

# Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft

73. Jahrg. Nr. 11. — Abteilung B (Abhandlungen), S. 1135—1317 — 6. November

## 183. Hermann Friese und Georg Stoeck: Zur Kenntnis der Sulfitablauge aus Buchenholz (XII. Mitteil. über Lignin).

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Techn. Hochschule Braunschweig.]

(Eingegangen am 18. September 1940.)

Die Bearbeitung der Sulfitablauge ist bisher fast nur im Hinblick auf die Isolierung der Ligninsulfonsäure geschehen, ohne Berücksichtigung der Inhaltsstoffe. Vor einiger Zeit zeigten wir nun, daß in der Sulfitablauge des Fichtenholzes, neben freien Zuckern und einer nicht spaltbaren hochmolekularen Ligninsulfonsäure, auch eine Lignin-Kohlenhydrat-Verbindung<sup>1)</sup> vorhanden ist, in der die Ligninkomponente verschieden hoch sulfoniert sein kann. Diese Arbeiten sind inzwischen weitergeführt worden.

In den letzten Jahren wird in immer stärkerem Ausmaße auch die Buche nach dem sogenannten Sulfitverfahren auf Zellstoff verkocht und der Anfall an Abblauge ist ebenfalls sehr beträchtlich. Von dem Gedanken ausgehend, daß eine wissenschaftliche Untersuchung der Sulfitablauge des Buchenholzes einen Einblick in die komplizierte Chemie des Holzes und damit auch des Lignins geben kann, haben wir dieses Problem in Angriff genommen. Hinzu kommt noch, daß damit vielleicht auch der technischen Verwertung, die trotz einiger gegenteiliger Behauptungen eine ungelöste Frage darstellt, ein Hinweis gegeben werden kann. Die Verarbeitung auf Vanillin, die für einen Bruchteil der Fichtenholzabblauge in Frage kommt, scheidet bei der Buchenholzabblauge aus.

Da es in der vorliegenden Arbeit darauf ankam, die gesamten Inhaltsstoffe der Buchenholz-Sulfitablauge zu untersuchen, konnten die sonst üblichen Isolierungsverfahren nicht angewendet werden; es wurde daher ein ähnlicher Weg, wie bei der Fichtenholzabblauge beschrieben, eingeschlagen. Die Aufarbeitung der Abblauge geschah in der Weise, daß sie zunächst durch Destillation unter vermindertem Druck von flüchtigen Säuren befreit, dann mit Calciumcarbonat neutralisiert und zur Trockne gedunstet wurde. Die Trockensubstanz betrug durchschnittlich 14—15% auf 1 l Abblauge berechnet. Durch Auskochen mit Äthanol und Methanol ließ sich eine erste Fraktion gewinnen, aus der reine *d*-Xylose in einer Ausbeute von etwa 13% der Trockensubstanz durch einfache Krystallisation zu erhalten war. Die nichtkrystallisierbare Substanz, die ein hellgelbes, lockeres, stark wasseranziehendes Pulver darstellte, konnte durch Acetylieren mit Pyridin und Essigsäureanhydrid in einen ätherlöslichen und einen gleichzeitig in Chloro-

<sup>1)</sup> B. 70, 1072 [1937].

form und Wasser löslichen, aber in Äther unlöslichen Anteil zerlegt werden, der etwa 36% Essigsäure besaß und Calcium, Schwefel und Methoxyl enthielt. Der ätherlösliche Anteil war hingegen frei von Schwefel und Calcium, hatte aber 71.8% Essigsäure und 2.1%  $\text{OCH}_3$ . Nach erfolgter Verseifung wurde versucht, eine Bestimmung der Zucker durchzuführen. Es konnten 53% Xylose und 16–18% vergärbare Hexosen nachgewiesen werden, von denen Mannose den überwiegenden Teil ausmachte. Glucose war nicht genau zu bestimmen, war aber wahrscheinlich zugegen. Methylpentosen, Ketosen und Uronsäuren lagen nicht vor, desgleichen konnten Arabinose und Galaktose mit ziemlicher Sicherheit ausgeschlossen werden. Die Anwesenheit der Xylose machte sich allerdings bei der Untersuchung sehr störend bemerkbar, wie dies aus der Literatur auch bekannt ist. Über die Natur der restlichen, methoxylhaltigen Zuckersubstanz kann noch nichts ausgesagt werden.

Die Mannose wurde im Zuckergemisch nach E. Hägglund<sup>2)</sup> als Phenylhydrazon bestimmt, die restlichen Kohlenhydrate anschließend mittels Benzaldehyds regeneriert. Als nun versucht wurde, Galaktose als  $\alpha$ -Methylphenylhydrazon zu identifizieren, zeigte es sich, daß hier ein Mannose-derivat entstanden war, die Fällung nach E. Hägglund war also nicht quantitativ gewesen. E. Hägglund versuchte nun bei der Fichtenholzablauge die Glucose dadurch nachzuweisen, daß er nach der Entfernung der Mannose als Hydrazon ohne Prüfung, ob die Fällung quantitativ, die Glucose als Brom-phenyl-glucosazon vom Schmp. 204° bestimmte. Nun hat aber das unter den gleichen Bedingungen entstehende *p*-Brom-phenylhydrazon der Mannose<sup>3)</sup> einen Schmp. von 203–206°, während das *p*-Brom-phenyl-glucosazon richtig bei 222° schmelzen soll. Es ist anzunehmen, daß es sich hier auch um Mannose handelte, die als Hydrazon nicht quantitativ gefallen war.

