

Выяснение действительного количества неопределимых веществ сухих пивоваренных солодовых ростков и изучение состава их углеводной группы.

При выполнении обычных анализов продуктов растительного происхождения неизбежны невязки, выражающиеся в том, что сумма найденных анализом отдельных аналитических группы никогда не бывает равна 100%. В зависимости от характера исследуемого объекта недочеты могут численно колебаться в очень широких пределах. При анализах злаков, муки, семян, наряду с определениями влаги, золы, жира, клетчатки, белковых и небелковых азотистых веществ, — обычно непосредственно определяются: крахмал, декстрины и пентозаны; в результате при определении всех этих главнейших групп, входящих в состав нормальных и зрелых хлебов, сумма аналитических величин немногим отличается от 100%, составляя недоучет в 1½—4%. Гораздо значительнее эти недоучеты при анализах солодых, подмоченных, недозрелых и тому подобных хлебов, где они могут выражаться значительно большими величинами. Наконец, существуют объекты растительного происхождения, в которых недостача доходит до 12—28%. Примером могут служить травяное и клеверное сено, а также пивоваренная дробина, исследованные Кеннигом¹⁾. Но наиболее отчетливо количественные недоучеты анализа выявляются в сухих пивоваренных солодовых ростках, в которых общепринятыми методами анализа подобных продуктов находят лишь не выше 60% определимых веществ, считая на абсолютно сухое вещество. Таким образом, в стороне остается около 40% неопределимого остатка, обычно находимого по разности.

В связи с этим в аналитической литературе установилось понятие т. н. «экстрактивных безазотистых веществ» — остатка, получающегося при вычитании из 100 суммы величин, непосредственно определяемых: золы, жира, клетчатки, протеина и влаги.

Кенниг²⁾, подробно разбирая понятие «экстрактивных безазотистых веществ», считает неудачным это название, так как вещества, обуславливающие недоучет, не состоят всецело из веществ, переходящих в водную экстракцию; с одной стороны, «экстрактивные безазотистые» содержат растворимые углеводы и глюкозиды, органические кислоты, смолистые и дубильные вещества и другие растворимые вещества, с другой стороны, они представлены нерастворимыми при обычных условиях в воде резервными веществами (инулин, крахмал) и, наконец, частично они входят в состав клеточных стенок в виде пектиновых, слизи-и камедо-образных и т. н. веществ, гемицеллюлез, лигнина и других инкрустирующих веществ.

Кроме того, группа «экстрактивных безазотистых», вследствие ее определения по разности, воспринимает на себя и все аналитические погрешности количественного учета всех остальных аналитически опре-

¹⁾ „Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs. u. Genussmittel“. 1913, Н.—6, s. 273.

²⁾ Там же 1913 г. стр. 273.

деляемых групп. Причины неточностей кроются в несовершенстве методов определения отдельных аналитических групп. Так, напр., погрешности определения влаги обычным сушением при 100—110°C заключаются в неизбежных потерях летучих эфирных масел и летучих кислот, в окислении сахаров, декстринов и жиров. В первом случае будет уменьшение, во втором случае — прибавка в весе. При определении «протеинов» погрешность также может быть очень значительной. Принимаемый обычно коэффициент 6.25 удовлетворяет типичным белковым веществам, отвечая принятому в них (среднему) содержанию азота в 16%. Между тем, в группу т. н. «сырого протеина» входят всевозможные азотистые основания, амиды, аминокислоты и т. п., обладающие различным содержанием азота, то большим, то меньшим, чем обычно принято для белков 16%. Так, например, в бетанине 11,96% азота, в аспарагине 21,2%, — поэтому для первого коэффициент будет равен 8,35, а для второго 4.71. Очевидно найденное (неисчисленным азота на 6.25) количество «сырого протеина» будет тем менее отвечать действительному % содержанию азот-содержащих веществ, чем больше в растительном объекте будет веществ с отклонением от принятого условного коэффициента в 6.25. «Сырой жир», определяемый экстракцией эфиром, содержит в виде примесей воскообразные вещества, красящие вещества, хлорофилл и др. — в результате чего количество найденного всегда выше истинного. Наконец, «сырая клетчатка» также, помимо истинной клетчатки, может содержать те или иные инкрустирующие вещества. Все сказанное заставляет думать, что при известном разнообразии отдельных групп, входящих в состав исследуемого вещества, количественный недоучет анализа может быть подвержен значительным колебаниям. Количество «экстрактивных безазотистых», определенное по разности, таким образом, может быть выражено либо с недоучетом, либо с переучетом против истинного. Разнообразие групп, входящих в состав «экстрактивных безазотистых веществ», делает неясным и само понятие об экстрактивных безазотистых веществах. При этом, определив по разности группу «экстрактивных безазотистых» при изучении состава мало исследованных растительных веществ и обходя вопрос о составе этой группы, — мы в значительной мере лишаемся возможности суждения о химической природе и свойствах самого интересующего нас растительного объекта. Некоторые составляющие из группы «экстрактивных безазотистых», как например, растворимые сахара, декстрины, крахмал и пентозаны, достаточно точно поддаются непосредственному учету. В известных случаях определения этих групп принятыми методами удовлетворяют требованиям оценки исследуемого материала. Но возможны случаи, когда не все из этих определений бывают применимы, а понятие «экстрактивных безазотистых», вследствие их значительного %-ного содержания, все же требует некоторой дифференциации непосредственным исследованием. Как пример неприменимости отдельных методов определения к некоторым растительным объектам, укажем на метод определения крахмала с развариванием под давлением (м. Рейнеке). Этот метод, являющийся вполне удовлетворяющим при анализах муки и непроросших семян, значительно теряет в своей точности при анализах солода и дробины. Причины утраты точности определения в последнем случае лежат, главным образом, в потере значительных количеств моносахаров, разрушающихся в большой степени под давлением и влиянием высокой температуры. Количественное определение декстринов и сахаров страдает в точности в виду близости свойств тех и других групп. Так, например, в обычном методе с алкоголем невоз-

