuje:

Kwasów heksuronowych	8 Moli
Arabanu	13 Moli
Alkoholu metylowego	4 Mole (4,12 M)
Kwasu octowego	3 Mole (3,13 M).

Składnik „nieoznaczony“, którego ilość według bilansu wynosi 11,6%, przyjmiemy, narazie bez dowodu wystarczającego, za galaktan. Mieliśmy więc:

Galaktan	4 Mole (3,94 M).
--------------------	------------------

Co do wartości liczb: kwasowej, estrowej, kwasów lotnych (policzonych wyżej, jako kwas octowy) i liczby soli kwasów organicznych (zgodnej z ilością zasad w popiele), to pamiętajac, że 176 g kwasów heksuronowych ($C_6H_8O_6$) czyli 1 Mol wymaga na zobojętnienie 1000 cm^3 nNaOH, znajdziemy, że na 8 Moli kwasów heksuronowych:

Liczba kwasowa	odpowiada — 0,0 Mol
Liczba estrowa	„ — 9,84 Mol
Liczba soli kwasów organicznych	„ — 3,32 Mol
Alkohol metylowy + kwas octowy	„ — 7,25 Mol
Alkoh. metyl. + 1. kwas. + 1. soli kw. organ.	„ — 7,44 Mol

b) *Skład galakturonidów*, otrzymanych „zwykłą“ metodą, według przeciętnej analizy, podanej w Tablicy II-ej, wyrazi się, jak następuje:

Kwasów heksuronowych	8 Moli
Arabanu	2 Mole (2,188)
Alkoholu metylowego	4 Mole (3,976)
Kwasu octowego	2 Mole (1,988)
Galaktanu (składn. nieoznaczonego)	2 Mole (2,252)
Liczba kwasowa	1,34 Mol
Liczba soli kwas. organicznych	2,96 Mol
Liczba estrowa	7,5 Mol
Alkohol metylowy + kwas octowy	6,0 Moli
Alkohol metyl. + 1. kwasowa + 1. soli kw. organ.	8,28 Moli

c) Dla *galakturonidów* Nr. 5 i Nr. 6 (Tablica VI), otrzymanych przez łagodną hydrolizę i bardzo zbliżonych do siebie pod względem składu, znajdziemy:

	Nr. 5	Nr. 6
Kwasów heksuronowych	8 Moli	8 Moli
Arabanu	2,66 Moli	2,44 Moli
Alkoholu metylowego	4 Mole (4,10)	4 Mole (4,20)
Kwasu octowego	2 Mole (1,78)	4 Mole (3,78)
Galaktanu (składn. nieoznaczonego)	0	0
Liczba kwasowa + liczba soli kwas. organ.	3,40 Mol	4 Mole (3,90)
Liczba estrowa	8,52 Mol	8 Mol (8,06)
Alkohol metylowy + kwas octowy	5,88 Mol	8,0 Mol
Alk. metyl. + l. kwasowa + l. soli kw. organ.	7,50 Mol	8,1 Mol

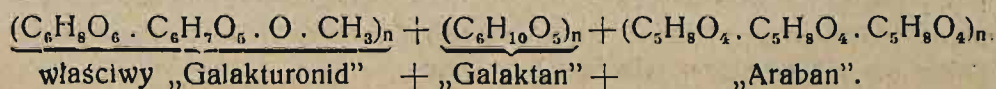
d) Skład galakturonidów Nr.Nr. 11, 12 i 13 znajdujemy w poniższym zestawieniu. Dla porównania przypisano w niem skład galakturonidu № 5. Przypominamy, że galakturonidy Nr. Nr. 5, 11, 12 i 13 otrzymane były z tego samego miąższu przez kolejne wyciąganie: 1) czystą wodą, 2) kwasem użytym w ilości poniżej teoretycznej, 3) kwasem $\frac{n}{40}$ i 4) kwasem $\frac{n}{5}$. Przypisujemy również skład ogólnej substancji pektynowej, oznaczony bezpośrednio w miąższu; był to ten sam miąższ, z którego otrzymano galakturonidy Nr.Nr. 5, 11, 12 i 13.

