

Fraktionierung hochpolymerer Stoffe durch die chromatographische Adsorptions- analyse I.

Fraktionierung von Acetylcellulose

Von

H. MARK und G. SAITO

(Eingegangen am 14. 5. 1936. Vorgelegt in der Sitzung am 18. 6. 1936)

1. Einleitung.

Bisher wurden Fraktionierungen hochpolymerer Stoffe hauptsächlich mit Hilfe der folgenden Methoden versucht:

1. durch fraktionierte Fällung,
2. durch fraktionierte Auflösung,
3. durch Diffusion in organischen Lösungsmitteln,
4. durch Ultrafiltration.

Nach 1. entstehen die verschiedenen Fraktionen durch steigenden Zusatz von Nichtlösungsmittel und können durch Filtration voneinander getrennt werden. Die meisten hierhergehörigen Versuche wurden mit Acetylcellulose¹ und Nitrocellulose² durchgeführt und ergaben in der Tat Fraktionen mit verschiedenen physikalisch-chemischen Eigenschaften trotz ihres beinahe gleichen Acetyl- oder Stickstoffgehaltes, so daß die Trennung wohl im wesentlichen hinsichtlich der Molekülgröße erfolgt.

Die Methode 2. ermöglicht es, aus einer Acetylcellulose durch Behandlung mit Benzol-Methylacetatgemischen steigender Methylacetatkonzentration stufenweise verschiedene Fraktionen herauszulösen³. Dabei bekommt man ebenfalls Fraktionen von gleichem Essigsäuregehalt aber sehr verschiedener Viskosität.

Die Diffusion in organischen Lösungsmitteln und besonders die Ultrafiltration wurden in den vergangenen Jahren ebenfalls wiederholt dazu verwendet, um Trennungen eines Gemisches von Polymerhomologen zu bewirken.

Die großen Erfolge der chromatographischen Methode auf

¹ Z. B. J. G. Mc NALLY und A. P. GOUBOUT, J. Amer. chem. Soc. **51** (1929) 3095; H. J. ROCHA, Kolloid-Beih. **30** (1930) 230 und W. HERZ, Cellulosechem. **15** (1934) 95.

² J. DUCLAUX und E. WOLLMANN, Bull. Soc. chim. France (IV) **27** (1920) 414 bzw. Zbl. (III) **91** (1920) 233. Vgl. auch E. BERL und O. HEFTER, Cellulosechem. **14** (1933) 72.

³ I. SAKURADA und M. TANIGUCHI, J. Soc. chem. Ind. Japan (B) **35** (1932) 249.

dem Gebiete der Carotine und anderer Farbstoffklassen ließen es wünschenswert erscheinen zu versuchen, ob diese Methode auch im Bereich der hochpolymeren Stoffe eine Trennung sonst schwer voneinander trennbarer Gemische gestattet.

Die Methode wäre dann brauchbar, wenn die Adsorptionsfähigkeit eine Funktion der Teilchengröße wäre, was hinsichtlich der Adsorptionsgeschwindigkeit durchaus möglich erscheint.

2. Bisherige Versuche zur Adsorption kolloider Lösungen an festen Substanzen.

Die Absorption kolloidgelöster Stoffe durch Kohle und andere feste Körper mit großer Oberfläche ist seit langem bekannt⁴. R. MARC⁵ und O. ARENDT⁶ haben kolloide Lösungen von Stärke, Albumin und Gummiarabicum untersucht und dabei als Adsorbens im wesentlichen Strontiumcarbonat, Bariumcarbonat und Kohle verwendet. Sie fanden bei der Adsorption aus verdünnten Lösungen die FREUNDLICH^{sch} Adsorptionsisotherme⁷ bestätigt.

