

Methyläther des Phenols.

3 g Phenol werden in 50 ccm 3-proz. Natronlauge gelöst und unter Rühren mit 2.3 g Dimethylsulfat methyliert. Das violette Öl wird noch $\frac{1}{2}$ Stde. auf dem Wasserbade mit der alkalischen Lösung in Berührung gelassen, alsdann ausgeäthert, mit Natronlauge und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und destilliert. Sdp.₁₃ 137°. Ausbeute 2.6 g. Das farblose, leicht bewegliche Öl siedet unter gewöhnlichem Druck bei 260°.

Oxydation des Methyläthers: 0.5 g Äther werden tropfenweise im Laufe von 2 Stdn. auf dem Wasserbade unter starkem Schütteln in eine Lösung von 20 g Permanganat in 200 ccm Wasser eingetropf. Der Überschuß an Permanganat wird mit Formaldehyd zersetzt und das Filtrat auf dem Wasserbade auf 50 ccm eingeengt; dann wird mit Schwefelsäure angesäuert und anhaltend mit Wasserdampf destilliert. Das Destillat wird mit Kalilauge neutralisiert, eingedampft und der Rückstand mit heißem absol. Alkohol ausgezogen. Aus dem Filtrat fällt Aceton schöne, hygroskopische Blättchen, Schmp. 232–233°

9.261 mg Sbst.: 8.265 mg K₂SO₄. — Gef. K 40.05; essigsäures Kalium verlangt 39.79.

Die Essigsäure wurde des weiteren noch durch Überführung in ω -Acetoxy-acetoveratron (Schmp. 90–91°, Mischprobe) identifiziert⁵⁾.

Oxydation der Rotensäure.

0.5 g Säure wurden mit der Lösung von 5 g Kaliumpermanganat in 200 ccm Wasser 2 Stdn. gekocht. Nach der Zerstörung des Permanganats mit Formaldehyd wurde mit Schwefelsäure angesäuert und anhaltend mit Wasserdampf destilliert, das Destillat mit Kalilauge neutralisiert und eingedampft. Ausbeute an alkohol-löslichem Kaliumsalz 0.15 g. Die alkohol. Lösung wurde nach W. L. Judefind und E. E. Reid⁶⁾ mit ω -Brom-*p*-jodacetophenon umgesetzt. Das Reaktionsprodukt ist der Isobuttersäure-Ester des ω -Hydroxy-*p*-jodacetophenons vom Schmp. 109° (Mischprobe).

4.810 mg Sbst.: 7.61 mg CO₂, 1.64 mg H₂O. — 8.583 mg Sbst.: 6.020 mg AgJ.

C₁₂H₁₃O₃J. Ber. C 43.67, H 3.91, J 38.25. Gef. C 43.15, H 3.82, J 37.91.

154. L. Kalb und Th. Lieser (mitbearbeitet von R. Hahn, Fr. Nevely und H. Koch): Zur Isolierung des Lignins.

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

(Eingegangen am 30. März 1928.)

Eine der großen Schwierigkeiten der Lignin-Chemie besteht in der derzeitigen Unmöglichkeit, das native Lignin aus der pflanzlichen Zellmembran unverändert zu isolieren. Die diesbezüglichen Bestrebungen führten zur Ausarbeitung einer Anzahl von Methoden, die es erlauben, dem nativen Lignin mehr oder minder ähnliche Präparate zu gewinnen. Wohl die empfehlenswerteste und heute am meisten angewandte Methode beruht auf

⁵⁾ A. Kaufmann und H. Müller, B. 51, 123 [1918].

⁶⁾ Journ. Amer. chem. Soc. 42, 1051 [1920].

der Zerstörung des verzuckerbaren Zellwand-Bestandteiles durch die 1913 von R. Willstätter und L. Zechmeister¹⁾ eingeführte hochkonzentrierte Salzsäure. Dieses zuerst von E. Ungar²⁾ eingehender studierte Aufschluß-Verfahren, für welches später R. Willstätter und L. Kalb³⁾ eine präparativen Zwecken angepaßte Vorschrift ausgearbeitet haben, wurde von anderer Seite verschiedentlich abgeändert, in der Absicht, ein reineres Lignin zu erhalten. Diese Abänderungen haben teils gleichwertige, teils aber auch stärker kohlenhydrat-haltige oder zersetzte Präparate gebracht, woraus sich manche Widersprüche in den damit erhaltenen Versuchsergebnissen erklären dürften.

Die Lignin-Darstellung durch Hydrolyse des Holzes erfordert als erstes Ziel, das Lignin möglichst wenig zu verändern. Es ist daher offenbar eine kurze Salzsäure-Behandlung am Platze. Eine tagelange Einwirkung der hochkonzentrierten Säure verändert das Lignin weitgehend. Das geht einmal hervor aus der nunmehr dunklen Farbe des Produktes und dann aus der Unmöglichkeit, ein solches tagelang mit hochkonzentrierter Säure behandeltes Lignin zu methylieren⁴⁾. Bekanntlich lassen sich in das durch kurze Einwirkung der hochkonzentrierten Säure dargestellte Lignin 18 und mehr Procente Methoxyl einführen, so daß der Gesamt-Methoxyl-Gehalt schließlich etwa 30 % beträgt⁵⁾. Aus der Unmöglichkeit der Methylierung folgt zum mindesten, daß die Hydroxylgruppen verschlossen worden sind. Aus diesen Gründen verbietet sich eine allzu lange Einwirkung der hochkonzentrierten Säure.

Andererseits darf die Aufschluß-Zeit auch nicht zu kurz bemessen werden, so daß die physikalische und chemische Bindung zwischen Lignin und Kohlenhydraten zum Teil ungelöst bleibt bzw. die Kohlenhydrate noch nicht vollständig in wasser-lösliche Form übergeführt sind. Bei zu kurzer Säure-Einwirkung wird das Lignin immer von namhaften Mengen verschieden weit abgebauter Polysaccharide begleitet sein. Es muß also eine mittlere, optimale Intensität des Salzsäure-Aufschlusses eingehalten werden, so daß das möglichst wenig veränderte Lignin durch möglichst wenig Kohlenhydrate verunreinigt ist. Von größter Wichtigkeit sind hier neben der Dauer der Einwirkung die Konzentration und die Temperatur der angewandten Säure. Der Einfluß dieser Faktoren auf den Reinheitsgrad und die Ausbeute des dargestellten Lignins wurde in vorliegender Arbeit untersucht. Als Voraussetzung war eine genauere Kenntnis der dem Lignin bei unzureichenden Aufschluß-Bedingungen anhaftenden Kohlenhydrate in qualitativer und quantitativer Hinsicht wünschenswert.

Es war nämlich denkbar, daß gerade diese anscheinend schwerer hydrolysierbaren Kohlenhydrate in einem genetischen Zusammenhange mit dem Salzsäure-Lignin stehen, dergestalt, daß sie im Verlaufe des Aufschluß-Prozesses infolge einer kondensierenden Wirkung der Salzsäure in den Lignin-Komplex eintreten, wobei sie ihre typischen Eigenschaften als Kohlen-

¹⁾ B. 46, 2401 [1913].

²⁾ E. Ungar: „Beiträge zur Kenntnis der verholzten Faser“, Dissertation, Zürich, 1914.

³⁾ B. 55, 2640 [1922].

⁴⁾ K. G. Jonas, Wochenbl. Papierfabrikat., Sonderfestnummer 1925, S. 2.

⁵⁾ E. Heuser, R. Schmitt und L. Gunkel, Cellulose-Chemie 2, 81 [1921]; H. Urban, Cellulose-Chemie 7, 73 (1926).

hydrate verlieren und die Lignin-Menge scheinbar vermehren könnten. Die sehr verschiedenen Literatur-Angaben über die Ausbeuten an Salzsäure-Lignin sprachen zum mindesten nicht dagegen. Das vergleichende Studium der Ausbeute-Verhältnisse bei Lignin-Präparaten vollständigen und unvollständigen Holz-Aufschlusses neben Beobachtungen über den Methoxyl-Gehalt hat aber keinerlei Anhaltspunkt für eine solche Annahme ergeben. Wenn wir so glauben zeigen zu können, daß während des Aufschluß-Prozesses keine Kohlenhydrate in den Lignin-Komplex eintreten, so wird dadurch die Frage nicht berührt, inwieweit ursprünglich schon am Aufbau des Lignins Kohlenhydrate, die sich nicht ohne weiteres als solche nachweisen lassen, beteiligt sind.

