

Kazimierz ZAGÓRSKI

Hydrolityczne badania śluzu lnu

Гидролитическое исследование слизи льна

Hydrolytische Untersuchungen des Leinsammenschleimes

WSTĘP

Śluzu roślinne należą do mało zbadanych substancji i jak dotychczas wyświetleniu ich budowy poświęcono niewiele prac. Mianem tym określa się obecnie kompleksowe, przeważnie kwaśne wielocukry, które można wyekstrahować wodą z różnych części roślin. Kwaśny charakter śluzów powoduje obecność w nich kwasu galakturonowego, co odróżnia te związki od gum roślinnych zbudowanych prawie zawsze z reszt kwasu glikuronowego. Od pektyn różnią się śluzu roślinne mniejszą zawartością przeważnie niezestryfikowanego kwasu galakturonowego, ponadto śluzu nie tworzą galaret (wyjątek agar-agar). Śluzu roślinne, podobnie jak pektyny występują w naturze w towarzystwie błonnika, hemiceluloz, pektyn i innych związków wielkocząsteczkowych i otrzymanie ich w stanie czystym jest bardzo uciążliwe. Frakcjonowane wytrącanie alkoholem z zakwaszonych wodnych roztworów uwalnia wprawdzie śluzu od większości zanieczyszczeń nieorganicznych i niektórych koloidów o bardzo dużych drobinach, nie prowadzi jednak do otrzymania chemicznie jednorodnych związków.

Na ogół otrzymywanie śluzów polega na ekstrakcji rozdrobnionego surowca wodą i oddzieleniu koloidalnego roztworu przez sączenie. Oczyszczanie śluzów odbywa się z reguły przez wytrącanie ich z roztworów przez dodatek alkoholu, alkoholu z eterem, acetonem itp. lub przez wysalanie, a zatem sposobami powszechnie przyjętymi przy oczyszczaniu koloidów. Wspólną i zasadniczą wadą tych wszystkich sposobów oczyszczania

nia jest ich nieselektywność, tzn., że przy danym stężeniu alkoholu czy soli, z roztworu wypadają wszystkie związki w danych warunkach nierozpuszczalne niezależnie od ich budowy chemicznej. Tą drogą dochodzi się jedynie do uzyskania mieszaniny związków różnorodnych chemicznie, choć o zbliżonych wielkościach drobin. Przy śluzach jeszcze jeden fakt poważnie utrudnia otrzymanie jednorodnych chemicznie związków. Otóż poliuronidy, do których należą śluzy, posiadają zdolność zwiększania rozpuszczalności związków tradycyjnie nierozpuszczalnych, np. błonnika. Temu należy przypisać, że wszystkie śluzy otrzymane drogą ekstrakcji z surowców roślinnych zawierają różne ilości celulozy. Ilości te mogą być nawet bardzo znaczne, np. ilość błonnika w śluzie z nasion gorczycy białej jest prawie dwukrotnie wyższa od związanych z nim poliuronidów (1). Podobnie zwiększają poliuronidy rozpuszczalność hemiceluloz. Według Norman a (2) mechanizm tego zjawiska jest niewyjaśniony i mało zrozumiały. Już sam fakt trudności, a raczej niemożności uzyskania w chwili obecnej jednorodnego chemicznie związku, któremu możnaby przypisać wszystkie cechy śluzu, a równocześnie wolnego od błonnika i hemicelulozy stawia przed badaczem tej grupy związków poważne trudności, zwłaszcza przy interpretacji uzyskanych wyników ilościowych. Jedyna bowiem dostępna dziś droga zdobycia informacji o jakościowym składzie łańcucha wielocukru wiedzie przez hydrolizę, a następnie przez wydzielanie z hydrolizatu składników prostych i zidentyfikowanie ich metodami klasycznymi. Po określeniu jakości i ewentualnym oznaczeniu wzajemnych stosunków ilościowych, wyosobnionych związków prostych pozostaje otwarte pytanie, które z tych ogniw i w jakiej kolejności można powiązać w odrębne łańcuchy śluzu, a które potraktować jako przynależne do związków towarzyszących. Pewniejszą wskazówką odnośnie kolejności i sposobu powiązania poszczególnych składników łańcucha można uzyskać przez uchwycenie wśród produktów hydrolizy wielocukru większych fragmentów łańcucha złożonych z dwu lub trzech składników prostych i dokonanie szczegółowej analizy takich połączeń. Metoda ta w odniesieniu do śluzów znajduje coraz szersze zastosowanie i dostarcza pierwszych pewnych wskazówek dotyczących struktury drobin tych związków.

Wśród produktów hydrolizy różnych śluzów zidentyfikowano następujące ważniejsze składniki proste: typowym kwasem uronowym jest kwas D-galakturonowy; z monoz galaktoza, mannoza, glukoza, ramnoza, arabinoza i ksyloza; inne składniki spotyka się znacznie rzadziej. Charakterystycznymi fragmentami łańcucha, spotykanymi wśród produktów hydrolizy wielu śluzów, są tzw. kwasy aldobionowe. Związki te zbudowane są z jednej drobinu kwasu uronowego i jednej drobinu cukru prostego połączonych glikozydowo. Jak stwierdzono zdolność redukcyjna takiego związku pochodzi zawsze od grupy aldehydowej cukru prostego,

natomiast grupa aldehydowa kwasu uronowego bierze udział w wytworzeniu połączenia glikozydowego. Połączenia te przy dalszej hydrolizie rozpadają się na części składowe.

Ilościowe oznaczenie zawartości kwasów uronowych wykonuje się najczęściej na drodze konduktometrycznego miareczkowania roztworu niehydrolizowanej substancji (3), przy czym śluz zachowują się jak kwasy średniej mocy (pH roztworów 1%-owych = 3,2—3,5) lub też przez ogrzewanie próbki śluzu z silnym kwasem powoduje się odszczerpienie dwutlenku węgla, który następnie oznacza się ilościowo na drodze wagowej lub miareczkowej (4,5).

Śluz z nasion lnu. Pierwsze systematyczne badania nad śluzem z nasion lnu zostały przeprowadzone w roku 1903 przez Hilgera (6). Autor ten nasiona lnu macerował zimną wodą przez 24 godziny, roztwór odsącał, a następnie surowy śluz wytrącał alkoholem. Celem usunięcia zanieczyszczeń mineralnych, wśród których znalazł wapń, magnez, potas, żelazo, kwas fosforowy, kwas węglowy i ślady siarczanów stosował kilkakrotne rozpuszczanie w wodzie zakwaszonej kwasem solnym i wytrącanie alkoholem. Czysty produkt uwalniał od jonów chloru przez wytrawianie alkoholem i eterem. Otrzymany śluz był dobrze rozpuszczalny w wodzie i zawierał średnio 0,6% popiołu oraz 0,5% celulozy. Preparat ten poddany analizie jakościowej wykazał wśród produktów hydrolizy obecność galaktozy, glukozy, arabinozy, ksylozy oraz niezdefiniowanego związku o charakterze kwaśnym, zbudowanego z heksoz i pentoz. Według Hilgera czysty śluz zawiera heksozy i pentozy w równoważnych ilościach. W 10 lat później Neville (7) potwierdził wyniki badań Hilgera, podając równocześnie szczegółowy sposób otrzymywania czystego śluzu. Metoda podana przez Nevillea nie odbiegała w zasadzie od sposobu Hilgera. W roku 1930 Anderson i Crowder (8) wyosobnili z hydrolizatu śluzu lnu kwas aldobionowy w postaci soli barowej i wapniowej, i związek ten poddali szczegółowej analizie. W wyniku badań stwierdzili, że związek ten zbudowany jest z drobin kwasu galakturonowego i L-ramnozy, przy czym grupa aldehydowa kwasu jest zablokowana, ponieważ bierze udział w wiązaniu glikozydowym z ramnozą. Uczeń ci zaproponowali wzór strukturalny tego związku, przyjmując, że obydwa składniki występują w formie pyranozowej, a wiązanie mostka zajmuje położenie 1,4

W roku 1932 Anderson (9) doniósł, że galaktoza występująca wśród produktów hydrolizy śluzu lnu należy do szeregu „L” oraz podał sposób otrzymania tego bardzo rzadkiego w przyrodzie cukru. Według przeprowadzonych przez Andersona badań śluz lnu zawiera około 12% L-galaktozy, którą można otrzymać w stanie krystalicznym, postępując według podanej przez niego metody. Pełną dokumentację budowy

kwasu aldobionowego wyosobnionego z produktów hydrolizy śluzu lnu podali dopiero w r. 1939 Tipson, Christmann i Levene (10). Uczni ci zakończyli prace rozpoczęte przez Andersona i Crowdera. W międzyczasie Niemann i Link (11) potwierdzili postać „D” kwasu galakturonowego, tak że do zbadania pozostało jedynie umiejscowienie wiązania glikozydowego pomiędzy ramnozą i kwasem uronowym. Badacze ci poddali kwas aldobionowy wyczerpującemu metylowaniu i otrzymali ester metylowy kwasu pięciometylo-metylo-aldobionowego. Po hydrolizie tego związku otrzymali równoważne ilości krystalicznego kwasu 2, 3, 4-trójmetylo-D-galakturonowego oraz 3,4-dwumetyloramnozę. Położenia grup metylowych zostały określone jednoznacznie przez dalsze przemiany oraz przez porównanie z substancjami wzorcowymi. W wyniku badań ustalono wzór kwasu aldobionowego definiując go jako: 2-(D-galakturonopyranozydo)-L-ramnozę.

