

ŠTÚDIUM HARDEN—YOUNGOVHO EFEKTU (VI) PRÍPRAVA SODNEJ SOLI DIFOSFOREČNÉHO ESTERU FRUKTÓZY Z BÁRNATEJ SOLI

A. VOJTKOVÁ-LEPŠÍKOVÁ, A. KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ

ČSAV, Mikrobiologické laboratórium Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied
v Bratislave

Pretože bárnatá soľ difosforečného esteru fruktózy je ťažko rozpustná vo vode a pre fyziologické použitie je toxická, slúži len ako východisková surovina na prípravu sodnej soli. Namiesto bárnatej soli sme sa pokúsili o prípravu vápenatej soli. Avšak s ohľadom na ťažkosti čistenia od prímiesí, najmä od vápenatých fosforečnanov sme od tohto spôsobu upustili a zamerali sme sa na prevádzanie vyčistenej bárnatej soli [1] na sodnú soľ. V literatúre sa najčastejšie používa spôsob premeny pomocou roztoku síranu sodného [2—5]. Novšie sa uvádza aj zachytávanie prímiesí na aktívnom uhlí [2]. My sme použili premenu bárnatej soli na sodnú soľ prevádzaním cez vymieňač iónov. Rozbor uvedeného spôsobu opisujeme v tejto práci.

Experimentálna časť

1. Použitý materiál

Použili sme vyčistenú bárnatú soľ difosforečného esteru fruktózy podľa spôsobu, ktorý uvádzame v predchádzajúcej práci [1]. Ako vymieňač iónov slúžil Wofatit F po prevedení do sodného cyklu.

2. Pracovný postup

20 g uvedenej bárnatej soli difosforečného esteru fruktózy sme rozpúšťali v 200 ml vody za chladna a za občasného pretrepávania. Do tohto množstva sme pridali polovičné množstvo vymieňača iónov (225 g), čím sa zrazenina bárnatej soli fosforylovanej fruktózy oveľa lepšie rozpúšťala. Potom sme odsávali na Büchnerovom lieviku a roztok sme púšťali cez kolónu pomaly kvapkajúc. Roztok sodnej soli sme za studena sterilizovali bakteriologickým filtrom, zatavovali do ampuliek a uchovávali v chlade.

Pretože sme chceli zachytávať čo najkoncentrovanejšie roztoky, nepridávali sme do základnej vzorky ani začiatočnú časť ani premývacie vody. Predsa však sme zisťovali, koľko sodnej soli fosforylovanej fruktózy do roztokov odchádza. Preto sme vymieňač iónov trikrát premývali 100 ml destilovanej vody a tak sme zachytili tri premývacie vody o obsahu 135 ml, 92 ml a 107 ml. Takisto začiatočnú vzorku v množstve 57 ml, ktorú tvorila prevažne voda z kolóny, sme oddelili. Presvedčili sme sa, že obsahuje aj fruktózu a organicky viazaný fosfor, a to len v stopových množstvách (tab. 1). Preto sme s ňou naďalej nepočítali.

Ukázalo sa, že prvú premývavicu vodu možno ešte pribrať, pretože zloženie jej obsahu zodpovedá sodnej soli fosforylovanej fruktózy (stanovený pomer fruktózy k organicky viazanému fosforu je 2,62, teoreticky vypočítaný je 2,9). Naproti tomu ďalšie premývacie vody obsahujú ešte niečo fruktózy, avšak iba stopy organicky viazaného fosforu.

Tabuľka 1

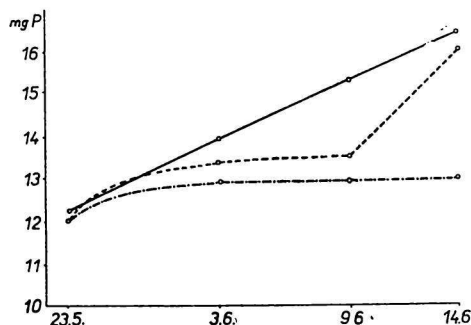
Prehľad obsahu rôzne viazaného fosforu a fruktózy v 10 ml jednotlivých frakcií

Vzorka	Fosfor v mg			Fruktóza v mg
	anorganický	celkový	organický	
Na-F-1,6-dP	12,0	94,0	82,0	148
1. premývací voda	12,20	61,60	49,40	129
2. premývací voda	1,66	5,20	3,54	100
3. premývací voda	0,185	0,80	0,61	49

Pravdepodobne tu dochádza k hydrolyze fosforylovanej fruktózy a vyplavuje sa najmä voľná fruktóza. Získaná vzorka sodnej soli fosforylovanej fruktózy dáva 3,5 % roztok. Z 20 g čistej bárnatej soli sme získali 12,34 g sodnej soli. Pri prepočítaní na fruktózu je strata 0,68 g, čo zodpovedá 11,5 % z pôvodnej čistej soli. Ak priberieme k tomu ešte prvú premývaciu vodu, vidíme, že premena na sodnú soľ prebieha takmer kvantitatívne.

