

Ein Blick auf die erhobenen Befunde zeigt, daß weder das Eiweiß des primären Tumors, noch das der Metastasen *d*-Glutaminsäure enthielt. Hierzu ist zu bemerken, daß wir verschiedentlich bei der Hydrolyse von Tumoreiweiß in Bestätigung der Befunde von Kögl und Erxleben *d*, *l*-Glutaminsäure nachweisen konnten, jedoch blieb die Ausbeute an dieser ganz erheblich hinter der der genannten Forscher zurück. Für die Beantwortung der Frage, ob die von Kögl entwickelten Anschauungen bezüglich der biologischen Sonderstellung der Carcinomzelle zutreffend sind, ist entscheidend, daß es ohne Zweifel Carcinome und auch andere Tumoren gibt, die keine *d*-Glutaminsäure enthalten. Schon ein einzelner Fall dieser Art genügt, um darzutun, daß zum Wesen der Bösartigkeit der Carcinomzelle nicht eine *d*-Konfiguration des in ihr enthaltenen Eiweißes gehört. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß kürzlich Th. Wieland<sup>3)</sup> unter Anwendung einer anderen Methode (Verwendung der sauren  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Säule zur Adsorption der Aminodicarbonsäuren) ebenfalls keine *d*-Glutaminsäure nachweisen konnte. Er hydrolysierte Proteine von 5 Impftumoren verschiedener Tierarten.

**248. Kurt Hess und Karl E. Heumann: Über Feinstvermahlung verholzter Zellwände und die Reaktionsfähigkeit des Lignins mit Hydrazin.**

[Aus d. Forschungsinstitut Hess im Kaiser Wilhelm-Institut für Chemie, Berlin-Dahlem.]  
(Eingegangen am 16. November 1942.)

1) Einleitung.

Trotz vielseitiger Bemühungen, den Ligninkomplex aus dem Zellwandverband schonend und vollständig abzutrennen, ist kein Verfahren bekanntgeworden, bei dem der teilweise oder vollständige Verlust von funktionellen Gruppen ausgeschlossen wäre, die für das ursprünglich vorhandene Lignin typisch sind. Entsprechend muß bei den bisher verwendeten Ligninpräparaten mit der Möglichkeit einer Bildung von Atomgruppierungen durch Wirkung der Aufschlußmittel gerechnet werden, die den natürlichen Zustand des Lignins in der Wand nicht mehr wiedergeben. Von Darstellungsverfahren, bei denen auf diese Unsicherheit mit größerem Erfolge als bisher Rücksicht genommen wird, muß eine entscheidende Förderung der Erkenntnis der chemischen Konstitution des Lignins erwartet werden.

Für einen neuen Weg zur Abtrennung von Lignin, über den im folgenden berichtet wird, waren folgende Behauptungen richtungweisend:

a) Der gegenüber den isolierten Präparaten reaktionsfähiger Zustand des Lignins *in vivo* ist durch die Anwesenheit reaktionsfähiger Gruppen (Aldehyd-, Keto- oder OH-Gruppen) bedingt, die im Verlaufe der bisher üblichen Isolierungsverfahren (Einwirkung von Säuren oder Alkalien niedriger oder höherer Konzentration) teilweise oder ganz abreagieren und zu Präparaten führen, die sich in Konstitution und Eigenschaften nicht graduell, sondern grundsätzlich vom ursprünglichen Lignin unterscheiden.

b) Das ursprüngliche Lignin ist infolge der natürlichen Wandentwicklung von Cellulose und den begleitenden Kohlenhydraten umschlossen, so daß eine Auflockerung notwendig ist, um es in Lösung zu bringen.

<sup>3)</sup> B. 75, 1001 [1942].

Dementsprechend wurden folgende Grundsätze befolgt:

1) Weitgehende Zertrümmerung des Zellwandverbandes durch Wahl einer geeigneten Zerkleinerungsmethode, um die Zugänglichkeit des Lignins für Reagens und Lösungsmittel günstig zu gestalten.

2) Heranziehung von Reagenzien zur Extraktion des Lignins möglichst solcher Art, daß die bei der Zertrümmerung erhaltenen Gewebestücke aufgequollen und dadurch aufgelockert werden und andererseits die im Lignin vorkommenden reaktionsfähigen Gruppen durch Kondensation blockiert werden, um das Ligninmolekül vor Selbstkondensation zu schützen.

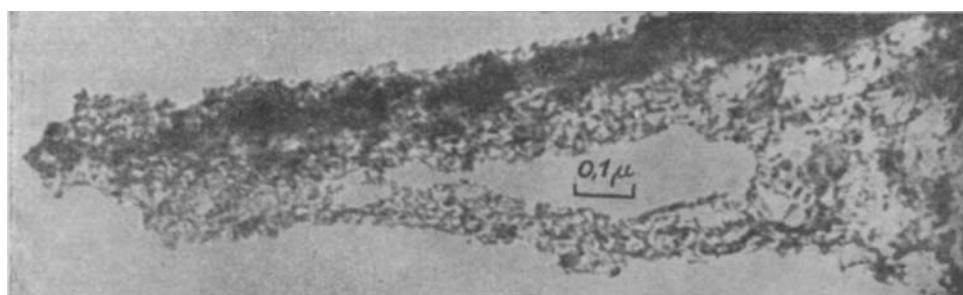
3) Vermeidung von Säuren und Ätzalkalien sowie von erhöhter Temperatur und oxydierender Wirkung.

In der Anwendung der Schwingmühle als wirksames Gerät für die Zertrümmerung der Zellwand<sup>1)</sup> und in der Verwendung von Hydrazin als Quellmittel für Cellulose und gleichzeitig als Kondensationsmittel für eine bisher unerkannte reaktionsfähige Carbonylgruppe im natürlichen Lignin ist der neue Weg gekennzeichnet. Er führt zu Ligninpräparaten, die nach Löslichkeit und Reaktionsvermögen dem Lignin in der Zellwand näher zu stehen scheinen als die bisher bekannten Präparate, die ohne Rücksicht auf die genannten Grundsätze gewonnen wurden und denen bisher in erster Linie die Bemühungen um die Aufklärung der Ligninkonstitution galten.

