

**90. Erich Schmidt, Karl Meinel und Eduard Zintl:**  
**Zur Kenntnis der pflanzlichen Zellmembran.**

[Aus d. Chem. Laborat. d. Bayer. Akademie d. Wissenschaften in München.]

(Eingegangen am 28. Dezember 1926.)

I.

Die pflanzliche Zellmembran der Archegoniaten und Phanerogamen besteht bekanntlich aus Cellulose, Hemi-cellulosen und inkrustierenden Substanzen. Diese Bestandteile sind bisher als selbständige Bausteine der Zellmembran betrachtet, unter diesem Gesichtspunkt untersucht und beschrieben worden. Man hat versucht, die Cellulose möglichst rein und unverändert gegenüber ihrem nativen Zustand aus der Zellwand darzustellen. Die inkrustierenden Substanzen werden als unhydrolysierbare Bestandteile gewonnen und definiert. Was endlich die Hemi-cellulosen betrifft, so wurde ihnen in den letzten Jahren wenig Beachtung geschenkt, da man sie als Verunreinigungen der Cellulose betrachten zu müssen meinte. Infolgedessen wurde ihre Untersuchung vernachlässigt und ihre Bedeutung für die Membranforschung unterschätzt. Man begnügte sich damit, der Zellmembran mittels Natronlauge die Hemi-cellulosen zu entziehen, ohne sich darüber Rechenschaft zu geben, wie die Zellmembran als Ganzes gegenüber Alkalien reagiert.

Diese Betrachtungsweise entspricht einer Annahme, nach der die Hemi-cellulosen und die Inkrusten als selbständige Komplexe in der Zellmembran entweder mit der Cellulose als Gemenge vereinigt oder durch Oberflächen-Adsorption auf derselben niedergeschlagen vorliegen. Unter diesem Gesichtspunkt wäre gegen die bisherige experimentelle Methode der Membranforschung nichts einzuwenden.

Man erblickt also in den alkali-löslichen Bestandteilen der Membran Verunreinigungen der Cellulose und bewertet die Aufschluß-Methoden pflanzlicher Membranen darnach, welches Verfahren eine möglichst unangegriffene, weitgehendst von Hemi-cellulosen und Inkrusten befreite Cellulose darzustellen gestattet. Nach den bisherigen Aufschluß-Verfahren gelangt man zu cellulose-haltigen Präparaten, die im Sinne der heutigen Anschatzung stets mehr oder weniger durch Hemi-cellulosen verunreinigt sind und als Rohfasern bezeichnet werden. Je nach Wahl des Aufschluß-Mittels erhält man von einander abweichende Rohfasern, die sich, abgesehen von nicht völlig entfernten inkrustierenden Bestandteilen, vornehmlich hinsichtlich Menge und Zusammensetzung der beigemengten Hemi-cellulosen von einander unterscheiden. Denn entsprechend den Aufschluß-Bedingungen werden die Hemi-cellulosen verschiedenartig angegriffen, abgesehen von denjenigen Veränderungen, die auch die Cellulose, wenn auch nicht in so hohem Maße, erleiden kann.

B. Tollens hat die heute allgemein geltende Ansicht von der selbständigen Stellung der Hemi-cellulosen in der Zellmembran nicht als die einzige mögliche bezeichnet. Denn er hält neben dieser Auffassung für ebenso wahrscheinlich eine chemische Bindung zwischen Cellulose und Hemi-cellulosen. „Man kann“, so äußert sich Tollens<sup>1)</sup>, „schließen, daß Cellulose und Xylan nicht als einfaches Gemenge, sondern in inniger Vereinigung, vielleicht

<sup>1)</sup> C. Schulze und B. Tollens, Landwirtschaftl. Vers.-Stat. 40, 377 [1892].

als chemische Verbindung in der verholzten Zelle vorhanden sind“. Schon zwei Jahre vorher nimmt G. Lange<sup>2)</sup>), ein Schüler Hoppe-Seylers, an, daß „das Holzgummi in der Form, wie man es mittels Natronlauge aus dem Holz erhält, nicht im Holz vorkommen kann; sonst würde man in der Lage sein, das Holzgummi mittels Wasser zu extrahieren, da es darin nicht unlöslich ist. Nun lassen sich aber aus dem Holze mit Wasser niemals auch nur die geringsten Spuren dieses Körpers erhalten; es muß derselbe demnach durch die Einwirkung kalter Natronlauge erst aus einem anderen durch vielleicht nur geringe Umwandlung gebildet werden“.

Es ist das Verdienst von E. Schulze<sup>3)</sup>), als erster darauf hingewiesen zu haben, daß verschiedene Arten von Hemi-cellulosen in der Zellwand vorkommen, solche die leichter, und andere die schwerer von verd. Mineralsäuren<sup>4)</sup>, organischen Säuren<sup>5)</sup> und Oxydationsmitteln<sup>6)</sup> angegriffen werden. Ferner besteht eine verschiedenartige Löslichkeit der Hemi-cellulosen in siedendem Wasser, alkalischen Pufferlösungen und freien Alkalien<sup>7)</sup>. Demnach unterscheiden sich die Hemi-cellulosen spezifisch von einander und dürfen nicht als eine einheitliche Gruppe betrachtet werden, eine Ansicht, die später nicht genügend gewürdigt worden ist. „Es ist möglich,“ so berichtet Schulze<sup>8)</sup>, „daß die Substanzen, welche ich zu dieser Stoffgruppe rechne, sich nicht in allen, hier in Betracht kommenden Punkten völlig gleich verhalten, daß es demnach später erforderlich werden wird, in dieser Stoffgruppe wieder Unterabteilungen zu bilden. Darauf müssen weitere Untersuchungen entscheiden.“

Nach Angaben von F. Ehrlich und F. Schubert<sup>9)</sup> werden der Zellmembran von Flachs durch siedendes Wasser nur diejenigen Hemi-cellulosen entzogen, die, wie wir haben nachweisen können, bereits bei Wasserbad-Temperatur in Natriumsulfit löslich sind. Hierdurch wird indessen nicht der gesamte Hemi-cellulosen-Anteil der ursprünglichen Membran gelöst. Vielmehr werden erst durch Einwirkung von Natronlauge auch die in siedendem Wasser, sowie in Natriumsulfit unlöslichen Hemi-cellulosen in alkali-lösliche Form übergeführt. Durch das spezifische Verhalten der Hemi-cellulosen gegenüber Wasser bzw. Sulfit einerseits, gegenüber Natronlauge andererseits lassen sich wohl in der pflanzlichen Zellwand mindestens zwei Arten von Hemi-cellulosen analytisch von einander unterscheiden.

Anschließend an diese Befunde und an die Betrachtungsweise von B. Tollen, erschien es uns daher bedeutungsvoll, zu untersuchen, ob das unterschiedliche Verhalten der Hemi-cellulosen durch ihre verschiedenartige Bindungsweise in der Zellwand bedingt ist, und wie die Hemi-cellulosen in der Zellwand verknüpft sind.

Auf dieser Grundlage suchten wir ein Aufschluß-Verfahren, das die inkrustierenden Substanzen aus der Zellwand restlos entfernt, ohne die Hemi-cellulosen chemisch zu verändern. Bei der leichten

<sup>2)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **14**, 17 [1890].

<sup>3)</sup> Landwirtschaftl. Jahrbch. **23**, 3, 23 [1894].

<sup>4)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **16**, 407 ff. [1892].

<sup>5)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **16**, 408 [1892].

<sup>6)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **16**, 408 ff. [1892].

<sup>7)</sup> Landwirtschaftl. Jahrbch. **23**, 16, zweiter Absatz von oben [1894].

<sup>8)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **16**, 406 Ann. I [1892].

<sup>9)</sup> Biochem. Ztschr. **169**, 15 ff. [1926].

Hydrolysierbarkeit der Hemi-cellulosen ist ein Aufschluß-Verfahren in stark saurem bzw. alkalischem Medium von vornherein ausgeschlossen, ebenso wenig dürfen während des Aufschlusses beträchtliche Mengen von Mineralsäure oder solche Umsetzungsprodukte entstehen, von denen die Hemi-cellulosen angegriffen werden.

Für den Aufschluß wählten wir die Oxydationsmethode, der gegenüber die Inkrusten besonders empfindlich sind, und fanden im Chlordioxyd ein spezifisch wirkendes Reagens, das die inkrustierenden Substanzen tiefgreifend verändert, nicht aber auf Hemi-cellulosen, wie Kohlenhydrate im allgemeinen chemisch merkbar einwirkt<sup>10)</sup>. In diesem Zusammenhang erscheint es verständlich, daß verhältnismäßig nur geringe Mengen Chlordioxyd zum Aufschluß nötig sind<sup>11)</sup>. Bei der Empfindlichkeit der Hemi-cellulosen gegenüber Mineralsäuren wird Chlordioxyd in mineralsäure-freier Lösung angewandt und die Konzentration der Chlordioxyd-Lösung so gewählt, daß die während des Aufschlusses entstehende Chlorwasserstoffsäure eine Hydrolyse der Hemi-cellulosen nicht bewirken kann<sup>12)</sup>. Ein Teil der inkrustierenden Substanzen, die nach der Umsetzung mit Chlordioxyd als wasser-unlöslich auf der Faser verbleiben, kann nur von Alkalien gelöst werden. Für diesen Zweck wählten wir das Natriumsulfit<sup>12)</sup><sup>13)</sup>.

Um die Stabilität gegenüber Chlordioxyd prüfen zu können, war die Ausbildung einer analytischen Methode<sup>14)</sup> wichtig, mittels der sich die Abwesenheit von Inkrusten in den nach dem Aufschluß anfallenden Cellulose-Hemi-cellulosen-Komplexen feststellen läßt. Nach dieser Methode wird die Anwesenheit inkrustierender Substanzen nicht durch Messungen am Kolloid, sondern am Verbrauch von Chlordioxyd auf maßanalytischem Wege mit großer Genauigkeit erkannt. Für einen möglicherweise stattfindenden Chlordioxyd-Verbrauch werden besonders günstige Bedingungen dadurch geschaffen, daß Kolloid und Chlordioxyd im Mengenverhältnis 40 : 1 miteinander reagieren können. Findet keine Umsetzung mit Chlordioxyd mehr statt, so unterbleibt die lösende Wirkung von Natriumsulfit, und es hinterbleibt ein Cellulose-Hemi-cellulosen-Komplex, auf den weder Chlordioxyd-Natriumsulfit<sup>15)</sup>, noch siedendes Wasser gewichtsvermindernd einwirkt. Das mittels Chlordioxyd-Natriumsulfits aus der Zellmembran erhalten Spaltstück unterscheidet sich also durch seine weitgehende Stabilität gegenüber den Aufschlußmitteln charakteristisch von jenen Präparaten, die nach den übrigen Aufschluß-Verfahren aus der Zellwand dargestellt werden. Mit Hilfe des Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahrens erhalten wir demnach einen wohldefinierten Membran-Anteil, während in dieser Hinsicht die übigen Aufschluß-Methoden versagen, nach denen jeweils verschiedenartig anfallende Rohfasern aus derselben Membran erhalten werden.

<sup>10)</sup> E. Schmidt und E. Graumann, B. 54, 1860 [1921]; vergl. E. Schmidt und K. Braunsdorf, B. 55, 1529 [1922].

<sup>11)</sup> E. Schmidt und E. Graumann, B. 54, 1861, 1873 [1921].

