

Beiträge zur chemischen Zusammensetzung der Korksubstanz.

Von

Dr. Géza Zemplén.

(Aus dem chemischen Institut der Hochschule für Forstwesen in Selmeczbánya.)

(Der Redaktion zugegangen am 17. April 1913.)

Während die Untersuchungen der in der Korksubstanz auftretenden Fettsäuren und anderen Produkte zu einem mehr, weniger befriedigenden Resultate führten, sind die Angaben über das Vorkommen der Kohlenhydrate in der Korksubstanz sehr abweichend. Die älteren Arbeiten¹⁾ erwähnen die Cellulose als wesentlichen Bestandteil der Korksubstanz; dagegen findet ein Teil der neueren Forscher bei der chemischen Untersuchung der Korksubstanz keine Cellulose.²⁾ Andere nehmen wieder für die Gegenwart von Cellulose in der Korksubstanz Stellung.³⁾

Ich stellte mir die Aufgabe vor, die Kohlenhydrate der Korksubstanz einer erneuten Untersuchung zu unterwerfen, und fand, daß bei der Analyse der reinsten Korksubstanz tatsächlich ein Produkt zu erhalten ist, das äußerlich und nach seinen Löslichkeitsverhältnissen der Cellulose ähnlich ist. Es unterscheidet sich aber scharf von der Cellulose dadurch, daß es

¹⁾ Frémy und Urbain, *Journal de Pharmacie et de chimie* [5], Bd. 5, S. 113 (1883); Döpping, *Annalen der Chemie u. Pharmazie*, Bd. 45, S. 286 (1843); Mitscherlich, *Annalen der Chemie u. Pharmazie*, Bd. 75, S. 305 (1850).

²⁾ Van Wisselnigh, *Archiv néerland.*, Bd. 12, Heft 1 (1888); Bd. 26, S. 305 (1893); Justs *Botanischer Jahresbericht*, 1888, I, S. 689. — *Verhandlungen der Akademie*, Amsterdam 1892; *Chemisches Zentralblatt*, 1892, II, S. 516; Flückiger, *Archiv der Pharmazie*, Bd. 228, S. 690 (1890).

³⁾ K. Kügler, *Dissertation*, Straßburg 1884; *Archiv der Pharmazie*, Bd. 222, S. 217 (1889); E. Gilson, *La Cellule*, Bd. 6, S. 87 (1890).

bei der Acetolyse keine Oktacetylcellobiose zu liefern imstande ist. Da diese Reaktion derzeit als eine sehr typische für die Cellulose gilt, so darf man daraus schließen, daß die Korksubstanz keine faßbaren Cellulosemengen enthält. Sie gibt aber bei den Celluloseisolierungsversuchen ein Produkt, dessen Untersuchung noch nicht abgeschlossen ist. Allerdings ist die Darstellung dieses Produktes ziemlich umständlich, und deshalb will ich die bisher erhaltenen Resultate veröffentlichen, weil die Gewinnung einer größeren Menge des Ausgangsmaterials noch längere Zeit beanspruchen wird.

Experimenteller Teil.

Bei meinen Versuchen verarbeitete ich Korkmehl einer erstklassigen Korksorte, die aus Portugalien stammte, und die mir von den Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf in Berlin in liebenswürdiger Art zur Verfügung gestellt wurde. Das gesiebte Korkmehl enthielt 6,21% Wasser und 4,12% Asche. Letztere Zahl ist außerordentlich hoch gegen die von Kugler erhaltenen Zahlen, und einstweilen kann ich keine weitere Erklärung für den Befund geben.

100 g des Materials wurden zunächst 4 mal mit je 2 l 96%igen Alkohols am Rückflußkühler 2 Stunden lang gekocht. Die vereinigten alkoholischen Auszüge wurden unter vermindertem Druck auf 150 ccm eingengt, wobei schon Krystallisation des Cerins, Friedelins usw. eintrat. Nach einstündigem Stehen bei 0° wurde die ausgeschiedene Krystallmasse abgesaugt und über Phosphorpentoxyd getrocknet. Ausbeute 3 g. Das Filtrat wurde mit 200 ccm Wasser ausgefällt. Nach 24stündigem Stehen wurde die Masse abfiltriert. Erhalten 5 g Substanz, die schon erhebliche Mengen an Gerbstoffen enthielt. Die dunkelgefärbte Mutterlauge hinterließ beim Verdampfen 2,5 g einer amorphen hauptsächlich aus Gerbstoffen bestehenden Masse.