Die im folgenden beschriebenen Versuche beziehen sich hauptsächlich auf Winterroggenstroh. Über die vergleichsweise herangezogenen Ergebnisse an Buchen- und Fichtenholz wird ausführlich in späteren Mitteilungen berichtet.

## 2) Zerkleinerung in der Schwingmühle.

Durch 24-stdg. Behandlung des in Form von Häcksel vorgegebenen Winterroggenstrohs in einer Porzellan-Schwingmühle (Laboratoriumsmodell „Vibratom“ der Siebtechnik G. m. b. H., Mülheim a. d. Ruhr [1420 Umdrehungen/Min., Schwingkreisradius 1.75 mm, Porzellankugeln von 11 mm Durchmesser]) wird ein Zerkleinerungszustand erreicht, der für eine nach-



Abbild. 1. Elektronenoptische Aufnahme von schwinggemahlenem Stroh (24 Std.) (Vergr. 70000:1)\*.

\*) Die Aufnahme ist von Hrn. J. Gundermann mit dem Siemens Übermikroskop im physik. Laborat. d. I. G. Farbenindustrie A.-G., Frankfurt a. M.—Höchst, durchgeführt worden.

<sup>1)</sup> K. Hess, K. Ph. Jung u. K. E. Heumann, Naturwiss. 27, 770 [1939].

folgende vollständige Extraktion des Lignins geeignet ist. Teilchengröße etwa 1  $\mu$  und kleiner. Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, daß die Teilchen sehr weitgehend aufgelockert sind; man erkennt in den flachen Bruchstücken (Abbild. 1) eine äußerst feinkörnige Struktur, bei der runde und längliche Gebilde in der Größenordnung 50 bis 100 Å verhältnismäßig scharf durch größere Zwischenräume abgegrenzt sind<sup>1a)</sup>). Über den Einfluß des Mahlgrades auf den Erfolg der Extraktion vergl. S. 1805.

### 3) Aminobasen als Extraktionsmittel für Lignin.

Aus älteren Untersuchungen von F. R. Dehnert und W. König<sup>1b)</sup> sind die quellenden Eigenschaften quartärer Aminoniumbasen, wie Tetramethylammoniumhydroxyd und Guanidoniumhydroxyd für Cellulose bekannt. K. Hess und C. Trogus<sup>2)</sup> haben in Hydrazin und den homologen Alkylen-diaminen eine Gruppe von Basen aufgefunden, die mit Cellulose unter Bildung von charakteristischen Doppelverbindungen reagieren und für die daher ebenfalls eine auflöckernde Wirkung für das Zellwandgewebe zu erwarten war. Schließlich kam auf Grund der Untersuchungen von K. Hess und J. Gundermann<sup>3)</sup> flüssiges NH<sub>3</sub> für eine günstige Beeinflussung der Ligninabtrennung in Frage, das ebenfalls mit Cellulose zu charakteristischen Doppelverbindungen zusammentritt.

Extraktionsversuche in der Schwingmühle: 10 g 24 Stdn. in der Schwingmühle trocken zerkleinertes Winterroggenstroh wurden mit 100 g einer wäßrigen Lösung der in Tafel 1 angegebenen Basen 15 Stdn. in der Schwingmühle und nach Zugabe von 250 ccm Äthanol zur Extraktion des

Tafel 1.

Vorversuche zur Extraktion von Lignin aus Stroh durch wäßr. Aminobasen und Alkohol bei jeweils nur einmaliger Extraktion.

Nr.	Base	Basenkonzentration*) in Gew.-% vor Alkoholzugabe	% Ausbeute	% OCH <sub>3</sub>	% N
1	Hydrazinhydrat .....	64	13.5	13—14	7.1
2	Äthylendiamin .....	77.5	18	7—9	8.8
3	Monoäthanolamin .....	64	9	8—9	—
4	Diäthylaminoalkohol .....	64	7	7—9	3.3
5	Triäthanolamin .....	64	7	—	—
6	Tetramethylammoniumhydroxyd .....	13.8	10	11—12	1.8
7	Guanidiniumhydroxyd .....	34	10	11—12	16.5
8	Pyridin .....	64	sehr wenig	—	—

\*) Die gewählte Konzentration entspricht soweit bekannt der für Verbindungsbildung mit Cellulose optimalen Konzentration.

<sup>1a)</sup> Vergl. K. Hess, H. Kiessig u. J. Gundermann, *Ztschr. physik. Chem. [B]* **49**, 67 [1941]; W. Wergin, *Kolloid-Ztschr.* **98**, 133 [1942].

<sup>1b)</sup> *Cellulosechem.* **6**, 1 [1925].

<sup>2)</sup> *Ztschr. physik. Chem. [B]* **14**, 387 [1931]; C. Trogus, *Ztschr. physik. Chem. [B]* **22**, 134 [1933].

<sup>3)</sup> B. **70**, 1788 [1937].

Lignins weitere 9 Stdn. behandelt. Nach der Reaktion wurde zentrifugiert und mit 80-proz. Äthanol bzw. mit dem bei dem nachfolgenden Eindunsten der Lignin-Lösungen erhaltenen Destillat erschöpfend gewaschen. Die gelben bis rötlichbraunen Lösungen hinterließen beim Eindunsten (siedendes Wasserbad, 16 mm) einen gelbbraunen klaren Sirup, der je nach Flüchtigkeit mehr oder weniger von der verwendeten Base zurückhielt. Bei den Versuchen Nr. 1 bis 5 wurde zur möglichsten Entfernung der Base der Rückstand im Sublimationsgefäß nach Hess und Neumann<sup>4)</sup> (Hochvakuum) bis zur Gewichtskonstanz behandelt. Wenn auch bei dieser gegenüber der unten mitgeteilten einfacheren Arbeitsweise mitunter noch geringe Reste der freien Basen zurückgehalten werden, so genügte diese Art der Ausbeutebestimmungen doch für den gewünschten Überblick.