<sup>12)</sup> E. Schmidt und G. Malyoth, B. 57, 1834 [1924].

<sup>13)</sup> E. Schmidt und E. Graumann, B. 54, 1865 [1921]; E. Schmidt, W. Haag und L. Sperling, B. 58, 1395 [1925].

<sup>14)</sup> E. Schmidt und E. Graumann, B. 54, 1863 [1921].

<sup>15)</sup> E. Schmidt und G. Malyoth, B. 57, 1836 [1924]; E. Schmidt, F. Trefz und H. Schnegg, B. 59, 2645 [1926].

Da sich der nach unserm Verfahren erhaltene Cellulose-Hemi-cellulosen-Komplex nach dem Aufschluß gegenüber den Aufschluß-Mitteln weitgehend indifferent verhält, so nehmen wir an, daß er auch während des Aufschlusses nicht verändert wird. Daher betrachten wir berechtigerweise diesen Zellwand-Anteil als nativ und bezeichnen ihn als Skelettsubstanz. Wir bringen damit zum Ausdruck, daß die verschiedenartigen Rohfasern mehr oder weniger veränderte Reaktionsprodukte der nativen, in der Zellwand vorkommenden Rohfaser, nämlich der Skelettsubstanz, sind.

Die in der ursprünglichen Zellwand vorhandenen Hemi-cellulosen finden sich nicht sämtlich in der Skelettsubstanz wieder vor. Durch das beim Aufschluß angewandte Natriumsulfit wird der nämliche Hemi-cellulosen-Anteil, der auch der ursprünglichen Zellwand durch Natriumsulfit ohne weiteres entzogen werden kann, gelöst. Diese Lösung der Hemi-cellulosen verläuft indessen namentlich bei stark verholzten Zellwänden nach vorheriger Zertrümmerung des von Chlordioxyd angreifbaren Membran-Bestandteiles wesentlich schneller. Dieser Vorgang ist im Sinne der Ester-Theorie<sup>16)</sup> derart zu deuten, daß in der ursprünglichen Zellwand die sulfit-löslichen Hemi-cellulosen an den von Chlordioxyd angreifbaren Membran-Bestandteil gebunden sind. Durch den Angriff des Chlordioxyds auf den ungesättigten Inkrusten-Anteil wird aber die ursprüngliche wechselseitige Bindung mit den Hemi-cellulosen erschüttert, die nunmehr leichter der lösenden Wirkung von Natriumsulfit zugänglich geworden sind. Infolge der Beständigkeit des nach dem Aufschluß als Rückstand verbleibenden Cellulose-Hemi-cellulosen-Komplexes wird somit ein wohl definierter Teil der Hemi-cellulosen gelöst. Das Aufschluß-Verfahren bestätigt also, daß die meist als einheitlich betrachteten Hemi-cellulosen in mindestens zwei Teile zu zerlegen sind, ferner bringt es die verschiedenenartige Bedeutung der Hemi-cellulosen für den Aufbau der Membran zum Ausdruck.

Die in Natriumsulfit löslichen Hemi-cellulosen unterscheiden sich von jenen mit der Cellulose verbundenen, in Natriumsulfit unlöslichen Hemi-cellulosen auch durch ihre geringere Widerstandsfähigkeit gegenüber Oxydationsmitteln, wie z. B. Chlor<sup>17)</sup>.

Wir rechtfertigen somit die früher vorgeschlagene Nomenklatur<sup>18)</sup>, die Hemi-cellulosen der Skelettsubstanzen als H<sub>S</sub>, die in Natriumsulfit löslichen Hemi-cellulosen, die sich unseres Erachtens am Aufbau der Inkrusten beteiligen, als H<sub>I</sub> zu bezeichnen. Entsprechend dem verschiedenen chemischen Verhalten von H<sub>I</sub> und H<sub>S</sub> beteiligen sich auch an ihrem Aufbau andersartige Kohlenhydrate<sup>19)</sup>. So findet man in H<sub>I</sub> die Galaktose, die unter den Bausteinen von H<sub>S</sub> fehlt.

Unter den Hydrolysen-Produkten der Hemi-cellulosen von Flachs, Hanf, Weizenstroh und Rotbuche, die aus den Skelettsubstanzen mittels Natronlauge erhalten werden, befindet sich Glykuronsäure<sup>19)</sup>. Diese ist aber nicht in monomerer Form, sondern als carboxyl-tragendes Polysaccharid in den Skelettsubstanzen vorhanden, wie wir im Folgenden zeigen werden.

<sup>16)</sup> E. Schmidt, W. Haag und L. Sperling, B. 58, 1397 [1925].

<sup>17)</sup> vergl. E. Heuser und W. Niethammer, Papierfabrikant 1923, Nr. 23 A, S. 52.

<sup>18)</sup> E. Schmidt, F. Trefz und H. Schnegg, B. 59, 2639, 2645 [1926].

<sup>19)</sup> E. Schmidt, W. Haag und L. Sperling, B. 58, 1397 [1925]; C. G. Schwalbe und G. A. Feldtmann, B. 58, 1534 [1925]; M. H. O'Dwyer, Biochem. Journ. 20, 656 [1926].

Derartige Säuren haben wir in vorliegender Arbeit und zwar auf konduktometrischem Wege auch in den Skelettsubstanzen von Adlerfarn, Fichte, Tanne, Rotbuche und Schwarzwurzel nachweisen können. Da jene Pflanzen aus der Reihe der Archegoniaten und Phanerogamen sich in systematischer Hinsicht weitgehendst voneinander unterscheiden, so wagen wir schon jetzt, auf Grund der vorliegenden Versuchsergebnisse zu behaupten, daß carboxyl-tragende Polysaccharide allgemein in den Skelettsubstanzen von Archegoniaten und Phanerogamen aufgefunden werden. Vielleicht sind derartige Säuren bisher in der Membran deshalb übersehen worden, weil das am meisten untersuchte Fichtenholz nur eine sehr geringe Säuremenge enthält.

Wegen der gleichartigen Zusammensetzung und des einheitlichen Verhaltens der Skelettsubstanzen versuchten wir zu entscheiden, auf welche Vorstellung, ob Gemenge, chemische Bindung oder kolloidchemische Adsorption die Vergesellschaftung der Hemi-cellulosen mit der Cellulose in den Skelettsubstanzen zurückzuführen ist.

Für die weiteren Untersuchungen über die Natur der Skelettsubstanzen war zunächst das Studium der aus den Braunalgen *Fucus* und *Laminaria* leicht darstellbaren freien Polyglykuronsäuren<sup>20)</sup> von besonderer Bedeutung. Diese stark sauer reagierenden Verbindungen werden von Bicarbonat unter Entwicklung von Kohlendioxyd bereits bei gewöhnlicher Temperatur fast vollkommen gelöst, ebenso wie von Natriumsulfit bei geringer Erwärmung. Den neutral reagierenden Skelettsubstanzen können aber die Säuren weder durch Natriumsulfit<sup>15)</sup>, noch durch Bicarbonat entzogen werden, da die Skelettsubstanzen sich genannten Salzen gegenüber fast vollkommen indifferent verhalten. Somit müssen die in den Skelettsubstanzen vorhandenen Säuren chemisch gebunden sein. Da nun die Cellulose und die Hemi-cellulosen als Alkohole aufzufassen sind, so ist die Annahme von der Ester-Natur<sup>16)</sup> der Skelettsubstanzen naheliegend.

Diese aus experimentellen Tatsachen gewonnene Anschauung soll nunmehr als objektiv gültig bewiesen werden. Dazu ist das Auffinden stöchiometrischer Beziehungen von Cellulose zu Säure und zu Hemicellulosen erforderlich. Wir beabsichtigen, im Verlauf unserer Untersuchungen darzutun, daß man auf die Vergesellschaftung von Kolloiden, wie sie in der pflanzlichen Zellmembran vorkommen, die gleichen Begriffe, wie sie die klassische Chemie kennt, z. B. den Begriff „Ester“, anzuwenden berechtigt ist, daß Kolloide, wenn dieselben wie in den Skelettsubstanzen miteinander in Reaktion getreten sind, den Formgesetzen der krystallisierenden Substanzen gehorchen. Es soll nicht geleugnet werden, daß den Kolloiden auf Grund ihres Zustandes besondere Eigenschaften zukommen, aber deshalb brauchen sie nicht die Fähigkeit verloren zu haben, sich miteinander zu einem höheren, wieder kolloiden Gebilde zu vereinigen, das eine definierte Zusammensetzung hat und nach den gewöhnlichen Gesetzen chemischer Reaktionen zustande gekommen ist.

Der Beweis einer solchen Anschauung verlangt neue Arbeits-Methoden, denn die monomeren Spaltstücke einer Skelettsubstanz, auf dem bisher üblichen Wege der Hydrolyse dargestellt, lassen keine zwingenden Schlußfolgerungen über Konstitutions-Verhältnisse zwischen Kolloiden zu. Die präparativen und die analytischen Methoden müssen zunächst derartige sein,

<sup>20)</sup> E. Schmidt und F. Vocke, B. 59, 1585 [1926].

daß zwar der Verband der Kolloide gespalten, die kolloiden Einzelgebilde aber in ihrer chemischen Struktur nicht verändert werden.

Da die Säuren an ihren Carboxylgruppen besonders leicht zu erkennen sind, haben wir uns zunächst diesem Bestandteil der Skelettsubstanzen zugewandt und im Folgenden eine quantitative Bestimmungs-Methode der Säuren auf konduktometrischem Wege beschrieben. Mit Hilfe dieser Methode prüften wir den Gültigkeitsbereich der Anschauung von der Ester-Natur der Skelettsubstanzen und machten wahrscheinlich, daß die Cellulose in den sämtlichen, bisher untersuchten Zellmembranen sich ester-artig gebunden vorfindet.

## II.

Nach Angaben von B. Tollens und I. U. Lefèvre<sup>21)</sup> spaltet die monomere Glykuronsäure bei der Behandlung mit 12-proz. Chlorwasserstoff-säure vollständig Kohlendioxyd ab und kann infolge dieses Verhaltens quantitativ bestimmt werden. Versucht man nun, diese Bestimmungs-Methode auf die aus Braunalgen gewonnenen Polyglykuronsäuren zu übertragen, so ergibt sich, daß diese polymeren Säuren nur durchschnittlich etwa 50% des Kohlendioxyds abspalten. Infolge dieses unterschiedlichen Verhaltens zwischen den Polyglykuronsäuren und ihrer monomeren Form war bei Anwendung der Methode von Tollens und Lefèvre zur quantitativen Bestimmung der Säuren in den Skelettsubstanzen mit falschen Ergebnissen zu rechnen.

