

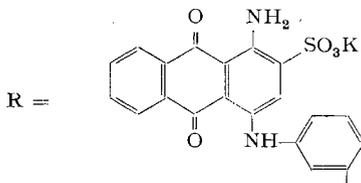
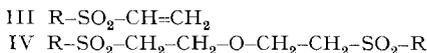
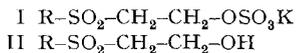
334. Zur Reaktion von Reaktivfarbstoffen mit Cellulose

II. Natur der Bindung¹⁻³⁾9. Mitteilung über textilchemische Untersuchungen⁴⁾

von O. A. Stamm

(4. X. 63)

A. Einleitung. – In einer vorläufigen Mitteilung haben wir einen Beweis für die kovalente chemische Bindung zwischen Reaktivfarbstoff und Cellulose veröffentlicht¹⁾. Er beruhte darauf, dass Cellulose, welche mit einem Vinylsulfon-Reaktivfarbstoff vom Typ der Remazole (Remazolbrillantblau R, I)⁵⁾ gefärbt war, mikrobiologisch zu wasserlöslichen gefärbten Verbindungen abgebaut werden konnte; aus dem Hauptprodukt liess sich durch Hydrolyse mit 1N Schwefelsäure Glucose abspalten.



Während bei den ersten, dort beschriebenen Versuchen das Hauptprodukt rotstichig violett war, erhielten wir bei späteren Ansätzen eine rein blaue Verbindung⁶⁾, die sich im übrigen genau wie das zuerst isolierte rotstichig violette Produkt verhielt. Diese Farbänderung ist auf eine Änderung am chromophoren System des Farbstoffs zurückzuführen. Es ist bekannt, dass in anthrachinoiden Verbindungen ähnlicher Konstitution unter reduzierenden Bedingungen im alkalischen Medium die α -ständige Aminogruppe gegen eine Hydroxylgruppe ausgetauscht werden kann, was zu einer hypsochromen Verschiebung des Absorptionsmaximums führt⁷⁾. Bei vergleichbaren

¹⁾ Als Teil I betrachten wir die vorläufige Mitteilung, *Helv.* **44**, 1123 (1961).

²⁾ Teilweise vorgetragen am Technical Forum der Internationalen Föderation textilchemischer Vereine (IFATCC), Ashridge College, Berkhamsted (14. 9. 1962) und anlässlich eines Kolloquiums im Shirley Institute, Manchester (17. 9. 1962).

³⁾ Auszug aus der Habilitationsschrift O. A. STAMM, ETH, Zürich, 1963.

⁴⁾ 8. Mitteilung: R. CH. SENN & H. ZOLLINGER, *Helv.* **46**, 781 (1963).

⁵⁾ Die Konstitution der verwendeten Farbstoffe haben wir durch Synthese bewiesen (vgl. ³⁾); vgl. auch J. PANCHARTEK, Z. J. ALLAN & J. POSKOČIL, *Coll. Czech. Chem. Commun.* **26**, 268 (1961).

⁶⁾ Rf-Wert 0,46 auf Ederol-Papier Nr. 202; Fließmittel *n*-Butanol/Äthanol/Wasser 4:3:3, absteigend; als Vergleich geben Ausgangsfarbstoff I bzw. dessen Verseifungsprodukt II Rf-Werte von 0,50 bzw. 0,74.

⁷⁾ F. BAUMANN & H. VOLLMANN in *Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie*, 3. Aufl., Bd. 3, München 1953, S. 662.

Anthrachinonchromophoren entspricht das einer sichtbaren Veränderung des Farbtons von blau zu violett⁷⁾. Glucose wirkt in alkalischem Gebiet stark reduzierend. Da nun in unserem Falle das Milieu im Verlauf der Enzymhydrolyse unter Freisetzung von Glucose zunehmend alkalisch wird, lässt sich diese Farbänderung zwanglos erklären. Auch bei synthetischen Versuchen, bei denen Glucose mit Remazolbrillantblau R in Gegenwart von Alkali umgesetzt wird, können teilweise oder quantitativ anstelle der blauen die entsprechenden rotstichig violetten Derivate auftreten. Sie fehlen aber völlig, wenn man bei analogen Reaktionen die Glucose durch α -Methylglucosid ersetzt. Ein anderer Effekt des alkalischen Mediums macht sich auch in einer teilweisen hydrolytischen Abspaltung des Farbstoffs bemerkbar. Diese leichte Spaltbarkeit der β -Sulfonyläthyläther beruht auf der Aktivierung des β -ständigen Wasserstoffatoms durch den elektronegativen Substituenten, was eine basenkatalysierte, bimolekulare 1,2-*trans*-Eliminierung⁸⁾ begünstigt.

Nach dem mikrobiologischen Abbau haben wir das gleiche gefärbte Substrat auch mit Säure hydrolysiert und berichten im folgenden über die dabei erhaltenen Ergebnisse.

In ähnlicher Weise haben TSCHEKALIN⁹⁾ und BOHNERT¹⁰⁾ mit Remazolfarbstoffen gefärbte Viscose mit Schwefelsäure abgebaut. Sie identifizierten die Abbauprodukte mit synthetischen Derivaten, die aus Reaktivfarbstoff und Glucose (bzw. Cellobiose) in Gegenwart von Alkali hergestellt worden waren. TSCHEKALIN erhielt nach der Hydrolyse in 58-proz. Schwefelsäure zwei Verbindungen, die in ihren papierchromatographischen Eigenschaften den Hauptkondensationsprodukten aus Farbstoff und Glucose bzw. Cellobiose entsprachen. BOHNERT isolierte die Hauptprodukte aus Abbaureaktion und aus der Synthese mit Glucose und fand bei beiden gleiche Rf-Werte, gleiche Elementarzusammensetzung, praktisch identische IR.-Spektren sowie positive Fehling-Reaktion. Damit schien deren Identität festzustehen.

Auf Grund der in der Literatur vorhandenen Angaben über die relative Reaktivität der Hydroxylgruppen des Glucoseskeletts war aber zu vermuten, dass unter den Synthesebedingungen der betr. Autoren – grosser Überschuss an Zucker, Unterschuss an Farbstoff, d. h. Alkylierungsmittel – eine ziemlich selektive Reaktion an der Hemiacetal-Hydroxylgruppe erfolgen sollte. Wir haben bereits früher festgestellt, dass im Falle der Umsetzung von Procionbrillantblau R, einem Dichlortriazinyl-Reaktivfarbstoff, mit Glucose unter gleichen Bedingungen Reaktion nur an der C-1-Hydroxylgruppe erfolgt und zu einem Farbstoffglucosid führt¹⁾ 10).