(Obschon das Korkmehl auch nach viermaliger Extraktion mit heißem Alkohol noch nicht erschöpft war, ging ich doch zur Verseifung des Suberins mit alkoholischer Kalilauge über. Um aber eine Zerstörung der dabei eventuell freiwerdenden

reduzierenden Kohlenhydrate zu vermeiden, führte ich die Verseifung durch Schütteln bei Zimmertemperatur und nicht, wie üblich, auf dem Wasserbade aus.

Zu dem Zweck wurde der Rückstand mit 2 l 96%igen Alkohols, der 60 g Kaliumhydroxyd enthielt, 12 Stunden geschüttelt, abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und die ganze Operation noch zweimal wiederholt. Die Verarbeitung der alkalischen, alkoholischen Auszüge wurde jede für sich ausgeführt. Zunächst wurden die Laugen mit Eisessig angesäuert, unter vermindertem Druck auf etwa $\frac{1}{3}$ ihres ursprünglichen Volumens eingeengt und mit Wasser auf 2 l verdünnt, wobei eine voluminöse farblose Fällung eintrat. Diese wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen, in Chloroform gelöst, die Lösung mit Chlorcalcium getrocknet, dann verdampft und der Rückstand nach dem Trocknen bei 100° gewogen. Die drei Auszüge lieferten 12, 5 bzw. 3 g aus Fettsäuren bestehenden Rückstand. Die nach dem Absaugen der Fettsäuren hinterbleibende wässrige Lösung wurde auf das Vorhandensein reduzierender Kohlenhydrate mit Fehlingscher Lösung geprüft, und ein negatives Resultat erhalten.

Der Korkmehlrückstand wurde jetzt mit 1,5 l Alkohol 3 Stunden lang, dann ein zweites Mal mit 1 l Alkohol 2 Stunden lang am Rückflußkühler gekocht. Die vereinigten alkoholischen Auszüge wurden unter vermindertem Druck auf 100 ccm eingeengt, wobei 5 g Substanz ausgeschieden waren. Die Mutterlauge gab beim Einengen 13,5 g an nicht reduzierenden Produkten.

Der Rückstand wurde jetzt mit 1,5 l Wasser 1 Stunde im Wasserbade erwärmt. Dabei färbte sich das Korkmehl, wie auch die darüber stehende Flüssigkeit, kaffeebraun. Gleichzeitig verlor das Mehl seine ursprüngliche Elastizität und verwandelte sich in eine plastische, nahezu kolloidale Masse, die sich sehr schlecht behandeln läßt. Das Filtrat (1250 ccm) wurde mit 1600 ccm 90%igen Alkohols zusammengebracht, dann mit 25 ccm Eisessig angesäuert. Es entstand ein flockiger Niederschlag, der durch Dekantation mit immer stärkerem Alkohol wiederholt gewaschen, dann abgesaugt wurde. Nach

dem Trocknen unter vermindertem Druck über Phosphorpentoxyd betrug die braungefärbte Masse 14 g.

Um zu entscheiden, ob sie Verbindungen der Zuckergruppe enthält, wurden 7 g mit 100 ccm n-Schwefelsäure 3 Stunden im Wasserbade erhitzt, wobei der allergrößte Teil der Substanz unlöslich zurückblieb. Das Filtrat wurde nach dem Verdünnen mit Wasser mit Calciumcarbonat erwärmt, filtriert und auf 250 ccm aufgefüllt. 2 ccm der Flüssigkeit reduzierten vollständig 1 ccm Fehlingscher Lösung, die ganze Masse von 14 g enthielt demnach 1,24 g Zucker auf d-Glukose berechnet.

Der Korkmehlrückstand wurde jetzt mit 1,5 l 1,5%iger Schwefelsäure 2 Stunden im Wasserbade erwärmt. Das schwach gelb gefärbte Filtrat wurde mit Calciumcarbonat erwärmt, filtriert, unter vermindertem Druck stark eingengt, dann das Filtrat auf 100 ccm verdünnt. 1 ccm der erhaltenen Flüssigkeit reduzierte vollständig 3 ccm Fehlingscher Lösung. Demnach waren 1,5 g Zucker (auf d-Glukose berechnet) vorhanden.