	Miąższ	Nr. 5	Nr. 11	Nr. 12	Nr. 13
Kwasów heksuronowych	8 Moli	8 Moli	8 Moli	8 Moli	8 Moli
Arabanu	13 Moli	2,7 Moli	9,4 Moli	3,7 Moli	3,1 Moli
Alkoholu metylowego	4 Mole	4 Mole	4 Mole	3 Mole	2,1 Moli
Kwasu octowego	3 Mole	2 Mole (1,78)	3 Mole	2 Mole (1,80)	nieozn.
Galaktanu (składn. nieozn.).	4 Mole	0,0 Moli	1,3 Moli	3,7 Moli	3,1 Moli
Liczba kwas.+l. soli kw. organ.	3,3 Moli	3,4 Moli	5,2 Moli	8,0 Moli	—
Liczba estrowa	9,8 Moli	8,5 Moli	10,2 Moli	9,3 Moli	4,1 Moli
Alkohol metyl. + kwas octowy	7,25 Moli	5,9 Moli	7,0 Moli	5,0 Moli	—
Alk. met.+l. kwas.+l. soli kw. org.	7,44 Moli	7,5 Moli	9,2 Moli	11,0 Moli	—

Z rozpatrzenia i porównania danych, przedstawionych w powyższych tablicach, oraz niektórych danych z rozdziałów poprzednich, nasuwają się następujące wnioski:

1. Ustosunkowanie poszczególnych składników pierwotnej substancji pektynowej (protopektyny), zawartej w *miąższu* jest takie właśnie, jakie w pierwszej części naszej pracy przyjęliśmy, jako podstawę do hypotetycznego wzoru substancji pektynowej; mianowicie, przyjmując w najprostszym „elemencie” dwie cząsteczki kwasu heksuronowego, mamy w nim:

2 Mole kw. heksuron. + 1 Mol CH_3OH + 1 Mol galaktozy + 3 Mole arabinozy, czyli, wyrażając wzorami chemicznymi, skład „substancji pektynowej”, zawartej w miąższu, jest następujący:

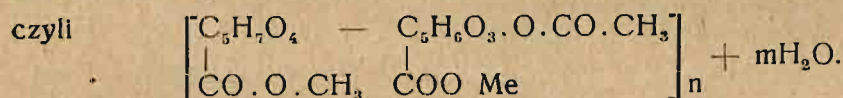


Wzór ten nie uwzględnia zawartości kwasu octowego, którego na 8 Moli kwasów heksuronowych przypada 3 Mole. Kwas octowy w pierwotnej substancji pektynowej zawarty jest całkowicie w części „galakturonidowej”. Uzasadnienie tego ostatniego twierdzenia podamy w części VI pracy niniejszej, w rozdziale 3.

Czy poszczególne podstawowe części substancji pektynowej, t. j. a) acetylowany ester metylowy kwasu dwuheksuronowego, b) galaktan i c) araban — powiązane są między sobą i w jaki sposób, tego na zasadzie analizy miąższu ostatecznie orzec nie możemy.

2. Z pośród otrzymanych galakturonidów najbardziej zbliżone do indywidualnego związku są preparaty Nr. 5 i 6, otrzymane w warunkach najslabszego działania hydrolitycznego na pierwotną substancję pektynową. Preparaty te nie zawierają galaktanu, araban zaś zawierają w ilości niezbyt znacznej. Jeżeli pominiemy narazie zawartość arabanu, co do którego nie możemy jeszcze wnioskować, czy jest on związany z pozostałym kompleksem, to preparat Nr. 6 (jego najprostszy element) jest:

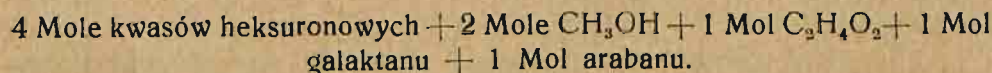
Solą wapniowo-magnezową estru metylowego kwasu acetylo-dwu-galakturonowego,



Pozycja grupy acetylowej jest nieznana, napisaliśmy ją tylko dla przykładu przy drugiej grupie heksuronowej.

Preparat Nr. 5 jest także bardzo bliski do tego najprostszego wzoru, posiada jednak dwa razy mniejszą zawartość kwasu octowego: z 4 Moli kwasów heksuronowych jeden tylko jest acetylowany.