Bei Versuch 6 der Tafel 1 wurde der nach dem Abdunsten von Alkohol und Wasser auf dem Wasserbad erhaltene Rückstand mit 80-proz. Äthanol aufgenommen, mit so viel Wasser verdünnt, daß eine 50-proz. alkohol.-wässr. Lösung vorlag und im Dreizellenapparat gegen Wasser elektrodialysiert. Dabei schied sich das Lignin, soweit es nicht schon beim Verdünnen mit Wasser ausgefallen war, an der Anode ab. Bei Versuch 7 der Tafel 1 wurde zur Entfernung der überschüssigen Base der nach dem Abdunsten von Alkohol und Wasser erhaltene Rückstand mit verd. Essigsäure neutralisiert, wobei die Hauptmenge an Lignin ausfiel, die abfiltriert und mit Wasser gewaschen wurde.

Die gewonnenen Präparate bestehen, wie die unten beschriebene Fraktionierung zeigt, im wesentlichen aus Lignin; die Präparate sind stark OCH<sub>3</sub>-haltig, geben Rotfärbung mit Phloroglucin-Salzsäure, lösen sich vollständig in 80-proz. Äthanol und zeigen die für Lignin charakteristische UV-Absorption.

Mit Ausnahme der mit Dimethylaminoalkohol und Tetramethylammoniumhydroxyd<sup>5)</sup> erhaltenen zeigen die Ligninpräparate hohe Stickstoffgehalte entsprechend einer Bindung der Basen durch reaktionsfähige Gruppen des Lignins. Die Reaktion wurde zunächst für Hydrazin eingehender untersucht.

Zum Vergleich mit der Wirkung, insbesondere des Hydrazins, wurden Extraktionen des schwunggemahlenen Strohs mit 80-proz. Alkohol ohne Hydrazin durchgeführt und festgestellt, daß dabei durch erschöpfende Behandlung bis zu 4% des Strohs in Lösung gehen. UV-Absorption, Methoxylgehalt, Rotfärbung mit Phloroglucin-Salzsäure, Molekulargewicht zwischen 2000 und 3000 zeigen, daß es sich in diesem Extrakt um Lignin handelt. Das Präparat geht bei der Behandlung mit Hydrazin in Hydrazin-Lignin über.

#### 4) Isolierung von Strohlignin durch Hydrazinhydrat-Äthanol.

Einfluß des Mahlgrades: In Tafel 2 ist der Erfolg der Hydrazin-Alkohol-Behandlung für unvermahlenes Häcksel und für in der Kreuzschlagmühle zerkleinertes Häcksel mit dem bei 8- und 24-stdg. Mahldauer in der Schwungmühle trocken gemahlenen Stroh verglichen. Bei den Versuchen Nr. 1 und 2 wurde die Einwirkung von Hydrazin-Wasser sowie die Extraktion nach

<sup>4)</sup> B. **70**, 721 [1937].

<sup>5)</sup> Am Stickstoffgehalt der mit diesen Basen gewonnenen Ligninpräparate sind kleine Mengen zurückgehaltener Base und stickstoffhaltige Substanzen aus dem Stroh beteiligt.

Tafel 2.

Abhängigkeit der Ligninausbeute vom Zerkleinerungsgrad des Strohs und von der Mahldauer bei jeweils nur einmaliger Extraktion mit 64-proz. Hydrazin.

Nr.	Zerkleinert in	Ligninausb. in %	% OCH <sub>3</sub>	% N
1	(Gehäckselt) .....	4.2	13.9	5.72
2	Kreuzschlagmühle .....	7.3	14.0	6.65
3	Schwingmühle 8 Stdn. ....	10.6	13.8	6.54
4	Schwingmühle 24 Stdn. ....	13.5	14.1	6-7

Zugabe von Äthanol ohne Verwendung einer Schwingmühle durch Schütteln auf der Maschine durchgeführt. Aus den Versuchen geht hervor, daß auch schon aus unzerkleinertem Häcksel bzw. durch Grobzerkleinerung in der Kreuzschlagmühle eine beachtliche Menge Lignin extrahiert werden kann. Nach Wiederholung der Extraktion lassen sich aus dem unzerkleinerten Strohhäcksel noch 0.8% Lignin herauslösen (bei Versuch Nr. 2 1.4%), so daß bei diesen Zerkleinerungsgraden praktisch bald eine Erschöpfung der Extraktion erfolgt. Erst durch die Schwingmahlung wird das gesamte Lignin im Stroh so aufgelockert, daß es mit wenigen Extraktionen praktisch vollständig von Hydrazin-Alkohol aufgenommen wird.

#### Vervollständigung der Hydrazin-Alkohol-Extraktion durch Wiederholung.

Die Extraktion von 24 Stdn. schwinggemahlenem Winterroggenstroh wurde mit 25- sowie 64-proz. Hydrazin bis zur praktischen Erschöpfung wiederholt und die Ligninabnahme des Strohs durch Ligninbestimmung des schließlich gewonnenen Celluloserückstands nach der Methode von O. M. Halse<sup>6)</sup>

Tafel 3.

Verlauf der Extraktion von Lignin aus Winterroggenstroh bei mehrmaliger Wiederholung nach Schwingmahlung durch Hydrazin-Alkohol.

Präparat	Ligninausb. in %		Ligninausb. nach O. M. Halse		% OCH <sub>3</sub> *)	
	Hydrazin- gehalt 25 %	Hydrazin- gehalt 64 %	19.8 **)	19.3 †)	14.3	14.3
Ausgangsstoff						
Extrakt 1 .....	13.5	13.6			14.1	14.0
Extrakt 2 .....	3.3	4.1			13.8	14.0
Extrakt 3 .....	1.2	0.8			13.5	13.7
Gesamtextrakt .....	18.0	18.5				
Extrahiertes Stroh- pulver .....	...	...	2.2	0 ††)	12.4	..

\*) Auf aschefreie trockne Substanz bezogen.

\*\*) Nach Entfernung unzerkleinerter Knoten aus dem Mahlgut.

†) Unzerkleinertes Strohhäcksel einschließlich Knoten.

††) Unwägbarer geringer Rückstand.

kontrolliert. Der Verlauf der beiden Versuche geht aus Tafel 3 hervor, wonach bereits nach der 3. Extraktion nur noch so kleine Mengen Lignin abgeführt werden, daß sich eine weitere Wiederholung der Extraktion, namentlich für präparative Zwecke, nicht mehr lohnt.

