

Morfologické štúdium tvorby mednatého komplexu s polysacharidmi bukových hemicelulóz rozpustnými vo vode

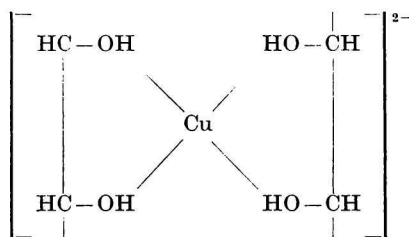
J. RAK

*Chemický ústav Slovenskej akadémie vied,
Bratislava*

Študovala sa morfológia mednatého komplexu s polysacharidmi bukových hemicelulóz pomocou elektrónového mikroskopu. Popri morfologických údajoch o komplexe sa zisťovali niektoré podmienky jeho tvorby, ku ktorej dochádza pri nízkych vodných i lúhových koncentráciách s časťou polysacharidov zrážaním Fehlingovým roztokom (I + II). Pozornosť sa venovala aj tvorbe hydroxidu mednatého v lúhových roztokoch polysacharidov, zrážaných síranom mednatým.

Pri štúdiu štruktúry hemicelulóz, izolovaných z drevnej hmoty, treba vychádzať pokiaľ možno z izolovaných frakcií alebo skupín látok. Jedným z používaných postupov na ich oddelenie je frakčné zrážanie, založené na tvorbe mednatého komplexu [1—7].

Problémom tvorby vo vode nerozpustných mednatých komplexov s mnohými polysacharidmi rastlinného pôvodu, rozpustnými vo vode, podrobne sa zaoberali H. Deuel a H. Neukom [8]. Podľa A. Frey — Wysslinga [9], ktorý tejto otázke takisto venuje pozornosť, ide pri hemicelulózach o xylány a manány, ktoré tvoria s medou komplexy nerozpustné vo vode. Podľa neho spočíva zrážanie s koordinačne štvorväzbovým iónom na tvorbe tzv. bisdiolového komplexu:



v ktorom sú spolu spojené susedné polyosové reťazce. R. E. Reeves [10—14] venova pozornosť vytváraniu mednatého komplexu pri sacharidoch v súvislosti so štúdiom špeciálnych otázok konformácie pyranóz, ako je napríklad sledovanie zmien hodnôt špecifických rotácií opticky aktívnych látok v amoniakálnom roztoku hydroxidu mednatého. Z týchto jeho štúdií okrem iného vyplýva [10], že jedine *cis*-1,2-glykoly vytvárajú z amoniakálneho roztoku hydroxidu mednatého mednatý komplex. Z tohto poznatku zrejme dedukujú H. Deuel a H. Neukom [8], ako uvádza Frey — Wyssling [9], že pre tvorbu uvedeného komplexu musia pri polysacharidoch rozpustných vo vode vykazovať dva susedné hydroxyly pyranového kruhu *cis*-polohu, ako je to v prípade monoméru manánu a galaktánu. Preto sa tiež predpokladá [9], že za zrážanie tohto

komplexu sú pri xylánoch zodpovedné koncové skupiny reťazca, ktoré sa môžu vyskytovať buď ako arabofuranóza, alebo ako α -xylóza. Je však otázne, do akej miery sa uplatní konfiguračné usporiadanie reťazcov polysacharidov a za akých reakčných podmienok sa komplex vôbec vytvorí.

Vznik vo vode nerozpustného mednatého komplexu s polysacharidickými látkami predpokladá prítomnosť Cu^{II} vo forme komplexného rozpustného aniónu. K vzniku rozpustného aniónu z hydroxidu mednatého môže dôjsť pomocou organických hydroxykyselín alebo ich solí, ako je to v prostredí Fehlingovho roztoku (I + II) pomocou vínanu sodno-draselného. Okrem týchto látok má vplyv na rozpustnosť $\text{Cu}(\text{OH})_2$ celý rad iných zlúčenín, napríklad aj sacharidy, ktorým v tomto ohľade venoval pozornosť M. I. Archipov [15]. Keďže mechanizmus podporujúceho účinku rozpúšťania $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nebol vysvetlený, možno pripustiť otázku, či niektoré z polysacharidov (v našom prípade z bukových hemicelulóz) nemajú tento rozpúšťací účinok. Pripustenie spomínaného účinku by potom dovoľovalo predpokladať následnú tvorbu mednatého komplexu. Tejto otázke tiež venujeme pozornosť v experimentálnej časti.