можно полное разделение на свойства растворимости в виду способности декстринов растворяться в алкоголе, содержащем сахар. Недостаток, общий всем прямым методам, тот, что захватываются не только интересующие нас вещества, но и соседние с ними группы. Особенно ярким примером растительного объекта, в котором группа «экстрактивных безазотистых» составляет значительную часть от его веса и в то-же время не может быть точно учтена обычно принятым прямым определением таких групп, как крахмал, декстрины и сахара, — служат сухие ростки пивоваренного солода.

Эти ростки уже не раз привлекали внимание исследователей. Будучи отбросом пивоваренного производства, ростки, вследствие значительного содержания амидов и вообще низших продуктов белковых веществ, — охотно применяются в качестве сырого материала в дрожжевом производстве. При этом однако вопрос точного учета степени использования их в дрожжевом производстве остается в значительной мере неясным. Одной из причин, заставивших в данном случае обратиться к изучению состава ростков, была затруднительность возможности учета степени их использования в дрожжевом производстве, благодаря недостаточной осведомленности об их составе. Так как солодовые ростки находят применение в качестве кормового средства для скота, то их составом с давних пор интересовались представители сельского хозяйства, в связи с чем имеющиеся в литературе аналитические данные, касающиеся их, страдают односторонностью и неполнотой.

Таблица I.

А в т о р :	Влаги %	Зола %	Жира %	Прогенна %	Сырой клетчатки %	Безазот. экстр. %	Сумма %
Кюн ¹⁾	10,1	7,2	2,1	24,2	14,3	42,10	100
Линтнер	8,0	6,8	2,5	23,0	17,5	42,2	100
Кениг ²⁾	10,09	7,19	2,1	24,18	14,33	42,11	100
Фингерлинг	9,06	5,98	1,58	25,64	15,03	42,71	100
„ ³⁾	9,76	6,25	1,43	24,95	13,40	44,21	100
„	9,07	7,44	1,51	23,82	16,42	41,74	100
Барнштейн ⁴⁾	12,00	7,50	1,50	23,10	12,30	43,60	100
Кельнер ⁵⁾	10,1	7,20	2,10	17,6	14,30	48,70	100
В среднем	9,77	7,07	1,85	23,31	14,70	43,42	100

Как видно из таблицы группа «экстрактивных безазотистых» для сухих пивоваренных солодовых ростков колеблется в пределах от

¹⁾ Durst. „Handbuch der Hefefabrikation“. 124 стр.

²⁾ Leyser. „Die Malzbereitung“. 1900, 364 стр.

³⁾ „Wochenschr. f. Brauerei 1913, 35, 471 стр.

⁴⁾ То же 1906, 52, 753 стр.

⁵⁾ „Chemisches Zentralbl“. 1880. 224 стр.

41,74% до 48,79% от их веса. Надо полагать, что состав этой группы для ростков должен быть достаточно сложным. Сложность состава вообще ростков, а в частности и группы «экстрактивных безазотистых», можно думать, является также в известной мере результатом сложности био-химических процессов прорастания зерна и образования новых тканей¹⁾. Процесс прорастания зерна характеризуется усложнением его химического состава в результате распада резервных веществ и образования новых веществ с упрощенной молекулой²⁾, Меркер³⁾. Приор, Эрх и другие, разбирая энзиматические процессы прорастания, указывают на присутствие в солоде, кроме декстринов и мальтозы,—глюкозы, тростникового сахара и левулезы, количественно установленных еще (1890) О'Сюлливаном⁴⁾. Общее направление процессов при прорастании в зерне — накопление способных к диффузии продуктов. В молодых, вновь образующихся тканях идут процессы синтетические. За счет образовавшихся простых соединений возникают гистологические элементы новых клеток. Накопленные простейшие азотистые соединения расходуются на построение белковых веществ, а простейшие углеводы расходуются на построение всех углеродистых соединений. Появляются новые вещества — пентозаны, идущие на построение вегетативных органов: корешков и стебелька⁵⁾. Таким образом, ростки содержат не только продукты распада прорастающего зерна, но и вновь образующиеся вещества. Среди соединений, получающихся в результате этих сложных процессов, могут быть вещества промежуточные, трудно поддающиеся химической индивидуализации и определению обычными аналитическими методами. На это указывают опыты Пфеффера⁶⁾, установившего, что в процессе регенерации белка из аспарагина, лейцина и т. д. необходимо присоединение безазотистых углеродистых соединений. Наконец, процесс образования клеточных стенок в результате деятельности плазмы, мало еще изученный с химической стороны⁷⁾, также может являться источником промежуточных соединений. Кроме процессов синтетического характера, в молодых побегах идут процессы дыхания, выражающиеся в докислении углеводов до CO_2 при переходе через различные органические кислоты. По исследованиям Приора, количество органических кислот в ростках увеличивается более чем вдвое по сравнению с зерном, считая на сухое вещество. Солодовые ростки обычно исследуются в виде ростков пивоваренного высушенного солода. Не касаясь деталей вопроса о химических превращениях в процессе сушки, все же отметим, что при наличии кислотности и действия высокой температуры происходит некоторый сдвиг в химическом составе ростков. Возможен частичный распад нестойких промежуточных соединений, частичное образование новых веществ, как, например, образование карамелеобразных продуктов в результате карамелизации сахаров и так далее. Последнему в особенности способствует незащищенность и нежность молодых клеток. Из всего сказанного следует, что химический состав ростков, в значительной степени обуславливающийся особенностями процессов солодоращения и солодосушения, — должен быть в высокой

¹⁾ Czapek. „Biochemie d. Pflanzen“. 1925 г. II т. 242 стр.