W oparciu o prace poprzedników Anderson i Lowe (12) podjęli w roku 1947 próbę całkowitego wyjaśnienia budowy śluzu z nasion lnu. Jako substratu do swych badań użyli śluzu przygotowanego w następujący sposób: Czyste nasiona lnu zalewali czterokrotną ilością wagową zimnej wody i pozostawiali na 24 godz. Po tym czasie mieszaninę ogrzewali na wrzącej łaźni wodnej aż temperatura wewnątrz kolby doszła do 80°C. Wówczas dodawali do kolby taką ilość stężonego kwasu solnego, zmieszanego z dwiema częściami wody, aby całość roztworu była 2%-owa względem HCl i kontynuowali ogrzewanie przy tej temperaturze dokładnie przez 3 min. Gorącą mieszaninę sączyli szybko na pompie przez kilka warstw płótna, a pozostałość przemywali dwukrotnie wodą. Przesącz wlewali następnie do 5-krotnej objętości etanolu i wydzielony śluz przenosili celem odwodnienia do świeżego alkoholu. Z otrzymanego śluzu usuwali HCl w aparacie Soxleta etanolem, a wreszcie eterem, poczem suszyli w próżni do stałej wagi. Tak przyrządzony preparat autorzy uznali za związek chemicznie jednorodny i nazwali go „kwasem nasion lnu”.

Roboczą tezę autorzy przedstawili w następujących zasadniczych punktach:

1. Śluz lnu oraz kwas nasion lnu zbudowany jest z molarne równoważnych ilości kwasu D-galakturonowego, L-ramnozy, L-galaktozy i D-ksylozy.

2. Podczas hydrolizy śluzu najpierw uwalnia się D-ksyloza, a następnie L-galaktoza.

3. Śluz nasion lnu wydaje się być spolimeryzowanym kwasem aldotetronowym zbudowanym z molarne równoważnych ilości kwasu D-galakturonowego, L-ramnozy, L-galaktozy i D-ksylozy. Fizykochemiczne własności śluzu wskazują, że posiada on strukturę rozgałęzionych łańcuchów.

Dla udowodnienia swej tezy autorzy wykonali żmudne badania jakościowe i ilościowe na licznych próbkach śluzu. Zawartość kwasu urowowego oznaczyli przez miareczkowanie alkalimetryczne oraz zmodyfikowaną metodą Lefevre-Tollensa (13) przez pomiar wydzielonego dwutlenku węgla. Z pomiarów tych wyznaczyli następnie równoważnikowy ciężar kwasu aldotetronowego. Ksylozę i ramnozę oznaczyli ilościowo metodą wagową Tollensa i Elletta (14), zaś galaktozę jako kwas śluzowy wagową metodą Van der Haara (15). Nieobecność w hydrolizacie innych cukrów uczeni stwierdzili brakiem zdolności do fermentacji drożdżowej otrzymanego syropu.

Uzyskane wyniki ilościowe zestawili i porównali z teoretycznymi liczbami obliczonymi dla hipotetycznego kwasu aldotetronowego.

Tab. 1. Wyciąg z tabeli Andersona i Lowe (12)

N a z w a	Kwas nasion lnu		R ó ż n i c a
	znaleziono	obliczono	
Kwasy urowowe %	30,33	30,60	— 1
Ksyloza %	32,55	20,82	+56
Ramnoza %	11,75	23,03	—49
Galaktoza %	26,30	25,55	+15

Przytoczone przez autorów dowody na istnienie kwasu aldotetronowego nasuwają następujące zastrzeżenia:

1. Jeżeli chodzi o jakościowy skład śluzu, niezrozumiały wydaje się fakt nieznalezienia wśród produktów hydrolizy L-arabinozy, którą wykrył w roku 1903 Hilger (6), a potwierdzili Neville (7) i w roku 1950 metodą chromatograficzną Easterby (16). Autorzy nie wykryli tej pentozy również w śluzie otrzymanym według metody Nevilla, a więc bez 3 min. hydrolizy która mogłaby ewentualnie spowodować odszczepienie i usunięcie arabinozy z łańcucha. Jeżeli przyjąć obecność arabinozy w składzie śluzu lnu za udowodnioną (6, 7, 16), to fakt przeoczenia jej przez Andersona i Lowego pociągnął za sobą błąd w oznaczeniu ilościowym ksylozy. Metoda Tollensa i Elletta (14) zastosowana przez autorów do ilościowego oznaczenia ksylozy obok ramnozy nie jest bowiem specyficzna dla ksylozy, a pozwala na orientacyjną ocenę zawartości pentozy obok metylopentozy.

2. Największe zastrzeżenia budzi jednak dokładność metody floroglucydowej Tollensa oznaczania ilościowego ksylozy i ramnozy w warunkach jej zastosowania przez Andersona i Lowego. Metoda Tollensa polega na ogrzewaniu pentozy z 12%-owym kwasem solnym i oddestylowaniu powstałego furfurołu, który z kolei przeprowadza się

w nierozpuszczalny floroglucyd i oznacza wagowo. Metylo-pentozy wydzielają w tych warunkach metylofurfurol, który również daje nierozpuszczalny floroglucyd. Floroglucydy te można rozdzielić korzystając z ich różnej rozpuszczalności w etanolu. W obecności heksoz i kwasów uronowych metoda ta jest jednak zupełnie nieprzydatna, gdyż heksozy destylowane z kwasem solnym wydzielają oksymetylofurfurol, którego floroglucyd rozpuszcza się częściowo w alkoholu, przeszkadzając w ten sposób oznaczeniu i pentoz i metylopentoz. Kwasy uronowe zaś w warunkach analizy wydzielają furfurol, uniemożliwiając oznaczenie pentoz. Według badań Klingstedta (17) i Gierischa (18) metoda floroglucydowa oznaczania metylopentoz w obecności pentoz, heksoz i kwasów uronowych jest zupełnie nieprzydatna. Anderson i Lowe zdawali sobie sprawę z tych faktów toteż przeszło 50% odchylenia od danych teoretycznych (por. tabela 1) przypisywali niedokładności metody, natomiast przypadkową zgodność sumy zawartości ksylozy i ramnozy oznaczonych tą metodą z sumą tych składników obliczoną dla kwasu aldotetronowego uznali za potwierdzenie swej tezy. Jednak i ten dowód musi upaść wobec nieuwzględnienia przez autorów obecności arabinozy oraz istnienia różnych współczynników przeliczeniowych dla stosunków wagowych floroglucyd: ramnoza i floroglucyd: ksyloza.

3. Zasadniczą lukę w rozumowaniu Andersona i Lowe stanowi brak jakiegokolwiek dowodu, że badany przez nich preparat śluzu stanowił jednorodny związek chemiczny, a nie wieloskładnikową mieszaninę. Preparat ten uzyskany na drodze częściowej hydrolizy i frakcjonowanego strącania, a więc przy użyciu metod zupełnie nieselektywnych, nie daje żadnych gwarancji jednorodności.

W świetle tych rozważań uznać można, że Anderson i Lowe nie przeprowadzili dowodu istnienia opisanego kwasu aldotetronowego jako powtarzającego się składnika łańcucha śluzu lnianego. W dalszym ciągu pewny pozostawał jedynie fakt istnienia kwasu aldobionowego zbudowanego z kwasu galakturonowego i ramnozy oraz obecność L-galaktozy i D-ksylozy.

Ciekawe badania nad śluzem lnianym przeprowadził Broda (1). Autor ten określał niektóre stałe fizykochemiczne śluzów roślinnych oraz badał zachowanie się ich w polu elektrycznym, obserwując przestrzeń katodową i anodową w ultramikroskopie szczelinowym. Z badań tych wynika, że pod wpływem przyłożonego napięcia śluz lnu ulega częściowemu rozdzieleniu, przy czym frakcja zbierająca się w przestrzeni anodowej (około 80%) mętnieje i przybiera wygląd żelu. Część katodowa natomiast pozostaje przezroczysta a cząsteczki zachowują wyraźne ruchy Browna. Z badań tych wynika zatem, że śluz lnu nie jest substancją jed-

norodną a różnice polarne poszczególnych frakcji można by przypisać różnej zawartości grup karboksylowych w tych frakcjach. Na złożoność budowy śluzu lnu zwrócili uwagę w roku 1950 również Easterby i Jones (16). Autorzy ci wykorzystali metodę stosowaną ostatnio w przemyśle do oczyszczania związków pektynowych (19). Przy zastosowaniu octanu miedzi wydzielili onę z śluzu lnu nierozpuszczalną w wodzie sól miedziową w ilości 45% oraz frakcję rozpuszczalną w wodzie w ilości 55%. Sól nierozpuszczalna posiadała ciężar równoważnikowy = 420, zaś frakcja rozpuszczalna = 1050. Wskazywałoby to na różną zawartość kwasów uronowych w obu frakcjach. Na drodze chromatografii bibułowej Easterby i Jones stwierdzili w hydrolizacie śluzu lnu obecność kwasu galakturonowego, arabinozy, ramnozy, ksylozy, galaktozy i śladów fukozy. Składniki te występują według tych autorów w obydwu frakcjach śluzu w różnych stosunkach ilościowych.

W momencie rozpoczęcia niniejszej pracy poglądy badaczy na istotne zagadnienia dotyczące składu i budowy śluzu lnu znacznie różniły się pomiędzy sobą. Odnośnie składu jakościowego wątpliwości dotyczyły przede wszystkim obecności w śluzie lnu arabinozy i glukozy. Cukry te zostały wykryte w hydrolizacie śluzu przez Hilgera (16) i Nevilla (7) obecność tych cukrów jednak nie została potwierdzona przez Andersona i Lowe (12). Easterby i Jones (16) badając hydrolizę śluzu metodą chromatograficzną, potwierdzili obecność arabinozy, nie stwierdzili jednak śladów glukozy. Różnice poglądów na jednorodność chemiczną badanych preparatów śluzu były bardziej zasadniczej natury. Podczas gdy Anderson i Lowe uznawali badane przez siebie preparaty za chemicznie jednorodne, badania Brody (1) i Easterby oraz Jonesa (16) wskazywały wyraźnie, że śluz lnu jest układem wieloskładnikowym.

Badania ilościowe przeprowadzone na hydrolizatach śluzu przez Andersona (12) i Easterby (16) doprowadziły do uzyskania zupełnie nieporównywalnych liczb, mających ilustrować stosunki ilościowe poszczególnych monoz występujących w hydrolizatach śluzu. Jako wystarczająco udowodnione można było jedynie przyjąć istnienie w łańcuchach śluzu kwasu aldobionowego będącego 2-(D-galakturono-pyranozydo-)-L-ramnozą i ponadto obecność D-ksylozy i L-galaktozy.