Wenn in den Skelettsubstanzen Säuren in verestertem Zustand und nicht als Alkalosalze vorhanden sind, so war bei der Einwirkung von verd. Alkali auf Skelettsubstanzen ein Verbrauch von Lauge infolge Salzbildung zu erwarten. Entsprechend dieser Annahme, ließ sich bei der Behandlung von Skelettsubstanzen mit  $n/10$ - oder  $n/15$ -Alkali eine Verminderung der Leitfähigkeit der Lauge wahrnehmen. Der größte Teil dieser Verminderung ging bereits in den ersten Minuten vor sich, und  $1/2$ —1 Stde. nach Beginn der Reaktion änderte sich die Leitfähigkeit der Lauge nicht mehr. Dem Einwand, daß dieser Vorgang wegen der Schnelligkeit der Reaktion eine einfache Lösung sei, halten wir entgegen, daß  $\alpha$ -Oxy-monocarbonsäure-ester, wie z. B. Milchsäure-ester<sup>22)</sup>, durch Wasser augenblicklich verseift werden und der Athylester der Galaktionsäure<sup>23)</sup> wegen seiner außerordentlich leichten Verseifbarkeit nicht existenzfähig ist. Genauere Messungen von Verseifungsgeschwindigkeiten sind an Mandelsäure-estern auf konduktometrischem Wege bei  $25^{\circ}$  ausgeführt worden<sup>24)</sup>. Zwar haben wir nicht die Verseifungsgeschwindigkeiten der Skelettsubstanzen zahlenmäßig festgestellt, wohl aber stimmen rein qualitativ die Verseifungsgeschwindigkeiten der Skelettsubstanzen und die der Mandelsäure-ester überein. Beide sind so groß, daß mehr als die Hälfte der Reaktion während der ersten Minuten

<sup>21)</sup> van der Haar, Anleitung zum Nachweis, zur Trennung und Bestimmung der reinen und aus Glucosiden usw. erhaltenen Monosaccharide und Aldehydsäuren (Gebr. Borntraeger, Berlin 1920), S. 71; B. 40, 4517 [1907].

<sup>22)</sup> J. Schreiner, A. 197, 12 [1879]; A. Findlay und E. M. Hickmans, Journ. chem. Soc. London 95, 1005 [1909].

<sup>23)</sup> E. Kohn, Monatsh. Chem. 16, 336 [1895].

<sup>24)</sup> A. Findlay und E. M. Hickmans, Journ. chem. Soc. London 95, 1004 [1909].

stattfindet<sup>25)</sup>). So wird der Mandelsäure-methylester durch  $n/_{30}$ -Lauge nach 17 Min.<sup>26)</sup>, durch  $n/_{60}$ -Lauge nach 19 Min.<sup>27)</sup>, der Propylester durch  $n/_{60}$ -Lauge nach 40 Min.<sup>28)</sup> fast vollständig gespalten.

Im Vergleich zu den genannten Estern sind Skelettsubstanzen wesentlich stabiler. Bei der Skelettsubstanz von Buche müßte durch Verseifung gebildete freie Säure sich in Wasser lösen. 2-stdg. Einwirkung von siedendem Wasser ergab aber keine Gewichtsabnahme von mehr als 3%.

Bemerkt sei noch, daß verd. Säuren im Gegensatz zu Alkalien in weit geringerem Maße die Skelettsubstanzen angreifen<sup>29)</sup>. So beträgt die gewichtsvermindernde Einwirkung von  $n/_{2}$ -Chlorwasserstoffsäure auf Skelettsubstanzen auch nach 96 Stdn. nicht mehr als 2%. Man könnte indessen annehmen, daß die polymere Säure infolge von Verseifung zwar freigelegt, aber wegen der vorhandenen Mineralsäure in ausgeflocktem Zustand auf dem gewogenen Bodenkörper sich vorfindet. Diese Möglichkeit haben wir indessen für die Skelettsubstanz von Buche ausschließen können. Denn nach Einwirkung von  $n/_{2}$ -Chlorwasserstoffsäure auf die Skelettsubstanz von Buche verliert der verbliebene Rückstand auch nach der Behandlung mit 2-proz. Natriumsulfit, in dem die freie polymere Säure löslich ist, nicht mehr als 2%. Erst 2-n. Chlorwasserstoffsäure bewirkt bei der Skelettsubstanz von Buche nach 96 Stdn. eine Gewichtsabnahme von 4–5%. Man darf wohl annehmen, daß in präparativer Hinsicht noch höheren Säure-Konzentrationen wenig Bedeutung zukommt, da diese auf die beiden Arten von Sauerstoff-Bindung in den Skelettsubstanzen – Ester-Bindungen zwischen den Polysacchariden und glykosidische Verknüpfungen der monomeren Zucker innerhalb der Polysaccharide – voraussichtlich gleichartig und wenig auswählend einwirken.

Aus der Abnahme der Leitfähigkeit bei Behandlung der Skelettsubstanzen mit  $n/_{15}$ - oder  $n/_{10}$ -Lauge durfte zunächst nicht unbedingt auf die Anwesenheit von Säure in den Skelettsubstanzen geschlossen werden, da mehrere Autoren angeben, daß Cellulose aus Lösungen von Alkalien große Mengen der Base, sei es durch Oberflächen-Adsorption, sei es durch Bildung von Alkoholat oder Additionsverbindungen, verbraucht<sup>30)</sup>. Aus demselben Grunde waren von einer Titrations-Methode, die Indicatoren verwendet, einwandfreie Ergebnisse um so weniger zu erwarten, als die Stärke der organischen Säuren noch unbekannt ist. Als einzige brauchbare Methode, nach der die Säuren in den Skelettsubstanzen quantitativ bestimmt, gleichzeitig aber Täuschungen durch Adsorptions-Erscheinungen ausgeschlossen werden, erwies sich die konduktometrische Titration.

Wurde nach der Einwirkung von  $n/_{15}$ - oder  $n/_{10}$ -Lauge auf Skelettsubstanzen die Lösung mit  $n/_{10}$ -Chlorwasserstoffsäure in kleinen Anteilen versetzt und nach jedem Zusatz die Leitfähigkeit der Flüssigkeit gemessen, so erhielten wir das in Fig. I schematisch wiedergegebene Bild. Die Kurve

<sup>25)</sup> A. Findlay und W. E. St. Turner, Journ. chem. Soc. London **87**, 749 [1905].

<sup>26)</sup> Journ. chem. Soc. London **87**, 758 [1905].

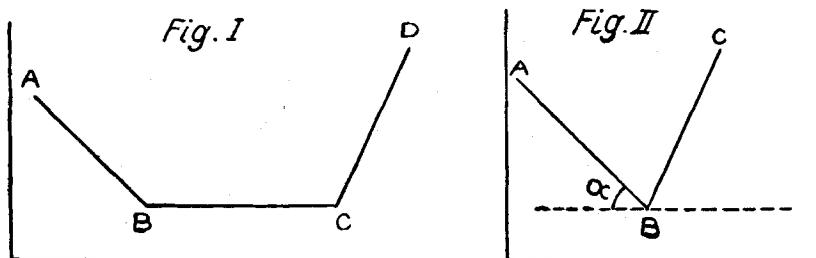
<sup>27)</sup> Journ. chem. Soc. London **87**, 759 [1905].

<sup>28)</sup> Journ. chem. Soc. London **87**, 760 [1905].

<sup>29)</sup> E. Schmidt und G. Malyoth, B. **57**, 1836 [1924].

<sup>30)</sup> Zusammenstellung der Literatur gibt C. Kullgreen, Papierfabrikant **1926**, Heft 11, 153. Im weiteren Verlauf der Arbeit bedienen wir uns des kurzen Ausdrucks wegen der Bezeichnung „Alkoholat“, ohne dabei gegen die etwaige Bildung einer Additionsverbindung Stellung zu nehmen.

zeigt, wie sich die Leitfähigkeit mit dem Volumen der zugesetzten Maßsäure ändert. Auf der Abscisse werden die ccm zugesetzter Maßsäure, auf der Ordinate die Verhältnisse  $a/b$  aufgetragen;  $a$  und  $b$  sind die Längen, die vom Schleifkontakt auf dem Brückendraht abgeteilt werden. Bei Zugabe von Maßsäure zur Reaktionsflüssigkeit sinkt zunächst die Leitfähigkeit stark. Die überschüssige Lauge wird neutralisiert. Es verschwinden die rasch wandernden OH-Ionen, und an ihre Stelle treten die langsamer wandernden



Anionen der Maßsäure (AB in Fig. I). Dann kommt ein Gebiet, in dem sich die Leitfähigkeit bei Zusatz von Maßsäure wenig oder gar nicht ändert (BC in Fig. I). Schließlich nimmt die Leitfähigkeit wieder stark zu. Eine derartige Titrationskurve ist charakteristisch für Salze mittelstarker Säuren. Sind im vorliegenden Fall mittelstarke organische Säuren vorhanden, so kommt das Mittelstück BC folgendermaßen zustande:

Die organische Säure wird von der Maßsäure aus dem Salz in Freiheit gesetzt und in den undissozierten Zustand übergeführt. Die zugegebenen H-Ionen werden von der organischen Säure verbraucht. Der starke Anstieg der Leitfähigkeit vom Punkte C ab ist schließlich darauf zurückzuführen, daß die leicht beweglichen Wasserstoff-Ionen der Maßsäure nicht mehr verbraucht werden. Das Mittelstück BC wäre also ein Maß für die vorhandene organische Säure.

Die in der Figur gezeichneten Ecken bei B und bei C waren in Wirklichkeit abgerundet, wie das bei einer mittelstarken Säure einerseits infolge der Hydrolyse des Salzes, andererseits infolge der merkbaren Dissoziation der mittelstarken Säure beobachtet wird. Da die drei Äste der Titrationskurve im übrigen mit großer Annäherung geradlinig verlaufen, so lassen sich die Punkte B und C durch Verlängerung dieser Graden bis zum Schnitt finden.

Sehr schwache Säuren können das beschriebene Titrationsbild nicht verursachen. Glykose, die nach R. Kuhn und P. Jakob<sup>31)</sup> eine Dissoziationskonstante von  $1.05 \times 10^{-12}$  besitzt, ändert z. B. die Titrationskurve reiner Lauge, wie sie in Fig. II wiedergegeben ist, nicht in ihrem Charakter. Die saure Natur der Glykose offenbart sich in diesem Fall nur darin, daß der  $\Delta \alpha$  bei Gegenwart von Glykose kleiner wird. Das Mittelstück BC bei der Titration von Skelettsubstanzen kann also nicht durch Alkoholat vorgetauscht sein, vielmehr müßte, wenn durch die überschüssige Lauge Alkoholat-Bildung stattgefunden hat, die Zersetzung des Alkoholats durch die Maßsäure schon in dem absteigenden Ast AB der Fig. I vor sich gegangen

<sup>31)</sup> Ztschr. physikal. Chem. 113, 389 [1924].

sein. Wäre andererseits eine starke Mineralsäure im Reaktionsgemisch vorhanden, so würde dadurch nur ein Teil der überschüssigen Lauge der Rücktitration entzogen, die Titration der mittelstarken Säure selbst aber nicht geändert.

Es war ferner zu untersuchen, ob der nach Einwirkung der Lauge verbleibende Bodenkörper das Ergebnis der Titration beeinflußt. Zur Beantwortung dieser Frage wurde bei der Skelettsubstanz von Buche der Bodenkörper abzentrifugiert und ein gemessener Teil der überstehenden Flüssigkeit titriert. Die Leitfähigkeits-Titration lieferte wiederum das in Fig. I gezeichnete Bild. Auch quantitativ ergaben die Versuche mit der Skelettsubstanz von Buche, bei denen der Bodenkörper anwesend war, dieselben Ergebnisse, wie die Titration der überstehenden Flüssigkeit allein.

