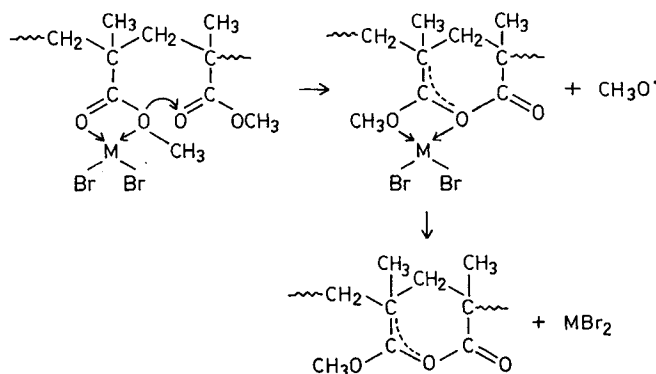


Table 2. Activation energies of the degradation of PMMA and MMA — metal bromide polymer complexes

Polymer	Activation Energy kJ/mol
PMMA	42.0
MMA-CuBr ₂	16.8
MMA-CoBr ₂	29.4
MMA-NiBr ₂	20.2

lactones, which could be the source of the formation of methanol. The decomposition of these lactone structures gives carbon dioxide, which was found among the degradation products. The existence of metal bromide in the polymer chain suppressed the depolymerization process. The formation of products like methyl bromide and methanol in the degradation of MMA-metal bromide polymer complexes rather than depolymerization process destabilizes the polymer complexes (Scheme 4).



Scheme 4

References

- [1] MACCALLUM, I. R.: Makromol. Chemie **83** (1965) 137.
- [2] MCNEILL, I. C., and MCGUINNESS, R. C.: Polymer Degr. Stab. **9** (1984) 167.
- [3] KOCHNEVA, L. S., KOPYLOVA, N. A., TERMAN, L. M., and SEMCHIKOV, YU. D.: Europ. Polymer J. **15** (1979) 575.
- [4] JAMIESON, A., and MCNEILL, I. C.: J. Polymer Sci., Polymer Chem. Ed. **16** (1978) 2225.
- [5] KABANOV, V. A.: IUPAC International Symposium on Macromolecular Chemistry, Budapest 1969, p. 435—462.
- [6] MCNEILL, I. C., and MCGUINNESS, R. C.: Polymer Degr. Stab. **5** (1983) 303.
- [7] GRASSIE, N., and MACCALLUM, I. R.: J. Polymer Sci., Part A **2** (1964) 989.

Received November 26, 1986

Accepted May 8, 1987

Untersuchungen zum hydrolytischen Abbau wasserlöslicher Cellulosederivate unter homogenen Reaktionsbedingungen

4. Mitteilung: Mechanismus der enzymatischen Hydrolyse¹⁾

U. KASULKE, K.-J. LINOW, B. PHILIPP und H. DAUTZENBERG

Akademie der Wissenschaften der DDR, Institut für Polymerchemie „Erich Correns“, DDR-1530 Teltow-Seehof

Unter Homogenbedingungen hergestellte teilsubstituierte Cellulosederivate können als binäre statistische Copolymere aus substituierten und nicht-substituierten Anhydroglucoseeinheiten betrachtet werden, wobei sich die Sequenzverteilung beider Species auf Basis einer Bernoulli-Statistik errechnen läßt. Diese Sequenzverteilung erlaubt in Verbindung mit den experimentell bestimmten Glucosemengen nach langer Hydrolysedauer eine Entscheidung zwischen alternativen Abbaumodellen bei der homogenen enzymatischen Hydrolyse durch Cellulase. Nach den hier erhaltenen Ergebnissen ist eine Spaltung von Glucosidbindungen ausschließlich zwischen unsubstituierten Anhydroglucoseeinheiten unter Bildung von Bruchstücken mit endständigen AGE anzunehmen.

