

Über den alkalischen Abbau von Hemicellulosen*.

II. Mitteilung.

Von

V. Prey, E. Waldmann und W. Krzandalsky.

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Wien.

Mit 4 Abbildungen.

(Eingelangt am 9. Juni 1953. Vorgelegt in der Sitzung am 25. Juni 1953.)

Die Abhängigkeit des Abbaues verschiedener Fraktionen A, B und C von Buchenholzemicellulosen im alkalischen Milieu von der Reaktionstemperatur, Zeit, pH und NaOH-Konzentration (g NaOH/1 g Hemic.) wurden untersucht und als Kriterien des Abbaues die Menge nichtabgebauter Hemicellulosen, deren Durchschnittspolymerisationsgrad (DP) sowie die gebildeten Säuren bestimmt. Aus den Versuchen geht hervor, daß nur die Reaktionstemperatur und der pH-Wert den Abbau sehr stark beeinflussen, während die Reaktionszeit und die Alkalikonzentration nur geringfügige Wirkung zeigen.

Vorversuche¹ hatten eindeutig ergeben, daß beim alkalischen Aufschluß von Buchenholz neben neutralen und sauren flüchtigen Reaktionsprodukten größere Mengen nichtflüchtiger Säuren entstehen, die zum größten Teil aus den Hemicellulosen herrühren, wie Vergleiche mit isoliertem Buchenholz-Hemicellulosen zeigten². Die Menge dieser Säuren, über deren Natur in einer späteren Veröffentlichung berichtet werden soll, hängt im wesentlichen von den Reaktionsbedingungen ab.

* Diese Arbeit gehört zu einem größeren Forschungsprogramm, für dessen Durchführung die Österreichische Gesellschaft für Holzforschung die finanziellen Mittel bereitstellte, wofür wir bestens danken.

¹ V. Prey, E. Waldmann, W. Krzandalsky und H. Swoboda, *Mh. Chem.* **84**, 93 (1953).

² Wir haben uns von den beiden Bezeichnungen Holzpolyosen und Hemicellulosen für die letztere entschieden, da sie in der angelsächsischen Literatur, die über die modernsten Arbeiten berichtet, vorherrscht.

In Fortsetzung der Vorversuche ergab sich auch, daß in sauerstofffreier Atmosphäre ähnliche Resultate erzielt werden konnten (Tabelle 1) (kleine Sauerstoffmengen haben keinen sichtbaren Einfluß auf den alkalischen Abbau der Hemicellulosen). Wir konnten auch feststellen, daß Alkali verschiedener Konzentration bei Zimmertemperatur selbst nach 85 Stdn. Einwirkungsdauer keine merkbaren Veränderungen der Hemicellulosen hervorruft (Tabelle 2). Um jederzeit reproduzierbare Werte zu erhalten, wurde besonderes Augenmerk darauf gelegt, daß die zu den weiteren Untersuchungen verwendeten Hemicellulosen mit den in der Literatur angegebenen vergleichbar waren. Die Gewinnungsmethoden für die leichtlöslichen Hemicellulosen (in der Literatur auch als leichtlösliches Xylan bezeichnet) Fraktion A und B wurden teilweise aus der Literatur übernommen³ und nur so weit abgeändert, als uns dies für die einwandfreie und leichte Herstellung notwendig erschien.

Um die schwerlöslichen Hemicellulosen (schwerlösliches Xylan) zu isolieren, muß man nach Ansicht der meisten Forscher zuerst das Lignin mit Chlor oder Chlordioxyd entfernen³. Wir versuchten, diese schwerlöslichen Fraktionen, die wir mit Fraktion C bezeichneten, so zu gewinnen, daß wir das Holz nach Entfernung von Fraktion A und B mit 4%iger Natronlauge bei 100° kochten, wobei die noch restlichen Hemicellulosen fast zur Gänze in Lösung gingen. Vorher hatten wir uns überzeugt, daß bei dieser Temperatur nur ein geringer Abbau der Hemicellulosen stattfindet.

Nach *Husemann*⁴ zeigen die schwerlöslichen Hemicellulosen denselben Durchschnittspolymerisationsgrad (DP) und dieselbe spezifische Drehung wie die leichtlöslichen; nach *Voss, Bauer* und *Pfirschke*⁵ sind sie durch

³ *W. G. van Beckum* und *G. J. Ritter*, Paper Trade J. **122**, 35 (1946). — *G. Jayme*, Cellulosechem. **20**, 43 (1942). — *E. Schmidt*, *ibid.* **12**, 201 (1931); **13**, 129 (1932). — *Th. Thomas*, J. prakt. Chem. (2) **19**, 146 (1879). — *A. G. Norman*, Biochemic. J. **31**, 1579 (1937). — *F. W. Norris*, *ibid.* **31**, 1579 (1937). — *J. A. Preece*, *ibid.* **24**, 972 (1930); **25**, 1304 (1931). — *M. H. O'Dwyer*, *ibid.* **20**, 656 (1926); **22**, 381 (1928); **25**, 2017 (1931); **28**, 2116 (1934); **33**, 713 (1939). — *K. P. Link*, J. Amer. Chem. Soc. **51**, 2506 (1929). — *E. Anderson*, *L. W. Seigle*, *P. W. Krznewich*, *L. Richards* und *W. W. Martheny*, J. Biol. Chem. **121**, 165 (1937). — *A. G. Norman* und *J. G. Shirkhande*, Biochemic. J. **29**, 2259 (1935). — *Lila Sands* und *P. Hutter*, J. Biol. Chem. **110**, 17 (1935). — *E. Anderson*, *M. Seely*, *W. T. Steward* und *J. C. Redd v. Westerbeke*, *ibid.* **135**, 189 (1940). — *E. Schmidt* und *E. Graumann*, Ber. dtsh. Chem. Ges. **54**, 1867 (1921). — *J. C. Ritter* und *E. F. Kurth*, Ind. Eng. Chem. **25**, 1250 (1935). — *H. Hass*, J. prakt. Chem. **161**, 113 (1942). — *R. L. Mitchell* und *G. J. Ritter*, J. Amer. Chem. Soc. **62**, 1958 (1940). — *K. Storch* und *O. Müller*, Cellulosechem. **19**, 24 (1941). — *C. T. Bishop* und *G. A. Adams*, Canad. J. Res., Ser. B **28**, 753 (1950).