²⁾ „там же“ 1925 г. II т. 245 стр.

³⁾ Меркер. Руководство по винокурению 1909 г. 356 стр.

⁴⁾ Prior „Chemie u. Physiologie des Malzes u. des Bieres“. 1896. 108 стр.

⁵⁾ Меркер. Рук. по винокур. стр. 356, 1909 г.

⁶⁾ C. Michel. „Lehrbuch d. Bierbräuerei“. 1900, стр. 230.

⁷⁾ Czapek. „Biochemie d. Pflanzen“. 1922 г. I—708 стр.

степени сложным. Это положение подтверждается отчасти ниже приводимыми литературными данными.

Ростки, используемые как кормовой материал и как материал для дрожжевого производства, наиболее полно изучены со стороны их азотистых веществ. Из последних были выделены гистидин, холин и бетаин, количественно определен аспарагин. (Иошимура¹), Мейссл²) и др.). Применение ростков в качестве лечебного средства натолкнуло на мысль о присутствии алкалоидов, из которых выделен горденин — амин, содержащий бензольное ядро³). Ростки со стороны входящих в них экстрактивных безазотистых веществ качественно и количественно еще мало освещены. Последнее в известной мере объясняется тем, что ими интересовались, как азотистым кормовым средством для скота.

Весьма давняя работа Лермера (1866), результаты которой вошли в общеизвестные руководства и монографии по пивоварению, освещает отчасти состав «экстрактивных безазотистых» с качественной стороны, не давая, однако, совершенно цифровых данных. Указанный автор нашел ряд кислот: яблочную, муравьиную, янтарную, лимонную, уксусную, молочную, щавелевую и пропионовую, ряд веществ сложного состава: гумми, смолы, воскообразные вещества и другие. Общее количество сахаров было установлено работой Иошимура⁴): им было констатировано присутствие мальтозы и инвертного сахара, вопрос о тростниковом сахаре остался открытым.

Таким образом, все вышеизложенное приводит к предположению реального существования в солодовых ростках следующих веществ из группы «экстрактивных безазотистых». Из углеводов возможны различные моно-, дисахара и их ангидриды типа пентозанов и гексозанов, карамели и, наконец, промежуточные соединения неизвестного состава, содержащие углеводную группу в скрытом состоянии. Кроме того, к группе «экстрактивных безазотистых» в ростках относятся мало изученные воскообразные, гумми—и смолообразные вещества неизвестного состава и характера и, наконец, различные растительные кислоты.

Связывая эти данные с интересующим нас количественным недоучетом при выполнении анализов растительных веществ, мы видим, что в ростках этот недоучет складывается частью из недоучета трудно поддающихся количественному определению веществ (кислоты, смолы, гумми и другие), частью обуславливается неточностями обычных определений, в особенности влаги и протеинов. Помимо этого, в группу веществ, составляющих этот недоучет, входят и различные углеводы, поддающиеся при соответствующей методике количественному определению. Выявление причин количественного недоучета в анализах ростков, в связи с указанным выше промышленным значением этого продукта, представляет известный теоретический и технический интерес. Поэтому в задачи настоящей работы входит: 1) выявление действительного количества неопределимых веществ ростков и 2) учет и выяснение химической природы отдельных составляющих углеводные группы экстрактивных безазотистых веществ. Сложность состава ростков, как уже сказано, не позволяет применить ни один из обычных прямых методов для определения интересующих нас групп. Для точного определения и дифференциации углеводов требуется их разделение по группам. Осуществление этого возможно на основе различного

¹) Ioschimura. „Biochem. Zeitschr“. 1911. т. XXXI. 221 стр.

²) Czapek. „Biochemie d. Pflanzen“. 1922 г. II 246 стр.

³) I. Schmidt. „Kurzes Lehrbuch d. Organischen Chemie“. 1922 г. 705 стр.

⁴) Ioshimura. „Biochem. Zeitschr“. 1911 т. XXXI—221 стр.

отношения отдельных групп к тем или другим растворителям. Очевидно, что при этом существенным является требование индифферентности избранных растворителей по отношению к химической природе извлекаемых ими веществ. В применении к интересующим нас росткам представляется целесообразным последовательное экстрагирование одной и той же навески этих ростков попеременно эфиром, спиртом и водою, что и применялось в настоящей работе.

Абсолютный эфир, удаляя жиры, жирные кислоты и другие аналогичные вещества, не захватывает группы углеводов, которая при экстракции остается в твердом остатке. В результате последующей экстракции твердого остатка 90°-ным спиртом в спиртовый раствор переходят моно-и дисахара, смолистые и воскообразные вещества и все свободные органические кислоты. При этом в твердом остатке из интересующих нас групп углеводов останутся нерастворимые в спирту ангидропроизводные сахаров типа декстринов, пентозанов и гексозанов. Кроме того, сюда же войдут пектиновые и родственные им вещества, а также гемицеллюлозы.