3. Szereg preparatów, otrzymanych „zwykłą” metodą, t. j. przy użyciu nieznacznego nadmiaru kwasu, dałby się bardzo dobrze ująć w następujący schemat:



Czy jednak araban i galaktan są istotnie związane ze rdzeniem czteroheksuronowym, tego nie wiemy.

Możność otrzymania preparatów takich, jak Nr. 11 i Nr. 12 świadczy o tem, że ilość arabanu i galaktanu w galakturonidzie jest zmienna i zależy od sposobu wyciągania substancji pektynowej.

4. Jeżeli galakturonid, galaktan i araban w pierwotnej substancji pektynowej są z sobą związane, to wiązania te muszą być słabe, skoro już przez gotowanie z wodą można otrzymać preparaty niezawierające galaktanu i nieznaczną tylko ilość arabanu.

5. Wiązania między najprostszymi cząsteczkami w składnikach złożonych są naogół silniejsze, aniżeli wiązania między galakturonidem, galaktanem i arabanem. Najslabiej związane są między sobą cząsteczki arabinozy w „arabanie”: już przez działanie wody bardzo słabo zakwaszonej daje on produkty rozpuszczalne w wodzie, a nawet w 75% alkoholu. Cząsteczki galaktozy w galaktanie powiązane są znacznie silniej: przy gotowaniu z wodą lub bardzo słabym kwasem nie przechodzą one do roztworu wodnego; dopiero w miarę zwiększania mocy kwasu przechodzą do roztworu w większej ilości, ale prawie całkowicie stręcane są 75%-wym alkoholem. Czysty galakturonid łatwo staje się rozpuszczalny w wodzie, natomiast dalsza hydroliza zachodzi trudno, otrzymany w wyciągu galakturonid strąca się prawie całkowicie 75% alkoholem; cząsteczki kwasu galakturonowego w galakturonidzie powiązane są ze sobą bardzo silnie.

6. „Arabany”, otrzymane z surowej substancji pektynowej przez rozpuszczenie w 75%-ym alkoholu, dają przy hydrolizie prawie wyłącznie arabinozę, a nieznaczne tylko ilości innych składników (galaktozy, kwasu galakturonowego). W zależności od energii hydrolizującej roztworu, stosowanego do wyciągania substancji pektynowej, otrzymuje się arabany o mniejszej lub większej cząsteczce. W miarę postępu hydrolizy ilość grup redukujących wzrasta, skręcalność zaś właściwa, która dla najmniej z hydrolizowanych arabanów jest silnie lewa (araban Nr. 8: $[\alpha]_D = -116$), stopniowo spada, a później przechodzi w prawą. Zależności te szczególnie dobrze ilustrują arabany Nr. Nr. 8, 9 i 10 (patrz tabl. VIII).

7. Grupy metoksyłowe są dosyć trwale związane z grupą —COOH kwasu heksuronowego. Dopiero energiczne wyciąganie substancji pektynowej większym nadmiarem kwasu hydrolizuje te grupy; ilość alkoholu metylowego w stosunku do kwasu heksuronowego spada (galakturonidy Nr. Nr. 12 i 13).

8. Grupy acetyłowe zdają się być związane słabiej nieco, aniżeli metoksyłowe.

9. Z dwóch grup karboksylowych kwasów heksuronowych jedna jest w galakturonidzie zawsze związana z metalem (tworząc sól) lub wolna, druga — związana z alkoholem metylowym.

5. Składnik nieoznaczony („x”) galakturonidów, jako galaktan.

Wyżej podaliśmy odpowiednio ułożone bilanse galakturonidów (tablice III, IX C) z których wynika, że niektóre galakturonidy (Nr. 5, Nr 6) innych składników, oprócz oznaczonych (białka, kwasów heksuronowych, arabanu, alkoholu metylowego i kwasu octowego) nie zawierają, inne zaś, np. Nr. Nr. 1, 2, 3 i 4, zawierają „nieoznaczony składnik” w ilości

ok. 16%), inne jeszcze Nr. 12 i Nr. 13 — ilości ok. 20%. Przegląd tablic prowadzi do wniosku, że ilość „nieoznaczonego składnika” wzrasta ze wzrostem mocy działania hydrolizującego przy otrzymywaniu substancji pektynowej. Czem może być ten „składnik nieoznaczony”?