Um die Eigenschaften des Zuckers näher kennen zu lernen, wurde das Osazon desselben dargestellt. Zu dem Zweck wurden 50 ccm der Flüssigkeit mit 1,5 g Phenylhydrazinchlorhydrat und 2,5 g Natriumacetat $\frac{3}{4}$ Stunden im Wasserbade erwärmt. Die Flüssigkeit färbte sich dunkelgelb und schied ein braunes Harz aus. Das heiße Filtrat gab beim Erkalten eine citronengelbe Krystallisation. Sie wurde abgesaugt, mit wenig kaltem Wasser gewaschen, und das Produkt aus 10 ccm heißem Wasser unter Zusatz von einigen Tropfen Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute 0,03 g eines Osazons, das beim raschen Erhitzen gegen 120° unter Zersetzung schmolz. Es bildete lange, citronengelbe Prismen verschiedener Größe. Das Produkt scheint ein Gemisch von Pentosazonen zu sein.

Der Rückstand nach der Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure betrug 24,5 g. Der Aschegehalt hat sich darin bemerkenswert vermehrt; er betrug 8,47%. Das Produkt gab eine starke Ligninreaktion mit Phloroglucin und Salzsäure.

Um die vermutlich vorhandene Cellulose daraus zu gewinnen, schlug ich zwei Wege ein. Zunächst versuchte ich

das Verfahren von Cross und Bevan,¹⁾ das sonst ausgezeichnete Resultate bei der Isolierung von Cellulose aus stark ligninhaltigem Material gibt. 5 g der Substanz wurden mit Wasser angefeuchtet und unter Kühlung mit Eis ein langsamer, gewaschener Chlorstrom durchgeleitet. Nachdem die Masse eine helle Farbe angenommen hatte, wurde sie mit einer wässerigen Lösung von schwefliger Säure übergossen, abgesaugt und mit einer 2%igen Lösung von Natriumsulfit 2 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt, wobei die Flüssigkeit eine dunkelrote Färbung aufnahm. Nach dem Absaugen wurde die ganze Operation noch zweimal wiederholt. Dabei verschwand die Phloroglucinreaktion vollständig. Jetzt folgte eine Behandlung mit einer 0,1%igen Permanganatlösung, dann eine Entfärbung mit Natriumbisulfitlösung, endlich ein gründliches Auswaschen mit heißem Wasser, Alkohol und Trocknen unter vermindertem Druck über Phosphorpentoxyd. Erhalten 3,2 g Substanz mit einem Aschegehalt von 15%. Zwecks Reinigung wurde sie mit 200 ccm Kupferoxydammoniak geschüttelt, über Glaswolle filtriert, mit Wasser verdünnt, mit Salzsäure angesäuert, und die farblose flockige Fällung durch Dekantation mit fortwährend stärkerem Alkohol gewaschen, endlich abgesaugt und getrocknet. Ausbeute 1,1 g.

Eine zweite Portion von 5 g wurde mit einem Gemisch aus 10 ccm 33%iger Kalilauge und 100 ccm Alkohol auf dem Wasserbade am Rückflußkühler 2 Stunden gekocht, abfiltriert, mit Alkohol und mit heißem Wasser gewaschen, und die ganze Operation noch zweimal wiederholt. Die Mutterlauge war nach der dritten Operation nahezu farblos, die heißen Waschwasser nahmen jedoch noch eine braune Färbung an. Jetzt wurde die Masse mit 140 ccm Wasser und 10 ccm 33%iger Kalilauge 2 Stunden im Wasserbade erhitzt. Nach dem Absaugen und Waschen mit heißem Wasser folgte eine zweistündige Behandlung mit 145 ccm Wasser und 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure bei 100°. Endlich schüttelte ich die Substanz

¹⁾ Géza Zemplén, Derstellung, Gewinnung, Nachweis und Bestimmung der höheren Kohlenhydrate. — Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, Bd. 6, S. 47 (1912).

mit einer 1^o/_oigen Lösung von Kaliumpermanganat und entfärbte nach dem Auswaschen das Produkt mit Natriumbisulfit. Das gut mit Wasser ausgewaschene Produkt betrug nach dem Trocknen 3,2 g, gab kaum eine ganz schwache Ligninreaktion und enthielt 14,4^o/_o Asche. Die Reinigung geschah, wie oben beschrieben, durch Lösen in Kupferoxydammoniak und Fällen mit Salzsäure. Erhalten 0,77 g Reinprodukt.