Твердый остаток подвергается водной экстракции. При этом некоторые ангидро-производные сахаров, типа декстринов, перейдут в водный экстракт. Процесс извлечения этой группы происходит в среде, почти исключаяющей возможность проявления процессов гидролиза. Свободные органические кислоты нацело извлекаются предыдущей спиртовой экстракцией. Действие остающихся после экстракции спиртом энзим вряд ли может проявиться благодаря незначительному их количеству в сухих ростках и ослаблению под влиянием горячей (70°) спиртовой экстракции. Получаемый в результате всех этих последовательных экстракций твердый остаток сохраняет, таким образом, незатронутыми высшие ангидро-производные сахаров, именно, клетчатку и все родственные с ней группы углеводов: гемицеллюлозы, гексозаны, пентозаны, а также лигнин и проч. Анализы полученных экстрактов и твердого остатка позволяют свести баланс группы так называемых «экстрактивных безазотистых веществ». При сводном балансе анализов должны выявиться дифференциация углеводов по группам, а также общее количество действительно неопределимых веществ. Таким образом, смысл преимущества при условиях анализа с последовательными экстракциями лежит в раз'единении и благодаря этому в более исчерпывающем определении отдельных углеводных групп ростков.

Экспериментальная часть.

Материалом для исследования служили пивоваренные ростки светлого солода Томского Пивоваренного Завода № 1, взятые из под отбоечной машины для отделения ростков. По ходу работы на заводе солод сушится в течение 36 часов на 2-х ситчатой сушилке, постепенно переходя температуры от 32°—35°С до темп. около 70°С. Взятые для исследования ростки были освобождены от зерен, соломинок и проч. засорений и затем грубо измельчены на мельнице. Затем материал был измельчен на терке Меркера; полученный помол целиком проходил через шелковое сито. Воздушно-сухие ростки сохранялись в банке с притертой пробкой. Многократными анализами их влажность определялась в 6,01%. Обычно принятый анализ производился, согласно указаний руководств Кенига¹⁾ и Демьянова²⁾, общепринятыми

1) König. Die Untersuchungs—Methoden.

2) Демьянов. „Обшт. приемы анализа растит. вец.“ 1923 г.

методами. Зольность определялась озолением в муфеле, жир—экстракцией абсолютным эфиром, азот—по Кьельдалю, белковый азот—по Барнштейну, пентозаны — по Толленсу. Обычно принятое определение клетчатки по Геннебергу было заменено методом Кен и га¹⁾. Преимущество этого метода в том, что получающаяся клетчатка не содержит пентозанов, сохраняя лигнин. Тем самым избегается двойное определение пентозанов, а клетчатка учитывается вместе с лигнинами, которые при способе Геннеберга не остаются в сырой клетчатке. Все анализы велись в параллельных пробах. В нижеследующей таблице II представлены средние анализы.

Т а б л и ц а II.

В % сухого вещества						
Зола	Жиры	Протеина (N×6,25)	Белков по Барн- штейну	Клетчатки	Пентозан	Неопред. остаток по разности
8,35	1,79	26,51	17,44	13,44	14,68	35,23

Исследуемые ростки, как видно из таблицы, содержат всего 49,9% «экстрактивных безазотистых», из которых по методу Толленса было определено 14,69% пентозанов. Таким образом, неопределимый остаток, полученных вычитанием суммы всех найденных величин из 100, составляет 35,23% по весу сухих ростков.

Раньше, чем пойти намеченным путем последовательных экстракций для общей ориентировки в работе, важно было сразу установить характер этого «неопределимого остатка». Так как предполагалось, что значительную часть его представляют растворимые в воде сахара и их низшие ангидро-производные, то поэтому является необходимым определить, хотя бы приблизительно, их общее количество. С этой целью была произведена повторная водная экстракция²⁾ до полного извлечения всех вымываемых водою веществ. Для ослабления деятельности возможных в ростках энзимов, температура экстракций вначале была около 5°C, а затем, после пятикратной смены воды, поддерживалась около 15°C. Навеска ростков экстрагировалась в 10-ти кратном по ее весу количестве воды с размешиванием при десятикратной ее замене. Так как экстрагирование заняло около 14 часов, то прибавлялся в качестве антисептика толуол. Отдельные фильтраты и промывные воды соединялись вместе. В экстракте определялось сухое вещество выпариванием определенного объема в платиновой чашке и сушением остатка при 100—103°C. Затем остаток озолялся. Пентозы определялись по Толленсу, азот по Кьельдалю. Общее количество углеводов характера гексоз найдено по инверсии экстракта с соляной кислотой уд. в. 1.125.

В виду неопределенности природы инвертируемых веществ, что могло бы привести к недоопределению — было проведено несколько инверсий с различной продолжительностью. В результате необходимое для инверсии время установлено в 3 часа. Сахара в нейтрализованной жидкости определялись по Бертрану с поправкой на пентозы. Для

• 1) König. „Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs u. Genussmittel“. 1903 г. Н.—17, s. 770.
2) König. Die Untersuchungs-Methoden.