W tej sytuacji należało, zdaniem autora, przede wszystkim ustalić skład jakościowy śluzu, a następnie przy pomocy odpowiednio dobranej metodyki określić możliwie dokładnie udział ilościowy poszczególnych składników nie tylko w hydrolizacie lecz również i w wyjściowym preparacie śluzu lnu.

Krytyczne rozważania nad metodami ilościowymi, stosowanymi przy dotychczasowych badaniach śluzu lnu nasunęły autorowi wątpliwości,

czy metody te mogą w ogóle dać poprawną odpowiedź na pytanie, w jakim stosunku ilościowym poszczególne składniki biorą udział w budowie cząsteczek śluzu. Metody te polegające na hydrolizie kwasowej próbki śluzu, a następnie ilościowej analizie hydrolizatu opierały się na dwu nie sprawdzonych założeniach:

1. Wszystkie wiązania glikozydowe mają w warunkach hydrolizy podobną trwałość, wskutek czego stężenia poszczególnych składników śluzu w hydrolizacie winny wzrastać proporcjonalnie do czasu trwania hydrolizy oraz w tym samym czasie osiągać wartości maksymalne.

2. Uwolnione już monozy nie ulegają w warunkach hydrolizy dalszemu rozkładowi lub szybkości ich rozpadu są sobie równe.

Jedynie przy tych założeniach wyniki ilościowych oznaczeń przeprowadzone na hydrolizacie możnaby odnieść do preparatu wyjściowego.

W wyniku przeprowadzonych przez autora badań okazało się, że żadne z tych założeń nie jest, nawet w przybliżeniu, spełnione. Wiązania pomiędzy poszczególnymi monozami wykazały bardzo różną trwałość, np. arabinoza zostaje w 100% odszczepiona od reszty drobin już w pierwszych godzinach hydrolizy, podczas gdy rozerwanie wiązania pomiędzy ramnozą i kwasem galakturonowym nie jest zupełne nawet po 170-godzinnej hydrolizie. Również trwałość poszczególnych monoz w warunkach hydrolizy jest bardzo różna.

Ustalenie prawidłowego składu ilościowego śluzu lnu wymagało zatem opracowania przez autora zupełnie nowej metody analitycznej, uwzględniającej omówione fakty.

Metoda ta, którą autor nazywa metodą hydrolizy frakcjonowanej, polega na przeprowadzeniu nie jednego oznaczenia, ale całego szeregu oznaczeń ilościowych hydrolizatu po różnym czasie trwania hydrolizy. Pozwala ona na uzyskanie wykresów zmian stężeń poszczególnych składników śluzu w zależności od czasu trwania hydrolizy.

Występujące na poszczególnych krzywych maksima, po uwzględnieniu odpowiednich poprawek na rozpad każdego z oznaczanych składników, winny dać w rezultacie rzeczywisty obraz składu ilościowego badanego śluzu.

Metoda hydrolizy frakcjonowanej narzuciła oczywiście konieczność dokonywania kilkunastu pełnych oznaczeń ilościowych wszystkich monoz zawartych w poszczególnych frakcjach hydrolizatu.

Oznaczenia te wykonywano przy pomocy specjalnie opracowanej mikrometody kolorymetrycznej po uprzednim chromatograficznym rozdzieleniu składników hydrolizatu.

Aby ominąć konieczność każdorazowego odkwaszania hydrolizatów zastosowano hydrolizę za pomocą kationitu wodorowego, co pozwoliło na bezpośrednie użycie hydrolizatu do rozdzielu chromatograficznego.

Dla każdej frakcji hydrolizatu dokonywano ponadto pomiarów lepkości. Wykres zmian lepkości na tle wykresów zmian stężeń poszczególnych monoz pozwalał dogodnie śledzić przebieg hydrolizy, a ponadto pozwalał na wyciągnięcie ciekawych wniosków odnośnie położenia poszczególnych monoz w łańcuchach śluzu lnu.

W zamierzonych badaniach przyjęto następujący plan pracy:

1. Celem uzyskania porównywalnych wyników otrzymanie różnych preparatów śluzu według metodyki podanej przez poszczególnych autorów.

2. Wypróbowanie i przyjęcie metody chromatograficznego rozdzielania i identyfikacji cukrów w hydrolizacie.

3. Opracowanie odpowiedniej metodyki hydrolizy śluzu.

4. Opracowanie metody oznaczania ilościowego monoz rozdzielonych chromatograficznie.

5. Opracowanie metody obliczania poprawek uwzględniających rozkład monoz podczas hydrolizy dla uzyskania danych ilościowych odnośnie zawartości poszczególnych cukrów w preparacie wyjściowym.

6. Celem umożliwienia śledzenia postępów hydrolizy postanowiono równolegle z hydrolizą badać zmiany lepkości roztworów śluzu poddawanych hydrolizie przez różny przeciąg czasu.

I. METODYKA BADAŃ

1. Przygotowanie roztworów śluzu

Do 20 flaszek pojemności 1000 ml odważono po 100 g oczyszczonych nasion lnu oraz dodano po 500 ml wody, po czym flaszki wytrząsano mechanicznie przez trzy godziny. Skrócony czas ekstrakcji zastosowano w celu uniknięcia hydrolizy enzymatycznej śluzu, mogącej zachodzić przy dłuższej ekstrakcji. Gęsty śluz uwolniono od nasion przez wirowanie i do uzyskanego 6,8 l roztworu dodano mieszaninę 50 ml stężonego kwasu solnego i 150 ml wody (temperatura 25°C). Po godzinnym mieszaniu roztwór wlało cienkim strumieniem do mieszaniny 6000 ml metanolu, 2000 ml eteru i 20 ml stężonego kwasu solnego. Strącony lepki, jasno szary śluz odcedzono następnego dnia przez gazę i rozpuszczono w wodzie (3 l + 10 ml HCl) po czym wytrącono ponownie przez wlanie do mieszaniny 6 litrów metanolu, 2 litrów eteru i 20 ml HCl. Podobny proces rozpuszczania i strącania mieszaniną alkoholu i eteru powtórzono jeszcze raz. Wydzielony śluz wygnieciono w moździerzu z bezwodnym metanolem i po rozdrobnieniu poddano w aparacie Soxleta ekstrakcji najpierw metanolem, a później bezwodnym eterem, który zmieniano 5-krotnie. Odwodniony i pozbawiony chlorków śluz uwolniono od eteru w próżniowym eksykatorze. Po wysuszeniu śluz roztarty w moździerzu przedstawia się

jako kremowa substancja całkowicie w wodzie rozpuszczalna. W ten sposób przygotowany, bez użycia wyższej temperatury, śluz nazwano śluzem oczyszczonym. Odpowiadał on tak pod względem sposobu przygotowania, jak i własności śluzowi otrzymanemu przez Neville (7) i Andersona (8, 12).

Niezależnie od śluzu oczyszczonego przygotowano według przepisu podanego przez Tipsona (10) i Andersona (12) tzw. „wolne kwasy śluzu lnu”. Zasada otrzymania tej substancji polega na ogrzewaniu surowego, odwirowanego od nasion śluzu, w obecności 2% HCl w temperaturze 80°C przez 3 min. Po tej częściowej hydrolizie gorący roztwór sączone i oczyszczano przez wytrącenie mieszaniną metanolu i eteru, podobnie jak preparat poprzedni. Suchy preparat przedstawia się jako biała, krucha substancja, całkowicie w wodzie rozpuszczalna.

Trzecim rodzajem śluzu, który przygotowano i częściowo zbadano był „śluz pełny”. Surowy śluz, otrzymany jak poprzednio przez 3-godziną ekstrakcję nasion na wytrząsarce, odwirowano a następnie uwolniono od związków mineralnych przesączeniem przez wymienniki jonowe. Jako wymiennicze zastosowano silny kationit: Wofatyt F, oraz anionit: Amberlit I.R.A. — 400. Sączone trzykrotnie w kolejności: Kationit-anionit-kationit. Z otrzymanego przesączu wyosobniono czysty śluz przez odparowanie ze stanu zamrożenia w porcjach po 300 ml roztworu. Zliofilizowany śluz miał puszysty wygląd ligniny i był całkowicie rozpuszczalny w wodzie. Dla opisanych trzech rodzajów śluzu oznaczono zawartości popiołu węglanowego oraz grup karboksylowych. Zawartość grup karboksylowych zmierzono na drodze potencjometrycznego miareczkowania 0,1 N NaOH. Przy użyciu elektrody szklanej uzyskiwano bardzo ostre przejście przy pH = 7,6 co pozwoliło na dokładne wyznaczenie momentu zobojętnienia.

Z oznaczonej zawartości grup karboksylowych wyznaczono ciężar równoważnikowy śluzu. Uzyskane wyniki własne oraz wyniki innych autorów są podane w tabeli 2.

Tabela 2

A u t o r	Śluz pełny		Śluz oczyszczony		„wolne kwasy” śluzu lnu	
	Popiół %	Ciężar równoważni- kowy	Popiół %	Ciężar równoważni- kowy	Popiół %	Ciężar równoważni- kowy
1. Hilger (6)			0,61			
2. Neville (7)				710		
3. Anderson (12)			0,87	731	0,91	639
4. Easterby (16)				850		
5. Badan. własne	0,52	746	0,72	715	0,70	652

2. Chromatografia bibułowa

Jako standardową metodę analizy chromatograficznej hydrolizatu przyjęto sposób podany przez Glegga i Eidingera (20) oraz Chargaffa i współpracowników (21). Z bibuły Whatmanna Nr 1 wycinano prostokąty o bokach 27×38 cm. W odległości 4 cm od węższego brzegu przeprowadzono linię startową, na której w odległościach co 3 cm oznaczano miejsca startu poszczególnych frakcji. Na pierwsze 7 miejsc startowych nakraplano po $4 \times 2,8 \text{ mm}^3$ kolejnych frakcji hydrolizatu, na ósme miejsce dawano $2,8 \text{ mm}^3$ roztworu wzorcowego zawierającego w 100 ml po 1 gramie przewidywanych cukrów: ramnozy, ksylozy, arabinozy i galaktozy. Zwinięty i zszyty arkusz rozwijano 3-krotnie metodą wstępującą mieszaniną: pirydyna, woda, butanol w stosunku 2:1,5:3 (21). Przy wycinaniu arkuszy zwracano uwagę, aby kierunek rozwijania chromatogramu był zgodny z kierunkiem ułożenia włókien bibuły. Wysuszone arkusze wywołano w znany sposób przy użyciu kwaśnego szczawianu aniliny (21). Przyjęta metoda zapewniała wyraźny i dokładny rozdział poszczególnych cukrów. Wywołane chromatogramy fotografowano, gdyż po kilkunastu dniach tło, początkowo białe, przybiera barwę żółtą.