⁴ *E. Husemann*, J. prakt. Chem. **155**, 13 (1940).

⁵ *W. Voss*, *R. Bauer* und *J. Pfirschke*, Ann. Chem. **534**, 114 (1938).

einen höheren Uronsäuregehalt von den leichtlöslichen unterschieden. Vergleichen wir unsere eigenen Fraktionen A und B mit denen anderer Autoren, z. B. *Husemann*, so finden wir A₂ und B (exper. Teil) in guter Übereinstimmung, DP 150, spez. Drehung — 85°. Ein Vergleich unserer Fraktionen A, B und C untereinander zeigt, daß sie sich bezüglich DP 144 bis 155, spez. Drehung — 84,2 bis — 86° nicht viel unterscheiden. Dasselbe Bild ergibt sich für die chemische Zusammensetzung durch einen Vergleich der Papierchromatogramme aus den sauren Hydrolysaten der einzelnen Hemicellulosefraktionen.

Die Hydrolysate der Hemicellulosen vor und nach dem alkalischen Abbau wurden chromatographiert und mit synthetischen Mischungen aus Glucose, Glucuronsäure und Xylose verglichen. Es wurde ermittelt, daß Glucose noch in einer Menge von 2% neben 98% Xylose nachweisbar ist (siehe exper. Teil). Nur bei den Hemicellulosen C wurden von uns merkbare Mengen einer Substanz mit dem R_F -Wert von Glucose festgestellt, deren Menge jedoch nicht über 2% betrug. Bei den Hemicellulosen A₁, A₂ und B vor und nach dem Abbau bei 100 und 160° wurden außer Xylose weder Glucose noch ein anderes Monosaccharid in einer Menge von über 2% gefunden.

Andere Autoren⁶ geben den Glucosegehalt der Hemicellulosen mit 4,3 bis 26,9% an.

Bei allen Versuchen wurden jedoch Substanzen gefunden, die nahezu denselben R_F -Wert wie Glucuronsäure aufweisen. In einigen Fällen konnte sogar die für Glucuronsäure typische Aufspaltung in zwei langsam laufende Flecke beobachtet werden.

Quantitative Bestimmungen des Uronsäuregehaltes nach *B. L. Browning*⁷ ergaben gute Übereinstimmung mit den Werten, die von *Haas*⁸ und *O'Dwyer*³ für Buchenholzhemicellulosen angegeben wurden. Auch in den alkalisch abgebauten Hemicellulosen der Fraktionen A₁ und A₂ wurde keine Abnahme des Uronsäuregehaltes festgestellt.

Eine fraktionierte Fällung der Hemicellulosefraktion A₂ ergab, daß diese aus einem Gemisch verschieden langer Ketten besteht (Tabelle 7), die teils einen höheren, teils einen niederen DP besitzen als der Gesamt-DP 150 angibt, der mit dem DP *Husemanns*⁴ übereinstimmt. Im Gegensatz zu uns gibt *Husemann* seine Hemicellulosen als einheitlich an; man könnte annehmen, daß dies damit zusammenhängt, daß wir nicht, wie *Husemann*, ein definiertes einheitliches Buchenholz zur Verfügung hatten.

Andererseits zeigen die Ergebnisse von *Thompson* und *Wise*⁸ für den

⁶ *H. Haas*, J. prakt. Chem. (2) **161**, 113 (1942). — *R. Runkel* und *G. Lange*, Cellulosechem. **12**, 185 (1931). — *J. König* und *E. Becker*, Angew. Chem. **32**, 155 (1919). — *E. Schmidt*, Cellulosechem. **10**, 134 (1929).

⁷ *B. L. Browning*, Tappi **32**, 119 (1948).

⁸ *J. O. Thompson* und *L. E. Wise*, Tappi **1952**, 331.

DP der Hemicellulosen des Pappelholzes ähnliche Verhältnisse, wie wir sie für Buchenholz-Hemicellulosen gefunden haben.

Im folgenden untersuchten wir die Abhängigkeit des Abbaues der drei Fraktionen im alkalischen Milieu von der Reaktionstemperatur, Zeit, pH, NaOH-Menge und der Hemicellulosenkonzentration. Es wurde streng darauf geachtet, alle außer der gerade untersuchten Reaktionsvariablen konstant zu halten. Als Kriterien des Abbaues diente uns die Menge der aus den Kochlaugen wieder fällbaren Hemicellulosen, die durch den Alkaliverbrauch gemessene Säuremenge und der DP.

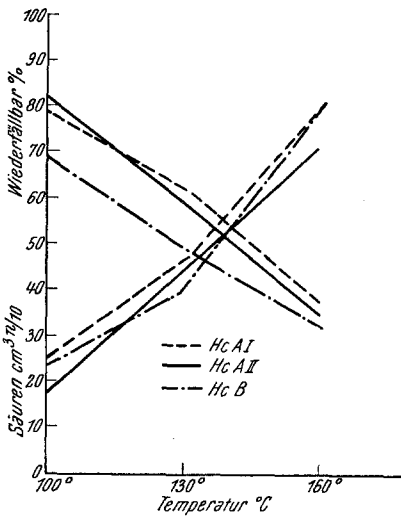


Abb. 1.

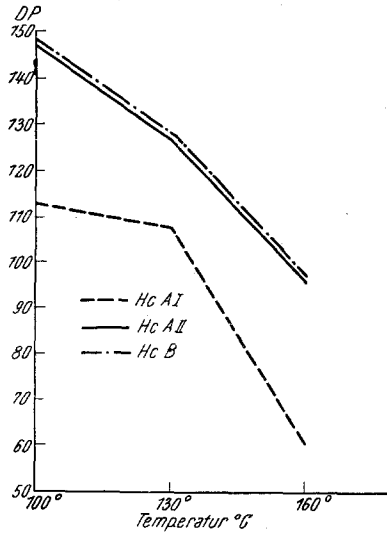


Abb. 2.