B. Resultate. – Das früher verwendete, stark abgebaute Hydrocellulosepulver (Cuen-DP: 32)¹¹⁾ wurde nach der Färbung mit I in 86-proz. Schwefelsäure bei Raumtemperatur und anschliessend nach zehnfacher Verdünnung unter Rückfluss hydrolysiert. Die gefärbten Abbauprodukte wurden als Bariumsalze isoliert und lieferten nach Überführung in die wasserlöslichen Natriumsalze auf dem Papier- und Dünnschichtchromatogramm mit den verschiedensten Fließmitteln im besten Fall drei intensive, einheitliche Zonen. Freier Zucker liess sich nicht mehr nachweisen. Auf Grund der Rf-Werte war die am raschesten wandernde Zone (Zone 1) identisch mit dem aus dem Ausgangsfarbstoff I durch Hydrolyse entstandenen Hydroxy-

⁸⁾ Vgl. J. F. BUNNETT, *Angew. Chem.* 74, 731 (1962).

⁹⁾ M. A. TSCHEKALIN, *Tekstil Prom.* 1961, Nr. 1, S. 40; ref. J. Soc. Dyers Col. 77, 463 (1961).

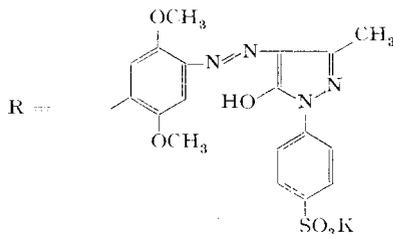
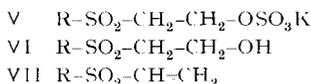
¹⁰⁾ E. BOHNERT, *Melliand Textilber.* 42, 1156 (1961).

¹¹⁾ Als Kurzbezeichnung und mangels einer besseren Nomenklatur benennen wir das säurehydrolytisch abgebaute Viscosepulver mit dem durchschnittlichen Polymerisationsgrad von 32 als Hydrocellulose, obwohl dieser in der Literatur verwendete Begriff u. E. nicht gerade glücklich ist.

farbstoff II, die beiden andern Zonen (Zone 2 und Zone 3) waren verschieden von Ausgangs- und Hydroxyfarbstoff, mussten also offenbar zuckerhaltig sein, denn unter den gleichen Hydrolysenbedingungen liefert Remazolbrillantblau R (I) das β -Hydroxyäthylsulfon II, welch letzteres selbst unverändert bleibt. Wir werden im 3. Teil dieser Arbeit zeigen¹²⁾, dass die hier gezogenen Schlüsse richtig sind.

Zum gleichen Resultat führten auch Formolyse in 90-proz. Ameisensäure sowie der Abbau mit 72-proz. Schwefelsäure¹³⁾. Die Aufarbeitung bei der Formolyse war jedoch wegen der notwendigen Verseifung der Formiatester etwas umständlicher, und mit der weniger konzentrierten Schwefelsäure blieb nach der Hydrolyse immer noch relativ viel ungelöstes Ausgangsmaterial zurück, so dass die oben angegebene Methode vorzuziehen ist. Hydrolyse in konzentrierter Schwefelsäure bewährte sich nicht, da sie sowohl Ausgangsfarbstoff I wie Hydroxyfarbstoff II teilweise zersetzte (in Blindversuchen nachgewiesen). Die acetolytische Spaltung führte ebenfalls nicht zum Ziel, da dabei der Farbstoff zerstört wurde. Bereits EINSELE¹⁴⁾ hat bei seinen Acetylierungsversuchen reaktivgefärbter Kupferseide festgestellt, dass die blauen Farbstoffe, die ja im allgemeinen in dieser Reihe als chromophores System ein 1-Amino-4-arylaminoanthrachinon besitzen, durch den Acetylierungsvorgang zerstört werden.

Während die so erhaltenen Abbauprodukte durch weitere Einwirkung von Säure natürlich keine Veränderung mehr erleiden, liess sich zeigen, dass die Kondensationsprodukte der von TSCHÉKALIN sowie von uns bzw. von BOHNERT verwendeten Farbstoffe (Remazolbrillantblau R (I) bzw. Remazolgoldgelb G (V)) mit Glucose unter milden Bedingungen wieder in Zucker und hydrolysierten Farbstoff gespalten werden.



Dazu setzten wir Remazolbrillantblau R (I) mit D-Glucose bzw. mit α -Methyl-D-glucosid unter Standardbedingungen um. Die Reaktionsprodukte wurden vom überschüssigen Zucker befreit und dann mit 1 N Schwefelsäure bei 100° hydrolysiert. Die so erhaltenen Hydrolysate analysierte man papierchromatographisch (s. Fig.). Als Vergleichssubstanzen finden sich auf dem Papierchromatogramm Ausgangsfarbstoff I (Rbb), das entsprechende Vinylsulfonderivat III (VS), der hydrolysierte Farbstoff II (Hy), der formal durch Wasserabspaltung aus zwei Molekeln Hydroxyfarbstoff II entstehende Äther IV (Ae) sowie Glucose (Glu).

Die Ergebnisse lassen sich kurz folgendermassen zusammenfassen:

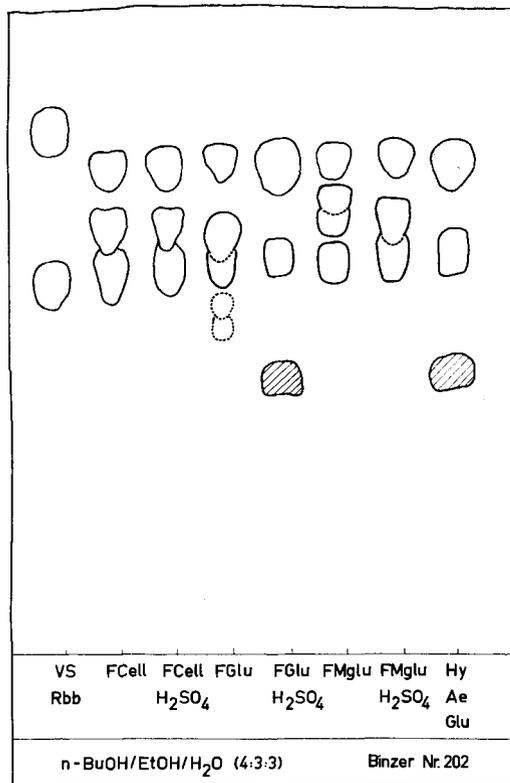
a) Das von ungebundenem Zucker freie Hydrolysendgemisch der gefärbten Hydrocellulose (FCell) verändert sich erwartungsgemäss durch die weitere Hydrolyse nicht mehr (FCell, H₂SO₄).

¹²⁾ Helv. 46, 3019 (1963).

¹³⁾ Vgl. Habilitationsschrift³⁾.