3. Hydroliza śluzu

Kwasową hydrolizę wielocukrów przeprowadza się najczęściej przez ogrzewanie roztworu zakwaszonego kwasem organicznym lub nieorganicznym. Sposób ten, mimo zalety przeprowadzenia reakcji w środowisku jednorodnym, posiada zasadniczą wadę, mianowicie produkt hydrolizy pozostaje zanieczyszczony dodanym kwasem, który przeszkadza w dalszych badaniach. Uwolnienie produktów hydrolizy od obcego kwasu jest czynnością żmudną i połączoną najczęściej z nie kontrolowaną stratą materiału. Wprowadzenie kwaśnych żywic jonowymiennych jako „stałych kwasów” dla celu hydrolizy wielocukrów (23, 24, 25) i białek (26) uczyniło zbędnym proces oczyszczania hydrolizatu, gdyż dodany kationit usuwa się przez odsączanie lub odwirowanie. Początkowo produkowane wymieniacze, oparte na bazie żywic fenolo-formaldehydowych posiadały zbyt małą trwałość w podwyższonej temperaturze i po dłuższym ogrzewaniu ulegały daleko posuniętemu rozkładowi. Wady tej nie posiadają kationity oparte na bazie polistyrenowej, odporne na ogrzewanie do temperatury 120°C (np. Permutyt Q). Dalszą zaletą kationitów wodorowych jako katalizatorów hydrolizy jest ich łagodne działanie, zwłaszcza że do specjalnych celów można dobierać kationity słabiej kwaśne, o grupach czynnych karboksylowych lub fenolowych.

W niniejszej pracy zastosowano jako katalizator hydrolityczny kationit na bazie polistyrenowej o grupach czynnych sulfonowych pod nazwą

Wofatyt KPS-200. Kationit ten, dostępny na naszym rynku, okazał się we wstępnych badaniach przydatny do hydrolizy wielocukrów w temperaturze 100°C i przez okres ogrzewania w ciągu 180 godz. nie wykazywał oznak peptyzacji. Kationit ten do celów hydrolizy przygotowano w następujący sposób: suchą żywicę zalewano wodą i pozostawiano celem napełnienia przez 24 godz. Po odlaniu wody przeprowadzano jonit w sól za pomocą 2N NaOH . Po 6 godz. odlewano nadmiar zasady, przemywano żywicę 2 razy wodą, a następnie celem przeprowadzenia żywicy w postać kwasową dodawano wystarczającą ilość 4N HCl . Po 3 godz. usuwano nadmiar kwasu przez wytrząsanie w lejku rozdzielczym z wodą aż do zaniku reakcji na chlorki. Wymytą żywicę suszono na powietrzu. Jako roztwór wyjściowy do hydrolizy stosowano 1% roztwór śluzu. Hydrolizę śluzu wobec wymiennicza jonowego przeprowadzano w naczyniach zamkniętych, najczęściej zatopionych ampułkach ze szkła jenajskiego poj. 10 ml, stosując na każde 2 ml 1% roztworu śluzu 1 gram suchego kationitu.

Ampułki umieszczone w specjalnym statywie wstawiano do naczynia z wodą zamkniętego chłodnicą zwrotną, a ogrzewanego na płytce elektrycznej, która wodę w naczyniu utrzymywała przez cały czas hydrolizy w łagodnym nieprzerwanym wrzeniu. W tym celu w obwód elektryczny płytki włączano autotransformator, który pozwalał na dokładną regulację ilości ciepła dostarczanego przez płytkę.

4. Mikrochemiczna metoda oznaczania cukrów

Opracowano mikrometodę oznaczania ilościowego cukrów. Metoda ta polega na redukcji żelazicjanku do żelazocjanku i kolorymetrycznym oznaczaniu utworzonego błękitu pruskiego.

Zdolność redukcyjna cukrów jest w pewnych warunkach wprost proporcjonalna do stężenia grup aldehydowych cukrów a absorpcja światła przez błękit pruski stosuje się do prawa Lamberta i Beera w granicach ekstynkcji do ca 0,9. Metoda ta w zastosowaniu do oznaczania stopnia polimeryzacji dekstranu przez pomiar stężenia grup końcowych podana została przez Waksmundzkiego i Zagórskiego (27).

Dla celów mikrooznaczeń ilościowych zastosowano następujący sposób postępowania:

Z bibuły Whatmann Nr 1 wycinano prostokąty o wymiarach 9×36 cm w kierunku włókien. W odległości 4 cm od węższego brzegu prowadzono linię startową, na której w odległościach co 3 cm oznaczano dwa punkty startowe. Na pierwszy punkt nakraplano badany hydrolizat w ilości $4 \times 2,8 \mu\text{l}$, na drugi $2,8 \mu\text{l}$ wzorca ilościowego zawierającego w 100 ml po jednym gramie ramnozy, ksylozy, arabinozy i galaktozy. Chromatogramy rozwijano jak opisano poprzednio, a po ostatnim wysuszeniu prze-

cinano wzdłuż dokładnie w połowie, po czym odcinek zawierający wzorec wywoływano. Na podstawie wywołanego wzorca wycinano z odcinka zawierającego badany hydrolizat poprzeczne paski odpowiednich rozmiarów zawierające badane cukry. Na innych paskach nakraplano na obydwie punkty startowe dokładne ilości wzorców służące potem jako standarty przy kolorymetrii. Wycięte paseczki bibuły, zawierające rozdzielone cukry eluowano w następujący sposób: Ciasno, poprzecznie zwinięte paseczki wkładano jednym końcem na głębokość około 5 mm do krótkiej (około 3 cm) rurki szklanej o odpowiednim przekroju, którą z kolei łączono wężykiem z wylotem biurety napełnionej wodą. Wypływ wody z biurety regulowano w ten sposób, aby przez zwitek bibuły przesączyło się w czasie 20 min. dokładnie 10 ml wody. Eluat ten zbierano wprost w kolbce, w której przeprowadzano dalszą reakcję. Sposób taki zapewniał ilościowe wymycie cukru i był łatwiejszy w zastosowaniu niż opisywane metody ekstrakcji obieguowej (28).

Bezwzględna dokładność metody jest wysoka przy ścisłym przestrzeganiu warunków postępowania (27). Powtarzalność wyników przy odważaniu bardzo rozcieńczonych roztworów cukrów na wadze analitycznej wynosiła do 3%. Przy odmierzaniu 1% roztworów za pomocą mikropipetki rozrzut wyników powiększał się o błąd, jaki popełnia się przy odmierzaniu mikroobjętości roztworów. Przy tego rodzaju oznaczeniach błąd ten przeważnie przekracza błąd samej metody i dlatego celem zmniejszenia go położono duży nacisk na dokładność przyrządu oraz staranną pracę. Autor opracował do tego celu model mikropipetki, który pozwolił na odmierzenie cieczy w ilościach od 2,8 μ l z dokładnością do 5%. Pipetka ta składała się z rurki pomiarowej z podziałką (z mieszalnika hematologicznego), która na dolnym końcu posiadała normalny szlif do połączenia z igłą iniekcijną. Drugi koniec rurki zaopatrzone w metalową końcówkę posiadającą wąski, gwintowany otwór. Końcówka ta była szczelnie spojona z pipetką za pomocą odpowiedniego cementu. W gwintowany otwór nasadki wkręcano śrubę o dopasowanym gwincie uszczelnionym smarem. Śruba ta przez pokręcenie spełniała rolę precyzyjnego tłoczka, który pozwalał na dokładne dozowanie płynu. Pojemność pipetki pomiędzy kreskami została określona przez zważenie rtęci i wody i wynosiła 2,8 μ l.

Dalszym ewentualnym źródłem błędów przy oznaczeniach ilościowych jest sama chromatograficzna metoda rozdzielania cukrów. Błąd ten eliminuje się w dużym stopniu przez użycie wzorców, które poddaje się również chromatograficznemu rozdzielaniu w warunkach identycznych do rozdzielania oznaczanych cukrów. Na ostateczny rozrzut wyników oznaczeń składają się zatem następujące czynniki:

- 1) błąd bezwzględny metody,
- 2) błąd w odmierzaniu ilości wzorca i badanych cukrów,
- 3) błąd rozdziału chromatograficznego.

W przyjętych warunkach pracy dokładność pomiarów ilościowych ocenia autor na podstawie przeprowadzonych badań na około 10—12% przy ilościach ca 10 µg oznaczanych monoz. Jedną serię oznaczeń ilościowych wykonywano w 5 kolbach miarowych poj. 50 ml. W kolbach oznaczonych numerami 1, 2 i 3 umieszczano po 10 ml eluatu z badanych pasków; kolbka oznaczona literą „W” zawierała eluat z wzorcem, zaś kolbka „O” eluat z paska czystej bibuły, analogicznej jak poprzednie wielkości. Po przeprowadzeniu redukcji i ostudzeniu kolbek dodawano do każdej po dwie krople 1% roztworu dekstranu niehydrolizowanego o dużym ciężarze drobinowym (około 1000.000), jako koloidu ochronnego dla powstającego błękitu pruskiego. Odpowiednia frakcja dekstranu została w tym celu starannie pozbawiona niskocząsteczkowych frakcji przez strącanie alkoholem. Obliczania wyników dokonywano po zmierzeniu ekstynkcji w fotokolorymetrze na drodze interpolacji graficznej wykresu zależności E/C zgodnie z cytowaną pracą (27).