Es ist bekannt, daß Cellulose aus starken Laugen bedeutende Mengen Alkali aufnimmt. Nach R. Lorentz<sup>32)</sup> vermag reine Cellulose, auch noch aus  $n/100$ -Lauge fast das ganze Alkali an ihrer Oberfläche zu adsorbieren. Mit Rücksicht auf das vorstehend beschriebene Ergebnis bei der Skelettsubstanz von Buche untersuchten wir ebenfalls reine Cellulose auf ihr Verhalten gegen  $n/10$ - und  $n/15$ -Lauge. Stets war das Titrationsbild bei Anwesenheit von Cellulose genau gleich dem der leeren Lauge. Die Titrationen wurden mit Bodenkörper ausgeführt, auch wurde die von der Cellulose abpipettierte Lauge für sich titriert. Der Verbrauch an Maßsäure entsprach stets innerhalb der Versuchsfehler dem zugesetzten Alkali. Weder der Bodenkörper, der bei Behandlung der Skelettsubstanz der Buche mit Alkali zurückbleibt, noch auch reine Cellulose adsorbieren also Alkali in merkbarem Betrag. Auch mit anderen Stoffen wurde das äußerst geringe Adsorptionsvermögen reiner Cellulose von L. Michaelis und P. Rona, sowie von I. M. Kolthoff<sup>33)</sup> nachgewiesen. Damit soll nicht angezweifelt werden, daß auch reine Cellulose aus starken Laugen ganz bedeutende Beträge aufnimmt. Nach unserem Dafürhalten wird wohl die Hauptmenge dieser Lauge zur Alkoholat-Bildung verbraucht werden, daneben ist auch vielleicht ein gleichzeitiger Angriff der Cellulose anzunehmen. Die von unseren Ergebnissen abweichenden Befunde von R. Lorentz sind wahrscheinlich auf geringe Mengen von Oxy-cellulose zurückzuführen, die den technisch dargestellten und gebleichten Cellulosen beigegeben sind. Daß von Oxy-cellulose unter Salzbildung Alkali verbraucht wird, ist von C. G. Schwalbe und E. Becker<sup>34)</sup> beschrieben und konnte im Verlauf dieser Arbeit auch auf konduktometrischem Wege bestätigt werden.

Bei der Untersuchung der Skelettsubstanz von Buche nach dem beschriebenen Verfahren konnte gegen Ende der Titrationen, die in Abwesenheit des Bodenkörpers ausgeführt wurden, die beginnende Bildung eines Niederschlags beobachtet werden; es wird ein Kolloid durch die Maßsäure ausgeflockt, deren Wasserstoff-Ionen dabei vom Kolloid adsorbiert werden. Eine solche Adsorption ist aber nach den neueren Anschauungen über die Natur des Koagulationsvorganges als chemische Reaktion der Wasserstoff-Ionen mit ionisierten Gruppen an den Kolloidteilchen gleich bedeutend.

<sup>32)</sup> Wehbl. Papierfabr. **24** A, 32 [1925].

<sup>33)</sup> vergl. P. Karrer, Polymere Kohlenhydrate (Akadem. Verlagsgesellschaft, Leipzig 1925), S. 145 ff.

<sup>34)</sup> B. **54**, 545 [1921].

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Form der erhaltenen Titrationskurven weder durch Alkoholat-Bildung, noch durch Anwesenheit von starken Säuren, noch durch Adsorptions-Erscheinungen am Bodenkörper verursacht sein kann. Vielmehr muß unseres Erachtens die Gegenwart mittelstarker Säuren angenommen werden, die hinsichtlich der Größenordnung ihrer Dissoziationskonstanten etwa mit der Milchsäure<sup>35)</sup> zu vergleichen sind; als solche kommen bei der Natur der Skelettsubstanzen nur Carbonsäuren in Frage<sup>36).</sup>

Die insgesamt bis zum Punkt C (Fig. I) verbrauchte Maßsäure müßte dem zugesetzten Alkali genau entsprechen. Tatsächlich ergab sich nun, daß dies nicht immer der Fall ist, daß vielmehr der Wiederanstieg der Leitfähigkeit in Punkt C bei manchen Skelettsubstanzen etwas zu früh stattfand. Diese Differenz betrug z. B. bei der Skelettsubstanz von Buche unter unseren Versuchsbedingungen durchschnittlich 1% der angewandten Lauge, während sie bei den oben geschilderten Versuchen mit reiner Baumwolle oder bei der Titration der Skelettsubstanz von Schwarzwurzel nicht zu bemerken war. Der Bodenkörper kann diese Erscheinung nicht verursachen, weil wir im Fall der Buche feststellten, daß sie im gleichen Maße auftritt, wenn die überstehende Lösung allein titriert wird. Es bleibt noch zu untersuchen, ob als exaktes Maß für die organischen Säuren die von B bis C verbrauchte Maßsäure oder die Differenz zwischen dem zur Aufspaltung zugegebenen Alkali und dem Verbrauch an Maßsäure bis zum Punkt B anzusehen ist. Möglicherweise wird ein geringer Teil des Alkalis von den koagulierenden organischen Säuren in nicht reaktionsfähiger Form eingeschlossen oder sonstwie fest gebunden, wie das W. Pauly und F. Rogan<sup>37)</sup> beispielsweise für das Chlor-Ion im Eisenoxyd-Sol gezeigt haben; in diesem Fall wäre der Punkt C noch nicht als genauer Endpunkt der Titration zu betrachten. Es mag noch erwähnt werden, daß durch langsamere Zugabe der Maßsäure in der Gegend des Punktes C die Resultate nicht beeinflußt wurden. Den unten mitgeteilten Versuchs-Ergebnissen ist zur Berechnung das Kurvenstück BC zugrunde gelegt; sie können deshalb im ungünstigen Fall nur etwas zu niedrig sein.

Da sich nicht nur Kohlenhydrate wie Glykose<sup>38)</sup>, in 10-proz. Kalilauge gelöst, sondern auch Alkali-cellulose<sup>39)</sup> mit molekularem Sauerstoff umsetzen, so war ebenfalls mit einer Einwirkung des letzteren auf Skelettsubstanzen zu rechnen, da diese zur Säure-Bestimmung eine Zeitlang mit Alkali in Berührung sind. Es ergab sich, daß nach 48-stdg. Einleiten von Sauerstoff in das Reaktionsgemisch von Skelettsubstanz der Buche und  $n/15$ -Natronlauge, die durch Leitfähigkeits-Titration ermittelten Säurewerte um 15% vom Wert höher sind als jene, die unter Ausschluß von Sauerstoff erhalten werden. Daher wurde bei sämtlichen Reaktionen, die zur Messung von Säure dienten, die Luft durch sauerstoff-freien Stickstoff ferngehalten. Ob in vorliegendem Fall die beim Einleiten von Sauerstoff sich bildende Säure durch Oxydation der Hemi-cellulosen oder der Cellulose entsteht,

<sup>35)</sup> Entsprechend einer vorläufigen  $p_H$ -Messung während der Leitfähigkeits-Titration.

<sup>36)</sup> Dagegen enthält Cellulose, wie sie in Baumwolle oder Tunicin nach der Behandlung mit Chlordioxyd und Sulfit vorliegt, keine Säure.

<sup>37)</sup> Kolloid-Ztschr. **35**, 131 [1924].

<sup>38)</sup> M. Nencki und N. Sieber, Journ. prakt. Chem. [2] **26**, 4 [1882].

<sup>39)</sup> W. Weltzien und G. zum Tobel, Papierfabrikant **1926**, Heft 27, 413; vergl. C. Kullgreen und H. Mellner, Papierfabrikant **1926**, Heft 13, 187 Ann.

wurde nicht näher untersucht. Bemerkt sei aber, daß nach 48-stdg. Einwirkung von Sauerstoff auf Baumwolle bei Gegenwart von  $n/_{15}$ -Lauge keine Säure entstand, die durch Leitfähigkeits-Titration nachgewiesen werden konnte. Dieser Befund steht aber keineswegs in Widerspruch zu den Ergebnissen von W. Weltzien und G. zum Tobel, da unseres Erachtens die Cellulose erst durch den Übergang in Alkali-cellulose für den Sauerstoff angriffsfähig wird.

### III.

Aus den Skelettsubstanzen werden die Hemi-cellulosen gewöhnlich mittels 5-proz. Natronlauge abgespalten und in alkali-lösliche Form übergeführt. Bei dieser Reaktion vollziehen sich zwei Vorgänge, von denen der eine im Hinblick auf die Ester-Natur der Skelettsubstanzen als Verseifung unter Salzbildung, der andere als Alkoholat-Bildung aufzufassen ist. In besonders übersichtlicher Weise lassen sich diese beiden Reaktionen, Salz- und Alkoholat-Bildung, an der Skelettsubstanz von Buche durch Anwendung verschieden konzentrierter Laugen trennen. Bestimmt man gravimetrisch den Verlust, den die Skelettsubstanz von Buche bei der Einwirkung von  $n/_{10}$ -Lauge erleidet, so erhält man eine Abnahme von 12.53%. Da nun der Rückstand von den gravimetrischen Versuchen sich nach der Leitfähigkeits-Methode als säure-frei erwies, und wie bereits erwähnt, die Titration der überstehenden alkalischen Reaktionsflüssigkeit dieselbe Säuremenge ergab, wie diejenigen Versuche, bei denen der Bodenkörper während der Titration anwesend war, so folgt, daß die Säure der Skelettsubstanz von Buche durch  $n/_{10}$ -Alkali vollständig entzogen wird. Berechnet man, wie bisher bei Säure-Bestimmungen üblich, das Titrations-Ergebnis auf das Lacton der Glykuronsäure mit dem Mol.-Gew. 176, so ergibt sich ein Säure-Gehalt von 12.86%. Damit stimmt die Gewichtsabnahme von 12.53% weitgehend überein. Wir schließen daraus, daß die titrierten Carboxylgruppen nur polymeren Glykuronsäuren oder deren Isomeren angehören. Es ist unwahrscheinlich, daß die so weitgehende Übereinstimmung zwischen dem auf Glykuronsäure-Lacton berechneten Titrations-Ergebnis und der gravimetrischen Abnahme zufällig dadurch zustande kommt, daß von den Hemi-cellulosen gleichzeitig ein unbestimmter Anteil gelöst wird. Vielmehr müssen wir annehmen, daß durch  $n/_{10}$ -Lauge der Skelettsubstanz von Buche die Säure allein entzogen wird, was dadurch gesichert erscheint, daß bei erneuter Einwirkung von  $n/_{10}$ -Lauge von dem Rückstand nichts mehr in Lösung geht.

Gravimetrisches und titrimetrisches Ergebnis stimmen also dann überein, wenn der Berechnung nicht das Molekulargewicht der freien Glykuronsäure, sondern das ihres Lactons zugrunde gelegt wird. Es ist aber wenig wahrscheinlich, daß in der Skelettsubstanz die Säure als Lacton vorhanden ist, vielmehr erklärt sich die Übereinstimmung zwangsläufig folgendermaßen: In der Skelettsubstanz ist die Säure verestert. Ist S das Äquivalentgewicht der Säure, A jenes des Alkohols, so ist das Gewicht des Esters  $S + A - HO_2$ . Nach der Aufspaltung mit  $n/_{10}$ -Lauge wird A zurückgewogen, der Gewichtsverlust beträgt also  $S - H_2O$ . Das gefundene Äquivalentgewicht muß also das des Säure-Lactons sein. Die Berechnung auf Glykuronsäure-Lacton hat demnach nur formale Bedeutung, in Wirklichkeit ist Glykuronsäure in der Skelettsubstanz verestert.

Entsprechend dem bei der konduktometrischen Titration gleichartigen Verhalten der Säuren in den sämtlichen untersuchten Skelettsubstanzen haben wir in allen Fällen die Titrationsergebnisse auf Glykuronsäure-Lacton bezogen.

