

# Chemie und Biochemie des Lignins

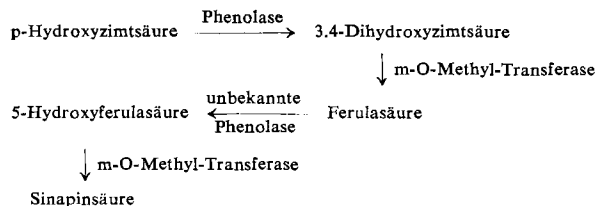
Ein internationales Symposium „sur la Chimie et la Biochimie de la Lignine, de la Cellulose et des Hemicelluloses“ fand in der École Française de Papeterie, Grenoble (Frankreich) von 29. Juni bis zum 4. Juli 1964 statt.

K. Freudenberg, Heidelberg, hat auf Grund der in den letzten 15 Jahren gewonnenen Erkenntnisse über die Biosynthese, den Abbau und die Analytik des Lignins [1] eine schematische Strukturformel aus 18 C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-Einheiten und 7 Nebeneinheiten entworfen, die alle Eigenschaften des Fichtenlignins qualitativ und quantitativ zu erklären vermag [2]. Fichtenlignin entsteht in vitro durch enzymatische Dehydrierung eines Gemisches von p-Hydroxyzimtalkohol (p-Cumaralkohol), Coniferylalkohol und Sinapinalkohol (14:6:80) über Di-, Tri-, Tetra- und Oligolignole, von denen viele isoliert und identifiziert worden sind. Bei der Molekülvergrößerung spielen Reaktionen intermediär entstehender Chinonmethide eine bedeutende Rolle. Die drei wichtigsten Dilignole (Dehydrodiconiferylalkohol, (±)-Pinoresinol und Guajacylglycerin-β-coniferyläther) sind auch aus Holz durch Abbau des Lignins erhalten worden. Die Elementaranalyse reinen Lignins verholzter Pflanzen ergibt die Formel — bezogen auf C<sub>9</sub> — [C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>-OCH<sub>3</sub>O<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>0-1</sub>(OCH<sub>3</sub>)<sub>0-1,5</sub>]<sub>n</sub>, d. h. beim Lignin-Aufbau werden aus jeder C<sub>9</sub>-Einheit etwa 2 Atome Wasserstoff entfernt. Für Thioglykolsäure-Lignin kommt pro C<sub>9</sub>-Einheit die Gruppe (C<sub>2</sub>H<sub>3,33</sub>O<sub>1,67</sub>S)<sub>1</sub> hinzu.

E. Adler et al., Göteborg (Schweden), konnten durch Acidolyse von Fichtenlignin (0,2 N HCl; Dioxan/Wasser = 9:1; 4 h unter Rückfluß) kristalline monomere [3] und dimere Abbauprodukte fassen, welche die Anwesenheit von Dehydrodiconiferylalkohol- und Guajacylglycerin-β-coniferyläther-Strukturen im Lignin beweisen. Die Spaltung der Guajacylglycerin-β-aryläther-Gruppierungen beim Holzaufschluß mit NaOH/Na<sub>2</sub>S wird durch die S<sup>2-</sup>-Ionen gefördert [4]. Die Phenylcumaran-Strukturen des Lignins gehen beim Kraft-Aufschluß teilweise über Chinonmethide in Stilbene über unter Freisetzung von HCHO. Diese Reaktion wurde an Dehydrodiisoeugenol als Modell studiert.

F. F. Nord, W. J. Schubert und H. Ishikawa, Fordham University, New York, ließen Erreger der Weißfäule auf isolierte Weichholz-Lignine und Lignin-Modellsubstanzen einwirken [5]. Aus dem Lignin konnten 15 Substanzen, darunter Vanillin, Vanillinsäure, p-Hydroxybenzoesäure, Ferulasäure, 4-Hydroxy-3-methoxyphenylbrenztraubensäure, p-Hydroxyzimtsäure, Guajacylglycerin, Coniferaldehyd, p-Hydroxyzimtaldehyd und Guajacylglycerin-β-coniferyläther als Abbauprodukte papierchromatographisch nachgewiesen werden. Für die Freilegung des Äthers (Ausbeute 0,1 %) soll eine bisher nicht identifizierte Ätherase verantwortlich sein.