¹⁴⁾ U. EINSELE, Melliand Textilber. 42, 427 (1961).

b) Die Kondensationsprodukte aus der Umsetzung (in 0,1 N NaOH; 20°; 3 Tage) von Farbstoff mit α -Methylglucosid (zwei nahe beieinanderliegende, meist nicht getrennte Zonen; FMglu) werden bei der Hydrolyse durch Abspaltung der glucosidischen Methylgruppe zu Farbstoff-Glucose-Verbindungen abgebaut; auf dem Papierchromatogramm fallen sie dann teilweise mit der Zone des Äthers IV (Ae) zusammen (FMglu, H₂SO₄). Ihre R_f-Werte liegen nun im analogen Bereich wie die der zuckerhaltigen gefärbten Hydrocelluloseabbauprodukte. Im Hydrolysat ist keine Glucose nachweisbar. Mit α -Methylglucosid werden also mindestens zwei nicht glucosidisch verknüpfte Farbstoff-Zucker-Produkte gebildet.



Vergleich der Abbau- und Umsetzungsprodukte vor und nach der sauren Hydrolyse (vorhandene Zucker sind durch Entwicklung mit Anilinhydrogenphthalat sichtbar gemacht)

□ blau ▨ braun

c) Die Kondensationsprodukte aus der Umsetzung (in 0,1 N NaOH; 20°; 3 Tage) von Farbstoff mit Glucose (FGlu) werden durch die Hydrolyse praktisch quantitativ in hydrolysierten Farbstoff und Glucose übergeführt (FGlu, H₂SO₄). Die zurückbleibende zuckerfreie blaue Zone entspricht dem Äther IV (Ae). Dieser ist auch das Hauptprodukt, wenn man Remazolbrillantblau R in Abwesenheit von Zucker unter den oben erwähnten Bedingungen nur mit Alkali behandelt¹³⁾. Er ist, wie besondere Versuche zeigten, unter den Hydrolysenbedingungen stabil.

Das prinzipiell gleiche Bild ergibt sich auch mit einem andern Fließmittelsystem (Methanol/*n*-Amylalkohol/Benzol/Wasser 31:15:46:8).

Analoge Resultate, aber bei gleichzeitigem Auftreten von rotvioletten Farbzonen, erhält man bei Versuchen in 0,19N Na_2CO_3 bei 20°, während 25 Tagen. Alle diese rotvioletten Verbindungen konnten aber auf Grund ihres Verhaltens bei den Hydrolyseversuchen eindeutig den entsprechenden blauen Umsetzungsprodukten zugeordnet werden; die Farbänderung hängt also nur mit einer Änderung am Anthrachinonchromophor zusammen und beeinflusst das reaktive System nicht³⁾.

Um diese Befunde noch weiter zu stützen, haben wir die Reaktionsprodukte aus der Umsetzung des Farbstoffs mit der Glucose auch mit β - bzw. α -Glucosidase behandelt. Die Resultate bestätigen das Ergebnis der sauren Hydrolyse. Während die Ätherzone unverändert zurückbleibt, ergibt sich mit beiden Enzymen eine starke Zunahme an hydrolysiertem Farbstoff auf Kosten der blauen Farbstoff-Glucose-Zone, die jedoch nie ganz verschwindet. Daneben tritt als Spaltprodukt Glucose auf. Die beiden schwachen, langsam wandernden Zonen, die auf Grund der Säurehydrolyse auch leicht spaltbare Farbstoff-Zucker-Reaktionsprodukte enthalten, werden nicht angegriffen.

Die zuckerhaltige Hauptzone ist also ein Gemisch aus α - und β -Farbstoffglucosid. Die beiden schwachen blauen Zonen müssen ebenfalls Farbstoffglucoside sein, doch ist offenbar unter den Synthesebedingungen die Molekel so verändert worden, dass die Enzyme nicht mehr angreifen. Die durch Säurehydrolyse aus der gefärbten Cellulose oder dem Reaktionsprodukt von α -Methylglucosid mit Remazolbrillantblau R erhaltenen Substanzen werden von β -Glucosidase nicht verändert.

Schliesslich lieferte auch die Hydrolyse der permethylierten zuckerhaltigen blauen Zone aus der Umsetzung von Farbstoff mit Glucose nur 2,3,4,6-Tetra-O-methylglucose, neben ihren Vorstufen 2,4,6-Tri-O-methyl- und 4,6-Di-O-methylglucose¹³⁾.

Dass dieses Verhalten bei der Reaktion mit Glucose natürlich nicht eine spezifische Eigenschaft unseres Farbstoffes ist, zeigen die im Prinzip analogen Befunde mit Remazolgoldgelb G, dem von BOHNERT in seiner Untersuchung verwendeten Farbstoff. Auch hier liess sich das Umsetzungsprodukt mit der Glucose sauer unter relativ milden Bedingungen (1N Schwefelsäure; 100°; 6 oder 15 Std.) fast quantitativ in hydrolysierten Farbstoff und Glucose überführen, während bei den aus Farbstoff und α -Methylglucosid synthetisierten Derivaten praktisch nur die Methylglucosidbindung gespalten wurde und keine Glucose im Hydrolysat nachgewiesen werden konnte.

Auch das Hauptprodukt bei der Umsetzung von Remazolbrillantblau R mit Cellobiose in alkalischem Medium enthält den Farbstoff grösstenteils glucosidisch gebunden, was ebenfalls durch saure und enzymatische Hydrolyseversuche gezeigt werden konnte¹³⁾. Trotzdem besitzen auf dem Papierchromatogramm das durch mikrobiologischen Abbau erhaltene blaue Hauptprodukt und das synthetische Farbstoffcellobiosid den gleichen Rf-Wert. Daraus lässt sich vermuten, dass der mikrobiologische Abbau zu einem Farbstoff-Cellobioseäther geführt hat.

C. Diskussion. – Die beschriebenen Ergebnisse zeigen, dass sowohl bei der Umsetzung von Procion- wie von Remazolfarbstoffen mit Glucose oder Cellobiose unter

¹⁵⁾ Vgl. z. B. W. PIGMAN (ed.), *The Carbohydrates*, New York 1957; ferner die Diskussion der Literatur in ³⁾.

den gewählten und den in der Literatur angegebenen Bedingungen^{9) 10) 16) 17)}, bei denen immer mit einem Überschuss an Zucker gearbeitet wird, praktisch nur das Umsetzungsprodukt mit der Hydroxylgruppe am anomeren C-Atom gebildet wird. Das bedeutet, dass mit Ausnahme des in der vorläufigen Mitteilung beschriebenen mikrobiologischen Abbaus¹⁾ und des später von BAUMGARTE¹⁶⁾ veröffentlichten, entsprechenden Versuchs mit einem Procionfarbstoff, alle bisher publizierten direkten Beweise für das Vorliegen einer kovalenten Bindung zwischen Farbstoff und alkoholischen Hydroxylgruppen der Cellulose nicht zwingend sind. Sie stützen sich nämlich auf den Vergleich eines Abbauprodukts mit einem synthetischen Derivat aus Farbstoff und Glucose^{9) 10) 16) 17)}, Maltose¹⁷⁾ bzw. Cellobiose⁹⁾, und setzen so je zwei verschiedene Verbindungen, z. B. Farbstoff-Glucoseäther und Farbstoffglucosid, einander gleich.