Wichtig ist es, darauf hinzuweisen, daß die gefundene Xylose z. Tl. methoxylhaltig war. Wurden die Methanolauszüge einer Aufarbeitung acetyliert und die Acetylierungsprodukte mittels Aktivkohle gereinigt, so konnte eine gut krystallisierte Substanz vom Schmp. 124–125° erhalten werden, die 50.0% C, 5.73% H, 72.7% Essigsäure und 1.5%  $\text{OCH}_3$  besaß, also unzweifelhaft ein Xylose-tetraacetat darstellte. Das Methoxyl blieb auch nach der Verseifung erhalten und war schwer abzuspalten, kann also kaum in glucosidischer Bindung vorliegen.

Im weiteren Zuge der Aufarbeitung konnten keine freien Zucker mehr aus der Ablauge isoliert werden, sie wurden so gut wie quantitativ von Methanol und Äthanol aufgenommen. Ihre Menge beträgt 26–30% der Trockensubstanz der Ablauge und scheint von der Kochung abhängig zu sein. Etwa 76% der freien Kohlenhydrate bestehen aus *d*-Xylose.

Der restliche, durch Acetylierung abtrennbare Anteil der alkoholischen Auszüge stellt eine Lignin-Kohlenhydrat-Verbindung dar. Durch weitgehende Fraktionierungsversuche sind keine Zucker mehr abzutrennen, sie treten erst nach erfolgter Spaltung auf.

Der Stoff besitzt etwa 4.2% Ca, 6.5% S, 11.0%  $\text{OCH}_3$ , 36.5% Essigsäure sowie 45.2% C und 4.7% H.

<sup>2)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **177**, 248 [1928].

<sup>3)</sup> v. d. Haar, Monosaccharide u. Aldehydsäuren [1920] S. 218.

An die alkoholische Extraktion der Ablaugensubstanz schloß sich eine solche mit 80-proz. Methanol an. Der hierbei in Lösung gegangene braun-gefärbte Stoff machte 25—35% des Ausgangsmaterials aus. Seine Menge ist von der Dauer der Auskochung stark abhängig. Der Gehalt an Calcium und Schwefel betrug etwa 6%, an Methoxyl 11%. Selbst unter scharfen Acetylierungsbedingungen waren nur ganz geringe Mengen an Zuckeracetaten zu erhalten. Es blieb nach der Acetylierung ein hellbrauner Stoff zurück, der nur in Wasser löslich war und von organischen Lösungsmitteln nicht aufgenommen wurde. Geringe Mengen wurden von Äthanol herausgelöst. Das Präparat hatte 43% C, 4.8% H, 11%  $\text{OCH}_3$ , 5.9% Ca, 6.9% S und 11% Essigsäure. Die Acetylierungslösung lieferte beim Versetzen mit Äther einen hellgelben, festen Stoff von 46.7% C, 4.6% H, 12.2%  $\text{OCH}_3$ , 4.1% Ca, 6.0% S und 30.4% Essigsäure. Er wurde mittels Acetons, Benzols und Alkohols einer Fraktionierung unterworfen. Die analytischen Daten der einzelnen Fraktionen unterschieden sich aber nicht wesentlich. Eine geringe Substanzmenge ließ sich noch aus der ätherhaltigen Acetylierungslösung isolieren, war aber nach dem Trocknen in Äther kaum noch löslich. Das Präparat war fast frei von Schwefel und Calcium, hatte etwa 54% Essigsäure und 5%  $\text{OCH}_3$ . Es stellte eine Lignin-Kohlenhydrat-Verbindung dar, die nur noch wenig Lignin gebunden enthielt.

Die Spaltung des in 80-proz. Methanol löslichen Anteils ließ sich mittels verd. Schwefelsäure nur unvollkommen durchführen, gelang aber durch die Sulfacetolyse, wobei ätherlösliche Zuckeracetate mit 68.8% Essigsäure isoliert werden konnten, die einen Methoxylgehalt von 2.34% besaßen und frei von Calcium und Schwefel waren. Es ist noch zu bemerken, daß die Acetylierungen vorsichtig ausgeführt werden müssen, da sich unter Umständen Calciumacetat bildet. Die so freigelegte Sulfonsäuregruppe im Ligninmolekül reagiert dann mit Pyridin unter Salzbildung und wird dadurch teilweise in Chloroform löslich.

Die jetzt anschließende Ultrafiltration der restlichen Ablaugensubstanz durch ein Ultrafeinfilter lieferte zwei Fraktionen, deren Ausbeute von der Porenweite des Filters abhängig war. Das Ultrafiltrat war höher sulfoniert und besaß im Mittel etwa 41% C, 4% H, 7% Ca, 8.5% S und 11%  $\text{OCH}_3$ . Durch Acetylierung konnten keine freien Zucker nachgewiesen werden, es entstanden weder ätherlösliche, noch chloroformlösliche Produkte. Die Essigsäureaufnahme war mit 6% außerordentlich gering.

Das Präparat löste sich glatt in Schwefelsäure, die den üblichen Bedingungen bei der Ligninbestimmung entsprach. Man kann also bei Ligninderivaten keine Ligninbestimmung nach dem üblichen Verfahren durchführen.

Eine Spaltung mit verd. Schwefelsäure war nur sehr schwer durchzuführen, dagegen gelang es wiederum mittels der Sulfacetolyse ätherlösliche Zuckeracetate zu isolieren, die die gleichen Eigenschaften wie die Spaltzucker des in 80-proz. Methanol löslichen Anteiles hatten.

Das Ultrafiltrat stellte keine einheitliche Substanz dar, sondern bestand aus einem Gemisch verschieden hoch sulfonierter Ligninsulfonsäuren, die z. Tl. noch Zuckerkomplexe gebunden hielten.