Die in Lignin-Präparaten bei unvollständigem Holz Aufschluß anwesenden Kohlenhydrate.

Für unsere Zwecke war es vor allem erforderlich, eine Methode zur Verfügung zu haben, die den Kohlenhydrat-Gehalt von Lignin-Präparaten in positiver Weise angibt. Auf die meist übliche, indirekte, hydrolytische Methode⁶⁾, bestehend in der erneuten Behandlung der Präparate mit hochkonzentrierter Säure und anschließender Zucker-Bestimmung im Hydrolysat nach Bertrand, wollten wir uns — wenigstens in der Hauptsache — nicht stützen. Diese Methode ergibt wohl recht gleichmäßige Werte, vorausgesetzt, daß ausreichend und immer unter denselben Bedingungen hydrolysiert wird; der absoluten Höhe nach sind die Werte jedoch aus verschiedenen Gründen nicht einwandfrei. So ist zu bedenken, daß neben der Bildung der Zucker auch deren Zersetzung unter dem Einfluß der Säure einhergeht, daß die immer vorhandenen Pentosen als Hexosen gerechnet werden, und endlich schien es möglich, daß dabei auch aus der eigentlichen Lignin-Substanz Stoffe mit reduzierten Eigenschaften, wie Formaldehyd⁷⁾ oder Zucker⁸⁾, entstehen können.

Beweiskräftige Resultate erwarteten wir daher in erster Linie nur von Methoden, die es gestatteten, die Kohlenhydrate in Substanz zu isolieren. Für eine solche Methode war die Grundlage gegeben in dem von E. Schmidt⁹⁾ in die Chemie der pflanzlichen Zellwand eingeführten Chlordioxyd-Aufschluß-Verfahren. Das Chlordioxyd wirkt bekanntlich in der Weise auf die Zellmembran ein, daß die Lignin-Substanz oxydativ angegriffen und damit in Natriumsulfit-Lösung, Aceton oder Alkohol löslich wird, während die Kohlenhydrate intakt bleiben. Mittels des Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahrens werden nach den Schmidtschen Untersuchungen nur die wasser- und sulfit-unlöslichen Polysaccharide bestimmt. Sie bilden den als „Skelett-Substanz“ bezeichneten Komplex von Cellulose, galaktose-freien Hemi-cellulosen (H_3) und polymerer Säure. Mittels des Chlordioxyd-Aceton-Verfahrens werden sämtliche Kohlenhydrate erfaßt. Es kommen dann zu der auch hier unlöslich bleibenden Skelett-Substanz noch hinzu die

⁶⁾ Schon von E. Ungar (l. c., zur Prüfung von Salzsäure-Lignin angewandt.

⁷⁾ K. Freudenberg und M. Harder, B. **60**, 581 [1927].

⁸⁾ E. Häggglund, B. **56**, 1866 [1923]; E. Häggglund und C. B. Björkman Biochem. Ztschr. **147**, 74 [1924].

⁹⁾ Zusammenfassung der Arbeiten von E. Schmidt und Mitarbeitern: E. Schmidt, K. Meinel und E. Zintl, B. **60**, 503 [1927].

beim Chlordioxyd-Prozeß wasser- und sulfit-löslich werdenden, jedoch in Aceton (bzw. Alkohol) unlöslichen sog. Hemi-cellulosen der Inkrusten (H₁), die galaktose-haltig sind. Wir wandten diese beiden Isolierungs-Methoden¹⁰⁾ neben einer nachher noch zu besprechenden dritten auf Lignin-Präparate an.

Die erhaltenen Kohlenhydrate haben wir in verschiedenen Fällen durch Hydrolyse und Vergärung charakterisiert. Die Vergärung erfolgte bei den durch Chlordioxyd-Natriumsulfit abgeschiedenen Polysacchariden einerseits durch *Saccharomyces cerevisiae*, andererseits selektiv durch *Schizosaccharomyces Pombe*¹¹⁾. Mit beiden Hefen wurde eine praktisch gleich hohe, etwa 67-proz. Vergärbarkeit festgestellt. Diese Polysaccharide waren demnach frei von Galaktose, bestanden also lediglich aus Bausteinen der Skelett-Substanz im Sinne der Schmidtschen Nomenklatur.

Auch die durch Chlordioxyd-Aceton isolierten Gesamt-Kohlenhydrate wurden hydrolysiert und vergoren, hier nur mit *Saccharomyces cerevisiae*. Da die Menge an vergärbarem Zucker dabei auf mindestens ebensoviel Rein-Hexosan schließen ließ als in denselben Präparaten an Roh-Polysacchariden nach dem Natriumsulfit-Verfahren gefunden wurde, so steht auf jeden Fall fest, daß das Aceton-Verfahren mehr¹²⁾ Kohlenhydrate liefert als das Natriumsulfit-Verfahren.

Als Ursache für diesen Mehrbefund kommt vor allem die Anwesenheit von Hemi-cellulosen der Inkrusten in Frage. Leider steht hier der beweisende Gärversuch mit *Schizosaccharomyces Pombe* aus. Wir sind aber dafür in der Lage, auf Resultate einer früheren Arbeit des einen von uns (Kalb) mit W. Hannemann¹³⁾ zurückzugreifen. In jener Arbeit waren die Kohlenhydrate eines ähnlichen (ca. 8% davon enthaltenden) Lignin-Präparates durch erneute Behandlung mit hochkonzentrierter Salzsäure abhydrolysiert und qualitativ-chemisch untersucht worden. Dabei konnte, neben Glykose, Fructose, Mannose und Xylose, auch Galaktose, nämlich durch Überführung in Schleimsäure, nachgewiesen werden.

Die Anwesenheit von Hemi-cellulosen der Inkrusten bildet möglicherweise nicht die einzige Ursache für den Mehrbefund nach dem Aceton-Verfahren. Es ist damit zu rechnen, daß außerdem noch hydrolytisch (durch die vorausgegangene Behandlung mit hochkonzentrierter Salzsäure) stark abgebaute, dextrin-artig gewordene Anteile der Skelett-Substanz bei der Zerstörung des Lignins sulfit-löslich und daher ähnlich den Hemi-cellulosen der Inkrusten durch das Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahren nicht erfaßt werden. Dafür scheint die Tatsache zu sprechen, daß bei Lignin-Präparaten, die nur sehr wenig Kohlenhydrate enthalten, diese verhältnismäßig schlechter erfaßt werden, als wenn reichliche Mengen vorhanden sind; es ist kaum anzunehmen, daß sich mit der fortschreitenden Hydrolyse während

¹⁰⁾ vergl. W. Fuchs und E. Honsig, B. 59, 2850 [1926]; K. Freudenberg und M. Harder, l. c.

¹¹⁾ E. Schmidt, F. Trefz und H. Schnegg, B. 59, 2635 [1926].

¹²⁾ Zuverlässige zahlenmäßige Angaben können wir noch nicht machen. Die Anwendung des Chlordioxyd-Aceton-Verfahrens auf Lignin-Präparate bedarf noch des genaueren Studiums. Wir sind damit zurzeit beschäftigt.

¹³⁾ W. Hannemann: „Über die am Fichtenholz-Lignin fester haftenden Kohlenhydrate“, Dissertation, München 1922.

des Holz-Aufschlusses in den letzten, am Lignin noch verbleibenden Kohlenhydrat-Resten gerade Hemi-cellulosen der Inkrusten anreichern¹⁴⁾.