In den in Tafel 3 bei der Aufarbeitung erfaßten Ligninmengen sind kleinere Anteile (etwa 0.5—0.6%) nicht mit enthalten, die bei der Ausfällung des Lignins aus der Hydrazin-Lösung in Lösung verbleiben (vergl. S. 1808). Da diese gemäß ihrem  $\text{OCH}_3$ -Gehalt und sonstigen Eigenschaften durchaus noch zum Ligninkomplex gehören, ergibt sich ein Ligninextrakt aus dem Stroh von insgesamt 18.6 bzw. 19.1% Lignin gegenüber 19.8% Lignin im Stroh nach der Bestimmung von O. M. Halse, so daß in dem Hydrazin-Verfahren eine Methode zur Verfügung steht, nach der ohne Anwendung von Säure praktisch das gesamte Lignin des Strohs durch Extraktion bei Raumtemperatur in Form von einem in 80-proz. Alkohol leicht löslichen Derivat gewonnen werden kann.

Einfluß der Hydrazin-Konzentration: In Tafel 4 ist die Ligninausbeute in Abhängigkeit von der Hydrazin-Konzentration bei 8-, 16-, 24- und 36-stdg. Reaktionsdauer angegeben, wobei im übrigen die oben wieder-

Tafel 4.

Ligninausbeute in % Stroh (trocken und aschefrei) in Abhängigkeit von der Hydrazin-Konzentration bei verschiedener Reaktionsdauer; jeweils nur einmalige Extraktion.

Einwirkungs- dauer des Hydrazins	Hydrazin in %				
	64	32	25	20	16
8 Stdn. ....	10.6	10.6	10.2	—	8.8
16 Stdn. ....	—	—	12.6	—	—
24 Stdn. ....	13.5	13.3	13.3	12.4	11.2
36 Stdn. ....	—	—	13.4	—	—

gegebenen Bedingungen (nur 1-malige Behandlung gegenüber 2-maliger Wiederholung bei erschöpfernder Extraktion) eingehalten wurden. Es geht daraus hervor, daß zur Erzielung einer optimalen Ausbeute die für die vollständige Umsetzung von Cellulose mit Hydrazin notwendige Hydrazinkonzentration von 64% nicht erforderlich ist, sondern daß eine wesentlich tiefere Konzentration hierfür genügt. Die präparative Darstellung des Hydrazin-Lignins wurde daher mit 25-proz. Hydrazin durchgeführt.

Die Geschwindigkeit der Kondensation des Hydrazins mit dem Lignin erscheint im Vergleich mit der Bildung von Hydrazonen und Azinen bei einfachen Aldehyden und Ketonen groß, deren vollständige Umsetzung meist erst bei höherer Temperatur erfolgt.

Es wurde festgestellt, daß bei der Umsetzung des schwinggemahlenen Strohes mit Hydrazin eine fortgesetzte Behandlung in der Schwingmühle grundsätzlich nicht erforderlich ist. Diese begünstigt lediglich die Durchmischung von Strohpulver mit dem Reagens, die ebenso in anderer Weise vorgenommen werden kann. Bleibt das Zellwandpulver nach kurzer Durchmischung mit der wässr. Hydrazin-Lösung ( $\frac{1}{2}$ -stdg. Behandlung in der Mühle) der Wirkung des Reagens ohne weitere Schwingmahlung eine gleichlange

Zeit nach Zusatz von Alkohol ausgesetzt, so gehen ähnlich große Mengen des Lignin-Derivats in Lösung wie im Falle der ununterbrochenen Behandlung in der Schwingmühle (Ausb. bei ununterbrochener Behandlung 13.3% des trocknen Strohs gegenüber 12.0% Lignin bei Hydrazin-Einwirkung ohne Schwingmahlung).

**Präparative Darstellung:** Bei Verwendung der Schwingmühle (Porzellangefäß mit freiem Schwingvolumen von etwa 400 ccm, 1040 g Porzellankugeln) lassen sich maximal 10 g Stroh auf einmal verarbeiten. Nach 24-stdg. Trockenmahlen des Stroh-Häcksels wird von den Knoten (etwa 6—7%) abgesiebt und nach Versetzen mit 25 g Hydrazinhydrat und 75 g Wasser in der Schwingmühle 15 Stdn. weiterbehandelt. Der nach dieser Behandlung homogen durchgemischte Brei wird zur Auflösung des Hydrazin-Lignins mit 200 ccm Äthanol weitere 9 Stdn. in der Schwingmühle behandelt. Die Reaktionsmasse wird zur Abtrennung von den Porzellankugeln zweckmäßig auf einer weitporigen Porzellannutsche möglichst weit abtropfen gelassen und mit etwa 200 ccm Äthanol sauber abgewaschen. Die olivfarbige Suspension wird zentrifugiert, wobei eine tief goldgelbe klare Lösung erhalten wird. Die Lösung wird auf dem siedenden Wasserbad im Vak. auf  $\frac{1}{3}$  ihres Volumens konzentriert und mit dem Destillat der sedimentierte Rückstand auf der Zentrifuge weitergewaschen. Im allgemeinen genügt einmaliges Nachzentrifugieren. Zur Vervollständigung der Extraktion wird der alkoholfeuchte Zentrifugenrückstand noch einmal wie oben mit Hydrazin behandelt.

Die vereinigten, auf dem Wasserbad im Vak. zur Wiedergewinnung des überschüssigen Hydrazins möglichst weit eingedunsteten Rückstände werden in etwa 50 ccm 80-proz. Alkohol unter gelindem Erwärmen aufgenommen und der Hauptanteil Lignin durch Eingießen in die 10-fache Menge gleicher Teile Alkohol und Äther ausgefällt, wobei das Lignin in Form von gelben Flocken erscheint. Das auf einer Glasfritte gesammelte Lignin wird bei Raumtemperatur über  $\text{H}_2\text{SO}_4$  getrocknet und stellt ein lockeres helles Pulver dar (Ausbeute 1.35 g, d. i. 13.5% des trocknen und aschefreien Strohs).

Bei der präparativen Gewinnung kann man auf eine Wiederholung der Extraktion zunächst verzichten, da sich herausgestellt hat, daß sich die Zusammensetzung ( $\text{OCH}_3$ -Gehalt) der Extrakte bei Wiederholung der Extraktion praktisch nicht ändert; man erfaßt bei nicht vollständiger Extraktion die verschiedenen hoch methylierten Ligninkomponenten im etwa gleichen Mischungsverhältnis wie bei vollständiger Extraktion.