Die erhaltenen Resultate zeigten, daß die Methode von Cross und Bevan viel bessere Ausbeuten liefert. Deshalb verarbeitete ich noch 10 g des Rohproduktes auf die vermutliche Cellulose und erhielt daraus 2,3 g eines Produktes, das trotz meiner Bemühungen noch sehr viel Asche: 12^o/_o, enthielt.

Ich vereinigte jetzt die Produkte der beiden ersteren Darstellungen zu einer Probe von 1,5 g und bereitete eine zweite zu 2 g aus der zuletzt gereinigten Portion, um sie der Acetolyse zu unterwerfen und zu erfahren, ob dabei Oktacetylcellobiose resultiert. In beiden Fällen erhielt ich ein negatives Resultat, obschon die Kontrollversuche mit denselben Mengen Cellulose und Hydrocellulose so gute Ausbeuten an Oktacetylcellobiose gaben, daß die Identifizierung des Produktes ohne Schwierigkeit gelang.

Die Acetolysen erfolgten nach dem Verfahren von Skraup und König.¹⁾ Auf 1 g des Ausgangsmaterials verwandte ich 4 ccm Essigsäureanhydrid und 0,6 ccm konzentrierte Schwefelsäure, die unter Vermeidung der Temperaturerhöhung zuvor vermischt wurden. Nachdem die Acetylierungsflüssigkeit auf das Ausgangsmaterial gegossen, wurde kräftig geschüttelt. In Gegenwart von Cellulose erwärmt sich die Reaktionsmasse und die Cellulose geht dabei in Lösung. Das aus dem Korkmehl erhaltene Produkt trat mit dem Acetylierungsgemisch ohne Erwärmen nicht in Reaktion. Sogar beim Erwärmen auf dem Wasserbade blieb ein erheblicher Teil des Produktes ungelöst. Als die Flüssigkeit nach etwa 1/4 stündigem Erwärmen vom ungelösten Rückstand in Wasser gegossen wurde, entstand eine Suspension aus einem amorphen Niederschlage, der auch nach

¹⁾ Zd. Skraup und J. König, Monatshefte für Chemie, Bd. 22, S. 1011 (1901).

Tagen nicht krystallinisch erstarrte und nach dem Abfiltrieren in heißem Alkohol größtenteils unlöslich war. Das alkoholische Filtrat schied auch nach längerem Stehen kein krystallisiertes Produkt aus. Dagegen erstarrten die aus Cellulose und Hydrocellulose entstammenden Reaktionsgemische nach dem Eingießen in kaltes Wasser bald krystallinisch, ließen sich aus heißem Alkohol leicht in Form von farblosen Nadeln umkrystallisieren und zeigten sämtliche Eigenschaften der Oktacetylcellobiose.

Demnach erhält man aus der Korksubstanz nach den Isolierungsmethoden der Cellulose ein Produkt, das in seinen äußeren Eigenschaften und Löslichkeit an die Cellulose erinnert, jedoch bei der Acetolyse kein Cellobioseoktacetat liefert.

Endlich stelle ich die aus 100 g Korkmehl erhaltenen Substanzen zusammen:

Wasser	6,21 g	
Asche	4,12 »	
Alkoholischer Auszug	10,5 »	
Fettsäuren erhalten bei der kalten Ver-		
seifung mit alkoholischer Kalilauge .	19,0 »	
Alkoholischer Auszug des Rückstandes .	13,5 »	
Wässriger Auszug des Rückstandes . .	14,0 »	Daraus erhältlich durch Hydrolyse mit n-Schwefelsäure 1,24 g Zucker auf d-Glukose gerechnet.
Auszug mit 1,5%iger Schwefelsäure . .	1,5 g	Zucker auf d-Glukose gerechnet.
Rückstand	24,5 »	Daraus erhältlich 4,17 g eines celluloseähnlichen, aber mit ihm nicht identischen Produktes.