

93. Karl Freudenberg: Zur Kenntnis der Cellulose.

[Aus dem Chem. Laborat. d. Bayerischen Akad. d. Wissenschaften in München.]

(Eingegangen am 9. Februar 1921.)

Seit der Auffindung der Octacetyl-cellobiose durch Franchimont¹⁾ sind viele Versuche angestellt worden, die Ausbeute an diesem Abbauprodukt der acetylierten Cellulose zu steigern. Aus den Ergebnissen sollte zu schließen sein, in welchem Umfange die Cellobiose am Aufbau des Polysaccharids beteiligt ist. Diese Frage hat neuerdings K. Heß zum Ausgangspunkt einer Untersuchung der Cellulose gemacht.

Die höchsten Ausbeuten hat bisher J. Madsen²⁾ im Østschens Laboratorium erzielt. Er läßt das Gemisch von 10 g konz. Schwefelsäure und 40 g Essigsäure-anhydrid auf 10 g lufttrockene Watte (wasserfrei 9.3 g) einwirken. Nach anfänglicher Erwärmung, die 40—50° nicht übersteigen darf, bleibt die Masse bei Zimmertemperatur stehen. In wenigen Stunden ist alles gelöst und nach einigen Tagen eine reichliche Menge der Octacetylverbindung auskristallisiert. Sie wird nach Entfernung der in der Mutterlauge gelöst bleibenden Glucose- und Dextrin-acetate mit Alkohol gereinigt. Bei dieser Arbeitsweise³⁾ gelangte Madsen in einer Operation bis zu 6.2 g Octacetylverbindung, das sind 32% der für Cellulose $(2\text{ C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_x$ berechneten Menge. Diese Zahl konnte Madsen noch auf 37—43% steigern⁴⁾, indem er die nach der Abscheidung der Hauptmenge des Octacetats verbleibenden Dextrin-acetate verarbeitete. Damit überschritt er zugleich den schon vorher von H. Ost erreichten Höchstwert von 37%⁵⁾.

Nach meinen Versuchen können Werte von 35 bis 36% in einer Operation und verhältnismäßig kurzer Zeit erreicht werden, wenn die Temperatur bei der dem Abbau vorangehenden Acetylierung recht tief gehalten wird. Die Krystallisation setzt dann zwar später ein, ist aber nach etwa 2 Wochen so ausgiebig, daß aus den in den Mutterlaugen bleibenden Dextrin-acetaten nur noch ganz geringe Mengen der Acetyl-biose abgeschieden werden können. Das Rohprodukt läßt sich fast ohne Verluste durch Methylalkohol reinigen, den ich hierfür dem Äthylalkohol vorziehe. Meine Angaben beziehen sich auf ganz reines Material.

Ich bezweifle nicht, daß sich die Ausbeute durch Veränderung der Bedingungen noch etwas steigern lassen wird; die eingangs aufgeworfene Frage wird auf diesem Wege jedoch kaum zu beantworten sein. Um dennoch eine Vorstellung von der Menge der im Cellulose-

¹⁾ B. 12, 1941 [1879]. ²⁾ Dissertat., Hannover 1917.

³⁾ l. c., S. 15—17. ⁴⁾ l. c., S. 51.

⁵⁾ A. 398, 338 [1913]. Ost hat verdünntere Säure angewendet und sie monatelang bei niedriger Temperatur einwirken lassen.

Molekül vorgebildeten Cellobiose zu gewinnen, habe ich mich bemüht, die Größe der beim Abbau eintretenden Verluste an Cellobiose zu bestimmen.

Die Reaktion läßt sich in folgende 3 Phasen zergliedern: Die erste dauert vom Beginn der Reaktion bis zu dem Augenblick, in dem die Cellulose soweit gelöst und gequollen ist, daß sie vollkommen mit Schwefelsäure durchsetzt ist. Bei meinen Versuchen waren hierzu etwa 8 Stdn. nötig. Zur Sicherheit soll die erste Phase mit 12 Stdn. in Rechnung gestellt werden. Die zweite Phase reicht von der Durchdringung mit Schwefelsäure bis zur krystallinen Abscheidung des Hauptteils der Acetyl-biose. In ihr spielt sich der eigentliche Abbau-prozeß ab. Sie ist bei vorsichtiger Schätzung nach insgesamt 6—7 Tagen im wesentlichen beendet und soll mit einem Mindestwert von 6 Tagen in Rechnung gestellt werden. In der dritten Phase, die bis zum Abbruch des Versuchs dauert, erreicht die Abscheidung ihren Höchstwert, der dann eintritt, wenn der Neubildung von krystallisiertem Octacetat durch die langsam verlaufende Wiederauflösung und Zerstörung die Wage gehalten wird.