Aus der Gewichtsabnahme von 12.53%, die die Skelettsubstanz der Buche bei der Einwirkung von  $n/10$ -Lauge erleidet und aus dem Verbrauch von 7.31 ccm  $n/10$ -Maßsäure auf 1 g Substanz bei der Titration errechnet sich umgekehrt unter Berücksichtigung der Wasser-Aufnahme bei der Verseifung ein Äquivalentgewicht von 189.6, während das der Glykuronsäure 194.1 ist. Die Differenz zwischen diesen beiden Werten ist wohl im Sinne der Polymerisation der Säure unter Wasser-Austritt zu deuten, doch sind die Methoden noch nicht genau genug, um weitergehende Schlüsse daraus abzuleiten.

Erst durch Einwirkung stärkerer Laugen werden die Pentosane unter Alkoholat-Bildung gelöst, ein Vorgang, der sich bei Verwendung von 5-proz. Natronlauge nahezu quantitativ vollzieht. Entsprechend dieser aufeinander folgenden Einwirkung von verschiedenen Alkali-Konzentrationen auf die Skelettsubstanz von Buche haben wir zunächst mittels  $n/10$ -Natronlauge die polymere Säure, alsdann mittels 5-proz. Lauge die säure-freien Pentosane präparativ dargestellt, worüber wir demnächst berichten werden. Der Vorteil dieser Methodik gegenüber der früheren, nach der mittels 5-proz. Lauge Säuren und Hemi-cellulosen aus der Skelettsubstanz gleichzeitig gelöst und als schwer entwirrbares Gemisch erhalten werden, ist unverkennbar.

Ein anderes Verhalten zeigt die Skelettsubstanz von Fichte. Dieser konnte die Säure durch  $n/10$ -Alkali nicht entzogen werden, denn die Skelettsubstanz von Fichte erfährt keine Gewichtsabnahme bei der Behandlung mit  $n/10$ -Lauge, obwohl Säure titrierbar ist. Auffallenderweise wird die Einwage nach der Behandlung mit  $n/10$ -Natronlauge und dem Auswaschen mit Wasser genau zurückerhalten. Bei völliger Unlöslichkeit des carboxyltragenden Teiles in  $n/10$ -Natronlauge wäre eine Gewichtszunahme infolge der Wasser-Aufnahme bei der Verseifung zu erwarten. Da aber Oxy-carbonsäuren erfahrungsgemäß sich leicht anhydrisieren und das Material auch nach der Einwirkung der Lauge bei 78° im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet werden muß, so ist es wahrscheinlich, daß dabei die freie Säure in das Lacton übergeht, also das von der gesamten Substanz bei der Verseifung aufgenommene Wasser während der Trocknung wieder abgegeben wird. Dagegen werden mit 5-proz. Lauge sowohl Säure wie Hemi-cellulosen zugleich gelöst. Wenn man nicht in der Skelettsubstanz der Fichte eine Säure von ganz anderen Eigenschaften annehmen will, als sie in der Skelettsubstanz der Buche vorkommt, so läßt sich diese Erscheinung so deuten, daß die Säure in der Skelettsubstanz von Fichte derartig mit den Hemi-cellulosen verknüpft ist, daß diese Bindung durch  $n/10$ -Lauge nicht gesprengt wird. Erst durch Alkoholat-Bildung kann Lösung des Komplexes bewirkt werden. Die Säure scheint also in diesem Fall das Bindeglied zwischen der Cellulose und den Hemi-cellulosen zu bilden. Nach der Seite der Cellulose scheint die Säure ester-artig gebunden, während sie mit den Hemi-cellulosen stabiler verknüpft ist. Es liegt hier wohl eine durch  $n/10$ -Lauge nicht spaltbare glykosidische Bindung vor. Nimmt man in der Skelettsubstanz der Buche die Säure ebenfalls als Bindeglied zwischen Cellulose und Hemi-cellulosen an, so muß hier wegen der alleinigen Lösbarkeit der Säure durch  $n/10$ -Lauge auch nach der Seite der Hemi-cellulosen eine ester-artige Verknüpfung angenommen werden.

Es ist wohl denkbar, daß im Pflanzenreich diese beiden Verknüpfungs-Möglichkeiten von Säure und Hemi-cellulosen sich im Bauplan der Skelettsubstanz ein und derselben Pflanze gleichzeitig vorfinden. Allen untersuchten Skelettsubstanzen ist aber gemeinsam, daß die Bindung der Säure mit der Cellulose von Ester-Natur ist.

Der Rückstand, der nach der Behandlung der Skelettsubstanz von Buche mit  $n/10$ -Alkali verbleibt, und der nach den angeführten Versuchs-Ergebnissen aus Cellulose und den gesamten Hemi-cellulosen der Skelettsubstanz besteht, ist unseres Frachtens nun keine Verbindung mehr, sondern ein Gemenge. Diesem lassen sich die Hemi-cellulosen durch Natriumsulfit in der Wärme ebensowenig entziehen wie mit  $n/10$ -Lauge. Wir legen diesem Umstand besondere Bedeutung bei, weil diejenigen Hemi-cellulosen, die wir zu den Inkrusten rechnen, in Natriumsulfit leicht löslich sind. Daher erscheint die Zweiteilung der Hemi-cellulosen nicht nur durch ihre verschiedenartige Verknüpfung, sondern auch durch ihr verschiedenartiges Verhalten im ungebundenen Zustand bewiesen.

Ähnlich wie die Skelettsubstanz der Fichte verhält sich Oxy-cellulose. In dem von uns untersuchten Oxy-cellulose-Präparat war bei Gegenwart des Bodenkörpers Säure titrierbar. Dagegen konnte nach Entfernung des Bodenkörpers in der alkalischen Reaktionsflüssigkeit keine Säure nachgewiesen werden. Es zeigte sich in diesem Fall nur eine Abnahme der Laugen-Konzentration. Daraus geht hervor, daß das Natriumsalz des Oxy-cellulose-Präparates in  $n/10$ -Lauge unlöslich ist. Aus diesem gleichartigen Verhalten besteht keine Veranlassung, in der Skelettsubstanz von Fichte Oxy-cellulose anzunehmen. Denn unter Oxy-cellulosen versteht man Substanzen, die durch Behandlung von Cellulose mit Oxydationsmitteln entstehen und als Gemische von unveränderter Cellulose mit Abbauprodukten von Säure-Natur anzusprechen sind. Wie später (S. 516) dargelegt wird, können aber die Carboxylgruppen in der Skelettsubstanz von Buche während des Aufschlusses nicht entstanden sein, und es ist daher höchst unwahrscheinlich, daß sie bei der Fichte entstehen sollten. Im übrigen ist die Anwesenheit von Oxy-cellulose in der Skelettsubstanz der Fichte schon deswegen nicht anzunehmen, weil wir gezeigt haben, daß der Träger der Carboxylgruppen nicht die Cellulose ist.

Unsere Methode ergibt im Vergleich zur Tollens-Lefèvreschen mehr als doppelt so hohe Werte. Den Säuremengen von 2.06% in der Skelettsubstanz von Tanne und 5.13% in der Skelettsubstanz von Buche, gemessen nach der Lefèvreschen Methode, stehen die Säuremengen 4.09% und 12.86% aus der Leitfähigkeits-Titration gegenüber; in beiden Fällen sind die Resultate auf Glykuronsäure-Lacton berechnet. Als Ursache der hohen Werte ist anzunehmen, daß die Säuren in den Skelettsubstanzen nicht monomerer, sondern polymerer Natur sind und nach der Methode von Tollens und Lefèvre nur unvollständig Kohlendioxyd abspalten. Auf diese Tat-sache wurde bereits bei den Polyglykuronsäuren aus Algen hingewiesen. Dazu kommt noch, daß z. B. die Tollens-Lefèvresche Methode nicht ein-wandfrei entscheiden läßt, ob in der Skelettsubstanz von Fichte überhaupt Säure enthalten ist; nach van der Haar<sup>40)</sup> liefert diese Methode nur bei

<sup>40)</sup> Anleitung zum Nachweis, zur Trennung und Bestimmung der reinen und aus Glucosiden usw. erhaltenen Monosaccharide und Aldehydsäuren (Gebr. Borntraeger, Berlin 1920), S. 75.

größeren Säuremengen brauchbare Resultate, weil auch Zucker beim Erhitzen mit Salzsäure Kohlendioxyd abspalten und so 2% Aldehyd-carbonsäuren vortäuschen können. Unsere Titrations-Methode ergibt aber für die Skelettsubstanz von Fichte eindeutig einen Säure-Gehalt von 2.8%. Somit ist die Tollens-Lefèvresche Methode als unbrauchbar für die Polysaccharid-Chemie erkannt.

In der Annahme, daß Aldehyd-carbonsäuren, mit einem Überschuß von Chlorwasserstoffsäure behandelt, ebenso quantitativ Furfurol liefern, wie sie beim Kochen mit Chlorwasserstoffsäure Kohlendioxyd abspalten, errechnete man bisher aus der Menge des gefundenen Kohlendioxyds das aus Aldehyd-carbonsäuren gebildete Furfurol-Phloroglucid. Dieses wurde von der Gesamtmenge des gefundenen Furfurol-Phloroglucids abgezogen, das sowohl aus Säuren wie wirklichen Pentosanen erhalten wird; die Differenz soll die Menge der polymeren Anhydro-Pentosen ergeben. Da aber, wie erwähnt, das abgespaltene Kohlendioxyd keineswegs der Menge von Aldehyd-carbonsäuren entspricht, so ist demnach die bisherige Art der Berechnung von Pentosan-Bestimmungen, sobald diese in Gegenwart von Aldehyd-carbonsäuren ausgeführt werden, als unrichtig zu bewerten.

Gegenüber der Leitfähigkeits-Titration wäre das Zurücktitrieren der zur Aufspaltung der Skelettsubstanzen verwandten Lauge unter Anwendung von Indicatoren einfacher. Die Bedenken, die oben gegen ein solches Verfahren erhoben wurden, sind durch die vorliegende Untersuchung im wesentlichen als beseitigt anzusehen (vergl. S. 509).

Gegen den Einwand, die in den Skelettsubstanzen nachgewiesenen Säuren seien beim Aufschluß durch die oxydierende Wirkung des Chlordioxyds entstanden, können wir folgende Gründe anführen: Die Modellversuche<sup>10) 12)</sup> haben ergeben, daß Kohlenhydrate von Chlordioxyd nicht merkbar angegriffen werden. Wenn trotzdem an der Skelettsubstanz beim Aufschluß Carboxylgruppen entstanden wären, so müßten die Säuren im freien Zustand darin vorliegen, weil kaum anzunehmen ist, daß sie sich etwa während des Aufchlusses mit der Cellulose verestern. Da aber die aus Algen gewonnene Polyglykuronsäure, wie schon erwähnt, sowohl in Bicarbonat wie in Natriumsulfit rasch und leicht löslich ist, da ferner die aus der Skelettsubstanz der Buche isolierte Säure, über die wir demnächst berichten werden, wasserlöslich ist, und andererseits jene Lösungsmittel auf die Skelettsubstanzen keine wesentliche Einwirkung zeigen, so folgt, daß die Säure zumindest in der Skelettsubstanz der Buche nicht frei vorhanden und deshalb auch nicht beim Aufschluß entstanden sein kann. Zweifellos darf dieser Befund auf die übrigen Skelettsubstanzen übertragen werden.