Przypuszczeniem najprostszej, uczynionem już w pierwszej części naszych badań, było uważanie tego składnika za galaktozę (galaktan). Opieraliśmy się w tem przypuszczeniu na wykryciu galaktozy w substancji pektynowej przez Gaertner'a i F. Ehrlich'a oraz na własnych rozważaniach teoretycznych.

Gdyby przypuszczenie to było prawidłowe i gdybyśmy jednocześnie uważali, jak to uczyniliśmy w pierwszej części naszej pracy, że „kwas heksuronowy”, oznaczony metodą Lefèvre'a i Tollens'a, są wyłącznie kwasem galakturonowym, to ilość „grup galaktozydowych i galakturonidowych” (oznaczonych metodą Tollens'a utleniania do kwasu śluzowego) powinnyby równać się sumie kwasów heksuronowych (kwas galakturonowy) + galaktan („nieoznaczony składnik”). W rzeczywistości zaś oznaczone we wskazany sposób „grupy galaktozydowe i galakturonidowe”, pomimo zastosowania drobniawo opracowanej przez Haar'a ¹⁾ metody utleniania i korzystania z podanych przez niego tablic, dały w większości przypadków wyniki znacznie niższe od wskazanej sumy. Dla najczęściej analizowanych galakturonidów, otrzymanych „zwykłą” metodą, ilość „grup galaktozydowych i galakturonidowych” zaledwie równa się mniej więcej ilości „kwasów heksuronowych”, pomimo, że galakturonidy te zawierają znaczną ilość galaktanu („składnika nieoznaczonego”). Ilość znalezionych grup galakturonidowych i galaktozydowych wynosi zaledwie 80% spodziewanej ich zawartości. Najprostszym, nasuwającym się z tego faktu, wnioskiem było przypuszczenie, że galakturonidy te nie zawierają galaktanu, składnik zaś „nieoznaczony” jest jakimś nowym związkiem, dotychczas nie wykrytym w substancji pektynowej. Utwierdzać nas w tem przypuszczeniu mogło otrzymanie preparatów takich, jak Nr. 5 i Nr. 6, w których brakowało „nieoznaczonego składnika”, a ilość „kwasów heksuronowych” zgadzała się mniej więcej ze znalezioną ilością „grup galaktozydowych i galakturonidowych”. Jednakże przez dalsze badania nad produktami hydrolizy galakturonidów, otrzymanych zarówno „zwykłą” metodą, jakoteż innemi sposobami, przekonał się, przez własne — zupełnie bezsporne — doświadczenia, że galakturonidy te zawierają niewątpliwie galaktan i w takiej właśnie mniej więcej ilości, jaka przypada na „składnik nieoznaczony”. Powstało trudne zagadnienie, jak pogodzić te sprzeczności?

Pierwszem przypuszczeniem, które tu rozważyć należało, była myśl, że metoda oznaczania grup galaktozydowych i galakturonidowych w zastosowaniu do galakturonidów prowadzi do błędnych wyników, do otrzymywania zbyt niskich rezultatów. Błąd mógł wynikać głównie z trzech źródeł: a) albo metodyka i tablice, podane przez Haar'a są wogóle błędne już w zastosowaniu do prostych związków, zawierających galaktozę, np. do cukru mlecznego, b) albo nie mogą znaleźć zastosowania do kwasu galakturonowego, który daje inną ilość kwasu śluzowego, albo c) zawodzą przy bezpośrednim utlenianiu kwasem azotowym złożonych związków kwasu galakturonowego, zawierających rdzeń poligalakturonowy: można np. nie bez zasady przypuścić, że przy działaniu kwasu azotowego następuje oderwanie CO₂ z grup — COOH pierwiej, nim rdzeń poligalakturonowy ulegnie hydrolizie do kwasu galakturonowego, niezbędnej, ażeby mógł powstać kwas śluzowy.