5. Pomiary lepkości

Dla poznania przebiegu rozpadu łańcuchów śluzu podczas hydrolizy równolegle z pomiarami ilościowymi uwalnianych cukrów dokonywano porównawczych pomiarów lepkości. Ponieważ w tej pracy bezwzględne wartości lepkości były mniej interesujące, autor ograniczył się do podania zmierzonych czasów przepływu 0,5% roztworów śluzu poddawanego hydrolizie. Czasy przepływu mierzono w normalnym wiskozymetrze Ostwalda w temp. 20°C. Zmierzone w sekundach czasy przepływu nanoszono na wykres jako funkcje czasu trwania hydrolizy.

II. WYNIKI

Celem otrzymania wyników porównywalnych z wynikami badań poprzednich autorów dalsze badania i pomiary ilościowego składu śluzu lnu wykonano na preparacie użytym przez Andersona i Love (10, 12) i nazywanym przez nich „wolnymi kwasami śluzu lnu” a otrzymanym według wyżej podanej metody.

Próbné chromatogramy jakościowe otrzymane z hydrolizatów śluzu ogrzewanego w obecności kationitu przez różny przeciąg czasu wykazały, że natężenie plam poszczególnych cukrów zmienia się w dość szerokich granicach w zależności od czasu ogrzewania. Należało przypuszczać, że

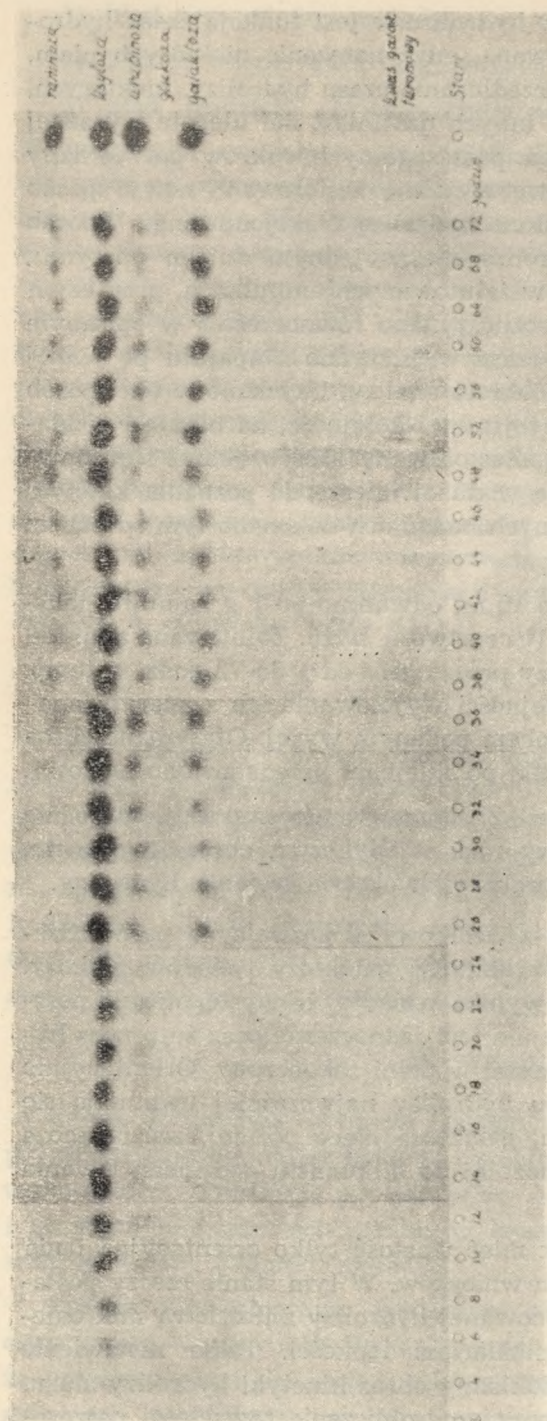
stężenie poszczególnych cukrów w hydrolizacie jest funkcją czasu hydrolizy i to funkcją dość skomplikowaną, gdyż natężenie niektórych plam, np. ramnozy wzrastało w miarę przedłużania czasu hydrolizy, niektórych, jak np. ksylozy wyraźnie malało, innych natomiast nie ulegało wyraźnej zmianie. Próbne oznaczenia stężeń poszczególnych cukrów potwierdziły to przypuszczenie. Aby tę sprawę wyjaśnić zastosowano nowy sposób postępowania, nazwany przez autora hydrolizą frakcjonowaną. Sposób ten polega na prowadzeniu hydrolizy nie w jednym dużym naczyniu, a kilkudziesięciu mniejszych, np. w zalutowanych ampulkach, przy czym ogrzewanie wszystkich ampulek rozpoczynano równocześnie w opisanym aparacie. W pewnych odstępach czasu wyjmowano z aparatu po jednej ampulce, studzono i pobierano próbki do analizy. Uzyskane w ten sposób próbki hydrolizatu nakraplano w tej samej kolejności na bibułę i poddawano analizie chromatograficznej. Zastosowany sposób okazał się pomysłem szczęśliwym i przyczynił się w dużej mierze do poznania kinetyki hydrolizy śluzu. W przeprowadzonych badaniach dokonano tym sposobem jakościowej analizy śluzu lnu.

W tym celu do 31 ampulek po 10 ml odważono po 1 g katanitu polistyrenowego oraz dodano po 2 ml 1% roztworu śluzu. Zalutowane ampulki ogrzewano w aparacie do hydrolizy przez okres od 1 do 72 godz. w temp. 100°C. Zawartość ampulek w kolejności wyjmowania ich z aparatu analizowano chromatograficznie sposobem podanym wyżej. Otrzymane chromatogramy fotografowano, a odbitki po sklejeniu przedstawiono na fot. 1.

Już pobieżna obserwacja tej serii chromatogramów wskazuje wyraźnie na wyższość tego sposobu analizy nad pojedynczym chromatogramem, uzyskanym z hydrolizatu po jakimkolwiek okresie trwania hydrolizy.

Porównanie plam hydrolizatu z wzorcowymi pozwala na potwierdzenie obecności ramnozy, ksylozy, arabinozy, galaktozy i śladów glukozy. Z analizy serii chromatogramów wynika ponadto, że występowanie poszczególnych monozy w hydrolizacie nie jest jednoczesne oraz że proces hydrolizy po upływie 72 godz. nie został w pełni zakończony. Orientacyjnie przyjąć można, że po rozpoczęciu hydrolizy najwcześniej uwalniają się z łańcuchów arabinoza i ksyloza, galaktoza nieco później, zaś ramnoza i kwas galakturonowy znacznie później po kilkunastu godzinach trwania hydrolizy.

Stwierdzenia te mogły jednak mieć wartość tylko orientacyjną i nie pozwalały na wyciąganie dalszych wniosków. W tym stanie rzeczy postanowiono połączyć metodę frakcjonowanej hydrolizy z ilościową mikrometodą oznaczania cukrów oraz pomiarami lepkości. Takie zestawienie metod winno dać wystarczająco dokładny obraz kinetyki hydrolizy śluzu, pozwalający z jednej strony na poprawne obliczenie zawartości poszcze-



gólnych cukrów w śluzie, z drugiej zaś na wyciągnięcie wniosków odnośnie budowy łańcuchów. Uzyskane wyniki potwierdziły te przypuszczenia.

Ponieważ dla pomiaru lepkości konieczna była większa ilość hydrolizatu, badania przeprowadzono na nowej serii ampulek. Frakcjonowaną hydrolizę przeprowadzono w 16 ampulkach, do których odważono po 3 g kationitu i 6 ml 1% roztworu śluzu. Zatopione ampułki ogrzewano w aparacie do hydrolizy w odstępach czasu od 0,5 do 170 godz. Hydrolizat w kolejności wyjmowanych ampulek zbadano po rozdziale chromatograficznym ilościowo, metodą podaną poprzednio, na zawartość poszczególnych cukrów, a ponadto dla próbek hydrolizatu rozcieńczonego wodą w stosunku 1:1 zmierzono czasy przepływu przez kapilarę wiskozymetru Ostwalda. Czasy te zgodne z równaniem przedstawionym przez Staudingera (29) są liniowo wprost proporcjonalne do lepkości roztworów. Zmierzane czasy przepływu hydrolizatu oraz wyniki oznaczeń ilościowych przedstawia tabela 3.

Fot. 1. Seria chromatogramów 30 próbek śluzu poddanego hydrolizie przez różny okres czasu (2 do 72 godz.)

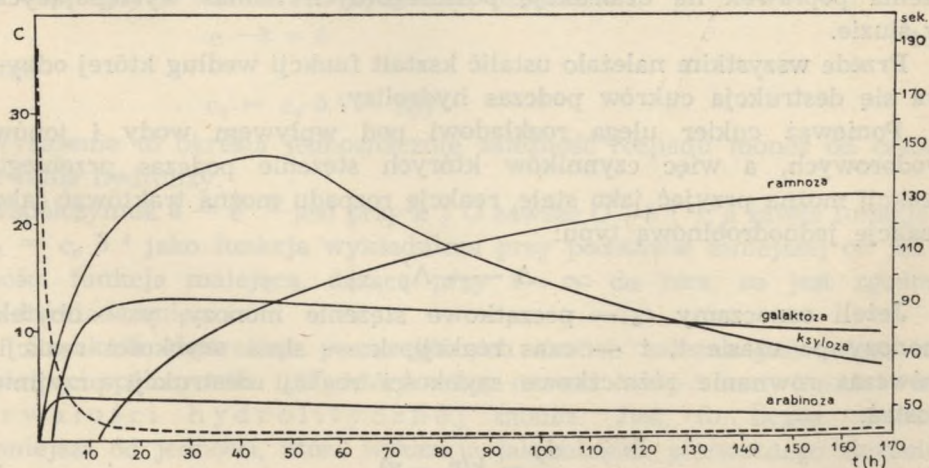
Tabela 3

Nr kol. amp.	Czas hydrolizy godzin	Czas przepływu w sek.	Stężenie monozy w hydralizacie wolnych kwasów śluzu $\mu\text{g}/11.2\text{ mm}^3$			
			ramnoza	ksyloza	arabinoza	galaktoza
I	0,0	190	0,0	0,0	0,0	0,0
II	0,5	129				
III	1,0	108				
1	2,0	79	0,0	4,7	3,6	0,0
2	6,0	57	0,0	10,7	3,6	8,4
3	12	47	0,0	18,3	2,5	12,2
4	18	44	5,0	21,4	2,5	
5	24	43	6,0	23,5	3,2	13,4
6	31	43		25,0	1,8	
7	36	42+)	10,0	26,0		
8	43		11,0	26,6	2,0	11,9
9	50	42	12,0	26,5	2,0	
10	60			20,4		
11	73		14,6	18,1		10,4
12	83	42	17,3			
13	98		20,7	12,2	3,1	12,0
14	122		21,6	16,2	2,6	11,2
15	170		23,0	6,3	2,3	9,5

+) — lepkość wody dest.