Die nachgewiesenen Säuren sind also bereits in der unaufgeschlossenen Zellmembran enthalten. Wir untersuchten einige Holzarten mit unserem Verfahren und konnten tatsächlich in allen Fällen das Vorhandensein von Säure genau wie bei den Skelettsubstanzen nachweisen. Auf Glykuronsäure-Lacton berechnet, sind z. B. im Buchenholz 24%, im Tannenholz 10% Säure enthalten, während in den entsprechenden Skelettsubstanzen 12.86 und 4.09% Säure gefunden wurden. Die Differenzen sind erklärlich, weil ja im Fall des Holzes die Berechnung auf Glykuronsäure-Lacton insofern willkürlich ist, als hier sicher Säuren mit niedrigerem Äquivalentgewicht,

z. B. Essigsäure<sup>41)</sup>, mitbestimmt wurden. Wir sehen diese letzteren Versuche deshalb nicht als besonders beweiskräftig an, glauben aber, daß man auf dieser Grundlage Holzarten durch Aufspaltung mit  $n/10$ -Lauge und Rücktitration mit Säure unter Anwendung eines geeigneten Indicators in einfacher Weise wird unterscheiden können.

Die Hemi-cellulosen der Inkrusten, die, wie bereits erwähnt, der Zellwand durch Sulfit entzogen werden können, sind den Pektinsubstanzen<sup>42)</sup> vergleichbar. Während sich aber diese in nicht oder nur wenig inkrustierten Pflanzenteilen als Calcium-Magnesium-Salze vorfinden, können die Hemi-cellulosen der Inkrusten im Holz nicht in Salzform vorhanden sein. Denn in diesem Fall müßte der Endpunkt C (Fig. I) bei der Leitfähigkeits-Titration später eintreten, als der zur Aufspaltung zugesetzten Lauge entspricht. In Wirklichkeit tritt er aber etwas zu früh ein. Wegen der neutralen Reaktion der ursprünglichen, gereinigten Zellmembran<sup>43)</sup> müssen wir die Hemi-cellulosen der Inkrusten mit dem von Chlordioxyd angreifbaren Membran-Bestandteil verestert annehmen. Dieses Ergebnis wird gestützt durch den sehr geringen Aschen-Gehalt, den mit Wasser und Aceton in der Kälte extrahierte Holz zeigt.

### Beschreibung der Versuche.

Die für die nachstehenden Versuche verwandten Skelettsubstanzen wurden aus den entsprechenden Zellmembranen durch etwa 7-malige Behandlung mit etwa 0.2-proz. Chlordioxyd und 2-proz. Natriumsulfit in der früher angegebenen Weise<sup>12)</sup> dargestellt.

#### I.

##### Verhalten der Skelettsubstanzen:

(gravimetrisch gemessen)

1. von Buche (*Fagus silvatica*)<sup>15)</sup> und Fichte (*Picea excelsa*)<sup>15)</sup> nach 96-stdg. Einwirkung von  $n/10$ -Chlordioxyd und anschließender 2-stdg. Behandlung mit 2-proz. Natriumsulfit-Lösung bei Wasserbad-Temperatur ist früher beschrieben worden. In gleicher Weise verhalten sich gegenüber  $n/10$ -Chlordioxyd und 2-proz. Natriumsulfit die Skelettsubstanzen von

a) Adlerfarn ( <i>Pteridium aquilinum</i> ):	b) Schwarzwurzel ( <i>Scorzonera hispanica</i> ):			
I.	II.			
Angew. Sbst. <sup>44)</sup> .....	0.2940 g	0.2762 g	Angew. Sbst. <sup>44)</sup> .....	0.2659 g
Gef. .....	0.2894 g	0.2727 g	Gef. .....	0.2628 g
Differenz in % .....	—1.57	—1.27	Differenz in % .....	—1.16.

2. von Adlerfarn nach 24-stdg. Einwirkung von kalt gesättigter Kaliumbicarbonat-Lösung bei 30°: Etwa 0.2 g klein gezupfte, gewichtskonstant getrocknete Skelettsubstanz werden mit etwa 20–30 ccm kalt gesättigter Kaliumbicarbonat-Lösung in einer Stöpselflasche übergossen, die unter häufigem Umschütteln 24 Std. im Thermostaten bei 30° aufbewahrt wird. Hierauf wird die Skelettsubstanz in einem Glasfilter-Tiegel abfiltriert, ausgewaschen und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

<sup>41)</sup> W. Cross, B. **48**, 1526 [1910]; C. G. Schwalbe und E. Becker, Ztschr. angew. Chem. **1919**, 230; J. Marcussen, Ztschr. angew. Chem. **1926**, 899.

<sup>42)</sup> F. Ehrlich und R. von Sommerfeld, Biochem. Ztschr. **168**, 268 [1926].

<sup>43)</sup> vergl. Sven Odén, Ber. Dtsch. Botan. Ges. **34**, 654 [1916]; C. **1917**, I 417.

<sup>44)</sup> Ohne Berücksichtigung des Aschen-Gehaltes.

Angew. Sbst. <sup>44)</sup>	.....	0.1775 g
Gef.	.....	0.1766 g
Differenz in %	.....	-0.51.

3. nach 2-stdg. Einwirkung von siedendem Wasser. In einem Kolben mit eingeschliffenem Kühlrohr wird etwa 0.5-1 g Skelettsubstanz mit etwa 100 ccm Wasser übergossen, das im Ölbad (Temp. 110°) 2 Stdn. zum Sieden erhitzt wird. Hierauf werden die Skelettsubstanzen in einem Glasfilter-Tiegel abfiltriert und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

a) Tanne ( <i>Abies pectinata</i> ):	b) Buche ( <i>Fagus silvatica</i> ):	c) Flachs ( <i>Linum usitatissimum</i> ):
Angew. Sbst. <sup>44)</sup> 0.9499 g	Angew. Sbst. <sup>44)</sup> 0.8833 g	Angew. Sbst. <sup>44)</sup> 0.4051 g
Gef. .. 0.9429 g	Gef. .. 0.8390 g	Gef. .. 0.3968 g
Differenz in % -0.74	Differenz in % -2.75	Differenz in % -2.05.

4. gegen  $n_{10}$ -Natronlauge: 0.2-0.3 g gewichtskonstant getrocknete Skelettsubstanz wurden in einem Zentrifugen-Glas (Fig. IV) mit 20 ccm  $n_{10}$ -Natronlauge übergossen und etwa 15 Stdn. bei Zimmer-Temperatur unter Einleiten von Stickstoff (vergl. S. 520) gerührt. Der Bodenkörper wurde in einem bis zur Gewichtskonstanz im Hochvakuum getrockneten Glasfilter-Tiegel abfiltriert und mit 500 ccm Wasser gewaschen. Das Versuchs-Ergebnis wird nicht geändert, wenn man zunächst mit 100 ccm  $n_{10}$ -Lauge und erst dann mit Wasser nachwäscht. Der Tiegel mit Inhalt wurde im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Der Aschen-Gehalt des Tiegel-Inhalts wurde jeweils ermittelt und in Rechnung gesetzt.

a) Fichte ( <i>Picea excelsa</i> ):	I.	II.
Angew. Sbst. <sup>45)</sup> .....	0.2635 g	0.2416 g
Gef. .. <sup>45)</sup> .....	0.2635 g	0.2416 g
Differenz in % ..	0.00	0.00
Aschen-Gehalt der eingewogenen Sbst. ..	0.0008 g	0.0008 g
.. des Rückstandes .....	0.0008 g	0.0004 g

b) Buche ( <i>Fagus silvatica</i> ):	I.	II.
Angew. Sbst. <sup>45)</sup> .....	0.2067 g	0.2067 g
Gef. .. <sup>45)</sup> .....	0.1806 g	0.1810 g
Differenz in % ..	-12.63	-12.43
Aschen-Gehalt der eingewogenen Sbst. ..	0.0018 g	0.0018 g
.. des Rückstandes .....	0.0010 g	0.0004 g.

5. von Buche nach Einwirkung von  $n_{10}$ -Natronlauge und anschließender Behandlung mit 2-proz. Natriumsulfit-Lösung bei Wasserbad-Temperatur. 0.3-0.5 g im Exsiccator getrocknete Skelettsubstanz werden mit 20 ccm  $n_{10}$ -Natronlauge in der unter 4. beschriebenen Weise behandelt. Auf den Rückstand lässt man nach dem Trocknen im Hochvakuum 2-proz. Natriumsulfit 2 Stdn. bei Wasserbad-Temperatur wie früher beschrieben<sup>15)</sup> ein wirken.

	I.	II.
Angew. Sbst. <sup>44)</sup> .....	0.3371 g	0.3300 g
Gef. .. ..	0.3368 g	0.3291 g
Differenz in % ..	-0.09	-0.27.

<sup>44)</sup> Unter Berücksichtigung des Aschen-Gehaltes.

## II.

## Methode zur Säure-Bestimmung in Skelettsubstanzen durch Leitfähigkeits-Titration.

Für die Titrationen dienen:

1. Eine gewöhnliche Leitfähigkeits-Apparatur und ein auf 25° eingestellter Thermometer. Die Reaktionen und Titrationen werden in dem in Fig. III abgebildeten Glasgefäß ausgeführt. Die Höhe desselben beträgt vom Boden bis zum Beginn des Schliffes 9 cm, der Querschnitt des Gefäßes ist kreisförmig, sein Durchmesser und der Abstand der Elektroden betragen 3.5 cm. Die quadratischen Elektroden bestehen aus 0.25 mm dickem Platinblech, das mit einem Überzug von Platinmohr versehen ist, und besitzen eine wirksame Oberfläche von 0.5 qcm. Es ist sehr wesentlich, daß die Elektroden in der Weise, wie in Fig. III wiedergegeben, eingeschmolzen sind. Das Platinblech muß im

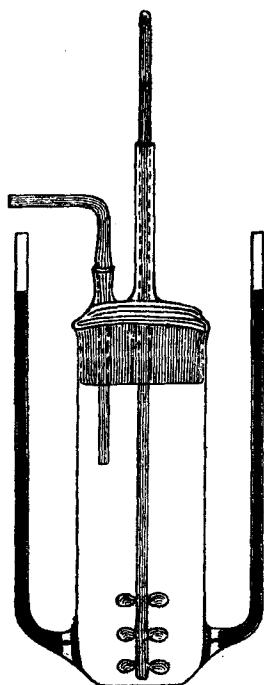


Fig. III.

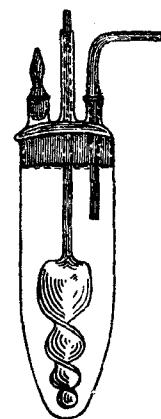


Fig. IV.

Glas wie ein Fenster angebracht sein und darf in der Gefäßwand keinen Vorsprung bilden. Denn bei den nachstehend beschriebenen Versuchen soll sich der Bodenkörper nicht zwischen der Rückseite der Elektrode und der Glaswand oder an einem Vorsprung der Elektrode festsetzen können.

2.  $n/5$ -Natronlauge, die nach F. Pregl<sup>46)</sup> bereitet, unter Wasserstoff oder Stickstoff aufbewahrt und aus einer unter Wasserstoff gehaltenen Bürette entnommen wird. Der Wasserstoff wurde zuvor mit Lösungen von Permanganat, Quecksilberchlorid und 50-proz. Natronlauge gewaschen.