Ako vidieť, ďalšie podrobné rozpracovanie otázky vzniku mednatého komplexu môže priniesť nové poznatky aj o štruktúre polysacharidov. Z rozsiahlej problematiky, ktorá sa v tomto smere črtá, pristúpili sme k overeniu niektorých podmienok tvorby mednatého komplexu pri polysacharidoch bukových hemicelulóz rozpustných vo vode a k morfológickému štúdiu komplexu za použitia elektrónovej mikroskopie. To je cieľom práce.

Experimentálna časť

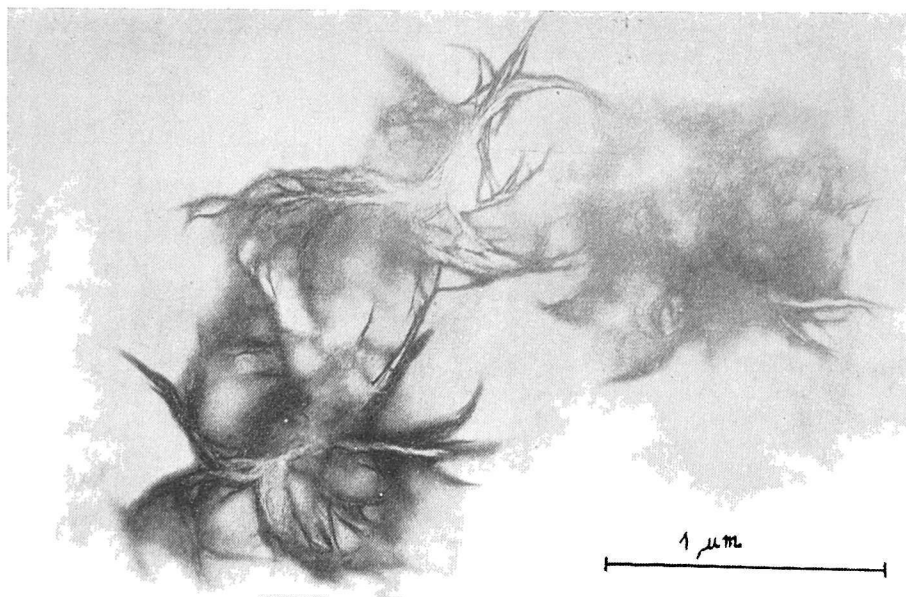
Na pokusy sa použili hemicelulózy izolované z drevnej hmoty bukovkej beli (extrahovanej zmesou alkohol–benzén 1 l) vylúhovaním 5 % NaOH za studena; premytím produktu horúcou vodou na frite S-3 oddelený filtrát sa neutralizoval a okyslil sa ladvou kyselinou octovou na pH 6. Zrážalo sa päťnásobným nadbytkom etanolu, zrazenina sa oddelila na frite a po premytí éterom sa vysušila za vákuu pri 45 °C.

Pomocou 1 N-NaOH sa pripravili roztoky hemicelulóz o koncentracií 0,1; 0,05; 0,02; 0,01 a 0,005 %. Z rovnakej vzorky hemicelulóz sa pripravil ten istý koncentračný rad rozpustením hemicelulóz vo vode za zvýšenej teploty pri 75–80 °C. Tieto roztoky sa vystavili odstredivej sile do 1600 g, pri ktorej nedochádzalo k oddelovaniu tuhej zložky. Zo všetkých pripravených roztokov hemicelulóz sa zrážal mednatý komplex pomalým prikvapávaním Fehlingovho roztoku (I + II) v objemovom pomere 1 : 1 za stáleho miešania osobitne s vodnými a osobitne s lúhovými roztokmi hemicelulóz. Po jednodinovom státi sa zrazenina premyla 40 % etanolom až do negatívnej reakcie na voľné mednaté ióny v eluáte a jemne sa dispergovala v 40 % etanole vo vibračnej trepačke. Z tejto suspenzie sa na uhlíkovej blane zhotovili elektrónovomikroskopické preparáty, ktoré sa nijakým spôsobom nekонтastovali. Suspendujúca kvapalina sa odstránila za laboratórnej teploty a atmosférického tlaku. Ako kontrolný pokus sa urobilo zrážanie

