

Aus dem Zentrallaboratorium der schwedischen Cellulose-
industrie, Stockholm

Über die Einwirkung von Sulfitkochsäuren auf Zuckerarten und die Vergärbarkeit von Sulfitablaugen verschiedener Herkunft ¹⁾

Von E. Hägglund, H. Heiwinkel und T. Bergek

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 10. Dezember 1942)

Die Reaktion zwischen Sulfitkochsäuren und den Komponenten des Holzes ist seit langem Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen. Das Interesse richtete sich hierbei auf folgende Fragen: In welcher Weise beeinflußt Bisulfit den Zustand des Lignins, so daß dieses aus der festen Phase in die gelöste übergeht; in welchem Ausmaße hydrolysieren Kochsäuren verschiedener Zusammensetzung die Polysaccharide des Holzes? Diese beiden Probleme waren von Wichtigkeit deshalb, weil ihnen große technische und wirtschaftliche Bedeutung zukommt: Die erste Frage behandelte ja den eigentlichen Holzaufschluß, der so geleitet werden sollte, daß man bei möglichst geringem Chemikalienaufwand und bei hoher Ausbeute zu wertvollen Zellstoffen kam; die zweite, wie weit höhermolekulare Zucker des Holzes hydrolysiert werden konnten, ohne Ausbeute und Qualität des Zellstoffs ungünstig zu beeinflussen.

Eigentümlicherweise hat man in früherer Zeit nicht untersucht, ob die Aufschlußmittel auch einen Einfluß auf die während der Kochung ausgelösten Kohlenhydrate haben. Erstmals

¹⁾ Zugleich 41. Mitt. über die Chemie der Sulfitkochung von E. Hägglund u. Mitarb.

wurde diese Frage von Hägglund, Johnson und Urban¹⁾ beleuchtet, als sie die Stabilität von Bisulfitlösungen in Gegenwart von Kohlenhydraten untersuchten. Die Beständigkeit der Sulfitkochsäuren ist von großer Bedeutung für den Verlauf der Sulfitkochung. Die Kochsäure hat ziemlich hohe Pufferwirkung, die allerdings verloren geht, wenn das Alkali der Säure zur Neutralisation von stärkeren Säuren als schwefliger Säure verbraucht wird, z. B. von Schwefelsäure. Ist die Menge der vorhandenen Base zu gering, steigt die Acidität der Kochflüssigkeit, was zu Kondensation der sich in der festen Phase befindlichen Ligninsulfonsäure führen kann.

Hägglund und Mitarbeiter stellten durch die obenerwähnten Untersuchungen fest, daß die Konzentration an SO_2 zu einem gewissen Zeitpunkt abnimmt und Schwefelsäure gebildet wird. Zur gleichen Zeit nimmt die Menge des „lose gebundenen Schwefeldioxydes“ schnell zu, um später wieder abzunehmen. Es zeigte sich weiter, daß beträchtliche Mengen an Thioschwefelsäure und Polythionsäuren entstanden, die Zwischenprodukte beim Übergang von schwefliger Säure zur Schwefelsäure ausmachen.

Beim Erhitzen von Zuckern, z. B. Glucose, mit Bisulfitlösungen unter den gleichen Bedingungen, wie sie beim Sulfitaufschluß des Holzes herrschen, nimmt die Zuckerkonzentration allmählich ab. So war nach einer Erhitzungsdauer von 18 Stunden die Menge des unverändert gebliebenen Zuckers, gemessen durch Reduktion von Fehlingscher Lösung, nur etwa die Hälfte des ursprünglichen.

Durch diese Untersuchungen war somit zum erstenmal bewiesen, daß Zucker von Sulfitkochsäuren verändert werden. Versuchte man, den durch Verminderung des Reduktionsvermögens festgestellten Zuckerschwind zu erklären, konnte man sich verschiedener Möglichkeiten bedienen. Es konnte möglich sein, daß der Zucker auf die gleiche Art abgebaut wird, wie es der Fall beim Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren ist. Diese

¹⁾ E. Hägglund, Ing. Vetensk. Akad. Medd. 1928, Nr. 86; Ber. dtsh. chem. Ges. 62, 80, 437 (1929); E. Hägglund u. T. Johnson, Svensk kem. Tidskr. 41, 8, 55 (1929); E. Hägglund u. H. Urban, Ber. dtsh. chem. Ges. 62, 2046 (1929); vgl. auch G. Menzinsky, Ber. dtsh. chem. Ges. 68 822 (1935).

Erklärung mußte aber abgelehnt werden, da die Acidität der Kochsäure zu gering war, um Ursache des Zuckerschwundes zu sein. Auch trat niemals Dunkelfärbung der Lösungen auf, wie man sie beim Erhitzen von Zuckern mit Mineralsäuren beobachtet.

Die Vermutung, daß Monosen während des Holzaufschlusses zu Produkten von geringerer Reduktionswirkung polymerisiert werden, erwies sich als unbegründet, da es nicht gelang, durch Inversion auf die ursprünglichen Reduktionswerte zurückzukommen.

