

ŠTÚDIUM HARDEN—YOUNGOVHO EFEKTU (V) ČISTENIE BÁRNATEJ SOLI DIFOSFOREČNÉHO ESTERU FRUKTÓZY

A. VOJTKOVÁ-LEPŠÍKOVÁ, A. KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ

ČSAV, Mikrobiologické laboratórium Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied
v Bratislave

Pripravená bárnatá soľ difosforečného esteru fruktózy podľa spôsobu, aký sme opísali v predchádzajúcej práci [1], býva znečistená ešte soľami iných fosforylovaných esterov cukrov a anorganickým fosforečnanom. Preto ďalšej úprave musí predchádzať čistenie získanej surovej bárnatej soli. V literatúre sa uvádza niekoľko spôsobov, ktoré všetky využívajú rozpustnosť tejto soli v kyslom prostredí [2—4]. Preskúšali sme tri spôsoby čistenia surovej bárnatej soli a hodnotili sme preparáty podľa ich čistoty a výťažku.

Experimentálna časť

1. Prvý spôsob čistenia podľa P. N. Meškovej a S. E. Severina

5 g surovej bárnatej soli sme rozpustili v 5 ml vody a 25 ml *N*-HCl. Dobre sme premiešali a pridali sme 10 % roztok Na_2SO_4 až do úplnej sedimentácie Ba^{2+} , načo sme zrazeninu odfiltrovali. Pre odstránenie anorganicky viazaného fosforu sme filtrát neutralizovali 5 *N*-NaOH za použitia metyloranže ako indikátora. Potom sme pridali 2 ml 25 % roztoku amoniaku a 10 ml horúcej zmesi (100 g MgCl_2 a 200 g NH_4Cl sa rozpustí v 1 litri vody a pridá sa NH_4OH , až ho silne cítiť). Všetko sme dobre premiešali a po 40 minútovom stáťi odfiltrovali. Do filtrátu sme pridali 25 ml *N*-HCl a 10 ml 10 % roztoku octanu bárnateho, niekoľko kvapiek fenolftaleínu a lúhu až do slabo ružového zafarbenia. Za stáleho miešania sme pridávali 2/3 objemu etanolu a vzniknutú zrazeninu sme po odsatí vysušili vo vákuovom exsíkátore nad kyslíčnikom fosforečným.

2. Druhý spôsob čistenia podľa R. Robisona a M. G. MacFarlana

Surovú bárnatú soľ sme rozpustili v päťnásobnom množstve vody a pH sme upravili na 4,0 kyselinou soľnou. Nerozpustnú zrazeninu sme odfiltrovali a do číreho filtrátu sme za stáleho miešania pridali 1/4 objemu 96 % etanolu. Vzniknutú zrazeninu sme odhodili. Do filtrátu sme pridali trojnásobné množstvo 96 % etanolu. Po filtrácii odsatím sme dostali zrazeninu, ktorú sme vo vákuovom exsíkátore vysušili nad kyslíčnikom fosforečným. Túto procedúru čistenia sme opakovali ešte raz.

3. Tretí spôsob čistenia podľa vlastnej úpravy

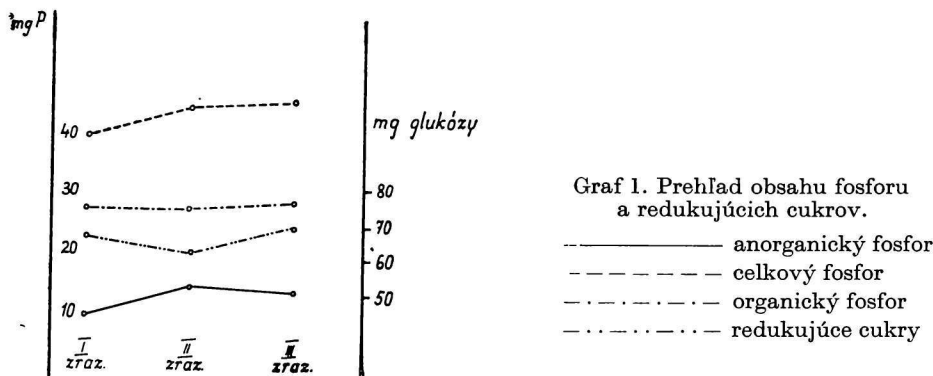
Surovú bárnatú soľ fosforylovanej fruktózy sme rozpustili v päťnásobnom množstve vody a pH sme upravili *N*-HCl na 4,0. Po dokonalom premiešavaní za chladna, keď je táto bárnatá soľ lepšie rozpustná, nerozpustenú zrazeninu sme odstránili filtráciou a do filtrátu sme pridali dvojnásobné množstvo 96 % etanolu. Vzniknutú zrazeninu sme odfiltrovali a vo vákuovom exsíkátore vysušili nad kyslíčnikom fosforečným. Celú procedúru sme opakovali trikrát. Po vysušení sme zrazeninu analyzovali.

4. Rozbor zrazenín

Celkový, anorganický a organický fosfor sme stanovovali ako v predchádzajúcich prácach [5—7] a fruktózu podľa metódy uvádzanej J. Heyrovským [8] kyselinou β -indolyloctovou kolorimetricky.

5. Prehľad obsahu fosforu a redukujúcich cukrov

Pomer jednotlivých frakcií fosforu, ako aj obsah redukujúcich cukrov je najpriaznivejší v zrazenine III (pozri graf 1).



