

AKADEMIJA ZNANOSTI IN UMETNOSTI V LJUBLJANI
KEMIČNI LABORATORIJ

MAKS SAMEC

KEMIČNE ŠTUDIJE



V LJUBLJANI 1947

AKADEMIJA ZNANOSTI IN UMETNOSTI V LJUBLJANI

KEMIČNI LABORATORIJ

MAKS SAMEC

KEMIČNE ŠTUDIJE



V LJUBLJANI 1947

Soglasno sprejeto na seji razreda za matematične, prirodoslovne,
medicinske in tehnične vede dne 7. novembra 1946

Received November 7, 1946

TISKALA LJUBLJANSKA TISKARNA V LJUBLJANI

VPLIV ZUNANJIH FAKTORJEV NA DELOVANJE ENZIMA BACILLUSA MACERANSA

M. Samec

Kemični laboratorij Akademije znanosti in umetnosti v Ljubljani.

Uvod.

Kristalični Schardingerjevi dekstrini imajo ciklično strukturo. Obroči sestoje iz 5 ali 6 glukoznih ostankov, ki so med seboj povezani z vezmi $\alpha-1-4$. Pri prehodu škroba v take dekstrine mora glukozni lanec najprvo razpasti v 5 ali 6 členske dele, ki se potem sklenejo v obroče. Ta dva procesa potekata tako pod vplivom živečega bacila kakor tudi pod vplivom iz bacila dobljenih enzimskih ekstratov.¹ Dokler smo bili prisiljeni zasledovati te izpremembe v kulturah živečega bacila in smo imeli možnost prijeti le končni produkt: Schardingerjeve dekstrine, ni bilo možnosti, da bi zasledovali posamezno potekajoče procese. Danes, ko znamo izolirati enzimске ekstrate brez bakterij, moremo študirati posamezne faze te zanimive reakcije, in to tako na nerazvejenih amilozah kakor tudi na razvejenih in z elektroliti povezanih molekulah amilopektinov.

I. Eksperimentelni rezultati.

a) Viskoznost.

Predhodni poizkusi so nam pokazali, da je Schardingerjeve dekstrine lažje dobiti iz amiloz kakor iz amilopektina. V tem drugem primeru pač otežkočajo reakcijo amilolizije na točkah razvejenja ($\alpha-1-6$ -vezi). Iz tega razloga smo izvršili pričujoče preiskave na amilozah.

¹ E. B. Tilden in C. S. Hudson Journ Amer. Chem. Soc. **61**, 2900 (1939). K. Freudenberg, E. Schaaf, G. Dumpert in T. Plaetz Naturwiss **27**, 850 (1939). M. Blinc. Arch. f. Mikrobiologie **12**, 183 (1941). Kolloid. Zeitschr. **101**, 126 (1942).

Za njihovo pridobivanje smo kuhali 3 procentni kley krompirjevega škroba $\frac{1}{2}$ ure pri 120°C in odločili amilopektin z elektrodializo. Dobili smo 0,3—0,5 procenten sol, ki je lahko opaken in lahko gibljiv.

Enzim smo dobivali na sledeči način. *Bacillus macerans* je živel na 10 procentni krompirjevi kaši, kateri je bilo primešano nekaj krede 7 dni pri 45°C . Otekočeno kašo smo centrifugirali 20 minut pri 1500—2000 turah v minuti. Izcentrifugirana tekočina je stala 12 ur v hladilniku. Nato smo jo filtrirali skoz de Haenove membrane »feinporig«. Dokler so membrane nove, gre filtracija gladko od rok. Ako trajajo poizkusi le kratek čas, si moremo prihraniti dolgotrajno filtracijo in delati neposredno s centrifugirano tekočino. Izpremembe, ki jih doživljajo škrobove substance pod vplivom enzimskega ekstrakta, potekajo namreč tako hitro, da razmnoževanje bacila in po njem povzročene izpremembe ne prihajajo v poštev.

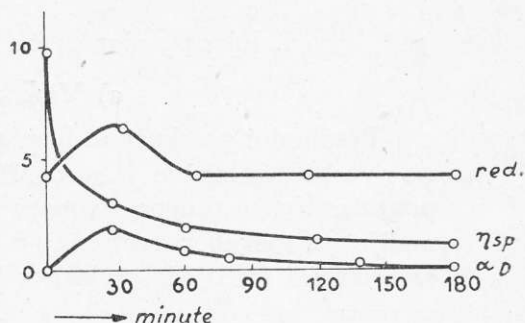
Prve tu opisane poizkuse smo izvršili z enzimskim ekstraktom, ki je bil dobljen iz 7 dni starih kultur. Iz ekstrakta je v 2 dneh izpadla kristalnična oborina, ekstrakt sam je postal nato bister. Izpadli kristalčki so 4stranske prizme. Tekočina daje z jodom rjavordečo barvo.

Pri drugi skupini poizkusov nam je služil enzimski ekstrakt iz 4 dni stare kulture. Ob tem času je kipenje v polnem teku. Razvija se toliko plina, da se veliki deli kaše v zmesi dvigajo. Iz takih zmesi dobljeni ekstrakti dajejo z jodom modrozeleno barvo. Tudi iz te raztopine se izločujejo v nekaj dneh 4stranske prizme.

Enako kakor sta Tilden in Hudson videla pri škrobovih raztopinah, smo tudi mi ugotovili na amilozah izredno hitro in izdatno padanje viskoznosti. V tem oziru je delovanje *macerans*-enzima analogno deksrinogen-amilazam in je zunanji znak za cepitev amilozinih molekul. Kakor pri drugih deksrinogen-amilazah, vidimo tudi pri *macerans*-enzimu, da jodova barva hitro pojema.

Spočetka, ko je padec viskoznosti posebno izrazit, raste redučna zmožnost zmesi, sukanje polarizacijske ravnine pa s početka raste, potem zopet pada (slika 1).

Slika 1. Viskoznost, redukcija in polarizacija pri učinkovanju *macerans*-enzima na amiloze.



100 ccm 0,5 proc. amiloz, 3,8 ccm enzima. $T = 55^{\circ}\text{C}$. Ena črta na ordinatni osi pomeni pri $\eta_{sp} = 0,1$ pri redukciji 0,1 ccm $n/20$ Thiosulfata in pri $\alpha = 0,1^{\circ}$ odčitane ga kota v 20 cm dolgi cevki pri 55°C .

Čudni potek optičnega sukanja moremo razumeti, ako si predstavljamo, da je macerans-amilaza α -enzim. Tako bi nastale razgradnine nastopale v visoko sukajoči obliki. Po nekem času redukcijska zmožnost zopet pade. V tej fazi se vrši sklepanje glukozidnih vezi pod vplivom encima, zaradi česar prvotno nastali produkti z redučno zmožnostjo prehajajo v obročaste molekule, ki nimajo redučne zmožnosti. Takrat pojema tudi optično sukanje. Vzrok za to poslednjo izpremembo leži pač v tem, da prehajajo prvotno nastali produkti, ki imajo visoko sukanje, v produkte ravnomočja ali pa da zaradi prehoda v ciklične molekule izginejo iz raztopine.

Ko pride reakcija do miru, nastopa bel koagulum, ki se hitro useda. Usedlina sestoji iz kroglic, ki se z jodom barvajo modro in ki bi jih najlažje primerjali z »umetnim« škrobom E. Rouxa.

Ako dodamo reakcijski zmesi organska topila, kakor hloroform, trihloretilen, toluol in druge, izpadajo kristalčki dekstrinov.

Pri istočasni meritvi opisanih izprememb lahko zasledujemo posamezne faze enzimskega delovanja in pristopimo k vprašanju: ali sta diastatični in obročetvorni učinek naših ekstraktov dana po enem in istem enzimu ali pa je navzočih več enzimov.

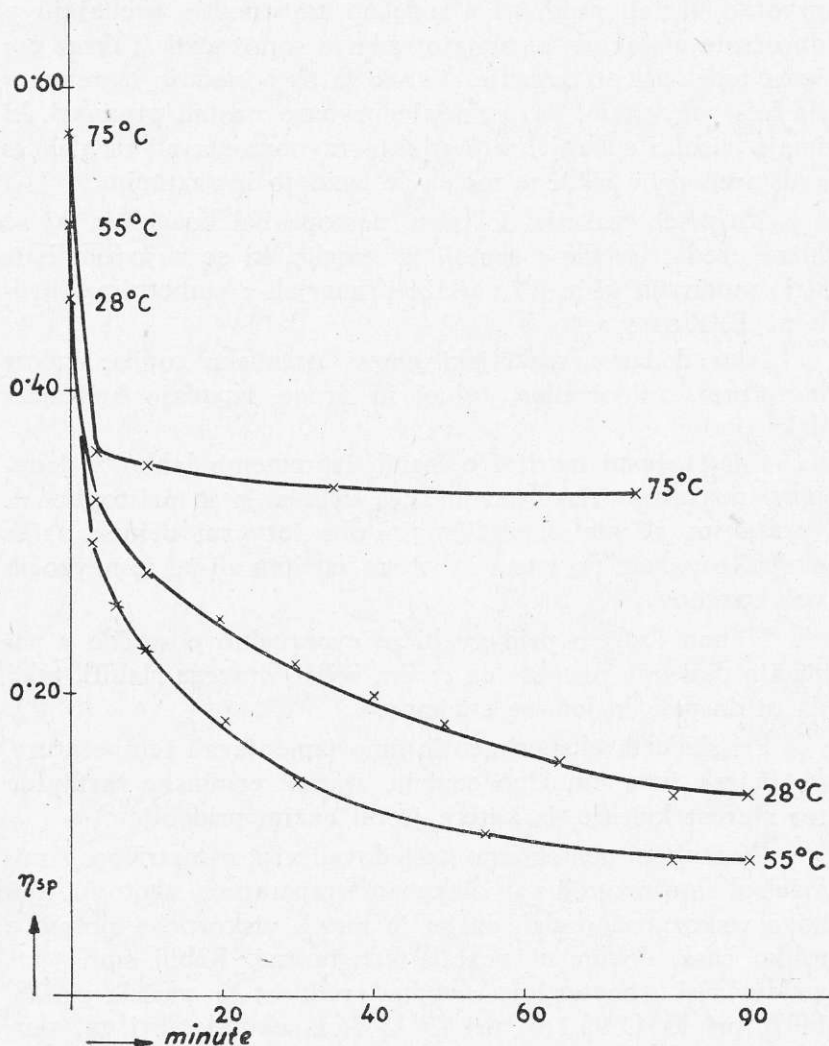
V tem drugem primeru bi se eventualno posrečilo z variacijo delovnih pogojev en encima jačiti, drugega slabiti, tako da bi dospeli do ločitve enzimov.

Pri sledečih eksperimentih smo izmenjavali temperature, P_h in relativno množino encima, starost enzimске raztopine ter starost kulture, iz katere je bil encim pridobljen.

Diastatični učinek smo zasledovali viskozimetrično. Amiloze-sol smo razgrela na poizkusno temperaturo, ugotovili njegovo viskoznost, dodali encim in merili viskoznost mešanice toliko časa, dokler ni postala konstantna. Rabili smo Ostwaldov viskozimeter, čigar vodna vrednost je znašala pri 28° 149,6, pri 55° C 95,2 in pri 75° C 75,1 sekundo. Pri eni skupini poizkusov smo dodali na 100 ccm 0,5 procentnih amiloz 4 ccm, pri drugi 12 ccm enzimске raztopine.

Pri variaciji poizkusnih pogojev je potek viskoznostnih krivulj zelo različen. Iz njih moremo posnemati dve številčni

vrednosti, ki karakterizirata diastatični učinek. To je: 1. procentualni padec viskoznosti ob času, ko se viskoznost več ne izpreminja in 2. čas, po katerem se viskoznost več ne izpreminja.



Slika 2. Hidroliza amiloz pri raznih temperaturah.

100 ccm 0,4 procentni amiloze-sol, 4 ccm enzimskega ekstrakta. Starost kulture 7 dni $P_h = 5,5$.

Procentualna izguba viskoznosti je neposreden izraz razgradnje; čas, ki poteče, dokler ne postane viskoznost konstantna, je pa odvisen od raznih okoliščin. Ta doba utegne biti kratka, ako poteka reakcija zelo hitro, ako je torej enzym zelo učinkovit; je pa tudi kratka, ako doživlja v dotičnem miljeu enzym kako poškodbo, tako da zaostane razkroj zaradi neaktivnosti enzima.

Pri karakterizaciji zunanjih vplivov smo izražali procentualno izgubo viskoznosti na podlagi specifične viskoznosti, to je relativna viskoznost — 1.

V sliki 2 primerjamo potek hidrolize pri raznih temperaturah.

Iz te slike sledijo karakteristična števila, ki jih navajamo v tabeli I.

T a b e l a I.

Vpliv temperature

100 ccm amiloze - sola,* 4 ccm enzym - ekstrakta. Kultura stara 7 dni,
 $P_h = 5,5$.

T°C	η_{sp} amiloz	Konc. amiloz	η_{sp} hidrolizata pri konstanci	Procentualni padec viskoznosti	Do konstance viskoznosti pretekli čas Minute
28°	0,48	0,40	0,13	71,7	90
55°	0,51	0,42	0,09	81,6	70
77°	0,59	0,44	0,26	40,4	30

Lahko je ugotoviti, da je diastatični učinek pri 55° C najjačji. Enzym ostane najdelj učinkovit in viskoznost najbolj pada. Pri 75° C utрпи enzym že v kratkem času škodo. Viskoznost ostane konstantna že po 30 minutah, vendar je specifična viskoznost v tem trenutku še visoka.

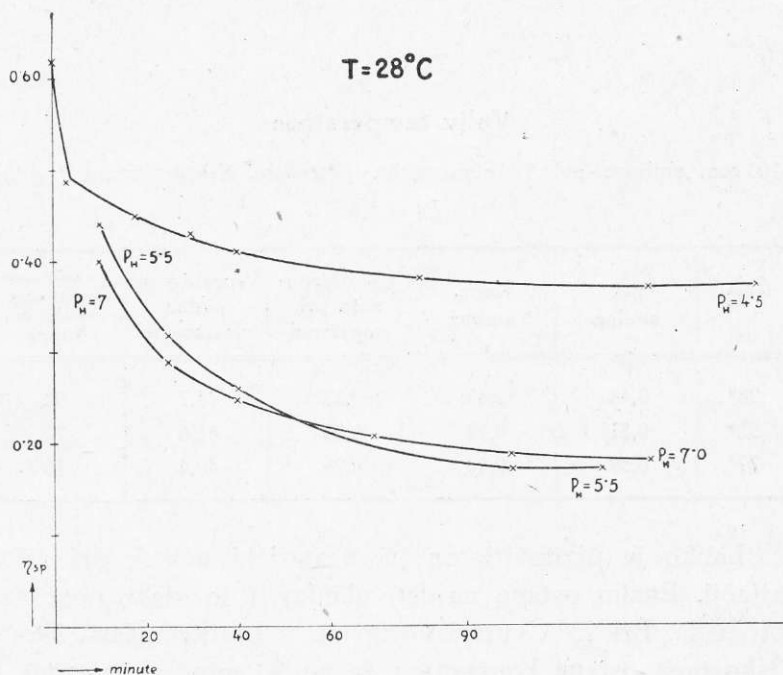
Slike 3 a—c in tabela II omogočajo primerjavo poteka hidrolize pri variaciji temperature in P_h .

Tabela II.

Vpliv P_h .

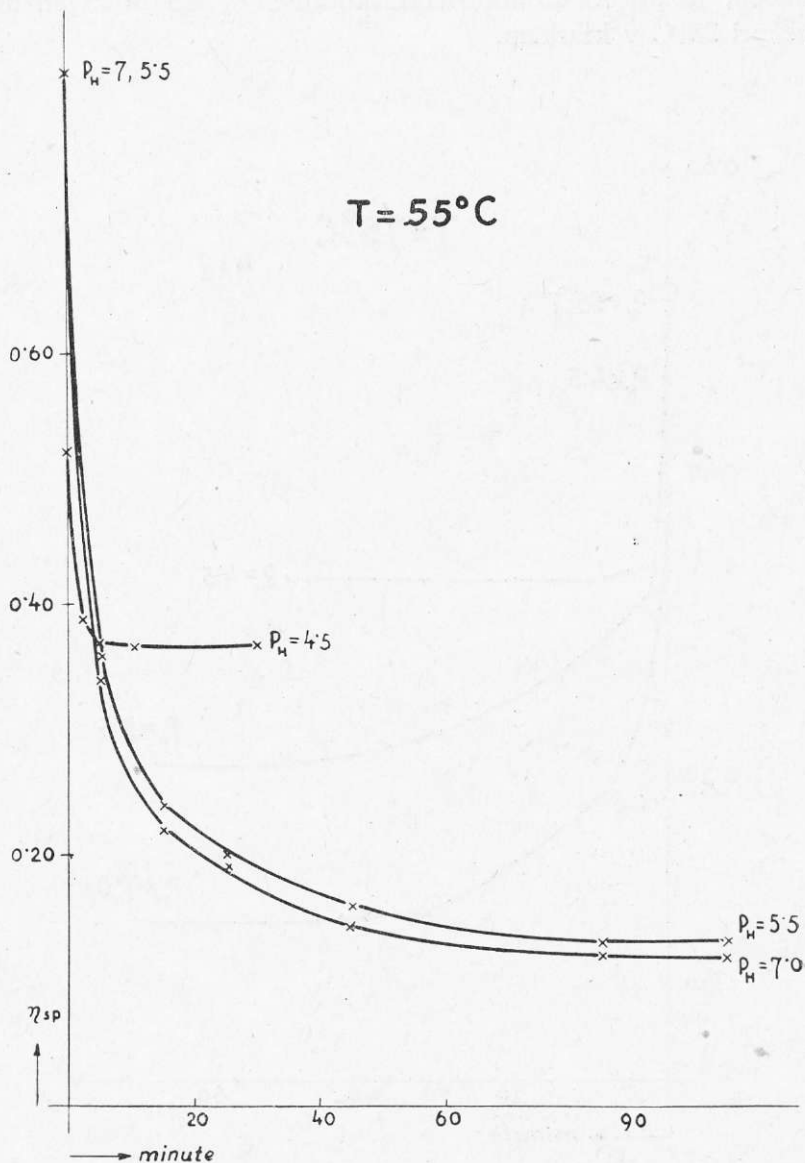
100 ccm amiloze - sola, 4 ccm enzimskega ekstrakta, starost kulture 7 dni.

$T^{\circ}\text{C}$	P_h	Konc. amiloz	η_{sp} amiloz	η_{sp} hidrolizata pri konstanci	Procentualni padec viskoznosti	Do konstante viskoznosti pretekli čas Minute
28°	4,5	0,47	0,65	0,33	46,8	140
	5,5	0,47	0,65	0,17	61,4	110
	7,0	0,47	0,65	0,17	56,0	150
55°	4,5	0,44	0,55	0,38	26,9	10
	5,5	0,44	0,90	0,12	85,5	95
	7,0	0,44	0,90	0,09	89,4	85
75°	4,5	0,48	0,49	0,33	28	10
	5,5	0,42	0,53	0,21	58,8	50
	7,0	0,42	0,53	0,10	80,0	60

Slika 3. Hidroliza amiloz* pri raznih temperaturah in različnem P_h .

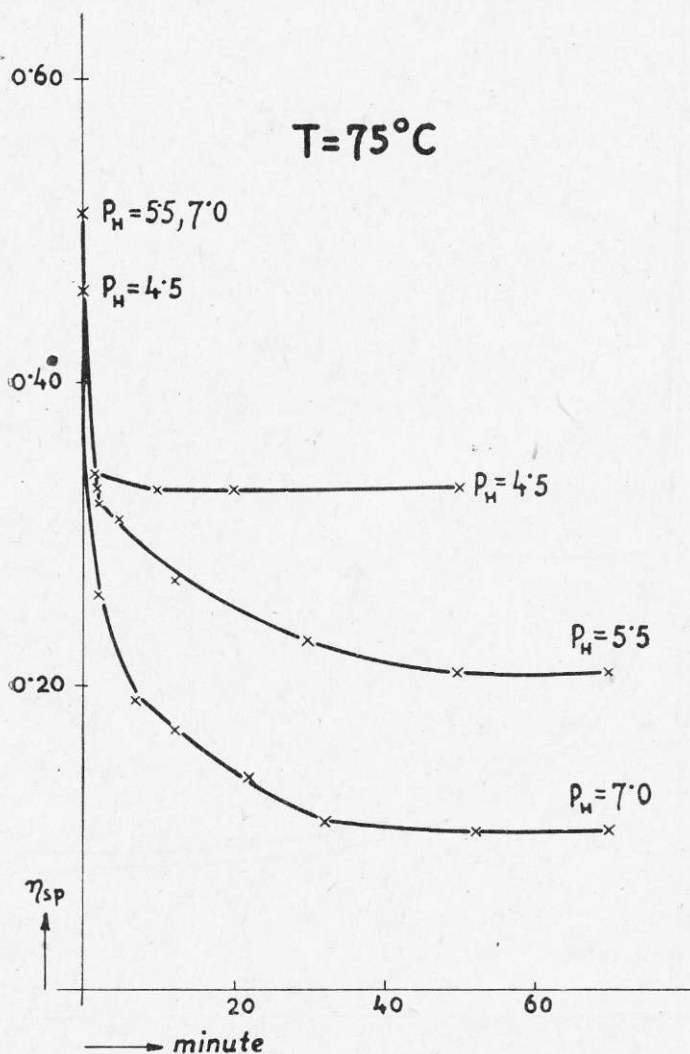
* Ker soli amiloz hitro starajo, smo jih pripravili za posamezne pozikuse vedno znova. Od tod male razlike v koncentraciji in v lastni viskoznosti.

Naravni P_h reakcijskih zmesi leži med 5,5 in 6,5. Pri ekstraktih iz mladih kultur (4 dni), ki smo jih mešali v razmerju 100 ccm amiloze-sola in 4 ccm enzimske raztopine, doseže P_h vrednost 6, pri ekstraktih iz 7 dni starih kultur znaša



Slika 3 a.

P_h 5,5 in ob uporabi večje množine ekstrakta (12 ccm na 100 ccm amiloz) pa 6,5. Pri teh kislostih je diastatični učinek optimalen. Čim višja je temperatura, tem bolj občutljiv je enzim proti kisli reakciji. P_h 5,5, ki je med 28 in 55° C optimalen, je pri 75° C notorično škodljiv. P_h 4,5 uniči enzim že pri 28° C v kratkem.



Slika 3 b.

Do načelno istih rezultatov smo dospeli, ako smo delali z enzimom, ki je bil ekstrahiran iz le 4 dni starih kultur. Zaradi bistvenega soglasja z že navedenimi opazovanji teh meritev ne bomo navajali.

Ako povečamo množino encima na 12 ccm (na 100 ccm amiloze - sola), poteka viskozimetrično opazljiv razkroj amiloz hitreje in temeljiteje, potek reakcije se pa bistveno ne izpremeni.

Iz meritev, ki so navedene v slikah 2 in 3, smo videli, da encim doživlja pri višjih temperaturah poškodbe. Taka škoda se mu godi tudi, ako ga pred dodatkom k amilozam nekaj časa razgrejemo in to celo na temperaturo 55° C, ki je za učinek v mešanici z amilozami optimalna.