Die Art der Zusammensetzung der in Lignin-Präparaten vorkommenden Kohlenhydrate und die weitgehende Möglichkeit ihrer Abscheidung in Form unlöslicher Polysaccharide erlaubt die Schlußfolgerung, daß es sich hier lediglich um Reste des verzuckerbaren Holz-Anteiles mit vorwiegender Cellulose handelt, die der lösenden Wirkung der hochkonzentrierten Salzsäure entgangen sind. Diese Schlußfolgerung ließ sich weiter bekräftigen, indem es gelang, die Kohlenhydrate noch auf einem ganz anderen Wege, und zwar ohne Zerstörung der Lignin-Substanz, zu isolieren, nämlich durch Extraktion mit Kupferoxyd-Ammoniak. Aus dem erhältlichen, vom Lignin filtrierten Extrakt lassen sich die gelösten Kohlenhydrate durch Ansäuern größtenteils wieder ausfällen. Sie sind mit etwas Lignin verunreinigt, welches, wie schon E. Ungar¹⁵⁾ feststellte, in Kupferoxyd-Ammoniak nicht unlöslich ist. Die isolierten Polysaccharide wurden auch hier hydrolysiert und selektiv vergoren. Dabei erwiesen sie sich der Qualität und ungefähren Menge nach als dieselben, wie sie auch nach dem Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahren erhalten wurden.

In der Extraktion mit Kupferoxyd-Ammoniak liegt eine brauchbare Methode vor, um Lignin für präparative Zwecke von Kohlenhydraten zu reinigen. Es ist unwahrscheinlich, daß das Lignin durch die Behandlung eine Schädigung erleidet. Eine Aufnahme von Stickstoff konnte nicht festgestellt werden. Ein oxydativer Angriff, der allenfalls denkbar wäre, wirkt sich beim Lignin bekanntlich meist in einer Verminderung des Methoxyl-Gehaltes aus. Es ist nun bemerkenswert, daß der Methoxyl-Gehalt eines kohlenhydrat-haltigen Lignins durch die Extraktion mit Kupferoxyd-Ammoniak nicht fällt, sondern im Gegenteil steigt, und zwar auf den für normales Willstätter-Lignin charakteristischen Wert von 15–16%. In einem bestimmten Falle stieg er beispielsweise von 12.2 auf 15.4%, während der Kohlenhydrat-Gehalt des betreffenden Präparates von 19.5 auf 0.23% zurückging. Weiter spricht für die Unversehrtheit des extrahierten Lignins, daß es sich gleich dem normalen leicht bis zu einem Gesamt-Methoxyl-Gehalt von gegen 30% weitermethylieren läßt.

Die Tatsache, daß der Methoxyl-Gehalt eines aus unvollständigem Holz-Aufschluß hervorgegangenen Lignins infolge der Extraktion gerade auf

¹⁴⁾ Die Annahme, daß in unserem Falle auch der Skelett-Substanz angehörige Anteile sulfit-löslich werden können, widerspricht im Grunde nicht den von E. Schmidt aufgestellten Prinzipien. Diese sind auf die Ergebnisse des Chlordioxyd-Natriumsulfit-Aufschlusses bei der nativen, vor hydrolytischen Einflüssen sorgfältig bewahrten Zellmembran gegründet. In unserem Falle handelt es sich aber um hydrolytisch stark angegriffene Überreste der ursprünglichen Zellwand bzw. ihres, Polysaccharid-Anteiles, und es können sich hier die Verhältnisse sehr wohl etwas verschieben.

Als dritte mögliche Ursache für den Mehrbefund nach dem Aceton-Verfahren wäre noch denkbar, daß durch Chlordioxyd Kohlenhydrate, die am Aufbau der eigentlichen Lignin-Substanz beteiligt sind, in sulfit-löslicher, jedoch aceton-unlöslicher Form freigelegt werden. Dies würde allerdings die Anwendbarkeit des Aceton-Verfahrens zur Feststellung lediglich der den Lignin-Präparaten beigemengten Kohlenhydrate in Frage stellen.

¹⁵⁾ Die Löslichkeit beträgt nach E. Ungar (Fußnote 2) etwa 3% bei Abwesenheit von Kohlenhydraten. Sie wird aber größer, wenn gleichzeitig Polysaccharide in Lösung gehen.

denjenigen des normal bereiteten Produktes ansteigt und nicht darüber hinaus, erscheint uns noch in anderer Hinsicht wichtig. Sie spricht nicht nur für die Identität des extrahierten Produktes mit dem normal bereiteten, sondern auch ganz allgemein dafür, daß im Salzsäure-Lignin ein Produkt von bestimmter, d. h. dem nativen Lignin nahestehender, Individualität vorliegt und nicht ein Kondensationsprodukt eines hypothetischen, reineren Lignins mit Kohlenhydraten. Im letzteren Falle hätte die Extraktion eines stark kohlenhydrat-haltigen Lignins als einer Zwischenstufe die Möglichkeit bieten können, ein solches reineres Lignin, von dem man einen Methoxyl-Gehalt von über 15—16% erwarten müßte, zu fassen. Die Extraktion hat aber keinen Anhaltspunkt für dessen Existenz ergeben.

Seit dem wichtigen Befund von K. Freudenberg und M. Harder⁷⁾, wonach das Lignin Formaldehyd in einer durch Säure abspaltbaren Form enthält, muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß die nach der Zeisel'schen Methode gefundenen Methoxyl-Werte zum (vermutlich nur kleinen) Teil durch Formaldehyd verursacht werden; denn dieser kann, wie der Modell-Versuch ergab, flüchtiges Jodid bilden. Wenn daher Vorsicht geboten erscheint bei Rückschlüssen auf den tatsächlichen Methoxyl-Gehalt des Lignins, so bleibt die nach der Methode von Zeisel feststellbare Zahl doch nach wie vor ein wertvolles allgemeines Charakterisierungs-Mittel von Lignin-Präparaten.

In unseren praktisch kohlenhydrat-freien (was wir darunter verstehen, wird weiter unten noch gesagt werden) Präparaten finden wir regelmäßig Methoxyl-Werte von 15—16% (auf wasser-, asche- und chlor-freie Substanz bezogen). Dies stimmt mit den Angaben von E. Ungar über das erste, in R. Willstätters Laboratorium näher untersuchte Präparat von Salzsäure-Lignin überein. Auch H. Urban¹⁶⁾, sowie K. Freudenberg und M. Harder finden bei ihrem mit Salzsäure-Phosphorsäure dargestellten Lignin diesen Methoxyl-Gehalt. Präparate mit niedrigeren Methoxyl-Werten scheinen eines namhaften Kohlenhydrat-Gehaltes verdächtig zu sein. Indessen gibt der Methoxyl-Gehalt keinen Aufschluß darüber, ob das Lignin vor zu langer Säure-Einwirkung geschont war; denn auch ein durch 20-stdg. Holz-Aufschluß mit hochkonzentrierter Salzsäure dargestelltes und demgemäß schon angehend humifiziertes Präparat ergab noch 15—16% OCH₃.

Gründe für die Wahl des Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahrens und dessen Wirkungsgrad.

Obwohl das Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahren die Kohlenhydrate nicht vollständig erfaßt, haben wir doch diese Isolierungs-Methode als Grundlage für unsere Hauptversuche gewählt. Dieses Verfahren besitzt den großen Vorzug, daß es die Kohlenhydrate auf verhältnismäßig einfache Weise in Gestalt reiner, farbloser Polysaccharide und damit in direkt wägbarer Form liefert. Demgegenüber wurden die Kohlenhydrate nach dem Chlordioxyd-Aceton-Verfahren als graue bis braune, durch anoxydierte Lignin-Substanz stark verunreinigte Produkte erhalten. Man wäre bei Anwendung dieses Verfahrens gezwungen gewesen, deren Reingehalt jeweils besonders zu ermitteln, etwa durch Hydrolyse und Vergärung (wie wir dies bei den beiden beschriebenen Versuchen getan haben) nebst Bestimmung der Pentosen. Eine solche Arbeitsweise hätte aber unserer Absicht, die Kohlenhydrate in

¹⁶⁾ Cellulose-Chemie 7, 73 [1926].