Die Verluste an Octacetat sind in der zweiten Phase verursacht durch die Einwirkung von Schwefelsäure auf die gelöste Substanz, in der dritten Phase durch den Abbau des bereits krystallisierten Stoffes.

Um die Verhältnisse der zweiten Phase einigermaßen zu reproduzieren, habe ich das Octacetat, in Chloroform gelöst, der Einwirkung des Acetoly-sierungsgemisches unterworfen, und zwar in einem Mengenverhältnis, wie es dem Endstadium einer Acetolyse entspricht. Die Versuchsdauer wurde auf 3 Tage beschränkt, also auf die Hälfte der zweiten Phase, da in dieser zum Schluß der Hauptteil des Octacetats abgeschieden ist. Der Versuch ergab, daß 30% der Substanz zersetzt und zwar zur Hauptsache in Acetyl-glucose verwandelt waren. Hiernach und aus der oben mitgeteilten Ausbeute von 36% ist zu folgern, daß mindestens 53% der in der Cellulose vorhandenen Glucose als Cellobiose vorliegt. Zur Nachbildung der Phase 3 wurden die Krystalle 6 Tage lang der Einwirkung des Säuregemisches ausgesetzt. Der zerstörte Anteil — größtenteils als Acetyl-glucose wiedergefunden — darf dem erhaltenen Werte zugerechnet werden, der sich somit auf 55% erhöht.

Folgende Beispiele suchen den wirklichen Verhältnissen etwas näher zu kommen. Zur gekühlten Lösung von Glucose in Essigsäure-anhydrid und Schwefelsäure wird die warme Lösung von Octacetyl-cellobiose in Essigsäure-anhydrid derart eingetragen, daß die Temperatur des Gemisches 20° nicht übersteigt und dasselbe zuletzt die Mengenverhältnisse der Acetolyse aufweist. Schon nach 2—3 Stdn. ist durch die Krystallisation des Octacetats der Zustand der Phase 3 erreicht. Der nach 12 Tagen eingetretene Verlust ergab, daß den ursprünglich 36% etwa 8% zugerechnet werden müssen, hierzu kommt der Verlust der Phase 2 mit ungefähr 17%, woraus sich etwa 61% in der

Cellulose vorgebildete Cellobiose ergeben. Wenn statt des fertigen Octacetats die Cellobiose selbst den entsprechenden Versuchsbedingungen unterworfen wird, erhält man ungefähr die gleiche Zahl

Die geschilderten Versuche liefern bestimmt Mindestwerte. In der Chloroform-Lösung ist die Konzentration auf die Hälfte verringert gegenüber dem Acetolysengemisch der Cellulose. Aus diesem Grunde und weil die hochkondensierten Zuckerkomplexe fehlen, ist außerdem die Möglichkeit zur Bildung von Reversionsdextrinen bedeutend herabgesetzt. In dem zweiten Versuche ist die lösende und Nebenreaktionen veranlassende Wirkung der gleichzeitig in großer Menge vorhandenen Acetate von Dextrinen, Reversionsdextrinen und Glucose außer acht gelassen, und schließlich ist zu bedenken, daß die mit Glucose, Cellobiose oder ihren Acetaten angesetzten Mischungen stets weniger der durch ihre Dunkelfärbung sich verratenden Zersetzungsprodukte enthalten, als die mit Watte angesetzten Proben (Cuticula, Protoplasmareste, Asche, die übrigens auch etwa 2% ausmachen). Diese Umstände bewirken, daß der Unterschied von etwa 25%, den die Werte 61 und 36% aufweisen, den beim Cellulose-Abbau eintretenden Verlust keineswegs vollständig wiedergibt.