Der nichtultrafiltrierbare Anteil war ein braunes, festes Pulver, das im Mittel 51.9% C, 5.0% H, 3.6% Ca, 5.1% S und 16%  $\text{OCH}_3$  besaß. Die Ana-

lysenwerte sind infolge geringer Beimengungen anorganischer Calciumsalze nicht immer einheitlich. Die Ausbeute ist von der Porenweite des Filters außerordentlich abhängig. Sie betrug bei einem gegen Benzopurpurin dichten Ultrafeinfilter etwa 5%, bei einer etwas kleineren Porenweite bis zu 14%. Die Verbindung ist nicht spaltbar. Eine Ligninbestimmung verlief hier ebenfalls negativ. Das Präparat wurde von 72-proz. Schwefelsäure aufgenommen; beim Eingießen in Wasser fielen nur geringe Mengen einer flockigen Substanz aus.

Der Aufschluß des Buchenholzes mit Calciumbisulfitlauge liefert also wieder den Beweis dafür, daß das Lignin wenigstens mit einem Teil der Kohlenhydrate des Holzes chemisch verbunden ist. Durch den Eintritt der Sulfonsäuregruppe in das Ligninmolekül wird die Bindung des Lignins mit den Kohlenhydraten aufgelockert, und die Lignin-Kohlenhydrat-Verbindung wird wasserlöslich. Die Acidität der Kochsäure ist aber zu gering, um eine weitere hydrolytische Spaltung zu ermöglichen, es bedarf erst eines bedeutend stärkeren Reagens, um die Bindungen zu lösen.

Die Tatsache, daß eine übliche Ligninbestimmung mit den erhaltenen Präparaten nicht durchzuführen ist, kann so erklärt werden, daß die Schweflige Säure mit der empfindlichen Atomgruppierung des ursprünglichen Lignins im Holzverband reagiert, die u. U. beim Aufschluß des Holzes mit Mineralsäuren für eine Kondensation und damit ein Unlöslichwerden des Lignins verantwortlich zu machen ist. Wie später berichtet werden wird, ist es auch nicht möglich, mit einem Nitro-Holz, das nur Nitro-Stickstoff, aber keinen Ester-Stickstoff enthält, eine übliche Ligninbestimmung durchzuführen. Die Salpetersäure muß an der gleichen Stelle des Moleküls wie die Schweflige Säure in Reaktion getreten sein.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Inhaltsstoffe der Buchenholzsulfitablaue sich aus drei Komponenten zusammensetzen, nämlich dem freien Zuckeranteil, dessen Hauptmenge aus Xylose besteht, einer spaltbaren Lignin-Kohlenhydrat-Verbindung und der z. Tl. nicht spaltbaren Ligninsulfonsäure, die verschieden hoch sulfoniert ist. Zur Übersicht sind die Daten der einzelnen Stoffe unten kurz zusammengestellt.

Es fällt auf, daß die Lignin-Kohlenhydrat-Verbindungen, welche als Acetate in Chloroform und Wasser löslich sind, einen sehr hohen Methoxylgehalt besitzen, wenn man auf den Grundkörper unrechnet. Dieser Methoxylgehalt erreicht bei manchen Fraktionen den Wert des Lignins. Die weiteren Untersuchungsergebnisse hierüber und über die Ultrafiltrate, bei denen der Calciumwert erstaunlich hoch liegt, werden gesondert mitgeteilt, es sollte zunächst ein allgemeiner Überblick über die Inhaltsstoffe der Buchenholzsulfitablaue gegeben werden.

Prozentuale Zusammensetzung der Buchenholzsulfitablaue.

| Stoff                        | %    | Stoff   | %    |
|------------------------------|------|---|------|
| Xylose .....                 | 20.4 | Lignin-Kohlenhydrat-Verbindungen<br>als Acetate in Chloroform und<br>Wasser löslich ..... | 27.2 |
| Mannose .....                | 1.0  | Ligninsulfonsäuren (z. Tl. spaltbar)  | 44.5 |
| Vergärbare Hexosen .....     | 1.0  | Organische Ca-Salze .....   | 1.2  |
| Methoxylhaltige Zucker ..... | 4.5  |   |      |

## Analytische Daten der einzelnen Körper.

a) Der Essigsäuregehalt ist eliminiert.

| Stoff   | C     | H    | S    | Ca   | OCH <sub>3</sub> | Acetyliert:<br>Essigsäure |            |
|---|-------|------|------|------|------------------|---------------------------|------------|
|   | %     | %    | %    | %    | %                | %                         |            |
| 1. Zucker .....   | 39.98 | 6.67 | —    | —    | —                | 75.44                     |            |
| 2. Als Acetat in CHCl <sub>3</sub> und H <sub>2</sub> O löslich ..... | 41.30 | 4.67 | 8.48 | 5.3  | 14.6             | 36.5                      |            |
| 3. Als Acetat in CHCl <sub>3</sub> und H <sub>2</sub> O löslich ..... | 43.9  | 4.58 | 8.09 | 5.05 | 15.4             | 30.4                      |            |
| 4. Als Acetat in CHCl <sub>3</sub> und H <sub>2</sub> O löslich ..... | 44.34 | 5.43 | 3.76 | 2.3  | 7.76             | 48.5                      |            |
| 5. Als Acetat in CHCl <sub>3</sub> unlösl.                            | 40.34 | 4.61 | 9.79 | 6.23 | 11.7             | 11.0                      |            |
| 6. Ultrafiltrat .....   | 41.7  | 5.1  | 7.3  | 8.5  | 10.5             |                           | S:Ca = 1:1 |
| 7. Nicht ultrafiltrierbar .....                                       | 52.0  | 4.7  | 5.1  | 3.6  | 16.0             |                           | S:Ca = 2:1 |

b) Auch Ca und S sind eliminiert.

| Stoff | % C   | % H  | % O.CH <sub>3</sub> | Stoff | % C   | % H  | % O.CH <sub>3</sub> |
|-------|-------|------|---------------------|-------|-------|------|---------------------|
| 1.    | 39.98 | 6.67 | —                   | 5.    | 58.4  | 6.24 | 16.9                |
| 2.    | 56.39 | 6.02 | 20.0                | 6.    | 55.53 | 6.76 | 13.8                |
| 3.    | 58.97 | 5.8  | 20.6                | 7.    | 63.92 | 5.92 | 19.5                |
| 4.    | 49.8  | 5.97 | 8.7                 |       |       |      |                     |

## Beschreibung der Versuche.

## Aufarbeitung der Buchenholzsulfitablauge.

4 l der Ablauge, wie sie aus dem Kocher kommt, wurden durch wiederholtes Abdunsten mit Wasser unter vermindertem Druck von flüchtigen Säuren befreit und nach dem Neutralisieren mit Calciumcarbonat zur Trockne gebracht. Es hinterblieb ein Rückstand von 595 g.