In der Mutterlauge der Ligninfällung verbleibt ein stark gelbgefärbter Stoff, der sich in absol. Alkohol mit gelber Farbe auflöst. Er wird durch Eindunsten der Mutterlauge und Entfernen der noch anhaftenden Hydrazinanteile im Hochvak. in Form einer pastigen hygroskopischen Masse gewonnen. Ausbeute 0.6% des getrockneten Strohs.  $\text{OCH}_3$ -Gehalt etwa 8—9%. Wesentliche Anteile dieses Präparats lassen sich auch aus der Mutterlauge der Ligninfällung durch Zusatz einer größeren Menge Äther (etwa doppeltes Volumen) gewinnen.

### 5) Eigenschaften des Hydrazin-Lignins.

Die gewonnenen Präparate stellen Mischungen verschieden hoch methylierter Ligninkörper dar. Die Durchschnittszusammensetzung beträgt 51.8% C, 5.6% H, 6.1% N entsprechend einer Bruttoformel  $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_6\text{N}$ . Der Methoxyl-

gehalt liegt bei 13.5—14%, der Gehalt an freien OH-Gruppen (Verley-Bölsing) bei etwa 13%.

Nach E. Häggglund und F. W. Klingstedt<sup>7)</sup> liegt ein für Ligninpräparate charakteristisches Maximum der optischen Absorption bei  $\lambda = 2820$ — $2740$  Å. Die in Abbild. 2 für Hydrazin-Lignin (unfraktioniertes

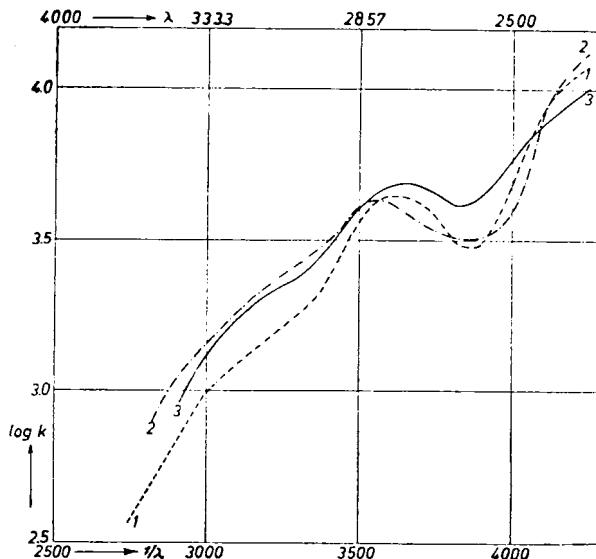


Abbildung 2. Absorptionskurven: Hydrazin-Lignin<sup>7)</sup> aus Winterroggenstroh, Kurve 1, Lignin aus Fichte (Häggglund, Methanolyse), Kurve 2, methyliertes Hydrazin-Lignin (Dimethylsulfat-Alkali), Kurve 3.

Gesamtliginin) wiedergegebene Absorptionskurve (Kurve 1) zeigt das charakteristische Absorptionsmaximum bei  $\lambda = 2740$  Å. Bei der zum Vergleich herangezogenen Absorptionskurve für ein von Häggglund und Klingstedt aus Fichte durch Methanolyse erhaltenes Ligninpräparat („Methyl-Lignin“, Kurve 3) liegt das Maximum bei 2820 Å. Für die Berechnung des Extinktionskoeffizienten wurde ein Grundmolekulargewicht von  $M = 227$  entsprechend der angegebenen Zusammensetzung des Hydrazin-Lignins zugrunde gelegt<sup>8)</sup>.

In Wasser sind die Präparate unlöslich. Leicht lösen sie sich in 80-proz. Äthanol und in Pyridin. In absol. Alkohol und Dioxan lösen sich etwa 15%. In verd. Alkalien sind die Präparate sehr leicht löslich. Die Lösungen des Lignin-Derivates sind optisch inaktiv. Die Bestimmung des osmotischen Drucks von Lösungen in 80-proz. Alkohol führt zu Werten, die ein mittleres Mol.-Gew. von 2000—3000 errechnen lassen.

**Fraktionierung:** Auf Grund der teilweisen Löslichkeit in Dioxan bzw. absol. Alkohol ist eine Fraktionierung durchführbar, die zu Komponenten

<sup>7)</sup> Ztschr. physik. Chem. [A] **152**, 295 [1931].

<sup>8)</sup> Die Untersuchung wurde von Hrn. E. Steurer durchgeführt, der im Zusammenhang mit weiteren Messungen an Ligninkörpern und deren Abbauprodukten a. a. O. berichten wird.

verschieden hohen Methylierungsgrades führt. Das Präparat wird mit der 10-fachen Menge einer Mischung von reinem Dioxan und absolutem Alkohol (1:1) etwa 15 Min. bei 50—60° (nicht höher, da das Lignin sonst unter Erweichen zusammenballt) behandelt. Nach dem Abfiltrieren und Auswaschen des Rückstands mit Äther wird die gelbe Lösung durch Eingießen in überschüssigen Äther gefällt, abfiltriert, gründlich mit Äther nachgewaschen und im Exsiccator getrocknet; 15% Ausb.; 16.4%  $\text{OCH}_3$ . Die Ausbeute läßt sich durch Wiederholung der Extraktion noch etwas erhöhen. Durch Extraktion dieses Präparats mit nur Dioxan, zunächst wieder in der Wärme bei 60° und nachfolgend mit Dioxan bei Raumtemperatur unter kräftigem Schütteln in fein verteiltem Zustand, lassen sich Spitzenfraktionen in Höhe von 10% des Rohlignins mit Methoxylgehalten bis zu 19% erzielen (etwa  $1\frac{1}{2}$   $\text{OCH}_3$  je Phenylpropan-Gruppe).

Neben dieser methoxylreichen Fraktion heben sich bei der weiteren Fraktionierung des Rückstands der Dioxan-Alkohol-Extraktion mit 80- bis 60-proz. Alkohol noch zwei Methylierungsstufen ab, von denen die eine 14—15% (1  $\text{OCH}_3$  je Phenylpropangruppe), die andere 7—8%  $\text{OCH}_3$  (1  $\text{OCH}_3$  je 2 Phenylpropangruppen) aufweist.