Z uzyskanych danych liczbowych sporządzono wykres ilustrujący zmiany stężenia poszczególnych monoz oraz lepkości hydrolizatu w zależności od czasu trwania hydrolizy (wykres 1).

Wykres ten pozwala na wysnuwanie lepiej umotywowanych wniosków niż jakościowa seria chromatogramów. Pierwszym najważniejszym



Wykres 1. Linie ciągłe oznaczają zmiany stężeń poszczególnych monoz w zależności od czasu trwania hydrolizy; linia przerywana oznacza zmiany lepkości hydrolizatu.

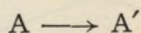
stwierdzeniem, które nasuwa się przy badaniu wykresu jest fakt, że wszelkie dotychczas ogłoszone wyniki badań stosunków ilościowych monoz występujących w słuźie były błędne, podawały bowiem jedynie aktualne stężenia poszczególnych monoz w jakimś konkretnym momencie hydrolizy. Z obserwacji wykresu widać, że nie istnieje taki określony moment hydrolizy, w którym by wszystkie monozy równocześnie osiągały maksimum stężenia. Hydroliza frakcjonowania w połączeniu z ilościowym zbadaniem wszystkich frakcji umożliwia poprawne rozwiązanie tego zagadnienia.

Drugi ważny wniosek dotyczy interpretacji wyników ilościowych, uzyskiwanych przy badaniu hydrolizatów wielocukrów. Do tej pory przyjęło się, że stężenia poszczególnych monoz, stwierdzone w hydrolizatach odnoszono wprost do produktów wyjściowych, co również było połączone z poważnym błędem. Z obserwacji wykresu wynika, że stężenia poszczególnych cukrów po osiągnięciu maksimum spadają w miarę trwania hydrolizy. Ten spadek stężenia spowodowany jest destrukcją monoz wskutek podwyższenia temperatury i działania jonów wodorowych; szybkość tej destrukcji jest różna dla poszczególnych cukrów. Aby więc pomiary ilościowe dokonywane na hydrolizatach wielocukrów można było odnieść do preparatu wyjściowego należy przede wszystkim odczytać maksymalne stężenie poszczególnych monoz z wykresu uzyskanego za pomocą hydrolizy frakcjonowanej, a następnie dla tych maksymalnych wartości obliczyć poprawki uwzględniające ubytki tych monoz spowodowane ogrzewaniem w czasie od t_0 do $t_{\max}$. Dopiero tak obliczone wyniki mogą poprawnie ilustrować stosunki ilościowe w preparacie wyjściowym.

Ponieważ ustalenie prawidłowych stosunków ilościowych w słuźie lnu było jednym z celów niniejszej pracy, autor opracował sposób obliczenia poprawek na destrukcję poszczególnych monoz występujących w słuźie.

Przed wszystkim należało ustalić kształt funkcji według której odbywa się destrukcja cukrów podczas hydrolizy.

Ponieważ cukier ulega rozkładowi pod wpływem wody i jonów wodorowych, a więc czynników których stężenie podczas przebiegu reakcji można przyjąć jako stałe, reakcję rozpadu można traktować jako reakcję jednodrobinową typu:



Jeżeli oznaczamy c_0 — początkowe stężenie monozy, y — ubytek monozy po czasie t , t — czas reakcji, k — stała szybkości reakcji, wówczas równanie różniczkowe szybkości reakcji destrukcji przyjmie postać:

$$\frac{dy}{dt} = k(c_0 - y)$$

a stąd

$$kdt = \frac{dy}{c_0 - y} \quad 2$$

wyrażenie to całkowane

$$k \int dt = \int \frac{dy}{c_0 - y} \quad 3$$

daje wartość na całkę nieoznaczoną:

$$kt = -\ln(c_0 - y) + C \quad 4$$

Dla wyznaczenia stałej całkowania C założono, że w czasie $t = 0$ również $y = 0$ oraz, że proces rozpadu monozy zajdzie całkowicie ($y = c_0$) w czasie $t = t_\infty$. Przy tych założeniach stała całkowania przyjmie postać:

$$C = \ln c_0 \quad 5$$

skąd

$$kt = \ln \frac{c_0}{c_0 - y} \quad 6$$

albo

$$\frac{c_0}{c_0 - y} = e^{+kt} \quad 7$$

i

$$\frac{c_0 - y}{c_0} = e^{-kt} \quad 8$$

definiując:

$$c_0 - y = c_t \quad 9$$

otrzymano

$$c_t = c_0 e^{-kt} \quad 10$$

ponieważ „ e ” jest liczbą stałą, a współczynnik „ k ” nie zmienia się w określonych warunkach hydrolizy, oznaczono:

$$e^{-k} = \delta \quad 11$$

stąd

$$c_t = c_0 \delta^t = f(t)$$

Wyrażenie to określa jednoznacznie zależność rozpadu monoz od czasu trwania hydrolizy.

Współczynnik $\delta = e^{-k}$ jest przy $k > 0$ zawsze $0 < \delta < 1$, a zatem funkcja: $c_t = c_0 \delta^t$ jako funkcja wykładnicza przy podstawie mniejszej od jedności funkcja malejąca, dążąca przy $t \rightarrow \infty$ do zera, co jest zgodne z doświadczeniem.

Szybkość destrukcji poszczególnych monoz zależna jest zatem od wartości współczynnika „ δ ”, który autor nazwał współczynnikiem trwałości hydrolitycznej monoz. Jest to liczba zawsze mniejsza od jedności, która wskazuje jaki ułamek pierwotnego stężenia monozy pozostaje w roztworze po hydrolizie trwającej 1 godz.

Liczbowe wartości współczynnika trwałości hydrolitycznej wyznacza się doświadczalnie. W tym celu należy przeprowadzić hydrolizę roztworu czystej monozy o znanym stężeniu (c_0) w warunkach identycznych do warunków hydrolizy badanych cukrów. Po znanym czasie „t” należy oznaczyć pozostałe stężenie monozy (c_t) i wartości te wstawić do wzoru:

$$c_t = c_0 \delta^t \quad 13$$

lub

$$\delta = \sqrt[t]{\frac{c_t}{c_0}} \quad 13$$

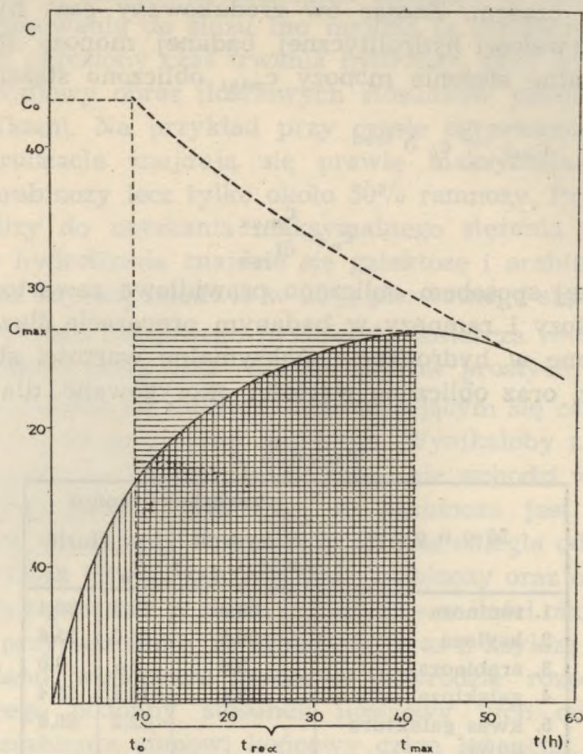
Współczynniki trwałości hydrolitycznej wyznaczono doświadczalnie dla roztworów czystych wzorców ramnozy, ksylozy, arabinozy i galaktozy. W tym celu dla każdego cukru przygotowano po 3 ampułki jenajskie poj. 10 ml i odważono do każdej po 1 g kationitu. Do każdej z trzech ampulek dodano po 2 ml 1% roztworu badanej monozy, a następnie ampułki po zatopieniu ogrzewano w opisanym aparacie w tem. 100°C. Pierwszą ampulkę wyjęto po 48, drugą po 72, a trzecią po 96 godzinach ogrzewania. Do ilościowego oznaczenia użyto po 2.8 μ l ogrzewanego z jonitem roztworu oraz roztworu nie ogrzewanego. Z uzyskanych wyników obliczono współczynniki trwałości (tab. 4) przy pomocy podanego wyżej wzoru.

Tabela 4

M o n o z a	Wartości współ zynnika obli zonego dla czasu t =			
	48 godz.	2 godz.	96 godz.	średnio
1. ramnoza	0,9956	0,9961	0,9958	0,996
2. ksyloza	0,9852	0,9841	0,9846	0,985
3. arabinoza	0,9976	0,9972	0,9963	0,997
4. galaktoza	0,9990	0,9931	0,9983	0,998

Dobra zgodność liczbowa wartości obliczonych dla różnych czasów trwania hydrolizy potwierdza założenie, że destrukcja monoz przebiega według wyznaczonej funkcji wykładniczej.

Obliczenie poprawki na rozpad sprowadza się do stwierdzenia, jakie ilości cukru prostego znajdowały się w każdej chwili trwania hydrolizy w roztworze i następnie obliczenie stopnia rozpadu dla każdej z tych ilości i czasów. Ścisłe to obliczenie, teoretycznie możliwe, byłoby bardzo żmudne i wykracza poza ramy niniejszej pracy. Dla celów praktycznych obliczono tę poprawkę z pewnym przybliżeniem opierając się na następującym rozumowaniu.