¹⁾ Haar, Anleitung zum Nachweis, str. 123 — 130.

a. Przytoczone w aneksach (Nr. 3) drobiazgowo badania nad oznaczeniem galaktozy w cukrze mlecznym prowadzą do wniosku, że metoda i tablice Ha a r'a dają pewien błąd, przyczem przy stosowaniu metody bez dodawania sacharozy (tę właśnie metodę stosowaliśmy) i korzystaniu z tablicy I otrzymuje się rezultaty zbyt niskie (o $\sim 8\%$) przy korzystaniu jednak z tablicy II (jakeśmy właśnie czynili) rezultaty otrzymuje się prawidłowe.

b. Dane przytoczone dalej w części VI rozdz. 1, dotyczące utleniania kwasu galakturonowego (według metody Ha a r'a) prowadzą do wniosku, że ilość kwasu śluzowego otrzymywanego z kwasu galakturonowego jest mniejsza, niż z tej samej ilości galaktozy; tej samej zaś ilości kwasu śluzowego odpowiadają większe ilości kwasu galakturonowego, niż galaktozy, przyczem różnica ta jest większa przy większej odwadze kw. galakturonowego. Przy odwadze ok. 175 mg. kwasu znajduje się ok. 84% kw. galakturonowego, (zamiast 100%), przy odwadze ok. 230 mg.—ok. 71%.

Ten fakt zapewne głównie tłumaczy, dlaczego dla „grup galakturonidowych i galaktozydowych“ znajdowano rezultaty zbyt niskie. Z drugiej strony trzeba też zauważyć, że „grupy galakturonidowe i galaktozydowe“ podane są w tablicach naszych wprost jako galaktoza ($C_6H_{12}O_6$, $M = 180$), podczas kiedy w galakturonidach są one zawarte, jako: resztki galakturonidowe ($C_6H_8O_6$; $M = 176$) i resztki galaktanowe ($C_6H_{10}O_5$, $M = 162$), przez co ilość tych grup została w tablicach nieco zwiększona w porównaniu z rzeczywistością ich zawartością: dla resztek galakturonidowych o $\sim 2\%$, a dla galaktanowych o 10%.

c. Co dotyczy utleniania samych galakturonidów, to zjawiska przytem zachodzące są widocznie bardzo złożone. W aneksach (Nr. 3) przytoczone są np. analizy porównawcze, z których wynika, że przy stosowaniu metody bez dodawania sacharozy (tę metodę stosowaliśmy) otrzymuje się ilość galaktozy o $\sim 10\text{--}20\%$ większą, niż z dodaniem sacharozy. Szereg różnych czynników (np. oprócz wymienionych już w punktach a i b, obecność w danym preparacie tych lub innych grup, oprócz galakturonidowych, wielkość odważki, użytej do utleniania i t. p.) może wpływać w różnych kierunkach na wynik oznaczania galaktozy. W niektórych preparatach (jak w galakturonidach Nr. 5 i Nr. 6, niezawierających galaktanu) czynniki te mogą się wzajemnie równoważyć i ilość „grup galakturonidowych i galaktozydowych“ odpowiada dość dokładnie rzeczywistej ich ilości; w innych (jak „zwykle“ galakturonidy) znaleziona ilość tych grup jest znacznie mniejsza, niż rzeczywista ich zawartość.

Przekonanie swoje, że „składnik nieoznaczony“ w galakturonidach jest galaktanem, czerpiemy głównie z następujących faktów:

1. Wśród produktów ostatecznej hydrolizy kwasowej tych galakturonidów, które zawierają według analizy „składnik nieoznaczony“, znajdujemy stale galaktozę, identyfikowaną przez nas z jednej strony przez odpowiednie hydrazony, z drugiej — metodą fermentacyjną [opis odpowiedniej części naszych badań podany jest niżej, w części VI, rozdział 5, oraz w aneksach Nr. 6].

Ilościowe oznaczenia galaktozy wśród produktów hydrolizy galakturonidów dają cyfry zbliżone do ilości „nieoznaczonego składnika“ [patrz dalej w odpowiednich rozdziałach pracy].

3. Szczegółowe badanie produktów utleniania galakturonidu kwasem azotowym wykazały, że galakturonidy nie zawierają ani glukozy ani kwasu

glukuronowego; badanie zaś produktów hydrolizy kwasowej metodą fermentacyjną dowiodło *nieobecności*: glukozy, fruktozy i mannozy.