roztoku hemicelulóz všetkých koncentrácií roztokom síranu meďnatého (Fehlingov roztok I). Postup pri zrážaní a premývaní a jeho kontrola boli obdobné. Zrazenina z lúhových roztokov bukových hemicelulóz sa suspendovala v 96 % etanole a bežným spôsobom sa z nej pripravili elektrónovomikroskopické preparáty. Za rovnakých podmienok sa zrážal hydroxid meďnatý pôsobením 1 N-NaOH na síran meďnatý, ale za neprítomnosti hemicelulóz. Premytie zrazeniny a jeho kontrola, suspendovanie a príprava preparátov boli obdobné ako predtým. Mikroskopovalo sa na elektrónovom mikroskope Tesla BS 242 s rozlišovacou schopnosťou, vyjadrenou medzou rozlíšenia 20–25 Å.

Výsledky a diskusia

Elektrónovomikroskopickým pozorovaním meďnatého komplexu, získaného v obidvoch koncentračných radoch (v lúhu i vo vode) zrážaním Fehlingovým roztokom (I + II), sa zistilo, že v uvedenom koncentračnom rozmedzí sa tvoria zhluky meďnatého komplexu rovnakého morfológického vzhľadu. Zásadne možno pozorovať, že tento vo vode nerozpustný komplex sa tvorí len s niektorými polysacharidmi bukových hemicelulóz, zatiaľ čo ostatné polysacharidy, ktoré sa na komplexe nepodieľajú, môžu sa na ňom len zachytávať (difúzny obraz — obr. 1). Tvorba komplexu dovoľuje použiť uvedený postup na odde-



Obr. 1. Morfológický obraz zhlukov meďnatého komplexu, ktorý sa vytvoril s časťou polysacharidov bukových hemicelulóz zrážaním Fehlingovým roztokom (I + II). Ostatné hemicelulózy, ktoré komplex netvoria, vytvárajú na snímke amorfný obraz. Preparát netienený. Orig. EM foto.

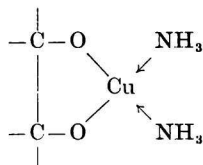
lenie hemicelulóz. Polysacharidy, ktoré komplex netvorí, odstránia sa tak, že sa z reakčného prostredia oddelí nadbytočný Fehlingov roztok odstredením, po premytí zrazeniny 40 % etanolom sa rozpustia hemicelulózy vo vode za studena a centrifugáciou pri 1600 *g* sa oddelí mednatý komplex z kvapalného prostredia. Morfologický obraz zhlukov mednatého komplexu sa javí ako astroidálne bohato členené útvary, vzájomne na seba nadväzujúce (obr. 1), ktoré majú jednoduchú alebo dvojité líniu, prechádzajúcu stredom každej vetvy. Difúzny plášť jednotlivých vetiev (šípka na obr. 2—3) je tvorený zrejme z polysacharidických reťazcov, viazaných v komplexe. Pri menších časticiach zhlukov komplexu (obr. 2—3) sa zistilo, že vetvy majú šírku približne 200—350 Å. Použitie dostupného elektrónového mikroskopu o pomerne malej rozlišovacej schopnosti (20—25 Å) dovolilo len tento zbežný morfológický opis, ktorý nemôže prispieť k riešeniu štruktúry vlastného mednatého komplexu. V tejto oblasti sa preto vyskytuje možnosť ďalšieho výskumu.

V pokusoch H. Deuela a H. Neukoma [8] sa zistila tvorba mednatého komplexu zrážaním Fehlingovým roztokom (I + II) pri manáne z *Orchis morio* a pri galaktomanáne z *Ceratonía siliqua* a *Gleditschia triacantus*.