Um eine chemische Veränderung der wieder fällbaren Hemicellulosen einigermaßen zu erkennen, bedienen wir uns der Bestimmung ihrer spez. Drehung und der papierchromatographischen Erfassung ihrer sauren Hydrolysate.

Einfluß der Reaktionstemperatur. Aus den durchgeführten Versuchen geht hervor, daß die Reaktionstemperatur auf den alkalischen Abbau von größtem Einfluß ist (Tabelle 3). Abb. 1 gibt die Abhängigkeit des Wiederfällbaren der Hemicellulosen A₁ von der Temperatur bei verschiedener Reaktionszeit und den Konzentrationen n und 0,1 n NaOH wieder. Mit steigender Temperatur sinkt das Wiederfällbare mit etwa konstanter Neigung ab. Die Werte für 6stündige Reaktionszeit liegen allgemein tiefer als die für 1stündige. Im Gegensatz dazu steigt die Säuremenge (Abb. 1) mit zunehmender Temperatur in einer leicht

parabolischen Kurve an. Die Werte für längere Reaktionszeit sind entsprechend höher als die für kürzere.

Abb. 3 beinhaltet die Temperaturabhängigkeit des Abbaues der Fraktion A_2 mit NaOH während 1 Std. über ein größeres Temperaturintervall. Hier ist am besten zu sehen, daß bei 40° noch keine Säuren vorhanden sind, von hier bis 100° erfolgt ein flacher Anstieg (mäßige Säurebildung), von dort geht die Kurve steil (erhebliche Säurebildung) und mit konstanter Neigung bis 190° , bei welcher Temperatur alle Hemicellulosen abgebaut sind. Die Kurve für das Wiederfällbare verläuft dazu spiegelbildlich.

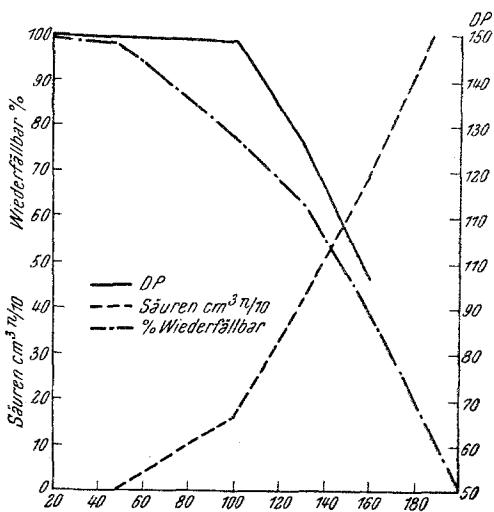


Abb. 3.

Der DP (Abb. 2, 3) wird mit steigender Temperatur stark vermindert, man sieht jedoch, daß bis 100° noch keine Verkürzung der Kettenlänge auftritt. Die Kurven sind stark gegen die Abszisse geneigt, so daß eine bestimmte Temperaturänderung bei höherer Temperatur einen weitaus größeren Einfluß ausübt als bei niedrigerer Temperatur. Bei Verwendung von 0,1 n NaOH ist der Abbau mit Bezug auf den DP weit geringer als bei n NaOH.

Die Abhängigkeit des Abbaues vom pH und der Alkalikonzentration (g Alkali/1g Hemicellulose) (siehe Tabelle 4). Für die Versuche bei pH 7 bis 11 wurde ein NaOH-Natriumboratpuffer verwendet. Die Menge der Pufferlösungen wurde so bemessen, daß die entstehenden Säuren höchstens ein Fünftel des gesamten Alkali neutralisierten. Die Aufschlüsse wurden bei 160° durchgeführt, da bei dieser Temperatur der Abbau am deutlichsten zu erkennen ist. Die Ergebnisse sind in Abb. 4 wiedergegeben. Bei pH 7,5 werden keine Säuren gebildet, der DP bleibt unverändert und die gesamten Hemicellulosen sind wieder fällbar. Bei pH 9 entsteht etwa ein Drittel der bei Verwendung ungepufferter Natronlauge entstehenden Säure. Die Säuremenge nimmt bei Steigerung des pH auf 11,5 nicht wesentlich zu, erreicht aber bei pH 13 den normalen Wert. Der Verlauf der Kurve für das Wiederfällbare ist spiegelbildlich. Ähnlich verändert sich der DP bis pH 11,5 nur unwesentlich, um bei pH 13 Werten zuzustreben, die schon mit NaOH gefunden wurden.

Die Zeitabhängigkeit des Abbaues verschiedener Hemicellulosen unter verschiedenen Bedingungen (Tabelle 5). Der weitaus größte Teil der Reaktion erfolgt innerhalb der 1. Std., während im weiteren Verlauf nur mehr geringe Veränderungen vor sich gehen. Den stärksten Einfluß auf den DP hat die Reaktionszeit bei Verwendung stärkerer Laugen bei höherer Temperatur. Andernfalls ist die Veränderung nach der 1. Std. nur mehr gering.

Aus Tabelle 6 geht hervor, daß die Menge des Überschusses an wäßriger Alkalilauge keinen nennenswerten Einfluß auf die Abbaureaktionen hat.

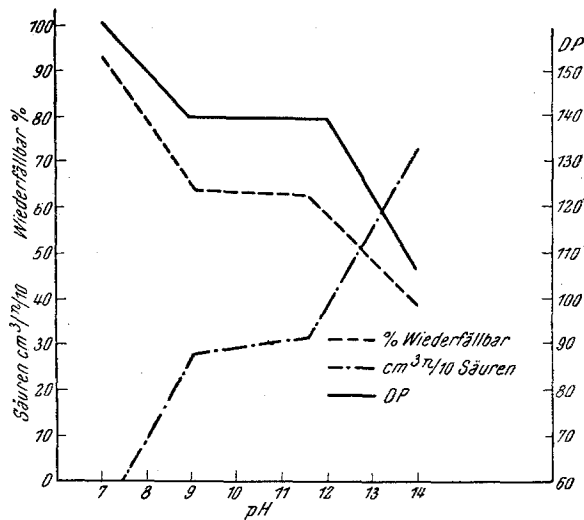


Abb. 4.