Im allgemeinen ist die Adsorption aus organischen Lösungen geringer als aus wässrigen. So hat man gefunden, daß die adsorbierte Menge eines Cellulosederivates aus organischer Lösung geringer ist als die adsorbierte Menge von Glucose an Kohle⁸ aus einer wässrigen Lösung, welche, wie die Versuche mehrerer Autoren zeigten, durch Zusatz von Aceton, Essigsäure, Äthylalkohol und Phenol herabgesetzt⁹ werden kann.

Die Adsorptionsmenge ist je nach dem Lösungsmittel, Adsorbens und Gelösten verschieden; sie hängt von der Temperatur ab und wird um so geringer, je höher diese ist.

3. Adsorption von Acetyl- und Nitrocellulose an Kohle, Aluminiumoxyd, Calciumcarbonat und Stärke.

100 cm³ einer 0.5%igen Lösung von Acetyl- oder Nitrocellulose in Aceton bzw. Dioxan wurden mit 10g Blutkohle¹⁰, Aluminiumoxyd¹¹, Calciumcarbonat (MERK) bzw. Stärke gut ge-

⁴ W. OSTWALD, Lehrb. allg. Chem., 2. Aufl. 1 (1890) 1093.

⁵ R. MARC, Z. Elektrochem. 20 (1914) 515.

⁶ O. ARENDT, Kolloid-Beih. 7 (1915) 212.

⁷ H. FREUNDLICH, Kapillarchem., Leipzig 1 (1930) 244.

⁸ F. HAYASHI, J. Biochem., Tokyo 16 (1932) 1.

⁹ P. RONA und L. MICHAELIS, Biochem. Z. 16 (1908) 489; E. MASING, Pflügers Arch. 156 (1914) 403; J. M. KOLTHOFF, Biochem. Z. 168 (1926) 122; F. HAYASHI, l. c.

¹⁰ Nach F. HAYASHI (l. c.) zeigt die KAHLEBAUMSCHE Blutkohle die stärkste Adsorption, daher wurde bei diesem Experiment nur die KAHLEBAUMSCHE gepulverte Blutkohle verwendet, ohne eine andere Kohle zu überprüfen.

¹¹ MERKSCHES wasserfreies Al₂O₃, standardisiert nach BROCKMANN.

schüttelt und über Nacht stehen gelassen. Nach der Filtration mit Preßluft durch eine Schicht von Glaswolle, Asbest und Stärke wurde die Menge und Viskosität des Rückstandes aus dem Filtrat bestimmt. Die Resultate sind in der Tabelle 1 angegeben. Aus ihr kann man ersehen, daß bei Acetylcellulose ein großer Unterschied in der Adsorptionsmenge bei Aceton- und Dioxanlösung besteht und daß sich bei der Acetonlösung ein Zusammenhang zwischen Adsorptionsmenge und Viskosität zeigt. Dabei ist die Viskosität des Filtrats bei Blutkohle besonders hoch. Im Falle der Nitrocellulose bekommt man weniger klare Resultate, und zwar wahrscheinlich, weil bei der Adsorption und dem Trocknen etwas Zersetzung eintritt.

Es kämen als Adsorbens noch verschiedene andere anorganische Salze und Oxyde sowie organische Verbindung in Betracht, aber hier wurden nur die anfangs erwähnten vier angewendet.

Tabelle 1.

Adsorptionsmittel	durch 10 g Adsorptionsmittel adsorbierte Menge	Viskosität* η_r der filtrierten Lösung
Cellit L 1000 (0'5 %).		
Blutkohle**	0'46 g	1'227
CaCO ₃	0'04 g	1'172
Al ₂ O ₃	0'12 g	1'197
Stärke	0'02 g	1'171
Cellit L 1000 in Dioxan (0'5 %).		
Blutkohle	ca. 0'05 g	—
CaCO ₃	0	—
Al ₂ O ₃	„ 0'07 g	—
Stärke	0	—
Nitrocellulose E 1160 in Aceton (0'5 %).		
Blutkohle**	0'29 g	1'220
CaCO ₃	0	1'173
Al ₂ O ₃	0'05 g	1'213
Nitrocellulose E 1160 in Ätheralkohol (2:1) (0'5 %).		
Blutkohle**	0'42 g	1'168
CaCO ₃	0'03 g	1'231
Al ₂ O ₃	0'08 g	1'254
Nitrocellulose E 1160 in Dioxan (0'5 %).		
Blutkohle**	0'44 g	—
CaCO ₃	0'11 g	—
Al ₂ O ₃	0'33 g	—

* 0'1 %ige Lösung in Aceton (die Viskosität wurde immer bei dieser Konzentration bestimmt).