Исследование гидролитической деструкции водорастворимых производных целлюлозы в гомогенных условиях. Сообщ. 4-ое: Механизм ферментативного гидролиза

Частично замещенные производные целлюлозы, получаемые в гомогенных условиях, можно рассматривать как бинарные статистические сополимеры из замещенных и незамещенных ангидроглюкозных звеньев, причем расчет распределения последовательностей обоих видов звеньев возможен на основе статистики Бернулли. В связи с экспериментально определяемым количеством глюкозы после длительного гидролиза это дает возможность решения между альтернативными моделями деструкции при гомогенном ферментативном гидролизе целлюлазой. Судя по полученным авторами результатам можно предполагать расщепление гликозидных связей исключительно между незамещенными ангидроглюкозными звеньями с образованием фрагментов с концевыми ангидроглюкозными звеньями.

Investigations on the hydrolytic degradation of water-soluble cellulose derivatives under homogeneous conditions of reaction. 4th Comm.: Mechanism of the enzymatic hydrolysis

Partially substituted cellulose derivatives prepared in a homogeneous system can be considered as statistical binary copolymers of substituted and non-substituted anhydroglucose units with a sequence distribution of the two species calculated by Bernoulli statistics. This sequence distribution and the amount of glucose experimentally determined after a prolonged enzymatic hydrolysis permit a decision between alternative models of homogeneous enzymatic degradation by cellulase. According to the results, an enzymatic cleavage of glycosidic bonds only between non-substituted anhydroglucose units has to be assumed.

¹⁾ 3. Mitt.: siehe [17]

1. Einleitung

In [1–3] hatten wir die nach langer Reaktionszeit bei der enzymatischen Hydrolyse wasserlöslicher anionischer Cellulosederivate erhaltenen „Glucose-Endwerte“ in ihrer Abhängigkeit vom DS des Derivates betrachtet. Dabei wurde festgestellt, daß dieser Glucoseendwert E_G , d. h. die Zahl der Mole Glucose je Mol Monomereinheiten in den Polymerketten ($0 \leq E_G \leq 1$) bei diesen teilsubstituierten Derivaten erwartungsgemäß mit steigendem DS stark abnahm, zusätzlich aber erheblich von der Herstellungsweise des Derivates und damit von der Verteilung substituierter Monomereinheiten entlang der Polymerkette abhing. Im Falle homogener Reaktionsführung bei der Derivatsynthese ergab sich für Carboxyethylcellulose, Carboxymethylcellulose und Na-Cellulosulfat ein durch einen Kurvenzug darstellbarer Zusammenhang zwischen E_G und DS . Anhand eines fiktiven Beispiels hatten wir in [2] dabei auf die Möglichkeit hingewiesen, derartige teilsubstituierte Cellulosederivate als statistische Copolymere aus unsubstituierten und substituierten Anhydroglucoseeinheiten (AGE) zu behandeln und auf Basis einer in der Theorie der Copolymerisation oft angewandten Bernoulli-Statistik zu quantitativen Aussagen über die Häufigkeit unterschiedlich langer unsubstituierter Glucosesequenzen in den Polymerketten zu gelangen.

Im folgenden Beitrag sollen diese Gedankengänge in erweiterter Form dargestellt und ihre Tragfähigkeit anhand der vorliegenden Experimentalergebnisse geprüft werden. Anhand der verschiedenen, in der einschlägigen Literatur diskutierten Modellvorstellungen soll dabei vor allem ein Beitrag zur Klärung des noch umstrittenen Abbaumechanismus teilsubstituierter Cellulosederivate bei der enzymatischen Hydrolyse gegeben werden.