Tabela III.

a) Vpliv razgrevanja na učinkovitost enzima.

100 ccm amiloze - sola, 12 ccm enzimskega ekstrakta.

$P_h = 6,5$, $T = 55^{\circ} \text{C}$.

Čas razgrevanja	Spec. visk. ob začetku	Spec. visk. pri konstanci	Procentualni padec viskoznosti	Čas do nastopa visk. konstance Min.
0	0,40	0,02	95	40
30	0,50	0,41	18	7
60	0,40	0,38	5	10

b) Koagulacija.

Amiloze - soli, ki so doživeli svoj delni razkroj pod vplivom bacillusa maceransa, izločujejo, ohlajeni na sobno temperaturo, v 24 urah bel koagulum. Četudi tekočina sama pred koagulacijo z jodom ne daje vidne reakcije, je koagulum sam — odvisno od poizkusnih pogojev — rdečerrjave do modre jodove barve.

Relativna množina izpadle snovi zavisi od poskusnih pogojev. (Tabela IV.)

Tabela IV.

Koagulacija

Reakcijska temperatura °C	P_h	Procentualna izguba viskoznosti	Koagulirana substanca v procentih prvotno navzoče	Opomba
A m i l o z e : e n z i m 100 : 12				
75 75 75	5 6,5 7,5	25,8 78,8 71	90,5 51 46	Kristali
55 55 55	5 6,5 7,5	75 95 90	41 0 22	Kristali
28 28 28	5 6,5 7,5	76,9 79,5 74,9	20 18 18	
A m i l o z e : e n z i m 100 : 4				
75 55 55 28	4,5 4,5 5,5 4,5	26,1 50 81,6 78,9	68,4 69,3 32 56	

Iz reakcijskih zmesi, ki vsebujejo 4 ccm enzimskega ekstrakta, izpada 54—67 procentov prvotno v raztopini navzoče substance. Iz mešanic, ki so bogatejše z enzimom, koagulira le 18—22 procentov. Pod posebno ugodnimi pogoji pa nastopajo kristali, in to ako smo dodali na 100 ccm amiloz 12 ccm encima in izvršili razkroj pri 28° ali 55° C.

Enzimsko koagulacija amiloz sliči opazovanjem Wolffa J. in Fernbacha A. o amilokoagulazi. Tudi smo večkrat videli slični koagulacije pri učinkovanju α -amilaz. V tem poslednjem primeru je pa koagulirana količina zelo majhna in doseže pri Lintnerjevem škrobu komaj 1,9 procentov, medtem ko se izloča pri hidrolizi z macerans-enzimom skoro $\frac{2}{3}$ celokupne substance.

Danes še nimamo zadovoljive razlage za to izpadanje. Ni izključeno, da macerans-amilaza veže po svoji sintetični moči (po načinu tvorbe glukozidov) tudi večje razgradnine amiloz,

ki se potem izločujejo. Ako se opiramo na procentualni padec viskoznosti, vidimo iz tabele IV, da je koagulacija pri izdatnejšem razkroju manjša; številčnih povezanosti pa ni mogoče ugotoviti.

c) Nastop kristaliziranih dekstrinov.

Navzočnost Schardingerjevih dekstrinov spoznamo po E. B. Tildenu in C. S. Hudsonu, ako dodamo reakcijski zmesi 3 kapljice $1/20$ normalne jodovice (JKJ). Ko je tekočina prehlapela, nastopajo mikroskopični kristalčki karakteristične modre oziroma rdečerrjave barve. Po tej metodi smo preiskali vse naše hidrolizate (okoli 50), in sicer takoj, ko je nastopila konstanca viskoznosti, in pa po enem dnevu. Brez izjeme smo našli take kristale le v reakcijskih zmesih, ki so vsebovale 12 ccm enzima na 100 ccm amiloz in v katerih je učinkoval enzim pri $P_h = 6,5$, in to pri 28 ali 55° C. Do nastopa kristalov je poteklo najmanj 24 ur.

II. Diskusija.

Pričujoči poizkusi kažejo, da je pri macerans-enzimu posebno izrazita moč razgradnje. Prvi napad na molekule amiloz opazujemo pri zelo različnih zunanjih pogojih, četudi so optimalne okoliščine ($P_h = 5$, $5-6$ $T = 55^{\circ}$) jasno izražene. Enako jasno je izražen koagulacijski vpliv na razgrajeno substanco, četudi nam za kvantitativno zasledovanje primanjkuje primerne metode.

Znano je, da so soli amiloz časovno nestabilni in spontano koagulirajo. Kakor smo se prepričali s številnimi poizkusi, so soli nerazkrojenih amiloz ob času, ko so v hidrolizatih maceransa že nastopile oborine, še brez vsakega koaguluma. Ker nastopa koagulacija pri macerans-hidrolizi v stadiju, v katerem je — po viskoznosti sklepano — razkroj že dospel zelo daleč, smemo misliti, da gre tu za specifičen učinek našega enzima.

Kristalizirani Schardingerjevi dekstrini nastopajo pa le v mejah ozko opredeljenih pogojev. Treba je zato primeroma dosti enzima in pa optimalne temperature in aciditete. Že sedaj se jasno kaže, da potekata razkroj amiloz in tvorba kristaliziranih produktov ločeno in z zelo različno brzino.

Posnetek.

V pričujočem delu smo hidrolizirali raztopine krompirjevih amiloz z enzimskimi ekstrakti, katere smo dobili iz različno starih kultur *Bacillus macerans*. Zasledovali smo izpremembo viskoznosti, redučne zmožnosti in optične aktivitete, v drugi skupini poizkusov pa izpremembo viskoznosti, koagulacijo in nastopanje kristaliziranih razgradnin. Z napredujočim razkrojem viskoznost pada, redučna zmožnost najprvo raste, potem pada, optična aktivnost isto tako spočetka raste in nato pada. Optimalni pogoji za razkroj so: $P_h = 5, 5-6$ in $T = 55^\circ \text{C}$. Koagulacija nastopa redno, četudi različno močno. Kristale pa opazujemo le pod optimalnimi pogoji. Koagulacija in posebno kristalizacija potekata mnogo bolj počasi, kakor viskozimetrično prikazana razgradnja.

SUMMARY

Influence of the external conditions upon action of the enzyme of *Bacillus macerans*

By M. Samec

Chemical Laboratory, Academy of Sciences and Arts, Ljubljana

Crystalline Schardinger's dextrins have a cyclic structure. The rings consist of 5 or 6 glucose units interlinked by $\alpha-1-4$ linkages. By passing of starch into such dextrins the glucose chain of the starch molecule must first be reduced in 5 to 6-linked fragments and then these fragments join to rings. While these operations in cultivating the living bacillus are going on, and only the end-product, even »Schardinger's dextrins«, could be obtained, no analysis of single processes was possible. But now, by isolation of bacterium-free enzyme-solutions¹ and by separation of branched and unbranched forms of starch, we are enabled to study systematically all the interesting changes of the starch substance.

Experimental results.

Preliminary experiments gave evidence that the formation of Schardinger's dextrins is got with greater facility from the unbranched amyloses than from branched amylopectine. The anomalies on the branchage points ($\alpha-1-6$ linkages) render a smooth course of the reaction more difficult. To get the above described results following experiments on amyloses were carried out.

In order to obtain the amyloses 3 per cent starch paste was exposed for half an hour to 120° C, and from such solution amylopectine precipitated by electrodialysis. We got a 0,3—0,5% sol lightly opaque and easily mobile.

We got enzymes thus: bacillus macerans was put on a 10 % potato pulp and some chalk added to. In a temperature of 45° C 4 or 7 days are required to let it grow. We centrifuged the mixture during 20 minutes by 1500—2000 R. P. M. The liquid got by centrifuging was kept for 12 hours in an ice-chest, and then filtered through de Haen membrane »»feinporig«. By using new membranes and after 2—3 hours the course of filtration goes plainly on. In experiments of short duration one can save time if working directly with centrifuged liquid as changes caused by the enzyme proceed incomparably faster than the proliferation of bacillus and the changes thus conditioned.

For the first experiments here described we were using an enzyme extract that had been obtained from 7 days old enzyme cultures. That solution is yellowish and turbid. After 1—2 days of standstill a crystalline residue is deposited, whereupon the solution becomes limpid. The crystalline parts separate, put under a microscope, as 4-edged prisms. By adding iodine the liquid gives a red-brown coloration.

In another series of experiments an enzyme extract from a 4 days old culture had been used. Fermentation is in full activity then. The development of gases is so strong that a great deal of potato pulp is lifting up. The extracts from such cultures, when iodine is added, give a blue-green coloration. This solution too, within a few days, separates 4-edged prisms. Likewise as Tilden and Hudson had established for starch solutions, we too observed on amyloses-sols that by means of macerans-enzyme the viscosity is decreasing rapidly and considerably. This property change, which the macerans-enzyme has in common with the dextrinogenous amylases, corresponds to the splitting of the amyloses molecule. As with the other dextrinogenous amylases, with the macerans enzymes too the iodine coloration soon passes away.

At the beginning of the reaction, when the decrease of viscosity is particularly strong, the increase of the reducing power is growing, analogically with the other diastatic processes. Strange enough, during that reaction stage the optical rotation is increasing and after passing a maximum stage it sinks (fig. 1). This strange course of the optical rotation may be understood on the assumption that the amylase of bacillus macerans is an α -enzyme and the split fragments are originating within the high rotation. After a certain time the reducing power of the reaction mixture decreases again. Here the effect causing glucosidine linkages is visible where the originally formed reducing dextrans close to not reducing rings.

In this stage of reaction the optical rotation decreases. The reason for that may well be that the high rotating decomposition products originally formed disappear from the solution, be it by forming of equilibrium products, or may be by closing of the rings.

After a standstill of the reaction mostly a white coagulant turns up which quickly sinks down. This consists of little balls, with added iodine it gives a blue coloration and may be compared with artificial starch described by E. Roux.

By simultaneous measurement on the described changes we get means to observe all stages of the reaction and try the solution of the question whether the diastatic and ring-forming effects of our extracts are both given by the same enzyme or are there more enzymes present. In the case of several enzymes present one could perhaps by means of a variation of conditions strengthen the activity of one enzyme and weaken another; thus one could separate the enzymes.

In the experiments subsequently described the following conditions varied. 1. The temperature of the reaction mixture, 2. The P_h of the solution, 3. The relative amount of the enzyme extract, 4. The age of enzyme solution, 5. The age of the culture out of which the enzyme was prepared.

We observed the diastatic conversion viscosimetrically. For that reason amylose-sol had been warmed beforehand to the experimental temperature, its viscosity determined, then the enzyme extract added to, and the viscosity of the mixture currently measured until there was no more change observable. We used a viscosimetre after Ostwald. Its water equivalents were: at 23° C...149,6 sec, at 55° C...95,4 sec and at 75° C... 75,1 sec. In one group we added 4 ccm to 100 ccm of 0,5 per cent amyloses, in the other 12 ccm of enzyme extract.

When one changes the experimental conditions, the viscosity curves are very different. We obtain from the curves two numbers which characterize the diastatic effect. Viz.:

1. The percentage of viscosity decrease at a time when the viscosity is constant.
2. The time after which the viscosity of the mixture stops changing. The percentage of viscosity decrease is a direct expression of the decomposition, the time that passes till viscosity becomes constant depends on different circumstances. It may be of a short duration if the conversion passes rapidly, if, consequently, the enzyme is very effective, or if under corresponding conditions the enzyme has been damaged so that the decomposition comes to a standstill for inactivity of the enzyme. Characterizing the external influences we expressed the percentage of the decrease of viscosity on base of the specific viscosity, i. e. the relative viscosity — 1. In figure 2 we compare the course of hydrolysis at different temperatures. It is evident, that at 55° C the diastatic effect is the most favourable. The effect of the enzyme lasts the longest and the viscosity decreases the stron-

gest. At 75° the enzyme is damaged already after a short time. The constancy of viscosity is already reached after 30 minutes, still, specific viscosity at this time is relatively high.

The figures 3 a-c and the table II give a comparison about the run of this process at different temperatures and different P_h . The P_h of the reactions mixture without additions is moving within the limits of 5,5 to 6,5.

In this P_h the hydrolysis is passing off in the best way. The higher the temperature the more susceptible the enzyme for hydrogen-ion, so that $P_h = 5,5$, which is most convenient between 28° and 55° C, at 75° is already notoriously damaging. The $P_h = 4,5$ destroys the enzyme already at 28°. A repetition of such measurements with an enzyme of a 4 days old culture confirms the above described experiment as to the influence of temperature and reaction of the mixture.

If one increases the quantity of the enzyme to 12ccm (by 100ccm of amyloses-sol), the splitting process observable viscosimetrically is more rapid and more intensive but the course of reaction does not change essentially. Experiments represented by figures 2 and 3 show that higher temperatures have a damaging effect on the macerans-enzyme. The enzyme is also damaged if, before added to amyloses, it is beforehand warmed even to 55° C, the most convenient temperature for the action of the enzyme. On the table III we reproduce experiments with enzyme-solutions warmed beforehand. For these experiments the enzyme solution was kept for some time as high as 55° C before used.

Coagulation.

Amylose - sols hydrolysed by macerans enzyme, cooled to the room temperature within 24 hours generally separate a white coagulant. Though the liquid itself does not give any visible reaction before the coagulation with iodine, the coagulant itself — depending on conditions of the experiment — is iodine-coloured from red-brown to blue. The relative quantity of the coagulated substance depends on the conditions of the experiment (table IV). From mixtures containing 4 ccm of enzyme-extract 54—67 per cent of the substance originally present in the solution fall out. In solutions that are richer in enzyme or containing more active enzyme solutions the coagulated quantity is smaller (18—22 per cent.). Under particularly favourable conditions hydrolysed amyloses separate 4-edged prismatic crystals instead of the amorphous coagulant. Such conditions are: 12 ccm of the enzyme extract added to 10 ccm sol, $P_h = 6,5$, $T = 28^\circ$ or 55° C.

Coagulation of amyloses by the enzyme of the bacillus macerans is not a single phenomenon. We refer to the observations published some time ago by J. Wolff and A. Fernbach on the amylocoagulase and to the reports, quite new at that time, on the coagulation of the starch substance during the diastatic hydrolysis which is observed especially by the operation effect of the α -amylases. In this case,

however, the coagulated quantity is very small (for Lintner-starch it hardly reaches 1,9 per cent) while by hydrolysis with macerans-enzyme nearly 2/3 of the whole substance are coagulated.

A satisfactory explanation of these processes is not yet known. It is possible that by its synthetical power the macerans-amylase (according to forming of glucosides) also binds larger chains of amyloses which afterwards precipitate, or by another reason these fragments lose their stability.

Taking as a base the percentage of the decrease of viscosity, we see from the table IV that generally by strongly advanced hydrolysis the coagulation decreases. A closer numerical relation cannot be deduced from those measurements.

Appearance of crystalized dextrans.

Presence of Schardinger's dextrans has been established according to E. B. Tilden and C. S. Hudson after adding 3 drops of the reactions mixture, one drop of a 1/20 N iodine solution (IKI) added to. After the evaporation of the liquid one sees by presence of the mentioned dextrans in microscope the characteristic blue and red brown microscopic crystals. In this way we tested over and over again all our deposits (about 50) immediately after having reached the constancy of viscosity, as well as after 1 respectively some days. Without exception we found the beautiful blue-coloured six-edged tablets or 4-edged prisms, still, only in the deposits with 12 ccm enzyme to 100 ccm sol by $P = 6,5$ and at temperatures of 28° or 55° C, and this at the first 24 hours after having added the enzyme.

Abridgment.

We have hydrolysed sols from potato-amyloses with enzyme extracts got from cultures of bacillus macerans of different age. We watched them in one group of the experiments observing there the changes of viscosity, the reducing power, and optical rotation, while in the other different group we took an interest in the changes of the viscosity, coagulation, and appearance of the crystalline dextrans. According to the process of hydrolysis viscosity is decreasing, the reducing power rises for a time, then it decreases. The optical rotation is rising initially, and then decreasing. The best conditions of the process are $P_h = 5,5-6$, temperature $T = 55^{\circ}$ C. The coagulation takes place regularly, although in different degrees. However, the crystalline dextrans are found only under the most convenient conditions. Coagulation and, especially, formation of crystals have an incomparably slower course than the viscosimetrically measured decomposition.

KOLOIDNO STANJE AMILOZ IN NJEGOVA ODVISNOST OD ELEKTROLITOV

M. Samec

Ob sodelovanju M. Ferlana.

Kemični laboratorij Akademije znanosti in umetnosti v Ljubljani.

Uvod.

Občeznano je, da imajo pri izpremembah koloidnega stanja raztopin elektroliti disperzijskega sredstva izredno velik pomen. Teorija njihovih učinkov je vkljub številnim poizkusom še vedno nepopolna.

Ker je dana obstojnost koloidnih raztopin po električnih nabojih dispergiranih delcev in po njihovi solvataciji, se opirajo posamezni poizkusi tolmačenja ali na pričakovane izpremembe na površini delcev oziroma v električni dvoplasti ali pa na izpremembe celokupnega elektrolitskega miljeja, v katerem so koloidni delci porazdeljeni.

Velika večina avtorjev je posvečala svojo pažnjo prvemu teh dveh fenomenov. Liofobne koloide stabilizirajo predvsem električni naboji. Pri njih so za koagulacijo elektro-negativnih delcev odločilni kationi in za koagulacijo elektro-pozitivnih delcev anioni. Vpliv obarjajočih ionov raste v vsakem teh dveh primerov z rastočo koncentracijo in pri enakih koncentracijah z rastočo valenco. Ta kvalitativna pravilnost je eksperimentalno dobro podprta, kvantitativno pa do zadnjih let ni bilo mogoče obvladati omenjenih koagulacijskih učinkov. Odpovedala je hipoteza o elektrokemični nevtalizaciji, o izmenjavi ionov v površini koloidnih delcev, hipoteza o adsorpciji obarjajočih ionov kakor tudi hipoteza o tvorbi netopnih micel. Vsaka teh hipotez je kljub vidnim začetnim uspehom pri poizkusu splošne uporabe naletela na toliko izjem, da ji ni bilo mogoče priznati splošne veljave.

V zadnjem času je za liofobne koloide Wo. Ostwald¹ razvil hipotezo, da je za njihovo stabilnost važnejši celokupni elektrolitski milje, v katerem so delci porazdeljeni, kakor pa električno stanje na površini delcev samih. Ker se da elektrolitski milje karakterizirati z aktivitetnim koeficientom, je Wo. Ostwald primerjal te konstante z njihovim obarjalnim učinkom. Izkazalo se je, da vlada tu kvantitativna povezanaost.

Liofilni koloidi sledijo drugim zakonom. Pri njih skrbi za stabilizacijo predvsem solvatni plašč delcev. Tudi taki sistemi koagulirajo pod vplivom elektrolitov, vendar je potrebna koncentracija ionic neprimerno večja. Izmera ionskih učinkov sledi znani Hofmeisterjevi ionski vrsti.

Pri prehodu od močno solvatiziranih sistemov proti slabo solvatiziranim opazujemo, da razpada Hofmeisterjeva vrsta v posamezne valenčne skupine, pri prehodu od slabo solvatiziranih koloidov proti tipičnim liofilnim koloidom pa se v vsaki valenčni skupini obarjalne koncentracije odmikajo druga od druge, tako da se končno zopet približujemo Hofmeisterjevi vrsti.



Večina koloidov stoji med tema ekstremnima tipoma. Predvsem je mogoče, da eden in isti koloid nastopa v enem disperzijskem sredstvu solvatiziran v drugem nesolvatiziran. Med take vmesne tipe gredo tudi škrobove substance. Starejše na njih izvedene meritve je težko tolmačiti, ker se nanašajo na škrobov klej, na raztopine nativnega škroba ali na topni škrob »Lintner«. Vsi ti substrati so neenotni. Vsebujejo komponente različne organske strukture (nerazvejene in razvejene glukozne lance), ki so več ali manj vezane na ionogeni preostanek fosforjeve kisline. Nam se je posrečilo z elektrodializo škrobovih raztopin ločiti razvejene komponente od nerazvjenih in komponente, ki vsebujejo fosforjevo kislino, od takih, ki ne nosijo ionogenih skupin. Najbolj preprosta škrobova komponenta so s tega vidika amiloze. So to polimerhomologni poliglukozani, v katerih so glukozini ostanki (pyronobroči) med seboj vezani z $\alpha-1-4$ vezmi. Lanec, v katerem

¹ Wo. Ostwald Kolloid-Zeitschr. 73 301 (1935).

rem se ponavljajo le α -glukozidične vezi, ima obliko spirale ali meandra. Verjetno se pod vplivom Brownovega gibanja njegova oblika izpreminja. Opazovanja o dvolomu pri strujanju dajo slutiti, da je statistično najbolj verjetna klobčičasta oblika², ki je zaradi α -kisikovih vezav manj raztegnjena kot pri celulozi. Posebnih ionogenih skupin v molekulah amiloz ni, pač pa povzroča kopičenje hidroksilnih skupin nekelektrolitsko disociacijo v smislu zelo šibke kisline³, tako da nosijo amilozine micle negativne naboje. Videli smo⁴, da so v vodni raztopini izdatno solvativirane.

Na tem materialu smo sedaj ponovno proučevali pomen elektrolitov.

I. Pojavi staranja.

Sveže pripravljene soli amiloz so slabo opakni. Ultramikroskopično vidimo v njih svetlikajoče se delce v živahnem Brownovem gibanju. Po nekaj dneh se delci pomirijo, nihajo le okoli svoje ravnomočne lege. Sčasoma tudi to trepetanje poneha in delci se družijo v grozdaste skupine, ki sčasoma rastejo. Opisani staralni fenomen se zrcali predvsem v viskoznosti, ki od priprave raztopine sem stalno pada. Po nekaj dneh postane sol moten in amiloze izpadajo v obliki kosmičev⁵.

Ultramikroskopična slika je lahko razumljiva. Za pridobivanje amiloz smo segrevali škrobov klej nekaj časa na 120° C in nato elektrodialitično izločili amilopektin. Molekule amiloz oziroma molekularni agregati so zato spočetka v živahnem termičnem gibanju, ki v tem stadiju prevladuje nad medsebojno privlačno silo med delci. Soli so v tej fazi le malo opakni in so obstojni.

Teže je razumeti padanje viskoznosti. Saj smo navajeni, da viskoznost s peptizacijo koloida pada, z agregacijo pa raste. Pri starajočih se amilozah je pa ravno nasprotno: ultramikroskop kaže izrazito agregacijo, viskozimeter pa povečuje gibljivosti.

Protislovje izgine, ako mislimo na solvatacijo. V sveže pripravljenih amiloz-solih bivajo posamezne makromolekule

² A. Peterlin in M. Samec Kolloid-Zeitschr. 109 96 (1944).

³ M. Samec in M. Blinc Kolloidchem. Beih. 30 163 (1929).

⁴ M. Samec Kolloidchem. Beih. 33, 103 (1931).