** Es wurden 200 cm³ Lösung angewendet.

Über den Adsorptionsmechanismus von aktiver Kohle gibt es verschiedene Theorien, wie die von O. RUFF¹³, H. H. LOWRY¹⁴, N. SCHILOW¹⁵ und L. J. BURRAGE¹⁶; sie sollen bei einer anderen Gelegenheit diskutiert werden¹⁷.

Im Anschluß an diese Vorversuche haben wir nun die chromatographische Methode auf Hochpolymere angewandt.

4. Anwendung der chromatographischen Methode auf Hochpolymere.

M. TSWETT¹⁸ hat zum ersten Mal die chromatographische Analyse für die Trennung von Farbstofflösungen verwendet; wenn man die Lösung verschiedener Farbstoffe durch die Schicht eines Adsorbens filtriert, werden sie je nach ihrer chemischen Natur mehr oder weniger stark adsorbiert und reichern sich in verschiedenen Schichten des Adsorptionsturmes an. Sie lassen sich nach dem Herausnehmen der Adsorptionsmasse getrennt von einander eluieren. TSWETT hat diese Methode bei der Trennung von Carotinen und Chlorophyllen mit gutem Erfolg angewendet. Im allgemeinen ist nämlich die Adsorptionsaffinität von der Konstitution viel stärker abhängig als die Löslichkeit. In der Folgezeit wurden mit dieser Methode hauptsächlich Carotinfarbstoffe und Chlorophylle bearbeitet¹⁹. Neuerdings wurde sie auch bei Vitaminen²⁰ mit Erfolg gebraucht. A. WINTERSTEIN²¹ hat sie für die Abtrennung des Ergosterins aus Cholesterin-Ergosterinmischen, Trennung von Oleanol und Oleanylen, Trennung von

¹³ O. RUFF und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* **32** (1923) 225; **36** (1925) 23; **33** (1926) 174 usw.

¹⁴ H. H. LOWRY, *J. Amer. chem. Soc.* **46** (1924) 845 usw.

¹⁵ N. SCHILOW, *Z. physik. Chem. (A)* **149** (1930) 211 und **150** (1930) 31 usw.

¹⁶ L. J. BURRAGE, *Trans. Faraday Soc.* **29** (1933) 445.

¹⁷ Vgl. hier auch H. FREUNDLICH, *Buch loc. cit.*, 248ff.

¹⁸ M. TSWETT, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **24** (1906) 234, 316, 384 usw.

¹⁹ F. M. SCHERTZ, *Plant Physiology* **4** (1929) 337; R. KOHN und E. LEDERER, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **64** (1931) 1349; vgl. dazu auch L. S. PALMER und C. H. ECKLES, *J. biol. Chem.* **17** (1914) 191; R. KUHN, A. WINTERSTEIN und E. LEDERER, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch.* **197** (1931) 141; R. KUHN und H. BROCKMANN, *ib.* **206** (1932) 41; A. WINTERSTEIN, *ib.* **215** (1932) 51.

²⁰ P. KARRER, R. MORF und K. SCHÖPP, *Helv. chim. Acta* **14** (1931) 1036, 1431; P. KARRER und Mitarbeiter, *ib.* **16** (1933) 625.

²¹ G. KLEIN, *Handbuch der Pflanzenanalyse*, Wien, Julius Springer (1933) IV. Bd., *Spezielle Analyse*, 3. Teil, organische Stoffe III, S. 1432.