3. Sledovanie stability sodnej soli fosforylovanej fruktózy

Čistotu použitého prípravku podľa uvedeného postupu sme sledovali chromatograficky metódou uvedenou v predchádzajúcej práci [6, 7]. Prípravky po vysterylizovaní skleneným bakteriologickým filtrom sme uskladnili v chladničke pri 5 °C. Niektoré sme uzavreli v zatavených ampulkách a niektoré len v Erlenmeyerovej banke uzavretej vatou. Vzorky sme analyzovali pri uskladnení po 10 dňoch a potom dvakrát po týždni. Sledovali sme pri tom stav anorganického fosforečnanu. Súčasne sme zhotovili aj chromatogramy. Vzorky na analýzy sme odobrali asepticky sterilnou pipetou. Poslednú vzorku sme úmyselne odobrali nesterilne, aby sme dokázali možnosť kontaminácie (graf 1).



Graf 1. Sledovanie stability sodnej soli F-1,6-dP.

— nesterilizovaná vzorka
 - - - - - sodná soľ v Erlenmeyerovej banke
 - · - · - · sodná soľ v ampulke

V nesterilne udržiavanom roztoku sodnej soli fosforylovanej fruktózy pravidelne dochádza k odštepovaniu anorganického fosforečnanu. Roztok sa ľahko kontaminuje bakteriálnou a kvasinkovitou mikroflórou. Ukázalo sa, že v nádobách, kde má prístup vzduch, rýchlejšie dochádza k odštepovaniu anorganického fosforečnanu. Ak sa vzorka udržiava v chlade a v zatavených ampulkách, je takmer úplne stála a podľa teoretických výpočtov na základe našich experimentálnych výsledkov by sa rozložila až po päť a pol

roka uskladnenia. Vzorka sterilne uzavretá vatovou zátkou by sa rozložila za dva a pol roka, zatiaľ čo kontaminovaná vzorka už za 160 dní.

Súhrn

Pre premenu bárnatej soli na sodnú soľ sme vypracovali vlastnú metodiku za použitia vymieňača iónov Wofatit F. Táto premena prebieha ekvivalentne a kvantitatívne.

Pre uskladnenie prípravku sa najlepšie hodí studená sterilizácia cez bakteriologický filter, uzavretie v ampulkách a uloženie v chlade.

V tejto úprave je preparát úplne stály, zatiaľ čo údaje literatúry o prípravkoch sodnej soli v roztoku uvádzajú stálosť len 24 hodín. Preparát možno použiť pre biologické účely, keďže nie je toxický.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТА Гарден — Янга (VI) ПРИГОТОВЛЕНИЕ НАТРИЕВОЙ СОЛИ ДИФOSФОРНОГО ЭФИРА ФРУКТОЗЫ ИЗ БАРИЕВОЙ СОЛИ

A. ВОЙТКОВА-ЛЕПШИКОВА, А. КОКОВА-КРАТОХВИЛОВА

ЧСАН, Микробиологическая лаборатория Химического института
Словацкой академии наук в Братиславе

Выводы

Для перевода бариевой соли в натриевую мы разработали собственную методику с применением ионообменника Вофатит Ф. Эта перемена проходит полностью и в эквивалентном и в количественном отношении.

Для сохранения препарата лучше всего годится холодная стерилизация при помощи бактериологического фильтра, запаивание в ампулках и сохранение в холоде.

При соблюдении этих условий препарат является вполне устойчивым, тогда как литературные данные о препаратах с натриевой солью в растворе приводят его устойчивость только в течении 24 часов. Вследствии того, что препарат не является токсическим, его можно применить также и к биологическим целям.

Поступило в редакцию 7. 1. 1961 г.

STUDIUM DES HARDEN—YOUNG-EFFEKTS (VI) HERSTELLUNG DES NATRIUMSALZES DES DIPHOSPHORSÄURE- ESTERS VON FRUCTOSE AUS DEM BARIUMSALZ

A. VOJTKOVÁ-LEPŠÍKOVÁ, A. KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ

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

Zusammenfassung

Für die Umsetzung des Bariumsalses in das Natriumsalz haben die Autoren eine eigene Methodik unter Benutzung des Ionenaustauschers Wofatit F ausgearbeitet. Diese Umsetzung verläuft äquivalent und quantitativ.

Für die Aufbewahrung des Präparats eignet sich am besten die kalte Sterilisation durch ein bakteriologisches Filter, ein Verschliessen in Ampullen und Lagern in der Kälte.

In dieser Zubereitung ist das Präparat völlig beständig, wogegen Literaturangaben Präparaten des Natriumsalzes in Lösung eine Beständigkeit von nur 24 Std. zuschreiben. Es besteht die Möglichkeit, dieses Präparat für biologische Zwecke zu verwenden, da es nicht toxisch ist.

In die Redaktion eingelangt den 7. 1. 1961

LITERATÚRA

1. Vojtková-Lepšíková A., Kocková-Kratochvílová A., Chem. zvesti 15, 647 (1961). — 2. Stepanenko N. B., Biochim. 22, 1018 (1957). — 3. Závěrečná zpráva VÚFB, Praha 1952. — 4. Robinson R., MacFarlane M. G., *Methoden der Fermentforschung*, Leipzig 1942. — 5. Umbreit W. W., Burris R. R., Stauer W. A., *Manometričeskije metody izučěnija tkanevogo obmena*, Moskva 1951. — 6. Kocková-Kratochvílová A., Gebauerová A., Tomášek K., Brauwissenschaft 10, 133 (1957). — 7. Kocková-Kratochvílová A., Gebauerová A., Tomášek K., Brauwissenschaft 10, 156 (1957).

Do redakcie došlo 7. 1. 1961

Adresa autoriek:

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