## Alkoholische Auszüge.

Die Trockensubstanz der Ablauge wurde portionsweise mit der etwa 15-fachen Menge Äthanol ausgekocht, die blanke Lösung eingedunstet und der Rückstand unter schwachem Erwärmen wiederum in 2 l Äthanol gelöst, wobei nur 2 g einer Substanz, die 5.57 % Ca, 6.4 % S, 11.2 % OCH<sub>3</sub>, 42.4 % C und 5.3 % H besaß, zurückblieben. Beim vorsichtigen Eindunsten der Äthanollösung fielen zunächst 30 g Krystalle aus, die sich nach Schmelzpunkt und Osazon als *d*-Xylose erwiesen. Durch weiteres Konzentrieren konnten noch 46 g *d*-Xylose erhalten werden. Die Mutterlauge erstarrte nach längerem Stehenlassen ebenfalls krystallin und war bis auf einen Rückstand von 2 g, der ähnliche Analysendaten hatte, wie oben beschrieben, wiederum in Äthanol löslich (M 1).

Im Anschluß an die Äthanolextraktion wurde die Substanz portionsweise erschöpfend mit Methanol ausgekocht. Nach dem Eindunsten wurde der Lösungsrückstand in der Wärme mit Äthanol behandelt, wobei er teilweise in Lösung ging. Beim Einengen der Äthanollösung konnten noch

5 g *d*-Xylose gewonnen werden. Weitere krystalline Substanzen ließen sich aus der Lösung durch einfaches Fraktionieren nicht gewinnen, trotzdem die Mutterlauge beim langsamen Verdunsten krystallin erstarrte (M 2).

Der von Äthanol nicht aufgenommene Anteil des Methanolauszuges wog 18.5 g und besaß 6.3% Ca, 8.3% S und 2.5%  $\text{OCH}_3$ . Er zeigte gegenüber Fehlingscher Lösung ein starkes Reduktionsvermögen und wurde mit der 5-fachen Menge Essigsäureanhydrid und der 8-fachen Menge Pyridin 10 Stdn. bei 40—45° acetyliert. Da eine Filtration vom nichtgelösten Anteil unmöglich war, wurde in Äther gegossen, abgesaugt und mit Chloroform ausgekocht. Der Rückstand wog 5.8 g und hatte 35.6% C, 4.82% H, 3.62%  $\text{OCH}_3$ , 32% Essigsäure und 10.8% Ca.

0.0216 g Sbst.: 0.0281 g  $\text{CO}_2$ , 0.0093 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.0329 g Sbst. verbr. 2.3 ccm  $n_{10}^{\text{I}}$ -Thiosulfat. — 0.2023 g Sbst. verbr. 5.4 ccm  $n_{10}^{\text{I}}$ -NaOH. — 0.1482 g Sbst.: 0.0547 g  $\text{CaSO}_4$ .

Die Chloroformlösung hinterließ nach dem Eindunsten 7 g eines braunen Stoffs, der 44.3% C, 4.75% H, 9.57%  $\text{OCH}_3$ , 32.5% Essigsäure und 5.17% Ca besaß.

0.0400 g Sbst.: 0.0680 g  $\text{CO}_2$ , 0.0170 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.1364 g Sbst.: 0.0240 g  $\text{CaSO}_4$ . — 0.0460 g Sbst. verbr. 8.5 ccm  $n_{10}^{\text{I}}$ -Thiosulfat. — 0.2325 g Sbst. verbr. 6.3 ccm  $n_{10}^{\text{I}}$ -NaOH.

Die mit Äther versetzte Reaktionslösung wurde im Vak. zur Trockne gebracht und mit Äther extrahiert. Als löslich erwiesen sich 5 g eines hellgelben Stoffs mit 66.6% Essigsäure und 1.52%  $\text{OCH}_3$ , der aber frei von Ca und S war. Es lag hier unzweifelhaft ein methoxylhaltiges Zuckeracetat vor. Die Menge entsprach 2.8 g freiem Kohlenhydrat.

0.1397 g Sbst. verbr. 7.75 ccm  $n_{10}^{\text{I}}$ -NaOH. — 0.0467 g Sbst. verbr. 1.4 ccm  $n_{10}^{\text{I}}$ -Thiosulfat.

Der ätherunlösliche Rückstand wurde glatt von Chloroform aufgenommen und besaß nach dem Nachacetylieren ein Gewicht von 10.2 g, 49.5% C, 5.3% H, 5.2%  $\text{OCH}_3$ , 56.7% Essigsäure, 2.4% S und 0.6% Ca.

0.0324 g Sbst.: 0.0587 g  $\text{CO}_2$ , 0.0154 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.0396 g Sbst. verbr. 4.0 ccm  $n_{10}^{\text{I}}$ -Thiosulfat. — 0.1355 g Sbst. verbr. 6.4 ccm  $n_{10}^{\text{I}}$ -NaOH. — 0.0419 g Sbst.: 0.0075 g  $\text{BaSO}_4$ . — 0.1134 g Sbst.: 0.0024 g  $\text{CaSO}_4$ .