⁵ M. Samec Biochem. Zeitschr. 195, 40 (1928).

ali pa iz makromolekul sestavljene micle. Vsak tak delec nosi svojo solvatno ogrinjo. Ko ponehava Brownovo gibanje delcev, zmaguje medsebojna privlačna sila med posameznimi partijami makromolekul samih in med makromolekulami amiloz. Te se družijo v micle, in sicer na točkah, na katerih so privlačne sile najbolj razvite, to je na atomskih skupinah, ki vsebujejo kisik. Bodisi da tvori zvezo voda, morda v smislu konkretnega vodnega plašča⁶, bodisi da se vežejo te atomske skupine neposredno z značajem »vodikovih vezav«⁷, vsekakor se veliko število hidrofilnih skupin zastre. Posledica je delni prehod liofilnih delcev v liofobne in s tem padec hidratacije, kar se zrcali v padcu viskoznosti.

Drugi razlog za to je izprememba oblike delcev. Saj se družijo nitkaste molekule na njihovih dolgih plateh in prehajajo tako v bolj krogličaste micle.

Z rastočo agregacijo se stopnjuje motnost sola; potem ko je agregacija dosegla dano stopnjo, amiloze izpadajo. Koagulum je bel, pahuljast, voluminozen in vsebuje mnogo vode.

Za kvantitativne meritve o izpremembi koloidnega stanja amiloz, bi se dale izkoristiti sledeče ugotovitve:

1. časovna izprememba viskoznosti;
2. brzina, s katero nastopa koagulacija;
3. množina koagulirane snovi;
4. značaj koaguluma;
5. koagulacija pod vplivom organskih topil.

II. Viskoznost.

Meritve viskoznosti nam dovoljujejo nadaljnje sklepe le tedaj, ako se pokori dana tekočina Hagen-Poiseuillovemu zakonu. Sôli amiloz ta pogoj izpolnjujejo.

V ilustracijo izprememb amiloze-solov pri staranju navajam v tabeli I nekatera lastna starejša opazovanja⁸.

⁶ J. van der Hoeve, H. G. Bungenberg de Jong in H. R. Kruyt Kolloidchem Beih. 39, 106 (1933).

⁷ K. Freudenberg, E. Schaaf, G. Dumpert in T. Plaetz Naturwiss. 27, 850 (1939).

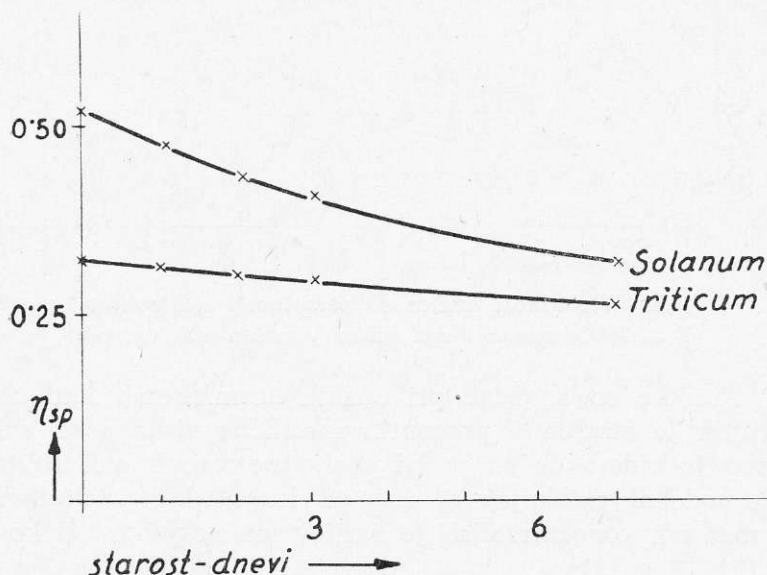
⁸ M. Samec in J. R. Katz Kolloidchem. Beih. 49, 455 (1939).

Tabela I.

Staranje amiloze-solov. Videz in viskoznost.

Dnevi staranja	Videz tekočine	Relativna viskoznost t/t_1
	Krompirjeve amiloze	
0	bister	1,51
1	bister	1,17
2	moten	1,43
3	hudo moten	1,40
7	delna koagulacija	1,31
12	popolna koagulacija, tekočina bistra	nemerljiva
	Pšenične amiloze	
0	opaken	1,32
1	rastoča motnost	1,31
2	" "	1,30
3	" "	1,29
7	pričetek koagulacije	1,26
14	popolna koagulacija, tekočina zgoraj bistra, v sredi motna	nemerljive

Pri pšeničnih amilozah sta relativna viskoznost in njen časovni padec manjša kakor pri krompirjevih. Vzrok je najbrž v sledečih okoliščinah. Za pridobivanje amiloz kuhamo

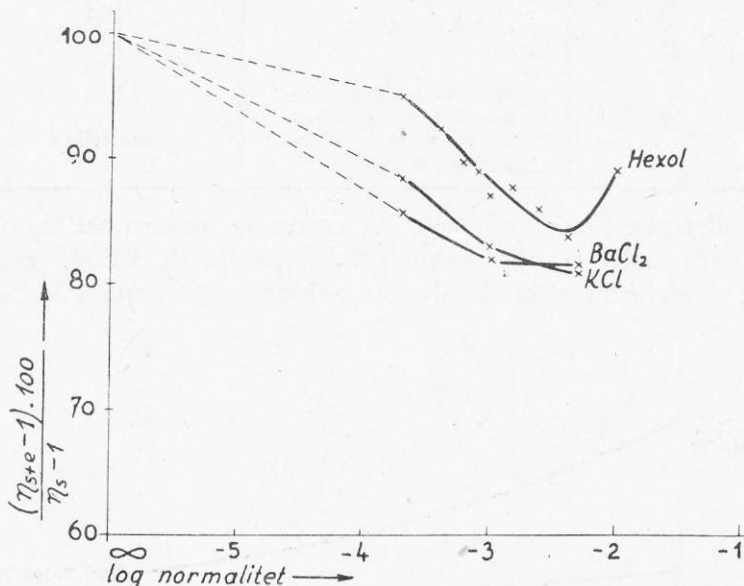


Slika 1. Izprememba viskoznosti amiloze-solov pri staranju.

— kakor znano — škrobov klej pri 120° C in nato elektrodialitično odločimo amilopektin. Za to desintegracijo potrební čas je od škroba do škroba različen. Pri krompirju zadostuje 16—24 ur, pri pšenici več dni. Ker potekajo brezdvomno staralni procesi že med elektrodializo, imajo ob pričetku viskozimetričnega opazovanja, katerega označujemo v tabeli s časom 0, sóli že neko določeno starost in ta je pri sólíh, katere smo popisali v tabeli I, različna.

a) Hipoteza o razelektranju.

Na dodatek elektrolitov viskoznost amiloz pada. V sliki 2 je ta pojav prikazan za tri soli z različno valentnimi kationi.



Slika 2. Viskoznost amiloz ob prisotnosti elektrolitov.*
($T = 25^{\circ}\text{C}$, koncentracija amiloz v mešanici 0,3 proc.)^a

Meritve so izvršene pri enakih normalitetah kationov, rezultat je izražen v procentih specifične viskoznosti sola. Jasno je videti, da so vplivi enako normalnih elektrolitov zelo podobni; razlikujejo se drug od drugega le kvantitativno. V majhnih koncentracijah je barijev ion nekoliko učinkovitejši.

* $\eta_{s+e} - 1$ = specifična viskoznost mešanice (sol elektrolit), $\eta_s - 1$ = specifična viskoznost amiloze - sola.

tejši kakor kalijev ion. Heksol-sol** kaže kljub svoji visoki valenci kationa anomalije, ki so pač dane po dejstvu, da ta sol že v nizkih koncentracijah izpreminja naboj amilozinih delcev. Diskontinuiteta v viskoznostni krivulji te soli je realna.

Ta opazovanja so v skladu z analognimi meritvami H. G. Bungenberg de Jonga⁹ na topnem škrobu »Merck«.

Imenovani avtor je tolmačil padec viskoznosti na dodatek male količine elektrolitov s hipotezo, da gre v takih primerih za znižanje »elektroviskoznega efekta«. V znani enačbi Einstein-Smoluchowskega

$$\eta = \eta_0 \left[1 + \frac{5}{2} \varphi \left\{ 1 + \frac{\sigma}{\alpha^2 \mu} \left(\frac{\kappa(\varphi_i - \varphi_a)}{2\pi} \right)^2 \right\} \right]^{***}$$

je namreč drugi sumand v oklepaju { } odvisen od električnega stanja na površini delcev. Ako dosežemo z dodatki elektrolita izoelektrično stanje, postane $\kappa \{ \varphi_i - \varphi_a \} = 0$; razen tega pada tudi električni upor σ . Posledica je znižanje viskoznosti.

Ker z zmanjšanjem električnih nabojev na površini delcev pada elektrostatična odbijalna sila, razelektrenje verjetno tudi favorizira družitev delcev v večje agregate in povzroča padec viskoznosti tudi iz istega razloga, kakor se to godi pri staranju. Je pa staralni efekt mnogo večji od efekta nizko koncentriranih elektrolitov.

b) Hipoteza adsorpciji in hidrataciji.

Ako smo pri dodajanju elektrolitov prekoračili določene koncentracije, viskoznost z rastočo koncentracijo v mnogih primerih zopet raste. Nekaj zadevnih podatkov daje slika 3, ki smo jo sestavili na podlagi lastnih starejših meritev.¹⁰⁾

Takrat smo se zanimali v prvi vrsti za elektrolite, ki pospešujejo zaklejenje škroba, ki torej po vsej priliki dvigajo hidratacijo škrobovih komponent.

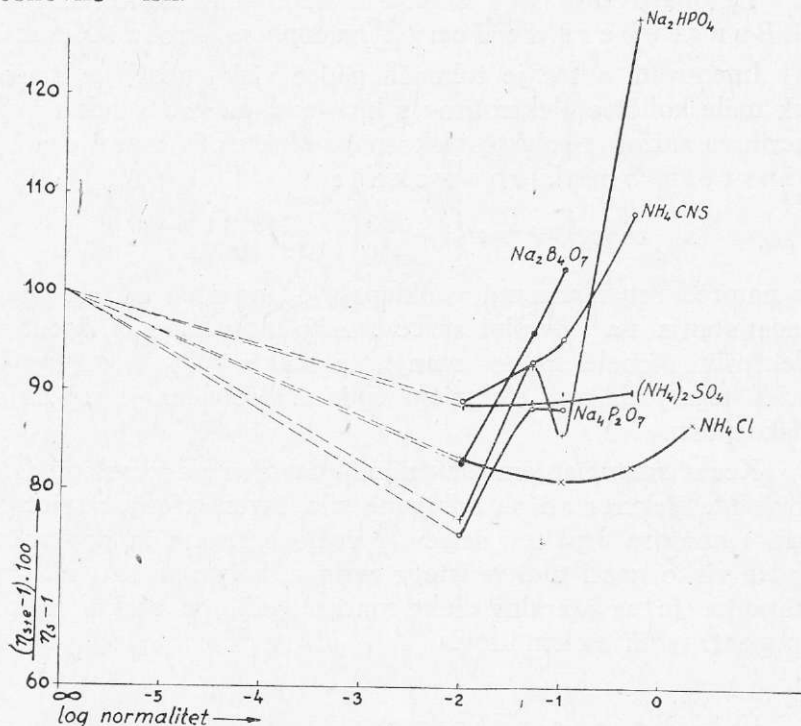
** Hexol-sol je Hexaaethylen-diamin-heol-tetrakobalti-nitrat.

*** η_0 = viskoznost topila, φ = relativna prostorninska vsebnost disperzne faze, $\kappa(\varphi_i - \varphi_a)$ = potencialna diferenca v električni dvoplasti, α = radius delca, σ = specifični upor.

⁹ H. G. Bungenberg de Jong Rec. trav. Chim. Pays Bas. 5, 197 (1924).

¹⁰ M. Samec Kolloidchem Beih. 43, 272 (1935).

Take sekundarne vplive elektrolitov moremo tolmačiti analogno, kakor so to storili J. A. van der Hoeve, Bungenberg de Jong in H. R. Kruyt⁹ ter J. R. Katz¹¹ pri zaklejenju škrobovih zrn. Naj navedemo dotične osnovne misli.



Slika 3. Viskoznost amiloz ob prisotnosti elektrolitov v večji koncentraciji.

90 ccm amiloze-sola, 10 ccm raztopine elektrolita. $T = 25^{\circ} \text{C}$.

V obmejni ploskvi koloid-elektrolit je koncentracija elektrolita drugačna kakor v notranjosti raztopine elektrolita. Izmera koncentracijske izpremembe je odvisna od narave ionov. A. Frumkin¹² je dokazal, da se kopičijo v obmejni ploskvi: (voda, — zrak) anioni, medtem ko visijo anorganski kationi v tej ploskvi le zaradi svojih električnih nabojev ob anionih. Narastek koncentracije v obmejni

¹¹ J. R. Katz in sotrudniki Biochem. Zeitschr. **259**, 76, 397 (1933), **261**, 47, 433 (1933).

¹² A. Frumkin Zeitschr. physik. Chem. **109**, 34 (1924).

ploskvi (pozitivna adsorpcija) je tem večji, čim manjša je hidratacijska energija aniona. Hidratacijo pa regulira po K. Fajansu¹³ velikost iona. Čim manjši je njegov premer, na tem manjši kroglični površini so porazdeljeni električni naboji, tem večja je zaradi tega hidratacija.

Razen omenjene čisto fizikokemične adsorpcije pa so za približanje nekih ionov na površino koloidnega delca odločilni tudi posebni kemični razlogi. V primeru amiloz je skrajno verjetno, da se vežejo halogen-ioni po svojih residualnih valencah na glukozidni kisik, tvoreč nekake oksonium skupine. Pri sulfocianidu se najbrž priklopi žveplov atom na kisik amiloz. V takih primerih imamo pričakovati anormalno močno adsorpcijo in z njo tudi abnormalno močan učinek tistega iona. Zaradi adsorpcije ionov raste hidratacija koloidnih delcev in v zvezi z njo viskoznost raztopine. Čim izdatnejša je adsorpcija, tem več hidratacijske vode prihaja z ioni na površino delcev — četudi so močno adsorptivni ioni manj hidratizirani kakor slabo adsorptivni ali celo ioni z negativno adsorpcijo.

V deloma zastaranih solih so makromolekule amiloz in pa posamezne partije glukoznih lancev med seboj agregirane. Omenil sem že, da po vsej verjetnosti posreduje zvezo voda nekako v obliki »konkretnega vodnega plašča«. Ker je voda v njem v nekakem naponskem stanju, tvori proti drugim delom vode (difuzni vodni plašč) svojo površino z lastnim površinskim naponom.⁶ Znano je, da je pri raztopinah površinski napon odvisen od koncentracijske izpremembe v obmejni ploskvi in to po enačbi

$$a = -f(C, T) \frac{d\sigma}{dc}$$

v kateri pomeni a množino adsorbiranega elektrolita, σ napon v obmejni ploskvi in c koncentracijo. Pri pozitivni adsorpciji je koeficient $\frac{d\sigma}{dc}$ negativen, kar pomeni, da z rastočo koncentracijo elektrolita pada vezalna moč te vodne plasti; pri negativni adsorpciji je koeficient pozitiven in z rastočo koncentracijo vezalna moč raste. Ako vstopajo elektroliti v konkretni vodni plašč, prinašajo s seboj neko množino hidratne

¹³ K. Fajans Naturwiss. 9, 730 (1921).

vode. S tem povečavajo kapilare med micelami in povzročajo, da pride del vode konkretnega vodnega plašča izven atrakcijske sfere makromolekul. S tem znižujejo upor proti razdružitvi. Ako pa elektroliti dvigajo napetost obmejne ploskve, povečajo trdnost na lepilnih ploskvah.

Z desagregacijo je povezana osvoboditev aktivnih atomskih skupin, z njo narastek hidratacije makromolekule in kot posledica tega narastek viskoznosti.⁶

V sliki 3. vidimo, da po prekoračenju viskozitetnega minimuma raste viskoznost, in to najmanj pri sulfatu, nekoliko bolj pri hloridu, mnogo bolj pri sulfocianidu in boratu, posebno močno pa pri fosfat-ionu. Stojimo torej v bistvu pred Hofmeisterjevo vrsto. Stališče borat- in fosfat-iona pa je pač posebno, najbrž v zvezi s selektivno adsorpcijo teh ionov v zvezi s kakimi kemičnimi relacijami med amilozami in tistim ionom.

c) Hipoteza o pomenu aktivitetnega koeficienta.

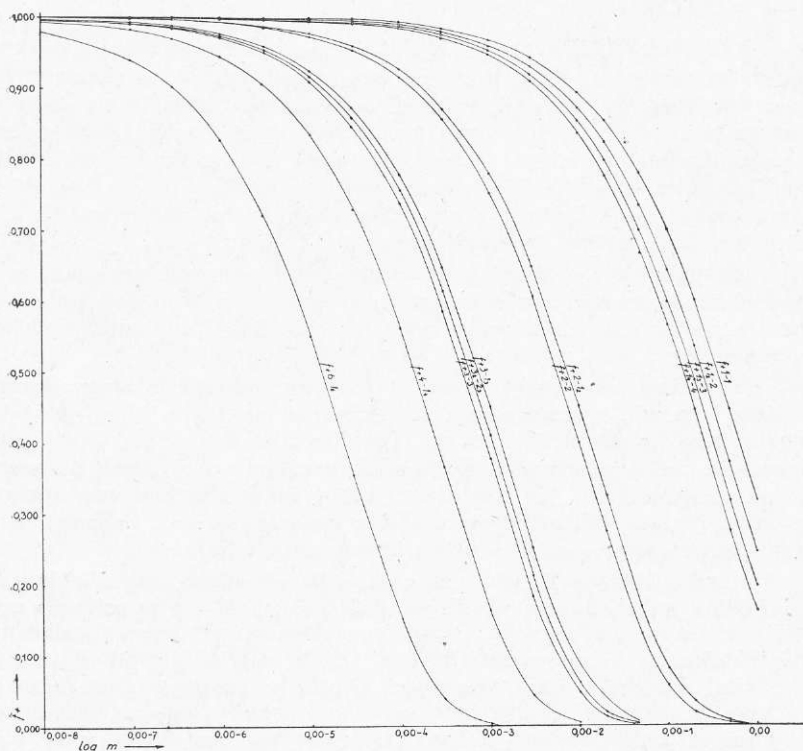
Navedene hipoteze utegnejo, kakor smo videli, tolmačiti kvalitativno eksperimentalne rezultate, za kvantitativni opis pa nam ne nudijo prijemljivih osnov. Oglejmo si zato še teorem o pomenu aktivitetnega koeficienta, ki je pri številnih liofobnih koloidih dovedel do kvantitativnih relacij.

Osnovna misel te hipoteze je sledeča: V raztopini elektrolitov tvorijo ioni nekako ionsko remlje, ki je karakterizirano z aktivitetnim koeficientom elektrolita oziroma njegovih ionov. V takih raztopinah navzoči koloidni delci so tujci. Elektrolit se jih skuša iznebiti. Če doseže aktivnost ionov neko, za tisti koloid tipično vrednost, izrinejo ioni elektrolita snovno tuje koloidne delce, ki konec koncev izpadajo. Iz te slike sledi, da bo verjetno aktivitetni koeficient tvoril točnejšo računsko podlago za opisovanje koloidno-kemičnih izprememb kakor pa koncentracija elektrolita. Wo. Ostwald⁷, kateremu se imamo zahvaliti za to hipotezo in ki je izračunal aktivitetne koeficiente raznih soli, je dokazal, da se vrši koagulacija As^3S^3 , Sb^3S^3 , Au^3 , Ag^3 , Pt^3 in S -solov zares pri danih aktivitetnih koeficientih, četudi so koagulacijske koncentracije obarjalnih elektrolitov izredno različne.

Celokupni aktivitetni koeficient je po Debye-Hückelu definiran z enačbo — $\log f_{\pm} = 0.505 \cdot z_{+} \cdot z_{-} \cdot \sqrt{u}$ v kateri pomeni $f_{\pm}$ aktivitetni koeficient celokupnega elektrolita, z_{+} in z_{-} valence kationa in aniona in u ionsko jakost. Le-ta je definirana z enačbo $u = \frac{1}{2} (m_{+} z_{+}^2 + m_{-} z_{-}^2)$ V njej so m_{+} in m_{-} molarne koncentracije ionov. Ker je aktivitetni koeficient celokupnega elektrolita geometrična sredina posameznih koeficientov, torej $f_{\pm} = \sqrt{f_{+} \cdot f_{-}}$, sta posamezna koeficienta kationa in aniona

$$-\log f_{+} = 0.5 \cdot z_{+}^2 \sqrt{u/n_{+}} \text{ in } -\log f_{-} = 0.5 \cdot z_{-}^2 \sqrt{u/n_{-}}$$

V teh enačbah znači n število kationov ali anionov v molekuli. Pri natrijevem kloridu je n. pr. $n_{+} = n_{-} = 1$, pri natrijevem sulfatu je $n_{-} = 2, n_{+} = 1$ itd. W. O. Ostwald je pod premiso točkastih ionov izračunal odvisnost aktivitetnih



Slika 4. Aktivitetni koeficient kationov in molarnost elektrolita.

koeficientov od koncentracije in od valenčnega tipa elektrolita. Rezultate vsebuje slika 4, in to za aktivitetne koeficiente kationa. Iz te slike povzemamo za posamezne tipe soli molaritete, ki ustrezajo zaželenemu aktivitetnemu koeficientu.

Da preizkusimo uporabnost te hipoteze za opisovanje koloidnih izprememb amiloze-solov, smo ponovili meritve viskoznosti, ozirajoč se na aktivitetne koeficiente elektrolitov.

Za substrat so nam tudi pri teh meritvah služile amiloze krompirjevega škroba, ki smo jih oddelili elektrodialitično iz 3 procentnih pol ure pri 120° C kuhanih klejev. Elektroliza je trajala 22 ur. Koncentracija solov se je menjavala med 0,4 in 0,5 procentov. Za pripravo raztopin potrebno vodo smo pred uporabo 30 ur elektrodialitično čistili. Za vse poizkuse smo mešali 4 dele sola in 1 del elektrolitske raztopine.

Delali smo s sledečimi solmi:

tipus	sol	tipus	sol	tipus	sol	tipus	sol
1—1	KCl	2—1	MgCl ²	3—1	AlCl ³	4—1	ThCl ⁴
1—2	Na ² SO ⁴	2—2	MgSO ⁴	3—2	Al ² SO ⁴) ³	6—1	Co. Hexol
1—3	K ³ FeCy ⁶			3—3	Al-citrat		
1—4	K ⁴ FeCy ⁶						

KCl, Na²SO⁴, K³FeCy⁶ in K⁴FeCy⁶ smo prekrystalizirali po dvakrat iz vodne raztopine, MgCl² in AlCl³ smo zaradi težko pri kristalizaciji uporabili direktno. Aluminijev hlorid smo napravili sami iz aluminija in suhega hlorovodika. Dobljeno sol smo nučirali skozi Gooch, izprali enkrat s solno kislino in večkrat z etrom in osušili sol v vakuum eksikatorju nad kalcijevim oksidom. Med vodno sesalko in eksikatorjem je bila vključena cevka s kalcijevim oksidom. Po 3 dneh je bil ves hlorovodik odstranjen. Dobljena sol je imela sestavo AlCl³, 6 aq.