S. A. Brown, Peterborough, Ont. (Kanada), gab einen Überblick [6] über die Biogenese der C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-Alkohole, aus denen das Lignin durch dehydrierende Polykondensation entsteht. Markierungsversuche mit Weizen ergaben für einige Schritte folgendes Schema:



Die Säuren werden in Form ihrer CoA-Derivate zu den Alkoholen reduziert. In Weizen wird radioaktiver Coniferylalkohol teilweise in (±)-Pinoresinol und Dehydrodiconiferylalkohol verwandelt.

T. Higuchi, Gifu (Japan), und F. Barnoud, Grenoble (Frankreich), haben die Ligninbildung aus markierten Vorstufen und die dabei beteiligten Enzymsysteme in pflanzlichen Gewebekulturen studiert. Tyrase wurde in zahlreichen Gramineen und Phenylalanin-Desaminase in vielen höheren Pflanzen nachgewiesen. Diese Enzyme katalysieren den Übergang von den Aminosäuren zu den entsprechenden hydroxylierten Zimtsäuren während der Biogenese der C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-Alkohole. Für die Phenoldehydrierung bei der Ligninbildung in Gewebekulturen scheint nur die Peroxydase verantwortlich zu sein.

J. C. Pew, Madison, Wis. (USA), hat 4-Propylguajakol und andere Guajacyl-Derivate mit Peroxydase/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> als einfache Modelle für die Ligninbildung dehydriert. Außer Biphenyl-Verbindungen [7], hat er u. a. Diphenyläther, Chinonmethide, 1-Guajacylpropan-1-ole und Guajacyl-äthyl-ketone als Dehydrierungsprodukte erhalten. Dehydrierung von Eugenol führt über ein Chinonmethid und unter Wasseranlagerung sogar zu Coniferylalkohol. Dies erklärt die Bildung der ligninähnlichen Produkte, die S. M. Siegel [7a] aus Eugenol durch Dehydrierung erhalten hat. In der Diskussion hat J. M. Harkin, Heidelberg, erwähnt, daß solche Dehydrierungen nicht nur zu o- und p-Chinonmethiden führen können, sondern auch zu Benzochinonen, Diphenochinonen, Chinhydrone und Semichinonen. Im großen Gefüge des Lignins werden diese Strukturen festgehalten und können daher nicht wie ihre einfachen Modelle polymerisieren. Diese Gruppierungen vermögen einen Teil des Carbonylgehalts und des Radikalgehalts („caged radicals“ nach K. Kratzl, vgl. [8]) des Lignins zu erklären.

K. Sarkanen et al., Seattle, Wash. (USA), haben spezifisch deuterierte und tritierte Guajakole, Veratrole und Kreosole synthetisiert und die Reaktionsfähigkeit der Ring-C-Atome bei elektrophilem Angriff, z.B. durch Cl<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, H<sup>+</sup>, HCHO, studiert. C-6 im Lignin reagiert leichter als C-5 oder C-2. Nach Verabreichung an die Fichte erscheint [2,6-<sup>3</sup>H<sub>2</sub>]-Glucovanillin im Lignin der Mittellamellen.

A. von Wacek, Graz (Österreich), hat versucht, eine Mikrobestimmung des Lignins im Holz über seinen Gesamt-Methoxylgehalt mit Korrekturen für Kohlenhydrat-Methoxyl (Abspaltung von Methanol durch Alkali) auszuarbeiten. Es hat sich aber gezeigt, daß Methanol durch Alkali auch aus Lignin-Modell-Substanzen und aus ähnlichen Strukturen in natürlichem und Freudenberg's künstlichem Lignin abgespalten wird, wobei Chinonmethide als Zwischenprodukte auftreten. Dies erschwert die Bestimmung des Zucker-Methoxyls.

T. Enkvist und J. Turunen, Helsinki (Finnland), berichteten über Versuche, durch Demethylierung und Abbau verwertbare niedermolekulare Produkte aus Sulfitablauge zu gewinnen. Die Lauge wird 15–60 min mit frischem Na<sub>2</sub>S/NaOH

- [1] Vgl. z. B. K. Freudenberg, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe 20, 41 (1962).
- [2] Vgl. K. Freudenberg, Holzforschung 18, 3 (1964); Science (Washington), im Druck.
- [3] K. Lundquist, Acta chem. scand. 16, 2303 (1962).
- [4] E. Adler, J. Marton, I. Falkehag u. H. Halvarson, unveröffentlichte Versuche.
- [5] H. Ishikawa, W. J. Schubert u. F. F. Nord, Arch. Biochem. Biophys. 100, 131, 140 (1963); vgl. T. Fukuzumi, Bull. agr. chem. Soc. Japan 24, 728 (1960).
- [6] Vgl. S. A. Brown, Science (Washington) 134, 305 (1962); T. Higuchi u. S. A. Brown, Canad. J. Biochem. Physiol. 41, 613, 621 (1963), und frühere Veröffentlichungen.