Substanz zu isolieren, nicht mehr voll entsprochen und wäre überdies für Serien-Versuche zu umständlich geworden. Ähnlich lagen die Verhältnisse beim Extraktions-Verfahren mit Kupferoxyd-Ammoniak. Die Kohlenhydrate werden hier aus dem Lignin zwar praktisch vollkommen herausgelöst, sind aber aus dem Extrakt durch Ansäuern nur in unreiner Form wieder ausfällbar. Es kommt noch hinzu, daß die Ausfällung nicht vollständig ist.

So entschieden wir uns für das rasch ausführbare Chlordioxyd-Natriumsulfid-Verfahren, dessen wohl bewußt, daß wir damit nur Mindest-Werte für den Kohlenhydrat-Gehalt feststellten. Um ein Urteil über die mögliche Größe der Fehler zu erlangen, die wir dabei machen, haben wir in einer Anzahl von Stichproben die Ergebnisse dieses Verfahrens mit denen der hydrolytischen Methode verglichen. Im Laufe unserer Untersuchung haben wir zur hydrolytischen Methode mehr Vertrauen gewonnen als wir anfangs hatten. Maßgebend hierfür war, daß wir nie aus Lignin-Präparaten durch Hydrolyse (unter den nachfolgend angegebenen Bedingungen) namhafte Zucker-Mengen bekamen, ohne daß diese Präparate offenkundig infolge unzureichenden Holz-Aufschlusses kohlenhydrat-haltig waren, und diese Kohlenhydrate auf anderem Wege auch in Form von Polysacchariden in annähernd entsprechender Menge isoliert werden konnten. Die Bildung reduzierender Spaltprodukte aus der eigentlichen Lignin-Substanz scheint uns demnach keine oder jedenfalls keine wesentliche Rolle zu spielen. Vielleicht sind vom Chlordioxyd-Aceton-Verfahren, wenn es in seiner Anwendung auf Lignin-Präparate besser ausgearbeitet sein wird, einwandfreiere Resultate zu erwarten; einstweilen schien uns aber die hydrolytische Methode der beste und kürzeste Weg, den maximal wahrscheinlichen Gehalt an Kohlenhydraten festzustellen.

Die Ausführung geschah in der Weise, daß wir die Präparate 48 Stdn. mit der 30-fachen Menge Salzsäure der Dichte 1.21 (gemessen bei 15°) bei Zimmer-Temperatur behandelten. Dann wurde verdünnt, vom Lignin filtriert und in dem mit Soda neutralisierten Filtrat der Zucker-Gehalt nach Bertrand bestimmt.

Eine 48-stdg. Hydrolyse reicht bekanntlich im allgemeinen aus, um die Kohlenhydrate von Lignin-Präparaten fast vollständig abzuspalten. Die letzten Reste haften jedoch außerordentlich fest; sie bedürfen zur Abspaltung etwa der 3-fachen Zeit. Der durch Vernachlässigung dieser Reste bedingte Verlust ist bei größerem Kohlenhydrat-Gehalt verhältnismäßig sehr klein¹⁷⁾. Hier wird er nach unserer Schätzung dadurch mehr als ausgeglichen, daß wir vorsichtshalber die nach Bertrand gefundenen Glykose-Mengen direkt als Polysaccharid-Gehalt des Lignins annehmen, also auf die Umrechnung auf Hexosan + Pentosan verzichten. Bei sehr kleinem Gesamt-Kohlenhydrat-Gehalt macht sich aber der Verlust begreiflicher Weise dennoch bemerkbar. In den Versuchen Nr. 7 und 8 der Tabelle I wurde daher neben der 2-tägigen auch eine 5-tägige Hydrolyse ausgeführt. Ihr entsprechen die höheren, in Klammern beigefügten Werte.

Bei Betrachtung der in Tabelle I zusammengestellten Resultate muß vorausgeschickt werden, daß hier keine einheitliche Versuchsreihe vorliegt, vielmehr sind hier verschiedenartig gewonnene und gelegentlich untersuchte

¹⁷⁾ Nach früheren Versuchen von W. Hannemann (l. c.) gab ein kohlenhydrat-haltiges Lignin in 48 Stdn. 3.53 %, in 5 Tagen 3.74 %, entsprechend der maximalen Menge, an Zucker ab (als Glykose gerechnet). Der Zuwachs zwischen dem zweiten und fünften Tage betrug also nur noch 0.21 %. Nach dem fünften Tage ging das Reduktionsvermögen des Hydrolysates zurück (Zucker-Zerstörung durch die Säure). Das 6 Tage lang behandelte Lignin gab bei erneuter 5-tägiger Behandlung mit überkonzentrierter Säure keinen Zucker mehr ab.

Präparate nach ihrem Kohlenhydrat-Gehalt geordnet aufgeführt. Dies dürfte der Grund sein, warum die Beziehungen zwischen den Werten des hydrolytischen und des Chlordioxyd-Verfahrens weniger konstant sind, als es nach den sehr gleichmäßigen Resultaten, die jedes der Verfahren für sich liefert, erwartet werden müßte. Die Zusammenstellung enthält also gewiß auch extreme Fälle.

Aus dem Vergleich der beiden Verfahren ergibt sich Folgendes: Das Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahren erfaßt, wie zu erwarten, durchweg weniger Kohlenhydrate als das hydrolytische. Die prozentual zum Gesamtkohlenhydrat-Gehalt erfaßte Menge sinkt mit diesem, die Abweichung wird relativ größer. Bezieht man aber die Fehlbeträge auf die immer konstant bleibende Menge des Lignins, so werden die Differenzen bei niedrigem Kohlenhydrat-Gehalt trotzdem sehr klein.

Tabelle I.

Gefundene Kohlenhydrat-Mengen in Prozenten der Lignin-Präparate.

Lignin-Präparat Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Hydrolytische Methode	24.8	24.0	10.0	9.0	3.8	3.5	0.60	0.63
(Glykose)							(0.83)	(0.94)
ClO ₂ -Na ₂ SO ₃ -Verfahren	21.9	19.5	9.2	8.5	1.7	1.6	0.46	0.17
(Polysaccharide)								
Differenz	2.9	4.5	0.8	1.5	2.1	1.9	0.14	0.46
							(0.37)	(0.77)

Es ist bemerkenswert, daß sehr kleine Mengen von Kohlenhydraten immer gefunden werden. Dies gilt nicht nur für die besten der unter den milden Bedingungen der Vorschrift von R. Willstätter und L. Kalb bereiteten Präparate wie Nr. 8, sondern auch für die durch 20-stdg. Behandlung von Holz mit hochkonzentrierter Salzsäure erhaltenen Produkte wie Nr. 7. Auch ein nach H. Urban¹⁶⁾ dargestelltes Lignin wies einen ähnlichen, schwachen Kohlenhydrat-Gehalt auf. Es besteht offenbar keine Möglichkeit, diese letzten Reste durch Säure-Hydrolyse zu entfernen, ohne das Lignin gleichzeitig zu verderben. Auch die Extraktion mit Kupferoxyd-Ammoniak führt nicht weiter. Indessen sind Präparate, die nach dem Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahren nicht über 0.3% Polysaccharide ergeben, und die wir als „praktisch kohlenhydrat-frei“ bezeichnen, gut erreichbar und dürften unbedenklich für Abbau-Versuche verwendet werden.

Beziehungen zwischen der Holz-Hydrolyse, dem Kohlenhydrat-Gehalt des Lignins und der Lignin-Ausbeute.

An Hand der Prüfung durch das Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahren untersuchten wir nun systematisch die Aufschluß-Bedingungen von Fichtenholz, in der Absicht, den Punkt zu treffen, wo bei möglicher Milderung der Säure-Einwirkung eben noch ein praktisch kohlenhydrat-freies Produkt gewonnen wird. Es wurden zwei Versuchsreihen ausgeführt.