осаждения белков в инвентированной жидкости употреблялся 3%-ный раствор фосфорно-вольфрамового натра. Методика анализов, выработанная для данного опыта, сохранялась и в последующих водных экстракциях. В водном экстракте получено 40,37% сухих веществ по весу исходных сухих веществ ростков. Экстракт имел следующий состав:

Таблица III.

Сухих веществ экстракта в % сухих веществ ростков	Состав сухих веществ водного экстракта в %					
	Зола	Протеина (N×6,25)	Пентоз	Гексоз после инверсии	Всего определяемых веществ	Количество неопределимых по разности
40,37	13,76	33,93	4,19	32,53	84,41	15,59

Цифровые данные показывают, что холодный водный экстракт преимущественно состоит: из азотистых веществ—33,93% и растворимых углеводов, образующихся при инверсии сахара типа гексоз—32,53%. Веществ неопределимых, найденных по разности—15,59%. В незначительном количестве в экстракте находятся пентозы, которых 4,19%. Эти числовые данные, будучи пересчитаны по весу исходных сухих веществ ростков, выразятся нижеследующей таблицей.

Таблица IV.

Содержание по весу сухих веществ ростков в %				
Зола	Протеина	Пентоз	Гексоз после инверсии	Количество неопределимых веществ по разности
5,50	13,08	1,69	13,00	6,29

Из этих данных видно, что из 35,23% неопределимого остатка ростков в водный экстракт переходит 6,29%. Водная экстракция обнаруживает, однако, по весу исходных ростков 13,00% сахаров. Поэтому из 35,23% неопределимого остатка остается неопределимых веществ всего 35,23—13,00=22,23%. Из них около 1/3 переходит в водный экстракт.

Переходя к методу последовательных экстракций, остановимся на условиях их осуществления. Точно взятая навеска ростков около 40 гр. помещалась в обезжиренный бумажный патрон (Schleichert и Schüll) экстракционного аппарата Сокслета и сушилась при 70°C. в течение 4-х часов до удаления почти всей влаги, так что последней оставалось не более 0,4—0,5% по весу ростков. Затем патрон помещался в экстрактор Сокслета и ростки экстрагировались абсолютным эфиром в течение 8 ч. Пробой на полноту экстракции служило отсутствие остатка на часовом стекле после испарения капли стекавшей жидкости. Эфирный экстракт исследовался на содержание «сырого жира» обычным путем. Вещество после экстракции сушилось при темп. 35—40°C., оставаясь в патроне до полного удаления эфира.

Затем этот остаток, оставаясь на том же патроне, аппарата Сокслета, экстрагировался 90°-ным спиртом продолжительное время, доходившее

до 30 часов. Получавшийся экстракт был прозрачен, бурого цвета, обладал кислой на лакмус реакцией. Остаток после экстракции спиртом был извлечен количественно из патрона и затем экстрагировался пятикратным количеством воды в стаканчике с мешалкой в течение 2 ч. В течение 1-го часа температура поднималась от 22°C до 99°C, а в течение 2-го часа экстракция шла при температуре кипящей водяной бани. Экстракт отфильтровывался, остаток декантацией промывался 2 раза также пятикратным количеством горячей воды. Промывные воды присоединялись к экстракту. Цвет экстракта светло-желтый, реакция на лакмус кислая. Остаток после водной экстракции сушился при температуре 65—70°C, на что требовалось до 6 часов времени, и затем обращался в порошок тонкого помола. Доведенный до воздушно-сухого состояния, твердый остаток сохранялся в банке с притертой пробкой. Экстракты, каждый самостоятельно приведенный к точным объемам, исследовались на содержание сухих веществ, золы, азота, пентоз и гексоз. В каждом экстракте определялось по разности количество неопределимых веществ. Твердый остаток после водной экстракции исследовался на те же группы и теми же методами, как и ростки. Учитывая возможность некоторых потерь и погрешностей при определении непосредственным взвешиванием получившегося остатка, в последнем устанавливался вычетанием из веса сухих веществ исходных ростков суммы сухих веществ полученных экстрактов. Зная %-ное отношение к весу исходных ростков и состав твердого остатка, легко было определить %-ное содержание в нем различных аналитических групп, отнесенных к весу исходного продукта.

Опыты, поставленные с экстракцией в патроне, не дали достаточно согласных между собой результатов в виду невозможности достичь полноты экстракции спиртом. Причиной служило слеживание всей экстрагируемой массы, что, видимо, обуславливалось свойством тканей ростков сильно сжиматься под влиянием спирта.

Анализы показали, что сухое вещество спиртового экстракта на 1/3 состоит из неопределимых веществ. В остальном спиртовый экстракт характеризуется малой зольностью (около 4% по весу сухих веществ), значительным содержанием азотистых веществ (около 1/3), а также и растворимых сахаров (около 1/3). — Сухие вещества водного экстракта также отличаются значительным содержанием неопределимых веществ (около 20% по весу сухого вещества). Помимо того, в водном экстракте значительное количество минеральных веществ и сахаров почти исключительно характера гексоз и растворимых их ангидропроизводных. Остаток вещества после всех произведенных последующих экстракций в среднем характеризуется таким составом:

Таблица V.

В % сухого вещества остатка					
Золы	Протеина	Клетчатки	Пентозан.	Всего определимых веществ	Количество неопред. веществ по разности
5,75	27,08	21,48	19,37	73,68	26,32

Из данных таблицы V видно, что твердый остаток, полученный после последовательных экстракций, содержит значительное количество неопределимых веществ, именно 26,32% по весу сухого вещества этого остатка. Судя по составу, можно думать, что этот остаток представляет собою клеточные стенки с неперешедшими в раствор белками и золою. Количество сухих веществ твердого остатка при пересчете на вес сухого вещества ростков составляет 60,71% последнего.