3. Wasser, das durch mehrmalige Destillation über Permanganat, sowie Ätzkali gereinigt worden war.

<sup>46)</sup> Ztschr. analyt. Chem. 67, 23 [1925/26].

Lauge und Wasser werden unter Wasserstoff oder Stickstoff aus denselben Gründen aufbewahrt, wie bereits S. 512 bei der Besprechung der Einwirkung von Alkali auf Skelettsubstanzen auseinandergesetzt worden ist.

Zur Titration bei Anwesenheit des Bodenkörpers werden 0.3 bis 0.5 g unter 0.0001 mm Hg-Druck und bei 78° bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Skelettsubstanz im Titrationsgefäß mit 20 ccm Wasser übergossen. Hierauf wird das Gefäß verschlossen. Da einige Skelettsubstanzen, wie z. B. die von Scorzonera, nach dem Trocknen hornartige Beschaffenheit annehmen und in diesem Zustand die Elektroden-Oberfläche zerkratzen, so ist es nötig, diese Substanzen zunächst über Nacht quellen zu lassen. Bei den Skelettsubstanzen von Hölzern ist diese Vorsichtsmaßregel nicht notwendig. Alsdann wird durch das Gaseinleitungsrohr  $\frac{1}{4}$  Stde. Stickstoff eingeleitet, der vorher zur Entfernung von Sauerstoff und Kohlendioxyd durch je 3 Waschflaschen mit Chromchlorür und 50-proz. Kalilauge geleitet wird. Hierauf entfernt man das Gaseinleitungsrohr und führt ohne den Deckel des Titrationsgefäßes abzuheben, durch die Öffnung das Auslaufrohr der unter Wasserstoff stehenden Bürette ein, aus der 10 ccm  $n_{15}$ -Lauge in das Gefäß eingelassen werden. Das vorhandene Wasser verdünnt die Lauge auf  $\frac{1}{15}$ -Normalität. Nunmehr wird das Gaseinleitungsrohr wieder eingesetzt, das Gefäß in den Thermostaten gebracht und unter Rühren ein lebhafter Stickstoff-Strom in das Titrationsgefäß geleitet. Das Rühren erfolgte mittels eines Elektromotors. Haben sich nach einigen Minuten das Gefäß und sein Inhalt der Temperatur des Thermostaten angeglichen, so läßt sich die Abnahme der Leitfähigkeit des Reaktionsgemisches bis zu jenem Zeitpunkt verfolgen, von dem ab die Leitfähigkeit auch nach Stunden sich nicht mehr ändert. Bei der am eingehendsten untersuchten Skelettsubstanz von Buche ändert sich bereits 1 Stde. nach Beginn der Reaktion die Leitfähigkeit nicht mehr. Auch für die übrigen Skelettsubstanzen von Farn, Fichte, Tanne, Schwarzwurzel werden keine wesentlich anderen Spaltungs-Geschwindigkeiten beobachtet. Um zu beweisen, daß die erreichte Konstanz der Leitfähigkeit tatsächlich dem Ende der Spaltung entspricht, wurde bei allen untersuchten Substanzen die Einwirkungsdauer der Lauge um ein Vielfaches verlängert. Indessen ergaben sämtliche Titrationen übereinstimmende Werte. Auch nach Erhöhung der Laugen-Konzentration von  $n_{15}$  auf  $n_{10}$  bei der Buchen-Skelettsubstanz erhält man die gleichen Säurewerte. Nach beendeter Einwirkung der Lauge wird das Gaseinleitungsrohr entfernt und durch die Öffnung das Ausflußrohr einer mit  $n_{10}$ -Chlorwasserstoffsäure gefüllten 10-cm-Mikrobürette eingeführt. Entgegen den Angaben von I. M. Kolthoff<sup>47)</sup> erfolgt die Titration im Thermostaten, da unter diesen Bedingungen die Diagramme der nachstehend beschriebenen Versuche schärfer ausgeprägt sind. Unter stetem Rühren wird zunächst die Hauptmenge der Maßsäure auf einmal zugegeben, dann wird mit Anteilen von je 0.2 ccm versetzt, jeweils das Ton-Minimum eingestellt und die auf der Brücke abgelesenen Werte notiert. Obwohl der Konzentrations-Ausgleich trotz Anwesenheit des Bodenkörpers sich schnell vollzieht, ist es dennoch ratsam, in der Nähe der Knicke mit dem Säure-Zusatz etwas länger als gewöhnlich zu warten. Nach beendeter Titration werden die Verhältnisse  $\frac{a}{1000 - a}$

<sup>47)</sup> Konduktometrische Titrationen (Th. Steinopff, Dresden und Leipzig 1923), S. 18.

(a ist die Ablesung auf der Brücke in mm) auf der Ordinate, gegen die zugehörigen ccm Maßsäure auf der Abscisse auf einem Millimeter-Papier aufgetragen. Der Maßstab wurde so gewählt, daß auf der Abscisse je 5 mm 0.2 ccm Maßsäure und auf der Ordinate je 5 mm 2 Einheiten der 2. Stelle nach dem Komma bei den Verhältniszahlen entsprechen. Die gesuchte Zahl ccm, die verbraucht wurden, um in Fig. I von B nach C zu gelangen, wird aus der Zeichnung abgelesen; hierbei ist es leicht möglich, auf 0.25 mm genau zu unterscheiden. Die Titrations-Ergebnisse stimmen bei Einwagen von 0.2—0.5 g auf 0.2% der Einwage überein. Das bedeutet bei einem Säure-Gehalt von etwa 10% einen Fehler von  $\pm 2\%$  von den gefundenen Werten. Durch Vergrößern des Titrations-Gefäßes und Verwendung größerer Einwagen könnte die Methode genauer gestaltet werden. Abgesehen von der Genauigkeit der Einwagen hängt die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse von

A. Buche, Aschen-Gehalt 0.91%.

I. Lauge  $n/_{15}$ <sup>48)</sup>,  $(n/_{10})^{49)}$ ,  $[n/_{5}]^{48)}$ .

	I	II	III	IV	V
Angew. Sbst. in g <sup>45)</sup> .....	0.4031 (0.2470) [0.4933]	0.3891 (0.2541) [0.3839]	0.4215	0.4314	0.4648
Einwirkungsdauer der Lauge in Stdn. ....	4 (20) [20]	4 (18) [20]	40	17	20
Verbrauchte ccm Maßsäure von B—C (Fig. I) nach Abzug	2.96 (1.80) [3.62]	2.83 (1.86) [2.79]	3.08	3.13	3.42
der ccm Maßsäure für CO <sub>2</sub> - Gehalt der Lauge .....	0.30 (0.44) [0.58]	0.28 (0.28) [0.45]	0.50	0.32	0.38
Organische Säure in ccm Maß- säure, berechnet auf 1 g Sbst.	7.34 (7.29) [7.34]	7.27 (7.32) [7.27]	7.31	7.26	7.36
Ber. Glykuronsäure-Lacton in % der angew. Sbst. ....	12.92 (12.83) [12.92]	12.80 (12.88) [12.79]	12.86	12.77	12.95
Gesamtmenge der bis zum Punkt C verbraucht. ccm Maßsäure	20.58 (20.40) [21.29]	20.47 (20.52) [21.16]	20.46	20.42	20.48
Mittelwert für den Verbrauch an ccm Maßsäure bei den Leer- bestimmungen der angew. Lauge	20.68 (20.68) [21.15]	20.68 (20.68) [21.15]	20.68	20.68	20.68

<sup>48)</sup> In Anwesenheit des Bodenkörpers während der Titration.

<sup>49)</sup> In Abwesenheit des Bodenkörpers während der Titration.

2. Lauge  $n/15^{48})$ . Titrations-Ergebnisse nach Einleiten von  $\text{CO}_2$ -freiem  $\text{O}_2$  während der Einwirkung von Lauge.

(Titrations-Ergebnisse am Rückstand von der Behandlung der Skelettsubstanz mit  $n/10$ -Lauge, vergl. S. 513.)

	I	II	III
Angew. Sbst. in g .....	0.3749 <sup>45)</sup> (0.25) <sup>50)</sup>	0.3919 <sup>45)</sup> (0.25) <sup>50)</sup>	0.3341 <sup>45)</sup>
Einwirkungsdauer der Lauge in Stdn. ....	24 (3)	48 (2)	48
Verbrauchte ccm Maßsäure von B—C (Fig. I) nach Abzug .....	2.91 (0.00)	3.22 (0.00)	2.83
der ccm Maßsäure für $\text{CO}_2$ -Gehalt der Lauge .....	0.28 (0.45)	0.29 (0.34)	0.40
Organische Säure in ccm Maßsäure berech- net auf 1 g Sbst. ....	7.67 (0.00)	8.22 (0.00)	8.47
Ber. Glykuronsäure-Lacton in % der angew. Sbst. ....	13.66 (0.00)	14.46 (0.00)	13.91
Gesamtmenge der bis zum Punkt C ver- brauchten ccm Maßsäure .....	20.86 (22.40)	21.08 (22.23)	21.22
Mittelwert für den Verbrauch an ccm Maß- säure bei den Leerbestimmungen der an- gew. Lauge .....	21.15 (22.45)	21.15 (22.45)	21.15

der Güte der Diagramme ab. Es müssen z. B. zwischen A und B die gemessenen Punkte derartig auf einer Geraden liegen, daß über deren Verlauf kein Zweifel bestehen kann. Hier machen sich Ablesungsfehler auf der Brücke und Ungenauigkeiten in der Zugabe der Maßsäure geltend. Diese Fehler während der Titration werden aber durch die große Zahl von gemessenen Punkten ausgeglichen. Für ein Diagramm wurden etwa 30 Punkte bestimmt. Da bei den angeführten Versuchen als Endpunkt der Titration Punkt C in Fig. I angenommen ist, wurde auf eine sehr genaue Zugabe der angegebenen Menge von Lauge verzichtet.

Weil der Kohlendioxyd-Gehalt der Lauge bei den Titrationen mitbestimmt wird, so wurde bei jeder Titration gleichzeitig ein Leerversuch ausgeführt, bei dem in einem gleichgroßen Gefäß unter gleichen Bedingungen die gleiche Menge Lauge dieselbe Zeit wie beim Hauptversuch gerührt und unmittelbar nach diesem titriert wurde. Das Diagramm wird im gleichen Maßstab wie das des Hauptversuches wiedergegeben und das aufgefundene Mittelstück von dem des Hauptversuches subtrahiert.

Zu den Versuchen mit  $n/5$ -Lauge wurde die Einwage mit 20 ccm  $n/5$ -Lauge übergossen und im übrigen in gleicher Weise, wie zuvor beschrieben, verfahren. Bei der An-

<sup>50)</sup> Auf der Handwage abgewogen.

gabe der Versuchs-Ergebnisse sind die gefundenen Werte für den Kohlendioxyd-Gehalt der Lauge und für den Endpunkt C der Titration zum Vergleich auf die bei den Versuchen mit  $n/_{15}$ -Lauge angewandten Alkali-Mengen umgerechnet.