Za pridobivanje thorijevega hlorida smo postopali analogno, le s to razliko, da smo po končanem uvajanju hlorovodika bučo popolnoma zaprli in pustili stati zmes preko noči. Sicer bi bilo šlo preveč produkta v izgubo.

Za pridobivanje aluminijevega citrata smo oborili iz aluminijevega sulfata hidroksid z amonijakom. Oborino smo nučirali in izprali s vodo, dokler niso izginili sledovi sulfata. Na 20 g hidroksida smo dodali 50 g citronske kisline v raztopini. Zmes smo uparili na vodni kopeli do goste, medu podobne mase. To smo ekstrahirali 4 dni v Schacherlovem aparatu z etrom in tako odstranili vso prebitno citronsko kislino (lakmus). Kristalinično maso smo sušili v vodni kopeli, nato v vakuumu.

Hexol-sol, to je Kobalt-hexa aethylendiamin-hexol-tetrakobaltinitrat, smo dobili iz kobaltovega nitrata na sledeči način. 24,2 g te soli smo raztopili v 25 ccm hladne vode. Dodali smo 50 ccm raztopine etilendiamina med hlajenjem in mešanjem. Izločeni Co²O³ smo odfiltrirali. Filtrat je nato stal dva dni v široki izparilnici. Izločili so se rjavi iglasti kristali, ki smo jih odnučirali. Filtrat smo uparili na polovico volumna, ohladili in izločeni material ponovno nučirali. Dobljeno sol smo topili v 10 ccm vode pri 50° C, filtrirali preko trdega filtra in še enkrat prekrystalizirali. Sol smo končno sušili v vakuumu. Plen 1,5 g.

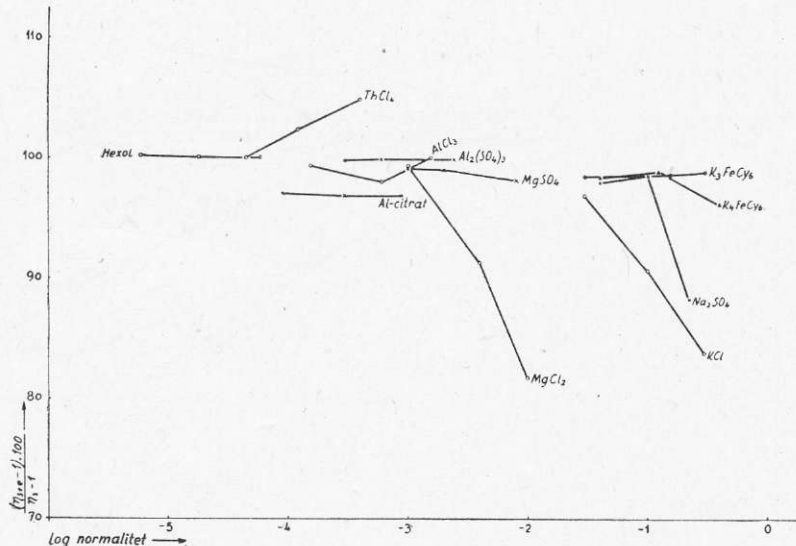
Viskoznost amiloz smo primerjali pri 3 različnih aktivitetnih koeficientih, in sicer

$$f_+ \sim 0,82-0,85, f_+ \sim 0,7-0,75 \text{ in } f_+ \sim 0,5.$$

V tabeli II so zbrane tem aktivitetnim koeficientom ustrezajoče molarosti.

Za meritve smo mešali 4 dele amiloze — sola z 1 delom primerno razredčene raztopine elektrolita. Mešanico smo pustili stati 2 uri, izvršili prvo serijo meritev in ponovili meritve čez 2—6 ur. Z majhnimi izjemami med tem časom viskoznost ni doživela večje izpremembe. Vodna vrednost viskozimetra je znašala pri 25° C 162,76 sekund. Da preprečimo vsak vpliv sapa na sole, smo sesali tekočino v viskozimetru s komunikajočimi, z živim srebrom napolnjenimi pipetami. Iztočno vrednost smo odčitali 10 krat. Od vsake zmesi smo določili P_h v klinastem kolorimetru po Bjerrum-Arrheniusu. Pregled dela daje tabela III.

Merilni rezultati razvrščeni po rastoči molariteti elektrolita. Pri vsaki meritvi je naveden aktivitetni koeficient kationa za dano koncentracijo in P_h . Viskoznost je izražena kot specifična viskoznost in pa v procentih specifične viskoznosti amiloze-sola.



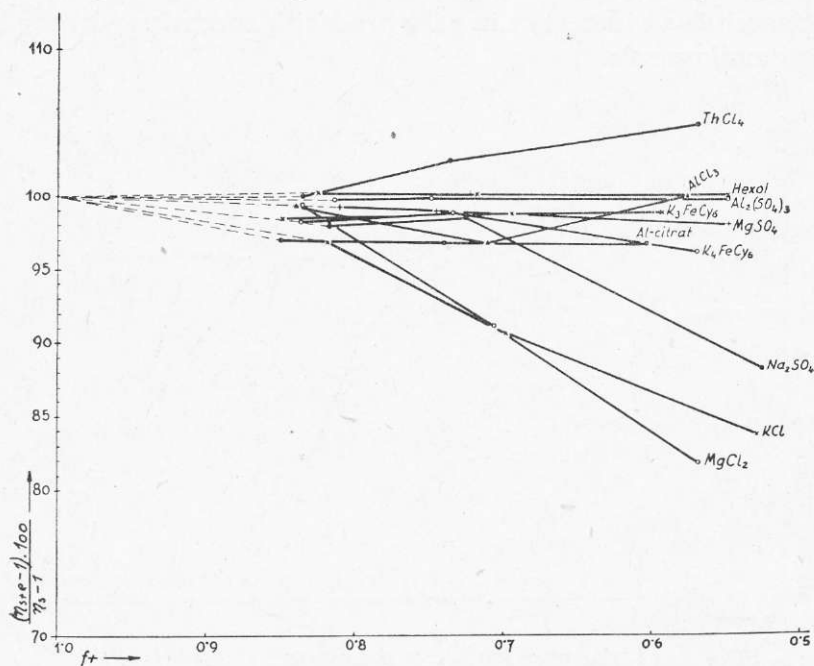
Slika 5 a. Viskoznost amiloz v prisotnosti elektrolitov.

Viskoznost in normalnosti.

Čim višja je valenca soli, tem večja razredčenost je potrebna, da se približuje aktivitetni koeficient 1. Umevno so zaradi tega meritve porazdeljene na izredno različne koncentracije elektrolitov.

V sliki 5 a podajamo pregled o povezanosti viskoznosti z normaliteto elektrolita, torej reprodukcijo meritev, ki so prikazane v slikah 2 in 3, v sliki 5 b pa relacijo viskoznosti z aktivitetnim koeficientom. Krivulje, sestavljene na podlagi normalnosti, so v bistvu analogne s prejšnjimi rezultati.

Večina soli znižuje v majhnih koncentracijah več ali manj viskoznost amiloze-solov. Viden vpliv nastopa pri višje valentnih kationih v nižjih koncentracijah kakor pri nizkovalentnih. Je to fenomen, ki bi v skrajnem primeru govoril v prilog teoremu o pomenu aktivitetnega koeficienta. V sliki 5 b res vidimo, da se pri večini preiskanih soli pričinja izdatnejša izprememba viskoznosti pri aktivitetnem koeficientu okoli 0,8. Vendar ta teorem ne opisuje ne generalno ne kvantitativno vseh meritev. Vobče opazujemo s padcem aktivitetnega koeficienta padec viskoznosti le v tistih primerih, v



Slika 5b. Viskoznost in aktivitetni koeficient.

Tabela II.

Molarnost in aktivitetni koeficient

T i p	1-1	1-2	1-3	1-4	2-1	2-2	3-1	3-2	3-3	4-1	6-1
Sol	KCl	Na ₂ SO ₄	K ₃ FeCy ₆	K ₄ FeCy ₆	MgCl ₄	MgSO ₄	AlCl ₃	Al ₂ (SO ₄) ₃	Al-citr.	ThCl ₄	Hexol
<i>f</i> +	0.819	0.820	0.850	0.834	0.833	0.815	0.835	0.820	0.843	0.832	0.825
<i>m</i>	3.10 ⁻²	2.10 ⁻²	1.10 ⁻²	1.10 ⁻²	5.10 ⁻⁴	5.10 ⁻⁴	5.10 ⁻⁵	5.10 ⁻⁵	3.10 ⁻⁵	1.10 ⁻⁵	1.10 ⁻⁶
<i>f</i> +	0.697	0.732	0.696	0.732	0.699	0.749	0.695	0.754	0.735	0.726	0.719
<i>m</i>	1.10 ⁻¹	5.10 ⁻²	5.10 ⁻²	3.10 ⁻²	2.10 ⁻³	1.10 ⁻³	2.10 ⁻⁴	1.10 ⁻⁴	1.10 ⁻⁴	3.10 ⁻⁵	3.10 ⁻⁶
<i>f</i> +	0.530	0.533	0.595	0.563	0.563	0.553	0.560	0.560	0.583	0.559	0.550
<i>m</i>	3.10 ⁻¹	2.10 ⁻¹	1.10 ⁻¹	1.10 ⁻¹	5.10 ⁻³	4.10 ⁻³	5.10 ⁻⁴	4.10 ⁻⁴	3.10 ⁻⁴	1.10 ⁻⁴	1.10 ⁻⁵

Vpliv elektrolitov na specifično viskoznost

40 ccm amiloze-sol + 10 ccm elektrolita. Amiloze = ca 0.4%. $T = 25^{\circ}\text{C}$. $H_2O = 162$, 76 sek.

[illegible]

[illegible]

Vpliv elektrolitov na specifično viskoznost

[illegible]

[illegible]

Tabela IV.

Vpliv elektrolitov na spontano koagulacijo

Amiloza ca 0.4% $T = 2-4^{\circ}\text{C}$.

Molar nost		0	3.10 ⁻⁷	1.10 ⁻⁶	3.10 ⁻⁶	1.10 ⁻⁵	3.10 ⁻⁵	1.10 ⁻⁴	3.10 ⁻⁴	1.10 ⁻³	5.10 ⁻³	1.10 ⁻²	2.10 ⁻²	5.10 ⁻²	1.10 ⁻¹
<i>HCl</i> 1-1	<i>norm.</i>								3.10 ⁻⁴						
	<i>f</i> +														
	Koagulacija prične v dnevih	2				1	1		1(malo)						
	Volumen koaguluma	3				2.1	3.1		2.6						
	Po 30 dneh izpadla množ. v %	69.2				69.2	74.1		71.8						
<i>KCl</i> 1-1	<i>norm.</i>											2.10 ⁻²	5.10 ⁻²	1.10 ⁻¹	
	<i>f</i> +											0.850	0.773	0.695	
	Koagulacija prične v dnevih	2										3	3	3	
	Volumen koaguluma	3										3.5	3.0	2.8	
	Po 30 dneh izpadla množ. v %	75.0										70.0	67.7	62.5	
<i>MgCl₂</i> 2-1 ₂	<i>norm.</i>									2.10 ⁻³	1.10 ⁻²	2.10 ⁻²			
	<i>f</i> +									0.777	0.590	0.450			
	Koagulacija prične v dnevih	4								3.5	3.5	3.5			
	Volumen koaguluma	3.0								3.4	2.8	2.9			
	Po 30 dneh izpadla množ. v %	63.85								63.85	69.45	73.55			
<i>AlCl₃</i> 3-1 ₃	<i>norm.</i>					3.10 ⁻⁵	9.10 ⁻⁵	3.10 ⁻⁴							
	<i>f</i> +					0.923	0.870	0.776							
	Koagulacija prične v dnevih	3.5				3	3	3							
	Volumen koaguluma														
	Po 30 dneh izpadla množ. v %	64.7				76.4	79.3	76.4							
Oborina lepi na dnu posode, ni mogoče jo suspendirati.															
<i>ThCl₄</i> 4-1 ₄	<i>norm.</i>					4.10 ⁻⁵	1.2.10 ⁻⁴	4.10 ⁻⁴							
	<i>f</i> +					0.832	0.726	0.558							
	Koagulacija prične v dnevih	2.5				1	1	1							
	Volumen koaguluma	4				4.1	3.0	4.12							
	Po 30 dneh izpadla množ. v %	85.71				83.33	85.71	85.71							

[illegible]

katerih doseže koncentracija elektrolita vsaj molarnost 10^{-5} . Pri KCl , $MgCl^2$, in Na^2SO^4 vidimo jasno znižanje viskoznosti pri aktivitetnem koeficientu $f = 0,8$, ki ustreza normaliteti veličinske stopnje 10^{-2} . Pri drugih elektrolitih je pa padec viskoznosti zelo majhen. Thorijeva sol kaže neko posebnost: viskoznost že v majhnih koncentracijah raste. Ta fenomen bi bilo treba posebej preiskati.

Želja, dospeti ob upoštevanju aktivitetnega koeficienta do kvantitativnih relacij se pa ne izpolnjuje.

III. Spontana koagulacija.

Uvodoma sem poudarjal, da doživljajo sóli amiloz staralni proces, katerega konec je koagulacija. Tako kakor elektroliti v majhnih koncentracijah zaradi razelektrenja delcev znižujejo viskoznost amiloze-solov, bi morali — ako doprinesejo električni naboji viden delež k stabilnosti — ugodno vplivati na koagulacijo. Isti učinek bi imela samočistilna tendenca elektrolita.

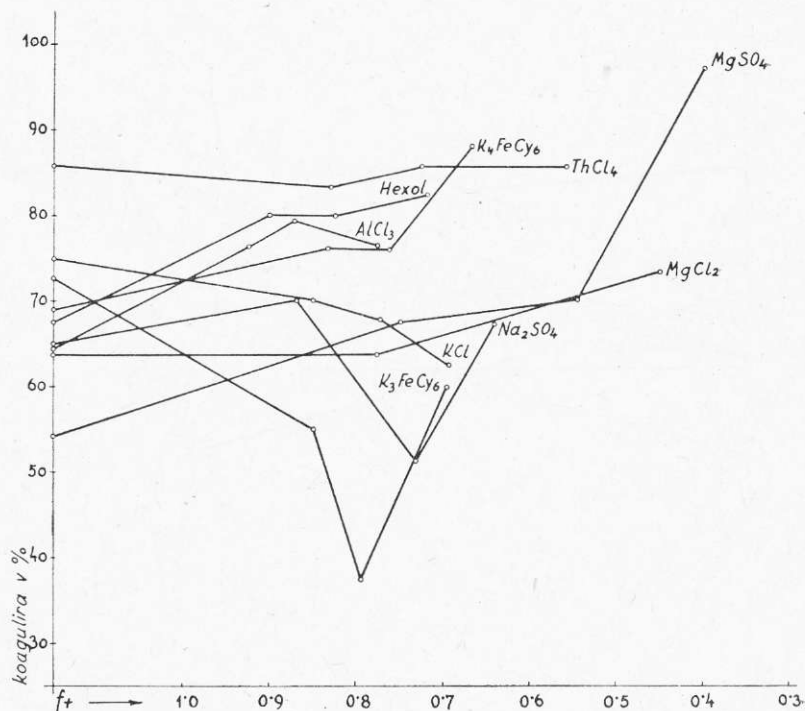
V vseh primerih pa, v katerih elektroliti po svoji večji ali manjši adsorpciji povečavajo hidratacijo, bi morali koagulacijo ovirati.

a) Množina izpadle snovi.

Za meritev spontane koagulacije bi utegnili opazovati: a) narastek motnosti, b) čas pričetka koagulacije, c) množino po določenem času izpadle snovi ali d) volumen in značaj koagulata. Najlažje je kvantitativno uporabna opredelba po določenem času izpadle snovi.

V tabeli IV podajamo pregled naših zadevnih novih opazovanj. Sole amiloz in raztopine elektrolitov smo mešali tako, da je bila končna koncentracija amiloz 0,4 procenta. Mešanica je stala pri $2-4^{\circ}C$, in to brez dodatka kakega desinfekcijskega sredstva. Koncentracije elektrolitov so izbrane tako, da je mogoče primerjati učinke, upoštevajoč normaliteto ali pa aktivitetne koeficiente.

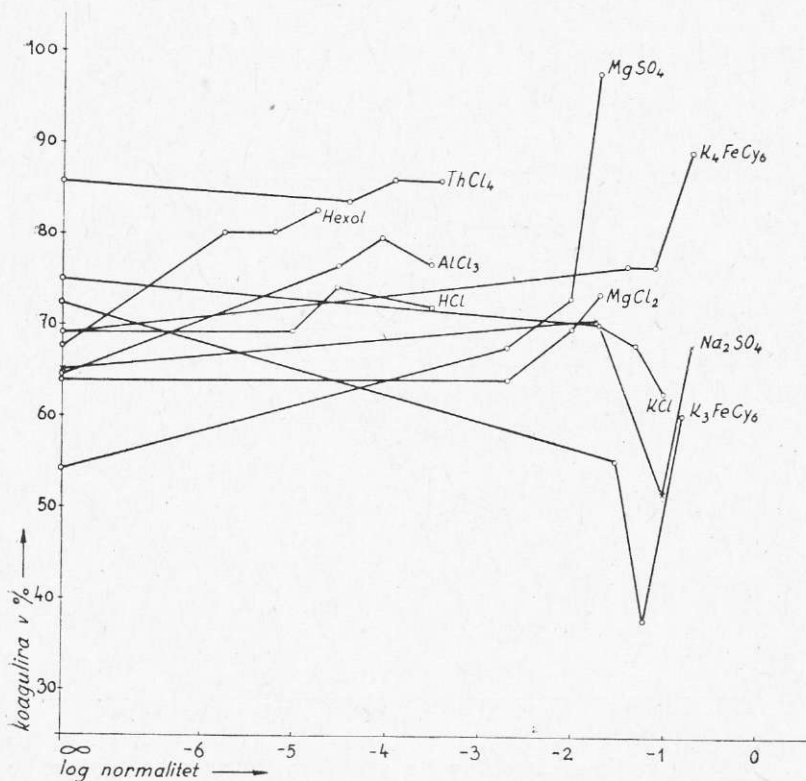
Iz teh podatkov sledi diagram na sliki 6.



Slika 6. Vpliv elektrolitov na spontano koagulacijo amiloz.

a) Normaliteta.

Iz teh opazovanj sledi, da večina preiskanih elektrolitov favorizira koagulacijo. Ekvivalentne koncentracije, v katerih postajajo ti vplivi vidni, so pa izredno različne $MgCl^2$, $MgSo^4$, Na^2SO^4 , K^4FeCy^6 in K^3FeCy^6 dvigajo izpadle množine amiloz v koncentracijah 10^{-3} do 10^{-2} n, $AlCl^3$ in $ThCl^4$ sta učinkovita v koncentracijah 10^{-5} do 10^{-4} in Kobalt-kompleks v normaliteti 10^{-6} do 10^{-5} . Tudi tu torej prihaja do izraza tista zakonitost, ki je dovedla do teorema o pomenu celokupnega elektrolitskega miljeja. V sliki 6b, v kateri so koagulacijski učinki razvrščeni s padajočim aktivitetnim koeficientom, vidimo, da glavne izpremembe v koagulaciji amiloz padajo v elektrolitske raztopine z aktivitetnimi koeficienti 0,9 do 0,7. Tipus vplivov je pa različen. Večina soli dviga izloženo količino amiloz; pri natrijevem sulfatu in kalijevim fericianidum opazujemo najprvo padec koagulirane snovi in šele z manjš



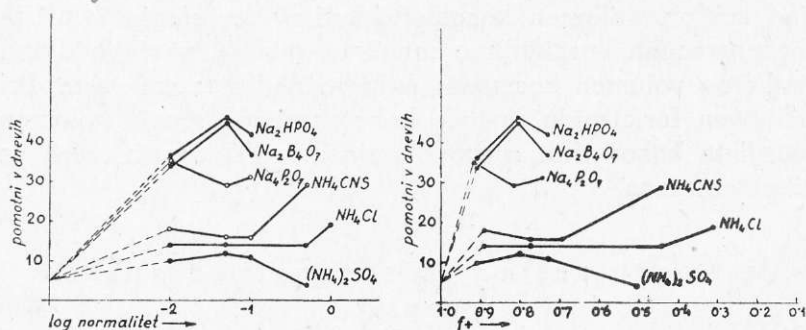
Slika 6 Vpliv elektrolitov na spontano koagulacijo amiloz.
b) Aktivitetni koeficient.

šim aktivitetnim koeficientom koagulirani delež zopet raste. Thorijev hlorid kaže tudi pri tem fenomenu svoje posebnosti, ki se zrcalijo v brezvplivnosti na koagulacijo.

Da pa tudi v pričujočem primeru aktivitetni koeficient sam ne more karakterizirati celokupnega vpliva elektrolita, je razumljivo, ako se spomnimo, da soli izpreminjajo tudi hidrationsko stanje amiloz. Ta učinek prihaja tem bolj do izraza, čim večja je koncentracija elektrolita. Zaradi tega je motnja po sekundarnih vplivih tem večja, čim bolj preprost je tipus elektrolita, čim večjo koncentracijo torej potrebujemo, da dosežemo relativno nizek aktivitetni koeficient. Tudi tu opazujemo stopnjevanje koagulacijskega vpliva z naravo aniona.

b) Čas do nastopa motnosti.

V eni prejšnjih preiskav smo zasledovali koagulacijo amiloz z meritvijo časa, ki je v posameznih primerih potekel do nastopa večje motnosti¹⁰. Takrat smo delali z bolj razredčenimi soli in pri sobni temperaturi, tako da takratne meritve s sedanjimi niso neposredno primerljive. Tudi je subjektivno opazovanje motnosti dokaj nezanesljiv postopek. Vendar pa kaže slika 7, ki jo povzemamo iz navedene publikacije, da vse takrat preiskane soli dvigajo čas, ki poteka do nastopa večje motnosti, da torej ovirajo koagulacijski proces.



Slika 7. Čas nastopa motnosti v solih amiloz ob prisotnosti elektrolitov.

c) Čas do pričetka izpadanja.

V okviru sedanjih poizkusov smo tudi ugotavljali čas, ki je potekal do začetka koagulacije. Enotne slike na ta način nismo dobili. Solna kislina, thorijev hlorid, kobalt-kompleks na primer so pričetek koagulacije pospeševali, kalijev hlorid, magnezijev sulfat so ga ovirali. Predvsem ni videti kake simbazij med množino po določenem času izločene substance in med pričetkom koagulacije. Vsekakor okoliščine, ki regulirajo pomotnitev ali pričetek izločevanja in pa množino koagulirane tvarine, niso identnične. Misliti bi se dalo, da je brzina pomotnitve in izpadanja odvisna od izpremembe solvatacije, medtem ko za končni efekt koagulacije, to je za množino izpadle snovi odgovarja izprememba električnega stanja na koloidnih delcih.

d) Volumen koagulata.