Отсюда, перечисляя полученные данные состава твердого остатка (таб. V) на вес сухих веществ ростков, получим следующие числа, характеризующие степень извлечения экстрактами отдельных составных частей ростков.

Таблица VI.

Содержание по весу сухих веществ ростков в %				
З о л ы	Протенна (N × 6,25)	Клетчатка	Пентозан.	Неопределяемых веществ по разности
3,49	16,43	13,03	11,76	15,94

Итак, твердый остаток содержит 15,94% неопределимых веществ, считая по весу сухих веществ исходных ростков. Методика определений и условные коэффициенты (как, например, 6,25—для азота), как раз рассчитаны на те группы соединений, которыми представлен этот твердый остаток, поэтому, надо думать, что величины отдельных аналитически найденных групп твердого остатка в данном случае вполне отвечают действительности. Отсюда следует, что количественный недоучет, выражавшийся в 26,32% по весу твердого остатка, после экстракции составляющий 15,94% по весу исходных ростков, является реально существующей величиной, при том численно правильно представленной. Можно предполагать, что это — различные сложные нерастворимые соединения, сопровождающие клетчатку и остающиеся вне учета обычными методами.

Экстрагирование вещества спиртом в патроне по причинам, указанным выше, не удовлетворяло требованиям полноты экстракции. Поэтому в дальнейших опытах для спиртовой экстракции пользовались не патроном, а обычной экстракцией с перемешиванием и свободным омыванием, устраняющим возможность слеживания. В результате был выработан следующий порядок выполнения метода. Точно отвешенная навеска ростков высушивалась и затем по предыдущему экстрагировалась эфиром в патроне Сокслета. Остаток количественно переносился в экстракционный стаканчик, где экстрагировался в течение 5 часов пятикратным количеством 90°-ного спирта, три раза сменяемого.

Экстракт доводился до точного объема тем же спиртом. При этом последняя смена спирта была нейтральна на лакмус и имела слабожелтый цвет. Это указывало на полноту экстрагирования. Водная экстракция разбивается на 2 фракции: холодную и горячую. Значение целесообразности этого подтверждается приводимыми ниже результатами. Сначала остаток после спиртовой экстракции экстрагируется при т. 10°—12°C. 8-ми кратным количеством 2 раза сменяемой воды в течение 2 часов. Вследствие перехода в раствор кислых солей и в

особенности $\text{KН}_2\text{PО}_4$, мало растворимого в крепком спирте и легко растворимого в холодной воде, реакция первой смены воды оказывается кислой на лакмус. Вторая смена воды — чуть заметно кислая, а промывные воды — совершенно нейтральны. Остаток смывается горячей водой в стаканчик и экстрагируется при темп. кипения водяной бани 3 часа 8-микратным количеством 2 раза сменяемой воды. Каждый экстракт отдельно доводится до точного объема, а с остатком поступают по прежнему

Изложенные условия экстракций удовлетворяют поставленным целям. Спиртовая экстракция удаляет свободные кислоты, а следующая за ней холодная водная экстракция идет в среде, кислотность которой обусловлена преимущественно $\text{KН}_2\text{PО}_4$ ¹⁾. Так как экстрагирование идет на холоду и так как большая часть $\text{KН}_2\text{PО}_4$ удаляется с первой сменой воды, то надо думать, что возможность инверсии гемицеллюлез и других нестойких соединений при этих условиях должна быть сведена до минимума. Благодаря этому, последующая горячая водная экстракция протекает в нейтральной среде. При проведении горячей экстракции имелось в виду испытать отношение гемицеллюлез, а также и различных инкрустирующих веществ клетчатной стенки к действию горячей воды. Состав всех трех экстрактов и твердого остатка после экстракций представлен нижеследующей таблицей:

Таблица VII

НАЗВАНИЕ ЭКСТРАКЦИЙ	Получено сухих веществ экстракта от веса сухого вещ. ростков	СОСТАВ СУХИХ ВЕЩЕСТВ ЭКСТРАКТА В %									
		Жи ра	Зо лы	Азотистых ве- ществ N X 6,25	Клетчатки	Пентозан	Сахаров			Сум ма	Количество не- определ. веществ по разности
							Пентоз.	Гексоз и мальтозы до инв.	Гексоз после инверс.		
Эфирная	1,64	100	—	—	—	—	—	—	—	100	—
Спиртовая	19,88	—	3,48	28,18	—	—	0,87	21,20	48,01	80,54	19,46
Холодная водная .	15,85	—	22,59	18,14	—	—	4,68	—	27,78	73,19	26,81
Горячая водная .	4,95	—	17,66	33,9	—	—	14,30	—	25,96	91,82	8,18
Остаток вещества ростков после экстракций	57,68	—	5,77	27,81	22,83	22,42	—	—	—	78,83	22,17

Цифровые данные анализов приводят к следующим заключениям относительно метода последовательных экстракций:

Спиртовый экстракт почти наполовину состоит из соединений, содержащих углеводные группы (48,01%). Частью группа углеводов представлена непосредственно восстанавливающими фелингову жидкость сахарами, частью более сложными полисахарами, непосредственно невосстанавливающими. В экстракте содержится 28,18% азотистых веществ и значительное количество — 19,88% неопределимых веществ. Можно думать, по работам прежних авторов, что среди последних

¹⁾ Prior, „Chemie u. Physiologie d. Malzes u. Bieres“. 1896 г.