2. Darlegung der Modellvorstellungen

Im folgenden wird von der Vorstellung ausgegangen, daß das unter Homogenbedingungen hergestellte teilsubstituierte Cellulosederivat ein statistisches Copolymer mit den beiden unterschiedlichen Monomereinheiten A und B darstellt, wobei A die unsubstituierten AGE, B die substituierten Einheiten unabhängig von der Anzahl der Substituenten im Anhydroglucosering sind. Der prozentuale Anteil von A läßt sich aus dem analytisch bestimmten DS unter Berücksichtigung einer auch bei $DS < 1$ bereits relevanten Mehrfachsubstitution im einzelnen Anhydroglucosering ermitteln. Die Berücksichtigung der Mehrfachsubstitution und die Berechnung der theoretisch möglichen Glucosemenge im Cellulosederivat wurde auf Basis des von SPURLIN [4] entwickelten Modells zur Substituentenverteilung im Anhydroglucosering vorgenommen, wobei Literaturdaten für die relativen Geschwindigkeitskonstanten der Substitution in C-2, C-3 und C-6-Stellung zugrunde gelegt wurden. Für Carboxymethylcellulose (CMC) unterscheiden sich nach den bisher veröffentlichten Literaturdaten [5–9] die relativen Reaktivitäten in C-2, C-3 und C-6-Stellung nur wenig voneinander. Legt man die gesamte Spannbreite der veröffentlichten Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten für die Carboxymethylierung zugrunde, so erhält man bei DS -Werten von 0,5 und 1,0 theoretische Gehalte an unsubstituierter Glucose, die sich maximal nur um 0,36 bzw. 0,91% voneinander unterscheiden. Für die hier eingesetzten, durch homogene Verseifung von Cyanethylcellulosen hergestellten Carboxyethylcellulosepräparate erscheint es nicht abwegig, eine statistische Verteilung der Substituenten im Anhydroglucosering anzunehmen [10]. Für die von uns in Betracht gezogenen anionischen Celluloseether erhält man den im Bild 1 wiedergegebenen Zusammenhang zwischen DS und Anteil an unsubstituierten AGE in der Polymerkette, wenn

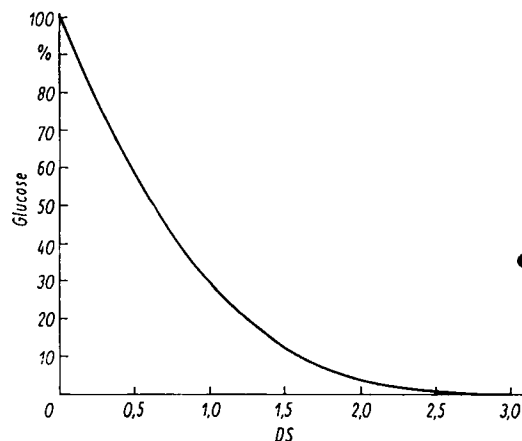


Bild 1. Zusammenhang zwischen analytisch erhaltenem DS und Anteil unsubstituierter Anhydroglucoseeinheiten (nach SPURLIN [4] bei $k_2:k_3:k_6 = 1:1:1$)

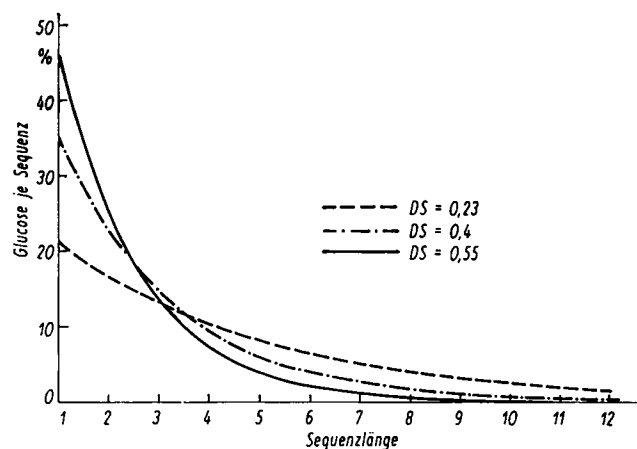


Bild 2. Häufigkeit unsubstituierter Glucosesequenzen in Abhängigkeit von ihrer Sequenzlänge

für die Substitution der Hydroxylgruppen in C-2, C-3 und C-6-Stellung ein Verhältnis der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten $k_2:k_3:k_6 = 1:1:1$ angenommen wird.