Experimenteller Teil.

Gewinnung der Hemicellulosen A.

Buchenholzspäne, zirka 3 mm lang, wurden mit einem Überschuß 4%iger Natronlauge versetzt, so daß die Späne vollständig bedeckt waren, unter Luftausschluß 48 Stdn. bei Raumtemp. stehen gelassen und der so gewonnene über Glaswolle filtrierte Extrakt in einem Vakuumumlaufverdampfer bei 15 bis 20 Torr und 40° bis zur Sirupkonsistenz eingedampft.

Fällung 1: Durch Einfließenlassen des obigen Extrakts unter gutem Rühren in eisgekühltes Alkohol-Salzsäure-Gemisch, welche die zur Neutralisation theoretische Menge Salzsäure und so viel Alkohol enthielt, daß dieser zu Ende der Fällung noch 60%ig war. Die Hemicellulosen fielen als weiße Fasern aus, die aber noch 80% Kochsalz enthielten. Zur Reinigung wurden sie nach Waschen mit Alkohol noch 3mal in 4%iger Lauge gelöst, die so gewonnene Lösung jedesmal zur Fällung unter Zugabe von HCl neutralisiert und dann mit dem doppelten Volumen Alkohol versetzt, einige Stdn. absitzen gelassen und filtriert. Zum Schluß wurde noch einmal in 4%iger NaOH

gelöst, mit dem doppelten Volumen Alkohol versetzt, mit Essigsäure gefällt, abgenutscht, 3mal mit Alkohol und nach Abpressen dieses 3mal mit Äther gewaschen. Die so als weißes Pulver erhaltenen Hemicellulosen wurden dann 2 Tage bei 70° und 200 Torr im Vak. getrocknet. Diese so gewonnenen *Hemicellulosen A 1* hatten

| | | | |
|---------------------------|-------|--------------------------|-------|
| Feuchtigkeit | 7,2% | DP (siehe Bestimmung der | |
| Aschengehalt | 2,48% | Viskosität) | 115 |
| Pentosengehalt | 84% | Spez. Drehung | — 86° |
| Uronsäuregehalt | 10,8% | | |

Bei Vergleich mit den von *Husemann* beschriebenen Hemicellulosen A fällt auf, daß jene bei gleicher spez. Drehung einen wesentlich höheren DP (150) besitzen. Es ist anzunehmen, daß durch die Verwendung eines Salzsäureüberschusses bei der Fällung eventuell ein hydrolytischer Abbau stattgefunden hat.

Fällung 2: Hier wurde der zur Sirupkonsistenz eingedampfte Extrakt in das doppelte Volumen Alkohol einfließen lassen und nachträglich mit Essigsäure unter gutem Rühren und Kühlen bis zur schwach sauren Reaktion versetzt. Die ausgefallenen Hemicellulosen waren ziemlich von Lignin verunreinigt, ließen sich aber leicht durch eine Nutsche filtrieren. Sie wurden noch feucht mit so viel Wasser versetzt, daß eine etwa 3- bis 4%ige Suspension entstand, die nach einigem Stehenlassen mit ebensoviele 4%iger NaOH in Lösung ging. Die tiefdunkelbraune Lösung wurde erneut mit dem doppelten Volumen Alkohol versetzt, mit Essigsäure neutralisiert, die ausgefallenen Hemicellulosen durch eine Porzellannutsche abfiltriert, nachher 3mal in Alkohol und 3mal in Äther aufgeschlämmt, jedesmal gut abgesaugt und ausgedrückt und dann im Vak. bei 80° und 150 Torr 8 Stdn. lang getrocknet. Nach 2maliger Wiederholung dieser Umfällung war das endgültige Produkt ein weißes Pulver, das in heißem Wasser und Alkalien leicht löslich ist. Diese so gewonnenen *Hemicellulosen A 2* hatten

| | | | |
|---------------------------|--------|--------------------------|---------|
| Feuchtigkeit | 11,95% | Methoxylgehalt | 1,32% |
| Aschengehalt | 3,66% | DP | 153 |
| Uronsäuregehalt | 11,7% | Spez. Drehung | — 85,2° |
| Ligningehalt | 0,3% | | |

Diese Hemicellulosen stimmen in ihren Eigenschaften sehr gut mit den von *Husemann* beschriebenen überein.

Gewinnung der Hemicellulosen B.

Die mit 4%iger NaOH extrahierten, laugenfrei gewaschenen, an der Luft getrockneten Buchenholzspäne wurden mit soviel 24%iger NaOH versetzt, daß sie bedeckt waren und nach einer Woche Stehen der so gewonnene Extrakt abgegossen und, da ein Eindampfen wegen der ohnehin bereits hohen Alkalikonzentration nicht möglich war, direkt mit dem doppelten Volumen Alkohol versetzt, wobei die Hemicellulosen stark braun gefärbt ausfielen und sich nach einiger Zeit absetzten. Die darüber stehende klare, stark alkalische Flüssigkeit wurde möglichst weitgehend dekantiert, die Hemicellulosen mit Alkohol nachgewaschen, nochmals dekantiert und, nachdem so die größte Menge Alkali entfernt war, dieses mit Essigsäure neutralisiert und die noch ausgefallenen Hemicellulosen durch eine Nutsche abgesaugt. Eine weitere Reinigung erfolgte, wie bei den Hemicellulosen A

beschrieben, durch Umfällen. Nach dem Trocknen im Vak. waren die *Hemicellulosen B* ein lichtbraunes Pulver und enthielten

| | | | |
|--------------------|-------|---------------------|---------|
| Feuchtigkeit | 5,14% | DP | 155 |
| Asche | 2,03% | Spez. Drehung | — 84,2° |

Gewinnung der Hemicellulosen C.