Zanimiv je tudi volumen koagulata. (Tabela IV.) Za njegovo opredelbo smo centrifugirali v graduiranih cevkah po 10 ccm opazovane mešanice večkrat po 10 minut in to toliko časa, da se volumen centrifugata ni več izpreminjal. Ker je volumen centrifugata na eni strani odvisen od izločene množine snovi, na drugi strani od breknilnega stanja amiloz, a priori ni pričakovati kake ostrejšje simbazije ne z množino izločene materije ne z brzino koagulacijskega procesa. V nekaterih primerih pa vidimo kljub temu neke sorodnosti v obeh rezultatih. Magnezijev sulfat n. pr. dviga izločeno količino amiloz, volumen koagulata, kalijev ferocianid v nižjih koncentracijah koaguliramo množino znižuje, v višjih dviga. Simbatno volumen koagulata najprvo pada, potem raste. Pri kalijevem fericianidu rastoče koncentracije dvigajo volumen koagulata kakor tudi njegovo množino. Pri drugih soleh je slika zamotana.

IV. Koagulacija v prisotnosti organskih topil.

Amiloze izpadajo iz svoje raztopine tudi na dodatek raznih organskih tekočin, kakor n. pr. alkohol, aceton in drugih. Predstavljamo si, da v takih primerih organsko topilo uporablja za svoje mešanje z vodo toliko vode, da te primanjkuje koloidu, ki zaradi tega koagulira.

Nadaljevanje svoje študije o vplivu elektrolitov na koloidno stanje amiloz smo preiskovali tudi učinek elektrolitov na vodno-acetonske in vodno-alkoholne sole amiloz.

Za to preiskavo smo najprvo ugotovili relativno množino alkohola oziroma acetona, ki je potrebna, da amiloze-sol v primerno kratkem času koagulira. Izbrali smo koagulacijski čas okoli 3 ur. V tem času pričenjajo amiloze izpadati, ako smo mešali 2 ccm amiloze-sola 0,21 ccm acetona (98,5 proc.) in 0,75 ccm vode. Pri alkoholu dosežemo zaželeni uspeh, ako mešamo 2 ccm sola z 0,19 ccm 96 procentnega alkohola in 0,75 ccm vode. Videz mešanic smo opazovali v prozornem termostatu pri 18° C. Čas do nastopa koagulacije v prisotnosti elektrolitov je razviden iz tabele VI.

Tabela V.

Preračunavanje aktivnostnega količnika f iz

$$-\log f_+ = 0,505 \cdot z^2 \sqrt{u/n}$$

$$v - \log f'_+ = 0,550 \cdot z^2 \sqrt{u/n}$$

$$f'_+ = f_+ 0,550/0,505$$

$f =$	0,300	0,400	0,500	0,600	0,700	0,800	0,900
00	0,2695	0,369	0,470	0,573	0,678	0,784	0,8915
05	274	374	475	5785	683	790	897
10	279	379	480	584	689	795	902
15	284	384	4855	589	664	800	908
20	289	389	491	594	699	806	913
25	294	394	496	599	7045	811	918
30	299	399	501	6045	710	816	924
35	304	404	506	610	715	822	929
40	309	409	511	615	720	827	935
45	314	414	516	620	726	832	940
50	319	419	5215	6255	731	838	946
55	324	424	527	631	736	843	951
60	329	429	532	636	742	848	956
65	334	434	537	641	747	854	962
70	339	439	542	646	752	859	967
75	344	444	547	652	758	865	973
80	349	450	5525	657	763	870	978
85	354	455	58	662	768	875	984
90	359	460	563	6675	774	881	989
95	364	465	568	673	779	886	9945

V tej tabeli so zabeleženi poleg molarosti tudi aktivitetni koeficienti. Ti so v mešanica elektrolitov z vodo in alkoholom ali z vodo in acetonom drugačni kakor pri čisto vodni raztopini. Wo. Ostwald¹⁴ navaja, da je treba računati v takih mešanica aktivitetni koeficient s konstanto 0,55 namesto s konstanto 0,505, torej po enačbi $f = 0,55 \cdot z \cdot \sqrt{u/n}$.

$$\sqrt{u/n}.$$

Preračunavanje teh koeficientov olajšuje tabela V, za katero se imamo zahvaliti A. Peterlinu.

¹⁴ Wo. Ostwald Kolloid Zeitschr. 81, 53 (1937).

Tabela VI.

Koagulacija amiloz po elektrolitih v navzočnosti acetona ali alkohola

2 ccm amiloz + 0.21 ccm acetona (98.5%) + 0.75 elektrolita. 2 ccm amiloz + 0.19 ccm alkohola (96%) + 0.75 ccm elektrolita. Amiloza = 0.4 %. $T = 18^{\circ}\text{C}$.

Molarnost		0	$7.5 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$7 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$7 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$7 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$7 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-1}$
KCl 1-1	norm.		$7.5 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$7 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$7 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$7 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-2}$		$2 \cdot 10^{-1}$
	f +		0.998	0.997	0.996	0.9945	0.991	0.984	0.966	0.946	0.897	0.838		0.570
	*minut	180	135	133	133	131	126	125	120	86	60	209		∞
$MgCl_2$ 2-1 ₂	norm.		$1.5 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-6}$	$1.4 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-5}$	$1.4 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-4}$	$1.4 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$1.4 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$1.4 \cdot 10^{-1}$	
	f +		0.992	0.987	0.976	0.962	0.930	0.883	0.792	0.678	0.475	0.293		
	minut	135	168	135	117	90	78	66	66	60	69	107	∞	
$AlCl_3$ 3-1 ₈	norm.		$2.25 \cdot 10^{-6}$	$6 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$6 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$6 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-1}$	$6 \cdot 10^{-1}$
	f +		0.977	0.962	0.927	0.883	0.790	0.676	0.474	0.289				
	minut	100	145	139	121	111	105	108	106	104	106	100	125	∞
$ThCl_4$ 4-1 ₄	norm.		$3 \cdot 10^{-6}$	$8 \cdot 10^{-6}$	$2.8 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-5}$	$2.8 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-4}$	$2.8 \cdot 10^{-3}$	$8 \cdot 10^{-3}$	$2.8 \cdot 10^{-2}$	$8 \cdot 10^{-2}$	$2.8 \cdot 10^{-1}$	
	f +		0.948	0.913	0.845	0.752	0.592	0.407	0.290					
	minut	105	158	105	42	49	66	74	105	108	125	120	∞	
$Hexol$ 6-1 ₆	norm.		$4.5 \cdot 10^{-6}$	$1.2 \cdot 10^{-5}$	$4.2 \cdot 10^{-5}$	$1.2 \cdot 10^{-4}$	$4.2 \cdot 10^{-4}$	$1.2 \cdot 10^{-3}$	$4.2 \cdot 10^{-3}$	$1.2 \cdot 10^{-2}$	$4.2 \cdot 10^{-2}$			
	f +		0.840	0.744	0.584	0.394								
	minut	176	177	169	146	169	161	180	157	157	∞			

Na_2SO_4 1 ₂ -2	norm		1·5.10 ⁻⁶	4·10 ⁻⁶	1·4.10 ⁻⁵	4·10 ⁻⁵	1·4.10 ⁻⁴	4.10 ⁻⁴	1·4.10 ⁻³	4.10 ⁻³	1·4.10 ⁻²	4.10 ⁻²		
	f +		0·997	0·996	0·9945	0·991	0·988	0·978	0·958	0·933	0·877	0·805	0·664	0·504
	minut	208	228	200	206	189	197	189	211	209	209	∞		
$MgSO_4$ 2-2	norm.		1·5.10 ⁻⁶	5.10 ⁻⁶	1·4.10 ⁻⁵	4.10 ⁻⁵	1·4.10 ⁻⁴	4.10 ⁻⁴	1·4.10 ⁻³	4.10 ⁻³	1·4.10 ⁻²	4.10 ⁻²	1·4.10 ⁻¹	4.10 ⁻¹
	f +		0·992	0·986	0·972	0·955	0·919	0·868	0·766	0·641	0·429			
	minut	140	102	102	94	91	86	81	75	62	48	44	38	33
$Al_2(SO_4)_3$ 3 ₂ -2 ₈	norm.		4·5.10 ⁻⁶	1·2.10 ⁻⁵	4·2.10 ⁻⁵	1·2.10 ⁻⁴	4·2.10 ⁻⁴	1·2.10 ⁻³	4·2.10 ⁻³	1·2.10 ⁻²	4·2.10 ⁻²	1·2.10 ⁻¹	4·2.10 ⁻¹	
	f +		0·975	0·957	0·920	0·870	0·774	0·648	0·438					
	minut	210	133	133	130	124	121	111	136	124	106	87	∞	
K_3FeCy_6 1 ₈ -3	norm.		2·25.10 ⁻⁶	6·10 ⁻⁶	2·1.10 ⁻⁵	6·10 ⁻⁵	2·1.10 ⁻⁴	6·10 ⁻⁴	2·1.10 ⁻³	6·10 ⁻³	2·1.10 ⁻²	6·10 ⁻²	2·1.10 ⁻¹	
	f +		0·996	0·9935	0·992	0·990	0·985	0·975	0·953	0·919	0·861	0·778	0·621	0·453
	minut	112	84	84	96	78	75	93	102	77	74	105	∞	
K_4FeCy_6 1 ₄ -4	norm.		3.10 ⁻⁶	8.10 ⁻⁶	28.10 ⁻⁵	8.10 ⁻⁵	28.10 ⁻⁴	8.10 ⁻⁴	28.10 ⁻³	8.10 ⁻³	28.10 ⁻²	8.10 ⁻²		
	f +		0·996	0·992	0·991	0·989	0·984	0·969	0·947	0·912	0·847	0·744	0·592	0·412
	minut	106		90	75	80	75	75	70	66	84	∞		

A l k o h o l

KCl 1-1	norm.		7·5.10 ⁻⁷	2.10 ⁻⁶	7.10 ⁻⁶	2.10 ⁻⁵	7.10 ⁻⁵	2.10 ⁻⁴	7.10 ⁻⁴	2.10 ⁻³	7.10 ⁻³	2.10 ⁻²	7.10 ⁻²	
	f +		0·998	0·997	0·996	0·9945	0·991	0·984	0·966	0·946	0·897	0·838	0·717	0·570
	*minut	70	71	88	57	42	40	46	43	40	41	68	∞	
Na_2SO_4 1 ₂ -2	norm.		1·5.10 ⁻⁶	4·10 ⁻⁶	1·4.10 ⁻⁵	4.10 ⁻⁵	1·4.10 ⁻⁴	4.10 ⁻⁴	1·4.10 ⁻³	4.10 ⁻³	1·4.10 ⁻²	4.10 ⁻²	1·4.10 ⁻¹	
	f +		0·997	0·996	0·9945	0·991	0·988	0·978	0·958	0·933	0·877	0·805	0·664	0·504
	minut	105	135	55	65	47	55	55	54	53	57	60	∞	

* Čas přičetka koagulace v minutah.

Pregled kaže, da vobče elektroliti v nizkih koncentracijah pospešujejo koagulacijo amiloz iz vodno-acetonskih in vodno-alkoholnih solov. Pri nekaterih solih v zelo majhnih koncentracijah zasledujemo začetkoma nekako stabilizacijo, potem sledi koncentracijsko območje, v katerem ni videti večjega vpliva na koagulacijo, in končno sledijo koncentracije, v katerih elektroliti izpadanje ovirajo. Izjemo delata magnezijev sulfat in aluminijev sulfat, pri katerih stabilizacije ni.

Iz tabele VI se dokaj jasno vidi, da se pomika pri solih z enovalentnimi anioni favorizacijska zona z rastočo valencko. kationa v nižje koncentracije. Valenčni vpliv se torej tudi v pričujočem primeru zrcali v favorizaciji koagulacije.

Anioni imajo svoje posebne vplive, vendar dani eksperimentalni material ne zadostuje, da bi iz njega izvajali kake pravilnosti.

V tabeli VI so za vsako sol pripisani tudi aktivitetni koeficienti. Že površni pregled kaže, da ta konstanta za variacijo izpadanja amiloz po acetonu ali alkoholu nima pomena. tako je n. pr. pri kalijevem hloridu maksimum koagulacije pri koeficientu 0,95—0,87, pri magnezijevem hloridu pri 0,88—0,47 in pri aluminijevem hloridu v območju koeficientov 0,79—0,29! Podoben je položaj pri drugih elektrolitih in pri alkoholu kot obarjalnem sredstvu.

Diskusija.

Opisani poizkusi dokazujejo velik vpliv elektrolitov na koloidno stanje amiloz. Smer njihovega učinka se z rastočo koncentracijo elektrolita izpreminja. Viskoznost na dodatek majhnih količin elektrolita pada, ob navzočnosti večjih količin raste. Spontano koagulacijo elektroliti vobče pospešujejo, v nekaterih primerih pa jo ovirajo. Izpadanje po organskih topilih majhne količine elektrolitov favorizirajo, medtem ko imajo v večjih koncentracijah vlogo stabilizatorja.

Vse te fenomene razumemo, če upoštevamo z elektroliti povzročeno izpremembo električnega stanja na površini delcev in z njihovo adsorpcijo provzročene izpremembe v hidrataciji. Prvi učinek je posebno viden v nizkih koncentraci-

jah, drugi v višjih. Ostrega prehoda ni, zato je analiza posameznih prikazni dostikrat težka. V številnih primerih se stopnjuje učinek elektrolita jasno z valenco kationa. Njegova izmera pa ni tako velika, da bi se smeli ozirati le na medsebojne ionalne sile v elektrolitskem miljeju in se zadovoljiti z opisovanjem eksperimentalnih rezultatov izključno na podlagi aktivitetnih koeficientov. Amiloze grede pač med tiste vmesne koloide, pri katerih igrajo tako električni naboji kakor tudi hidratacija svojo vlogo. Zato se imamo pri tolmačenju eksperimentov ozirati tako na izpremembo na površini delcev kakor tudi na elektrolitski milje.

SUMMARY

Colloidal state of amyloses and its dependence on electrolyte

By M. Samec with assistance of M. Ferlan

Chemical Laboratory, Academy of Sciences and Arts, Ljubljana

As on other colloids we observe on starch also a great influence of electrolyte on its colloidal state. As the starch grains, starch glue, its solution and solutions of soluble starches are not homogeneous as to organic constitution, and as they contain different ionogenous groups, experiments on them cannot be interpreted easily. In this paper we have repeated our studies on the influence of electrolyte on amyloses. This starch fraction is a mixture of polymeric homologous 1—4 polyglucosans. Linked ionogenous groups are not existing but in spite of that the amyloses carry clear negative OH-groups and -O- groups.

Characteristic colloidal changes that served to measure the influence of electrolyte are: 1. viscosity, 2. symptoms of oldening, and 3. coagulation by the presence of acetone or alcohol.

1. We obtained by electrodialysis 2—3 per cent starch solution which had been boiled half an hour at 120° C. By this procedure amylopectine deposits in form of jelly, amyloses remain in the solution.

Viscosity of freshly prepared amyloses-sols decreases for a time (figure 1). Upon adding of electrolytes in small concentrations viscosity falls, in larger concentrations of electrolyte in numerous instances it increases (Table III, figure 2, 3, and 5).

Such decreasing of viscosity of soluble starch solutions was observed by J. G. Bungenberg de Jong, which he interpreted as a con-

sequence of changes in electrical charges on micelles, which are — according to Smulchowsky's formula — also responsible for viscosity of colloidal sols (Page formula 1).

By equal normalities the effect of cat-ions is the greater the higher the valencies of the ion. This fact that can be observed on numerous colloids, has been interpreted by Wo. Ostwald with the hypothesis that the colloid state especially of the lyophobic colloids standardizes more the whole of the electrolytical environment than the ions themselves. Forces that are acting in this environment (Fig. 4) have been characterized by Ostwald according to activity coefficient of electrolyte (Fig. 4). On the table III and Fig. 5b we see that the viscosity curves that had been composed on base of activity coefficient are far closer than by the arrangement according to normalities. We interpret the increase of viscosity in larger concentrations of electrolyte similarly as the influence of electrolyte upon viscosity of starch grains (M. Samec, J. van de Hoeve, H. G. Bungenberg de Jong, and H. R. Katz). We imagin that ions on the surface of colloidal particles draw down hydrate water. By increasing of the hydration of the micelles the viscosity increases.

2. By oldening of amyloses-sols their viscosity decreases. The turbidness slowly increases and finally amyloses coagulate. We measured the amount of coagulated substance, the time that passes until turbidness takes place, the time to the beginning of coagulation and volume of coagulated substance. The Table IV and Fig. 6 show that electrolytes have a profound influence on the amount of coagulated amyloses. The majority of electrolytes favour the coagulation, in some instances, however, by certain concentrations they also hinder it. Effects of particular sols come to effect by different concentrations (Fig. 6 a), but they are moving towards one another if we consider the activity coefficient of cat-ion (Fig. 6 b). Duration at which turbidness appears on adding of electrolytes, at first increases, and by some sols, after passing a maximum, decreases again. Activity-coefficient has no visible influence here. It seems that for the speed of turbidness hydration is responsible in the first place, while for the amount of eliminated substance also the electrical charge of micelle. The volume of coagulant is various. It depends on amount of the coagulated substance and of its hydration (Table IV).

3. After addition of organic solvents amyloses-sols coagulate. In our experiments we mixed so many sols with a small amount of acetone or alcohol and water electrolyte respectively that the fluid coagulated in few hours. Table 5 shows that the majority of the electrolytes examined accelerate the coagulation of amyloses in the presence of acetone or alcohol in low concentrations, in high ones, however, they hinder or impede it.

The acceleration of coagulation is seen in lower concentrations of electrolytes the higher the valency of cations. Anions have their particular influences, still, material at disposal was not sufficient for far reaching conclusions.

Activity-coefficient for description of influence of electrolytes on coagulation by acetone or alcohol has no significance. Amyloses are counted to that order of colloids where electric charges, as well as hydration, are responsible for their stability. In order to understand the influences of electrolyte following is to be applied: theories on changes in charges of electric double layer, theory on adsorption of ions and hydration therewith connected, and, partly, the theory on importance of the whole electrolytic environment that is characterized by the activity-coefficient.

HIDROLIZA RIŽEVIH LUSKIN

M. Samec in M. Ferlan ob sodelovanju A. Pajk.

Kemični laboratorij Akademije znanosti in umetnosti v Ljubljani.

(Delo izvršeno v kemičnem inštitutu univerze na iniciativo in ob subvenciji
luščilnice riža v Ljubljani.)

Pri luščenju riža odpadajoče luskinе pomenjajo za podjetje večinoma zelo neprijetno breme. Po svoji veliki prostornini potrebujejo za shranjevanje neprimerno veliko prostora, lahke so, tako da jih pri ležanju na prostem veter raznaša in nadlegujejo okolico. Nekatera podjetja jih kratkomalo na prostem sežgo, kar pa je zvezano s težkočami, ker material zelo slabo gori. Druga podjetja jih oddajajo kmetom za steljo v hlevih.

Naravno je, da ni manjkalo poizkusov za racionalno izrabo tega v ogromnih količinah odpadajočega materiala.

F. Scurti in C. E. Zay¹ sta na primer dognala, da nastaja pri destilaciji z kondenzirajočimi kislinami na 1 kg luskin 40 g furfurola in 110 g natrijevega acetata.

J. Marcuson in N. Picard² sta proučevala njihovo razkrojno destilacijo. Dobila sta 6 procentov katranskega olja, 33,3 procentov vodenih produktov, s 4 procenti očetne kisline, 20 procentov plinov in 41 procentov ogljenega ostanka, ki pa za razbarvanje ne prihaja v poštev. H. Wiedemann³ je patentiral izrabo luskin na podlagi razkrojne destilacije in Forrest J. Rankin⁴ je skušal dobivati iz njih oksalno kislino potom oksidacije s solitrno kislino.

V novejšem času so konstruirali posebne generatorje, v katerih luskinе uplinijo in jih tako izrabijo za proizvodnjo

¹ F. Scurti in C. E. Zay Staz. sperimentale agrar. ital. **54**, 278 (1919).

² J. Marcuson in N. Picard Chemiker Zeitung **47**, 585 (1923).

³ H. Wiedemann Angleški patent 185083 iz leta 1922; Chem. Centralblatt 1924 I 2842.

⁴ Forrest J. Rankin U. S. A. Pat. 1,520.885 iz leta 1924. Chem. Centralblatt 1925 I 1366.

energije. Kako se bo ta postopek obnesel tudi v normalnih gospodarskih prilikah, bodo pokazala prihodnja leta.

Sestava luskin, kakor le-te odpadajo v tukajšnjem podjetju, je sledeča:

Vlaga	12,4 proc.
Pepel	17,24 „
Organske snovi	70,36 „

in sicer 23,0 proc. pentoz in 47,4% ostalih organskih snovi.

Pepel vsebuje 93,91 proc. SiO_2 in 6,09 alkalij ter zemeljskih alkalij.

J. Cabrera in E. Piccoli⁵ sta ga skušala izrabiti za fabrikacijo alkali-silikatov.

Iz organskega dela luskin je izoliral Susumu Hirai⁶ 1,03 proc. in 0,16 proc. reducirajočih sladkorjev (računanih kakor saharoza).

Z ozirom na to, da je tehnika saharifikacije raznega celuloznega materiala v novejšem času zelo napredovala, smo proučili potek hidrolize riževih luskin pod vplivom kislin in to 1. žveplene kisline s predhodnim breknjenjem, 2. koncentrirane solne kisline pri nizkih temperaturah in 3. razredčene žveplene kisline pri visokih temperaturah.

Ker vsebujejo riževe luskin izredno veliko kremikove kisline, metode izdelane za saharifikacijo lesnih odpadkov ne bi utegnile biti direktno uporabne tudi za usladkorjenje luskin. Zato je bilo treba vsak postopek na novem materialu posebej preštudirati.

1. Breknjenje s koncentrirano in hidroliza z razredčeno žvepleno kislino.

Kakor znano, prehaja celuloza pod vplivom koncentrirane žveplene kisline v glukozo⁷. Proces poteka v dveh stopnjah. Najprvo nastajajo celulozni estri žveplene kisline, ki pri kuhanju po razredčenju prehajajo v sladkor. Flechsig⁸ je dobil iz celuloze 98 procentov sladkorja, ako jo je obdelaval s 6—8 deli 72 procentne žveplene kisline, razredčil kislino na

⁵ J. Cabrera in E. Piccoli It. Pat. 326524 Chem. Centralblatt 1937 I 1754

⁶ Susumu Hirai Ber. ges. Physiol. 34, 491 (1926).

⁷ Braconnot Ann. Chim. 12, 172 (1819).

⁸ Flechsig Zeitschr. physiol. Chem. 7, 913 (1882/3).

2¹/₂ procenta in kuhal 5—10 ur. Enake rezultate sta dosegla H. Ost in L. Wilkening⁹ kakor tudi H. Ost in Th. Brodtkorb¹⁰. Z zvišanjem temperature se čas saharifikacije zelo skrajša. Tako zadostujeta pri 120° C za saharifikacijo 1 do 2 uri. Višje temperature povzročajo delni razkroj nastalega sladkorja, tako da nastopa levulin = kislina, mravljična kislina i. dr.