Für die im Hinblick auf die folgenden Überlegungen wesentliche Sequenzlängenverteilung unsubstituierter Monomerbausteine (Komponente A des statistischen Copolymers) ist zunächst quantitativ zu erwarten, daß die Häufigkeit von Sequenzen mit $n > 1$ sowohl mit steigender Sequenzlänge n als auch mit steigendem DS bzw. steigendem Anteil an substituierten Einheiten (Komponente B) abnimmt. Die Berechnung der prozentualen Glucosemenge in den einzelnen Sequenzen erfolgte auf Basis der Annahme eines statistischen Copolymers mit dem von TOSI [11] angewandten mathematischen Formalismus. Bild 2 veranschaulicht die Häufigkeit unsubstituierter Glucosesequenzen in Abhängigkeit von ihrer Sequenzlänge. Hieraus geht hervor, daß auch bei höher substituierten Präparaten durchaus noch längere Sequenzen unsubstituierter Glucoseeinheiten auftreten können.

Für die enzymatische Spaltung der Glucosidbindungen teilsubstituierter Cellulosederivate kann man von der gesicherten Erkenntnis ausgehen, daß eine solche Spaltung zwischen zwei substituierten Kettengliedern nicht erfolgen kann. Gegenstand der Diskussion ist dagegen auch heute noch die Frage, ob eine enzymatische Spaltung nur zwischen zwei unsubstituierten Kettengliedern oder auch

zwischen einer unsubstituierten und einer substituierten Monomereinheit stattfindet (vgl. [12–15]). Für die Interpretation der Werte wurde deshalb von 2 Abbaumodellen ausgegangen:

Modell 1. Ab Glucosediaden erfolgt eine mit der Freisetzung von Glucose verbundene enzymatische Spaltung; an einem der beiden entstehenden Hydrolyseprodukte befindet sich eine endständige unsubstituierte Glucoseeinheit.

Modell 2. Ab Glucotriaden erfolgt eine mit der Freisetzung von Glucose verbundene enzymatische Spaltung; an beiden entstehenden Hydrolyseprodukten befinden sich endständige unsubstituierte Glucoseeinheiten.

Die freigesetzte Glucosemenge je Sequenz errechnet sich nach folgender Formel:

$$\frac{\text{freigesetzte Glucose}}{\text{Sequenz}} = \frac{\text{Glucosemenge in der Sequenz (Sequenzlänge} \cdot X)}{\text{Sequenzlänge}}$$

Im Falle von Modell 1 wäre $X = 1$, bei Modell 2 $X = 2$. Die Gesamtmenge an durch enzymatische Hydrolyse freigesetzter Glucose ist somit die Summe der aus den einzelnen Sequenzen freigesetzten Glucose. Günstige Voraussetzungen für eine Überprüfung der beiden Modelle anhand experimenteller E_G -Werte sind vor allem im Bereich $0,2 \leq DS \leq 1$ zu erwarten, da hier die Unterschiede zwischen den nach Modell 1 und Modell 2 errechneten Werten am größten sind.

3. Vergleich der Modellvorstellungen mit experimentellen Ergebnissen

Zur Prüfung der hier dargelegten Modellvorstellungen dienten unsere an Carboxymethylcellulose (CMC) und Carboxyethylcellulose (CEC) experimentell ermittelten E_G -Werte (vgl. [1–3]). Zur enzymatischen Hydrolyse wurde ein Kulturfiltrat von *Gliocladium spec.* [16] eingesetzt (weitere experimentelle Einzelheiten siehe [1–3]). In Tabelle 1 sind für die hier betrachteten Cellulosederivatproben die Anteile an unsubstituierten Einheiten (Komponente A, berechnet nach SPURLIN [4]) und die unter Zugrundelegung der Abbaumodelle 1 und 2 errechneten E_G -Werte aufgeführt und den experimentell ermittelten Daten gegenübergestellt.