Nach alledem besteht kein Grund gegen die Annahme, daß die Cellulose zu mehr als 60% aus Cellobiose aufgebaut ist.

Dem widerspricht die Ansicht von K. Heß¹⁾, daß der Cellulose eine Penta-glucosidyl-glucose zugrunde liege, die bestenfalls 32.7% der für $(2C_6H_{10}O_5)_x$ berechneten Menge an Octacetyl-cellobiose liefern könnte. Diese Auffassung stützt sich auf Madsens eingangs erwähnten Wert von 32% und auf eigene Versuche. Die hierzu nicht passende Höchstzahl von Ost (35%) regt Hrn. Heß zu einer in Kürze nicht wiederzugebenden Hilfshypothese an; die Endwerte von Madsen (37—43%) hat er nicht erwähnt. Dieser Teil seiner Ausführungen ist somit schon durch die Literaturangaben widerlegt, die durch meine Beobachtungen bestätigt werden. Um den Gedanken des Hrn. Heß wenigstens im Prinzip zu retten, müßte dem Grundkörper der Cellulose eine Formel zuerteilt werden, die mehr Cellobiose enthält, also etwa eine Octa-cellobiosyl-cellobiose (eine solche Formel ist l. c., 239 zu sehen). Nachdem jedoch die Formel der Penta- (bzw. Tetra-)glucosidyl-glucose widerlegt ist, muß zugleich den Versuchen an der Äthylcellulose, mit denen Hr. Heß die Penta-glucosidyl-glucose zu stützen sucht, die Beweiskraft abgesprochen werden. Diese Versuche, die übrigens nur sehr unbestimmte Ergebnisse gezeitigt haben, können deshalb auch nicht zur Verteidigung der Octa-cello-

¹⁾ Z. El. Ch. 26, 232 [1920].

biosyl-cellobiose oder ähnlicher Formeln herangezogen werden, für die nachgerade jede Grundlage fehlt. Der besondere Gedanke vollends (l. c., 248), — daß die (in unserer Formelschrift) zutage tretende gestreckte Gestalt eines solchen Moleküls Anlaß geben könnte zu der ebenfalls gestreckten Form der als Molekül aufzufassenden Cellulosefaser — kann ebenso wenig die Heßsche Auffassung stützen, da alsdann je nach den mannigfaltigen Wachstumsformen der Cellulose im Pflanzen- und Tierreich die verschiedensten Arten solcher Grundmoleküle vorkommen müßten.

Obwohl also die Cellobiose der eigentliche Baustein der Cellulose ist, bleibt die Menge der aus Cellulose wirklich isolierbaren Octacetyl-cellobiose erheblich unter 50 % der berechneten Menge, und es scheint tatsächlich schwierig zu sein, die Ausbeute wesentlich zu erhöhen. Läßt dieser Umstand einen Schluß auf den Aufbau der Cellulose zu?

100 % Cellobiose könnten auf chemischen Wege nur erhalten werden, wenn jedes Cellobiose-Molekül im großen Gefüge ein einigermaßen gesondertes Dasein führte und der Zusammenschluß der einzelnen Cellobiose-Komplexe nach einem anderen, vom hydrolysierenden Mittel leichter angreifbaren Bindungsprinzip erfolgte. Bei der Stärke, die — allerdings durch Fermente, und das mahnt zur Vorsicht — zu 100 % in Maltose gespalten wird, liegt diese Vorstellung nahe; sie wird auch durch andere Beobachtungen gestützt. Bei der Cellulose ist bisher kein einziges Anzeichen für eine solche Unterteilung zu finden, und gerade wenn man eine fortlaufende Kette von Glucose-, oder was hier dasselbe bedeutet, von Cellobiose-Resten annimmt, die sämtlich nach dem Bindungsprinzip der Cellobiose verknüpft sind, kann nach den Regeln der Wahrscheinlichkeitslehre bei der chemischen Spaltung nur ein erheblich unter 100 % liegender Anteil als Biose erhalten bleiben. Nach Berechnungen, die mir von befreundeter Seite zur Verfügung gestellt werden, können bei der Zertrümmerung einer gleichmäßigen Polysaccharidkette von 10 und mehr Gliedern in homogener Lösung höchstens gegen 32 % in Form von Biose erhalten werden. Wenn dagegen sämtliche in allen Stadien der Reaktion gebildete Biose auskristallisierte und dadurch vollständig erhalten bliebe, so würden 67 % Biose gewonnen. Bei der Cellulose krystallisiert nur ein Teil der während der Reaktion gebildeten Biose aus, die faßbare Ausbeute müßte danach — immer eine gleichmäßige Kette vorausgesetzt — über 32 und unter 67 % liegen. Gefunden sind gegen 40 % der Theorie an Octacetyl-cellobiose, und die Verlustberechnung nähert sich dem Werte 67. Wenn in diesen Feststellungen zwar kein Beweis für kontinuierliche Cellobiose-Ketten vorliegt, so