Dipalmitylketon und Hentriakontan sowie für die Isolierung der farbigen Kohlenwasserstoffe des Steinkohlenteers benutzt²².

Es gibt Substanzen, die durch Adsorption an festen Körpern unstabil werden. Vitamin A zerfällt z. B. durch Adsorption an Fasertonerde, darum kann für seine Adsorption nur Aluminiumoxyd verwendet werden. Für Chlorophylle kann man nur Zucker nehmen, bei der Adsorption an Aluminiumoxyd oder Calciumcarbonat bleiben sie nicht stabil. Bei Nitrocellulose wurden ähnliche Erscheinungen beobachtet²³.

Wir haben nun diese Methode auf die Fraktionierung von Acetylcellulose in acetonischer Lösung angewandt.

Auf ein Glasrohr von 3 cm Durchmesser und 42 cm Länge wurde eine Kappe aus Messingdrahtnetz angepaßt, Glaswolle und Asbest eingelegt und drei Schichten von 10 g KAHLBAUMscher gepulverter Blutkohle eingefüllt, zwischen je zwei Schichten wurde ein rundes Stück Leinwand als Separator gelegt. Zuerst wurde die ganze Säule mit Preßluft von ca. 1 Atmosphäre behandelt, sodann eine 0,5%ige Cellitlösung in Aceton aufgegossen und mit Hilfe der Preßluft filtriert. Dabei wurde beträchtliche Wärmeentwicklung beobachtet, wahrscheinlich infolge der starken Adsorption von Aceton an Blutkohle. Die Menge der Lösung wurde mit 300 cm³, d. i. 100 cm³ für 10 g Kohle bemessen. Wenn man vorher die Kohle mit reinem Aceton befeuchtet, geht die Filtration gleichmäßiger aber in diesem Falle ist die adsorbierte Menge gering, daher wurde vom Anfang an die Lösung eingegossen. Dadurch ist allerdings eine unregelmäßigere Filtration unvermeidlich. Zum Schluß wurde mit reinem Aceton solange gewaschen bis keine Acetylcellulose im Filtrat nachweisbar war. Das Filtrat und die Waschflüssigkeit wurden zusammen eingedampft und der Rückstand getrocknet.

Die Blutkohle jeder Schicht wurde ebenfalls getrocknet, mit 50 cm³ Dioxan gut geschüttelt und nach einem Tag filtriert. Diese Filtration ist schwierig; es wurde für sie ein Glasrohr von 1,5 cm Durchmesser angewendet, das mit Glaswolle, Asbest und 7 g Stärke fest gestopft war. Das so erhaltene Eluat wurde

²² A. WINTERSTEIN und K. SCHÖN, Naturwiss. 22 (1934) 237; vgl. auch die chromatographische Reinigung von 3, 4-Benzpyren, A. WINTERSTEIN und H. VETTER, Hoppe-Seylers Z. physiol. Ch. 230 (1934) 169 und A. WINTERSTEIN, H. VETTER und K. SCHÖN, Ber. dtsch. chem. Ges. 68 (1935) 1079.

²³ S. PAPIKOV, Kolloid-Z. 73 (1935) 82.

bei ca. 60° C getrocknet und der Rückstand in einem Vakuum-exsiccator über Phosphorpentoxyd und Blutkohle im Vakuum stehen gelassen. Die Viskosität und der Acetylgehalt der so erhaltenen Proben wurde bestimmt.

Die Tabellen 2 bis 4 zeigen die Ergebnisse einiger bisher angestellter Versuch.

