

mit Schwefelsäure oder Salzsäure¹³⁾ bestimmt, Pentosan in der üblichen Weise durch Kochen der Probe mit Salzsäure und Fällung des Destillats mit Phloroglucin. Die Genauigkeit der Methode schien uns für den vorliegenden Zweck ausreichend. Methoxyl wurde bestimmt nach Benedict und Bamberger¹⁴⁾. Die Kochungen mit sek. Natriumsulfit wurden in einem Bronze-Autoklaven mit Porzellan-Einsatz ausgeführt, die Kochungen mit Natronlauge im Eisen-Autoklaven. Kochtemperatur bei Natriumsulfit 170°, bei Natronlauge 140°; Kochdauer 7 Stdn. Die Rückstände wurden in beiden Fällen nach dem Auswaschen bei 60° 24 Stdn. getrocknet.

Elementaranalysen:	C	H
HCl Lignine 1) Haselnuß grün extrahiert mit Trichlor-äthylen	59.31	5.74
2) Buchenblätter extrahiert mit Trichlor-äthylen	58.28	4.96
3) Haselnuß, wäßr. Auszug	61.48	4.68
Kochrückstand: Buche grün 40% NaOH	50.61	7.12

77. R. S. Hilpert und H. Hellwage: Buchenholz-Lignin, ein Reaktionsprodukt der Kohlehydrate bei der Lignin-Bestimmung.

[Aus d. Institut für Chem. Technologie d. Techn. Hochschule Braunschweig.]
(Eingegangen am 15. Januar 1935.)

Nach der Literatur unterscheidet sich das Holz der Rotbuche von dem der Fichte in chemischer Beziehung durch seinen etwas höheren Methoxyl-Gehalt und vor allem durch die geringen Mengen an Lignin, die bei der Behandlung mit starker Salzsäure oder Schwefelsäure zurückbleiben (24% bei Buche, 29% bei Fichte). Das Methoxyl des Holzes ist nach allgemein angenommener Anschauung wesentlich an das Lignin gebunden, so daß sich aus der Methoxyl-Zahl das Lignin indirekt berechnen läßt. Unter der Voraussetzung, daß die Lignin-Komponente 15% OCH₃ enthält, hat man für Buchenholz einen Gehalt an wahren Lignin von 27—33% berechnet, gegenüber etwa 24%, die bei der Bestimmung gefunden werden¹⁾. Auf der anderen Seite hat man allerdings wieder Buchenholz-Lignine mit 21% OCH₃²⁾ dargestellt, was mit der Annahme eines Normal-Lignins nicht in Einklang zu bringen ist.

Wir haben nun festgestellt, daß es sich in allen Fällen um Reaktionsprodukte handelt, und daß das Lignin im Holz nicht vorhanden ist. Ausgehend von der Beobachtung, daß die Verharzung der Zucker durch Säure mit sinkender Temperatur rasch abnimmt, haben wir Versuche bei —10° vorgenommen, und zwar unter Verwendung von mit Chlorwasserstoff gesättigter Salzsäure. Die Reaktion verlief so rasch, daß schon nach 2 Stdn. nur 12% eines Rückstandes vorhanden waren, der in seiner

¹³⁾ Schwalbe-Sieber, loc. cit., S. 123; Papier-Fabrik. **30**, 62 [1932].

¹⁴⁾ Schwalbe-Sieber, loc. cit., S. 127.

¹⁾ Heß, Chemie d. Cellulose [Berlin, 1928], S. 179, 189.

²⁾ Waentig u. Kerény, zitiert nach Heß, l. c., S. 192.

Zusammensetzung in der Mitte zwischen Holz und dem eigentlichen Lignin stand, wie die Zusammenstellung zeigt:

	C	H	OCH ₃
Ausgangsholz	49.3	6.0	6.2
Rückstand (I)	56.15	5.6	12.8
Lignin (I)	60.0	6.2	16.7

Erst nach 24-stdg. Stehen nahm die Menge des Rückstandes infolge von Ausscheidungen aus der Lösung wieder zu. Die Reaktionsstufe ist also so charakteristisch, daß der Anschein erweckt wird, als ob ein im Holz vorhandener Bestandteil durch die Behandlung mit Säuren freigelegt wird. Wenn das der Fall wäre, müßte sich die Verbindung infolge ihrer Zusammensetzung schon während der ersten Stadien der Hydrolyse durch Steigerung des Kohlenstoff- und Methoxyl-Gehaltes bemerkbar machen. Bei Verwendung der gesättigten Salzsäure verlief aber die Reaktion auch bei -10° noch so schnell, daß es nicht gelang, sie früher aufzuhalten. Unter Verwendung von Salzsäure $d = 1.19$ gelang es, die Reaktion so zu verlangsamen, daß nach der Filtration nur etwa 30–40% in Lösung gegangen waren. Dieser Rückstand besaß noch die Zusammensetzung des Ausgangs-Holzes, der kohlenstoff- und methoxyl-reichere Körper war in ihm noch nicht vorhanden. Es handelt sich also tatsächlich um ein Reaktionsprodukt von ganz bestimmter, immer wiederkehrender Zusammensetzung, das man als Zwischenstufe der Reaktionsfolge betrachten kann, die zum Lignin führt. Als wir nämlich die Substanz bei $15-20^{\circ}$ mit 43-proz. Salzsäure behandelten, ging sie in das endgültige Lignin (I) über, das die Zusammensetzung vieler, in der Literatur beschriebener Lignine besaß. Das Vorhandensein einer ziemlich stabilen Zwischenverbindung macht es aber erklärlich, daß man häufig Angaben findet, daß die Lignine „kohlehydrat-haltig“ ausgefallen seien. Dagegen wird das Ortho-lignin von Paloheino³⁾, der so den von Säuren nicht angreifbaren Teil des Lignins benennt, wahrscheinlich dem Endzustand entsprechen.