Buchenholzspäne, aus denen die Hemicellulosen A und B durch Extraktion mit 4- bzw. 24%iger NaOH schon entfernt waren, wurden mit 8%iger NaOH 2 Stdn. im Stickstoffstrom am kochenden Wasserbad erhitzt, nach dem Abkühlen die Lauge abfiltriert, im Vakuumumlaufverdampfer eingedampft und mit dem doppelten Volumen Alkohol gefällt. Der größte Teil der alkohol. Lauge wurde nach Absetzen des Niederschlages von diesem dekantiert, der Niederschlag mit Essigsäure angesäuert, abgenutscht, noch feucht mit Wasser versetzt, in 4%iger NaOH gelöst und wieder mit Alkohol und Essigsäure gefällt. Dieser Vorgang wurde 5mal wiederholt, schließlich mit Alkohol und Äther gewaschen und sodann bei 80° im Vak. getrocknet. Die gewonnenen Hemicellulosen C hatten

| | | | |
|--------------------|-------|----------|-----|
| Feuchtigkeit | 10,1% | DP | 144 |
| Asche | 7,3% | | |

Durchführung der Abbauversuche.

Bei 100° C: Zirka 1 g Hemicellulosen wurden in einem Rundkolben mit Thermometer und Rückflußkühler eingebracht und mit der entsprechenden Menge Aufschlußlauge versetzt. Während des Anheizens des Ölbadens auf 140° verdrängten wir die Luft aus dem Kolben durch einen N₂-Strom, der vorher über einen Ätznatronurm geleitet worden war. Das Ende des Rückflußkühlers war gegen die Außenluft ebenfalls durch einen Natronkalkturm geschützt, so daß jedes Eindringen von CO₂ verhindert war. Sobald die Ölbadtemp. 140° erreicht hatte, wurde der Kolben in das Ölbad gebracht und die Lauge begann nach zirka 10 Min. zu sieden. Die Reaktionszeit rechneten wir vom Beginn des Siedens der Kochlauge bis zum Entfernen des Ölbadens, wodurch die Reaktion unterbrochen war. Während der gesamten Reaktionszeit bis zum Erkalten des Kolbeninhaltes wurde durch die Apparatur N₂ geleitet. Nach Erkalten entleerten wir den Kolbeninhalt in einen entsprechenden Meßkolben, spülten einige Male nach und führten an aliquoten Teilen die einzelnen analytischen Bestimmungen durch.

Bei über 100° C: Wir arbeiteten in einem 2-l-Autoklaven mit Thermometerstutzen und Manometer in einem Stahleinsatz von 250 ccm und verwendeten für die Versuche jeweils 1 bis 2 g Hemicellulosen. Nach Einbringung des Versuchsmaterials und der Kochlauge wurde der Autoklav sofort verschlossen und durch Einleiten von N₂ während 10 Min. die Luft verdrängt. Nach Abstellen des N₂-Stromes heizten wir den Autoklaven innerhalb von 1½ Stdn. auf die Reaktionstemp. und hielten diese während der Versuchszeit konstant. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie oben.

Bestimmung der in der Kochlauge enthaltenen Säuren: Die Gesamtmenge der beim alkalischen Abbau der Hemicellulosen entstehenden flüchtigen und nichtflüchtigen Säuren erfolgte mittels Titration eines äquivalenten Teiles der Aufschlußlauge vor und nach dem Aufschluß mit 0,1 n HCl, nachdem an einem Modellgemisch aus Glycerinsäure, Milchsäure, Essigsäure und Kohlensäure durch potentiometrische Titration festgestellt wurde, daß

Phenolphthalein ein geeigneter Indikator ist. Da jedoch hierbei die Hälfte des vorhandenen CO_2 miterfaßt wird, mußte die Absorption von Luftkohensäure während des Versuches peinlichst vermieden werden. Es konnte in Blindversuchen festgestellt werden, daß die Fehler, die durch CO_2 -Adsorption während der Titration auftreten, zu vernachlässigen sind. Da die Säuremenge durch eine Rücktitration relativ großer Laugenmengen zu ermitteln ist, werden die Ergebnisse um so ungenauer, je größer der Laugenüberschuß ist. Durch Verminderung des Alkaliüberschusses wurden wesentlich exaktere Werte als bei den Vorversuchen¹ erhalten.

Bestimmung der aus den Kochlaugen wiederfällbaren Hemicellulosen: In Vorversuchen wurde ermittelt, daß es nur dann möglich ist, die gefällten Hemicellulosen durch Glassintertiegel abzufiltrieren, wenn die Konzentration vor der Fällung 1% nicht unterschreitet, ferner, daß die aus alkalischem Medium durch Alkohol und nachträgliches Ansäuern gefällten Hemicellulosen wesentlich leichter zu filtrieren sind und geringeren Aschengehalt besitzen als die durch alkohol. Säure gefällten. Auf Grund dieser Erfahrung führten wir die Bestimmung folgendermaßen durch:

Die hemicellulosehaltige Aufschlußlauge wurde mit dem doppelten Volumen Alkohol unter Rühren versetzt, mit Essigsäure bis zum Umschlag von Phenolphthalein neutralisiert, nach Absitzen des Niederschlages dieser durch einen gewogenen Glassintertiegel filtriert, je 3mal mit Alkohol und mit Äther gewaschen und im Trockenschrank bei 105° 2 bis 3 Stdn. getrocknet. Lagen geringere als 1%ige Lösungen der Hemicellulosen vor, so wurden diese zuerst durch Eindampfen im Vak. auf 1% Konzentration gebracht.