Die Mutterlaugen M 1 und M 2 wurden vereinigt und wogen nach dem Trocknen 146.8 g.

40 g des Stoffs wurden mit 220 ccm Essigsäureanhydrid und 310 ccm Pyridin 8 Stdn. bei 40—45° acetyliert, die Reaktionslösung anschließend in 2.5 l Äther eingegossen, wobei eine Fällung auftrat, die von Äther nicht aufgenommen, aber von Chloroform mit grünbrauner Fluoreszenz gelöst wurde. Das Gewicht der Substanz betrug 16.5 g mit 45.2% C, 4.7% H, 11.05%  $\text{OCH}_3$ , 36.5% Essigsäure, 6.5% S und 4.2% Ca.

0.0346 g Sbst.: 0.0573 g  $\text{CO}_2$ , 0.0146 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.0477 g Sbst. verbr. 10.2 ccm  $n_{10}^{\text{I}}$ -Thiosulfat. — 0.1035 g Sbst. verbr. 3.15 ccm  $n_{10}^{\text{I}}$ -NaOH. — 0.0861 g Sbst.: 0.0407 g  $\text{BaSO}_4$ . — 0.1035 g Sbst.: 0.0149 g  $\text{CaSO}_4$ .

Mit dieser Substanz wurde eine Ligninbestimmung ausgeführt. Sie löste sich glatt in 72-proz. Schwefelsäure, auch bei längerem Stehenlassen trat keine Fällung ein. Nach dem Verdünnen mit Wasser blieb die Lösung klar.

Die ätherhaltige Reaktionslösung hinterließ nach dem Eindunsten unter vermindertem Druck einen Sirup, der mit Äther ausgekocht wurde.

Als unlöslich erwiesen sich 7.5 g, die aber glatt in Chloroform löslich waren und ähnliche Analysendaten wie die vorhergehende Substanz zeigten.

Der ätherlösliche Anteil betrug 42.4 g mit 71.8% Essigsäure und 2.1%  $\text{OCH}_3$ . Ca und S waren abwesend. Er stellte ein Gemisch von z. Tl. methoxylhaltigen Zuckeracetaten dar.

0.1537 g Sbst. verbr. 9.2 ccm  $n_{\text{D}}^{20}$ -NaOH. — 0.0670 g Sbst. verbr. 2.75 ccm  $n_{\text{D}}^{20}$ -Thiosulfat.

Bezogen auf die vereinigten Mutterlaugen M 1 und M 2 entsprach die Substanz etwa 74 g freiem Kohlenhydrat.

### Erste Aufarbeitung der Kohlenhydrate.

Zwecks Identifizierung der einzelnen Zucker wurden 28.5 g des Acetats mit 100 ccm *n*-Natriummethylat in der Kälte verseift, mit der auf Natrium berechneten Menge *n*-Schwefelsäure neutralisiert, durch Ausschütteln mit Chloroform von Spuren unverseifbarer Substanz befreit und nach dem Eindunsten unter vermindertem Druck mit Methanol ausgekocht, wobei das Natriumsulfat unlöslich zurückblieb. Aus der Methanollösung ließen sich 13.9 g acetylfreie Kohlenhydrate in sirupöser Form gewinnen. Nach mehrmaligen Abdunsten mit Wasser wurde eine Probe der Substanz der Methoxylbestimmung unterworfen. Es wurde ein Wert von 1.96%  $\text{OCH}_3$  gefunden.

0.0211 g Sbst. verbr. 0.8 ccm  $n_{\text{D}}^{20}$ -Thiosulfat.

Die qualitative Untersuchung der Substanz, welche zumeist nach der van der Haarschen Anleitung durchgeführt wurde, hatte folgendes Ergebnis:

Die Prüfung auf Pentosen nach Tollens zeitigte ein stark positives Ergebnis. Als der Phloroglucidniederschlag des entstandenen Furfurols nach Ellet und Tollens<sup>4)</sup> weiter behandelt wurde, zeigte es sich, daß Methylpentosen nicht anwesend waren. Nachdem eine Probe der Substanz in essigsaurer Lösung mit *p*-Brom-phenylhydrazin, das ein einigermaßen empfindliches Reagens auf *l*-Arabinose darstellt, umgesetzt wurde, fiel ein gut krystallisierendes Hydrazon aus, das sich aber nach seinem Schmp. von 206° als Mannosederivat erwies, während die entsprechende Verbindung der *l*-Arabinose bereits bei 167° schmelzen soll. *l*-Arabinose war also so nicht nachzuweisen, es muß aber gesagt werden, daß die Anwesenheit von viel Xylose sich erschwerend im Trennungsgang auswirkt.

Ketosen konnten nach den bekannten Bestimmungsmethoden nicht erkannt werden, so daß auf ihre Abwesenheit geschlossen werden muß. Desgleichen verlief die Prüfung auf Uronsäuren nach der Neubergschen Vorschrift<sup>5)</sup> negativ. An Hexosen konnte nur Mannose mit Sicherheit identifiziert werden. Das für Galaktose empfindliche Reagens *o*-Toluyldiazotat versagte vollkommen. Auch das charakteristische Galaktose- $\alpha$ -methylphenylhydrazon konnte nicht erhalten werden, es fiel statt dessen das entsprechende Mannosederivat aus. Die Prüfung auf *d*-Glucose gestaltete sich ebenfalls schwierig. Nach der teilweisen Entfernung der Mannose als Phenyl-

<sup>4)</sup> B. 38, 492 [1905].

<sup>5)</sup> Biochem. Ztschr. 36, 56 [1911].

hydrazon und Regenerierung der Zucker wurde versucht, mit *p*-Nitrophenylhydrazin ein Derivat zu erhalten. Es war jedoch nicht möglich. Dagegen verlief die Darstellung eines roten *p*-Nitro-phenylosazons, das den richtigen Schmp. von 251° zeigte, positiv.