Der Verlust an reduzierender Substanz hätte auch dadurch eintreten können, daß Bisulfit die Zucker zu den entsprechenden Alkoholen reduziert. Beim Erhitzen von Glucose mit Bisulfitlösungen sollte man deshalb Sorbit erwarten. Doch ist es nie gelungen, Zuckeralkohole aus den Ablaugen zu isolieren.

Es blieb deshalb nur die Möglichkeit übrig, daß Bisulfit oxydierend auf die niedrigmolekularen Kohlenhydrate einwirkt. War diese Wirkungsweise des Bisulfits mit den wahren Tatsachen übereinstimmend, sollten sich Aldonsäuren in reichlicher Menge in den Ablaugen vorfinden. Es gelang auch, diese Säuren aus technischen Ablaugen zu isolieren. Wurde Glucose mit einer Lösung von Calciumbisulfit und Schwefeldioxyd unter Druck erhitzt, erhielt man α -Gluconsäure und aus Sulfitablauge wurden wechselnde Mengen Mannonsäure gewonnen.

Da man somit einen Beweis für den oxydativen Abbau von Aldosen durch Bisulfitlösungen erhalten hatte, war es von Interesse, das Verhalten einer Ketose unter den gleichen Bedingungen zu studieren. Auch in diesem Fall konnte festgestellt werden, daß z. B. Fructose den Zerfall von Sulfitlösungen beschleunigt, wobei jedoch die Zerfallsgeschwindigkeit geringer war, als in Gegenwart von Aldosen. Es lag auf der Hand, den Reduktionsschwund durch Oxydation der Ketose zu erklären. Bekanntlich bietet aber Fructose gegenüber schwachen Oxydationsmitteln in sauren Lösungen erheblichen Widerstand. Ferner kann Oxydation nur unter gleichzeitiger Sprengung des Moleküls eintreten. Derartige Spaltungsprodukte sind jedoch niemals isoliert worden oder jedenfalls nur in geringen Mengen. Das Hauptprodukt bei der Reaktion zwischen Bisulfit und

Fructose war eine Sulfonsäure des Zuckers, die, in allerdings nicht reiner Form, isoliert werden konnte.

Bei unseren neuerdings vorgenommenen Untersuchungen konnten wir nach der im experimentellen Teil näher beschriebenen Methodik über die Ca- und Ba-Salze ein schwefelhaltiges Derivat der Fructose als Brucinsalz gewinnen, das eine Zusammensetzung hatte, die der Anlagerung von 1 Mol H_2SO_3 an 1 Mol Fructose entsprach. Mit großer Wahrscheinlichkeit läßt sich sagen, daß es sich bei dieser Substanz nicht um das einfache Addukt handelt, da dieses bisher nach der für die Darstellung der glucoseschwefligen Säure benutzten Methode nicht gewonnen werden konnte¹⁾. Es muß sich vielmehr um ein sehr stabiles Umlagerungsprodukt der primär gebildeten Additionsverbindung handeln.

Die Fructosesulfonsäure bildet einen völlig neuen Typ von Zuckerderivaten, die lange Zeit unbekannt waren und deren Bildungsweise und Bau noch weiterer Untersuchung bedarf. Über die Eigenschaften dieser Sulfonsäure läßt sich folgendes sagen. In 96%-igem Alkohol ist die freie Säure gut löslich. Beim Einengen der Säure auf dem Wasserbad zersetzt sie sich, sobald Sirupskonsistenz erreicht ist, unter Abspaltung von SO_2 . Beim Behandeln der Säure mit 2n-NaOH in der Kälte tritt keine Veränderung ein, erst beim Erwärmen mit Alkalien wird langsam SO_2 abgespalten. Die Säure reduziert Fehlingsche Lösung nicht. Durch Hydrolyse in 0,1n-HCl bzw. 0,1n-NaOH während 15 Minuten bei 100° wird das Reduktionsvermögen nicht erhöht. Auch in sauren Lösungen ist die Säure somit beständig, SO_2 wird nur langsam beim Kochen mit 10–15%-iger Schwefelsäure abgespalten.

Die Bildung von Aldonsäuren aus der Aldosen beim Druck-erhitzen mit Bisulfitlösungen wurde von Hägglund, Johnson und Urban²⁾ auf folgende Art erklärt: Der Zucker bildet zunächst unter Anlagerung von Bisulfit die aldoseschweflige Säure. Diese Additionsverbindung wird danach von Bisulfitionen zu einer unbeständigen Ketosulfonsäure oxydiert, wobei Bisulfit

¹⁾ E. Hägglund u. H. Urban, Ber. dtsh. chem. Ges. **62**, 2046 (1929).

²⁾ E. Hägglund, T. Johnson u. H. Urban, Ber. dtsh. chem. Ges. **63**, 1387 (1930).

selbst zu Thiosulfit reduziert wird. Die Ketosulfonsäure wird unmittelbar darauf zu Aldonsäure unter Abspaltung der Sulfonsäuregruppe hydrolysiert.

Als Beweis für die Richtigkeit dieses Reaktionsmechanismus spricht die bereits oben erwähnte Tatsache, daß in einem gewissen Stadium der Kochung ein Teil der freien schwefligen Säure in lose Bindung übergeht (vermutlich mit den Monosen), um später wieder abgespalten zu werden. Diese zwei Momente würden also der Bildung der Zuckerbisulfitverbindung, bzw. dem Zerfall der Ketosulfonsäure zur Aldonsäure entsprechen.