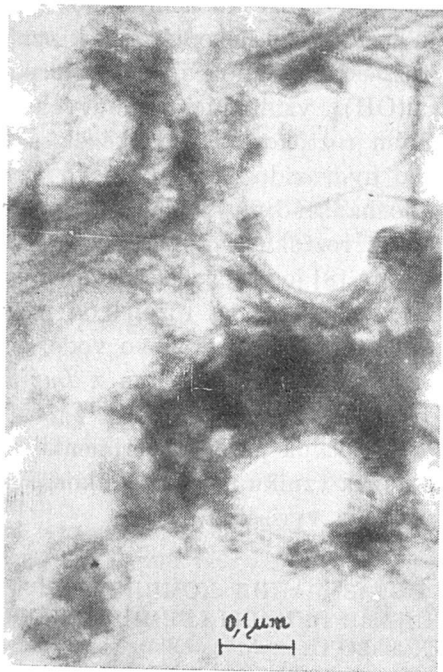


Obr. 2—3. Menšie častice zhlukov mednatého komplexu, zrážaného Fehlingovým roztokom (I + II), s polysacharidmi bukových hemicelulóz. Centrálne tmavšia časť je obklopená svetlejším difúznym plášťom (šípky). Preparát netienený. Orig. EM foto.

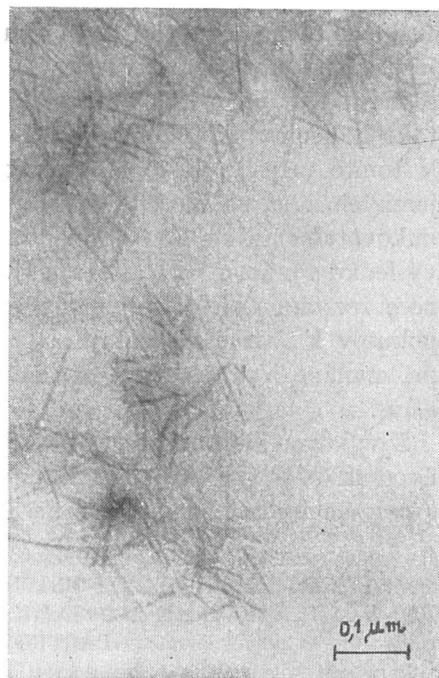
Keď sme v našich pokusoch skúšali zrážať pomocou Cuoxamu, k tvorbe meďnatého komplexu pri roztokoch bukových hemicelulóz nedošlo, podobne ako to zistili autori [8] pri všetkých skúšaných vo vode rozpustných polysacharidoch. H. Deuel a H. Neukom predpokladajú, že sa s polysacharidmi pravdepodobne vytvára meďnatý monodiolový komplex, ktorý je vo vode rozpustný:



Na preverenie otázky o možnom podporujúcom účinku niektorých polysacharidov z bukových hemicelulóz na rozpúšťanie $\text{Cu}(\text{OH})_2$ s následnou



Obr. 4. Bukové hemicelulózy, zachytené na koloidnom povrchu $\text{Cu}(\text{OH})_2$ (ihlicovité útvary). Preparát sa pripravil zrážaním lúhového roztoku bukových hemicelulóz vodným roztokom síranu meďnatého (Fehlingov roztok I). Preparát netienený. Orig. EM foto.



Obr. 5. Morfológický obraz hydroxidu meďnatého, získaného zrážaním hydroxidu sodného síranom meďnatým. Preparát netienený. Orig. EM foto.