Die quantitative Bestimmung der Pentosen nach Krüger-Tollens<sup>6)</sup> ergab bei einer Einwaage von 0.5718 g einen Phloroglucid-Niederschlag von 0.3217 g, der alkoholunlöslich war und 0.168 g Furfurol entsprach. Auf Xylose umgerechnet sind dies 0.302 g. Die Substanz enthält also 52.8% *d*-Xylose.

Eine Kontrollbestimmung zeigte bei einer Einwaage von 0.9070 g einen Phloroglucid-Niederschlag von 0.5001 g, das entspricht 53.0% Xylose. Man kann annehmen, daß die gesamte Furfurolmenge aus der Xylose entstanden ist, denn Methylpentosen scheiden aus, andere Pentosen sind nicht anzunehmen, und außerdem war das Ausgangsmaterial von Xylosekrystallen durchsetzt.

Die quantitative Bestimmung der Mannose wurde wie folgt durchgeführt: 7.42 g der Substanz ergaben bei der Umsetzung mit Phenylhydrazin nach 24 Stdn. 0.8503 g Hydrazon vom sofort richtigen Schmp. 199°, entsprechend 0.567 g Mannose oder 7.6% dieses Zuckers.

Im Filtrat wurden die übrigen Zucker mittels Benzaldehyds regeneriert<sup>7)</sup> und die Lösung durch Aktivkohle entfärbt. Zwecks Bestimmung der noch vorhandenen vergärbaren Hexosen wurden 3 aliquote Teile der Lösung im Lohnsteinschen Apparat angesetzt. Die Menge der vergärbaren Hexosen konnte im Mittel zu 10% festgestellt werden.

Da der Verdacht bestand, daß die Regenerierung der Zucker nach der Umsetzung mit Phenylhydrazin nicht ohne Verlust vor sich gegangen war, wurde die Originalsubstanz ebenfalls im Lohnsteinschen Apparat der Vergärung unterworfen. Die vorhandenen Hexosen wurden zu 16–17% bestimmt, der Wert steht also in Übereinstimmung mit dem ersten. Da nach 24 Stdn. die CO<sub>2</sub>-Menge kaum zugenommen hatte, kann dies ebenfalls als ein Beweis für die Abwesenheit von Galaktose angesehen werden. Ebenso ließ sich wie gesagt aus der Ausgangssubstanz mittels *o*-Toluyldiazins kein Derivat gewinnen.

Das gleiche Reagens reagierte ebenfalls nicht mit einem Teil der von Mannose befreiten Lösung. Als nun eine aliquote Menge dieser Lösung entsprechend 1.37 g Substanz mit  $\alpha$ -Methyl-phenylhydrazin umgesetzt wurde, fiel ein Hydrazon aus, das nach einmaligem Umkrystallisieren aus 30-proz. Alkohol einen Schmp. von 181° hatte und sich als Mannose- $\alpha$ -phenylhydrazon erwies. Die Fällung der Mannose mittels Phenylhydrazins war also nicht quantitativ verlaufen, und damit erhöht sich ihr Anteil an der Zuckersubstanz der Ablauge. Allerdings entspricht die Gesamtausbeute an Mannose nicht der durch Gärung ermittelten Gesamthexosemenge, so daß Glucose nicht ausgeschlossen werden kann, wenn auch ein exakter Nachweis nicht geglückt ist.

Die restlichen Zucker sind Träger des Methoxyls, ihre Untersuchung ist im Gange.

<sup>6)</sup> Tollens-Elsner, Kohlenhydrate [1935], S. 113.

<sup>7)</sup> A. Herzfeld, B. 28, 442 [1895].



### Auszug mit 80-proz. Methanol.

Bearbeitet von R. Konau.

Die nicht von Methanol aufgenommene Ablaugensubstanz wurde anschließend 6-mal mit je 1 l 80-proz. Methanol ausgekocht, der nicht gelöste Anteil dann 3-mal in der entsprechenden Menge Wasser heiß gelöst und mit Methanol gefällt. Die braunen Lösungen wurden getrennt eingedunstet, zeigten jedoch in den Analysendaten keine wesentlichen Unterschiede. Sie besaßen 5–6% Ca, 6.5–8% S und 11–13%  $\text{OCH}_3$ . Die Gesamtausbeute betrug 208.5 g.

98 g der festen, hellbraunen Substanz wurden im Achatmörser fein gepulvert und mit 690 ccm Pyridin und 490 ccm Essigsäureanhydrid unter kräftigem Rühren 8 Stdn. bei 45–50° acetyliert, vom Ungelösten abgesaugt und heiß mit Chloroform gewaschen. Es hinterblieben 62 g einer gelblich-braunen Substanz, die 43.0% C, 4.8% H, 11%  $\text{OCH}_3$ , 11.03% Essigsäure, 6.86% S und 5.9% Ca besaß.

0.0418 g Sbst.: 0.0668 g  $\text{CO}_2$ , 0.0180 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.0266 g Sbst. verbr. 5.65 ccm  $n_{10}$ -Thio-sulfat. — 0.1848 g Sbst. verbr. 1.7 ccm  $n_{16}$ -NaOH. — 0.0930 g Sbst.: 0.0465 g  $\text{BaSO}_4$ . — 0.1475 g Sbst.: 0.0296 g  $\text{CaSO}_4$ .

Fraktionierungsversuche verliefen erfolglos. Die chloroformhaltige Reaktionslösung wurde im Vak. eingedunstet, dann in 750 ccm Chloroform gelöst und unter kräftigem Rühren vorsichtig mit 2 l Äther versetzt, wobei ein lockerer, hellgelber Niederschlag im Gewicht von 44.3 g ausfiel. Er besaß 46.7% C, 4.6% H, 12.25%  $\text{OCH}_3$ , 30.4% Essigsäure, 5.95% S und 4.16% Ca.