Es wurde zunächst ein Gemisch von Cellit L 700 und Cellit L 1000 im Mengenverhältnis 1:1 hergestellt und versucht, dieses Gemisch auf chromatographischem Wege zu trennen. Die relativen Viskositäten von Cellit L 700 und Cellit L 1000 sind 1'090 und 1'163. Aus den Versuchen 4 bis 6 kann man sehen, daß über die gewünschte Trennung hinausgehend noch eine weitere Fraktionierung erfolgte, die ihren Grund darin hat, daß beide Ausgangsprodukte in sich nicht gleichmäßig waren. Die oberste Schicht des Adsorptionsturmes enthält eine Fraktion, welche erheblich niedriger viskos ist, als Cellit L 700; während die beiden anderen Schichten bereits etwas höher viskose Fraktionen enthalten; die höchst viskosen Anteile jedoch befinden sich im Filtrat (vgl. Tabelle 1).

Nun haben wir die beiden vorliegenden Cellitsorten für sich einer Fraktionierung unterworfen und dabei die in den Tabellen 3 und 4 enthaltenen Resultate bekommen. Es sind hier neben den relativen Viskositäten der einzelnen Fraktionen auch die prozentischen Mengen angegeben, so daß man ein gewisses Bild über die Heterogenität von Cellit L 700 und Cellit L 1000 hinsichtlich der Kettenlänge erhalten kann.

Tabelle 2.

Gemisch von Cellit L 700 und L 1000 in Aceton ($\eta_r = 1'122$).

Versuchs-Nr.		4	5	6
Viskosität der	oberen Schicht . . .	1'060	1'059	1'077
	mittleren Schicht . .	1'074	1'076	1'070
	unteren Schicht . . .	1'092	1'106	1'092

Tabelle 3.

Cellit L 700 in Aceton.

Versuchs-Nr.	8	11	14	Verteilung (Gesamtmenge = 100 %)
obere Schicht	1'071	1'049	1'066	30—35 %
mittlere Schicht . . .	1'074	1'065	1'067	30—35 %
untere Schicht	1'089	1'067	1'073	20—25 %
Rückstand d. Filtrats	—	1'097	1'094	5—10 %

Tabelle 4.
Cellit L 1000 in Aceton.

Versuchs-Nr.	9	12	15	Verteilung
obere Schicht	1'087	1'101	1'105	30—35 %
mittlere Schicht . . .	1'102	1'135	1'116	25—35 %
untere Schicht . . .	1'107	1'138	1'126	20—30 %
Rückstand d. Filtrats	1'177	1'198	1'177	10—15 %

Um zu sehen, ob auch hinsichtlich des Acetylgehaltes durch die selektive Adsorption eine Fraktionierung eintritt, wurden in einigen Fällen die einzelnen Fraktionen analysiert. Die Acetylbestimmung wurde nach der Methode von A. FRIEDRICH und S. RAPOPORT²⁴ durchgeführt, als Verseifungsflüssigkeit diente eine Lösung von 25 % *p*-Toluolsulfosäure und 25 % *p*-toluolsulfosaurem Kalium, da dieses Reagens die Kohlenhydrate relativ wenig angreift. (A. FRIEDRICH, unveröffentlichte Versuche.) In die Vorlage wurden 5 cm³ Wasser gegeben und nach der Destillation die Essigsäure jodmetrisch bestimmt.

Der Unterschied im Acetylgehalt war fast in allen Fällen gering; so daß die Fraktionierung wohl hauptsächlich hinsichtlich der Teilchengröße oder Kettenlänge erfolgt.

Wir möchten nicht versäumen, dem Hauptlaboratorium der I. G. Farbenindustrie A. G. in Ludwigshafen sowie der Deutschen Celluloidfabrik in Eilenburg für die freundliche Überlassung von Cellit und Nitrocellulose unsern besten Dank auszusprechen; ohne ihre Hilfe hätten wir die vorliegende Arbeit nicht durchführen können.

²⁴ A. FRIEDRICH, Die Praxis der quantitativen organischen Mikroanalyse, Leipzig und Wien (1933) 162. Dr. E. ABRAHAMCZIK hat uns seinen Apparat für die Acetylbestimmung geliehen und viele Ratschläge gegeben. Wir danken ihm dafür an dieser Stelle bestens.