- [7] J. C. Pew, Nature (London) 193, 250 (1962).
- [7a] S. M. Siegel, J. Amer. chem. Soc. 78, 1753 (1956); 79, 1628 (1957).
- [8] C. Steelink, T. Ried u. G. Tollin, J. Amer. chem. Soc. 85, 4048 (1963); T. N. Kleinert, Holzforschung, im Druck.

bei 250–295 °C behandelt [9], jedoch jetzt nur bei Normaldruck oder im Vakuum. Einige Äther- und C–C-Bindungen werden durch  $S_N2$ -Reaktion mit  $HS^-$  oder  $CH_3S^-$  gespalten. Die Produkte sind u. a. Phenol, Alkylphenole, Brenzcatechin, Alkylbrenzcatechine, Phenolcarbonsäuren,  $(CH_3)_2S$  und  $(CH_3)_2S \rightarrow O$ .

K. Kratzl und E. Risnyovsky, Wien (Österreich), führten alkalische Hydrolysen von etwa 20 Modellsubstanzen aus, um Auskunft über den Verlauf der anaeroben alkalischen Spaltung von Lignosulfonsäuren aus Gymnospermen zu erhalten. Die Sulfonsäure-Gruppierung ist zur Reaktivitätssteigerung notwendig. Sulfonsäuren, die sich von Aldolen ableiten, ergeben Ketone; Säuren, die Acyloin-Derivate sind, ergeben Carbonsäuren. Eine doppelte  $\beta$ -Eliminierung wird postuliert. Aus Lignin entstehen beträchtliche Mengen an Vanillin, Acetaldehyd, Acetovanillon und Formaldehyd.

C. de Choudens und R. A. Quiles, Grenoble (Frankreich), oxydierten 2-proz. Lösungen von Lignin in NaOH bei 100 °C und 5–30 atm Sauerstoff.  $CO_2$ , Ameisen- und Essigsäure, Acetovanillon, Vanillin, p-Hydroxybenzaldehyd, und Syringaldehyd sowie die entsprechenden Säuren wurden chromatographisch nachgewiesen.

Den Einfluß der physikalischen Eigenschaften, insbesondere des Schmelzpunktes, des Lignins (auch im Sägemehl verschiedener Korngröße) auf die Geschwindigkeit der Sulfittierung bei 70, 95 und 135 °C und pH = 3 oder 7 hat A. Björkman, Kopenhagen (Dänemark), studiert. Chemische Reaktionen sind nicht geschwindigkeitsbestimmend. Kinetische Gleichungen für das Auflösen des Lignins – einen Prozeß erster Ordnung – wurden aufgestellt. Von isoliertem Lignin lösen sich etwa 10 % sofort. Methyliertes oder mit  $NaBH_4$  reduziertes Lignin löst sich langsamer als unbehandeltes Lignin.

D. A. I. Goring, Montreal (Kanada), hat das Molekulargewicht und die Konfiguration von 5 Fraktionen des Lignosulfonates aus Fichte bestimmt. Lichtstreuung und Sedimentationsbestimmungen in der Ultrazentrifuge ergaben Werte von 5000 bis 130000.  $M_w/M_n = 3,1$ , d. h. die Molgewichte streuen stark. Dialyse durch Membranen geeichter Porengröße ergab 9 Fraktionen mit Molgewichten zwischen 37000 und 1270000. Die Moleküle sind kugelförmige Knäuel unregelmäßiger Ketten. Elektronenmikroskopische Aufnahmen weisen auf einen Moleküldurchmesser von 60 Å; die Dialyse-

[9] T. Enkvist, J. Turunen u. T. Ashorn, Tappi 45, 128 (1962).

versuche ergaben 47 Å. Erwärmen der Moleküle führt nicht zu kleineren Aggregaten, d. h. die geknäuelten  $C_9$ -Ketten sind miteinander durch kovalente Bindungen verbunden und sind keine einfachen Micellen. [VB 842]