Wykres 2. Graficzny sposób wyznaczania poprawki na destrukcję monoz

Niech krzywa na rysunku (wykres 2) przedstawia doświadczalnie stwierdzoną zależność pomiędzy stężeniem np. ksylozy, a czasem trwania hydrolizy. W czasie $t_{\max}$ znaleziono $c_{\max}$. Wartość stężenia $c_{\max}$ jest oczywiście mniejsza od istotnej zawartości ksylozy w wielocukrze, gdyż zmniejszona jest o ułamek stężenia cukru, który uległ rozkładowi. Ułamka tego wprost obliczyć nie możemy, gdyż nie cała pierwotna ilość cukru ogrzewana była przez czas $t_{\max}$. Graficznie można znaleźć jednak rozwiązanie przybliżone. W tym celu pole funkcji, której wykres rozpatrujemy, ograniczone odcinkiem osi zawartym pomiędzy t_0 i $t_{\max}$, dwiema prostymi prostopadłymi do osi x, poprowadzonymi w punktach t_0 i $t_{\max}$ oraz odcinkiem krzywej (zakreśkowane pionowo) zamieniamy na równoważny powierzchnią prostokąt o boku $c_{\max}$ (zakreśkowany poziomo). Długość drugiego boku $t_{\text{red}} = t_{\max} - t_0$ przyjęto za czas trwania hydrolizy, przy założeniu, że cała pierwotna ilość cukru była obecna w roztworze w stanie wolnym już w chwili t_0 . Wycinek pola funkcji mierzono planimetrem, a następnie uzyskaną powierzchnię w cm^2 dzielono przez długość

(w cm) odcinka $c_{\max}$; iloraz (w cm) odłożony na osi x był szukany zredukowanym czasem. Znając ów zredukowany czas hydrolizy (t_{red}), współczynnik trwałości hydrolitycznej badanej monozy (δ) oraz zmierzone maksymalne stężenie monozy $c_{\max}$, obliczono stężenie wyjściowe c_o ze wzoru:

$$c_{\max} = c_o \delta t_{\text{red}} \quad 14$$

lub

$$c_o = \frac{c_{\max}}{\delta t_{\text{red}}} \quad 15$$

Opisanym wyżej sposobem obliczono prawidłowe zawartości arabinozy, ksylozy, galaktozy i ramnozy w badanym preparacie śluzu lnu. Tab. 5 podaje zmierzone w hydrolizacie maksymalne wartości stężeń poszczególnych monoz, oraz obliczone wartości skorygowane dla śluzu wyjściowego.

Tabela 5

M o n o z a	Zawartości monoz		
	W hydrolizacie ($C_{\max}$)	w śluzie	
		C_o	%
1. ramnoza	23,0	28,3	23,4
2. ksyloza	26,6	43,0	35,6
3. arabinoza	3,6	3,7	3,0
4. galaktoza	13,4	13,8	11,4
5. kwas galakturonowy		32,2	26,6
S u m a		121,0	100,0

W tabeli przyjęto obecność kwasu galakturonowego w ilości molarnej równoważnej znalezionej ilości ramnozy, gdyż wszystkie dotychczasowe badania wykazują, że ani kwas galakturonowy ani ramnoza nie występują poza kwasem aldobinowym złożonym z molarnej równoważnych ilości tych związków. Stężenia poszczególnych monoz i kwasu galakturonowego dają w sumie ilość: 121,0 μg . Ponieważ do badań ilościowych używano po 11,2 μl ($4 \times 2,8$) 1% roztworu śluzu, co odpowiada 112 μg substancji niehydrolizowanej, obliczone zawartości wykazują dobrą zgodność z teorią (124 μg).

III. OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wydaje się, że przedstawiona metoda frakcjonowanej hydrolizy w obecności wymiennicy jonowych okaże się czynnikiem pomocnym w badaniu struktury chemicznej oraz składu ilościowego wielocukrów a może i białek. Metoda ta w połączeniu z chromatografią i mikrometodami ilościowymi udostępnia wgląd w kinetykę hydrolizy skomplikowanych związków, a przy uwzględnieniu współczynników trwałości hydro-

litycznej w ogóle umożliwia oznaczenia ilościowe w dziedzinie wielocukrów. W zastosowaniu do śluzu lnu metoda ta uwidoczniła fakt, że nie istnieje żaden określony czas trwania hydrolizy, przy którym można by uzyskać prawidłowy obraz ilościowych stosunków pomiędzy poszczególnymi składnikami. Na przykład przy czasie ogrzewania trwającym 42 godz. w hydrolizacie znajdują się prawie maksymalne ilości ksylozy, galaktozy i arabinozy lecz tylko około 50% ramnozy. Przy przedłużeniu czasu hydrolizy do uzyskania maksymalnego stężenia ramnozy (około 200 godz.) w hydrolizacie znajdzie się galaktozę i arabinozę w ilości po około 70%, zaś ksylozę zaledwie w 20% pierwotnego stężenia.

Analiza wykresu ilościowego (wykres 1) dostarcza również informacji odnośnie trwałości połączenia różnych cukrów prostych w śluzie.

Najslabiej związanym cukrem, odszczepiającym się całkowicie w czasie krótszym niż 10 godzin jest arabinoza. Wynikałoby z tego, że cukier ten jest zaczepiony na końcach łańcuchów i nie wchodzi w skład wnętrza łańcuchów. Przemawia za tym fakt, że arabinoza jest już całkowicie odszczepiona w chwili, gdy lepkość jest jeszcze odległa od swej minimalnej wartości. Duża łatwość odszczepiania arabinozy oraz okoliczność równoczesnego występowania w śluzie lnu ksylozy w ilości około 8 razy większej nasuwa przypuszczenie, że arabinoza wraz z ksylozą mogą wchodzić w skład ksylanu, wielocukru bardzo w przyrodzie rozpowszechnionego a wykazującego podobny stosunek ilościowy tych cukrów (30, 31). W ksylanie arabinoza stanowi końcowy człon łańcucha skąd może być odszczepiona przy użyciu bardzo łagodnych środków. Obecność ksylanu jako stałego składnika śluzu lnu wymaga oczywiście doświadczalnego potwierdzenia.

Ksyloza występuje w śluzie lnu w największej ilości. Jak wynika z jej niskiego współczynnika trwałości ksyloza jest również najłatwiej rozkładającym się cukrem. W kolejności odszczepiania podczas hydrolizy śluzu ksyloza pojawia się po odszczepieniu się arabinozy jako drugi cukier. Maksimum jej stężenia zbiega się ze spadkiem lepkości do poziomu wody. Można stąd wnosić, że ksyloza występuje w łańcuchach bądź samodzielnie bądź w połączeniu z innymi składnikami i jej uwolnienie połączone jest z zupełnym rozpadem tych łańcuchów. Anderson i Lowe (12) w swych badaniach starali się udowodnić, że śluz zbudowany jest z okresy powtarzających się członów kwasu aldotetronowego zbudowanego z jednej drobinę kwasu galakturonowego, ksylozy, ramnozy i galaktozy. Duże odstępstwa stosunków ilościowych, stwierdzonych analitycznie dla tych składników, w porównaniu z teoretycznie obliczonymi zwłaszcza jeśli chodzi o ksylozę i ramnozę uczeni ci przypisywali niedokładności stosowanych metod analitycznych. W świetle niniejszych badań ilościowa przewaga stechiometryczna ksylozy w ślu-

zie lnu wydaje się być pewna, co oczywiście nie przesądza ewentualnego istnienia kwasu aldotetronowego.

Dalsze badania nad śluzem lnu winny odpowiedzieć definitywnie na pytanie, czy śluz ten jest mieszaniną względnie luźnym połączeniem różnych składników, czy też może być uważany za związek jednorodny chemicznie w sensie jakiegoś spolimeryzowanego aldokwasu. Ostatnie badania Easterby i Jonesa (16) oraz Brody (1) wskazują raczej na pierwszą ewentualność. Obecność w śluzie lnu ksylanu jako samodzielnego składnika jest możliwa z uwagi na zbliżone proporcje ilościowe pomiędzy arabinozą i ksylozą stwierdzone dla śluzu lnu i różnych ksylanów.

Galaktoza jest trzecim z kolei cukrem pojawiającym się podczas hydrolizy śluzu. Obecność jej stwierdzono analitycznie dopiero po 3 godz. trwania hydrolizy. Od tej chwili jednak stężenie tego cukru wzrasta szybko, by po około 20 godz. osiągnąć maksimum. Maksimum to, podobnie jak i ksylozy, zbiega się w czasie ze spadkiem lepkości hydrolizatu do poziomu wody, co pozwala sądzić, że obydwa te cukry są głównymi składnikami łańcuchów odpowiedzialnych za wysoką lepkość śluzu. Godny podkreślenia jest fakt, że galaktoza występująca w śluzie lnu jest rzadką postacią lewoskrętną, odkrytą poza lnem w dwu tylko innych surowcach roślinnych na świecie (9).

Naciekawsze uwagi zanotowano odnośnie ramnozy pojawiającej się wśród produktów hydrolizy najpóźniej, bo po 12 godzinach ogrzewania. Ramnoza pojawia się równocześnie z kwasem galakturonowym, który znajdujemy obok tego cukru po hydrolizie trwającej nawet 170 godzin. Związki te pochodzą z rozpadu kwasu aldobionowego opisanego i szczegółowo zbadanego przez Andersona, Tipsona i innych (8, 9, 10, 12). Kwas aldobionowy występujący w śluzie lnu jest związkiem stosunkowo trwałym i z wykresu można wnioskować, że po hydrolizie trwającej 170 godzin jego rozpad jeszcze nie jest zupełny.