Četudi pri velikih količinah potrebne žveplene kisline ta postopek v praksi vkljub vsem reševalnim poizkusom ne prihaja v poštev, smo najprvo študirali ta potek, ker smo pričakovali, da s previdno menjavo pogojev najlažje dobimo vpogled, koliko sladkorjev se iz danega materiala sploh dobiti more.

V predpoizkusih smo se naslanjali na naše svoječasne preiskave o celuloznih dekstrinih (M. Samec in J. Matula¹¹).

Dano količino luskin smo pomešali z visoko koncentrirano žvepleno kislino, zmes smo pustili reagirati nekaj minut pri sobni temperaturi. Z dodatkom vode smo znižali koncentracijo kisline na 10 procentov, kuhali nekaj ur, ohlajeno reakcijsko zmes filtrirali, izprali filtrivni preostanek kvantitativno z vročo vodo, nevtralizirali filtrat, dopolnili volumen na primerno količino in titrirali reducirajoče sladkorje po Bertrandu. Rezultat smo računali kakor glukozo in to v procentih suhih luskin in v procentih v luskinah navzoče organske snovi.

Že pri prvih poizkusih se je neprijetno uveljavljalo neugodno razmerje med težo in volumom luskin. Saj zavzema 250 g luskin približno volumen 1000 ccm. Da potopimo luskin docela v kislino, potrebujemo 15—20 kratni volumen kisline!

Poizkusi, zmanjšati »mrtvi« prostor med luskinami z drobljenjem materiala so ostajali početkoma brez izgleda, ker ni bilo najti postopka, ki bi omogočal racionalno mletje luskin. Šele ugotovitev, da se to posreči po predhodnem osušenju, je odprla pot naprej. Pri zmletem materialu zadostuje za popolno potopitev 4—5 kratni volumen kisline. Obremenitev, katero predstavlja sušenje in drobljenje, se izenačuje z boljšim pridobitkom na sladkorjih. (Tabela I).

⁹ H. Ost in L. Wilkening Chem. Zeitg. 34, 461 (1910).

¹⁰ H. Ost in Th. Brodtkorb. Chem. Zeitg. 35, 1124 (1911).

¹¹ M. Samec in J. Matula Kolloidchem. Beih. 11, 37 (1919).

Tabela I.

Vpliv drobljenja in sušenja

Luskine breknjene z 20 kratno količino 85 procentne H_2SO_4 , hidrolizirane v 10 procentni kislini 5 ur pri 100° , pred titracijo nevtralizirano z $NaOH$.

Oblika materiala	Čas breknjenja	Glukoza v procentih	
		surovih lusk	organske snovi v luskah
Nezdrobljen (nesušen)	5 minut	21	30
Zdrobljen (nesušen)	3 minute	30	43

V 10 procentni žvepleni kislini je hidroliza pri $100^{\circ}C$ v 5 urah precej zaključena. Podaljšanje hidrolize ne stoji v nikakem soglasju zboljšanjem pridobitka. (Tabela II).

Tabela II.

Trajanje hidrolize in pridobitev sladkorja

Nesušen, zdrobljen material, breknjen 3 minute s 15 kratnim volumom 90 procentne H_2SO_4 , hidroliziran z 10 procentno kislino pred titracijo nevtralizirano z $NaOH$.

Način hidrolize	Glukoza v procentih	
	zračno vlažnih lupin	organskih snovi v lupinah
5 ur	37	53
15 ur	39	55

Zvišanje temperature hidrolize skrajšuje za hidrolizo potreben čas. Pri 120° dosežemo v $\frac{1}{2}$ uri isti rezultat kakor v 5 urah pri 100° . (Tabela III.).

Tabela III.

Temperatura pri hidrolizi in pridobitek sladkorjev

Osušen, zdrobljen material, breknjen 3 minute s 25 kratnim volumom 92 procentne H_2SO_4 , hidroliziran v 10 procentni kislini. Kislina odpravljena kakor $CaSO_4$.

Način hidrolize	Glukoza v procentih	
	suhih lupin	organske snovi v lupinah
5 ur pri 100°	24	30
$\frac{1}{2}$ ure pri 120°	25	31

V svojem delu o celuloznih dekstrinih smo spoznali, da eksistira pri breknjenju z jako žvepleno kislino neka optimalna koncentracija. Nad to uničuje kislina preveč organskega materiala, pod njo pa je razklop premalo dalekosežen.

Za riževe luskinе so optimalni pogoji: breknjenje s 85 procentno žvepleno kislino v 9 minutah. (Tabela IV.).

Tabela IV.

Koncentracija breknilne kisline in trajanje breknjenja

Suh, zdrobljen material, breknjen s 5 kratnim volumom brezvodne H_2SO_4 . Po breknjenju razredčeno na 10 proc. H_2SO_4 , hidrolizirano 5 ur pri 100^0 C. Ostanek filtriran, izpran z vročo vodo, filtrat nevtraliziran z baritovico, ponovno filtriran izpran, razredčen na 250 ccm, sladkor določen po Bertrandu.

Koncentracija kisline v procentih	Trajanje breknjenja v minutah	Procenti glukoze v		
		reakcijski zmesi	suih lupin	organski substanci lupin
92	3	0,6	30	37
	6	0,6	31	39
	9	0,8	40	50
90	3	0,8	40	50
	6	0,7	34	42
	9	0,9	43	54
85	3	0,8	39	49
	6	0,9	46	57
	9	0,0	48	60
80	3	0,5	25	31
	6	0,7	33	41
	9	0,7	35	44
75	3	0,5	26	32
	6	0,6	27	34
	9	0,6	29	36
70	3	0,5	23	29
	6	0,6	27	34
	9	0,6	30	37

Ako računamo redukcijsko zmožnost pod temi pogoji dobljene raztopine na glukozo, sledi, da se raztaplja 60 proc. celokupne organske snovi luskin.

Da se orientiramo približno o lastnostih izluženih snovi, smo izvršili poizkuse v večjem obsegu. V primer navajamo iz cele serije dva.

1. 100 g osušenih in zmletih luskin smo breknili s 420 g 85 procentne žveplene kisline 4 minute, dodali 3800 ccm vode, kuhali 5 ur, oborili kislino s $Ca(OH)_2$, koncentrirali v vakuumu in odstranili izpadle snovi s centrifugiranjem. Rezultira rumeno-rjava tekočina, kateri kostno oglje vzame

temno barvo. Svetlorumena tekočina vsebuje 5,66 procentov reducirajočih snovi — računanih kakor glukoza — ima prijeten sladek okus, nekoliko po karamelu. Daje rumenorjav osazon s tališčem 187°C in močno reakcijo na pentoze.

2. 200 g sušenih, zmletih luskin smo mečkali 6 minut z 236 g 85 procentne žveplene kisline, razredčili z 2000 ccm vode, kuhali 5 ur, nevtralizirali z baritovico in koncentrirali v vakuumu. Rezultira 9,5 procentna sladkorna raztopina (računano iz redukcije po Bertrandu kakor glukoza). Po razbarvanju s kostnim ogljem smo dobili svetlorumeno tekočino. Osazon je svetlorumen, tališče 197°C , reakcija na pentoze zelo močna. Po izhlapienju preostane rumenkasta kristalinična tvarina prijetno sladkega okusa, ki spominja nekoliko na karamel. V eni fazi je povrelo z navadnimi kvasovkami 6,3 procenke, z aklimatiziranimi kvasovkami 7,5 procenta, v drugi fazi je povrelo vse.

V laboratorijsko preparativnem oziru so opisani poizkusi si docela zadovoljivi. Predvsem razveseljivo je dejstvo, da z baritovico očiščena reakcijska zmes gladko fermentativno povre. Vendar glede na tehnično neuporabnost te metode poizkusov na tej osnovi nismo nadaljevali.

2. Saharifikacija s koncentrirano solno kislino.

Béchamp¹² je že leta 1856. spoznal, da se celuloza raztaplja v kadeči se solni kislini in da tvori sladkorje. Dangevilliers¹³ je skušal reakcijo tehnično izrabiti. Kasneje sta Willstätter in Zechmeister¹⁴ ugotovila, da je za primeren uspeh potrebna zelo visoko koncentrirana kislina. Kajti 38,2 procentna solna kislina celulozo le gelatinira, kislina z 39,9 proc. HCl topi 7 procentov celuloze, 40,8 procentna 12—13 procentov, in šele 41,1 procentna kislina topi 15 procentov celuloze. Prvotno nastala raztopina polagoma prehaja v sladkor; po literaturnih podatkih je mogoče dvigniti pridobitek na 95—96 procentov teoretičnega pridobitka.

V sledečih opisanih poizkusih smo skušali izrabiti navedeni postopek za usladkorjenje riževih luskin.

¹² Béchamp Compt. rend-Acad. Sci. Paris 42, 1210 (1856).

¹³ Dangevilliers F. Pat. 131023 iz leta 1881.

¹⁴ H. Willstätter in Zechmeister Ber. deutsch. chem. Ges. 43, 23 (1914).

Takoj početkoma smo ugotovili, da že 38,2 procentna solna kislina pri 5^o C napada luskinе. Barva zmesi postaja črna, material razpada na male drobce. (Tabela V.).

Tabela V.

Zračno vlažne nezdroljene luskinе in 38,2 proc. solne kisline

10 delov kisline učinkuje na 1 del osin pri 5^o C.

Čas učinkovanja v urah	24	48	72	96
Videz	Barva črna, material razpada v male delce			
Proc. titrirane glukoze v reakcijski zmesi	1,5	1,8	2,0	2,3
Titrirana glukoza zračno vlažnih luskin v procentih	14,9	17,9	20,2	23,2
Titrirana glukoza organske snovi vlažnih luskin v procentih	21,2	25,4	28,7	33,0

V 96 urah preide 33 procentov organske snovi v reducirajoče sladkorje (računano kakor glukoza).

Potek breknjenja in raztapljanja je razviden iz tabele VI., ki se nanaša na sušen in zmlet material. Pridobitek je v tem primeru po 96 urah nekoliko boljši kakor pri uporabi nesušenih luskin, ker odpada razredčevalni vpliv v luskinah navzoče vlage.

Tabela VI.

10 delov 38,2 procentne solne kisline učinkuje na 1 del pri 120^o C sušenih zmletih luskin pri 5^o C.

Čas učinkovanja v urah	Videz	Procenti reducirajočih snovi računanih kakor glukoza		
		v reakcijski zmesi	v suhih luskinah	v org. snovi suhih luskin
1/2	Barva neizpremenjena, zelo viskozno	0,2	1,5	1,9
1		0,2	2,1	2,6
2		1,2	11,5	14,3
3		1,2	11,8	14,7
4	Barva rjava, manj viskozno	1,4	14,2	17,7
5		1,7	17,0	21,2
6		1,8	18,0	22,4
7		1,7	16,7	20,8
8	Barva rjava, manj viskozno	1,7	17,2	21,4
16		1,8	17,9	22,3
20		2,0	19,5	24,3
24		2,2	22,2	27,7
48	Barva črna, zmes lahko gibljiva	2,7	27,3	34,0
72		3,1	31,0	38,6
96		3,0	30,0	37,4

Številke kažejo, da izluži koncentrirana solna kislina v enem postopku iz riževih luskin znatno več reducirajočih snovi (ca 38 procentov) kakor iz celuloze (7 procentov pri koncentraciji 39,9 proc.). Kakor je dokazal Hägglund za more zmes kisline in sladkorja, ki za les, s katerim je v dotiki, nima nikake topilne moči več raztapljati iz svežega lesa nove količine sladkorja; po upostavitvi »ravnomočja« saharificira ta novo dobljena zmes v svežem lesu zopet izdatne količine celuloze, tako da po nekakem protitočnem principu pridemo do razmeroma sladkorja bogatih tekočin (Goldschmidt Akt. Geş. D. R. P. 391969).

Pri postopku »Rheinau« so v 18. »difuzijskih« aparatih dospeli do 28 procentne sladkorne raztopine, ki je vsebovala 23–24 procentov HCl .

Ker se v takih napravah kislina polagoma razredčuje in s tem izgublja po svoji učinkovitosti, je priporočljivo, da dodajamo v posameznih fazah reakcijski zmesi sveže kisline.

Vpogled v potek postopnega izluževanja riževih luskin s solno kislino podajajo sledeče tabele.

Pri teh poizkusih smo izhajali iz nesušenih in nezdobljenih luskin. Na 20 g smo dali, naj učinkuje 200 ccm 38,2 procentne solne kisline pri sobni temperaturi 4 dni (96 ur). Tekočino smo odcentrifugirali, določili težo trdnega preostanka in njegovo suho substanco. Pri vseh sledečih reakcijskih fazah smo se držali razmerja luskin: kisline = 1 : 10. V vsaki reakcijski tekočini smo po nevtralizaciji določili redukcijsko zmožnost po Bertrandu in računali iz nje glukozo ter ugotovili vsebino kisline za HCl .

Tabela VII.

Vpliv več ali manj rabljene kisline na sveže luskinе

Razmerje luskin : kislini = 1 : 10. $T = 20^{\circ}C$. Čas luženja 96 ur.

Volum kisline ccm	Koncentracija kisline	Množina luskin v g	Glukoza	HCl
			po luženju v procentih	
200	38,2	20	3,8	37,0
110	37,0	11	5,4	35,1
80	35,1	8	6,7	31,2
40	31,2	4	7,6	28,8

Tabela VIII.

Vpliv sveže kisline na več ali manj izlužene luskine

Pogoji kakor pri VII.

Volum kisline ccm	Koncentracija kisline	Teža	Karakteristika luskin	Glukoza	HCl
				v procentih	
200	38,2	20 g	sveže	3,8	37,0
140	38,2	14 g	1 krat izlužene	1,3	36,4
120	38,2	12 g	2 krat izlužene	0,5	37,2
100	38,2	10 g	3 krat izlužene	0,1	37,9

Tabela IX.

1 krat izlužene luskine in sveža kislina

Pogoji kakor pri VII.

Volum kisline ccm	Koncentracija kisline	Teža	Karakteristika luskin	Glukoza	HCl
				v procentih	
140	38,2	14 g	1 krat izlužene	1,3	36,4
130	38,2	13 g	sveže	3,14	23,3
60	38,2	6 g	sveže	4,6	30,7

Tabela X.

2 krat izlužene luskine in sveža kislina

Pogoji kakor pri VII.

Volum kisline ccm	Koncentracija kisline	Teža	Karakteristika luskin	Glukoza	HCl
				v procentih	
120	38,2	12 g	2 krat izlužene	0,5	37,2
110	38,2	11 g	sveže	2,1	34,1

Iz teh podatkov sledi tole:

1. Pri učinkovanju rabljene solne kisline na sveže luskinе prehaja nova sladkorna materija v raztopino. V 4 stopnjah naraste koncentracija »glukoze« na 7,6 procentov, doseže torej za kipenje uporabno mejo.

2. Deloma izlužene luskinе oddajajo na svežo kislino nove količine »glukoze«. V 4. stopnji dobi lužina le še 0,1 procent »glukoze«.

3. Kislina se pri učinkovanju na sveže luskinе postopoma razredčuje in s tem izgublja svojo izluževalno moč. Pri dotiki z rabljenimi luskinami je razredčevanje smiselno mnogo slabše.

Ves potek reakcije luskin s solno kislino je torej v bistvu kongruenten z analogno reakcijo pri lesu in bi bilo mogoče v principu izrabljati vse tam dobljene izkušnje. Neugoden je pa za luženje potreben čas. Pri saharifikaciji lesa po postopku »Rheinau« traja na primer prva izluževalna stopnja le 8 ur, medtem ko je znašal pri naših poizkusih za dosego »ravnomočja« potreben čas 96 ur! Seveda smo mi operirali z 38 procentno kislino, medtem ko »Rheinau« postopek izhaja iz 40 procentne kisline.

Metodika za odstranjevanje kisline in eventualno koncentriranje »glukozne« raztopine je tehnično izdelana in bi se dala pri saharifikaciji riževih luskin neposredno izrabiti. Poudarjati moramo, da kažejo naši sladkorni ekstrakti tudi pri koncentriranju v vakuumu posebno nagnjenost k ogljenjenju.

3. Saharifikacija z razredčeno žvepleno kislino.

Usladkorjenje celuloze s koncentrirano solno kislino so tehnično izrabljali in to v obliki postopka Rheinau in Prodor. Ima pa ta metoda nedostatek da skoro ni materiala, ki bi trajno zadržal neoškodovan dotiko s solno kislino, take jakosti, kakor to zahteva saharifikacija. Zato so skušali dospeti do cilja ob uporabi razredčenih kislin, a to pri visokih temperaturah.

Za prve tozadevne poizkuse se imamo zahvaliti Melsensu (1885) in Simonsenu (1894—98). Med prejšnjo svetovno vojno so pridobivali sladkor iz lesa s približno 0,5 procentno žvepleno kislino pri ca 168°, in to v Dupontu (Georgetown, Južna Carolina), Fillertownu (Missouri) in v Nemčiji. Delali so v kroglastih digestorjih, ki so sprejeli 4000 kg žganja. Po končani vojni so fabrikacijo opustili, ker ni bila dovolj rentabilna. Predvsem gre preveč sladkorja pri trajnem učinku vroče kisline v izgubo. Temu nedostatku odpomore ideja H. Schollerja¹⁵, ki saharificira celulozo potom perkolacije pod visokim tlakom in pri visoki temperaturi. Bistvo postopka leži v tem, da teče izluževalna tekočina preko materiala, ki naj ga usladkujemo le nekaj časa, in da stoji pred sledečim dotikom s kislino material pod visokim tlakom pare. Scholler se v svojih patentih ozira tudi na luskine.

Tej moderni saharifikacijski metodi smo posvetili posebno pažnjo. Svoje poizkuse smo delali — dokler je šlo za male količine — v steklenih bombnih ceveh, ki smo jih razgrevali v običajni bombni peči, kasneje nam je služil visokotlačni avtoklav z vložki iz raznega materiala (steklo, porcelan, baker, svinec).

S poizkusno serijo, ki jo ilustrira tabela XI, smo dognali, da je najbolj ugodna 0,9—1,9 procentna kislikna. Da štedimo kislino, smo delali po večini z 0,8—0,9 procentno kislino.

Tabela XI.

Koncentracija žveplene kisline in pridobitek reducirajočih snovi

2 g zračno suhih, nezdobljenih luskin kuhamo z 10 ccm kisline 1 uro pri 170°.

Koncentracija kisline v proc.	Procenti glukoze v reakcijski zmesi	V luskinah	Organske snovi luskin	Ostanek procenti
3,8	3,0	14,6	20,8	65
1,9	3,5	17,8	25,3	65
0,9	3,5	17,7	25,2	65
0,45	3,2	16,0	22,7	65
0,30	3,0	14,9	21,2	65
0,25	2,5	12,5	17,8	65
0,18	2,1	10,5	14,9	62

Temperatura je znašala 170—180° C.

¹⁵ H. Scholler D. R. P. 607479, 643050, 644500, 656053.

Iz tabele XII je razvidno, da smo dosegli optimalni pri-
dobitek na sladkorju, ako je reagiralo 10 delov kisline na 2
dela luskin.

Tabela XII.

Variacija razmerja luskin : kislini

Zračno vlažne luskinе, koncentracija kisline 0,8 proc., kuhano 3 ure
pri 170° C.

Grami luskin cem kisline	0,1 : 10	1,0 : 10	2 : 10	2,5 : 10	3 : 10
Videz trdne snovi	rjav	temno- rjav	rjavo- črno	delno zогlenelo	
Proc. glukoze v reakcij- ski zmesi	0,1	1,4	3,3	3,4	3,8
Proc. glukoze v luskinah	9,8	13,7	16,6	13,6	12,7
Proc. glukoze v organski snovi luskin	13,9	19,5	23,6	19,6	18,1
Ostanek luskin v proc.	—	43	—	42	43
Suhe, zdrobljene luskinе, kuhane 1 uro z 0,9 proc. H_2SO pri 170° C.					
Grami luskin cem kisline	3 : 10	2 : 10	4 : 10	5 : 10	6 : 10
Proc. glukoze v reakcij- ski zmesi	6,1	4,4	7,6	8,4	9,8
Proc. glukoze v suhih lu- skinah	20,3	21,9	19,1	16,8	16,4
Proc. glukoze v organski subst. luskin	25,3	27,3	23,8	20,9	20,4
Ostanek luskin v proc.	68	63	71	70	72

Maksimalno količino reducirajočih snovi opazujemo že po
 $\frac{1}{2}$ urnem kuhanju. Med nadaljnjim potekom reakcije sicer
prehajajo nove porcije luskin v raztopino, vendar procentu-
alna množina reducirajočih snov s podaljšanjem kuhanja
pada. Vsekakor se nastali sladkorji razkrajajo (tabela XIII).

Tabela XIII.

Vpliv časa kuhanja na pridobitek reducirajočih snovi $H_2SO_4 = 8,0 \text{ proc.}$, $T = 170^0 \text{ C.}$

Čas kuhanja	1/2 ure	1 uro	2 ure	3 ure
2 g luskin na 10 ccm kisline.				
Videz trdne snovi	svetlorumen	temnorjav		črn
Proc. glukoze v reakcijski zmesi	3,5	3,4	3,2	3,3
Proc. glukoze v luskinah	17,5	17,0	16,1	16,6
Proc. glukoze v organ. snovi luskin	25,0	24,2	22,9	23,6
Ostanek v procentih	71	65	57	60
2,5 g luskin na 10 ccm kisline.				
Videz trdne snovi	rumen	temnorumen	temnorjav	črn
Proc. glukoze v reakcijski zmesi	4,0	3,9	3,9	3,4
Proc. glukoze v luskinah	16,0	15,9	15,5	13,6
Proc. glukoze v organ. snovi luskin	22,7	22,6	22,0	19,3
Ostanek v procentih	75	73	55	42

V eni fazi po teh poizkusih dobimo maksimalno 25 procentov organske snovi v obliki reducirajočih sladkorjev v raztopino, medtem ko smo dosegli pri breknenju s koncentrirano kislino in sledečo hidrolizo 60 procentov. Kakor omenjeno, s podaljšanjem reakcijske dobe pridobitka ni mogoče izboljšati.

V sledečih poizkusih smo zato izluževali luskin v več stopnjah in sicer tako, da je učinkovala na več ali manj izlužen material sveža kislina. V eni seriji (tabela XIV) so ostali pogoji eksperimentiranja neizpremenjeni, v drugi smo varirali reakcijsko temperaturo (tabela XV), v tretji koncentracijo kisline (tabela XVI) in v četrti oba ta faktorja (tabela XVII).

Tabela XIV.

Postopno izluževanje luskin pri stalnih pogojih

Sveže, nezdobljene luskinke kuhane 3 ure pri 170°; koncentracija kisline 0,8 procenta.

Stopnja luženja	Gram osin : ccm H_2SO_4	Procenti glukoze		V org. snovi osin	Skupni pridobitek
		v reakcijski zmesi	v osinah		
I.	0,1 : 10	0,1	9,8	13,9	9,8
II.	Ostanek : 19	0,0	8,0	—	
I.	1 : 1	1,4	13,7	19,4	15,8
II.	Ostanek 10	0,13	1,3	1,8	
III.	Ostanek od II : 10	0,8	0,8	1,4	
I.	2 : 10	3,3	16,6	23,6	22,3
II.	Ostanek od I : 10	0,9	4,4	6,2	
III.	Ostanek od II : 10	0,3	1,3	1,8	
I.	3 : 10	3,8	12,7	18,0	19,3
II.	Ostanek od I : 10	1,5	5,0	7,1	
III.	Ostanek od II : 10	0,5	16,6	2,2	

Tabela XV.