0.0258 g Sbst.: 0.0411 g  $\text{CO}_2$ , 0.0106 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.0266 g Sbst. verbr. 6.3 ccm  $n_{10}$ -Thio-sulfat. — 0.1577 g Sbst. verbr. 4.0 ccm  $n_{16}$ -NaOH. — 0.0565 g Sbst.: 0.0245 g  $\text{BaSO}_4$ . — 0.1466 g Sbst.: 0.0207 g  $\text{CaSO}_4$ .

Er war sowohl in Chloroform als auch in Wasser löslich. Benzol, Aceton und Äthanol lösten einige Anteile heraus, eine klare Fraktionierung trat nicht ein, Zuckeracetate konnten auch bei einer Spaltung mit 4-proz. Schwefelsäure nicht isoliert werden.

Die Chloroform-Ätherlösung wurde eingedunstet und hinterließ 6 g einer ziemlich festen Substanz, die in der Wärme mit Äther behandelt wurde. Der Rückstand von 2 g konnte jetzt nach dem Aufnehmen in wenig Chloroform mit Äther gefällt werden und besaß ähnliche Analysendaten wie die obige Substanz. Die Ätherlösungen ergaben jetzt nach dem Verdampfen einen hellgelben Sirup, der fast frei von Calcium und Schwefel war, 54% Essigsäure und 5%  $\text{OCH}_3$  besaß, sich nach scharfem Trocknen aber nur noch unvollkommen in Äther löste. Es handelte sich unzweifelhaft um eine fast ligninfreie, aber stark methoxylhaltige Kohlenhydratverbindung. 49.7% C, 6.1% H.

0.1272 g Sbst. verbr. 5.7 ccm  $n_{16}$ -NaOH. — 0.0422 g Sbst. verbr. 3.85 ccm  $n_{10}$ -Thio-sulfat.

### Ultrafiltration.

Die restliche Ablaugensubstanz wurde in 10-proz. wäßriger Lösung ultrafiltriert. Es gelangte ein Ultrafeinfilter, das gegen Benzopurpurin dicht war, zur Anwendung. Die Filtration ging schnell vonstatten und war nach mehrmaliger Zugabe von Wasser bald beendet. Als nichtultrafiltrierbar erwiesen sich 28.7 g, die, in wenig Wasser gelöst, mit Methanol gefällt wurden. Die Substanz stellte ein festes, braunes Pulver dar. Die durchschnittlichen

Analysendaten waren 52% C, 4.7% H, 16%  $\text{OCH}_3$ , 5.1% S und 4% Ca. Eine geringe Verunreinigung mit anorganischen Calciumsalzen ist mitunter nicht vermeidbar.

Die Ultrafiltrate wurden eingengt und mit Methanol gefällt. Es konnten insgesamt 102.4 g eines hellbraunen Pulvers erhalten werden, das 41.7% C, 5.1% H, 10.5%  $\text{OCH}_3$ , 7.3% S und 8.5% Ca im Durchschnitt besaß. Die Methanollösung hinterließ noch 7 g Substanz, die sich als ein Gemisch von Calciumacetat und Calciumformiat erwies, daneben waren geringe Mengen ligninsulfonsaures Calcium anwesend.

#### Zweite Aufarbeitung der Buchenholzsulfitablauge.

Der Trockenrückstand von 2 l einer anderen Charge betrug nach dem Entfernen der flüchtigen Säuren und Neutralisieren mit Calciumcarbonat diesmal 310 g. Nach 6-maligem Auskochen mit je 1 l Methanol ging kaum noch etwas in Lösung. Der methanollösliche Anteil hatte ein Gewicht von 125 g, besaß 2.7% Ca, 4.12% S und nach dem öfteren Abdunsten mit Wasser, um eingeschlossenes Methanol zu entfernen, 7.2%  $\text{OCH}_3$ .

40 g der Substanz wurden mit 220 ccm Essigsäureanhydrid und 310 ccm Pyridin 6 Stdn. bei 45° acetyliert, wobei zunächst Lösung, dann aber Abscheidung einer gallertartigen Substanz eintrat. Nach dem Einengen auf leichte Sirupkonsistenz wurde mit 1 l Äther versetzt und die abgeschiedene braune Substanz im Gewicht von 16.6 g gut mit Äther nachgewaschen. Sie war in Chloroform und auch in Wasser löslich, zeigte ähnliche Daten wie das entsprechende Präparat der ersten Aufarbeitung. 8.9%  $\text{OCH}_3$ , 30.3% Essigsäure, 6.43% S und 2.9% Ca.

Die Ätherlösung wurde eingedunstet und der hinterbliebene Sirup mit Eiswasser versetzt, dabei konnte eine gelbbraune Substanz im Gewicht von 34.4 g als unlöslich isoliert werden. Sie war frei von Ca und S, ergab 70% Essigsäure und 2.38%  $\text{OCH}_3$ . Nach dem Lösen in Äther und Reinigen mit Aktivkohle krystallisierte beim Eindunsten eine rein weiße Substanz vom Schmp. 124—125° aus, die 50.0% C, 5.73% H, 1.4%  $\text{OCH}_3$  und 72.7% Essigsäure besaß.  $[\alpha]_D^{20}$ : —24.40. Es handelte sich um *d*-Xylose-tetraacetat, das geringe Mengen Methoxyl enthielt.

0.0357 g Sbst.: 0.0650 g  $\text{CO}_2$ , 0.0187 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.1635 g Sbst.: 0.0129 g AgJ. — 0.1591 g Sbst. verbr. 9.65 ccm  $n/8$ -NaOH.