Bei der ersten, in Tabelle II wiedergegebenen Versuchsreihe hielten wir uns in der allgemeinen Arbeitsweise und der Isolierung der Präparate an die Vorschrift von R. Willstätter und L. Kalb, wonach zunächst eine kürzere, 4-stdg. Behandlung des Holzes mit hochkonzentrierter Salzsäure der Dichte 1.21 (gemessen bei 15⁰) und anschließend eine längere, 18-stdg. mit ver-

dünnterer Säure, beide bei Zimmer-Temperatur, vorgesehen sind. Der erste Vorgang, den wir mit „Haupt-Hydrolyse“ bezeichnen, dient vorzugsweise der Auflösung der Cellulose und Freilegung des Lignins, der zweite, den wir „Nach-Hydrolyse“ nennen, dem Abbau der Polysaccharide, der nur so weit geführt wird, daß eine glatte Filtration eben ermöglicht wird.

Wir variierten nur die Bedingungen der „Haupt-Hydrolyse“. Die Versuchs-Resultate besagen in Worten Folgendes: Bei Zimmer-Temperatur (17—20°) ist zumindest eine Säure der Dichte 1.205 anzuwenden. Tiefere Temperaturen führen bei derselben Säure-Konzentration zu Kohlenhydrat-Gehalt des Lignins (Nr. 1—4). Bei —10° tritt dieser auch mit einer Säure der Dichte 1.21 auf (Nr. 6). Dagegen kann bei Anwendung von Säure der letztgenannten Konzentration die Temperatur doch auf 1° erniedrigt werden (Nr. 5). Die Haupt-Hydrolyse ist bereits in 2 Stdn. vollständig. Was die „Nach-Hydrolyse“ betrifft, so wurde in einem besonderen (in der Tabelle nicht aufgeführten) Versuch festgestellt, daß der bezweckte Cellulose-Abbau bei 0° fast völlig unterbleibt. Die Aufarbeitung scheiterte in diesem Falle an der Unmöglichkeit, die bis zuletzt viscos bleibende Flüssigkeit zu filtrieren. Das suspendierte Lignin hatte nach 18 Stdn. noch die anfänglich grüne Farbe.

Aus diesen Versuchen ergibt sich zunächst, daß man unter den Bedingungen der Vorschrift von R. Willstätter und L. Kalb ein praktisch kohlenhydrat-freies Lignin erhält. Für die Lignin-Darstellung ziehen wir aus ihnen weiter die Nutzenwendung, daß wir die „Haupt-Hydrolyse“ schon bei tieferer Temperatur einleiten, was das Arbeiten mit der hochkonzentrierten Säure, besonders auch deren Dichte-Bestimmung erleichtert (bei 0° muß 1.222 gemessen werden). Im übrigen kürzen wir die „Haupt-Hydrolyse“ auf 2 Stdn. ab.

Die Feststellung gewisser Ausbeute-Beziehungen war von Wichtigkeit im Hinblick auf die weiter oben bereits erörterte Frage, ob im Verlaufe des Holz-Aufschlusses Kohlenhydrate durch Kondensation mit dem Lignin in dessen Komplex eintreten. Die Versuchs-Ergebnisse sprechen auch hier gegen eine solche Annahme. Während wir das unter normalen Aufschluß-Bedingungen bereitete, praktisch kohlenhydrat-freie Lignin mit ziemlicher Regelmäßigkeit in einer Ausbeute von 26—27% erhielten, waren die Ausbeuten kohlenhydrat-haltiger Präparate durchweg nach Maßgabe ihres Kohlenhydrat-Gehaltes höher (Nr. 3, 4, 6 u. 7). Durch Subtraktion der gefundenen Polysaccharide erhält man auch für diese Präparate den Gehalt an Rein-Lignin. Dieser liegt nicht unterhalb, sondern (abgesehen von unvermeidlichen Versuchs-Schwankungen) mindestens auf gleicher Höhe mit der Normal-Ausbeute von 26—27%. Es ergibt sich daraus als Schlußfolgerung, daß die Substanz-Menge des Lignins sich im Verlaufe des Holz-Aufschlusses nicht vermehrt, sondern gleich bleibt, was gegen die Annahme einer Kondensation des Lignins mit Kohlenhydraten spricht.

Es wurde gesagt, daß der durch Rechnung gefundene Rein-Lignin-Gehalt kohlenhydrat-haltiger Präparate „mindestens“ der Normal-Ausbeute von 26—27% entspricht. Tatsächlich kommt man nämlich bei sehr hohem Kohlenhydrat-Gehalt, bei Produkten, die etwa in der Mitte zwischen Lignin und Holz stehen, durch Rechnung zu einem Rein-Lignin-Gehalt, der um etwa 3—4% (auf Holz bezogen) höher liegt als 26—27% (Nr. 8 u. 9). Die Erklärung hierfür ist in dem Wesen des Chlordioxyd Natriumsulfit-Verfahrens zu suchen, durch welches vorhandene Hemi-cellulosen der Inkrusten, viel-

leicht neben stark abgebautem, aus der Skelett-Substanz stammendem Material (vergl. S. 1010), nicht erfaßt werden. Der dadurch bedingte Fehler macht sich bei niedrigerem Kohlenhydrat-Gehalt in den Ausbeute-Beziehungen nur deshalb nicht bemerkbar, weil er, auf Holz bezogen, alsbald so klein wird, daß er innerhalb der gewöhnlichen Ausbeute-Schwankungen zu liegen kommt (vergl. hierzu auch Tabelle I auf S. 1014). So ergibt sich nicht die Notwendigkeit, für die Versuche Nr. 8 u. 9 (Tab. II auf S. 1020) wirklich eine höhere Lignin-Ausbeute anzunehmen.

Bei der zweiten, in Tabelle III (S. 1022) wiedergegebenen Versuchsreihe bedienten wir uns einer anderen Arbeitsweise, wobei die „Nach-Hydrolyse“ in Wegfall kam. Das Holz wurde in allen Fällen gleichmäßig bei 0° mit einer Salzsäure der Dichte 1.22 (gemessen bei 0°) behandelt; variiert wurde nur die Dauer der Hydrolyse. Die Aufarbeitung geschah durch Eingießen in Wasser und Extraktion des ausgefällten Gemisches von Polysacchariden, Lignin und evtl. unaufgeschlossenem Material mit Kupferoxyd-Ammoniak.

In der Absicht, eine schonendere Lignin-Isolierung zu suchen, hat der eine von uns (Lieser) schon früher versucht, im Anschluß an eine kurze Behandlung des Holzes mit hochkonzentrierter Salzsäure cellulose-lösende Mittel, insbesondere die Viscose-Reaktion, zur Einwirkung zu bringen¹⁸⁾. Ein praktischer Erfolg wurde damals nicht erzielt, weil die Zeit der Salzsäure-Behandlung allzu kurz bemessen wurde. In Fortsetzung dieser Versuche verwendeten wir jetzt das geeignete Kupferoxyd-Ammoniak. Die Einwirkung dieses Mittels auf Holz oder anhydrolysiertes Holz war vorher bereits mehrfach¹⁹⁾ eingehend von E. Ungar²⁾ untersucht worden. Wir konnten die experimentellen Befunde von E. Ungar bestätigen und erweitern. Bei wiederholter Einwirkung von Kupferoxyd-Ammoniak auf Holz werden beträchtliche Anteile des Holzes gelöst, hauptsächlich Kohlenhydrate, nach E. Ungar „Lignocellulosen“. Ein kohlenhydrat-freies Lignin läßt sich durch Extraktion des Holzes mit Kupferoxyd-Ammoniak allein nicht erzielen, auch dann nicht, wenn der Extraktion eine Salzsäure-Behandlung von 20 Min. oder weniger vorausgegangen ist. Dagegen ergaben unsere Versuche, daß man nach mindestens 2–2½-stdg. Einwirkung von hochkonzentrierter Säure bei 0° durch Extraktion mit Kupferoxyd-Ammoniak ein praktisch kohlenhydrat-freies Lignin erhalten kann. Aus der Tatsache, daß bei kürzerer Dauer der Salzsäure-Behandlung die Polysaccharide der Lösung durch Kupferoxyd-Ammoniak noch nicht völlig zugänglich sind, muß gefolgert werden, daß sie noch nicht in freiem Zustande vorliegen bzw. die physikalische und chemische Bindung zwischen Lignin und Kohlenhydraten noch nicht vollständig gesprengt ist.