Dass papierchromatographisch das synthetisch erhaltene C-1-Substitutionsprodukt und die durch Abbau gewonnene Verbindung sich gleich verhalten können, bestätigen auch unsere Resultate mehrfach. Auch die IR.-Spektren ermöglichen offenbar in diesen Fällen nicht immer eine sichere Identifizierung der Verbindungen. So hat sich bei den Remazolbrillantblau-R-Umsetzungen gezeigt, dass die Spektren (in KBr) nicht nur wegen ihrer Komplexität schwer interpretierbar sind, sondern auch, weil sich sogar Produkte mit oder ohne Zucker spektroskopisch sehr ähnlich sind. Es scheint, dass die Absorption – mindestens in unserem Falle – weitgehend durch den Farbstoffgrundkörper bestimmt wird. Es ist deshalb nicht überraschend, dass auch beim Remazolgoldgelb G die beiden Farbstoff-Glucose-Verbindungen, die BOHNERT vergleicht, sozusagen identische Spektren liefern¹⁰⁾. Die Bruttozusammensetzung ist natürlich bei Synthese- und Abbauprodukt unabhängig von der Substitutionsstelle gleich. Der einzige Punkt, der in der erwähnten Arbeit¹⁰⁾ gegen die Möglichkeit einer Reaktion am C-1-Hydroxyl beim Syntheseprodukt spricht, ist die Feststellung, dass beide Verbindungen – Abbau- und Syntheseprodukt – FEHLING'sche Lösung reduzieren. Wir konnten aber zeigen, dass diese Reaktion bereits mit dem unsubstituierten Ausgangsfarbstoff V sowie mit dem entsprechenden Hydroxyfarbstoff VI positiv ist. Zudem wird unter den alkalischen Bedingungen, unter denen die FEHLING-Probe durchgeführt wird, eine β -Sulfonyläthergruppe mindestens teilweise eliminiert und die betreffende Hydroxylfunktion freigesetzt. Deshalb ist der Test auch mit solchen Remazolfarbstoffglucosiden (z. B. Remazolbrillantblau-R-Glucosid) positiv, bei denen der Farbstoffgrundkörper allein eine negative Reaktion zeigt.

Auf Grund dieser Ergebnisse ist zu erwarten, dass auch beim gewöhnlichen Färben von Cellulose primär die viel reaktiveren Halbacetalthydroxygruppen am reduzierenden Kettenende reagieren werden. Erst wenn die meisten dieser reduzierenden Endgruppen abgesättigt sind, erfolgt auch eine Reaktion an den andern alkoholischen Hydroxylfunktionen der Cellulosemolekel.

Um diese Hypothese zu überprüfen, haben wir ausser der niedermolekularen Hydrocellulose auch gebleichte Baumwolle gefärbt, die gefärbte Cellulose abgebaut und die Spaltprodukte papierchromatographisch getrennt. Nach Extraktion der

¹⁶⁾ U. BAUMGARTE, *Melliand Textilber.* **43**, 182 (1962).

¹⁷⁾ G. v. HORNUFF & G. D. GOLLNISCH, *Wiss. Zs. Techn. Univ. Dresden* **11**, 677 (1962).

gefärbten Verbindungen vom Papier bestimmten wir kolorimetrisch den auf die einzelnen Zonen entfallenden prozentualen Anteil an der Gesamtfarbstoffmenge. Auch die Hydrolyse der gefärbten Baumwolle lieferte die gleichen drei Abbauprodukte wie die des gefärbten Hydrocellulosepulvers; dieses ist also in dieser Beziehung ein brauchbares Modell für die Baumwolle. Die Ergebnisse für verschieden starke Ausfärbungen sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tabella 1. *Einfluss von Substrat und Substitutionsgrad auf die Verteilung der Abbauprodukte*

| Substrat | Färbung | | | % Farbstoff | | | |
|----------------------------|----------------------|-------------------------|-------------|-------------|-----|-----|-------------------|
| | Farbstoff ausgefärbt | Farbstoff auf der Faser | $\gamma^a)$ | Z 1 | Z 2 | Z 3 | $\frac{Z 3}{Z 2}$ |
| <i>Hydrocellulose</i> | | | | | | | |
| DP 32 ^{b)} | 4% | 3,5% | 0,6 | 33 | 27 | 40 | 1,48 |
| KZ 15,7 ^{c)} | $3 \times 10\%$ | 18% | 3 | 19 | 33 | 48 | 1,45 |
| COOH-Gehalt 6 mVal/100 g | | | | | | | |
| <i>Baumwolle</i> | | | | | | | |
| DP 1064 ^{b)} | 4% | 2,4% | 0,45 | 13 | 23 | 64 | 2,78 |
| KZ 0,3 ^{c)} | $3 \times 10\%$ | | | 10 | 25 | 65 | 2,60 |
| COOH-Gehalt 0,8 mVal/100 g | | | | | | | |
| | $5 \times 10\%$ | 16,5% | 3 | 12 | 26 | 62 | 2,39 |

^{a)} γ = durchschnittlicher Substitutionsgrad $\times 100$; ^{b)} DP = durchschnittlicher Polymerisationsgrad; ^{c)} KZ = Kupferzahl

Während bei der Baumwolle die Stärke der Färbung die Verteilung der Abbauprodukte auf die drei Zonen wenig beeinflusst, spielt sie bei der niedermolekularen Hydrocellulose eine grosse Rolle. Bei der schwachen Färbung ist hier der Anteil an Hydroxyfarbstoff (Zone 1) im Hydrolysat gross, während er bei der starken Färbung abgenommen hat. Parallel mit dieser Abnahme geht eine Zunahme der zuckerhaltigen gefärbten Abbauprodukte der Zonen 2 und 3. Trotzdem bleibt aber die relative Verteilung auf diese beiden Zonen unverändert ($Z 3/Z 2$). Bei beiden Ausfärbungen ist der Prozentsatz an Hydroxyfarbstoff im Hydrolysat grösser als bei den entsprechenden Versuchen mit Baumwolle.