Bild 3 veranschaulicht die hier erhaltenen Zusammenhänge. Für den Gesamtgehalt an unsubstituierten AGE (Komponente A) in Abhängigkeit vom DS der Proben

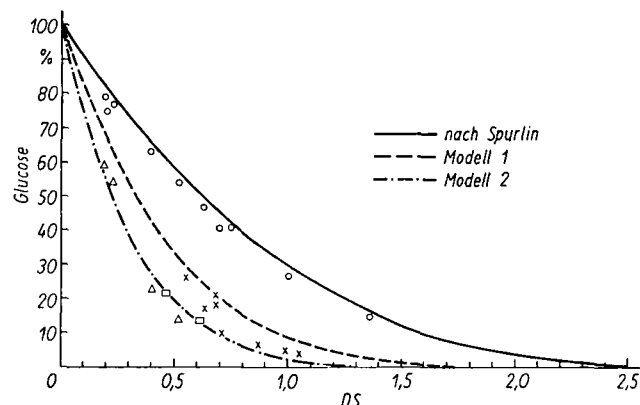


Bild 3. Vergleich der experimentell ermittelten Werte für E_G und Gesamtgehalt an unsubstituierten AGE mit den Ergebnissen der Modellrechnungen. \circ — Glucosewerte nach Säure-Totahydrolyse (vgl. [17]), umgerechnet auf Anteil unsubstituierter AGE; Δ — E_G -Werte nach enzymatischem Abbau für CEC; \square — E_G -Werte nach enzymatischem Abbau für CMC; \times — E_G -Werte heterogen hergestellter CMC-Proben zum Vergleich

ergibt sich eine befriedigende Übereinstimmung zwischen den errechneten Werten und dem nach Säurehydrolyse unter Spaltung aller Glucosidbindungen gefundenen Glucosegehalten unter Berücksichtigung der entsprechenden Umrechnungsfaktoren [17]. Wie aus Tabelle 1 und Bild 3 ersichtlich ist, liegen die errechneten Glucosebeträge nach Modell 1 wesentlich höher als die nach der enzymatischen Hydrolyse erhaltenen Werte. Beim Modell 2 findet man dagegen für eine große Anzahl von Proben eine sehr gute Übereinstimmung zwischen theoretischen und experimentellen Werten. Unter heterogenen Bedingungen hergestellte CMC-Proben, von denen einige vergleichsweise mit aufgeführt wurden, zeigen wesentlich größere Abweichungen, während die homogen hergestellten Präparate z. T. nur innerhalb der Meßfehler beim Vergleich der Glucosewerte schwanken. Dieser Vergleich spricht somit dafür, daß zumindest bei den hier betrachteten anionischen Cellulosederivaten mit dem von uns eingesetzten Enzymsystem eine Glucosefreisetzung erst bei Sequenzlängen $n \geq 3$ erfolgt und somit das Abbaumodell 2 dem realen Ablauf der Kettenspaltung am nächsten kommt. Für die hier betrachteten homogen hergestellten Proben ergab sich für Modell 2 eine mittlere Abweichung von nur +0,3%, für Modell 1 dagegen von +13,8%.

Die Gültigkeit dieser Feststellung ist allerdings auf unter Homogenbedingungen synthetisierte Präparate mit statistischer Verteilung der Species A und B entlang der Polymerkette beschränkt. Im Falle von unter Heterogenbedingungen hergestellten CMC-Proben können — wie ebenfalls aus Bild 3 zu entnehmen ist — wesentlich höhere E_G -Werte auftreten, als dem berechneten Kurvenzug für das Abbaumodell 2 entsprechen, was jedoch offensichtlich nicht auf einen anderen Abbaumechanismus, sondern auf eine von der statistischen Copolymerzusammensetzung abweichende Sequenzlängenverteilung der unsubstituierten AGE zurückzuführen ist.