Aschebestimmung: Die Asche bestimmten wir beim Ausgangsmaterial sowie bei allen wieder fällbaren Hemicellulosen durch Glühen im Porzellantiegel. Da die Asche zum Großteil als Natriumcarbonat vorlag, ursprünglich jedoch als Natriumacetat oder Natriumsalz unbekannter Säure, ergibt sich ein gewisser Fehler, der jedoch zu vernachlässigen war, solange der Aschengehalt der verschiedenen Hemicellulosen nicht wesentlich voneinander abweicht.

Bestimmung der Viskosität⁴: Die Bestimmung der Viskosität erfolgte in einem *Ubbelohde*-Kapillarviskosimeter mit 1%igen Lösungen der Hemicellulosen in 4%iger NaOH bei 20° . Da die Hemicellulosen nach dem Auflösen oft trübe Lösungen ergaben und die Kapillare verstopften, filtrierten wir sie durch ein Papierfilter, nachdem festgestellt worden war, daß dadurch keine Veränderung der Viskosität stattfand. Durch Vorversuche konnte auch ermittelt werden, daß nach 48stündigem Stehen einer Lösung im Viskosimeter keine Veränderung der Viskosität eintrat. Den DP errechneten wir unter Verwendung der von *Husemann* gemessenen *Staudinger*-schen Konstante (5,0) für Buchenholz-Hemicellulosen A in Natronlauge.

Bestimmung der spez. Drehung⁴: Diese bestimmten wir in einem üblichen Polarimeter an einer 1%igen Lösung von Hemicellulose in 4%iger NaOH. Durch die farbigen Verunreinigungen, besonders der bei höherer Temperatur aufgeschlossenen Hemicellulosen, war es oft nicht möglich, mit dem 2-dm-Rohr zu arbeiten. In solchen Fällen sahen wir von einer Bestimmung der Drehung ab, da bei Verwendung eines kürzeren Rohres der Meßfehler zu groß wurde.

Uronsäurebestimmung: Die Uronsäurebestimmung erfolgte in einer Halbmikroapparatur nach Angaben von *B. L. Browning*⁷. An Stelle der dort beschriebenen Apparatur verwendeten wir einen Halbmikro-*Zeisel*-Apparat,

den wir etwas modifizierten. An Stelle des Absorptionsgefäßes wurde ein 20 cm langes und etwa 10 mm weites Rohr, das mit Magnesiumperchlorat gefüllt war, angeschlossen. An das untere Ende dieses Trocknungsrohres wurde ein Natronkalk-Absorptionsröhrchen angeschlossen. Das Ende der Apparatur bildete ein mit Natronkalk gefülltes U-Rohr und ein Kapillarströmungsmesser. Während des Versuches wurde Stickstoff durch die Apparatur geleitet, welcher durch einen Natronkalkturm von eventuellen Verunreinigungen befreit wurde.

Für eine Bestimmung wurden jeweils 0,3 g Hemicellulosen eingewogen und etwa 1,7 l pro Std. N₂ durch die Apparatur geleitet. In einem Blindversuch stellten wir fest, daß bei Abwesenheit von Hemicellulosen keine Gewichtszunahme des Absorptionsröhrchens erfolgte. Die Ergebnisse waren gut reproduzierbar.

| Hemic. | Einwaage g | CO ₂ (mg) | Uronsäuregehalt % |
|----------------|------------|----------------------|-------------------|
| A ₁ | 0,2930 | 8,3 | 11,2 |
| A ₂ | 0,26 | 7,6 | 11,7 |
| A ₂ | 0,2420 | 7,1 | 11,75 |

Wir fanden den Uronsäuregehalt der Hemicellulosen A etwas niedriger, als von *Haas*³ angegeben (13%). *O'Dwyer*³ fand für die Hemicellulosen B des Buchenholzes 12% Uronsäure.

Einfluß des Luftsauerstoffes auf den Abbau.

Es wurden Hemicellulosen A₁ mit 2 n NaOH 3 Stdn. im Autoklaven auf 160° erhitzt und die Luft einmal aus dem Autoklaven durch 10 Min. langes Durchleiten von N₂ verdrängt, das andere Mal belassen. Als Abbaukriterien wurden die wiederfällbaren Hemicellulosen und die gebildete Säuremenge herangezogen.

Tabelle 1.

| Versuchsbedingungen | Gesamtsäuren cem 0,1 n HCl pro 1 g Hemicellulose | Wiederfällbare Hemicellulose in % |
|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Bei 160° C: mit N ₂ | 87,2 | 17,1 |
| mit N ₂ | 87,5 | 19,2 |
| ohne N ₂ | 113,0 | 17,1 |
| ohne N ₂ | 101,0 | — |
| Bei 100° C: mit N ₂ | 59,0 | 31,8 |
| ohne N ₂ | 57,0 | 36,6 |

Zur Kontrolle, ob die Hemicellulosen auch bei Zimmertemp. in alkalischer Lösung weiter abgebaut werden, wurden Proben von Hemicellulosen A₂ in Laugen verschiedener Stärke gelöst und in Glasstöpselflaschen in einem

Thermostaten bei 20° 40 bzw. 85 Stdn. belassen. Als Kriterium des Abbaues wurden wieder die Gesamtsäuren und die wieder fällbaren Hemicellulosen bestimmt.