Der hydrolysierte Farbstoff stammt nahezu ausschliesslich von glucosidisch gebundenem Remazolbrillantblau R, da unter den Abbaubedingungen eine Desalkylierung nur in geringem Ausmass auftritt¹⁸⁾. Folglich war bei der niedermolekularen Hydrocellulose bei vergleichbarem Substitutionsgrad mehr glucosidisch gebundener Farbstoff vorhanden als bei der hochmolekularen Baumwolle. Das entspricht den Erwartungen, denn im Falle des Hydrocellulosepulvers haben wir kurze Ketten und daher pro Gewichtseinheit mehr reduzierende Endgruppen als bei der langkettigen Baumwolle, was in den angegebenen Kupferzahlen zum Ausdruck

¹⁸⁾ Vgl. I. CROON & B. LINDBERG, *Acta chem. scand.* **11**, 192 (1957); *Svensk Papperstidn.* **60**, 843 (1957); I. CROON, G. HERRSTRÖM, G. KULL & B. LINDBERG, *Acta chem. scand.* **74**, 1338 (1960). – Wenn man den 2-O-Farbstoffglucoseäther den analogen Abbaubedingungen unterwirft, erhält man maximal 5% Hydroxyfarbstoff II.

kommt. Deshalb wird bei schwächeren Färbungen, also bei einem starken Unterschuss an Acylierungs- oder Alkylierungs-Reagens, der Prozentsatz dieses glucosidisch gebundenen Farbstoffs grösser sein als bei tiefen Färbungen, bei denen andererseits der Anteil an fest gebundenem Farbstoff zunimmt. Das wird durch die Ergebnisse mit der Hydrocellulose bestätigt. Bei der Baumwolle, mit dem verglichen zur Gesamthydroxylzahl kleinen Anteil an Halbacetal-OH-Gruppen, wirken sich diese Unterschiede natürlich nicht mehr aus. Für die Praxis des Färbens heisst das, dass bei schwachen Färbungen auf niedermolekularen Regeneratcellulosen der leicht hydrolysierbare, nur glucosidisch gebundene Farbstoff zu schlechteren Nass-echtheiten führen kann, da bei entsprechenden Waschoperationen u. U. die Farbstoff-Faser-Bindung gespalten wird.

Experimenteller Teil¹⁹⁾

Für die Papierchromatographie verwendeten wir neben WHATMAN Nr. 1 (W 1) vor allem die BINZER-Papiere Ederol Nr. 202 (E 202) und Ederol Nr. 226 (E 226), die sich für die Trennung der Farbstoffe besonders gut eignen; wir arbeiteten nach der absteigenden Methode. Als Flüssigkeitssysteme dienten *n*-Butanol/Äthanol/Wasser 4:3:3 (FA), wasserges. Essigester/Aceton/Wasser 30:25:8 (FB), Methanol/*n*-Amylalkohol/Benzol/Wasser 31:15:46:8 (FC), *n*-Butanol/Äthanol/Wasser 5:1:4 (obere Phase; FD) und *n*-Butanol/Äthanol/85-proz. Ameisensäure/Wasser 50:25:15:10 (FE). Beim Lösungsmittelsystem FD wurden Papier und Kammer vorklimatisiert, mit den Systemen FB, FC und FE war die Kammer gesättigt, während bei FA auf jede Klimatisierung verzichtet werden konnte. Die Rf-Werte beziehen sich auf den Farbschwerpunkt und sind meist Durchschnittswerte aus einer grösseren Zahl von Bestimmungen. Sie hängen nicht nur von der Art des Papiers, der Temperatur und der Methodik ab, sondern auch von der Konzentration der aufgetragenen Farbstoffe und vom Lösungsmittel, in welchem die aufzutragende Verbindung gelöst ist. Diese starke Beeinflussbarkeit der Rf-Werte ist ohne Zweifel eine Folge der bei diesen Farbstoffen ausgeprägten Adsorptionserscheinungen beim Chromatographieren an Cellulose. Wir verweisen in diesem Zusammenhang auf die Untersuchungen von STAMM & ZOLLINGER²⁰⁾. Reduzierende Zucker wurden mit Anilinhydrogenphthalat²¹⁾, α -Methylglucosid mit dem Perjodat-Benzidin-Reagens von MOWERY²²⁾ nachgewiesen.

Für die Dünnschichtchromatogramme diente Kieselgel G (MERCK) als Träger. Der als Adsorbens verwendete Talk wurde nach Extraktion mit Wasser, Alkohol, Aceton und Petroläther durch 24-stündiges Erhitzen auf 150° aktiviert.

Die Spurenanalysen auf Stickstoff verdanken wir Herrn Dr. H. GUBSER (analytische Laboratorien der CIBA AG, Basel), die Bestimmungen des durchschnittlichen Polymerisationsgrades (DP; in Cuoxen), der Kupferzahl nach SCHWALBE-HAGGLUND und des Carboxylgehaltes unserer Cellulose-Proben der SOCIÉTÉ DE LA VISCOSE SUISSE, Emmenbrücke.

Das verwendete, stark abgebaute Hydrocellulosepulver stellte uns die SOCIÉTÉ DE LA VISCOSE SUISSE, Emmenbrücke, zur Verfügung. Es wurde durch 96-stündige Einwirkung von 7N Salzsäure auf Viscose-Zellwoll-Flock bei 20° unter Stickstoffatmosphäre gewonnen. Das säurefrei ausgewaschene Pulver wurde dann bei 60° im Umlufttrockenschrank getrocknet. Trocknung bei höheren Temperaturen führte zu einer Verhornung des Materials.

Für unsere Versuche dienten Handelsfarbstoffe, deren Einheitlichkeit papierchromatographisch und papier-*elektrophoretisch* festgestellt wurde²³⁾. Der Farbstoffgehalt des Handelspro-

¹⁹⁾ Wir danken Herrn P. RYS für die Mitarbeit bei einigen Versuchen.

²⁰⁾ O. A. STAMM & H. ZOLLINGER, *Helv.* **40**, 1105 (1957).

²¹⁾ S. M. PARTRIDGE, *Nature* **164**, 443 (1949).

²²⁾ D. F. MOWERY, *Analyt. Chemistry* **29**, 1560 (1957).

²³⁾ Zur Reinigung und Charakterisierung der verwendeten Farbstoffe und ihrer Hydrolysenprodukte vgl. Ref. ³⁾. Den Generalvertretungen der Firmen ICI (ICI EXPORT LTD., Zürich) und HOECHST (PLÜSS-STAUFER AG, Oftringen) danken wir für die Überlassung der benötigten Farbstoffe.

duktes von Remazolbrillantblau R wurde durch konduktometrische Titration mit dem METROHM Konduktoskop Typ E 165 bestimmt (69% Reinfarbstoffgehalt)²⁴). Die Farbstoffaufnahme der Faser ergab sich aus der Differenz des Stickstoffgehaltes vor und nach dem Färben.

Die verwendeten Zucker sind Produkte der FLUKA AG, Buchs (Glucose *purum*, Ph. Helv. V; α -Methyl-D-glucosid *pract.* und *puriss.*; Cellobiose *puriss.*; Maltose *puriss.*).