должны находиться смолистые вещества, нерастворимая в воде часть спиртового экстракта; сюда же сосредоточиваются свободные органические кислоты, дубильные вещества, воскообразные и другие вещества.

Холодный водный экстракт содержит 22,59% зольных веществ, 27,78% соединений, образующих при инверсии гексозы, 18,14% азотистых веществ и всего лишь 4,68% пентоз. Неопределимых веществ, по разности, в нем 26,81%. Нельзя составить какого-либо ясного представления о составе и природе веществ, составляющих этот остаток. Можно лишь предполагать, что сюда входят отчасти соли органических кислот, отчасти гумми — и слизеобразные вещества и пектиновые вещества. Последние, как известно, всегда сопутствуют молодым тканям¹⁾ и находятся не только в составе клеточных стенок, но и в клеточном соке. Поэтому частично возможен их переход в холодный водный экстракт. Как известно, для пектиновых веществ до сих пор не выработано метода количественного определения. Только часть сложной молекулы пектиновых веществ нами учитывается по фурфуролу, неучитываемая же, можно думать, довольно значительная, часть пектиновой молекулы неизбежно будет связана с появлением неопределимого остатка.

В составе сухих веществ горячей водной экстракции содержится 17,66% зольных веществ, — 33,9% азотистых веществ, — 14,3% пентоз и 25,96% углеводов, образующих после инверсии гексозы. Неопределимый остаток составляет 8,18%. Как известно²⁾, пектиновые вещества при продолжительном кипячении способны переходить в раствор, поэтому их присутствие в горячем водном экстракте вполне естественно. Состав рассматриваемого экстракта подтверждает это положение. По сравнению с составом предыдущих экстракций горячий водный экстракт отличается значительным содержанием группы характера пентоз, точнее фурфурол — дающих соединений по методу Толленса. Нахождение, да еще в значительном количестве, в горячем водном экстракте такого рода веществ в условиях нейтральной реакции, после выщелачивания всех растворимых спиртом и водою веществ, — можно объяснить только переходом пектинов. И если в предыдущей холодной экстракции появление неопределимого остатка возможно отчасти отнести за счет недоучета пектиновых веществ, то в горячей экстракции, надо думать, неопределимый остаток всецело зависит от их присутствия. Гексозы, полученные инверсией горячего экстракта, также принадлежат сложным соединениям, входящим в состав клеточных стенок.

Полученный твердый остаток после всех последовательных экстракций содержит 22,12% неопределимых по весу сухих веществ. Принимая во внимание работы Кенига, Шульце и др., а также факты, выявленные в настоящей работе, должно полагать, что эти неопределимые вещества, с одной стороны, являются ангидро-производными гексоз, типа гемицеллюлез, с другой стороны, неопределимый остаток объясняется присутствием пектиновых веществ, количественно недоучитываемых.

Распределение сухих веществ экстрактов по весу сухих веществ ростков идет в следующем порядке: максимальное количество экстрагированных сухих веществ падает на спиртовую экстракцию — 19,88%, затем на холодную водную — 15,85%; горячая водная содержит 4,95%,

¹⁾ Erlich. „Biochem. Zeitschr“. 1926 г. Heft 4/6 s. 263.

²⁾ Там же.

а эфирная всего 1,64%. Твердый остаток, определившийся по разности, составляет 57,68% сухих веществ ростков. Пересчитывая полученные данные состава экстрактов табл. VII, на вес сухих веществ ростков получим следующее:

Таблица VIII.

НАЗВАНИЕ ЭКСТРАКЦИИ	Получено сухих веществ экстракта по весу сух. веш. ростков	Содержание по весу сухих веществ ростков в %								
		Жи ра	Зо лы	Азо тистых ве ществ (N×6,25)	Кле тчатка	Пен тозан.	Са ха ров			Ко личес тво не опре дели мых вещ еств
						Пен тоз.	Ге ксо з и ма ль то зы до инвер сии	Ге ксо з по сле инвер сии		
Эфирная	1,64	1,64	—	—	—	—	—	—	—	—
Спиртовая	19,88	—	0,69	5,60	—	—	0,17	4,21	9,71	3,70
Холодная водная	15,85	—	3,58	2,88	—	—	0,74	—	4,30	4,25
Горячая водная	4,95	—	0,87	1,68	—	—	0,71	—	1,29	0,40
Остаток вещества ростков после экстракций	57,68	—	3,32	15,97	13,12	12,88	—	—	—	12,17
Всего по экстрактам и в остатке	100	1,64	8,46	26,13	13,12	12,88	1,62	4,21	15,30	20,52

Рассматривая данные состава ростков, полученных на основании анализов при методе последовательных экстракций, можно сделать следующие общие заключения в отношении безазотистых экстрактивных веществ:

I. Количество неопределимых веществ 20,52%. Неопределимые вещества при этом разделяются на две отчетливые группы, а) группа экстрагируемая спиртом и холодной водой и потому преимущественно относящаяся к составу клеточного сока; она составляет всего $(3,7 + 4,25) \% = 7,95\%$ от веса ростков, и б) — группа нерастворимых ни в спирте, ни в холодной воде веществ, составляющих $(12,17 + 0,40) \% = 12,57\%$, преимущественно относящаяся к клеточным стенкам. Часть этих неопределимых веществ при продолжительном кипячении переходит в экстракт.