Tabelle 2.

| NaOH-Konz. | 40 Stunden | | 85 Stunden | |
|------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|---------------------------------|
| | wiederfällbare Hemic./% | Gesamts. cem 0,1 n HCl/g Hemic. | wiederfällbare Hemic./% | Gesamts. cem 0,1 n HCl/g Hemic. |
| 0,1 n | 101 | 1,5 | 96 | 3,5 |
| 0,5 n | 97 | 0 | 97,6 | 0 |
| 1 n | 100 | 0 | 97 | 3 |

Tabelle 3. Einfluß der Reaktionstemperatur.

| | Reaktions-temperatur (°C) | Reaktionszeit (Stdn.) | NaOH-Konzentration (n) | Lauge-menge (cem) | Hemicellulose-menge (g) | Wiederfällbare Hemicellulose (%) | Säuren (cem 0,1 n HCl/1 g Hemicellulose) | der wiedergefällten Hemicellulosen | | |
|---------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------|-------------------------|----------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------|-------|-------------------|
| | | | | | | | | Asche (%) | DP | $(\alpha)_{20}^D$ |
| Hemi A ₁ | 100 | 1 | n | 50 | 1,18 | 82,1 | 23,8 | 5,2 | 113 | 90,6 |
| | 130 | 1 | n | 50 | 1,22 | 55,5 | 29,5 | 7,2 | 100 | — |
| | 160 | 1 | n | 50 | 1,47 | 34,5 | 71,0 | 7,7 | 60 | 87,5 |
| | 100 | 6 | n | 25 | 1,28 | 74,8 | 35,8 | 5,33 | 100 | — |
| | 130 | 6 | n | 50 | 1,09 | 56,2 | 53,0 | 7,12 | 84 | 90,0 |
| | 160 | 6 | n | 50 | 2,02 | 28,0 | 77,0 | 9,11 | 48 | 90,1 |
| | 100 | 1 | 0,1 n | 200 | 1,04 | 71,4 | 17,2 | 5,6 | 127 | 77,0 |
| | 130 | 1 | 0,1 n | 200 | 1,20 | 53,2 | 34,5 | 6,4 | 117 | 86,0 |
| | 160 | 1 | 0,1 n | 200 | 1,05 | 37,3 | 64,6 | 7,35 | 92,5 | — |
| | 100 | 6 | 0,1 n | 200 | 1,42 | 62,5 | 30,1 | 10,5 | 124 | 75,5 |
| | 130 | 6 | 0,1 n | 200 | 1,21 | 48,6 | 41,5 | 7,06 | 114 | — |
| | 160 | 6 | 0,1 n | 200 | 1,61 | 35,0 | 72,5 | 6,96 | 96 | 83,0 |
| Hemi A ₂ | 100 | 1 | n | 50 | 1,05 | 78,5 | 17,0 | 4,8 | 148,5 | 74,2 |
| | 130 | 1 | n | 50 | 1,08 | 63,1 | 44,3 | 5,0 | 127 | 84,5 |
| | 160 | 1 | n | 50 | 1,25 | 38,6 | 72,0 | 4,7 | 96,5 | 95,5 |
| | 50 | 1 | n | 50 | 0,78 | 95,4 | 2,0 | 4,5 | 157 | 76,4 |
| | 80 | 1 | n | 50 | 0,94 | 85,0 | 11,7 | 4,3 | 149 | 80,0 |
| | 190 | 1 | n | 50 | 1,28 | 0,0 | 117,0 | — | — | — |
| Hemi B | 100 | 1 | n | 50 | 1,00 | 68,9 | 26,0 | 3,4 | 149 | — |
| | 130 | 1 | n | 50 | 1,07 | 49,6 | 46,6 | 5,12 | 128 | — |
| | 160 | 1 | n | 50 | 1,33 | 33,4 | 79,6 | 3,72 | 97,7 | — |
| Hemi C | 130 | 1 | n | 50 | 1,25 | 59,1 | 24,8 | 7,8 | 138,5 | — |
| | 160 | 1 | n | 50 | 1,14 | 33,4 | 54,0 | 10,1 | 84,6 | — |

Tabelle 4. Einfluß des pH.

| | Reaktions-temperatur (°C) | Reaktionszeit (Std.) | NaOH-Konzentration (n) | Laugenmenge (ccm) | Hemicellulosemenge (g) | Wiederfällbare Hemicellulose (%) | Säuren (ccm 0,1 n HCl/1 g Hemicellulose) | der wiedergefällten Hemicellulosen | | |
|---------------------|---------------------------|----------------------|------------------------|-------------------|------------------------|----------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------|-------|---------------------|
| | | | | | | | | Asche (%) | DP | D ₂₀ (%) |
| Hemi A ₂ | 160 | 1 | pH 7,5 | 100 | 0,55 | 75,2 | 5,2 | 6,9 | 136 | — |
| | 160 | 1 | pH 9,1 | 150 | 0,96 | 62,7 | 23,0 | 3,6 | 130 | — |
| | 160 | 1 | pH 11,5 | 150 | 1,30 | 64,0 | 32,6 | 5,0 | 145 | 76,0 |
| | 160 | 1 | 2 n | 25 | 1,34 | 44,5 | 71,5 | 4,92 | 55,6 | 108,0 |
| | 160 | 1 | 4 n | 10 | 1,34 | 44,2 | 67,5 | 4,92 | 72,0 | 118,0 |
| | 100 | 1 | n | 50 | 1,05 | 78,5 | 17,0 | 4,8 | 148,5 | 74,2 |
| | 100 | 1 | 2 n | 25 | 0,99 | 83,5 | 18,5 | 7,6 | 146,0 | 76,5 |
| | 100 | 1 | 4 n | 10 | 0,99 | 85,4 | 21,0 | 2,15 | 151,5 | 78,2 |

Tabelle 5. Einfluß der Reaktionszeit.

| | Reaktions-temperatur (°C) | Reaktionszeit (Std.) | NaOH-Konzentration (n) | Laugenmenge (ccm) | Hemicellulosemenge (g) | Wiederfällbare Hemicellulose (%) | Säuren (ccm 0,1 n HCl/1 g Hemicellulose) | der wiedergefällten Hemicellulosen | | |
|---------------------|---------------------------|----------------------|------------------------|-------------------|------------------------|----------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------|-------|---------------------|
| | | | | | | | | Asche (%) | DP | D ₂₀ (%) |
| Hemi A ₂ | 100 | 1/6 | n | 50 | 0,69 | 86,0 | 21,7 | 4,32 | 146 | 85,5 |
| | 100 | 1/2 | n | 50 | 0,96 | 86,1 | 20,0 | 4,7 | 151,5 | 74,6 |
| | 100 | 1 | n | 50 | 1,05 | 78,5 | 17,0 | 4,8 | 148,5 | 74,2 |
| Hemi B | 100 | 24 | n | 50 | 0,86 | 65,2 | 28,0 | 5,0 | 134,0 | 84,5 |
| | 100 | 1 | n | 50 | 1,0 | 68,9 | 26,0 | 3,4 | 149,0 | — |
| | 100 | 6 | n | 50 | 1,04 | 56,7 | 29,0 | 6,28 | 151,0 | — |