1. *Anfärbung von säurehydrolytisch abgebautem Viscosepulver (Hydrocellulose)*. 100 g Hydrocellulosepulver werden unter Rühren zu einer auf 50° erwärmten Lösung von 10 g Remazolbrillantblau R (10% Farbstoff) in 2 l Wasser (Flotte 1:20) gegeben. Während 45 Min. werden portionenweise insgesamt 200 g Natriumsulfat (100 g/l) eingetragen. Man hält weitere 45 Min. bei 50°, versetzt dann mit einer Lösung von 10 g krist. Trinatriumphosphat (5 g/l) in 25 ml Wasser und rührt die nun alkalische Suspension (pH \sim 11) 75 Min. bei der gleichen Temperatur. Der Farbstoff ist nun praktisch völlig aufgezo-gen. Das Gemisch wird abgenutscht und der Rückstand so lange mit kochendem dest. Wasser ausgewaschen, bis der Ablauf farblos ist. Nach Trocknung (105°/16 Std.) erhält man ein tief blaues lockeres Pulver.

In genau gleicher Weise wurde diese Ausfärbung noch zweimal wiederholt. Das so gefärbte Hydrocellulosepulver wurde für die Abbauprobungen mit Mikroorganismen und mit Säuren verwendet. Für den Säureabbau wurde auf entsprechende Art eine Färbung mit 4% Remazolbrillantblau R hergestellt.

| | | |
|--------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| 4-proz. Ausfärbung | Stickstoffaufnahme 0,110%; | durchschn. Substitutionsgrad 0,0062. |
| 3mal 10-proz. Ausfärbung | Stickstoffaufnahme 0,550%; | durchschn. Substitutionsgrad 0,032. |

2. *Ausfärbungen auf Baumwoll-Cretonne*. Die Ausfärbungen erfolgten in einem Flottenverhältnis von 1:20 mit 4% bzw. 10% Remazolbrillantblau R.

Man geht bei 20° in die Färbeflotte ein, erwärmt innert 30 Min. auf 60° und gibt nun portionenweise während 30 Min. insgesamt 70 g/l Natriumsulfat zu. Nach weiteren 10 Min. wird mit 5 g/l krist. Trinatriumphosphat versetzt (pH = 10,5), 30 Min. später werden nochmals 2,5 g/l Na₃PO₄, 12 H₂O zugesetzt (pH = 10,8). Die Temperatur des Färbebades wird stets auf 60° \pm 2° gehalten. Nach 30 Min. werden die Färbungen mit kochendem dest. Wasser extrahiert, bis der Ablauf farblos ist. Zuletzt spült man noch zweimal mit kaltem dest. Wasser und trocknet 16 Std. im Heizschrank bei 105°.

Die trockenen Ausfärbungen werden, wenn nötig, in genau gleicher Weise nochmals gefärbt.

| | | |
|--------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| 4-proz. Ausfärbung | Stickstoffaufnahme 0,075%; | durchschn. Substitutionsgrad 0,0045. |
| 5mal 10-proz. Ausfärbung | Stickstoffaufnahme 0,510%; | durchschn. Substitutionsgrad 0,03. |

3. *Abbau von gefärbtem Hydrocellulosepulver*. 30 g des dreimal mit je 10% Remazolbrillantblau R angefärbten Hydrocellulosepulvers werden während 20 Min. unter Eiskühlung portionenweise in 225 ml 86-proz. Schwefelsäure eingetragen. Das zuerst dunkelviolette, dann rotbraune Gemisch wird 2 Std. bei Zimmertemperatur verrührt. Nach dieser Zeit ist nahezu alles in Lösung gegangen, und man verdünnt mit Wasser auf das 10-fache Volumen. Dabei wird durch Eiskühlung dafür gesorgt, dass die Temperatur nicht über 35° ansteigt. Die Lösung verfärbt sich beim Verdünnen über weinrot nach dunkelblau und wird nun 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Erkalten wird von wenig Rückstand abfiltriert und das Filtrat mit festem Bariumhydroxid auf pH 2,8 gestellt. Man saugt vom ausgefallenen Bariumsulfat ab und wäscht den Niederschlag mit heissem Wasser, bis der Ablauf farblos ist. Das mit dem Waschwasser vereinigte Filtrat wird im Vakuum konzentriert und mit Bariumhydroxid neutralisiert. Das Gemisch wird mit festem Bariumchlorid versetzt, bis aller Farbstoff ausgefallen ist. Dieser wird abgetrennt, mit verd. BaCl₂-Lösung und schliesslich mit wenig Wasser ausgewaschen, bis der Ablauf zuckerfrei ist, und dann mit konz. Natriumsulfat-Lösung in das Natriumsalz übergeführt. Man filtriert über Hyflo-Super-Cel vom ausgefallenen Bariumsulfat ab und verdünnt mit Wasser auf eine für die papierchromatographische Trennung geeignete Konzentration. Eine Entsalzung der Reaktionsprodukte durch Adsorption an Talk, Auswaschen mit Wasser und Desorption des Farbstoffgemisches mit Aceton vor der

²⁴) Vgl. F. MATOUSCHEK, Radex-Rundschau 1954, Heft 1/2, S. 3; W. SCHÜHKNECHT & H. KUNZ, Brennstoff-Chemie 37, 78 (1956).

Papierchromatographie hatte keinen Einfluss auf die Qualität der Trennung. Man findet drei blau gefärbte Hauptzonen mit den Rf-Werten (E 202; FA) 0,73 (Zone 1), 0,60 (Zone 2) und 0,52 (Zone 3). Bei entsprechend konzentriertem Auftragen lassen sich auf dem Papierchromatogramm hinter der Zone 3 noch zwei ganz schwache blaue Flecke erkennen (Rf ca. 0,46 und 0,32).

In gleicher Weise wurde auch das mit nur 4% Remazolbrillantblau R angefärbte Hydrocellulosepulver abgebaut.

4. *Abbau von gefärbter Baumwoll-Cretonne.* 5 g der mit Remazolbrillantblau R gefärbten Baumwoll-Cretonne werden in kleinen Schnitzeln während 25 Min. bei 0°–10° in 37,5 ml 86-proz. Schwefelsäure eingetragen. Dann gibt man nochmals die gleiche Menge Schwefelsäure zu und verrührt 2 Std. bei Raumtemperatur. Während dieser Zeit geht praktisch alles in Lösung, die tief violett gefärbt ist. Man verdünnt mit Wasser auf 750 ml und kocht die nun dunkelblaue Lösung 1 Std. unter Rückfluss. Dann wird aufgearbeitet wie vorher beschrieben. Das Papierchromatogramm (E 202; FA) zeigt die drei gleichen Zonen wie beim Abbau des Hydrocellulosepulvers.