Das Reaktionsschema erklärt weiter die Tatsache, daß sehr saure Bisulfitlösungen nur geringe Mengen Zuckersulfonsäuren enthalten. In dem Maß, wie diese gebildet werden, werden sie von der sauren Lösung zu Aldonsäuren hydrolysiert.

Der Übergang von Aldosen zu Aldonsäuren wird durch eine Anlagerung von Bisulfit an die Zucker eingeleitet. Die Bildung dieses Additionsproduktes ist unter den bei der Sulfitkochung des Holzes herrschenden Bedingungen noch niemals untersucht worden, und es kann deshalb noch nicht mit Bestimmtheit gesagt werden, daß sie während des Sulfitaufschlusses gebildet wird. Da es sich bei unseren Untersuchungen als notwendig erwies, nähere Kenntnisse über das Zuckerbisulfit zu erlangen, die mit seinem Vorkommen in Sulfitablaugen in engem Zusammenhang stehen, synthetisierten wir die Substanz nach den Angaben von Kerp¹⁾ durch Einleiten von Schwefeldioxyd in eine Lösung von Glucose und Natriumcarbonat. Nach 3-wöchigem Einleiten war die Reaktion beendet und nach Ausfällen mit Alkohol konnte das reine Natriumsalz gewonnen werden.

Durch wertvolle Untersuchungen von Kerp und Baur²⁾ wurden die Bedingungen der Bildung des Glucosebisulfites und die des Zerfalls bekannt: Die optimale Wasserstoffionenkonzentration für die Bildung des Adduktes liegt bei dem p_H einer Bisulfitlösung (etwa $p_H = 4$). In wäßriger Lösung ist das Addukt stark dissoziiert ($K_{25^\circ} = 2,2 \cdot 10^{-1}$). Der Komplexzerfall wird durch Gegenwart von SO_2 , Bisulfit oder Glucose gehemmt. Wasserstoffionen üben ebenfalls einen hemmenden

¹⁾ W. Kerp, Arb. Kaiserl. Gesundheitsamt **21**, 211 (1904).

²⁾ W. Kerp u. E. Baur, ebenda **26**, 231 (1907).

Einfluß auf den Komplexzerfall aus, wenn auch schließlich ein Gleichgewichtszustand erreicht wird, der nach der Seite des Zerfalles hin verschoben ist.

Aus weiter unten angeführten Gründen müssen wir annehmen, daß die glucoseschweflige Säure neben entsprechenden Sulfonsäuren und Aldonsäuren in nicht unbeträchtlicher Menge in Sulfitablaugen vorkommen. Es ist die Ansicht geäußert worden, daß die Bisulfitverbindung schädlich auf die bei der Vergärung des Zuckers der Sulfitablauge durch einen reinen Vergiftungseffekt einwirkt. Ob dabei die Hefe wirklich Schaden nimmt, hat sich noch nicht mit Gewißheit nachweisen lassen. Wir haben jedoch wiederholt die Beobachtung gemacht, daß durch die Gegenwart von Zuckerbisulfit in der Gärlösung die Vergärbarkeit des Zuckers beträchtlich beeinflußt wird. Es muß deshalb dafür gesorgt werden, daß durch geeignete Neutralisierungsmethoden die Bisulfitverbindung der Sulfitablauge in Zucker und schweflige Säure aufgespalten wird und letztere durch Belüften unschädlich gemacht wird.

Zwecks Auffindung eines geeigneten Neutralisierungsverfahrens verfahren wir so, daß wir die Stabilität der glucoseschwefligen Säure bei 100° und bei variierender Wasserstoffionenkonzentration untersuchten. Das nach 1-stündiger Reaktionsdauer freigelegte Schwefeldioxyd wurde mit Stickstoff abgetrieben, in vorgelegter, verdünnter Natronlauge absorbiert und nach dem Ansäuern mit 0,1n-Chloraminlösung bestimmt. Geschah die Prüfung auf Beständigkeit der Verbindung in alkalischer Lösung, wurde nach der gewählten Reaktionszeit (1 Stunde bei 20°) die Lösung auf $p_H \sim 5$ gebracht und abgespaltenes Schwefeldioxyd in der oben angegebenen Weise übergetrieben. Der Fehler, der sich bei dieser Methode dadurch einstellt, daß man bei den alkalischen Spaltungsversuchen zwecks Bestimmung des abgespaltenen SO_2 die Lösung ansäuert, ist nicht sehr groß, da bei dem gewählten p_H von ~ 5 die glucoseschweflige Säure recht stabil ist. Wir kamen auf diese Weise zu folgenden Ergebnissen:

Tabelle 1

p_H	2,2	3,4	3,8	4,3	5,4	6,2	6,6	7,5	8,0	9,0
% abgespalt. SO_2	93,3	80,1	75,0	22,2	18,6	16,3; 12,0	2,7	60,0	69,7	90,3