spricht gewiß auch nichts dagegen. Dem Verlangen nach einem regelmäßigen¹⁾ Maschenwerk ringförmiger Komplexe ist völlig zwanglos durch die Vorstellung Rechnung zu tragen, daß sich die bei der freien Glucose in der γ -Oxydgruppe festgelegte Bindung an einem anderen Glucose-Molekül der eigenen oder einer neuen Kette betätigt. Damit ließe sich zugleich das Polymerisationsprinzip der Cellulose, sowie das Vorkommen eines zweiten Zuckers, etwa der von H. Ost und R. Prosiengel²⁾ als Biose angesprochenen Celloisobiose, verständlich machen.

Belege.

10.00 g lufttrockne Watte mit einem Wassergehalt von 0.70 g (bei 15 mm und 100° über Phosphorpentoxyd festgestellt) wurden in ein in Kältemischung stehendes, unter starker Kühlung bereitetes Gemisch von 37 ccm Essigsäureanhydrid und 5.5 ccm konz. Schwefelsäure eingetragen. Nachdem die Watte ganz durchtränkt ist, bleibt die Masse noch 1 Stde. in der Kältemischung stehen, wird danach einige Stunden in Eis gestellt und schließlich, etwa 8 Stdn. nach Beginn der Operation, in Wasser von Zimmertemperatur, das nach 12 weiteren Stdn. entfernt werden kann. In den ersten Tagen werden die gallertartigen Klumpen möglichst gut zerdrückt; sobald nach 3–4 Tagen das Octacetat zu krystallisieren beginnt, muß häufig geschüttelt werden. Nach insgesamt 13 Tagen wird unter starkem Rühren in 1 l Wasser eingetragen, scharf abgesaugt, in 50 ccm Methylalkohol aufgerührt und mit weiteren 50 ccm des gleichen Lösungsmittels in Portionen durchgearbeitet und gewaschen. Die Ausbeute an schon recht reinem Octacetat betrug 6.68 g.

Die methylalkoholische Lösung wurde in 1 l Wasser gegossen und abgesaugt. Der Rückstand an Dextrin-acetaten betrug 5.4 g. Die methylalkoholisch-wäßrige Mutterlauge wurde zusammen mit der von Schwefelsäure befreiten ersten Lösung im Vakuum eingeeengt, der Rückstand mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure (beim folgenden Versuch wurde statt der Säure Pyridin genommen) acetyliert, mit viel Wasser gefällt und der Niederschlag (2.2 g) zusammen mit obigen 5.4 g Acetat von neuem 8 Tage einem Acetolysengemisch ausgesetzt. Es krystallisierten noch 0.62 g Octacetat. Rohausbeute demnach 7.30 g.

Bei einem zweiten Versuch wurde nach der anfänglichen Kühlung (8 Stdn.) 8 Tage bei 17–19°, dann weitere 6 Tage bei 12–14° aufbewahrt. Die Ausbeute an Rohrprodukt betrug $7.20 + 0.15 \text{ g} = 7.35 \text{ g}$.

Zur Reinigung wurde die Lösung des Acetats in Chloroform mit Faser-tonerde geklärt, nach der Filtration stark eingeeengt und heiß mit 30 ccm siedendem Methylalkohol unter Rühren versetzt. Von 7.30 g Rohmaterial krystallisierten sofort 6.57 g vom richtigen Schmp. 222° (unkorr.); die Mutter-

¹⁾ Wie es durch die Röntgen-spektographischen Beobachtungen gefordert wird.