4. Schlußfolgerungen

Der hier vorgenommene Vergleich von Modellbetrachtung und Experimentalergebnis zeigt, daß es zum Verständnis des Ablaufs einer homogenen enzymatischen Hydrolyse teilsubstituierter wasserlöslicher Cellulosederivate zweck-

Tabelle 1. Vergleich von experimentellen Daten zur homogenen enzymatischen Hydrolyse von unter homogenen Bedingungen hergestellten Cellulosederivaten mit den Modellrechnungen

Probenmaterial	Derivat	DS	Glucose unsubst. AGE theoret.	Glucose exp.	Glucose theoret. Modell 1	Glucose theoret. Modell 2
			%	%	%	%
CEC		0,19	82,2	59	67,5	55,5
CEC		0,23	78,7	54	62,0	48,8
CEC		0,40	65,1	22,5	42,4	27,6
CMC		0,46	60,7	21,4	36,8	22,4
CEC		0,52	56,5	13,5	31,9	18,0
CMC		0,61	50,6	13,1	25,6	12,9

mäßig ist, das Präparat als binäres Copolymer aus unsubstituierten (A) und substituierten (B) Anhydroglucoseeinheiten zu betrachten. Im Falle von unter Homogenbedingungen synthetisierten Präparaten mit statistischer Verteilung der Species A und B läßt sich die Sequenzlängenverteilung von A auf Basis einer Bernoulli-Statistik quantitativ beschreiben.

Auf der Basis der errechneten Sequenzlängenverteilung der unsubstituierten Anhydroglucoseeinheiten in Präparaten mit statistischer Verteilung von A und B und der experimentell bestimmten „Glucoseendwerte“ nach homogener enzymatischer Hydrolyse von Präparaten mit unterschiedlichem DS läßt sich eine Entscheidung zwischen verschiedenen Abbaumodellen für die enzymatische Hydrolyse treffen. Die erhaltenen Ergebnisse sprechen dafür, daß eine Freisetzung monomerer Glucose nur aus Anhydroglucose-Triaden und Sequenzen noch größerer Länge, nicht aber aus Diaden bzw. isolierten AGE erfolgt und somit ein Abbaumodell zutrifft, das eine Spaltung von Glucosidbindungen durch Cellulase ausschließlich zwischen nicht-substituierten AGE annimmt.

Literatur

- [1] PHILIPP, B., KASULKE, U., LUKANOFF, B., JACOPIAN, V., und POLTER, E.: Acta Polymerica **33** (1982) 714.
- [2] PHILIPP, B., KASULKE, U., DAUTZENBERG, H., POLTER, E., und HÜBERT, S.: Acta Polymerica **34** (1983) 651.

- [3] KASULKE, U., DAUTZENBERG, H., POLTER, E., und PHILIPP, B.: Cellulose Chem. Technol. **17** (1983) 423.
- [4] SPURLIN, K. M.: J. Amer. Chem. Soc. **61** (1939) 2222.
- [5] TIMELL, T. E.: Svensk Papperstidn. **56** (1953) 483.
- [6] CROON, I., und PURVES, C. B.: Svensk Papperstidn. **62** (1959) 876.
- [7] BUYTENHUY, F. A., und BONN, R.: Papier **31** (1977) 525.
- [8] Ho, F. F.-L., und KLOSIEWICZ, D. W.: Anal. Chem. **52** (1980) 913.
- [9] REUBEN, J., und CONNER, H. T.: Carbohydrate Res. **115** (1983) 1.
- [10] LUKANOFF, B., DAUTZENBERG, H., PHILIPP, B., und SCHLEICHER, H.: Faserforsch. u. Textiltechnik/Z. Polymerforsch. **28** (1977) 449.
- [11] TOSI, C.: Makromol. Chemie **108** (1967) 307.
- [12] BHATTACHARJEE, S. S., und PERLIN, A. S.: J. Polymer Sci., Part. C **36** (1971) 509.
- [13] ERIKSSON, K.-E., und HOLLMARK, B. H.: Arch. Biochem. Biophysics **133** (1969) 233.
- [14] WIRICK, W.: J. Polymer Sci., Part A-1: Polymer Chem. **6** (1968) 1965.
- [15] GAREGG, P. J., und HAN, N.: Svensk Papperstidn. **72** (1969) 695.
- [16] HIRTE, W. F., GLATHE, I., GRADEL, A., SCHADE, W., und HUBER, J.: DD-WP 149 914.
- [17] KASULKE, U., PHILIPP, B., und METZNER, K.: Acta Polymerica **36** (1985) 662.