Zu den Titrationen der vom Bodenkörper abpipettierten Reaktionsflüssigkeit werden etwa 0.2–0.3 g bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Skelettsubstanz mit 10 ccm Wasser und 10 ccm  $n/_{5}$ -Natronlauge (entsprechend  $n/_{10}$ -Lauge) in dem in Fig. IV abgebildeten Zentrifugen-Glas übergossen. Dessen Höhe von der Spitze bis zum Beginn des Schliffs beträgt 8.5 cm, sein größter Durchmesser 3 cm. Im Gegensatz zu den mit Bodenkörper ausgeführten Titrationen werden die angewandten Wasser- und Laugen-Mengen analytisch genau abgemessen. Das Reaktionsgemisch wurde unter Einleiten von Stickstoff bei Zimmer-Temperatur über Nacht gerührt. Ohne die Zentrifugen-Gläser zu öffnen, wird nun der Bodenkörper auf einer Hand-Zentrifuge abgeschleudert. Hierauf werden 10 ccm der überstehenden Flüssigkeit mittels einer Pipette entnommen, nachdem nur Gas-einleitungsrohr und Glasstopfen entfernt wurden. Der Inhalt der Pipette wird in das zuvor beschriebene Titrations-Gefäß entleert, das man sofort verschließt. Im Thermostaten wird nunmehr unter den zuvor geschilderten Bedingungen die Leitfähigkeits-Titration ausgeführt. Die erhaltenen Säure-Werte sind mit 2 zu multiplizieren. Aus einem Leerversuch, der gleichzeitig in einem gleich großen Gefäß ausgeführt wird, erhält man den Kohlensäure-Gehalt der Lauge, der beim Hauptversuch zu berücksichtigen ist.

B. Adlerfarn, Aschen-Gehalt 0.46% (Fichte, Aschen-Gehalt 0.31%) [Tanne, Aschen-Gehalt 0.26%] {Schwarzwurzel, Aschen-Gehalt 0.58%}. Lauge  $n/_{15}$ <sup>48)</sup>.

	I	II	III	IV
Angew. Sbst. in g <sup>45)</sup> .....	0.4026 (0.5358)	0.3407 (0.5989)	[0.2666] {0.5816}	[0.5263] {0.3387}
Einwirkungsdauer der Lauge in Stdn. ....	16 (15)	4 (5)	[20] {17}	[3] {4}
Verbrauchte ccm Maßsäure von B—C (Fig. I) nach Abzug .....	2.14 (0.66)	1.80 (0.75)	[0.61] {2.86}	[1.24] {1.65}
der ccm Maßsäure für CO <sub>2</sub> -Gehalt der Lauge	0.41 (0.34)	0.26 (0.26)	[0.31] {0.25}	[0.26] {0.25}
Organische Säure in ccm Maßsäure berechnet auf 1 g Subst. ....	5.29 (1.23)	5.28 (1.25)	[2.29] {4.92}	[2.36] {4.87}
Ber. Glykuronsäure-Lacton in % der angew. Sbst. ....	9.35 (2.16)	9.30 (2.20)	[4.03] {8.65}	[4.15] {8.57}
Gesamtmenge der bis zum Punkt C ver- brauchten ccm Maßsäure .....	21.04 (21.00)	21.03 (21.00)	[21.03] {21.14}	[21.16] {21.13}
Mittelwert für den Verbrauch an ccm Maß- säure bei den Leerbestimmungen der an- gew. Lauge .....	21.16 (21.16)	21.16 (21.16)	[21.16] {21.16}	[21.16] {21.16}

Verhalten nach der Einwirkung von Natronlauge und anschließender Leitfähigkeits-Titration von:

1. Baumwolle. Rohe, von Samen mechanisch befreite, ostindische Baumwolle wurde einmal mit Chlordioxyd-Natriumsulfit behandelt, worauf sie sich beim Lagerversuch als einwandfrei erwies. Das so gereinigte Material hatte einen Aschen-Gehalt von 0.02 %. Die Baumwolle wurde nicht zerkleinert und bei den folgenden Versuchen nach den für die Skelettsubstanzen gültigen Angaben behandelt.

Lauge  $n/_{15}$ <sup>48</sup>), ( $n/_{16}$ )<sup>49</sup>), [ $n/_{15}$ ]<sup>48</sup>)<sup>51</sup>).

	I	II
Angew. Sbst. in g <sup>50</sup> ) .....	0.2 (0.2) [0.2]	0.2 (0.2) [0.2]
Einwirkungsdauer der Lauge in Stdn. ....	4 (16) [45]	20 (20) [47]
Verbrauchte ccm Maßsäure von B—C (Fig. I) n. Abzug	0.01 (0.00) [0.00]	0.00 (0.00) [0.00]
der ccm Maßsäure für CO <sub>2</sub> -Gehalt der Lauge .....	0.36 (0.32) [0.42]	0.46 (0.23) [0.32]
Gesamtmenge der bis zum Punkt C verbrauchten Maßsäure .....	20.62 (21.12) [21.20]	21.10 (21.08) [21.11]
Mittelwert für den Verbrauch an ccm Maßsäure bei den Leerbestimmungen der angew. Lauge .....	20.67 (21.16) [21.16]	21.16 (21.16) [21.16]

2. Tunicin. Die Mäntel von *Phallusia mammillata* wurden mittels Bürste von anhaftenden Fremdkörpern befreit, mit der Scheere zerschnitten und 4-mal mit Chlordioxyd-Natriumsulfit behandelt, worauf sich das Tunicin beim Lagerversuch als einwandfrei erwies. Das Material wurde bei den folgenden Versuchen nach den für die Skelettsubstanzen gültigen Angaben behandelt.

Lauge  $n/_{15}$ <sup>48</sup>).

	I	II
Angew. Sbst. in g <sup>50</sup> ) .....	0.3	0.3
Einwirkungsdauer der Lauge in Stdn. ....	4	17
Verbrauchte ccm Maßsäure von B—C (Fig. I) nach Abzug .....	0.01 0.26	0.00 0.36
der ccm Maßsäure für CO <sub>2</sub> -Gehalt der Lauge .....	21.10	22.41
Gesamtmenge der bis zum Punkt C verbrauchten Maßsäure		
Mittelwert für den Verbrauch an ccm Maßsäure bei den Leerbestimmungen der angew. Lauge .....	21.16	22.45

<sup>51)</sup> Unter Einleiten von CO<sub>2</sub>-freiem Sauerstoff während der Einwirkung von Lauge.

3. Oxy-cellulose, dargestellt mittels Chlorkalz aus der durch Chlordioxyd-Natriumsulfit gereinigten rohen Baumwolle, unter verd. Chlorwasserstoffsäure bei gew. Temp. einige Std. aufbewahrt, mit Wasser ausgewaschen und durch Elektrodialyse auf einen Aschen-Gehalt von 0.19 % gebracht. Die Oxy-cellulose wurde bei den folgenden Versuchen nach den für die Skelettsubstanzen gültigen Angaben behandelt.

Lauge  $n/15^{(48)}$ ,  $(n/10)^{(49)}$ .

	I	II
Angew. Sbst. in g .....	0.2581 <sup>(45)</sup> (0.3) <sup>(50)</sup>	0.2628 <sup>(46)</sup> (0.3) <sup>(50)</sup>
Einwirkungsdauer der Lauge in Std. ....	3 (3)	16 (16)
Verbrauchte ccm Maßsäure von B—C (Fig. I) nach Abzug .....	0.41 (0.00)	0.41 (0.00)
der ccm Maßsäure für $\text{CO}_2$ -Gehalt der Lauge .....	0.33 (0.40)	0.31 (0.58)
Organische Säure in ccm Maßsäure ber. auf 1 g Sbst....	1.59 (0.00)	1.56 (0.00)
Gesamtmenge der bis zum Punkt C verbr. ccm Maßsäure	20.78 (20.22)	20.72 (20.54)
Mittelwert für den Verbrauch an ccm Maßsäure bei den Leerbestimmungen der angew. Lauge .....	21.16 (21.16)	21.16 (21.16)

4. Holz, in der früher beschriebenen Weise gereinigt und bei den folgenden Versuchen nach den für die Skelettsubstanzen gültigen Angaben behandelt. Das Reaktionsgemisch war stark gelb gefärbt.

	Tannenholz, Aschen-Gehalt 0.2 % Lauge $n/15^{(48)}$ ( $n/5^{(48)}$ )		Buchenholz, Aschen-Gehalt 0.2 % Lauge $[n/15]^{(46)}$	
	I	II	I	II
Angew. Sbst. in g <sup>(45)</sup> .....	0.1931	0.1220 (0.1776)	[0.1514]	[0.3729]
Einwirkungsdauer der Lauge in Std. ....	3	16 (16)	5	16
Verbrauchte ccm Maßsäure von B—C (Fig. I) nach Abzug .....	1.10	0.69 (1.00)	[1.97]	[4.85]
der ccm Maßsäure für $\text{CO}_2$ -Gehalt der Lauge .....	0.28	0.36 (0.48)	[0.22]	[0.43]
Titrierbare Säure in ccm Maßsäure ber. auf 1 g Sbst....	5.69	5.65 (5.63)	[13.01]	[13.00]
Gesamt-Menge der bis zum Punkt C verbrauchten ccm Maßsäure .....	21.01	21.08 (21.10)	[20.93]	[20.84]
Mittelwert für den Verbrauch an ccm Maßsäure bei den Leerbestimmungen der angew. Lauge .....	21.16	21.16 (21.16)	[21.16]	[21.16]

## 5. Glykose.

Nach Lösen von 0.1 g Glykose in 20 ccm  $n/_{15}$ -Natronlauge stimmten die ccm Maßsäure von B—C (Fig. I) mit dem  $\text{CO}_2$ -Gehalt der Lauge überein. Desgleichen entsprach der Endpunkt C der Titration der angew. Laugenmenge.

## III.

Methode der Säure-Bestimmung nach B. Tollens und J. U. Lefèvre<sup>21)</sup> ergab folgende Werte für:

## A. Skelettsubstanzen. (Bearbeitet von Hrn. Theodor Kollmann.)

	Tanne.	I.	II.
Angew. Sbst. <sup>45)</sup>	.....	1.1006 g	1.0987 g
Gef. $\text{CO}_2$	.....	0.0049 g	0.0064 g
Ber. Glykuronsäure-Lacton in % der angew. Sbst.	.....	1.78	2.33
Differenz der Werte nach II, B und der nach Tollens-Lefèvre in %.	56.5	43.0	
	Buche.	I.	II.
Angew. Sbst. <sup>45)</sup>	.....	0.5917 g	0.6249 g
Gef. $\text{CO}_2$	.....	0.0076 g	0.0080 g
Ber. Glykuronsäure-Lacton in % der angew. Sbst.	.....	5.14	5.12
Differenz der Werte nach II, A <sub>1</sub> und der nach Tollens-Lefèvre in %	60.0	60.2	

B. Polyglykuronsäuren aus *Fucus serratus*<sup>20)</sup>. (Bearbeitet von Hrn. Fritz Vocke.)

## Gemisch von Säure a und b.

	I.	II.
Angew. Polyglykuronsäure	0.4772 g	0.3422 g
Gef. $\text{CO}_2$	0.0747 g	0.0496 g
Gef. Glykuronsäure-Lacton in %	62.62	57.98

## Säure a.

Angew. Polyglykuronsäure	0.5946 g
Gef. $\text{CO}_2$	0.0302 g
Gef. Glykuronsäure-Lacton in %	20.32.

Hrn. Dr. Max Duttenhofer erlauben wir uns, für das große Interesse, das er in so hohem Maße dem vorliegenden Arbeitsgebiet jederzeit entgegenbrachte, unsern ergebensten Dank auszusprechen.