Es läßt sich nun auch hier beobachten, daß bei unzureichenden Aufschluß-Bedingungen kohlenhydrat-haltige Lignin-Präparate erhalten werden, deren Ausbeuten entsprechend ihrem Kohlenhydrat-Gehalt über der normalen liegen, sofern man als Normal-Ausbeute wieder die bezeichnet, in welcher unter geeigneten Bedingungen direkt eben ein praktisch kohlenhydrat-freies

¹⁸⁾ Th. Lieser, *Cellulose-Chemie* 7, 156 [1927].

¹⁹⁾ E. Fremy und M. Terreil, *Bull. Soc. chim. Paris* [2] 9, 436 [1868]; E. Fremy, *Compt. rend. Acad. Sciences* 83, 1136 [1876]; W. Hoffmeister, *Landwirtschaftl. Jahrbch.* 17, 239 [1888].

Lignin entsteht (vergl. besonders Nr. 6—9). Die Normal-Ausbeute beträgt in diesem Falle 21—23%, also etwa 4—5% weniger als bei der Arbeitsweise nach R. Willstätter und L. Kalb, was in der Löslichkeit des Lignins in Kupferammin-Cellulose-Lösung begründet ist²⁰⁾. Nach Abzug der durch Chlordioxyd-Natriumsulfit isolierbaren Polysaccharide erhält man auch hier für die kohlenhydrat-haltigen Präparate durch Rechnung den Rein-Lignin-Gehalt, und es zeigt sich, daß er, ebenso wie in der ersten Versuchsreihe, der Normal-Ausbeute etwa entspricht.

Es besteht indessen doch ein bemerkenswerter Unterschied zwischen den kohlenhydrat-haltigen Präparaten, die bei unvollständigem Aufschluß einerseits nach R. Willstätter und L. Kalb, andererseits nach der Salzsäure-Kupferammin-Methode entstehen. Da die Präparate letzterer Art bereits eine Kupferoxyd-Ammoniak-Behandlung durchgemacht haben, ihr gegenüber demnach resistent sind, liegen ihre Kohlenhydrate offenbar noch in physikalischer und chemischer Bindung mit dem Lignin vor. Im Gegensatz hierzu können, wie weiter oben gezeigt wurde, die Kohlenhydrate der nach R. Willstätter und L. Kalb isolierten Präparate leicht durch Extraktion herausgelöst werden. Vielleicht ist das abweichende Verhalten so zu erklären, daß im letzteren Falle, selbst bei unvollständigem Aufschluß, durch die Wirkung der „Nach-Hydrolyse“ doch die chemische Bindung zwischen Lignin und Polysacchariden gelöst wird, nicht aber die physikalisch-adsorptive, die ihrerseits dem Angriff des Kupferoxyd-Ammoniak kein Hindernis bietet. Als äußeres Zeichen scheint für diese Annahme zu sprechen, daß die Salzsäure-Verbindung der nach R. Willstätter und L. Kalb bereiteten Präparate selbst bei starkem Kohlenhydrat-Gehalt doch immer schon die schwarzbraune Farbe der Salzsäure-Verbindung des kohlenhydrat-freien Lignins zeigt und nicht mehr die grüne, die wir demgemäß, im Einklang mit der Anschauung von E. Hägglund und C. B. Björkman⁸⁾, als speziell der Salzsäure-Verbindung des noch physikalisch und chemisch verketteten Lignin-Kohlenhydrat-Komplexes zukommend annehmen.

Die Salzsäure-Kupferammin-Methode läßt sich ohne Zweifel zur Darstellung von Lignin verwenden. Ob die größere Schonung des Lignins infolge Wegfalls der „Nach-Hydrolyse“ eine nachweisbare Qualitäts-Verbesserung mit sich bringt, steht noch nicht fest. Nur eine solche würde die größere Umständlichkeit, zu der noch Filtrations-Schwierigkeiten kommen, aufwiegen. Jedenfalls erfährt aber, wie weiter oben schon gezeigt wurde, das Lignin durch Kupferoxyd-Ammoniak keine nachweisbare Schädigung, wenn auch nicht verschwiegen sei, daß die Farbe weniger hell ist als die des nach R. Willstätter und L. Kalb dargestellten Produktes. Vermutlich wird dies aber nur durch minimale, anhaftende Kupfer-Spuren verursacht, die sich in der Asche auch nachweisen lassen.

²⁰⁾ In besonderen, hier nicht wiedergegebenen Versuchen haben wir uns davon überzeugt, daß die fehlenden Lignin-Mengen in C₆n aus dem Kupferoxyd-Ammoniak-Extrakt wieder ausgefällten Polysacchariden auch tatsächlich feststellbar sind, nämlich durch Bestimmung des Methoxyl-Gehaltes, des nach Behandlung mit hochkonzentrierter Salzsäure verbleibenden Rückstandes und der Gewichts-Abnahme nach Behandlung mit Chlordioxyd-Natriumsulfit; vergl. auch Fußnote 15.

Beschreibung der Versuche.

Untersuchung kohlenhydrat-haltiger Lignin-Präparate. Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahren.

(Unter Mitwirkung von Fr. Kucher.)

2 g des gut pulverisierten Lignin-Präparates werden, vor Licht geschützt, mit 150 ccm 1-proz. Chlordioxyd-Lösung 2 Tage bei Zimmer-Temperatur behandelt. Man zerstört dann das überschüssige Chlordioxyd durch Zusatz von festem Natriumsulfit (Prüfung durch Jodkalium-Stärke-Papier), gibt noch 3 g des Salzes zu, neutralisiert mit Soda und erwärmt einige Zeit auf dem Wasserbade. Die erkaltete Lösung wird, ohne zu saugen, auf einem Glasfilter-Tiegel (Porenweite 5—7) abfiltriert und der Filter-Rückstand mit wenig Wasser gewaschen. Die Behandlung wird wiederholt, wobei 1-tägige Dauer und weniger Chlordioxyd-Lösung und Sulfit ausreichen. Gleichzeitig mit der zweiten Chlordioxyd-Behandlung stellt man gesondert auch den leeren Tiegel in Chlordioxyd, um auch das in den Poren verbleibende Material der zweiten Behandlung zuzuführen. Sollte der Rückstand der ersten Behandlung sehr gering sein, so empfiehlt es sich, zwecks Wiederholung den Tiegel gleich samt Rückstand in Chlordioxyd-Lösung einzustellen. In diesem Falle besorgt man auch das Auslaugen mit Sulfit auf dem Tiegel, indem man unter öfterem Absaugen mit heißer 2-proz. Natriumsulfit-Lösung wäscht, bis diese farblos abläuft. Die evtl. verbleibenden, farblosen Polysaccharide werden mit Wasser gewaschen und bei 100° zur Gewichtskonstanz getrocknet, wobei sie sich mehr oder weniger bräunen.

Beispiel: Lignin-Präparat Nr. 2 (Tabelle I). Asche 0.45 %, Chlor 0.31 %, Methoxyl-Gehalt 12.5 %²¹⁾.

Chlordioxyd-Natriumsulfit-Aufschluß: 2.001 (1.626) g Sbst. ergaben 0.392 (0.314) g, entspr. 19.6 (19.3) % Polysaccharide.

Hydrolyse und Vergärung: 0.670 g der isolierten Polysaccharide wurden mit Schwefelsäure hydrolysiert²²⁾. Das Hydrolysat wurde in 2 Hälften geteilt und deren eine mit *Sacharomyces cerevisiae*, die andere selektiv mit *Schizosaccharomyces Pombe* vergoren. Es wurden 0.247 (0.254) g Hexose, entspr. 66.4 (68.2) % Hexosan, bezogen auf die angewandten Polysaccharide, oder 13.0 (13.4) % Hexosan, bezogen auf das angewandte Lignin-Präparat, gefunden.

Chlordioxyd-Aceton-Verfahren.