tvorbou mednatého komplexu nerozpustného vo vode sa urobili ďalšie pokusy, pri ktorých sa vodný roztok bukových hemicelulóz zrážal Fehlingovým roztokom I (vodný roztok CuSO_4). Pritom sa ukázalo, že sa mednatý komplex netvorí. V paralelných skúškach zrážania Fehlingovým roztokom I z lúhového roztoku hemicelulóz vznikla zrazenina, v podstate koloidný $\text{Cu}(\text{OH})_2$, na ktorého veľkom povrchu sa zachytávali bukové hemicelulózy (obr. 4). Hydroxid mednatý v tomto prípade tvorí rovné tenké ihlice, zatiaľ čo polysacharidy bukových hemicelulóz vidieť ako amorfné zhluky. Na dôkaz toho, že ihlicovité častice na týchto preparátoch (obr. 4) sú v podstate len $\text{Cu}(\text{OH})_2$ a že sa na vzniku ihlíc nepodieľajú polysacharidy hemicelulóz, pripravil sa hydroxid mednatý zrážaním 1 N-NaOH Fehlingovým roztokom I za rovnakých podmienok preparácie ako v predchádzajúcich pokusoch, lenže bez bukových hemicelulóz. Takto získaný morfológický obraz samotného $\text{Cu}(\text{OH})_2$ (obr. 5), ako je zrejmé z porovnania, je totožný s morfológickým obrazom ihlíc na obr. 4. Ihlice majú hrúbku približne 25—30 Å. Zrážanie roztoku hemicelulóz (či už vodného alebo lúhového) pomocou síranu mednatého nevedie teda k vzniku mednatého komplexu. Predpokladaný rozpúšťací účinok niektorých polysacharidov z bukových hemicelulóz na $\text{Cu}(\text{OH})_2$, vznikajúci v lúhových roztokoch hemicelulóz, zrážaných Fehlingovým roztokom I, nedokázal sa tu. V tomto prípade ide o tvorbu koloidného hydroxidu mednatého vo forme jemných ihlíc, na ktorého povrchu môže dochádzať k hromadeniu a nereprodukovateľnému strhávaní polysacharidov z roztoku. Na porovnaní tohto výsledku s prácou H. Deuela a H. Neukoma [8] je pozoruhodné, že vo vodnom roztoku CuSO_4 (Fehlingov roztok I) dochádzalo na rozdiel od našich pokusov k tvorbe zrazeniny pri polysacharidoch rozpustných vo vode, a to pri manáne izolovanom z kvasiniek a pri galaktáne izolovanom z *Lupinus albus*.

Z vykonaných pokusov vidieť, že tento príspevok je len experimentálnym úvodom do širokej problematiky, pretože otázka vzniku mednatého komplexu s polysacharidmi hemicelulóz nie je ani zďaleka vyriešená.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСА ДВУХВАЛЕНТНОЙ МЕДИ С ПОЛИСАХАРИДАМИ БУКОВЫХ ГЕМИЦЕЛЛЮЛОЗ РАСТВОРИМЫХ В ВОДЕ

Я. Рак

Химический институт Словацкой академии наук,
Братислава

Цель работы состояла в получении некоторых данных о осаждении полисахаридов буковых гемицеллюлоз в виде комплекса с двухвалентной медью и в изучении его морфологических свойств с помощью электронного микроскопа.

Было определено, что образование в воде нерастворимого медного комплекса

происходит как в водных, так и в щелочных растворах в интервале испытываемых концентраций от 0,1 до 0,005 %. Комплекс, полученный осаждением в объемных соотношениях 1 : 1 раствором Фелинга (I + II) показал на основании наблюдений с помощью электронного микроскопа одинаковую морфологическую картину агрегатов комплекса независимо от того, были ли буковые гемицеллюлозы получены растворением в воде при повышенной температуре, или на холоду в 1 н-NaOH.

Медный комплекс образует астроидально расчлененные, вилообразные разветвленные агрегаты. Меньшие частицы агрегатов имеют также разветвленную форму, у которых центральная более темная часть окружена светлой оболочкой с толщиной приблизительно 200—350 Å. Полисахариды из буковых гемицеллюлоз, которые, по-видимому, не образуют комплекса, накопились на агрегатах комплекса и можно их от комплекса отделить.

Буковые гемицеллюлозы, растворенные в воде при повышенной температуре не образуют с раствором сернистой меди (раствор Фелинга I) медный комплекс. При осаждении буковых гемицеллюлоз в щелочном растворе сернистой медью происходит только накопление полисахаридов и их соосаждение на коллоидной поверхности образованной $\text{Cu}(\text{OH})_2$. При одинаковых реакционных условиях образовавшаяся гидроокись меди без присутствия буковых гемицеллюлоз образует также мелкие шлопки, с толщиной приблизительно 25—30 Å, явно отличающихся от морфологической картины агрегата медного комплекса.