Bei der Behandlung des Buchenholzes mit Säure war der größte Teil der Substanz in Lösung gegangen. Beim Verdünnen mit Wasser entstand ein flockiger Niederschlag, dessen Menge etwa 50% von der des angewandten Holzes betrug. Seine Zusammensetzung entsprach ziemlich genau einem methylierten Cellulose-anhydrid von der Formel $2 C_6H_{10}O_5 - H_2O$ mit 1 Methoxyl auf 2 Cellulose-anhydride. Auch dieser Körper wurde bei Wiederholungen in gleicher Menge und in annähernd gleicher Zusammensetzung erhalten. Es handelt sich hier also um eine in die Klasse der Kohlehydrate gehörige methylierte Verbindung. Bei $15-20^{\circ}$ mit konz. Salzsäure behandelt, ging sie in Lignin (II) über, das die normale Elementar-zusammensetzung besaß und den auffällig hohen Methoxyl-Gehalt von 21%. Dies ist der maximale Wert, der nach der Literatur bei präparativer Darstellung von Buchenholz-Ligninen erreicht worden ist. Damit ist auch die Mutter-substanz dieses Lignin-Anteils geklärt. Das Filtrat war wasserhell und wird augenblicklich noch untersucht. Es liefert bei der Bestimmung die etwa 8%, die an den 24% Gesamt-lignin noch fehlen. Aus den Eigenschaften der Lösung geht aber hervor, daß sie jedenfalls nur Kohlehydrate und wasserlösliche Verbindungen, aber kein Lignin im üblichen Sinn, enthalten kann.

³⁾ Biochem. Ztschr. **214**, 161 ff. [1930].

Damit ist nachgewiesen, daß das gesamte Buchenholz-Lignin kein Bestandteil des Holzes, sondern ein Reaktionsprodukt ist. Der Einfluß der Temperatur auf seine Zusammensetzung deutet darauf hin, daß die gesamten Lignine durch Einwirkung der Säure auf Kohlehydrate entstehen. Ebenso ist nachgewiesen, daß in Kohlehydraten gebundenes Methoxyl in das Reaktionsprodukt übergeht. Damit sind alle Folgerungen hinfällig, welche man aus der Annahme eines methoxyl-haltigen Lignins bzw. der Bindung des Methoxyls im Holz gezogen hat.

Das Auftreten größerer Mengen eines Cellulose-anhydrids beweist, daß mit der Stufe der Cellulose die Grenze der Wasser-Abspaltung im Holz noch nicht erreicht ist. Nimmt man an, daß auch das Cellulose-anhydrid durch Hydrolyse einer noch wasser-ärmeren Stufe entstanden ist, so kommt man rechnerisch zu zunächst noch hypothetischen Verbindungen, welche aber ganz die Zusammensetzung der Hölzer besitzen müssen. So z. B. würde die Verbindung $3\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5 - 2\text{H}_2\text{O}$ mit 1 Methoxyl zu folgenden Zahlen führen: C 49.14, H 6.04, OCH_3 6.68; es sind die gleichen, wie sie in der Literatur für Buchenholz angegeben werden. Daß das an Kohlehydrate gebundene Methoxyl bei der Behandlung mit Säuren zum Teil in dem Reaktionsprodukt verbleibt, ist für einen bestimmten Fall nachgewiesen. In dieser Beziehung würde sich eine solche Verbindung wie Holz verhalten. Aber nicht alle Eigenschaften der verholzten Gewebe lassen sich so erklären, insbesondere nicht ihre leichte Oxydierbarkeit. Die Untersuchung des wasser-löslichen Spaltproduktes wird hier wahrscheinlich weiter führen. Wie Hr. Dr. Peters in dem hiesigen Laboratorium gefunden hat, enthält das Hydrolysat des Strohes Verbindungen, die mit Luft-Sauerstoff Superoxyde bilden. Ihre genaue Kenntnis ist notwendig, bevor endgültige Schlüsse gezogen werden können. Daneben besteht natürlich auch die Möglichkeit, daß eine besondere gegenseitige Bindung der bekannten Kohlehydrate die Oxydierbarkeit bedingt.