Eingegangen am 22. Januar 1987

Quaternization of regenerated cellulose under homogeneous reaction conditions

M. PAŠTEKA

Slovak Academy of Science, Centre for Chemical Research, Institute of Chemistry, 842 38 Bratislava, Czechoslovakia

The optimal reaction conditions of the homogeneous quaternization of regenerated cellulose with 3-chloro-2-hydroxypropyltrimethylammonium chloride in solutions of benzyltriethylammonium hydroxide are established. Content of 6% of regenerated cellulose with the DP 320 in 1.8 M solution of BTEA-OH at the molar ratio 2:1 of reactants, ambient temperature, and 60 min reaction time have been found to be optimal.

Die Quaternisierung von regenerierter Cellulose unter homogenen Reaktionsbedingungen

Die optimalen Reaktionsbedingungen für die homogene Quaternisierung von regenerierter Cellulose mit 3-Chlor-2-hydroxypropyltrimethylammoniumchlorid in Lösungen von Benzyltriethylammoniumhydroxid wurden ermittelt. Ein Cellulosegehalt von 6% in 1,8 M BTEA-OH-Lösung beim Molverhältnis der Reaktanten von 2:1, Raumtemperatur und 60 min Reaktionsdauer erwiesen sich als optimal.

Гомогенная кватернизация регенерированной целлюлозы

Были определены оптимальные условия гомогенной кватернизации регенерированной целлюлозы с хлоридом 3-хлор-2-гидроксипропилтриметиламмония в растворах гидроксида бензилтриэтиламмония. Были найдены следующие оптимальные условия: содержание 6% регенерированной целлюлозы с ЦП 320 в 1,8 М растворе BTEA-OH при молярном отношении реагентов 2:1, комнатной температуры и времени реакции 60 минут.

1. Introduction

In our previous paper [1] we referred to the derivatization of the beech sulfate pulp ($DP = 630$) with 3-chloro-2-hydroxypropyltrimethylammonium chloride (CHPTMA-Cl) after dissolution in aqueous solution of benzyltriethylammonium hydroxide (BTEA-OH). Quaternization in 1.6 M solution of BTEA-OH containing 3% (w/v) of this pulp at molar ratio of CHPTMA-Cl to the anhydroglucose unit (AGU) from 2:1 to 3:1 at ambient temperature has been found to be the optimal reaction condition. Homogeneous quaternization of the beech sulfate pulp in solution of BTEA-OH with the cellulose content

lower than 3% rendered the derivatives with evidently lower degree of substitution (DS). On the other hand, the attempts of quaternization in solution containing cellulose over 3% were unsuccessful, too. The stirring of these solutions was inhomogeneous and irregular because of very high viscosity due to the relatively high DP of the used pulp.

This paper deals with the homogeneous quaternization of regenerated cellulose (RC) in solution. The optimal reaction conditions were searched. The results are compared with those of the quaternization of beech sulfate pulp (BSP), in order to find the influence of the supermolecular structure on the homogeneous derivatization of cellulose in solutions of BTEA-OH.