Wie aus Tab. 1 und Abb. 1 hervorgeht, ist die glucoseschweflige Säure in stark sauren Lösungen sehr labil. Nähern wir uns bei der Neutralisation $p_H = 6$, einer Wasserstoffionenkonzentration also, die bei der Neutralisation von technischen Sulfitablaugen, die vergoren werden sollen, angestrebt wird, kommen wir in ein Gebiet, in dem die Bisulfitverbindung besonders beständig ist. Trotz 1-stündigen Erhitzens auf 100° und Durchblasen eines kräftigen Gasstromes durch die Lösung sind weniger als 20% der Verbindung zerlegt worden. Die

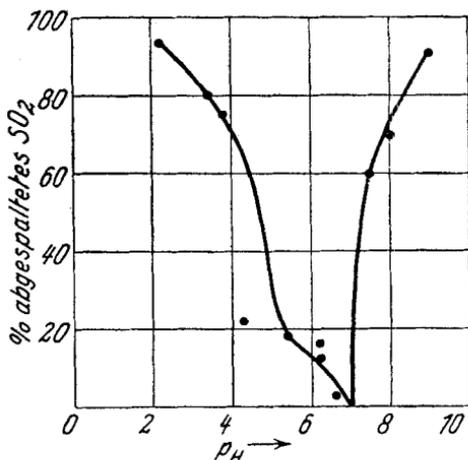


Abb. 1

Beständigkeit der glucoseschwefligen Säure in Lösungen von wechselndem p_H bei 100°

Stabilität nimmt zu, je mehr man sich dem Neutralpunkt nähert. In alkalischer Lösung ist der Komplexzerfall sehr stark. Aus der Stabilitätskurve geht als wichtigster Befund hervor, daß die glucoseschweflige Säure gerade dann ihre größte Beständigkeit hat, wenn man die Neutralisation der Sulfitlauge abbricht. Daß diese Neutralisationsmethode mitunter sehr wenig zweckmäßig ist, soll in anderem Zusammenhang (s. unten) behandelt werden.

Wie bereits erwähnt wurde, wird ein Teil des Zuckers während des Sulfitaufschlusses zu Aldonsäuren oxydiert, wobei Zuckersulfonsäure wahrscheinlich Zwischenprodukte sind. Die

Reaktion zwischen Zucker und Sulfit verläuft anders in weniger saurer Lösung¹⁾. In diesem Fall bilden sich Zuckersulfonsäuren von größerer Beständigkeit, die nicht identisch mit denen sind, die beim Erhitzen von Glucose mit stark sauren Bisulfitlösungen entstehen. Diese Sulfonsäuren sind beständig in kochenden, verdünnten Mineralsäuren und kaltem, verdünntem Alkali. Erst beim Kochen mit Alkali wird die Sulfonsäuregruppe abgespalten.

Es sei hier erwähnt, daß die Isolierung von Zuckersulfonsäuren mit großen Schwierigkeiten verbunden ist und daß es noch nicht gelungen ist, reine Produkte zu gewinnen. Die Reindarstellung von Zuckersulfonsäuren wird durch die gleichzeitige Anwesenheit von Aldonsäuren, die das gleiche Verhalten gegenüber Fällungsmitteln aufweisen, erschwert. Versuche, die Sulfonsäuren von den Aldonsäuren mit Hilfe von geeigneten Permutiten zu trennen, haben bisher keine versprechenden Ergebnisse gezeigt. Es ist deshalb erklärlich, daß man bei Versuchen, die Zuckersulfonsäuren zu gewinnen, diese stets in Mischung mit Aldonsäuren erhält. Über die Gewinnung von Zuckersulfonsäurepräparaten wird demnächst in anderem Zusammenhang berichtet werden.

Es war nun von Interesse, zu studieren, ob die Zuckersulfonsäuren einen Einfluß auf die alkoholische Gärung ausüben. Zu Gäransätzen, wie sie vom Analyseausschuß des Zentrallaboratoriums der schwedischen Celluloseindustrie²⁾ vorgeschrieben sind, wurde Glucose, das Calciumsalz eines Glucose-sulfonsäurepräparates, bzw. dessen alkalisches oder saures Hydrolysat zugesetzt. Nach 40-stündiger Gärung wurde der gebildete Alkohol bestimmt. Die Versuche sind in Tab. 2 wiedergegeben.

Aus der Tab. 2 geht hervor, daß das Glucosesulfonat selbst nur eine sehr geringe Reduktionswirkung gegenüber Fehlingsche Lösung hat. Durch Hydrolyse in saurer Lösung ($p_H = 5$, 45 Minuten $100^\circ C$) nimmt diese Wirkung etwas zu, erreicht doch bei weitem nicht den Wert, der dem Zucker selbst zukommt. Die alkalische Behandlung, die bei 20° und $p_H = 8,5$

1) E. Hägglund, E. Johnson u. H. Urban, a. a. O.

2) Tekn. meddelanden, CCA 12 (1942).