Tabelle 6. Einfluß der Alkalimenge.

| | Reaktions-temperatur (°C) | Reaktionszeit (Std.) | NaOH-Konzentration (n) | Laugenmenge (ccm) | Hemicellulosemenge (g) | Wiederfällbare Hemicellulose (%) | Säuren (ccm 0,1 n HCl/1 g Hemicellulose) | der wiedergefällten Hemicellulosen | | |
|---------------------|---------------------------|----------------------|------------------------|-------------------|------------------------|----------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------|-------|---------------------|
| | | | | | | | | Asche (%) | DP | D ₂₀ (%) |
| Hemi A ₂ | 100 | 1 | n | 10 | 0,84 | 79,4 | 21,3 | 4,82 | 146,5 | 71,4 |
| | 100 | 1 | n | 50 | 1,05 | 78,5 | 17,0 | 4,8 | 148,5 | 74,2 |
| | 100 | 1 | n | 500 | 0,97 | 85,6 | — | 13,0 | 134,5 | 87,2 |

Fractionierte Fällung der Hemicellulosen: Etwa 2 g Hemicellulosen A₂ wurden in 50 ccm n NaOH gelöst, 25 ccm Alkohol bis zur Trübung zugesetzt und 1/2 Std. zentrifugiert (Niederschlag Frakt. 1). Die überstehende klare Lösung abgossen und abermals Alkohol bis zur Trübung zugesetzt; dann Zentrifugieren (Niederschlag Frakt. 2). Dies kann man noch ein drittes Mal wiederholen. Die jeweils am Boden des Zentrifugenröhrchens abgesetzten

Hemicellulosen (Frakt. 1, 2, 3) spülten wir zur Reinigung jeweils in ein Becherglas, versetzten mit Natronlauge bis zur klaren Lösung, fällten mit dem doppelten Volumen Alkohol und versetzten mit Essigsäure bis zum Umschlag von Phenolphthalein. Die gefällten Hemicellulosen filtrierten wir durch einen Glassintertiegel und trockneten nach Waschen mit Alkohol und Äther bei 105°. Die Bestimmung der Viskosität und spez. Drehung führten wir mit 1%igen Lösungen der Hemicellulosen in 4%iger NaOH durch.

Tabelle 7.

| | % | DP | spez. Dreh. |
|----------------|------|-----|-------------|
| Frakt. 1 . . . | 45,9 | 174 | — 83 |
| „ 2 . . . | 29,2 | 143 | — 80 |
| „ 3 . . . | 21,9 | 122 | — 62,5 |

Hydrolyse und Chromatographie der Hemicellulosen: Als Hydrolysenbedingungen wurden zuerst die von *Wise*⁹ bei der Untersuchung von Aspenholz angegebenen verwendet. Es zeigte sich aber, daß die Hemicellulosen A durch die beschriebene Behandlung nicht vollständig hydrolysiert wurden. Da uns dies aber wichtig erschien, änderten wir die Bedingungen so ab, daß wir 0,5 g Hemi A₁ mit 25 ccm n H₂SO₄ 2 Stdn. in einem Ölbad von 140° erhitzen. Darauf wurde die Schwefelsäure abgegossen, neuerlich 10 ccm Schwefelsäure zugesetzt und weitere 3 Stdn. erhitzt. Bei diesem Verfahren konnte mit verhältnismäßig wenig Schwefelsäure eine vollkommene Hydrolyse unter Vermeidung von starker Huminbildung erreicht werden.

Zur papierchromatographischen Untersuchung wurden die Hydrolysate mit heißgesättigter Bariumhydroxydlösung bis zum Umschlag von Phenolphthalein versetzt, der geringe Überschuß Ba(OH)₂ durch CO₂ neutralisiert und der Niederschlag abfiltriert. Nach Behandlung des Filtrats mit einem Amberlitkationentauscher I R 120 war dieses vollkommen mineralensäure- und Ba²⁺-frei und wurde im Vak. bis auf einige Kubikzentimeter eingengt.

Wir chromatographierten sowohl nach der aufsteigenden als auch nach der absteigenden Methode. Bei der aufsteigenden Methode verwendeten wir Papier von Schleicher & Schüll 2043 a, bei der absteigenden 2043 b. Als Lösungsmittelgemische verwendeten wir einerseits Cyclohexanol-Pyridin-Wasser 5 : 3 : 3¹⁰, andererseits Butanol-Pyridin-Wasser 3 : 2 : 1,5 und Butanol-Pyridin-Wasser 3 : 1 : 1,5¹¹. Zum Nachweis der Uronsäuren arbeiteten wir mit einem Pentandiol-Pyridin-Wasser-Gemisch 5 : 3 : 3.

Die Laufzeit der Chromatogramme war 24 Stdn., für das Pentandiolgemisch 4 Tage. Entwickelt wurden die Zucker mit alkoholischer Lösung von m-Phenylendiamindihydrochlorid.

Durch die Vorversuche wurde ermittelt, daß Glucose noch in einer Menge von 2% neben 98% Xylose nachweisbar ist. Da jedoch die Zucker bei einer Konzentration von unter 0,1% nur mehr schwer erkennbar sind, war es notwendig, die Hydrolysate so weit zu konzentrieren, daß deren geringste Menge mindestens 1% ist.

⁹ K. N. Jones und L. E. Wise, J. Chem. Soc. London 1952, 2750.

¹⁰ V. Prey, E. Waldmann, F. Ludwig und H. Berbalk, Mh. Chem. 83, 1344 (1952).

¹¹ Allene Jones, C. S. Wise und R. J. Dimler, Analyt. Chemistry 23, 3, 415 (1951).