Die Präparate wurden 7 Tage mit der 200-fachen Menge 0.6-proz. Chlordioxyd-Lösung behandelt. Der ungelöste Rückstand wurde abfiltriert und bei 60° getrocknet. Das Filtrat wurde durch einen Luftstrom von Chlordioxyd befreit, im Vakuum bei 50—60° eingengt und im Faust-Heimschen Fön-Apparat zur Trockne gebracht. Beide Rückstände wurden vereinigt und erschöpfend am Rückflußkühler mit absol. Aceton ausgekocht. Die ungelösten, rohen Kohlenhydrate wurden unter Abschluß von Luft-Feuchtigkeit auf gehärtetem Filter abgesaugt und getrocknet.

Beispiele: Lignin-Präparate Nr. 3 und Nr. 4 (Tabelle I). Polysaccharid-Gehalt nach dem Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahren: 9.2 bzw. 8.5 %²³⁾.

²¹⁾ Die Darstellung des Präparates erfolgte unter ähnlichen Bedingungen wie Nr. 7 der Tabelle II.

²²⁾ E. Schmidt, F. Trefz und H. Schnegg, B. 59, 2640 [1926]. — Hrn. Trefz sind wir für frdl. Ausführung eines Teiles der Gärungen zu Dank verpflichtet.

²³⁾ Die Präparate waren etwa unter den Bedingungen von Nr. 6 der Tabelle II gewonnen worden.

Chlordioxyd-Aceton-Aufschluß: 2.857 g Nr. 3 (2.853 g Nr. 4) ergaben 0.589 (0.480) g, entspr. 20.6 (16.8) % rohe, grau-braune Kohlenhydrate.

Hydrolyse und Vergärung: 0.342 (0.270) g dieser rohen, aus Nr. 3 (Nr. 4) stammenden Kohlenhydrate hinterließen bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure 0.137 (0.068) g, entspr. 40 (25) % Unhydrolysierbares. In den Hydrolysaten wurden durch Vergärung mit *Saccharomyces cerevisiae* gefunden 0.172 (0.194) g Hexosen, entspr. 45.3 (64.6) % Hexosan, bezogen auf die rohen Kohlenhydrate, oder 9.3 (10.9) % Hexosan, bezogen auf die angewandten Lignin-Präparate Nr. 3 (Nr. 4).

Extraktion mit Kupferoxyd-Ammoniak.

Die Lignin-Präparate wurden mit der 20-fachen Menge Kupferoxyd-Ammoniak (wir verwendeten eine kalt gesättigte Auflösung von Kupfercarbonat in 25-proz. Ammoniak) in Pulverflaschen mit gut eingeschliffenem Stöpsel über Nacht stehen gelassen und noch 4 Std. auf der Maschine geschüttelt. Dann wurde durch eine weitporige Glasfilter-Nutsche filtriert (besser ist es, man zentrifugiert) und das Lignin mit Kupferoxyd-Ammoniak und Wasser nachgewaschen. Aus dem Extrakt nebst Waschflüssigkeit wurden die gelösten Kohlenhydrate durch Ansäuern mit Salzsäure unter Eiskühlung ausgefällt.

Wird die Methode zur präparativen Reinigung von kohlenhydrathaltigem Lignin benützt, so wird das Lignin im Anschluß an die Extraktion zur Entfernung anhaftender Kupfersalze 1—2-mal während einiger Stunden in sehr verdünnte Salzsäure eingelegt und schließlich mit Wasser, sehr verdünntem Ammoniak und Wasser gewaschen. Es empfiehlt sich, die Extraktion zur Sicherheit zu wiederholen, obwohl dies häufig, wie in nachstehendem Beispiel, nicht nötig war.

Extraktion von Lignin-Präparat Nr. 2 (Tabelle I).

4.847 (2.412) g Lignin Nr. 2	ergaben
zum 1. Male extrahiert:	3.730 (1.850) g, entspr. 77.0 (76.8) % Rückstand,
„ 2. „	„ : 3.641 (1.796) g, „ 75.3 (74.5) % „
„ 3. „	„ : 3.567 g, „ 73.3 % „

Die hohe Gewichts-Abnahme bei der ersten Extraktion entspricht der praktisch vollständigen Auflösung der Kohlenhydrate, die durch Ansäuern des Extraktes wieder ausfällbar waren. Der zweite Extrakt gab beim Ansäuern kaum noch eine Trübung. Die geringe Gewichts-Abnahme bei der zweiten Extraktion, die sich bei der dritten wiederholt, also ungefähr konstant bleibt, rührt von der Löslichkeit des Lignins selbst her.

Isolierung der Kohlenhydrate aus dem Extrakt: In einem anderen Versuche ergaben 5.5 g Lignin Nr. 2 bei 1-maliger Extraktion 75.4 % Rückstand. Der Gewichtsverlust betrug demnach 24.6 %. Demgegenüber waren aus dem Extrakt durch Ansäuern fällbar 17.8 %. Diese rohen Polysaccharide waren durch Lignin verunreinigt. Sie wurden davon durch Behandlung mit Chlordioxyd-Natriumsulfit befreit, wodurch die Ausbeute weiter auf 15.9 % zurückging. (Die Zahlen sind immer auf Lignin bezogen.)

Hydrolyse und Vergärung: 0.267 g der so gereinigten Polysaccharide wurden wie oben hydrolysiert und zur einen Hälfte mit *Saccharomyces cerevisiae*, zur anderen selektiv mit *Schizosaccharomyces Pombe* vergoren. Dabei wurden gefunden

0.114 (0.113) g Hexose, entspr. 76.9 (76.2) % Hexosan, bezogen auf die gereinigten Polysaccharide. Diese waren demnach frei von Galaktose. Auf Lignin bezogen, entsprechen diese Ausbeuten 12.2 bzw. 12.1 % Hexosan. Diese Werte stimmen nicht schlecht mit dem Vergärungs-Resultat (13.0 bzw. 13.4 %) überein, welches bei Isolierung der Polysaccharide durch Chlordioxyd-Natriumsulfid erhalten wurde.

Kohlenhydrat-Gehalt des aus Nr. 2 gewonnenen extrahierten Lignins: 1.075 g Subst. ergaben nach dem Chlordioxyd-Natriumsulfid-Verfahren 0.003 g, entspr. 0.24 % Polysaccharide.

Methoxyl-Bestimmung des extrahierten Lignins: 0.2301 (0.2211) g Subst.: 0.2687 (0.2521) g AgJ. — Gef. OCH_3 15.4 (15.0) %.

Methylierung: Sie erfolgte nach H. Urban¹⁶⁾ mit der 30-fachen Menge Dimethylsulfat und Kalilauge in der Kälte. Die Methoxyl-Bestimmung des Produktes aus 1- (I) und 2-maliger (II) Methylierung ergab: 0.2040 g Subst.: 0.3720 g AgJ. — 0.1500 g Subst.: 0.3270 g AgJ. — Gef. OCH_3 (I) 24.0, (II) 28.5 %.

Aufschluß von Fichtenholz unter verschiedenen Versuchsbedingungen im Rahmen des Verfahrens von R. Willstätter und L. Kalb.

Als Ausgangsmaterial diente astfreies Fichtenholz-Sägemehl, gesiebt durch ein Sieb von 100 Maschen pro qcm. Die Entharzung erfolgte nach E. Ungar²⁾ durch Behandlung mit Wasser und Aceton in der Kälte, was wir nach besonderen Versuchen ebenso wirksam fanden wie Auskochen mit Benzol-Alkohol²⁴⁾. Das enthartzte Holz wurde luft-trocken²⁵⁾ verwendet. Bei den in Tabelle II wiedergegebenen Versuchen entsprachen die Mengen-Verhältnisse, sowie die Isolierung und Reinigung der erhaltenen Präparate den Angaben der Literatur-Vorschrift³⁾. Un Substanz-Verluste zu vermeiden, wurden die Lignin-Präparate auf gehärtetem Filter abgesaugt. Sämtliche Zahlen beziehen sich auf wasser- und asche-freie Substanzen.

Tabelle II.