Tabelle 2

Nr.	Zusätze g/Liter	Reduzierender Zucker in g/Liter		Alkohol- ausbeute ml/Liter	Wirkungs- grad
		vor Gärung	nach Gärung		
1	8,60 g Glucose	8,58	0,11	4,66	86
2	17,40 g Ca-Glucosesulfonat	0,20	0,03	0,05	45
3	8,60 g Glucose + 17,40 g Ca-Glucosesulfonat	8,60	0,13	4,66	86
4	8,60 g Glucose + 17,40 g Ca-Glucosesulfonat (sauer hydrolysiert)	8,80	0,10	4,80	86
5	Wie 4), doch al- kalisch hydroly- siertes Ca-Salz . .	8,65	0,13	4,00	73
6	17,40 g sauer hydrolysier- tes Ca-Glucose- sulfonat	2,72	0,22	0	0

(45 Minuten) vorgenommen wurde, hat keine Vergrößerung des Reduktionsvermögens des Glucosesulfonates bewirkt. Ferner geht aus der Tabelle hervor, daß das Glucosesulfonat nicht vergärt werden konnte. Auch wenn die Sulfonsäuregruppe recht stabil an das Zuckermolekül gebunden ist, stand ja die Möglichkeit offen, daß sie auf enzymatischem Wege abgespalten wird.

Wie aus kürzlich erschienenen Arbeiten aus diesem Institut hervorgeht¹⁾, wird die Gegenwart von Zuckersulfonsäuren in den niedrigmolekularen Ligninsulfonsäurefraktionen der Sulfitablaugen vermutet. Diese Fraktionen sind u. a. dadurch gekennzeichnet, daß ihr anfangs sehr geringes Reduktionsvermögen durch saure Hydrolyse stark vergrößert wird. Es wurde die Vermutung ausgesprochen, daß die gesteigerte Reduktionswirkung sulfonierten Kohlenhydraten zukommt.

Da es von Bedeutung war, die Bildung von sulfonierten Kohlenhydraten bei dem Sulfitaufschluß und ihr Vorkommen in den niedrigmolekularen Ligninsulfonsäurepräparaten experimentell zu beweisen, wurden folgende Versuche ausgeführt. Durch Behandlung von Holz mit Natriumchlorit in schwach essigsaurer Lösung bei $\sim 65^{\circ}$ hergestellte Holocellulose wurde

¹⁾ H. Erdtman, Svensk Papperstidn. 45, 315 (1942).

mit Aufschlußmitteln verschiedener Zusammensetzung behandelt. Der leitende Gedanke hierbei war, zu Reaktionsprodukten zu kommen, deren Vorkommen in den niedrigmolekularen β -Ligninsulfonsäurefraktionen vermutet wurde. In einem Versuch wurden 185 g Holocellulose mit 1 Liter Kochsäure versetzt, die 1% CaO und 5% SO₂ enthielt. In 3 Stunden wurde auf 130° erhitzt und diese Temperatur darauf 8 Stunden beibehalten. In einem anderen Versuch wurde die gleiche Menge Holocellulose mit 1 Liter 12%-iger Natriumbisulfatlösung versetzt, in 3 Stunden auf 130° erhitzt, welche Temperatur dann 17 Stunden lang beibehalten wurde. Unter Benutzung der von Erdtman¹⁾ beschriebenen Arbeitsmethodik konnten wir aus den Reaktionsmischungen 2 Fraktionen gewinnen, deren Zusammensetzung und Reduktionsvermögen aus folgender Tab. 3 hervorgehen:

Tabelle 3

	Ausbeute an unveränderter Holocellulose %	Zuckersulfonsäurefraktion, aschefrei, in % des Ausgangsmaterials	S %	Ba %	Ba/S	Cu-Zahl vor Hydrolyse	Cu-Zahl nach Hydrolyse
CaO-SO ₂ -Kochung	73,3	10	7,69	22,88	$\frac{1}{1,44}$	15,7	27,2
NaHSO ₃ -Kochung	69,0	16	5,88	23,90	$\frac{1}{1,06}$	5,5	41,5

Die beiden hier wiedergegebenen Fraktionen bilden einen großen Anteil des Ausgangsmaterials. Der Teil der gelösten Holocellulose, der nicht in Form von schwefelhaltigen Produkten isoliert wurde, ist wahrscheinlich nach der Hydrolyse nicht sulfoniert worden, zum Teil bei der Isolierung verloren gegangen. Der Schwefelgehalt ist durchgehend hoch und deutet darauf hin, daß es sich hier um niedrigmolekulare Sulfonsäuren handelt und nicht etwa um solche, die sich von höherpolymeren Kohlenhydraten ableiten. Das Verhältnis von Ba:S ist im

¹⁾ H. Erdtman, a. a. O., ebenda 45, 374 (1942).

ersten Fall 1 : 1,44; für reine Zuckersulfonsäure sollte das Verhältnis 1 : 2 gelten. Ob das gefundene Verhältnis auf Gegenwart von Carbonsäuren beruht, kann noch nicht mit Sicherheit gesagt werden. Kleine Mengen von anorganischen Bariumsalzen sind gegenwärtig, übersteigen jedoch nicht 1% (berechnet als BaSO_4). Im NaHSO_3 -Aufschlußversuch ist das Verhältnis Ba:S des isolierten Produktes nahezu 1. Es ist bisher angenommen worden, daß es sich hier um eine Zuckersulfonsäure handelt, die außer der Sulfonsäuregruppe noch eine Carboxylgruppe enthält. Unsere fortgesetzten Untersuchungen werden über die Richtigkeit dieser Annahme entscheiden. Bisher läßt sich nur sagen, daß sich das Verhältnis $\text{Ba/S} = 1/1,06$ mit dieser Annahme vereinigen läßt.