**Methylierung mit Diazomethan:** Mit Diazomethan nehmen die beschriebenen Ligninfraktionen unabhängig von dem ursprünglich vorhandenen  $\text{OCH}_3$ -Gehalt einen konstanten Betrag von etwa 4—5%  $\text{OCH}_3$  auf, der sich auch bei wiederholter Einwirkung von Diazomethan nicht mehr steigert. Daraus geht hervor, daß bei den drei ursprünglich vorhandenen Methylierungsstufen der gleiche Anteil phenolischen durch Diazomethan methylierbaren Hydroxyls vorhanden ist.

**Methylierung mit Dimethylsulfat-Alkali:** Mit diesem Reagens erreicht der  $\text{OCH}_3$ -Gehalt aller Ligninfraktionen unabhängig vom  $\text{OCH}_3$ -Gehalt der Fraktion leicht 32—33%  $\text{OCH}_3$ .

Zu einer Suspension von 10 g Hydrazin-Lignin werden 50 ccm Dimethylsulfat und 100 ccm 30-proz. Natronlauge in Anteilen von  $2\frac{1}{2}$  bzw. 5 ccm unter starkem Rühren bei Raumtemperatur in Abständen von 15 Min. zugegeben. Nach Zugabe etwa der Hälfte des Reagens wird das Lignin in der Acetonschicht löslich. Nach der Reaktion wird Aceton im Vak. abgedunstet, der Rückstand mit Benzol extrahiert, die Benzollösung mit Wasser gewaschen, getrocknet, konzentriert und das Methyl-Lignin durch Eingießen in Äther gefällt. Das als lockres, etwas gelbstichiges weißes Pulver anfallende Methylierungsprodukt zeigt dann einen  $\text{OCH}_3$ -Gehalt von 29—30%, der sich bei Wiederholung der Methylierung bis auf 32.5% steigert, womit der Höchstgehalt erreicht ist. Die Prüfung auf freies Hydroxyl nach Verley-Bölsing ist dementsprechend negativ. Ausb. 7.3 g.

Die Durchschnittszusammensetzung des Methylierungsprodukts beträgt 60.1% C, 6.5% H, 5.1% N, 32—33%  $\text{OCH}_3$ , entsprechend einer Bruttoformel  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}$ .

Das methyierte Hydrazin-Lignin löst sich leicht auch in hohen Konzentrationen in den meisten organischen Lösungsmitteln wie Benzol, Chloroform, Alkohol, Aceton, Eisessig, Pyridin. In Äther und Petroläther ist das Methylat dagegen unlöslich. Im Schmelzröhren Erweichung bei etwa 130°. Die osmometrisch geschätzte Molekülgröße zeigt keine Änderung gegenüber dem unmethylierten Präparat.

## 6) Diskussion der Ergebnisse.

Zusammensetzung: Vergleicht man die Zusammensetzung des gewonnenen Lignin-Präparats aus Winterroggenstroh mit den Angaben über die nach den üblichen Verfahren aus Stroh und Hölzern isolierten Präparate (Tafel 5), so ergibt sich für das nach dem neuen Verfahren gewonnene

Tafel 5.

Zusammensetzung bekannter Ligninpräparate aus Fichte, Buche und Stroh im Vergleich mit dem Hydrazin-Lignin aus Winterroggenstroh.

Ligninpräparat	Elementarzusammensetzung mit			
	C	H	OCH <sub>3</sub>	N
Fichte*) .....	63—66	5.4—6.3	14—16	—
Buche**) .....	60.5	5.8	21.5	—
Weizenstroh und Haferstroh†) .....	61.5—62.5	5.4—6.0	15—16	—
Roggenstroh††) .....	61.6—62.4	5.6—5.7	13	—
Hydrazin-Lignin aus Winter- roggenstroh .....	51.8	5.6	13.5—14	6.1

\*) Vergl. E. Hägglund, Holzchemie 1939, S. 197.

\*\*) K. Freudenberg, Fortschr. d. Chemie organ. Naturstoffe, Bd. II, 1939, S. 6.

†) M. Phillips u. J. M. Goß, Journ. biol. Chem. 114, 557 [1936]; F. Schütz, Cellulosechem. 19, 89 [1941].

††) F. Schütz, Cellulosechem. 19, 89 [1941].

Hydrazin-Lignin ein wesentlich niedrigerer Kohlenstoffgehalt, der offenbar dadurch bedingt ist, daß das Lignin in diesem Falle bei der Isolierung keine sekundäre Eigenkondensation erlitten hat.

Die Zusammensetzung der nach der Permethylierung des Hydrazin-Lignins mit Dimethylsulfat-Alkali gewonnenen Präparate kann nicht streng mit der Zusammensetzung der Präparate vor der Methylierung verglichen werden, weil bei der Methylierung Verluste erfolgen, wobei eine Verschiebung im Verhältnis der verschiedenen Komponenten des Lignins eintreten kann. Aus dem Vergleich der Zusammensetzungen vor und nach der Methylierung ergibt sich eine nicht unerhebliche Verschiebung des Verhältnisses von Kohlenstoff zu Sauerstoff, die möglicherweise dadurch verursacht wird, daß eine sauerstoffreiche Komponente in die Methylierungslauge abgeführt wird. Dies wird näher untersucht. Bei der Methylierung nimmt der N-Gehalt stärker ab als der Zunahme des Molekulargewichts durch das aufgenommene OCH<sub>3</sub> entspricht.

Carbonylgruppe: Die Kondensation mit Hydrazin weist darauf hin, daß in dem isolierten Ligninpräparat Carbonylgruppen vorliegen. Aus dem N-Gehalt des Hydrazin-Lignins ergibt sich, daß in je zwei Phenylpropan-Gruppen eine Hydrazingruppe eingetreten ist. Dies bedeutet, daß im Falle von Azinbildung auf jede Phenylpropangruppe im Lignin, im Falle von Hydrazonbildung auf jede zweite Gruppe eine Carbonylgruppe kommt. Da bei der Methylierung mit Dimethylsulfat-Alkali keine Methyliidgruppen gebildet werden, ist die Annahme wahrscheinlicher, daß bei der Reaktion zwischen Lignin und Hydrazin Azinbildung vorliegt. Das Lignin-Derivat wäre entsprechend als Ligninazin zu bezeichnen. Wir behalten aber vorerst

die unverbindlichere Bezeichnung „Hydrazin-Lignin“ bei, bis durch die in Gang befindlichen Abbauversuche eine Azingruppe noch schärfer nachgewiesen ist.