5. *Quantitative Bestimmung der auf dem Papier getrennten Farbstoffe*²⁵⁾. Die Farbstoffzonen der Papierchromatogramme wurden ausgeschnitten und in kleine Schnitzel zerlegt. Diese wurden je dreimal mit dest. Wasser bei Raumtemperatur eluiert, die Eluate direkt in einen 100 ml Messkolben abgesaugt und der Rückstand mit wenig heissem Wasser farblos gewaschen. Nach Auffüllen auf 100 ml wurde die Transmission der Farblösung mit einem Lumetron-Kolorimeter (Modell 402 E) in Küvetten von 2 bzw. 5 cm Schichtdicke bei 595 m μ gemessen (Absorptionsmaximum der Farbstoffe bei 594 m μ). Aus den erhaltenen Daten wurde der prozentuale Farbstoffgehalt der einzelnen Zonen berechnet. Die angegebenen Daten sind Mittelwerte aus je drei Bestimmungen.

6. *Umsetzung von Remazolbrillantblau R mit Glucose bzw. α -Methylglucosid.* 70 mg Remazolbrillantblau R und 700 mg Glucose werden in 5 ml Wasser gelöst und mit 5 ml 0,2N NaOH versetzt. Man lässt 3 Tage verschlossen und im Dunkeln bei Zimmertemperatur stehen, neutralisiert mit Salzsäure, adsorbiert den Farbstoff quantitativ an Talk und wäscht ihn mit Wasser zuckerfrei. Dann werden die blauen Reaktionsprodukte mit Aceton wieder vom Talk herabgelöst. Das Eluat wird eingedampft: 36 mg dunkelblauer Rückstand für weitere Reaktionen verwendet.

In analoger Weise werden auch die Reaktionen in 0,19N Sodalösung und mit α -Methylglucosid in 0,1N Natronlauge durchgeführt.

7. *Umsetzung von Remazolgoldgelb G mit Glucose bzw. α -Methylglucosid.* 1 g Remazolgoldgelb G, 2 g Na₂CO₃ und 10 g Glucose werden in 100 ml Wasser gelöst und verschlossen im Dunkeln bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 4 bzw. 48 Tagen werden aliquote Teile (je 20 ml) wie folgt aufgearbeitet: Die mit verd. Salzsäure neutralisierte Lösung wird so lange mit Talk versetzt, bis der gesamte Farbstoff adsorbiert ist. Der Talkbrei wird abgenutscht und mit dest. Wasser ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum konzentriert. Da sie noch gelborange gefärbt sind, wird der Farbstoff erneut an Talk adsorbiert und dieser mit Wasser ausgewaschen. Dieser Prozess wird so lange wiederholt, bis die Waschwasser farblos sind. Von diesen Talkadsorbaten wird der nun von ungebundenem Zucker freie Farbstoff durch Behandlung mit Äthanol desorbiert. Man dampft das äthanolische Eluat zur Trockne ein; der orangerot gefärbte Rückstand dient für die anschließende Hydrolyse in verd. Schwefelsäure. Auf dem Papierchromatogramm (W 1; FA) einer Probe finden sich 3 Flecke: eine Hauptzone mit Rf 0,29, eine schwache Zone mit Rf 0,57 (Hydroxyfarbstoff VI) und ein sehr schwacher Fleck mit Rf 0,68 (Vinylsulfonfarbstoff VII). Die gleichen Ergebnisse erhält man auch bei der Reaktion in 0,1N Natronlauge.

Bei der Umsetzung mit α -Methylglucosid erfolgen Reaktion und Isolierung analog. Auf dem Papierchromatogramm (W 1; FA) finden sich sowohl nach der Reaktion in 0,38N Sodalösung wie in 0,1N Natronlauge bei kurzer oder langer Versuchsdauer eine längere Hauptzone mit Schwerpunkten bei Rf 0,41 und 0,45, ferner eine Zone mit Rf 0,58 (Hydroxyfarbstoff VI) und zwei schwache Zonen mit Rf 0,67 (Vinylsulfonfarbstoff VII) und Rf 0,28 (findet sich auch bei der alkalischen Hydrolyse des Ausgangsfarbstoffs).

8. *Umsetzung von Remazolbrillantblau R mit Cellobiose.* 1 g Remazolbrillantblau R, 2 g Na₂CO₃ und 14 g Cellobiose werden einzeln in Wasser gelöst und das Gemisch auf ein Volumen von 200 ml

²⁵⁾ Wir danken Herrn P. HAGEN für diese Messungen.

gebracht. Man lässt verschlossen bei Raumtemperatur 10 Tage im Dunkeln stehen. Dann wird mit Salzsäure neutralisiert und das blaue Reaktionsprodukt sukzessive an total 560 g Talk adsorbiert. Das Talkpulver wird nun mit einigen Litern Wasser ausgewaschen, bis der Ablauf zuckerfrei und farblos ist. Die gefärbten Waschwasser werden im Vakuum eingengt; der Farbstoff in der Lösung wird wiederum an Talk adsorbiert und dieser zuckerfrei gewaschen. Der Ablauf bleibt dabei praktisch farblos. Von den blau gefärbten Talk-Adsorbaten wird der Farbstoff mit Aceton quantitativ desorbiert. Die Acetoneluat dampft man zur Trockne ein und nimmt in Wasser auf. Die klare, dunkelblaue Lösung gibt auf dem Papierchromatogramm (E 202; FA) eine rote Zone (Rf 0,92; schwach, mit lila gefärbtem Nachlauf) und 6 blaue Zonen mit den Rf-Werten 0,82 (schwach; ca. 2%), 0,74 (schwach; ca. 7%), 0,52 (mittel; ca. 20%), 0,40 (stark; ca. 60%), 0,33 (schwach; ca. 4%) und 0,29 (schwach; ca. 7%). Die intensive Hauptbande (Rf 0,40) wird durch präparative Papierchromatographie¹³⁾ isoliert.

9. *Hydrolyse der Farbstoff-Zucker-Reaktionsprodukte.* - a) *Reaktionsprodukte von Remazolbrillantblau R.* Wir geben im folgenden eine typische Vorschrift für Hydrolyse und Aufarbeitung: Eine kleine Menge des von ungebundenem Zucker freien Umsetzungsproduktes wird in wenig 1N Schwefelsäure gelöst und über Nacht unter gelindem Rückfluss verseift. Nach beendeter Reaktion ist wenig Farbstoff ausgefallen. Man filtriert und wäscht den Rückstand mit Wasser und heissem Aceton aus; dabei geht der ausgefallene Farbstoff in Lösung, und es bleibt nur sehr wenig graues Material zurück. Das Filtrat wird mit Talk angeteigt und der Brei auf der Nutsche mit viel Wasser neutral gewaschen. Die vereinigten Waschwasser werden mit Bariumcarbonat auf pH 6,8 neutralisiert. Man saugt vom ausgefallenen Bariumsulfat ab, dampft im Vakuum bei 40° zur Trockne ein und nimmt den Rückstand in 2 ml Wasser auf. Die Lösung enthält die Zucker.