Preložil M. Fedoroňko

MORPHOLOGISCHES STUDIUM DER BILDUNG EINES KUPFER(II)-KOMPLEXES MIT DEN IN WASSER LÖSLICHEN POLYSACCHARIDEN DER BUCHENHOLZHEMICELLULOSEN

J. Rak

Chemisches Institut der Slowakischen Akademie der Wissenschaften,
Bratislava

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einige Erkenntnisse über die Fällung der Polysaccharide der Buchenholzemicellulosen in Form des Kupfer(II)-Komplexes zu erhalten, sowie das morphologische Studium dieses Komplexes mit Hilfe des Elektronenmikroskops.

Es wurde festgestellt, daß es zur Bildung des in Wasser unlöslichen Kupfer(II)-Komplexes sowohl bei wäßrigen als auch bei Laugenlösungen im Bereich der untersuchten Konzentrationen von 0,1—0,005 % kommt. Der durch Fällung mit Fehling'scher Lösung (I + II) in Volumverhältnissen 1 : 1 erhaltene Komplex gibt auf Grund der elektronenmikroskopischen Beobachtung das gleiche morphologische Bild von Zusammenballungen des Komplexes, ungeachtet dessen, ob die Buchenholzemicellulosen in Wasser bei erhöhter Temperatur, oder in 1 n-NaOH in der Kälte gelöst wurden.

Der Kupfer(II)-Komplex bildet astroidal gegliederte, gabelförmig verzweigte Zusammenballungen. Kleinere Teilchen der Zusammenballungen des Komplexes sind gleichfalls verzweigte Gebilde, die einen zentralen, dunkleren Teil aufweisen, der von einer hellen diffusen Ummantelung in einer Dicke von 20—35 nm umgeben ist. Jene Polysaccharide aus Buchenholzemicellulosen, die offensichtlich keinen Komplex bilden, erblickt man angehäuft auf den Zusammenballungen des Komplexes und sie sind von diesem Komplex abtrennbar.

Die in Wasser bei erhöhter Temperatur gelösten Buchenholz-hemicellulosen bilden mit einer Lösung von Kupfer(II)-sulfat (Fehlingsche Lösung I) keinen Kupfer(II)-Komplex. Bei Fällung der Buchenholz-hemicellulosen in Laugenlösung mit Kupfer(II)-sulfat kommt es nur zu einer Anhäufung der Polysaccharide und zu deren Mitreißen auf der kolloidalen Oberfläche des gebildeten $\text{Cu}(\text{OH})_2$. Das unter den gleichen Reaktionsbedingungen entstandene Kupfer(II)-hydroxid ohne Anwesenheit von Buchenholz-hemicellulosen bildet ebenso feine, gerade Nadeln mit einer Dicke von annähernd 2,5 bis 3,0 nm, die unverkennbar von dem morphologischen Bild der Zusammenballungen des Kupfer(II)-Komplexes unterschiedlich sind.

Preložil K. Ulbrich

LITERATÚRA

1. Easterby D. G., Jones J. K. N., *Nature* **165**, 614 (1950).
2. Bishop C. T., Adams G. A., Hughes E. O., *J. Chem. Soc.* **1953**, 2332.
3. Amin E. S., *J. Chem. Soc.* **1955**, 281.
4. Erskine J. E., Jones J. K. N., *Can. Chem. J.* **34**, 821 (1956).
5. Adams G. A., *Tappi* **40**, 721 (1957).
6. Timell T. E., Tyminski A., *Tappi* **40**, 519 (1957).
7. Jones J. K. N., Painter T. J., *J. Chem. Soc.* **1959**, 573.
8. Deuel H., Neukom H., *Makromol. Chem.* **4**, 97 (1949).
9. Frey—Wyssling A., *Die pflanzliche Zellwand*, 125. Springer Verlag, Berlin 1959.
10. Reeves R. E., *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 212 (1949).
11. Reeves R. E., *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 215 (1949).
12. Reeves R. E., *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 1737 (1949).
13. Reeves R. E., *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 2116 (1949).
14. Reeves R. E., *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 957 (1951).
15. Archipov M. I., *Ž. prikl. chim.* **21**, 235 (1948).

Do redakcie došlo 8. 11. 1965

V revidovanej podobe 22. 1. 1966

Adresa autora:

Prom. biológ Jaromír Rak, CSc., Chemický ústav SAV, Bratislava, Dúbravská cesta.