Aus Tab. 3 geht weiter hervor, daß bei der Kochung mit CaO-SO_2 -Lösung Sulfonsäuren gebildet werden, deren Kupferzahl nahezu mit derjenigen übereinstimmt, die solche β -Ligninsulfonsäurepräparate aufweisen, die aus Ablaugen von Kunstseidenzellstoffen oder solchen von harten Zellstoffen gewonnen wurden¹⁾. Diese Kupferzahl ist relativ hoch (etwa 15) und steigt etwas durch saure Hydrolyse. Aus der Reaktionsmischung des Versuches mit Natriumbisulfit wurde dagegen ein Zuckersulfonsäurepräparat isoliert, dessen Kupferzahl klein vor der sauren Hydrolyse war, danach jedoch auf den 9-fachen Wert anstieg. Die gleiche Beobachtung läßt sich an β -Ligninsulfonsäurepräparaten machen, die man aus Ablaugen von Natriumbisulfitkochen isoliert.

Nachdem so das Vorkommen von Reaktionsprodukten aus Zuckerarten und schwefliger Säure in den Ablaugen von Sulfitkochen erneut bewiesen worden war, untersuchten wir die im vorigen Versuch (Kochung von Holocellulose mit Calcium-, bzw. Natriumbisulfit) erhaltenen Zuckersulfonsäurepräparate auf ihre Wirkung bei der alkoholischen Gärung. Wir setzten 3 Gärlösungen von der üblichen Zusammensetzung an (vgl. oben), die außerdem folgende Zusätze enthielten: Ansatz 1: Glucose 40 g/Liter; Ansatz 2: Glucose 40 g/Liter + Barium-Zuckersulfonat (Präparat von der CaHSO_3 -Holocellulose-

¹⁾ H. Erdtman, a. a. O.; H. Erdtman, P. Ericson u. E. Hägg-lund, im Druck.

Tabelle 4

Nr.	Vor Gärung				Nach Gärung				Alkohol ml/Liter	Wirkungs- grad der Gä- rung in %
	pH	Reduz. Zucker g/Liter	Freies SO ₂ g/Liter	Alde- hyd geb. SO ₂ g/Liter	pH	Reduz. Zucker g/Liter	Freies SO ₂ g/Liter	Alde- hyd geb. SO ₂ g/Liter		
1	6,02	39,8	0	0	3,72	0	0	0	16,67	65
2	6,06	44,3	0,485	0,160	4,44	0	0,407	0,221	15,00	53
3	6,02	55,1	2,955	0,575	5,79	26,1	0,105	1,951	5,87	29

kochung) 20 g/Liter; Ansatz 3: Glucose 40 g/Liter + glucose-schwefligsaures Natrium 20 g/Liter. Vor Beginn der Gärung wurde das p_H auf etwa 6 eingestellt, dann die Reaktionsmischung 48 Stunden bei 34° verwahrt. Die Menge der freien und aldehydgebundenen schwefligen Säure wurde sowohl vor, als nach der Gärung bestimmt. Die wichtigsten Versuchsdaten und -ergebnisse sind in der folgenden Tab. 4 wiedergegeben.

Wie bereits bei der Diskussion der Tab. 2, in der die Ergebnisse von Gärversuchen mit auf bestimmte Art gewonnenen Zuckersulfonsäurepräparaten wiedergegeben wurden, hervorgehoben wurde und auch durch den vorliegenden Versuch bestätigt wird, üben die Zuckersulfonsäuren einen geringen hemmenden Einfluß auf die Gärung aus. Zwar wird alle reduzierende Substanz restlos vergoren, doch ist die Alkoholausbeute trotz anfänglich höherer Reduktion des Gäransatzes geringer. Die Menge der aldehydgebundenen schwefligen Säure nimmt etwas zu, auf Kosten der freien schwefligen Säure. Von besonderem Interesse bei diesem Versuch ist, daß große Mengen an Schwefelwasserstoff bereits zu Beginn der Gärung gebildet wurden, was auf eine reduktive Spaltung der Sulfonsäure hindeutet. Über den Verlauf dieser Spaltung können wir im Augenblick noch nichts aussagen. — In Versuch 3, der außer Glucose noch glucoseschweflige Säure enthält, macht sich eine starke Hemmung in der Vergärbarkeit des Zuckers bemerkbar. Die Menge reduzierenden Zuckers beträgt vor der Gärung 55,1 g/Liter, nach beendeter Gärung sind noch 26,1 g/Liter vorhanden. Unter der Voraussetzung, daß die freie Glucose vollkommen vergärt ist, die Bisulfitverbindung dagegen unan-

gegriffen ist, hätte man nach der Gärung 15,3 g reduzierten Zucker zu erwarten. Der Restzucker beträgt jedoch 26,1 g/Liter. Die hemmende Wirkung hat aller Wahrscheinlichkeit nach seine Ursache in der Gegenwart der schwefligen Säure, die den Acetaldehyd abfängt. Dies geht u. a. aus dem Umstand hervor, daß die Menge der aldehydgebundenen schwefligen Säure auf etwa das 4-fache wächst und dabei wesentlich stärker gebunden ist, als anfangs (für glucoseschweflige Säure ist die Dissoziationskonstante $K_{25^{\circ}} = 2,2 \cdot 10^{-1}$, für acetaldehydschweflige Säure $K_{25^{\circ}} = 2,5 \cdot 10^{-6}$).