Nr.	„Haupt-Hydrolyse“			Holz-Einwage g	(A) Roh-Lignin-Ausbeute		Roh-Lignin-Einwage g	(B) Kohlenhydrat-Ausbeute			(A-B) Ber. Rein-Lignin % vom Holz
	HCl-Dichte (15°)	Temp. (°)	Zeit in Stdn.		g	% vom Holz		g	% vom Lignin	% vom Holz	
1	1.205	20	4	18.00	4.760	26.44	2.600	0.0088	0.34	0.10	26.34
2	1.205	17	4	18.00	4.794	26.63	2.848	Spuren	0.00	0.00	26.63
3	1.205	+9	4	18.00	4.884	27.13	2.252	0.0195	0.87	0.24	26.89
4	1.205	—7	4	17.98	5.215	29.00	2.595	0.1264	4.87	1.41	27.59
5	1.210	+1	2	18.96	5.079	26.79	1.472	0.0020	0.14	0.04	26.75
6	1.210	—9	2	8.68	2.459	28.33	1.810	0.1642	9.07	2.57	25.76
7	1.193	—9	2	8.68	3.046	35.09	2.429	0.5683	23.40	8.21	26.88
8	1.187	—9	2	8.68	5.223	60.17	3.583	1.8372	51.28	30.86	29.31
9	1.182	—9	2	8.68	6.230	71.78	4.099	2.3576	57.52	41.29	30.49

²⁴⁾ Eine gute Entharzung erreichen wir neuerdings durch 3-mal 1-tägiges Auslaugen des Holzes in der Kälte mit dem billigeren Lösungsmittel „E 13“ (Gemisch von Methyl- und Äthylacetat) der I. G. Farbenindustrie A.-G.

²⁵⁾ Es enthält dann noch ca. 10 % hygroskopische Feuchtigkeit. Trocknung bei höherer Temperatur vermeiden wir im Hinblick darauf, daß isoliertes Lignin sich dabei infolge Luft-Oxydation bräunt.

Darstellung von Lignin.

Auf Grund unserer Versuchsergebnisse arbeiten wir nach der folgenden, gegenüber den Angaben von R. Willstätter und L. Kalb etwas modifizierten Vorschrift: 100 g luft-trockenes Fichtenholz-Mehl werden auf einmal mit 2 l Salzsäure der Dichte 1.222 (gemessen bei 0°) und der Temperatur von 1—5° übergossen. Das Gemisch wird sofort kräftig durchgeschüttelt und ohne Kühlung unter öfterem Durchschütteln 2 Stdn. stehen gelassen. Inzwischen nähert sich seine Temperatur der des Arbeitsraumes. Man versetzt nun in einigen Portionen mit 650 g Wasser (oder nach Bedarf statt dessen mit Eis), wodurch man gleichzeitig die Temperatur auf 18—20° bringt, und läßt bei derselben Temperatur weitere 18 Stdn. stehen. Hierauf verdünnt man nochmals mit 650 ccm Wasser und saugt sofort auf Baumwollstoff ab. Man wäscht zunächst auf der Nutsche mit 2 l Salzsäure 1 : 1 und viel Wasser. Zur Reinigung wird das zu gleichmäßigem Brei verriebene Produkt 10 Min. mit 2 l Wasser unter Zugabe von Soda (bis zur bleibenden neutralen Reaktion) und noch 8-mal je 10 Min. mit reinem Wasser ausgekocht.

Ein so gewonnenes Lignin (Nr. 8 der Tabelle I) war in der Farbe nur wenig dunkler als das verwendete Holz und heller als die Nuance „13 k e“ des Ostwaldschen Farbatlas. Ausbeute 25%²⁶⁾, bezogen auf wasser- und asche-freie Materialien. Asche 0.25%, Chlor 0.75%²⁷⁾, Methoxyl 15.87%, Kohlenhydrate nach dem Chlordioxyd-Natriumsulfit-Verfahren: 0.17% Polysaccharide, nach der hydrolytischen Methode: 0.63% Glykose (bei 48-stdg. Hydrolyse, 0.94% Glykose (bei 5-tägiger Hydrolyse). Die Pentosan-Bestimmung nach Tollens ergab kein schwarzgrünes Furool-Phloroglucid, sondern 5% eines schmutzig rotbraunen Niederschlages (vergl. K. Freudenberg und M. Harder⁷⁾).

Aufschluß von Fichtenholz durch Salzsäure-Hydrolyse und anschließende Extraktion mit Kupferoxyd-Ammoniak.

Das Holzmehl wurde mit der 25-fachen Menge Salzsäure der Dichte 1.22 (0°) bei 0° unter häufigem Durchschütteln während der in Tabelle III angegebenen Zeiten stehen gelassen. Dann wurde in die 5-fache Menge mit gepulvertem Eis versetzten Wassers eingegossen und der Niederschlag nach kurzem Stehen abgesaugt. Nach gründlichem Waschen mit Wasser und verd. Ammoniak und kräftigem Abpressen wurde er noch feucht in die 30-fache Menge Kupferoxyd-Ammoniak eingetragen, damit über Nacht stehen gelassen und noch 4 Stdn. auf der Maschine geschüttelt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte in der bei der Extraktion von Lignin-Präparaten angegebenen Weise.

²⁶⁾ Gewöhnlich 26—27%. Die von R. Willstätter und L. Kalb vorgesehene Reinigung durch Auskochen bei Gegenwart von Soda bringt gewisse Verluste durch Entfernung alkali-löslicher Bestandteile mit sich.

²⁷⁾ Die Lignin-Präparate enthalten trotz gründlichen Auskochens (auch unter Verwendung von Soda) 0.3—0.9% an vermutlich organisch gebundenem Chlor, womit eine frühere Angabe des einen von uns (Kalb, Fußnote 3) richtiggestellt sei. Die Verhältnisse sind inzwischen von K. Kürschner („Zur Chemie der Ligninkörper“, Sonderausgabe chem.-techn. Vorträge, Stuttgart 1925, S. 42) eingehend studiert worden.

Tabellè III.

Nr.	Einwage g	Material	Dauer der HCl- Behandlung (Min.)	Mit Kupfer- oxyd-Ammoniak behandelt:	Roh-Lignin- Ausbeute	
					g	% (vom Holz)
1	4.000	Holz	6	einmal	2.784	69.6
2	3.995	"	10	"	2.406	60.3
2a	2.406	Produkt aus Nr. 2	—	zum 2. Male	2.195	54.9
3	4.007	Holz	15	einmal	2.241	56.0
3a	2.241	Produkt aus Nr. 3	—	zum 2. Male	2.100	52.4
4	4.004	Holz	30	einmal	1.888	47.2
5	2.989	"	45	"	1.055	35.5
5a	1.934	Produkt aus Nr. 5	—	zum 2. Male	0.936	32.1
5b	0.935	" " " 5a	—	" 3. "	0.905	31.1
5c	0.904	" " " 5b	—	" 4. "	0.894	30.8
6	4.033	Holz	60	einmal	1.039	26.8
7	4.000	"	90	"	1.008	25.4
8	4.050	"	120	"	0.932	23.0
9	4.100	"	150	"	0.932	22.7

Chlordioxyd-Natriumsulfit-Behandlung einiger der vorstehenden Präparate:

Nr.	Einwage g	Rückstand g	Polysaccharide, in % des Lignin- Präparates	Berechnete ²⁸⁾ Rein- Lignin-Ausbeute % vom Holz
5c	0.760	0.222	29.2	21.9
6	0.869	0.187	21.5	21.1
7	0.199	0.023	11.5	22.5
8	0.676	0.007	1.0	22.8

Für die Unterstützung dieser Arbeit möchten wir der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft auch an dieser Stelle unseren aufrichtigsten Dank aussprechen.

155. Ernst Koenigs, Hans Christian Gerdes und Alfred Sirot: Über die Nitrierung des 3-Äthoxy-pyridins.

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Breslau.]

(Eingegangen am 28. März 1928.)

Substitutionsprodukte der 2- und 4-Amino- und -Oxy-pyridine sind vielfach dargestellt worden, so von Marckwald, Collie, Tschitschibabin, Ernst Koenigs und deren Mitarbeitern. Besonders die Sulfurierung und Nitrierung ist eingehend untersucht worden. Bei diesen gehen die neu ein-

²⁸⁾ Durch Abzug der gefundenen Polysaccharide von den Roh-Ausbeuten.