Na uwagę zasługuje fakt istnienia kilkugodzinnej przerwy w czasie pomiędzy ukazaniem się w hydrolizacie trzeciego cukru — galaktozy a pojawieniem się czwartego — ramnozy. Fakt ten nie da się pogodzić z założeniem, że łańcuchy śluzu zbudowane są z periodycznie powtarzających się ogniw złożonych z kwasu galakturonowego, ramnozy, galaktozy i ksylozy i że podczas hydrolizy najpierw ulega rozerwaniu połączenie pomiędzy ksylozą i kwasem galakturonowym. Gdyby tak było, wówczas po odszczeniu z takiego kwasu aldotetronowego ksylozy powstałby kwas aldotrionowy, który rozpadałby się dalej na galaktozę i kwas aldobionowy, a ten musiałby natychmiast w chwili powstania ulegać dalszej hydrolizie połączonej z uwolnieniem ramnozy i kwasu galakturonowego. Ramnoza pojawiałaby się wówczas bezpośrednio po

ukazaniu się galaktozy. Ponieważ tak nie jest, można przypuszczać, że w łańcuchach śluzu elementem stale powtarzającym się jest kwas aldobionowy a galaktoza i ewentualnie ksyloza oraz arabinoza występują w łańcuchach bocznych. Wówczas byłoby możliwe przypuszczenie, że po oderwaniu łańcuchów bocznych musi upłynąć pewien czas, zanim łańcuch główny zostanie zdepolimeryzowany do kwasu aldobionowego, a ten z kolei zacznie rozpadać się na ramnozę i kwas galakturonowy. Za takim przypuszczeniem przemawia również fakt pojawienia się ramnozy i kwasu galakturonowego dopiero wtedy, gdy lepkość hydrolizowanego roztworu spadła do około 50% początkowej wartości, co związane być musi z daleko posuniętą depolimeryzacją łańcuchów.

Widoczna na chromatogramach jakościowych (fot. 1), zwłaszcza w późniejszych stadiach hydrolizy, glukoza (ślady) pochodzi prawdopodobnie z rozkładu błonnika, którego obecność w śluzie lnu w ilości 0,5% stwierdził Hilger (6) i Neville (7)

Uzyskane wyniki ilościowe odnośnie składu chemicznego śluzu (tab. 5) chociaż bardzo prawdopodobne, nie uprawniają do jakichkolwiek spekulacji na temat budowy łańcuchów śluzu, dopóki podstawowa kwestia chemicznej jednorodności badanych preparatów pozostaje bez odpowiedzi. Dalsze prace nad śluzem lnu winny dać odpowiedź przede wszystkim na to zasadnicze pytanie.

WNIOSKI

1. Metodą analizy chromatograficznej stwierdzono w hydrolizacie śluzu lnu obecność kwasu galakturonowego, ramnozy, ksylozy, arabinozy, galaktozy i śladów glukozy.

2. Podczas hydrolizy kwasowej śluzu lnu pierwszym pojawiającym się cukrem jest arabinoza, drugim ksyloza, trzecim galaktoza. Ramnoza i kwas galakturonowy pojawiają się dopiero po 12 godz. ogrzewania, przy czym rozpad kwasu aldobionowego po hydrolizie trwającej 170 godz. jeszcze nie został zakończony.

3. Przeprowadzona analiza przebiegu frakcjonowanej hydrolizy śluzu z uwzględnieniem zmian lepkości poszczególnych frakcji uprawnia do przypuszczenia, że śluz lnu tworzą rozgałęzione łańcuchy, zbudowane z okresowo powtarzających się elementów kwasu aldobionowego jako łańcucha głównego oraz łańcuchów bocznych, w których należy przyjąć obecność galaktozy i ewentualnie ksylozy oraz arabinozy.

4. Ksyloza i arabinoza, występujące w śluzie w stechiometrycznym stosunku około 8:1, mogą tworzyć oddzielne łańcuchy ksyłanu luźno połączone z drobinami śluzu kwaśnego.

5. Dokładne badania ilościowe zawartości poszczególnych składników prostych w śluzie lnu nie potwierdzają przypuszczenia Andersona i współpracowników, że śluz jest spolimeryzowanym kwasem aldotetronowym.

6. Przedstawiona metodyka hydrolizy frakcjonowanej w obecności wymienniaczy jonowych ułatwia wgląd w kinetykę tej reakcji a zastosowanie współczynników trwałości hydrolitycznej łącznie z opracowanym sposobem obliczania poprawek na destrukcję monoz umożliwia poprawne obliczanie istotnego składu ilościowego wielocukrów.

7. Następnym etapem w pracach nad budową śluzu lnu winno być rozwiązanie problemu uzyskiwania jednorodnych chemicznie preparatów, posiadających wszystkie cechy śluzu.

PISMIENNICTWO

1. Broda B.: *Acta Pol. Pharm.* 5, 42 (1948).
2. Normann A. G.: *The Biochemistry of Cellulose, the Polyuronides, Lignin*, Oxford (1937).
3. Schmidt E. i in.: *Cellulosechemie* 13, 129 (1932).
4. Mc Cready R. M. i in.: *Ind. and Eng. Chem. Anal. Ed.* 18, 290 (1946).
5. Kertesz Z.: *The Pectic Substances Intersciencen NY* (1951).
6. Hilger A.: *Ber* 36, 3197 (1933).
7. Neville A.: *J. Agr. Sci.* 5, 113 (1913).
8. Anderson E., Crowder J. A.: *J. Am. Chem. Soc.* 52, 3711 (1930).
9. Anderson E.: *J. Biol. Chem.* 100, 249 (1933).
10. Tipson R. S. i in.: *J. Biol. Chem.* 128, 609 (1939).
11. Niemann C. i Link K. P.: *J. Biol. Chem.* 104, 205 (1934).
12. Anderson E., Lowe H. J.: *J. Biol. Chem.* 168, 289 (1947).
13. Lefevre K. W.: *Tollens Ber.* 40, 4513 (1907).
14. Browne C. A., Zerban F. W.: *Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis N.Y.* 3-rd ed. 920 (1941).
15. van der Haar.: *Biochem. Ztschr.* 81, 263 (1917).
16. Easterby D. G., Jones J.K.N.: *Nature* 165, 614 (1950).
17. Klingstedt N.: *Ztschr. f. anal. Chem.* 66, 129 (1925).
18. Gierisch N.: *Cellulosechemie* 6, 59, 81 (1925).
19. Kirk P. E.: *Encyclopedia of Chem. Technol.* NY 9, 911 (1952).
20. Glegg R. E., Eidinger D.: *Anal. Chem.* 26, 1365 (1954).
21. Chargaff E. i współprac.: *J. Biol. Chem.* 175, 67 (1948).
22. Horrocks R. H., Manning G. B.: *Lancet* 256, 1042 (1949).
23. Bodamer G., Kunin R.: *Ind. Eng. Chem.* 43, 1082 (1951).
24. Susmann S.: *Ind. Eng. Chem.* 28 1228 (1946).
25. Wadmann W. H.: *J. Chem. Soc.* 3051 (1952).
26. Underwood G. E., Deatherage E.: *Science* 115, 95 (1952).
27. Waksmundzki A., Zagórski K.: *Przem. Chem.* 1 (1957).
28. Blood A. E., Hirst E. L., Jones J.K.N.: *Nature* 160, 86 (1947).
29. Staudinger H.: *Die Hochmolekulären Org. Verbindungen Verlag Springer* 1932.
30. Haworth W. N. i in.: *J. Chem. Soc.* 1917 (1934).
31. Voss W. i in.: *Lieb. Ann.* 534, 135 (1938).

РЕЗЮМЕ

Автором было констатировано, что предыдущие методы исследования количественного состава слизи льна не могли вести к правильным результатам.

С целью исследования количественного состава несхароподобных полисахаридов, автор разработал метод фракционированного гидролиза и микрохимический, колориметрический метод изучения концентрации редуцирующих моносахаридов.

Пользуясь таким методом, получено качественный и количественный образ процесса гидролиза слизи в зависимости от времени гидролиза.

Полученная диаграмма указывает, что максимальные концентрации отдельных моносахаридов в гидролизате достигаются в различное время.

Доказано, что освобожденные моносахариды в условиях гидролиза подвергаются разложению, степень которого различна для отдельных моносахаридов.

Определены коэффициенты прочности для рамнозы, ксилозы, галактозы и арабинозы.

Определение максимальных концентраций моносахаридов и коэффициентов их прочности послужило к установлению правильного количественного состава исследованной слизи.

Измерено, клейкость отдельных фракций гидролизата и пользуясь этим, сделано вывод о строении цепи слизи.

Автором было доказано, что слизь льна может быть смесью или свободным соединением ксилана состоящим из ксилозы и арабинозы в соотношении 8:1, а также соответственной кислой слизи, состоящей из полимеризованной алдобионной кислоты (галактуроно — рамноза) и галактозы.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Verfasser hatte die bisherigen Ergebnisse der Erforschung der quantitativen Zusammensetzung des Leinsammenschleimes diskutiert und angewiesen, dass die, zu diesen Untersuchungen angewandte Methoden keine richtigen Resultate erbringen konnten.

Zum Zwecke der quantitativen Analyse der Polysaccharide wurde die Methode der fraktionierten Hydrolyse, sowie eine kolorimetrische mikrochemische Bestimmungsmethode für reduzierende Monozucker

bearbeitet. Mit Hilfe dieser Methoden lies sich der Verlauf der Hydrolyse des Schleimes qualitativ und quantitativ verfolgen.

Aus den erhaltenen Zahlen ergibt sich, dass die Konzentrationen der einzelnen Monosen im Hydrolysate zu verschiedenen Zeiten ihre maximalen Werte erreichen.

Es wurde festgestellt, dass die abgespalteten Monosen während der Hydrolyse eine Zersetzung erleiden, und der Grad dieser Zersetzung für jede Monose spezifisch ist. Die Beständigkeitsfaktoren der Monosen wurden definiert und experimentäl für Rhamnose, Xylose, Galaktose und Arabinose bestimmt.

Aus den, an einzelnen Fraktionen des Hydrolysates, durchgeführten Viskosität-Bestimmungen liessen sich weitgehende Schlüsse über den Kettenaufbau der Schleimmoleküle ziehen.

In Anbetracht der erhaltenen Resultate wäre die Annahme gerechtfertigt, dass der Leinsammenschleim ein Gemisch oder lose Verbindung von wenigstens zwei Komponenten ist. Als die eine Komponente könnte man Xylan annehmen (Xylose : Arabinose = 8 : 1) während die zweite, der eigentliche saure Schleim, aus einer Verbindung von polymerisierter Aldobionsäure (Galakturono-Rhamnose) mit Galaktose bu bestehen scheint.