Da sich nach dem Vorhergesagten die Gegenwart von Zuckerbisulfitverbindungen in der zu vergärenden Ablauge störend bemerkbar macht, ist es notwendig, die Verbindung vor der Vergärung zu zerstören. Wird der Holzaufschluß mit einem relativ geringen Kalkgehalt der Kochsäure durchgeführt und der Zellstoff weit heruntergekocht, löst sich dieses Problem von selbst, da das p_H nach dem Ablassen der Ablauge außerhalb des Stabilitätsgebietes der glucoseschwefligen Säure zu liegen kommt. Ist dagegen der Kalkgehalt der Kochsäure hoch und die Kochzeit kurz, wie es bei der Herstellung von starken Zellstoffen der Fall sein kann, so daß die Bisulfitverbindung in die Ablauge kommt, liegt das p_H der Ablauge innerhalb des Stabilitätsintervalles. Ablaugen der letztgenannten Art sind deshalb nur schlecht oder überhaupt nicht unter sonst normalen Bedingungen vergärbar.

Wir geben, um das Gesagte zu verdeutlichen, folgende Gärversuche als Beispiel an: Die Ablaugen von 2 Kochungen von starken Zellstoffen wurden nach der Standardmethode (vgl. oben) durch Belüften und Neutralisieren mit CaCO_3 auf $p_H = 6$ eingestellt und vergärt. Die Ergebnisse sind in der Tab. 5 angegeben:

Tabelle 5

CaO-Gehalt der Kochsäure, %	1,2	1,2
Roe-Zahl des Zellstoffs	7,0	6,2
Zuckergehalt der Ablauge, g/Liter	26,8	34,7
„ vor Gärung, „	26,2	33,7
„ nach „ „	24,0	24,3
Alkoholausbeute ml/Liter Ablauge	0,64	1,0

In dem einen Fall ist die Hemmung nahezu vollständig. Daß es sich hier um den hemmenden Einfluß der Zuckerbisul-

fitverbindung handelt, geht aus dem folgenden Versuch hervor, in dem die selben Ablaugen wie im vorigen Versuch benutzt wurden. Jedoch wurde diesmal mit Kalkwasser so weit neutralisiert, daß das End- p_H außerhalb des Stabilitätsintervalles der Bisulfitverbindung — im Alkalischen — lag. Kurz vor der Gärung wurde dann das p_H auf 6 eingestellt. Die Ergebnisse gehen aus Tab. 6 hervor.

Durch die Alkalisierung der Ablauge konnte die gärungshemmende Wirkung zu einem großen Teil aufgehoben und die Alkoholausbeute auf das 7—10-fache erhöht werden.

Tabelle 6

Neutralisiert bis p_H *)	7,68	7,01
Zuckergehalt vor Gärung	26,2	33,7
„ nach „	13,9	15,6
Alkoholausbeute, ml/Liter Ablauge	6,2	7,4

*) Und danach auf p_H 6 eingestellt.

Wir haben somit große Sicherheit gewonnen, daß unter Umständen ein beträchtlicher Teil des in den Ablaugen von Kochungen von starken Zellstoffen vorkommenden Zuckers als Zuckerbisulfitverbindung vorkommt. Die fortgeführte Untersuchung wird volle Klarheit darüber geben.

Experimenteller Teil

1. Darstellung des Brucinsalzes der Fructosesulfonsäure

50 g Fructose werden mit 1 Liter einer Lösung, die 1,20% CaO und 4,43% SO_2 enthält, versetzt und im Autoklaven in 2 Stunden auf 132° erhitzt und 8½ Stunden bei dieser Temperatur gehalten. Nach dieser Zeit war die Reduktion der Reaktionsmischung um 62% gesunken. Die Lösung wurde mit Schwefelsäure versetzt, bis deren Konzentration 2%-ig war, um eventuell gebildete Polytionsäuren zu zerstören und 4 Stunden auf 75° erwärmt. Darauf wurde die Lösung zwecks Entfernung überschüssiger, schwefeliger Säure gelüftet und mit $CaCO_3$ bis $p_H = 6$ neutralisiert. Die Fällung an anorganischen Salzen wurde abfiltriert und gewaschen. Nicht umgesetzte Fructose wurde vergärt. Die vergärende Lösung wurde mit Tier-