Die Mutterlauge enthielt noch weitere Zuckeracetate. Die wäßrige Lösung hinterließ noch 19.7 g Substanz. Sie wurde nachacetyliert und der nach dem Eindunsten der Reaktionslösung unter vermindertem Druck verbliebene Sirup in Chloroform gelöst und mit Aktivkohle entfärbt. Dabei wurde die Beobachtung gemacht, daß ligninhaltige Verbindungen von der Aktivkohle absorbiert wurden, während aus dem Filtrat wiederum ein *d*-Xylose-tetraacetat mit 71.8% Essigsäure und 1.67%  $\text{OCH}_3$  auskrystallisierte.

0.1191 g Sbst. verbr. 0.0151 g AgJ. — 0.1137 g Sbst. verbr. 6.80 ccm  $n/8$ -NaOH.

Die Trockensubstanz der Ablauge wurde anschließend 5-mal mit je 1 l 80-proz. Methanol ausgekocht, der insgesamt 81.5 g Substanz mit 5.8% Ca, 6.4% S und 8.6%  $\text{OCH}_3$  aufnahm. Durch Acetylierung konnten keine freien Zuckeracetate aus der Substanz isoliert werden. Unter schärferen Bedingungen bei 70—100° bildete sich Calciumacetat, die freigewordene Sulfonsäuregruppe

des Lignins reagierte mit dem Pyridin, wobei teilweise Lösung der Substanz eintrat.

Zwecks Spaltung wurden 12 g des Präparates mit 100 ccm Essigsäureanhydrid, 20 ccm Eisessig und 10 ccm Schwefelsäure 20 Stdn. bei 45—50° gerührt, anschließend mit Chloroform gefällt, das Filtrat durch vorsichtigen Wasserzusatz von der Mineralsäure befreit, die essigsäurehaltige Chloroformlösung eingedunstet und mit Äther ausgekocht, wobei bis auf 0.08 g alles in Lösung ging. Aus der Ätherlösung konnten 2.4 g eines hellen Sirups isoliert werden, der nach längerem Stehenlassen Ansätze von Krystallen zeigte, 68.8% Essigsäure und 2.34%  $\text{OCH}_3$  ergab, frei von S und Ca war, nach dem Verseifen Fehlingsche Lösung stark reduzierte, also unzweifelhaft ein teilweise methyliertes Kohlenhydrat darstellte.

0.2276 g Sbst. verbr. 13.01 ccm  $n/5$ -NaOH. — 0.1187 g Sbst.: 0.0210 g AgJ.

Die Fällung mit Chloroform enthielt den größten Teil des Lignins, das, wie die weitere Aufarbeitung zeigte, noch bedeutend höher sulfoniert worden war. Auf eine Isolierung mußte verzichtet werden, da die beigemengte Sulfoessigsäure außerordentlich störend war.

Die Ablaugensubstanz gelangte dann weiter in 10-proz. wäßriger Lösung zur Ultrafiltration, und zwar durch ein Ultrafeinfilter, das feinporiger als im ersten Ansatz beschrieben war. Es wurde ein nichtultrafiltrierbarer Anteil von 31.7 g erhalten, der im Mittel 51.9% C, 5.36% H, 16.45%  $\text{OCH}_3$ , 5.14% S und 3.6% Ca hatte.

0.0312 g Sbst.: 0.0593 g  $\text{CO}_2$ , 0.0132 g  $\text{H}_2\text{O}$ . — 0.2092 g Sbst.: 0.2604 g AgJ. — 0.1436 g Sbst.: 0.0537 g  $\text{BaSO}_4$ . — 0.1524 g Sbst.: 0.0188 g  $\text{CaSO}_4$ .

Das Ultrafiltrat enthielt 73.2 g einer festen, braunen Substanz mit ähnlichen Daten wie im ersten Ansatz beschrieben. Eine Acetylierung zeigte, daß keine freien Zucker vorhanden waren. Chloroformlösliche Anteile ließen sich nur in Spuren isolieren. Eine Spaltung mit 8-proz. Schwefelsäure verlief negativ. Als hingegen 12 g der Substanz mit 100 ccm Essigsäureanhydrid, 20 ccm Eisessig und 10 ccm Schwefelsäure 2 Tage bei 45° gerührt wurden, zeigte es sich, daß 3.03 g ätherlösliche Zuckeracetate mit 70.0% Essigsäure und 1.98%  $\text{OCH}_3$  entstanden waren, die weder Ca noch S hatten. Der Ligninanteil war höher sulfoniert worden.

0.1423 g Sbst. verbr. 8.3 ccm  $n/5$ -NaOH. — 0.1470 g Sbst.: 0.0221 g AgJ.

Zur Ligninbestimmung wurden 1.3 g des Ultrafiltrats mit 80 ccm 72-proz. Schwefelsäure 24 Stdn. bei Raumtemperatur geschüttelt, wobei klare Lösung eintrat. Nach dem Eingießen in  $1\frac{1}{2}$  l Wasser trat auch nach längerem Erhitzen keine Fällung ein, die Lösung blieb klar.

#### Ligninbestimmung des Nichtultrafiltrierbaren.

1.5499 g der Substanz wurden in 26 ccm Wasser gelöst und vorsichtig mit 39.2 ccm konz. Schwefelsäure versetzt, wobei keine Fällung eintrat. Nach 12-stdg. Schütteln bei Raumtemperatur wurde in  $1\frac{1}{2}$  l Wasser gegossen, wobei eine opaleszierende Lösung entstand, die nach einiger Zeit feste Teilchen abschied. Zwecks Ausflockung wurde 3—4 Stdn. auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Absitzenlassen wurde durch ein Hartfilter filtriert, die zurückgehaltene Substanz war jedoch kaum wägbar.