Postopno izluževanje luskin pri naraščajoči temperaturi in s svežo kislino

Sveže, nezdobljene luskinke, kuhane po 1 uro pri temperaturah. Koncentracija kisline 0,8 procentov.

Stopnja luženja	I.	II.	III.	IV.	V.
Gram snovi : ccm kisline	2 : 10	Ostanek od I. (1,3 g) : 10	Ostanek od II. (1,0 g) : 10	Ostanek od III. (0,77 g) : 10	Ostanek od IV. (0,7 g) : 10
Temperatura °C	170	185	190	195	200
Proc. glukoze v reakcij- cijski zmesi	3,3	2,0	2,0	0,4	0,07
Proc. glukoze v luskinah	16,4	9,8	9,8	2,1	0,4
Proc. glukoze v organski snovi luskin	23,3	13,9	13,9	3,0	0,6
Ostanek v proc. luskin	64	52	38	38	36
Skupni pridobitek	16,4	26,2	36,0	38,1	38,5

Tabela XVI.

Postopno izluževanje s kislino naraščajoče koncentracije $T = 170^{\circ}\text{C. 1 ura.}$

Stopnja luženja	Snov : kislini	Konc. kisline	Procenti glukoze v			Skupni pridobitek
			reak. zmesi	luskinah	org. snovi luskin	
I.	2 : 10	0,8	3,6	17,8	25,3	17,8
II.	Ostaneek od I. (1,23 g) : 10	1,9	1,6	8,1	11,5	25,9
III.	Ostaneek od II. (0,80 g) : 10	3,8	0,3	1,5	2,1	27,4

Tabela XVII.

Postopno izluževanje luskin s kislino rastoče koncentracije in pri rastoči temperaturi (1 ura)

Stopnja luženja	Snov : kislini	Temp.	Procenti glukoze v			Ostaneek	Skupni pridobitek
			reak. zmesi	luskinah	suhi subst. luskin		
I.	2 : 10	170	3,5	17,7	12,2	64	17,7
II.	Ostaneek od I. (1,28 g) : 10	180	1,9	9,7	13,8	40	27,4
III.	Ostaneek od III. (0,70 g) : 10	190	0,1	0,9	1,3	39	28,3

Tudi iz te serije sledi, da je optimalno razmerje luskin : kislini = 2 : 10. Pri ponovnem učinkovanju sveže kisline na delno že izlužene lupine prehajajo nove množine reducirajoče snovi v raztopino. Narastek od III. stopnje na IV. je pa zelo mal in bi se v praksi mogli zadovoljiti s 3 stopnim luženjem.

Zelo izboljšamo pridobitek, ako temperaturo v posameznih izluževalnih stopnjah dvigamo (od 170 do 195). V 5 fazah nam preide 54,7 procentov organske snovi v obliki reducirajočih sladkorjev v raztopino, torej zelo blizu one količine, ki smo ji pri breknenju s koncentrirano in hidrolizi z razredčeno kislino dosegli (60 procentov, tabela IV).

Rastoča koncentracija kisline ne vodi do boljših rezultatov, in to niti pri stalni temperaturi (170°) niti pri rastoči temperaturi.

V nekaterih patentnih spisih navajajo avtorji, da se da tu študirana saharifikacija izboljšati s posebnim dvigom tlaka. S tega vidika smo v nekaterih poizkusih početkoma napolnili avtoklav z dušikom takega pritiska, da je znašal končni pritisk (dušik plus para) okoli 18 oziroma 32 atmosfer. Rezultat ni bil toliko boljši, da bi se izplačalo vpeljati v eksperimentiranje komplikacijo dela s komprimiranimi plini (tabela XVIII).

Tabela XVIII.

Vpliv umetno povečanega tlaka na luženje

2 g suhih, zdrobljenih luskin, razgreto z 2 ccm 0,8 procentne žveplene kisline na 170°.

Tlak	Čas razgrevanja	Procenti glukoze v			Ostanek proc.
		reakcijski zmesi	luskinah	suhi subst. luskin	
18 atm.	45 min.	2,6	13,6	18,5	
	3 ure	1,5	7,6	10,8	
9 atm.	30 min.	4,0	20,1	28,5	70
32 atm.	30 min.	4,3	21,5	30,5	72

Mesto žveplene kisline nam more dobro služiti tudi solna kislina. Glasom tabele XIX bi imela ta kislina prednost, da je za dosego optimalnega pridobitka reducirajočih snovi mogoče povečati relativno množino luskin na dvakratno one količine, ki je optimalna pri žvepleni kislini (4 : 10 mesto 2 : 10).

Tabela XIX.

Izluževanje s solno kislino

Koncentracija kisline 0,94 procenta, material suh, zdrobljen. Kuhano pri 170° C.

Snov : kislina	Procenti glukoze v			Ostanek proc.
	v reakcijski zmesi	v luskinah	v organski snovi luskin	
2 : 10	2,3	11,6	14,4	51
3 : 10	5,6	18,8	23,4	56
4 : 10	7,9	19,8	24,7	63
6 : 10	10,9	18,1	22,5	66

Vsi dosedanja poizkusi z razredčeno žvepleno kislino so imeli namen doseči pri dani množini luskin čim večji pridobitek na sladkorjih. Iz tabel XI—XVIII sledi, da se to posreči s postopnim izluževanjem pri rastoči temperaturi in pri razmerju luskin : kislini = 2 : 10. V tem primeru dobimo iz 100 g

zračno suhih luskin 38,5 g reducirajočih sladkorjev in porabi-
mo 2500 ccm 0,8 procentne kisline, to je 20 g čiste H_2SO_4 ,
na 100 kg sladkorja torej 52 kg H_2SO_4 .

Luskinе same so v našem primeru malovreden odpadkov
material. Obremenitev postopka leži v žvepleni kislini, v di-
menzijah aparature in v toploti, potrebni za razgrevanje. Za-
radi tega bi bilo za primer industrijske izrabe priporočljivo
zadovoljiti se s slabšim izkoriščanjem luskin zato pa zmanj-
šati porabo kisline in porabo kuriva. Temu cilju so bili po-
svečeni sledeče opisani poizkusi.

Pri seriji, ki je opisana v tabeli XX. smo obdelovali suhe
in zmlete luskinе z 0,9 procentno kislino v razmerju 2,5 : 10
in 6 : 10 v I. stopnji smo se zadovoljili s temperaturo 135° C
v 2. stopnji je znašala temperatura 155 in v 3. šele 170. Pre-
ostale luskinе smo izprali z vodo, da bi ugotovili, koliko slad-
korja po temeljitem presesanju v luskinah še ostane.

Tabela XX.

Podrobni podatki o izluževanju v 3 stopnjah

	1. faza	$\frac{1}{2}$ ure 135°	2. faza	$\frac{1}{2}$ ure 155°	3. faza	$\frac{1}{2}$ ure 170°	Izpran ostanek	Skupaj
2,5 g osin in 10 g kisline 0,9 procentne								
Teža luskin v g	125		105		80		60	125
Volumen luskin ccm	500		450		300		200	500
Volumen kisline ccm	500		400		500		600	2000
Skupni volumen ccm H_2O	600		500		600		600	—
Grami H_2SO_4	4,5		3,6		4,5		0	12,6
Volumen filtrata		450		400		445	600	1895
Koncentracija sladkorja %		4,5		3,8		1,8	0,3	2,36
Grami sladkorja		20,3		15,0		7,8	1,7	44,8
Pridobljeni sladkor v %		16,2		12,0		6,2	1,3	35,7
6 g luskin na 10 g kisline 0,9 procentne								
Teža luskin v g	127		111		83		69	125
Volumen luskin ccm	290		278		252			290
Volumen kisline ccm	208		160		139		139	646
Skupni volumen ccm H_2O	347		310		278		264	—
Grami H_2SO_4	1,87		1,44		1,25			4,56
Volumen filtrata		163		203		179	139	689
Koncentracija sladkorja %		7,5		5,0		4,7	2,6	5
Grami sladkorja		12,2		10,4		8,6	3,2	34,4
Pridobljeni sladkor v %		9,8		8,3		6,8	2,6	27,5

Kakor pričakovano je pridobitek na sladkorju pri materialnem razmerju 2,5 : 10 izdatno boljši kakor pri materialnem razmerju 6 : 10 (37,7 procentov proti 27,5 procentov), vendar je poraba kisline v prvem primeru neprimerno večja kakor v drugem. Saj porabimo pri materialnem razmerju 2,5 : 10 za 100 kg sladkorja 28,1 kg kisline, pri materialnem razmerju 6 : 10 pa le 13,2 kg. Še bolj v pošev prihaja volumen tekočine, ki jo je treba obvladati.

Na podlagi izbranih izkustev smo reproducirali v laboratorijskih dimenzijah obratovanje po protitčni perkolaciji.

Pregled take poizkusne serije daje tabela XXI. Delali smo v visokotlačnem avtoklavu s sušenimi in zdrobljenimi luskinami. Razmerje med luskinami in kislino je bilo 2,5 : 10, koncentracija kisline 0,45 procenta, ki je glasom tabele XI tudi še dosti ugodna.

Pričetek fabrikacije obstoji v luženju nerabljenih luskin z nerabljeno kislino (kolona I). Iz te stopnje rezultira enkrat rabljena kislina in enkrat lužene luskinе. Te pridejo v dotiko s svežo kislino, enkrat rabljena kislina pa v dotiko s svežimi luskinami (kolona II). Dobimo 2 krat lužene luskinе in 2 krat rabljeno kislino.

Z 2 krat rabljeno kislino prične sedaj pravi trajni fabrikacijski proces (kolona III), v »glavni periodi«. Postopek smo vodili v 3 stopnjah in sicer:

- a) 2 krat lužene luskinе + sveža kislina;
- b) 1 krat lužene luskinе + enkrat rabljena kislina;
- c) sveže luskinе + 2 krat rabljena kislina.

2 krat lužene luskinе smo izprali enkrat z vodo.

V poperiodi smo izrabili še 1 krat rabljeno kislino in 1 krat oziroma 2 krat lužene luskinе.

Kolone III., IV. in V. so analogne. Obstojata pa med posameznimi stopnjami ta razlika, da je historiat kisline, ki prihaja v obrat, različen. V kolono III prihajajoča rabljena kislina je bila v dveh stopnjah v dotiki s svežimi luskinami, v kolono IV prihajajoča rabljena kislina je bila v dveh stopnjah v dotiki z enkrat luženimi luskinami in v koloni V prihajajoča kislina je bila — kakor se to godi pri kontinuitetnem poteku fabrikacije — enkrat v dotiki z dvakrat rabljenimi in enkrat z enkrat rabljenimi luskinami.

Pri vsaki stopnji smo analitično ugotovili vse za presojo važne podatke. Dogodki v posameznih fazah so bistveno isti, kakor smo to našli pri študiju posamičnih vplivov: z rastočo stopnjo izluževanja pada iz luskin odhajajoča množina sladkorja in raste njegova koncentracija v izluževalni kislini. V enem postopku (1-3-6) nam je v tretji stopnji množina sladkorja padla, pač vsled kakih razkrojnih procesov, katerim se nismo mogli izogniti.

Skupno smo podelali 546 luskin, dobili 124,5 g reducirajočih sladkorjev, računano na glukozo, kar odgovarja pridobitku 22,7 procentov; to je točno pridobitek kakor smo ga po tabeli XI dosegli z 0,45 procentno kislino v eni stopnji. Porabili smo 14,5 g H_2SO_4 , torej na 100 kg sladkorja 11,6 kg 100 procentne kisline. Izraba kisline je torej pri večkratnem luženju neprimerno boljša kakor pa pri delu v eni stopnji.

Analognih poizkusov smo napravili več. V najboljšem primeru smo dosegli pri 0,5 procentni kislini in materialnem razmerju 1 : 4 skupni pridobitek 35,7 procentov, to je izrabo približno 50 procentov organske materije luskin.

Kurilna vrednost svežih luskin znaša 3360 Kal/Kg.

Kurilna vrednost 3 krat luženih luskin 2940 Kal/Kg.

Pri uporabi avtoklava z 1200 l in materialnem razmerju 2,5 : 10, v katerem bi razgrevali ca 1000 l tekočine od 10 na 190°, bi rabili 180.000 Kal, in pri materialnem razmerju 6 : 10 s 600 l tekočine 108.000 Kal.

Izhajajoč iz 250 kg luskin dobimo vsaj polovico luskin po luženju nazaj. Ta odpadni material predstavlja po osušenju kalorično vrednost okoli 367.000 Kal, krije torej kalorično potrebo razgrevanja.

Vretje sladkornih ekstraktov.

Kakor smo početkoma omenil, je v organski komponenti riževih luskin skoro $\frac{1}{3}$ pentozanov. Pri njihovi hidrolizi nastajajo pentoze, katere sicer pri določevanju redučne zmožnosti najdemo skupno z heksozami, ki pa za eventualno pridobivanje alkohola iz ekstraktov luskin ne prihajajo v poštev.

Zaradi tega smo številne sladkorne raztopine, dobljene pri ekstrakciji luskin, preiskali glede vretja.

Pri teh poizkusih so nam služile pivovarske kvasovke iz pivovarne Union v Ljubljani. Gojili smo jih na običajno pripravljeni žonti, in to v 100 ccm bučkah Erlenmayer na 20 ccm substrata pri 25—30° C 4 dni. S sterilno vodo izprane kvasovke smo hranili v 10 procentni raztopini saharoze.

Sladkorne raztopine smo nevtralizirali do nevtralnosti na lakmus s $5nNH^3$, potom tupanja dodali na 10 ccm raztopine 2 ccm hranilnih soli* in v sterilni vodi suspendirane kvasovke. Vretje je trajalo 5—7 dni.

Pred vretjem in po končanem vretju smo titrirali reducirajoče sladkorje po Bertrandu ter določili pentoze po Tollensu.

Iz mnogoštevilnih poizkusov smo izbrali v tabeli XXII dve seriji, v katerih primerjamo relativno množino vretja sposobnih in vretja nesposobnih sladkorjev pri postopnem izluževanju luskin. Tekoče številke 1, 2, 3 so dobljene pri saharifikaciji z materialnim razmerjem 6 : 10 in rastočo temperaturo, številke 8, 9 in 11 se nanašajo na poizkuse z materialnim razmerjem 2,5 : 10. Iz te tabele sledi izredno zanimivo dejstvo, da prehajajo pri luženju z vročo razredčeno kislino v raztopino početkoma v pretežni množni pentoze in pri kasnejših izluževalnih stopnjah kipenja zmožne heksoze. Iz redukcijske zmožnosti po vretju smo računali procentualno množino pentoz (6. rubrika v tabeli), zadnja rubrika v tabeli pa vsebuje podatke o množini pentoz, ki smo jih našli v povreti tekočini po Tollensu. Množina pentoz zračunana iz redukcijske zmožnosti na eni strani in iz furfurola na drugi strani se pri prvi seriji (tek. št. 1, 2, 3) izredno dobro ujemajo, pri drugi seriji (8, 9, 11) pa smo našli iz redukcijske zmožnosti nekaj več pentoz kakor po Tollensu. Vsekakor v tem drugem primeru vretje ni bilo tako popolno kakor v prvem, ali pa je nastopila zaradi večkratnega razgrevanja ekstraktov delna reverzija.

* 1% NH_4HPO_4 + 1% KH_2PO_4 + 0,5% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 2,5% $CaCO_3$.

5—10 ccm raztopine + 100 ccm HCl spec. teža 1,06 (12%) destiliramo iz 300 ccm vsebujoče bučke preko krogličnega nastavka v merilni cilindri, dokler papir, namočen z anilin-acetatom ne pordeči več. Dodamo prebiten phloroglucin, raztopljen v 12procentni solni kislini in dopolnimo volumno na 400 ccm. Drugi dan nučiramo phloroglucid, izperemo s 100 ccm vode, sušimo 4 ure pri 105° in tehtamo. Phloroglucin: phloroglucidu = 126 : 186. Množina furfurola sledi iz tozadevnih tabel.

Tabela XXII.

Vnetje sladkornih ekstraktov

Št.	Material	T. °C	Procenti glukoze v tekočini		Od 100 delov fermen- tativno povreto	Pentose v fermentativno nepovre- tem ostanku	
			Pred vretjem	Po vretju		iz reduk. zmožn.	Po Tol- lensu
Materialno razmerje 6 : 10. Kislina 0,9 proc., 1/2 ure kuhano.							
1.	Sveže luskine, sveža kislina	135	7,12	2,45	23,46	4,51	4,91
2.	1krat lužene luskine, sveža kislina	155	4,43	2,64	40,41	2,20	2,34
3.	2 " " " " "	170	4,04	0,33	91,83	0,28	0,28
Materialno razmerje 2,5 : 10. Kislina 0,9 proc., 1/2 ure kuhano.							
11.	Sveže lusk., 2krat rabljene lusk.	170	5,81	2,90	50,0	2,41	1,52
9.	1krat luž lusk., 1krat rablj. kisl.	170	3,3	0,71	78,49	0,59	0,29
8.	2 " " " 2 " " "	170	3,53	0,18	94,90	0,14	0,09

Pri tem dejanskem stanju nastaja vprašanje, kateri delež celokupnega, iz redukcijske zmožnosti računanega sladkorja je pri danem načinu obdelovanja luskin dostopen vretju.

To vprašanje pojasnjuje bilančni poizkus tabele XXIII. Vodili smo ga analogno s št. 1, 2, 3 tabele XXII.

Tabela XXIII.

Množina vretja sposobnih in vretja nesposobnih sladkorjev

Materialno razmerje 6:10. Kislina 0,0 proc. Čas razgrevanja 1 uro.

Št.	Material	Kislina ccm	T°	Množina dobljene- ga eks- trakta ccm	Procent glukoze v eks- traktu	Grami sladkorja		
						celo- kupno	fermen- tativno povreto	fermen- tativno nepovreto
15	350 g svežih lupin	560	140	270	7,54	20,35	4,78	15,57
16	ostanek od 15	450	155	405	6,95	23,12	9,34	13,78
17	ostanek od 16	390	170	390	5,63	20,71	19,01	1,70
Skupaj						64,18	33,13	31,05

Iz 350 g luskin smo pri tem poizkusu dobili 64,18 g reducirajočih sladkorjev, od teh je povreto 33,13 g = 51,6 proc. — nepovret ostanek znaša 31,05 = 48,4 proc. Na 100 g luskin znaša torej plen 18,4 g sladkorja, od tega 9,5 vretja zmožnega in 8,9 vretja nezmožnega.

Pridobitek 18 procentov reducirajočih sladkorjev je nizek. Ker dokazno prehajajo v ekstrakt početkoma predvsem pentoze z rastočim pridobitkom, relativna množina vretja sposobnih sladkorjev raste.

Iz fermentativno povretilih tekočin izfrakcioniran alkohol je rumenkast, ima oster duh, pekoč okus in je v tej obliki neužiten.

Glede vprašanja, koliko izgleda bi imel tu proučen postopek v praksi, naj navedemo sledeče podatke.

Iz poročil o uspehih Schollerjevega postopka za saharifikacijo lesa povzemamo, da so dobili v velikih obratih v letu 1932/33 iz 100 kg suhe lesne substance 50—55 kg reducirajočih sladkorjev, med temi okoli 40 kg vretja zmožnih sladkorjev. Ta količina daje 20—22 l alkohola.

V našem primeru smo dosegli na 100 kg organske substance luskin 38 kg reducirajočih sladkorjev, med temi okoli 25 kg vretja zmožnih, odgovarjajoče ca 15,1 alkohola. Donos na sladkorju oziroma na alkoholu je pri luskinah kot izhodnem materialu vsekakor mnogo manjši kakor pri lesu kakor izhodnem materialu; obstoja pa možnost, da po vretju preostale tekočine skupno z ekstrahiranimi luskinami podeľamo na furfurolo, ki je danes važna osnova za izdelovanje umetnih smol. Kakor početkoma navedeno, vsebujejo luskinе 23 procentov pentoz. Pri kvantitativnem prehodu bi dobili iz njih 14,7 g furfurola na 100 g luskin oziroma 20,8 g na 100 g organske substance luskin. Pri kombinaciji dobivanja alkohola in furfurola bi utegnile postati riževe luskinе pomemben industrijski izhodni material.

Posnetek.

V predležečem delu smo raziskovali usladkorjenje riževih luskin po treh postopkih in sicer: 1. Breknenje s koncentrirano žvepleno kislino in hidroliza z razredčeno kislino; 2. hidroliza s koncentrirano solno kislino pri nizkih temperaturah in 3. hidroliza z razredčeno žvepleno kislino pri visokih temperaturah.

Zaradi izredno velike prostornine luskin je priporočljivo material najprvo osušiti, nakar se da lahko mleti. Ta postopek

izboljšuje pridobitek na sladkorjih. Najboljši pridobitek smo dosegli pri breknenju s 85 procentno žvepleno kislino in sledečo 5 urno hidrolizo z 10 procentno kislino pri 100° C. Pod temi pogoji smo dobili iz 100 g suhih, zdrobljenih lupin 48 g reducirajočih sladkorjev, to je 60 procentov organske snovi luskin. Izolirana zmes sladkorjev ima prijeten sladek okus, diši nekoliko po karamelu, daje osazon s tališčem 187—197° in ima močno reakcijo na pentoze.

2. Solna kislina reagira z luskinami v koncentraciji 38,2 procenta zadovoljivo. Pri 5° C je maksimum saharifikacije dosežen v 96 urah. Iz 100 delov osušenih luskin smo dobili 30 delov reducirajočih sladkorjev, to je 37,4 procenke organske substance luskin. Koncentracijo sladkorjev v kislem ekstraktu je mogoče povečati s tem, da prihaja kislina večkrat v dotiko s svežimi luskinami. V 4 stopnjah in materialnem razmerju 1:10 dosežemo koncentracijo 7,6 procentov »glukoze«, koncentracija kisline pa je padla na 28,8 procentov *HCl*. Kisli ekstrakt je skoro črn; pri odstranjevanju kisline in koncentriranju raztopine del sladkorjev ogleni dalje.

3. Ekstrakcija z zelo razredčeno žvepleno kislino poteka med 150° in 190° ugodno. Optimalna koncentracija kisline je 0,9—1,9 procenta optimalno materialno razmerje 2 dela luskin na 10 delov kisline; proces je v ½ ure končan. Rabljene luskinne oddajajo na svežo kislino nove porcije sladkorja, enako izlužuje rabljena kislina iz svežih luskin količine sladkorja. Na tej podlagi je mogoče voditi ves izluževalni proces po nekakem protitočnem principu. Pri tem je umestno pričeti z nižjo temperaturo (135° in končati z višjo 190°). V tem postopku dosežemo pridobitek na sladkorjih okoli 38 procentov luskin, to je 54,7 procentov organske substance luskin.