Pozostajemy więc w dalszym ciągu przy tem najprostszem przypuszczeniu, iż „składnik nieoznaczony” galakturonidów jest galaktanem.

Możnaby jednak też uczynić inne przypuszczenie. Przyjąć, że metoda oznaczania „grup galakturonidowych i galaktozydowych” daje (wskutek wyrównania wpływu różnych czynników) dokładne rezultaty także dla „zwykłych” galakturonidów, moglibyśmy przypuścić, że pewna część kwasów heksuronowych jest nie kwasem galakturonowym, lecz innym kwasem „x-uronowym”, niedającym przy utlenianiu kwasu śluzowego. Skład galakturonidów tych, dla których analitycznie znaleziono: 60% kwasów heksuronowych, tyleż t. j. 60% grup galakturonowych i galaktozydowych i 15% nieoznaczonego składnika (galaktanu) — moglibyśmy wtedy przedstawić następująco: 45% kwasu galakturonowego + 15% kwasu x-uronowego + 15% galaktanu. Wtedy z 8 Moli kwasów heksuronowych byłoby 6 Moli kwasu galakturonowego i 2 Mole kwasu x-uronowego. Galakturonidy takie, jak Nr. 5 Nr. 6, nie zawierałyby ani galaktanu ani kwasu x-uronowego. Jednakże brak bezpośredniego dowodu istnienia kwasu x-uronowego zmusza nas do odsunięcia tego przypuszczenia i przyjęcia innego przypuszczenia, według którego kwasy heksuronowe, są wyłącznie kwasem galakturonowym, a składnik nieoznaczony — galaktanem.

6. O tak zw. „liczbie estrowej” i inn.

W pierwszej części naszej pracy przypuściliśmy, że z dwóch grup COOH dwóch związanych ze sobą cząsteczek kwasów heksuronowych jedna związana jest z CH_3OH , druga zaś — bądź z galaktozą, bądź z drugą cząsteczką kwasów heksuronowych. Nie wiedzieliśmy jeszcze wtedy o stałej zawartości w galakturonidach *kwasu octowego*, który wykryty został przez nas nieco później.

Dziś wiemy już dokładnie, że mieliśmy niewątpliwą rację w przypuszczeniu, że jedna z grup — COOH związana jest z CH_3OH . Druga natomiast grupa — COOH jest, jak dziś wiemy, bądź związana z Me, bądź wolna i nie powinna odgrywać żadnej roli przy oznaczaniu liczby estrowej. Natomiast kwas octowy zawarty jest w postaci grupy acetylowej, związanej prawdopodobnie estrowo z jedną z grup OH kwasu galakturonowego. Liczba estrowa, wyrażona w molach, powinna więc równać się sumie moli: alkoholu metylowego + kwas octowy.

W rzeczywistości równanie: „liczba estrowa = alkohol metylowy + kwas octowy (w molach)” mamy ściśle zachowane tylko dla galakturonidu Nr. 6, dla miększu zaś i wszystkich innych galakturonidów liczba estrowa znacznie przewyższa wskazaną sumę, szczególnie w preparatach otrzymanych przez bardziej energiczne działanie kwasu. Z wykonanych dotychczas doświadczeń nie wemy, jaka jest istotna przyczyna tego zjawiska. Czy w galakturonidach istnieją jeszcze inne, dotychczas niewykryte wiązania estrowe? Czy też obecne są ugrupowania, które pod wpływem NaOH z pierwotnie obojętnych przetwarzają się w kwasowe

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

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

C z ę ś ć I V.

Hydroliza kwasowa galakturonidu I „arabanu“.

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

1. Szybkość hydrolizy galakturonidu.

Ażeby zorjentować się, jaka jest szybkość hydrolizy w zależności od warunków jej wykonania, zrobiono dwa doświadczenia wstępne. W pierwszym 1%-ym roztwór galakturonidu „zwykłego“ poddano hydrolizie z $\frac{n}{20}$ H₂SO₄ w temperaturze wrzącej łaźni wodnej w przeciągu 20 godzin. Co pewien czas odbierano próbki i oznaczano w nich cukry redukujące, przeliczając je na galaktozę. Galakturonid pierwotny