²⁾ Z. Ang. 33, 100 [1920]. Zellstoffchem. Abh. 1, 31 [1920].

lauge lieferte noch 0.25 g vom gleichen Reinheitsgrad. Zusammen 6.82 g = 35 %. Der zweite Versuch ergab 7.00 g 36 %.

5.0 g reine Octacetyl-cellobiose wurden in 15 ccm Chloroform gelöst und mit der eiskalt bereiteten Mischung von 7.5 ccm Eisessig, 7.5 ccm Essigsäureanhydrid und 2.4 ccm Schwefelsäure versetzt. Die farblose Flüssigkeit wurde nach 3 Tagen in 500 ccm Wasser gegossen und durch einen kräftigen Luftstrom vom Chloroform befreit. Dann wurde abgesaugt und mit Methylalkohol gereinigt. Erhalten wurden 3.5 g noch nicht ganz reines Octacetat (Schmp. unscharf bei 215°) und 1 g ätherlösliche, größtenteils krystallisierte Acetyl-glucose. Bei einem zweiten Versuch wurden 3.4 g Octacetat und 1.1 g Acetylglucose gewonnen.

6.00 g reine Octacetyl-cellobiose wurden mit dem kalt bereiteten Gemisch von 6.6 ccm Essigsäureanhydrid, 4.2 ccm Eisessig und 1.8 ccm Schwefelsäure übergossen. Diese Mischung entspricht der Zusammensetzung des Säuregemisches nach beendigter Acetylierung der Cellulose. Nach achttägigem Stehen bei Zimmertemperatur wurden 5.68 g Octacetat zurückgewonnen; der Mutterlauge ließ sich durch Ausäthern 0.25 g Glucoseacetat entziehen.

5 g Glucose wurden unter Kühlung mit dem eiskalt bereiteten Gemisch von 7.5 ccm Essigsäureanhydrid und 4 ccm Schwefelsäure übergossen. Nach 1 Stde. wurde die klare Lösung langsam und unter Kühlung, damit die Temperatur unter 20° blieb, mit der heißen Lösung von 5.00 g Octacetyl-cellobiose in 20 ccm Essigsäureanhydrid versetzt. Nach 2–3 Stdn. war das Octacetat krystallisiert und nach 12 Tagen wurden 3.75 g zurückerhalten.

Bei diesem und dem folgenden Versuche mußte zur Entfernung des reichlich auskrystallisierenden Glucoseacetats etwa zweimal soviel Methylalkohol genommen werden, als bei den bisher beschriebenen Versuchen. Um den hierdurch entstandenen Verlust auszugleichen, wurde das Octacetat noch einmal mit 100 ccm Methylalkohol behandelt und die Gewichtsabnahme der zuerst gefundenen Ausbeute (3.75 g) zugerechnet, die dadurch auf 3.92 g stieg.

3.42 g reine Cellobiose¹⁾ wurden in das kalt bereitete Gemisch von 4 g Glucose, 6 g Pentacetyl-glucose, 38 ccm Essigsäureanhydrid und 5.5 ccm Schwefelsäure eingetragen. Nach einigen Stunden war fast alle Cellobiose in krystallinisches Octacetat verwandelt. Nach 12 Tagen wurden 5.25 g reines Octacetat zurückgewonnen (korrigiert 5.38 g).

Zusatz am 24. 3. 1921: Inzwischen sind 2 weitere Abhandlungen von K. Heß erschienen²⁾; sie berühren meine Folgerungen in keiner Weise. Dagegen bilden meine Versuche die Bestätigung und Ergänzung einer vor wenigen Tagen veröffentlichten Mitteilung von P. Karrer und Fr. Widmer³⁾, die sich auf Grund ähnlicher Versuche ebenfalls veranlaßt sehen, die von K. Heß vertretene Ansicht über den Aufbau der Cellulose abzulehnen.

¹⁾ W. Schliemann, Dissertat., Hannover 1910, S. 10.

²⁾ K. Heß, Z. Ang. 34, 49 [1921]; K. Heß und E. Meßmer, B. 54, 499 [1921].

³⁾ Helv. chim. acta 4, 174 [1921].