Der mit Farbstoff beladene Talk wird so lange mit heissem Aceton eluiert, bis er praktisch farblos ist. Man vereinigt die Zucker- und die Farbstofflösung und engt auf ein kleines, für die papierchromatographische Untersuchung geeignetes Volumen ein (ca. 0,5 ml); Fliessmittel: FA (E 202) bzw. FC (W 1).

b) *Reaktionsprodukte von Remazolgoldgelb G.* Hydrolyse und Aufarbeitung wurden nach folgender Vorschrift durchgeführt: Das zuckerfreie Reaktionsprodukt wird in 1N Schwefelsäure 6 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Erkalten wird der Farbstoff an Talk adsorbiert und der Talk auf der Nutsche mit dest. Wasser neutral und zuckerfrei gewaschen. Diese Operation wird wiederholt, bis der Farbstoff quantitativ aus der Lösung entfernt ist und die Waschwasser farblos sind. Der Farbstoff wird mit Äthanol vom Talk desorbiert, das Eluat zur Trockne eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und papierchromatographisch untersucht. Die vereinigten wässrigen Filtrate neutralisiert man mit Barytwasser, zentrifugiert vom ausgefallenen Bariumsulfat ab, wäscht den Rückstand mit heissem Wasser und konzentriert die Filtrate im Vakuum. Die so erhaltene Lösung wird papierchromatographisch auf Zucker untersucht. Als einziges Produkt findet sich Glucose. Auch eine 15stündige Hydrolysendauer liefert die gleichen Ergebnisse. Im Blindversuch zeigte der Hydroxyfarbstoff VI bei der Behandlung mit 1N Schwefelsäure unter Rückfluss keine Veränderung.

10. *Enzymatische Hydrolyse.* - a) *Mit β -Glucosidase.* Es wurde ein käufliches, aus Mandeln gewonnenes Enzym (FLUKA AG, Buchs) verwendet. Wir arbeiteten nach folgender Vorschrift²⁶⁾: 3 mg der papierchromatographisch isolierten Hauptfraktion aus dem Reaktionsgemisch von Remazolbrillantblau R und Cellobiose werden in 1 ml Acetatpuffer nach WALPOLE²⁷⁾ (pH 4,98) gelöst und mit 0,5 ml einer frischen, 0,16-proz. wässrigen β -Glucosidase-Lösung versetzt. Man lässt verschlossen im Brutschrank bei 30–32° stehen. Nach der gewünschten Zeit entnimmt man 100 μ l, inaktiviert das Enzym durch Zugabe von 10 μ l Äthanol und dreiminütiges Erwärmen auf dem Dampfbad und trägt diese Lösung direkt auf das Chromatographiepapier auf. Als Blindversuche werden analog angesetzt Cellobiose und Enzym, ferner zwei Versuche mit Farbstoff-Cellobiose-Reaktionsprodukt bzw. Cellobiose, bei denen die Enzymlösung durch dest. Wasser ersetzt ist. An den Versuchsergebnissen ändert sich nichts, wenn die Reaktionen statt in Pufferlösung in dest. Wasser durchgeführt werden.

²⁶⁾ W. W. PIGMAN, J. Res. Natl. Bur. Standards 26, 197 (1941); 27, 1 (1941).

²⁷⁾ G. S. WALPOLE, J. chem. Soc. 105, 2501 (1914).

b) *Mit α -Glucosidase.* Die verwendete α -Glucosidase (Maltase) stellten wir nach WILLSTÄTTER & BAMANN²⁸⁾ aus frischer Bierhefe durch Autolyse mit Essigester her²⁹⁾. Die Autolysate wurden anschliessend gefriergetrocknet³⁰⁾. Für den enzymatischen Abbau werden 6 mg Remazolbrillantblau-Glucose-Reaktionsprodukt in 2 ml Phosphatpuffer nach SÖRENSEN³¹⁾ (pH 6,8) gelöst und mit 1 ml frischem Autolysat versetzt. Man lässt im Brutschrank bei 30°–32° stehen. Nach der gewünschten Zeit werden 100 μ l Reaktionsgemisch abpipettiert. Man deaktiviert das Enzym durch dreiminütiges Erwärmen auf 100° und trägt von dieser Lösung auf das Papierchromatogramm auf. Zur Kontrolle der Aktivität des Enzyms werden analoge Versuche mit 20 mg Maltose bzw. 10 mg α -Methyl-D-glucosid angesetzt. Zu jedem Ansatz führt man einen Blindversuch mit dest. Wasser anstatt Enzymlösung durch.

SUMMARY

Reactive dyes of the Procion and Remazol types react with glucose or cellobiose in alkaline solution to give predominantly dye *glucosides*. Therefore the previous publications, claiming a direct chemical proof for a covalent bond between the *alcoholic* cellulose hydroxyl groups and the reactive dye by means of identifying a degradation product with a synthetic one from dye and free sugar are not reliable.

In normal dyeings of cellulose with reactive dyes, the C-1 hydroxyl of the reducing end group will react preferentially and therefore the percentage of glucosidic linked dye is higher with weak dyeings and with viscose of low molecular weight than with deep shades or with cotton.

Technisch-chemisches Laboratorium
Eidg. Technische Hochschule Zürich

²⁸⁾ R. WILLSTÄTTER & E. BAMANN, Z. physiol. Chem. 151, 242, 273 (1926).

²⁹⁾ R. WEIDENHAGEN in E. BAMANN & K. MYRBÄCK, Die Methoden der Fermentforschung, Bd. 2, S. 1745, Leipzig 1940.

³⁰⁾ Wir danken der BRAUEREI HÜRLIMANN, Zürich, für die Überlassung der benötigten Bierhefe (*Sacch. carlsbergensis*).

335. Zur Reaktion von Reaktivfarbstoffen mit Cellulose

III.) Konstitution der Abbauprodukte²⁾ 3)

10. Mitteilung über textilchemische Untersuchungen¹⁾

von O. A. Stamm

(4. X. 63)

Im zweiten Teil¹⁾ wurde gezeigt, dass bei der Umsetzung von Cellulose mit einem Vinylsulfon-Reaktivfarbstoff (Remazolbrillantblau R, I) ein gewisser Teil nur glucosidisch gebunden wird. Es war nun interessant, abzuklären, mit welchen Hydroxylgruppen der restliche Farbstoff reagiert hat.

¹⁾ Teil II: O. A. STAMM, Helv. 46, 3008 (1963), zugleich 9. Mitteilung über textilchemische Untersuchungen.

²⁾ Teilweise vorgetragen am Technical Forum der Internationalen Föderation textilchemischer Vereine (IFATCC), Ashridge College, Berkhamsted (14. 9. 1962), und anlässlich eines Kolloquiums im Shirley Institute, Manchester (17. 9. 1962).

³⁾ Auszug aus der Habilitationsschrift O. A. STAMM, ETH, Zürich 1963.