Es läßt sich noch nicht sicher entscheiden, ob bei den vorliegenden Ligninpräparaten eine Selbstkondensation infolge Blockierung des Carbonyls durch Hydrazin ausgeblieben ist oder ob die milden Extraktionsbedingungen an sich eine Selbstkondensation verhindert haben. Behandelt man das Hydrazin-Lignin unter den Bedingungen der normalen Ligninisolierung durch Säuren, z. B. nach P. Klasen mit 64-proz. Schwefelsäure bei Raumtemperatur, so geht das Lignin-Derivat unter teilweiser Auflösung in einen nunmehr in 80-proz. Alkohol unlöslichen Körper über. Dabei nimmt der Stickstoffgehalt nur um etwa  $\frac{1}{3}$  des ursprünglichen Wertes ab, so daß sich bei dieser Behandlung wesentliche Anteile des Präparats in anderer Weise verändert haben dürften als ursprüngliches Lignin beim normalen Strohaufschluß mit 64-proz. Schwefelsäure. Es ist bemerkenswert, daß geringe Säurekonzentrationen ausreichen, um das lösliche Hydrazin-Lignin in der Weise zu verändern, daß es nicht mehr in 80-proz. Alkohol löslich ist. Z. B. wird nach Zusatz von 1- bis 2-proz. Säure zu der alkohol. Lignin-Lösung das Hydrazin-Lignin unter teilweiser Stickstoffabspaltung schon nach mehreren Stunden bei Raumtemperatur unlöslich.

Ligninpräparate mit Carbonylgruppen sind bisher nur in geringer Menge aus Fichte und Laubhölzern isoliert worden. So gewannen H. Hibbert und Mitarbeiter<sup>9)</sup> durch Äthanolyse (Äthanol-HCl siedend) von Ahornholz neben anderen niedermolekularen Spaltprodukten etwa 2%  $\alpha$ -Hydroxy-propio-vanillon und  $\alpha$ -Hydroxy-propio-syringon (8.2% des Gesamt-lignins dieser Hölzer), F. E. Brauns<sup>10)</sup> durch Kaltextraktion von Fichtenholz mit Äthanol an Ketonkörpern 2—3% des Gesamt-lignins. Diese Ketonkörper liegen bei Hibbert und Mitarbeitern in monomolekularer, bei Brauns in 4-fach kondensierter Form vor. Über ihren Zusammenhang mit der Hauptmenge des Lignins ist noch nichts Sichereres bekannt. Für die Hauptmenge des Lignins ist bisher eine Carbonylgruppe nicht nachgewiesen worden<sup>11)</sup>. K. Freudenberg<sup>12)</sup> weist darauf hin, daß das direkte Bindungsvermögen des isolierten Lignins für Hydrazin sehr gering sei. Die bekannten hypothetischen Formeln für isoliertes Lignin sehen infolgedessen keine Carbonylgruppen in der Phenylpropangruppe vor. Die auf dem neuen Weg gewonnenen Ligninpräparate zeigen hohes Molekulargewicht, entsprechend mindestens 8 bis 15 Phenylpropangruppen. In nahezu jeder Phenylpropangruppe des gesamten Strohlignins ist eine Carbonylgruppe vorhanden.

**Hydroxylgruppen:** Aus der leichten Methylierbarkeit des Hydrazin-Lignins zu permethylierten Präparaten mit 32—33%  $\text{OCH}_3$  ist weiterhin zu folgern, daß neben der Carbonylgruppe auch noch eine freie OH-Gruppe in der aliphatischen Seitenkette vorhanden sein muß. Die Aufnahme von durch-

<sup>9)</sup> L. Brickman, J. Pyle, J. L. McCarthy u. H. Hibbert, Journ. Amer. chem. Soc. **61**, 868 [1939]; M. J. Hunter u. H. Hibbert, Journ. Amer. chem. Soc. **61**, 2191 [1939]; J. J. Pyle, L. Brickman u. H. Hibbert, Journ. Amer. chem. Soc. **61**, 2200 [1939].

<sup>10)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. **61**, 2120 [1939].

<sup>11)</sup> K. Freudenberg, Tannin, Cellulose, Lignin, Berlin 1933, S. 130; H. Erdtman, Svensk Papperstidn. **44**, 243 [1941].

<sup>12)</sup> Fortschr. d. Chemie organ. Naturstoffe, Bd. II, 1939, S. 10.

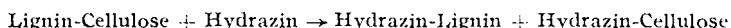
schnittlich 4—5%  $\text{OCH}_3$ <sup>13)</sup> bei der Methylierung mit Diazomethan zeigt, daß neben dem freien aliphatischen Hydroxyl auch freies aromatisches Hydroxyl im Stroh-Lignin vorliegt. Die Menge daran ergibt sich genauer aus dem Vergleich der Methoxylgehalte vor und nach der Permethylierung mit Dimethylsulfat und Alkali und entspricht durchschnittlich etwa 1 OH je 2 Phenylpropangruppen.

Die Fraktionierung des Hydrazin-Lignins zu Präparaten mit Methoxylgehalten bis zu 19% läßt deutlich erkennen, daß im Stroh lignin auch Grundbausteine vorhanden sind, die ähnlich wie besonders bei den Laubhölzern höher methoxylierte Gruppen (Syringyl) enthalten.

Konstitutionsfragen: Der Nachweis einer freien Hydroxylgruppe und einer Ketongruppe in dem aliphatischen Rest des Lignins sowie die Anwesenheit einer halben aromatischen OH-Gruppe je Phenylpropanrest sind mit den für isoliertes Lignin bisher angenommenen Konstitutionsschemata nicht ohne weiteres in Einklang zu bringen. Legt man die heute von fast allen Bearbeitern des Ligninproblems angenommene Klasonsche Phenylpropangruppe<sup>13a)</sup> zugrunde, dann sind die mitgeteilten Versuchsergebnisse nur dann verständlich, wenn auch in dem hochmolekularen Lignin in der Seitenkette an jedem C-Atom mindestens 1 Sauerstoffatom gebunden ist. Diese Folgerung legt die Annahme nahe, daß bei derartig gewonnenen Ligninpräparaten am Aufbau des Ligninmoleküls in erster Linie acetalartige Gruppen<sup>14)</sup> der *aliphatischen Seitenkette* beteiligt sind.