kohle entfärbt und filtriert. Darauf wurde sie durch einen mit Wasserstoffionen geladenen Organolithen filtriert und mit BaCO_3 neutralisiert. Die aufgetretene Fällung von Bariumsalzen wurde abfiltriert und das Filtrat in Leuchtgasatmosphäre und unter Vakuum bei 35° auf 65 ml eingengt. Kleine Mengen ausgeschiedene Bariumsalze wurden durch Filtrieren entfernt. Die klare Lösung wurde unter starkem, mechanischem Umrühren in 500 ml absol. Alkohol eingetroppt, wobei eine flockige, gelbe Fällung auftrat. Diese wurde abfiltriert, mit absol. Alkohol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Gewicht der Fällung = 47,53 g. Das Präparat enthielt 8,30% S und 20,25% Ba; Ba:S = 1 : 1,76. Das Filtrat nach dieser Fällung wurde mit negativem Ergebnis auf Lactone geprüft. 10 g Fällung wurden in 50 ml Wasser gelöst und durch eine Schicht eines mit Wasserstoff geladenen Organolithen filtriert. Der Organolith wurde mit Wasser ausgewaschen, so daß das Filtrat + Waschwasser 150 ml ausmachte. 120 ml dieser Lösung wurden unter kräftigem Umrühren so lange mit feinpulverisiertem Brucin versetzt, bis Kongopapier nach rot umschlug. Die Lösung wurde darauf im Vakuum und unter Einheiten von Leuchtgas auf 40 ml eingengt und diese in 400 ml absol. Alkohol unter Umrühren eingetroppt. Die alkoholische Mischung wurde einige Stunden bei 0° aufbewahrt, wobei eine weiße, krystalline Fällung auftrat. Diese wurde auf einer gekühlten Glasfilternutsche abgesaugt, mit kaltem absol. Alkohol gewaschen und schließlich mit Äther getrocknet. Diese Fällung wog 4,77 g. Die Substanz wurde in einer Mischung von Äthanol-Isoamylalkohol umkrystallisiert und zeigte danach die Form von gekreuzten, kleinen Stäbchen. Diese Krystalle wurden abfiltriert, gewaschen und getrocknet (vgl. oben). Gewicht = 1,39 g, Schmp. 258° (Korr.). Die Analyse der Substanz ergab:

C 53,18 H 6,19 N 4,33 S 4,92 OCH_3 9,75
S : OCH_3 = 1 : 2,05.

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{SO}_3 \cdot \text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{N}_2$:

Ber. C 53,02 H 6,14 N 4,27 S 4,88 OCH_3 9,45
S : OCH_3 = 1 : 2.

Mit der Darstellung anderer Salze dieser Substanz sind wir beschäftigt.

2. Herstellung der Holocellulose

337 g lufttrockene = 300 g atro feinste, mit Alkohol und Äther erschöpfend extrahierte Fichtenholzspäne wurde mit 10 Litern einer Lösung versetzt, die 100 g Natriumchlorit und 18 g Eisessig enthielt. Die Reaktionsmischung wurde in einer gut verschlossenen Glasflasche auf eine Temperatur von 65° gebracht und 22 Stunden bei dieser Temperatur unter gelegentlichem kräftigem Umrühren verwahrt. Danach wurden die Späne abfiltriert und gut mit Wasser gewaschen. In der 2. Stufe wurde ebensoviel Natriumchlorit und Eisessig zugesetzt, wie in der ersten, auf 65° erwärmt, welche Temperatur 18 Stunden beibehalten wurde. Diese Operation wurde noch ein drittes und viertes Mal wiederholt. Reaktionsdauer je 12 Stunden. Die getrocknete Holocellulose wurde in einer Ausbeute von 67,2% erhalten, ihr Ligningehalt war 1,06%, ihr Aschegehalt 1,18%. Bei einer geringen Verkürzung der Reaktionszeiten konnte eine 73,6%-ige Holocelluloseausbeute erhalten werden, doch betrug dann der Ligningehalt 4,15%.

Zusammenfassung

Bei dem Sulfitaufschluß des Holzes wird ein Teil des gelösten Zuckers — vermutlich über die Zuckerbisulfitverbindung und eine labile Ketosulfonsäure — in Aldonsäuren verwandelt. Aus Ablaugen von Kochungen mit stark sauren Bisulfitlösungen lassen sich Zuckersulfonsäuren in geringen Mengen gewinnen. Mit weniger sauren Bisulfitlösungen entstehen Zuckersulfonsäuren, die mit den vorhergenannten nicht identisch sind. Diese Sulfonsäuren sind beständig in kochenden, verdünnten Mineralsäuren und kaltem, verdünntem Alkali.

Beim Erhitzen von Fructose unter Druck mit Bisulfitlösungen entsteht Fructosesulfonsäure, dessen Brucinsalz in guter Ausbeute rein dargestellt wurde. Die Zuckersulfonsäuren bilden einen neuen Typ von bisher unbekanntem Zuckerderivaten.

Die stabileren Zuckersulfonsäuren sind nicht vergärbare und scheinen die Vergärung von Glucose nicht zu beeinflussen.

In den Sulfitablaugen, vor allem in denen von Kochungen von starkem Zellstoff, liegt unter Umständen aller Zucker in Form von Zuckerbisulfit vor. Diese Verbindung hemmt die

alkoholische Gärung stark und ist selbst nicht vergärbar. Es wurde nachgewiesen, daß die Zuckerbisulfitverbindung ein Stabilitätsintervall zwischen $p_H = 4$ und 7 hat. Sie muß vor der Gärung zerstört werden.

Durch Alkalisieren der Ablaugen von Kochungen von starkem Zellstoff konnte die Alkoholausbeute bei der Gärung auf das 7—10-fache erhöht werden.

Das Vorkommen von Zuckersulfonsäuren in Präparaten der niedrigmolekularen β -Ligninsulfonsäuren wird experimentell bewiesen.