Sladkorni ekstrakti s pivovarskimi kvasovkami fermentativno povro. Vretje je v ekstraktih iz deloma izluženih luskin mnogo bolj popolno kakor pri ekstraktih iz svežih lupin. Spoznali smo, da prehajajo početkoma v raztopino predvsem pentoze in v kasnejših stopnjah kipenja zmožne heksoze.

Razen sladkorja je s pomočjo destilacije s solno kislino mogoče dobiti tudi izdatne količine furfurola.

SUMMARY

Hydrolysis of rice-shells

By M. Samec and F. Ferlan with assistance of A. Pajk
Chemical Laboratory, Academy of Sciences and Arts, Ljubljana.

In the present paper an investigation on saccharification of rice-shells has been accomplished according to three methods, viz. 1. swelling by concentrated sulphuric acid and hydrolysis with diluted acid, 2. hydrolysis with concentrated hydrochloric acid at low temperatures, and 3. hydrolysis with diluted sulphuric acid at high temperatures.

For very large volume of shells it is advisable first to get the material dry, after that grinding is easy work. This procedure ameliorates the yield of sugars.

1. We obtained the best yield by swelling with 85% sulphuric acid and a following 5 hours hydrolysis by 10% acid at 100° C. On these conditions we got from 100 g of dry ground shells 48 g of reducing sugars, i. e. 60% of organic substance of shells. The isolated mixture of sugars has an agreeable taste, smells of something like caramel, gives osazone with melting-point of 187—197°, and has a strong reaction on pentoses.

2. Hydrochloric acid reacts on shells in a concentration of 38,2% satisfyingly. At 5° C the maximum of saccharification is reached within 96 hours. From 100 parts of dried shells we got 30 parts of reducing sugars, i. e. 37,4% of the organic substance of shells. Concentration of sugars in the acid extract can be augmented when the acid comes into contact with fresh shells repeatedly. In 4 degrees and a material proportion 1:10 we got a concentration of 7,6% of the glucose, while the concentration of the acid fell to 28,8% 4 cl. The acid extract is almost black, when one eliminates the acid and concentrates the solution a part of sugars gets on carbonizing.

3. Extraction by highly diluted sulphuric acid runs favourably between 150° and 190° C. The most convenient concentration is 0,9—1,9%, the best material proportion is 2 parts of shells to 10 parts of acid; the process is finished in half an hour. On fresh acid used shells give off new portions of sugar, likewise the used acid lixiviates new quantities of sugar from fresh shells. On this base it is possible to direct the whole process of lixiviation somehow after a manner of the counterweight principle. It is convenient to begin with a lower temperature (135° C) and to finish with a higher one. (190° C). By this process we obtain from shells a sugar yield of about 38%, i. e. 54,7% of the organic substance of shells. Sugar extracts ferment with brew yeasts. With extracts from partly lixiviated shells the fermentation is far more complete than with those from fresh shells. We have stated that, at first, there are particularly pentoses which pass to solution and in later degrees hexoses capable of fermentation. It is also possible to obtain abundant quantities of furfural by distillation with hydrochloric acid.

IZOMERIJA AMILOPEKTINOV

Maks Samec

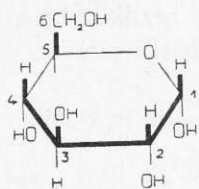
Kemični laboratorij akademije znanosti in umetnosti v Ljubljani.

Sto tri in trideset let je preteklo, odkar je Kirchhoff spoznal, da je mogoče dobiti iz krompirja ali pšenice neko sladko tvarino. Skoro 4000 znanstvenih del je bilo od takrat posvečenih vprašanju škroba, šele danes pa moremo z dobro vestjo trditi, da obvladamo osnovne kemije škroba. Predvsem moramo pomniti, da so z besedo škrob značili dva bistveno različna pojma in sicer 1. množino škrobovih zrn in 2. substanco, iz katere so zrna zgrajena. Ker so škrobova zrna organoidna vsebinska telesa rastlin, a priori ni pričakovati, da bi bila pri vsej čistoči vzorca v kemijskem smislu homogenska. Zaradi tega so se pojavila že zgodaj razna naziranja o materialu, ki sestavlja po veliki večini škrobovo zrno. Več kot sto let je kolebalo mnenje med domnevo, da imamo v škrobovih zrnih eno škrobovo substanco, in med domnevo, da eksistira več sličnih, a vendar do gotove meje različnih škrobovih substanc. Čitatelju bo znano, da je končno zmagala dualistična teorija. Eno komponento škrobovih zrn imenujejo danes praktično vsi avtorji »amilozo«, za drugo komponento sem predlagal ime »izoamiloze«. Vse, kar ostane od škrobovega zrna po ekstrakciji amiloz, naj se naziva po mnenju K. H. Meyerja »amilopektin«. Enotno racionalno nomenklaturu naj bi določili raziskovalci škroba na sestanku v Genevi, ki pa zaradi izbruha vojne še ni bil mogoč. Govorimo torej za enkrat o »amilozah«, »izoamilozah« in »amilopektinih«.

Da bo lažje slediti mislim v tem članku, naj čitatelju ponovim strukturno sliko škrobovih substanc.

Glukozi, ki je zadnja gradbena enota amiloz in amilopektina, pripisujemo ciklično obliko pyron-derivata, kakor je razvidna iz slike 1.

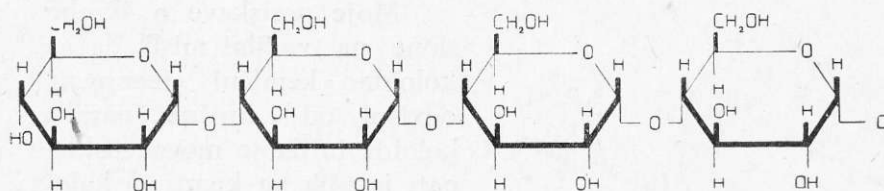
Večje število takih enot, zvezanih po sodelovanju kisika, ogljika 1 in ogljika 4 po shemi slike 2 tvori molekule amiloz.



Slika 1

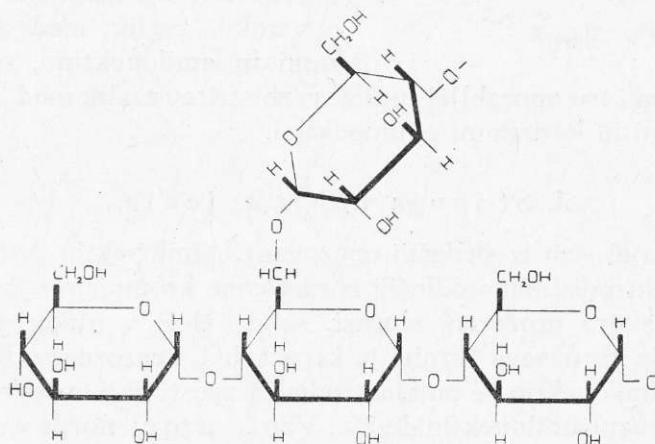
Množina v lancu navzočih glukoznih ostankov je različna, z njo menjava molekulna teža. Po današnjem izrazoslovju pravimo, da tvorijo amiloze polimerohomologno vrsto. Posamezni členi se razlikujejo med seboj le po dolžini lanca. Njegova oblika je vijugasta ali polžasta.

V raztopini je zanj statistično najbolj verjetna oblika klobčiča; in res kažejo preiskave o dvojnem lomu pri strujanju, da imajo molekule amiloz precej krogličasto obliko.



Slika 2

V molekuli amilopektinov so nekateri glukozni ostanki vezani na soseda razen po posredovanju ogljika 4 tudi preko



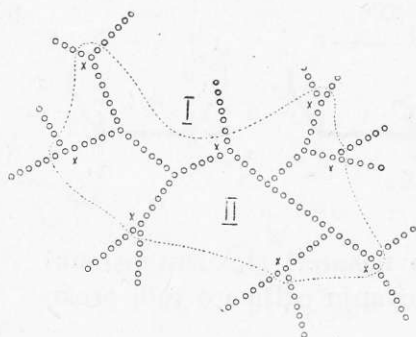
Slika 3

ogljika 6 (slika 3). Na ta način se glukozni lanec razveji in molekula dobi obliko veje (slika 4). Tudi za te molekule nakazuje dvojni lom pri strujanju krogličasto obliko.

Amilopektini posameznih škrobov so med seboj različni. Oni so odgovorni za razlike med škrobom raznih rastlin. V koliko je bilo do zadnjega znano, so vzroki za te razlike:

1. Prisotnost ali odsotnost estrsko vezane fosforove kisline;
2. prisotnost atomskih skupin, vsebujočih fosfor in dušik (fosfatidov);
3. različna razvejenost glukoznega lanca.

Pri zadnjih preiskavah, katere so bile posvečene krompirjevemu in koruznemu amilopektinu, smo dospeli do spoznanja, da mora biti razvejenost obeh navedenih amilopektinov različna. Podrobnosti naj bi prinesli nadaljnji poizkusi.



Slika 4

Moje preiskave o škrobu slone na vodilni misli, da so koloidno-kemični fenomeni odvisni od kemične narave koloida in da je mogoče sklepati iz njih na kemizem koloidnih delcev. Ta kaŕipot, ki se je odlično izkazal pri reševanju problema o fosforu v škrobu, o navzočnosti fosfatidov, o vzrokih razlik med amilozami in amilopektinu, sem v

zadnjem času uporabljal tudi za razbistritev razlik med krompirjevimi in koruznimi amilopektini.

1. Stopnja nabreknjenja.

Izhajal sem iz sledečih opazovanj. Amilopektin, katerega smo elektrodialitično odločili iz raztopine krompirjevega škroba, je skoro prozoren, sluzast, se da vleči v nitke; amilopektin iz koruznega škroba je kepast, bel, neprozoren. Krompirjev amilopektin se po elektrodializi zgosti do koncentracije 8%, koruzni amilopektin do 5%. Vzrok za to ni morda v manjšem električnem naboju koruznega amilopektina, kajti ako tega fosforiliramo do 0,81% P^2O^5 , se zgosti vkljub jačjemu naboju le do koncentracije 1,2% in vendar tvori že v tej mali koncentraciji trdno ŕolico. V tem stanju veŕe 1 g krompirjevega amilopektina 11,2 g vode, 1 g koruznega amilopektina

20,7 in 1 g fosforiliranega koruznega amilopektina 81 g vode. Pri tem se je specifična prostornina krompirjevih izoamiloz zmanjšala za 0,080 in specifična prostornina koruznih izoamiloz le za 0,025.

Iz teh ugotovitev sledi, da je mogoče zložiti molekule krompirjevih izoamiloz v gostejšo maso kakor koruznih in da ostane vkljub temu sistem »krompirjev amilopektin — voda« še gibljiv. To je mogoče, ako se molekule teh amilopektinov bolj približajo kroglasti obliki kakor molekule koruznih amilopektinov.

Ker je vmesni prostor, v katerega se namešča voda, med kroglicami manjši od vmesnega prostora med molekulami nepravilne rogovilaste oblike, je razumljivo, da pride pri koruznih amilozah pri elektrodialitični zgostitvi na 1 g substance več vode kakor pri krompirjevih.

2. Vezana voda.

Del v koloidnih sistemih navzoče vode je priložen površini koloida tako tesno, da kakor topilo za kristaloide ne prihaja več v poštev, da celo tudi pri izdatni ohladitvi ne zmrzne. Vodo v tem fizikokemičnem stanju imenujemo vezano vodo. Njena relativna množina zavisi od pogojev za micelarno ureditev molekul koloida in od množine posebnih hidratacijskih centrov na površini makromolekule, kakor na primer ionskih skupin. Iz tozadevnih kalorimetrskih opazovanj pri zmrzovanju amilopektinov omenjenih škrobov sledi, da v obeh primerih imobilizira 1 g koloidne substance okoli 1,3 g vode. Posebne razlike v relativni množini vezane vode torej ni.

3. Viskoznost.

Breknilna voda je v žolici mehanično imobilizirana, vezana voda micelarno ali v obliki kristalne vode urejena. Razen tega je pa za hidrofilne koloide karakteristična še vodna plast, ki spremlja koloidne delce v raztopini pri njihovem gibanju, četudi ni niti na eden niti na drugi imenovani način priklopljena: hidratacijska voda. Za njo so odločilne hidrofilne skupine in električno nabite atomske skupine na površini koloidnega delca. Hidratacijska voda povečava viskoznost koloidne

raztopine. Notranje trenje solov krompirjevih izoamiloz je pri isti koncentraciji mnogo večje od notranjega trenja solov koruznih izoamiloz. Ker raste notranje trenje raztopin podolgovatih delcev ceteris paribus z dolžino delca, stoji na prvi pogled večja viskoznost krompirjevih izoamiloz v protislovju s sklepi, do katerih smo prišli na podlagi opazovanj breknilnega stanja. Ker pa imamo v krompirjevih izoamilozah navzočo ionogeno fosforovo kislino, v koruznih izoamilozah je pa ta maskirana v fosfatidu, si moremo misliti, da je vpliv visoke hidratacije na viskoznost krompirjevih izoamiloz večji kakor pa vpliv oblike molekul.

4. Jodova barva.

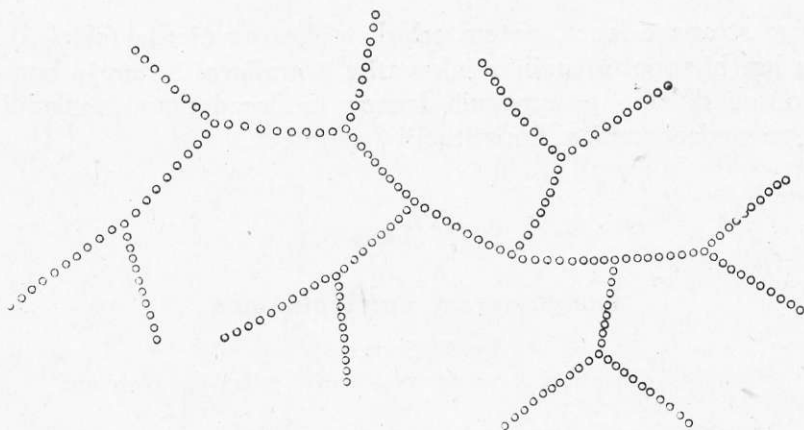
Iz prejšnjih preiskav vemo, da je jodova barva škrobovih substanc odvisna od konstitucije; ta nam je merilo prekomolekulnih privlačilnih sil. Te so po dosedanjih izkušnjah na molekulah amiloz neprimerno večje kakor na molekulah krompirjevih izoamiloz. Amiloze dajejo z jodom temnomodro barvo, izoamiloze vijoličasto do rdečo. Ako izfrakcioniramo krompirjev amilopektin na vrsto solov, opazujemo, da imajo prvo dobljeni soli modro jodovo barvo, sledeči vijoličasto in zadnji rdečo. Nasprotno pa kažejo vse iz koruznega amilopektina dobljene frakcije modro jodovo barvo. Koruzne izoamiloze so torej do gotove meje slične amilozam, na njihovih molekulah se močno uveljavljajo vplivi nerazvejenih glukoznih lancev.

5. Razkroj z β -amilazo.

Za strukturno sliko koruznih izoamiloz odločilna je končno β -diastatična hidroliza. Kakor znano, poteka ta tako, da se cepijo ob koncih glukoznih lancev molekule maltoze in to toliko časa, dokler ne pridemo do molekulnih anomalij, to je do točk razvejenja (x v sliki 4). β -diastatični hidrolizi je torej stavljena meja. Ako določimo stopnjo razkroja, pri kateri še β -diastatična hidroliza ustavi, ugotovimo, kolik del molekule nastopa v obliki stranskih lancev. Proti vsemu pričakovanju se konča β -amiloliza krompirjevih in koruznih izoamiloz v trenutku, ko bo okoli 60% substance prešlo v maltozo. V obeh izoamilozah odpade torej 60% materije na stranske

lance; ker pa so notorično koruzne izoamiloze v marsikaterih ozirih slične nerazvejenim amilozam, si moramo predstavljati, da nosijo te molekule razmeroma dolge stranske lance, a zato po številu manj, krompirjeve izoamiloze pa bi bile karakterizirane po večjem številu kratkih stranskih lancev. Ta sklep soglaša z rezultati metiliranja, ki nam istinito nakazuje v krompirjevih izoamilozah več končnih skupin (4—5%) kakor v koruznih (3,7%).

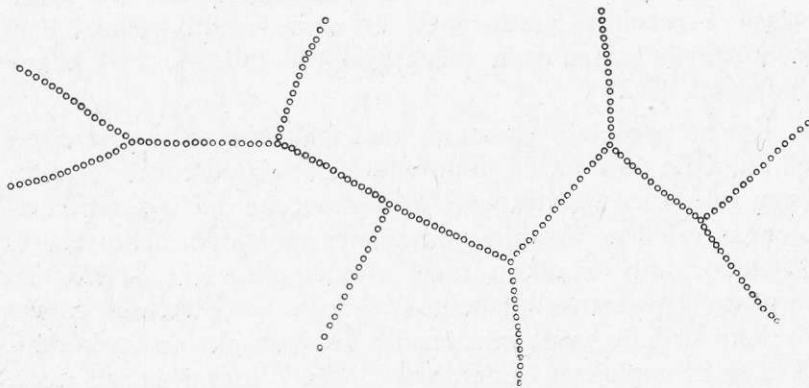
Ker se razvejejo glukozni lanci maksimalno le v dve vejici, določuje dejstvo, da je porazdeljen nek odstotni del celokupne substance na stranske lance določene dolžine, tudi razvejenost v jedru. Vzemimo za primer molekulo, obstoječo iz 200 glukozidnih ostankov, torej z molekulno težo 32.400. Od teh nastopa v stranskih lancih 60%, to je 120 glukoznih ostankov; ako nadalje vzamemo število končnih skupin za koruzo 3,5 in za krompirjevo izoamilozo 5%, bi v koruzi morali imeti 8 stranskih lancev dolžine 15 glukoznih enot in v krompirju



Slika 5. Shema molekule krompirjevega amilopektina.

12 stranskih lancev dolžine 10 glukoznih enot. V »jedru« preostane 80 glukoznih enot. Iz shematičnih risb (sliki 5 in 6) je mogoče prepričati se, da pri enakomernem razvejenju odpade to število pri koruzi na 24 in pri krompirju na 13 vejic. Že slika sama kaže, da je molekula koruznih izoamiloz mnogo bolj nitkasta, torej amilozam podobnejša kakor molekula krompirjevih izoamiloz.

Ta shema odvarja mnogo novih vprašanj, ki bi jih bilo treba eksperimentalno obdelati. V prvi vrsti bi prihajale v poštev: postopna kvantitativna hidroliza z β diastazo, a glukozidazo in potem zopet z β diastazo, pri kateri bi cepili naj-



Slika 6. Shema molekule koruznega amilopektina.

prvo stranske lance, potem odprli točke razvejenja (slika 3), na kar bi zopet utegnili učinkovati z β amilazo. S tem bi kontrolirali dolžino posameznih lancev in brezdvomno zasledili nove podrobnosti v konstituciji izoamiloz.

SUMMARY

Isomerism of amylopectines

By M. Samec

Chemical Laboratory, Academy of Sciences and Arts, Ljubljana

Since we have decomposed, by electrodialysis or electrodecan-tation, starch-solutions into a portion of amyloses and a portion of amylopectine, we know that the amylopectines of different starches are different one from another, while the amyloses of different starches have almost the same qualities. Examining the starches we have determined the following peculiarities as causes of a different behaviour of amylopectines:

1. Presence or absence of ester-like combined phosphoric acid.
2. Presence or absence of groups of atoms containing nitrogen and phosphorus (phosphatides).

It is sure, moreover, that there exists a difference in the organic structure too. In order to find out features that could be theoretic-

cally utilized in this regard, we have compared the amylopectines of potato and maize utilizing the following peculiarities:

1. Swelling degree of amylopectines isolated by electrodialysis.
2. Relative quantity of combined water.
3. Viscosity of amylopectine - solutions.
4. Iodine - colour of these solutions.
5. Decomposition by β - amylase.

The potato - amylopectine got by electrodialysis is almost transparent, mucous and thready; the maize - amylopectine is white, non transparent, and lumpy. The former can be concentrated to 8% of dry content, while for maize - amylopectine got by electro - dialysis the concentration is at the best 5%. This is not caused in any way by a stronger electric charge of the potato - amylopectine, for in spite of a much stronger electric charge a phosphorylized maize - amylopectine can be concentrated by electro - dialysis to a dry content of 1,2% only, but already with such a poor content of substance it forms a solid jelly.

After electro - dialytic precipitation 1 g. of dry substance of the potato - amylopectine contains 11,2 g. of water,
1 g. of the maize - amylopectine contains 20,7 g. of water,
and 1 g. of phosphorylized maize - amylopect. contains 81 g of water.

The »combined water« has been determined by freezing out and measured calorimetrically. For both amylopectines it comes to 1,3 g. of water by 1 g. of dry substance.

The viscosity of the potato - amylopectine is considerably greater than that of the maize - amylopectines of the same concentration. Here, no doubt, the ionic hydration of the potato - amylopectine is of influence too.

If, according to our known method by boiling under pressure alternated with electro - dialysing, one decomposes the potato - amylopectine and the maize - amylopectine in a series of sols one finds out that their iodine colour is violet for potato - amylopectine with a slight addition of iodine, and red with an excess of it, while the derivatives of the maize - amylopectine with slight iodine give a blue iodine colour which at an excess of iodine passes to green. Accordingly, in some respect, the derivatives of the maize - amylopectine stand near the amyloses. For both amylopectines the hydrolysis by β - amylase is checked if some 40% of the substance have been saccharified.

As the maize - amylopectine in its reaction on iodine stands near the non branched amyloses, we have imagined that its molecules have a lesser degree of branchage than those of the potato - amylopectine. As to the molecules of the maize - amylopectine we assume longer chains between the point of branchage, but their total may be lesser than that for the potato - amylopectine.

As the chains of the glucose are ramified only by two branches on one point at the most, the fact that but a certain percentage of the total substance is distributed on side-chains of a determined length also determines the branchage in the dextrin-residue. Let us suppose, e. g., a molecule consisting of 200 glucose-residues. 40% of the substance, consequently 80 glucose-residues appear in the side-chains. Taking, with K. H. Meyer, the relative quantity of the »end-groups« in the potato-amylopectine as some 5% and in maize-amylopectine as some 3,5% we got — e. g. only — for the maize-amylopectine 8 side-chains with 10 glucose-residues by 200 glucose-residues, and for the potato-amylopectine 12 side-chains with some 7 glucose-residues at a chain. In the dextrin residue there would remain 120 glucose-residues distributed as follows: for maize-amylopectine to 24-linked and for potato-amylopectine to some 13-linked branches. (Diagram 5 = potato, diagram 6 = maize.) These rough schematic diagrams show that the molecule form of the maize-amylopectine resembles, in a certain degree, to the form of the amylose-molecules, wherefrom many of the characteristic qualities as above mentioned could be explained.

KAZALO

	Stran
Vpliv zunanjih faktorjev na delovanje enzima bacillusa maceransa . .	3
Summary	14
Koloidno stanje amiloz in njegova odvisnost od elektrolitov	19
Summary	49
Hidroliza riževih luskin	52
Summary	75
Izomerija amilopektinov	76
Summary	82