II. Соединений, содержащих пентозо-группы всего $(12,88 + 1,62) = 14,50\%$. Они разделяются: на соединения под рубрикой пентозы, составляющие всего 0,17% по весу ростков и на более сложные соединения, включающие пентозорадикалы. Из них часть извлекается водой на холоду, оставляя 0,74% по весу ростков, а главная масса их остается в твердом остатке. Из них при 2-часовом кипячении переходит в экстракт всего лишь 0,71% от веса ростков, а главная часть, составляющая 12,88%, находится в виде сложных соединений аналитически принятыми методами исследования, определяемых понятием «пентозаны».

III. Соединений, содержащих гекезо-группы характера сахаров и их ангидро-производных, всего 15,30%. Из них 4,21% — непосредствен-

но восстанавливающие фелингову жидкость сахара, типа гексоз. Остальные углеводы характера гексоз, непосредственно не восстанавливающие фелингову жидкость, составляют всего (15,30—4,21), = 11,09% от веса ростков.

Затем была сделана попытка выяснения природы неопределимых веществ твердого остатка после экстракций солодовых ростков. Этот твердый остаток был испытан на содержание в нем гексозанов кипячением с 3% соляной кислотой¹⁾. В основу метода взяты определения гемицеллюлоз по Шульце, пользовавшегося кипячением со слабой кислотой с обратным холодильником²⁾. Однако, предварительной холодной обработки щелочью для удаления белков не производилось, в виду возможного присутствия в твердом остатке пектиновых веществ, способных растворяться на холоду в щелочном р-ре. Точно отвешенное количество остатка, содержащее около 1 грамма, кипятилось с 100 см.³ 3% соляной кислоты, с обратным холодильником. Смесь переносилась в мерную колбу, обрабатывалась фосфорно-вольфрамовым натром и почти доводилось до нейтральной реакции раствором щелочи; в совершенно бесцветном, прозрачном фильтрате устанавливалось количество сахаров по Бертрану. Вводилась поправка на пентозаны. В виду неясности природы полисахаров, был поставлен ряд опытов с различной продолжительностью инверсии в пределах от 2 до 8 часов. В результате было установлено, что необходимое для инверсии время 6 часов. При увеличении продолжительности идут, видимо, процессы разрушения моносахаров. В результате этих опытов выяснилось, что из 22,17% неопределимых веществ твердого остатка 11,49% составляют гексозаны, что отвечает по весу ростков 6,6%. Остальные 10,68% по весу остатка, или по весу ростков 6,11% представляются неопределимым остатком, неподдающимся учету применявшимися в настоящей работе методами. Суммируя все реально найденные остатки неопределимых веществ каждого экстракта и твердого остатка при методе последовательной экстракции, получим:

В эфирном экстракте	нет.
В спиртовом	3,70%.
В холодном водном	4,25%.
В горячем водном	0,40%.
В твердом остатке	6,11%.

Всего неопределимых веществ 14,46% по весу сухих веществ ростков.

Из полученных данных видно, что значительная доля неопределимых веществ солодовых ростков, именно 6,11%, относится к веществам, входящим в состав клеточной ткани ростков.

С целью выяснения химической природы состава инкрустирующих веществ клеточных стенок, был произведен ряд микрохимических испытаний исходных сухих солодовых ростков по предписаниям руководства Молиша³⁾. Эти испытания были выполнены при любезном содействии преп. В. П. Чехова в цитологической лаборатории Томского Университета. На микротоме из исследуемых ростков был приготовлен ряд срезов. Результаты микрохимической обработки их показали следующее:

¹⁾ König. „Zéltshr. f. Unters. Nahr. u. Genussmittel“ 1913 г.—3. 273 стр.
²⁾ Schulze. „Zeitschr. f. Physiol. chemie“. 1896 г. т. XXI s. 397.
³⁾ Molisch. „Mikrochemie der Pflanzen“. 1923.

1. Клеточные стенки являются инкрустированными.
2. Реакции с флороглюцином и соляной кислотой, а также с солянокислым анилином обнаруживают лигнин — содержащие клеточные стенки.
3. Двойная окраска «Säuregrün und Naphthylenblau», а также окраска сафранином указывает на присутствие пектиновых веществ.

Выводы:

I. Количество неопределимых веществ сухих солодовых ростков в действительности значительно меньше, чем находимое обычно принятыми методами по разности между 100% и суммой найденных в ростках: влаги, золы, жира, сырого протеина, «сырой клетчатки» и пентозанов. В условиях настоящих опытов количество действительно неопределимых веществ снижается с 35,23% до 14,46%.

II. Количество неопределимых веществ при обычных анализах ростков связано с недостаточной полнотой количественного выявления группы моносахаров типа гексоз и пентоз.

III. Группа «экстрактивных безазотистых» веществ характеризуется значительным содержанием углеводов, из которых 14,5% составляют производные пентоз, а 15,3% составляют производные гексоз. Из первых большая часть представлена высшими производными — 14,33%, а из вторых большую часть занимают низшие представители (9,71%).

IV. Количество неопределимых веществ, экстрагируемых водю при непосредственной холодной водной экстракции, составляет 6,29% от веса ростков. При последовательной экстракции эфиром, спиртом, холодной, затем горячей водю это количество достигает по весу ростков до 8,35%; из которых на спиртовую экстракцию приходится 3,70%, а на холодную и последующую горячую водную 4,65%.