Beschreibung der Versuche.

2 g feine Sägespäne aus Rotbuchen-Holz wurden mit 200 ccm einer in Eis-Kochsalz mit Chlorwasserstoff gesättigten Salzsäure unter weiterer Kühlung und Einleiten von HCl heftig turbiniert. Die Teilchen färbten sich braunrot. Dann wurde durch ein großes Quarzfilter bei einer Außentemperatur von etwa 6° möglichst schnell abfiltriert. Der Rückstand (I) betrug (bezogen auf absolut trocknes Holz) nach dem Trocknen bei 105° :

nach $2\frac{1}{2}$ h	4 h	7 h	10 h	24 h
12,6	12,5	12,3	12	15,65 %.

Aus den Zahlen geht hervor, daß nach 24 Stdn. eine neue Reaktion der bereits gelösten Teile stattfindet.

Zusammensetzung des Rückstandes I nach 7—10 Stdn. aus 2 Versuchs-Reihen:

C	H	OCH_3
56.3	5.73	12.9
56.05	5.54	12.8

Derselbe Körper wurde bei $15-20^{\circ}$ weiter mit 42-proz. Salzsäure behandelt. Nach 24 Stdn. hatte sich eine tief dunkelrote Lösung mit schwarzen Flocken gebildet. Nach dem Verdünnen wurde abfiltriert und bei 105° im Vakuum getrocknet. Ausbeute 11,7 % des Holzes.

Zusammensetzung von Lignin I:

C 60.0, H 6.2, OCH₃ 16.7.

Das schwach gelblich gefärbte Filtrat vom Rückstand I wurde unter Kühlung mit Wasser verdünnt, wobei sich weißliche Flocken abschieden, die abzentrifugiert und ausgewaschen wurden. Nach dem Trocknen wurde ein rötliches Pulver erhalten, das dem Lignin äußerlich sehr ähnlich ist. Ausbeuten 49—50%.

Elementar-zusammensetzung aus 2 Versuchs-Reihen:

C 47.23, 47.72, H 5.93, 6.25, OCH₃ 5.12, 5.19.

ber. für: C₁₂H₁₈O₉ C 47.06, H 5.88.

C₂₅H₃₈O₁₈ „ 47.90, „ 6.12, OCH₃ 4.95.

= 2[C₆H₁₀O₃ - H₂O] + CH₃.

Die Verbindung wurde in konz. Salzsäure gelöst und bei gewöhnlicher Temperatur entsprechend den Vorschriften der Lignin-Bestimmung behandelt. Nach kurzer Zeit schied sich ein dunkler, flockiger Niederschlag ab: 7.2%, bezogen auf das Ausgangsmaterial. Es lag auch hier nach der Zusammensetzung ein normales Lignin vor (Zahlen aus 2 Versuchs-Reihen):

C 61.14, 60.26, H 6.3, 5.93, OCH₃ 17.7, 20.9.

Das schwach gelbliche Filtrat von dem Cellulose-anhydrid wird noch näher untersucht. Es besteht zweifellos auch zum größten Teil aus Kohlehydraten, die den Rest des noch fehlenden Lignins liefern, der bei der Behandlung des Ausgangs-Holzes hinterbleibt.

Zur partiellen Hydrolyse ohne Lignin-Bildung wurden 0.93 g Buchenspäne mit Salzsäure von $d = 1.19$ 1¹/₂ Stdn. in der Kältemischung behandelt. Rückstand 0.5665 g = 60.9% des Ausgangs-Holzes. 2. Versuch 70% Rückstand. Zusammensetzung (2 Versuchs-Reihen):

C 49.44, 49.50, H 6.05, 6.03, OCH₃ 6.7, 6.87.

Die gleiche Zusammensetzung besitzt das Rotbuchen-Holz.

C 49.05, 49.3, H 6.11, 5.8, OCH₃ 6.2, 6.4.

78. Richard Kuhn und Hermann Rudy: Synthetische Vitamin-B₂-Phosphorsäure.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 22. Januar 1935.)

Der Feststellung von H. Theorell¹⁾, daß im „gelben Ferment“ von O. Warburg und W. Christian die Farbstoff-Komponente (Flavin) an Phosphorsäure gebunden ist, kommt nicht nur für die Enzym-Forschung größte Bedeutung zu. Sie ist mit Rücksicht auf die Vorstellung von R. Kuhn, P. György und Th. Wagner-Jauregg²⁾, wonach die Farbstoff-Komponente des Ferments ein Vitamin (B₂) ist, auch für die Lehre von der Ernährung bedeutungsvoll. Es bedarf jetzt der Überprüfung, ob das Vitamin B₂, dort wo es in frei dialysierbarer Form angetroffen wird, als Phosphorsäure-ester vorliegt oder nicht, und ob quantitative Unterschiede in der Wachstums-Wirkung zwischen Flavin und Flavin-phosphorsäure bestehen. Die Unter-

1) Biochem. Ztschr. **275**, 37, 466 [1934].

2) B. **66**, 1034 [1933].