Es ist beachtenswert, daß sich bei der Methylierung mit Dimethylsulfat-Alkali trotz praktisch unveränderter Molekülgöße und nur wenig veränderter UV-Absorption (Kurve 3 in Abbild. 2) das Verhältnis von Kohlenstoff:Sauerstoff nicht unerheblich ändert und eine Zusammensetzung hervorgeht, die mit dem geläufigen Phenylpropan-Schemma vorerst noch nicht in Einklang zu bringen ist.

Nachdem durch eine vorangehende Untersuchung<sup>15)</sup> die Möglichkeit zur Lösung von Hauptvalenzen durch Schwingmahlung erwiesen werden konnte, ist in Betracht zu ziehen, daß die Carbonylgruppen in den extrahierten Präparaten erst im Verlauf der Schwingmahlung entstanden sind. Wir halten dies indessen nicht für wahrscheinlich, weil erhebliche Beträge an Hydrazin-Lignin auch schon bei weniger weitgehender mechanischer Zerkleinerung entstehen. Die vollständige Ligninabtrennung scheint daher vielmehr in einer durch die Schwingmahlung erfolgten Freilegung der Grenzflächen zwischen Lignin und Kohlenhydrat begründet zu sein. Bei der Abtrennung mag die Bildung der Doppelverbindung zwischen Cellulose und Hydrazin<sup>2)</sup> begünstigend wirken:



<sup>13)</sup> Der Annahme von 1 OH je 2 Phenylpropangruppen würde die Aufnahme von etwa 7%  $\text{OCH}_3$  entsprechen. Der vollständige Gehalt an  $\text{OCH}_3$  bei der Behandlung mit Diazomethan wird vermutlich deshalb nicht erreicht, weil diese Methylierung in heterogenem System erfolgt (vergl. ebenso auch F. E. Brauns, Journ. Amer. chem. Soc. **61**, 2121 [1939]).

<sup>13a)</sup> Vergl. a. K. Kürschner, Zur Chemie der Ligninkörper, Stuttgart 1925, S. 97 usw.

<sup>14)</sup> Über Acetalbindungen im Lignin vergl. L. M. Cook, J. L. McCarthy u. H. Hibbert, Journ. Amer. chem. Soc. **63**, 3056 [1941]; H. Irdtman, Fußn. 11.

<sup>15)</sup> K. Hess, E. Steurer u. H. Fromm, Kolloid-Ztschr. **98**, 148 [1942].

Anwendung auf Buchen- und Fichtenholz: Vergleichende Versuche lassen bisher erkennen, daß bei den Hölzern nach der Schwingmahlung durch Hydrazin-Alkohol nur ein Teil des Lignins erfaßt wird. Bei Buche beträgt die extrahierte Menge 14% des verwendeten Holzes<sup>16)</sup>, bei Fichte 12—13%. Dabei ist zu berücksichtigen, daß es sich auch hier um Mischpräparate handelt, die aus Komponenten verschiedenen Methoxylgehalts bestehen, die, wenn sie auch charakteristische Eigenschaften wie die optische Absorption für Lignin zeigen, nur z. Tl. mit den auf den bisher üblichen Wegen erhaltenen Präparaten verglichen werden können.

Die weitere Untersuchung behalten wir uns vor.

Frl. B. Werner danken wir für ihre fleißige und geschickte Hilfe bei der Ausführung der Versuche.

Der Süddeutschen Zellwolle A.-G., insbesondere Hrn. Direktor Borst, danken wir für die Unterstützungen und das große Interesse bei der Durchführung dieser Untersuchung.

#### 249. Otto Hönigschmid: Das Atomgewicht des Schwefels.

[Aus d. Chem. Laborat. der Universität München.]

(Eingegangen am 14. November 1942.)

Zu den fundamentalen Atomgewichten ist fraglos auch das des Schwefels zu zählen, da Schwefelverbindungen zur Bestimmung anderer Atomgewichte herangezogen werden müssen und damit der Schwefel als Bezugselement zu gelten hat.

In der internationalen Tabelle ist sein Atomgewicht mit dem Wert 32.0<sup>5</sup> angegeben. Es muß wundernehmen, daß ein so niedriges fundamentales Atomgewicht nur mit zwei Dezimalen notiert werde, während alle anderen dieser fundamentalen Größen bis auf drei Stellen nach dem Komma gesichert zu sein scheinen und dementsprechend auch mit drei Dezimalen in der Tabelle aufgeführt werden. Die derzeitige Angabe mit nur zwei Dezimalen würde besagen, daß die letzte notierte Stelle bis auf eine Einheit sicher sei, d. h. der Wert ebenso gut 32.05 wie auch 32.07 lauten könne. Das ist sicher nicht richtig, denn soviel ergeben mit Sicherheit alle bisherigen zuverlässigen Bestimmungen, daß dieses Atomgewicht zwischen 32.06 und 32.07 liegen muß, keinesfalls aber unter dem niedrigeren Grenzwert.

Für diese Annahme sprechen auch die Ergebnisse der massenspektroskopischen Forschung. Die neuesten und wohl auch genauesten Messungen, die wir O. Nier<sup>1)</sup> verdanken, ergeben die folgenden Isotopen und deren Häufigkeit:

Masse .....	32	33	34	36
Häufigkeit .....	95.06	0.74	4.18	0.016 %

Mit einem Packungsanteil für Schwefel von —5.6 und dem Umrechnungsfaktor 1.000 275 berechnet Nier das chemische Atomgewicht zu 32.064.

<sup>16)</sup> Bei Buche wurde auch mit Ammoniak extrahiert und festgestellt, daß durch wiederholte Anwendung das Lignin vollständig extrahiert wird.

<sup>1)</sup> Physic. Rev. **53**, 285 [1938].