Graf 1. Prehľad obsahu fosforu a redukujúcich cukrov.
 ————— anorganický fosfor
 - - - - - celkový fosfor
 ········· organický fosfor
 ·········· redukujúce cukry

6. Výťažnosť

Pri rovnakých pôvodných návažkách sme zistili, že po prvom čistení sa pri treťom spôsobe získa 35,75 % vyčistenej zrazeniny, zatiaľ čo pri druhom spôsobe za týchto podmienok odpadá 17,22 % zrazeniny na predzrážanie alkoholom a ostáva vlastne len 16,50 %. Dovedna obidve frakcie tvoria 33,75 %, čo sa vlastne približne rovná množstvu zrazeniny získanému pri treťom spôsobe čistenia. Prvý spôsob sa nám javil nevyhovujúci, pretože zrazenina mala viac prímiesi, ktoré ju pre biologické použitie znehodocovali.

7. Dôkladnejší rozbor druhého spôsobu čistenia

Vzhľadom na to, že výťažky pri čistení zodpovedajú len od 9,7 % do 16,6 %, rozhodli sme sa podrobnejšie preskúmať druhý spôsob čistenia, pri ktorom za prvého zrážania alkoholom odpadá väčšie množstvo zrazeniny, než tvorí vlastnú zrazeninu, ktorú pokladáme za čistú bárnatú soľ.

Tabuľka 1

Obsah rôzne viazaného fosforu v 500 mg zrazeniny

Zrazenina	I	II	
		I. (predzrážanie)	2. (vlastné zrážanie)
anorganicky viazaný fosfor	70 mg	56 mg	62 mg
celkový fosfor	174 mg	132 mg	174 mg
organicky viazaný fosfor	104 mg	66 mg	112 mg

Табулка 2
Obsah fruktózy v 500 mg zrazeniny

Zrazenina	I	II	
	126 mg	1. (predzrážanie) 100,8 mg	2. (vlastné zrážanie) 123,12 mg

Predovšetkým sme zistili, že pri predzrážaní alkoholom odpadá vlastne kvalitná zrazenina, ktorej obsah fruktózy a organicky viazaného fosforu sa dosť blíži k teoreticky vypočítaným hodnotám pre čistú bárnatú soľ. Ako znečisteninu vo všetkých zrazeninách nachádzame ešte stopy anorganicky viazaného fosforu, ktorý sa vo forme fosforečnanu pravdepodobne odštiepuje počas procesu. Čistenie sme robili ďalej aj do druhého stupňa, čím sa hodnoty získané pre obsah fruktózy priblížili viacej teoretickým výpočtom. V dôsledku toho sme sa rozhodli pre tretí spôsob čistenia bárnatej soli s tým, že čistenie sme uskutočňovali do troch až štyroch stupňov.

Сúhrn

Na čistenie surovej bárnatej soli difosforečného esteru fruktózy sa najlepšie osvedčil opísaný tretí spôsob čistenia, pri ktorom sa využila rozpustnosť tejto soli v slabo kyslom prostredí o presne stanovenom pH na 4,0 a zrážalo sa dvojnásobným objemom 96 % etanolu.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТА Гарден—Янга (V) ОЧИСТКА СОЛИ БАРИЯ ДИФОСФОРНОГО ЭФИРА ФРУКТОЗЫ

А. ВОЙТКОВА-ЛЕПШИКОВА, А. КОКОВА-КРАТОХВИЛОВА
ЧСАН, Микробиологическая лаборатория Химического института
Словацкой академии наук в Братиславе

Выводы

Для очистки соли бария дифосфорного эфира фруктозы является наилучшим третий способ очистки, при котором используется растворимость этой соли в слабо кислой среде с точно установленным pH на 4,0 и осаждением двойным объемом 96 % этанола.

Поступило в редакцию 7. 1. 1961 г.

STUDIUM DES HARDEN—YOUNG-EFFEKTS (V)
REINIGUNG DES BARIUMSALZES
DES DIPHOSPHORSÄUREESTERS DER FRUCTOSE

A. VOJTKOVÁ-LEPŠÍKOVÁ, A. KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ

ČSAV, Mikrobiologisches Laboratorium des Chemischen Instituts an der Slowakischen Akademie der Wissenschaften in Bratislava

Zusammenfassung

Für das Reinigen des rohen Bariumsulfates des Diphosphorsäureesters der Fructose hat sich am besten das beschriebene dritte Reinigungsverfahren unter Ausnutzung der Löslichkeit dieses Salzes in einem schwachsauren und genau auf den pH-Wert von 4,0 eingestellten Milieu und durch Ausfällung mittels des doppelten Volumens 96 %-igen Äthanol bewährt.

In die Redaktion eingelangt den 7. 1. 1961

LITERATÚRA

1. Gebauerová A., Tomášek K., Chem. zvesti 11, 562 (1957). — 2. Meškova P. N., Severin S. E., *Praktikum po biochemii životnych*, Moskva 1950. — 3. Stepanenko N. B., Biochimija 22, 1018 (1957). — 4. Robison R., MacFarlane M. G., *Methoden der Fermentforschung*, Leipzig 1941. — 5. Kocková-Kratochvílová A., Gebauerová A., Čsl. mikrobiol. 1, 247 (1956). — 6. Kocková-Kratochvílová A., Gebauerová A., Tomášek K., Brauwissenschaft 10, 133 (1957). — 7. Kocková-Kratochvílová A., Gebauerová A., Tomášek K., Brauwissenschaft 10, 156 (1957). — 8. Heyrovský J., Chem. listy 50, 1593 (1956).

Do redakcie došlo 7. 1. 1961

Adresa autoriek:

PhMr. Anna Vojtková-Lepšíková, RNDr. Anna Kocková-Kratochvílová, Bratislava, Szabóova 15, Mikrobiologické laboratórium Chemického ústavu SAV.