## Synergistische Wirkungen bei der Flüssig-Flüssig-Extraktion

H. Irving, Leeds (England)

GDCh-Ortsverband Hannover, am 9. Juli 1964

Als synergistische Wirkung bei der Flüssig-Flüssig-Extraktion anorganischer Kationen bezeichnet man die Erscheinung, daß ein Gemisch aus zwei Lösungsmitteln einen größeren Extraktionskoeffizienten ergibt als jedes der beiden Lösungsmittel allein. Man glaubte zunächst, dieses Phänomen sei auf Uran(VI) und phosphorhaltige Lösungsmittel beschränkt. 1959 postulierte Irving, daß synergistische Wirkungen viel allgemeiner sein sollten, und wies einen sehr großen Effekt für Gemische aus TTA (Thenoyltrifluoracetone) und TBP (Tributylphosphat) oder TBPO (Tributylphosphinoxid) bei der Extraktion von Uran(VI) nach. Synergistische Wirkungen wurden später auch bei der Extraktion von anderen Actiniden in verschiedenen Oxydationsstufen, Lanthaniden, Übergangsmetallen der ersten langen Periode und sogar von Erdalkalimetallen entdeckt.

Der Vortragende beschrieb synergistische Wirkungen bei der Extraktion von Indium, Protactinium und Plutonium mit verschiedenen Lösungsmittelgemischen sowie unveröffentlichte Untersuchungen über die Verwendung heterocyclischer Amine und Diamine, um die Extraktion von Kupfer(II) mit Acetylaceton, von Kobalt(II) mit TTA und von Nickel mit Diacetyl-bisbenzoylhydrazon zu verstärken. Die Zusammensetzung der extrahierbaren Addukte wurde bestimmt. Durch  $\alpha$ -Substitution verringert sich der synergistische Effekt des Pyridins, was auf eine sterische Behinderung der Koordination zurückgeführt werden kann.

Wenn die Extraktion des Bis-chelates  $CoT_2$  [\*] durch zwei Basen A und B infolge Adduktbildung ( $CoT_2A_2$ ,  $CoT_2B_2$ ) verstärkt wird, kann die Bildung des gemischten Komplexes  $CoT_2AB$  einen zusätzlichen synergistischen Effekt haben, was sich wiederum zum Nachweis solcher gemischten Komplexe ausnutzen läßt. [VB 839]

[\*] T = Thenoyltrifluoracetone.

## RUNDSCHAU

Ionenpaarbildung in wäßrigen Lösungen wiesen H. Lee und J. K. Wilmschurst durch Ramanspektroskopie nach. Entartete Eigenschwingungen von Nitraten, Sulfaten, Carbonaten, Perchloraten und Ammoniumsalzen spalten bei höheren Konzentrationen auf. Vermutlich sind die auf diese Weise zu beobachtenden Ionenpaare so gebaut, daß Kation und Anion ein Wassermolekül der ersten Hydrathülle gemeinsam haben. Es wird auf den Unterschied zwischen den hohen „spektroskopischen“ und den niedrigen „kinetischen“ Ionenpaarkonzentrationen hingewiesen, der davon herrührt, daß die Beobachtungszeit in der Schwingungsspektroskopie in der Größenordnung von  $10^{-12}$  sec liegt. / Austral. J. Chem. 17, 943 (1964) / –Hz. [Rd 109]

Zur schnellen Bestimmung von  $CO_2$ , besonders in der organischen Elementaranalyse, eignen sich relativ-konduktometrische Verfahren. Nach W. Bartscher und W. Schmidts wird der Quotient der Leitfähigkeiten einer zur  $CO_2$ -Absorption

verwendeten und einer unveränderten Natronlauge gemessen; der nicht-lineare Zusammenhang wird durch eine geeignete Schaltung linear wiedergegeben. Nur die Meßzelle und die Vergleichslösung sind auf gleicher Temperatur zu halten. Zur Bestimmung geringer  $CO_2$ -Mengen muß die NaOH-Konzentration klein sein, was unvollständige Absorption zur Folge haben kann; diese Störung läßt sich durch Zugabe des Enzyms Carbonanhydrase oder durch Pufferung mit Aminoverbindungen, z. B. mit Aminoäthanol, ausschalten. Die dadurch erreichte Genauigkeitssteigerung ermöglicht es, z. B. Kohlenstoff in organischen Substanzen auch bei Einwaagen unter 1 mg mit der Genauigkeit herkömmlicher Methoden zu bestimmen. / Z. analyt. Chem. 203, 168 (1964) / –Gn. [Rd 146]

Die Bildung negativer Ionen in Alkalihalogeniddämpfen untersuchte H. Ebinghaus im Massenspektrometer. Er fand Ionen der Form  $M^-$ ,  $X^-$ ,  $MX^-$  und  $M_2X^-$ , wobei M die Alkalien Li bis Cs und X die Halogene F bis J bedeuten. Die Ionen ent-