

# Contribution à l'étude de l'extraction fractionnée des polysides acides du bois de charme (*Carpinus betulus* L.)

A. EBRINGEROVÁ, A. KRAMÁR et R. DOMANSKÝ

*Institut de chimie de l'Académie slovaque des sciences, Bratislava 9*

On a expérimenté et comparé deux procédés de l'extraction fractionnée des polysaccharides acides à partir de l'holocellulose de Klauditz. Ces procédés ont embrassé un degré acide et trois degrés alcalins. On a suivi la composition analytique des fractions particulières, mais l'attention principale a été dirigée sur la composition des portions acides des hydrolysats. On a isolé et identifié les acides uroniques et aldouroniques qui ont indiqué la présence d'autres polysides acides en dehors de 4-*O*-méthylglucuronoxylane. Ces polysides se sont trouvés surtout dans la fraction acide indépendamment si son extraction a été effectuée avant ou après des extractions alcalines. Les mêmes polysaccharides ont été obtenus par une extraction simple d'holocellulose en utilisant l'oxalate d'ammonium. On peut supposer en tenant compte de la composition et du mode d'isolement de ces polysides acides que la portion essentielle des ces substances vient des matières pectiques qui se rencontrent toujours dans le bois en proportion limitée.

Two procedures of the fractional extraction of acid polysaccharides from the holocellulose of Klauditz were tested and compared. These procedures comprised a single acid and three alkaline steps. The analytical composition of particular fractions was reviewed but the chief attention was given to the composition of acid portions of hydrolysates. Some uronic and aldouronic acids were isolated and identified which indicated the presence of other acid polysaccharides besides 4-*O*-methylglucuronoxylan. These polysaccharides were present mainly in the acid fraction irrespective whether its extraction was performed before or after the alkaline extractions. The same polysaccharides were obtained by using a simple extraction of holocellulose by ammonium oxalate. On the basis of the composition and isolation procedure of these acid polysaccharides, it may be supposed that the essential part of these substances originates from pectic substances which are always present in small amounts in wood.

Un procédé d'extraction fractionnée des hemicelluloses du bois a été développé. Ce procédé qui a fait sa preuve dans les recherches structurales du 4-*O*-méthylglucuronoxylane provenant du bois de charme ou d'autres espèces feuillues a été publié antérieurement [1]. Ce procédé comportait trois degrés alcalins et un degré acide ce qui est évident du schéma 1. C'était l'holocellulose de Klauditz qui a été employée comme la matière première pour l'extraction. On a appliqué des solutions

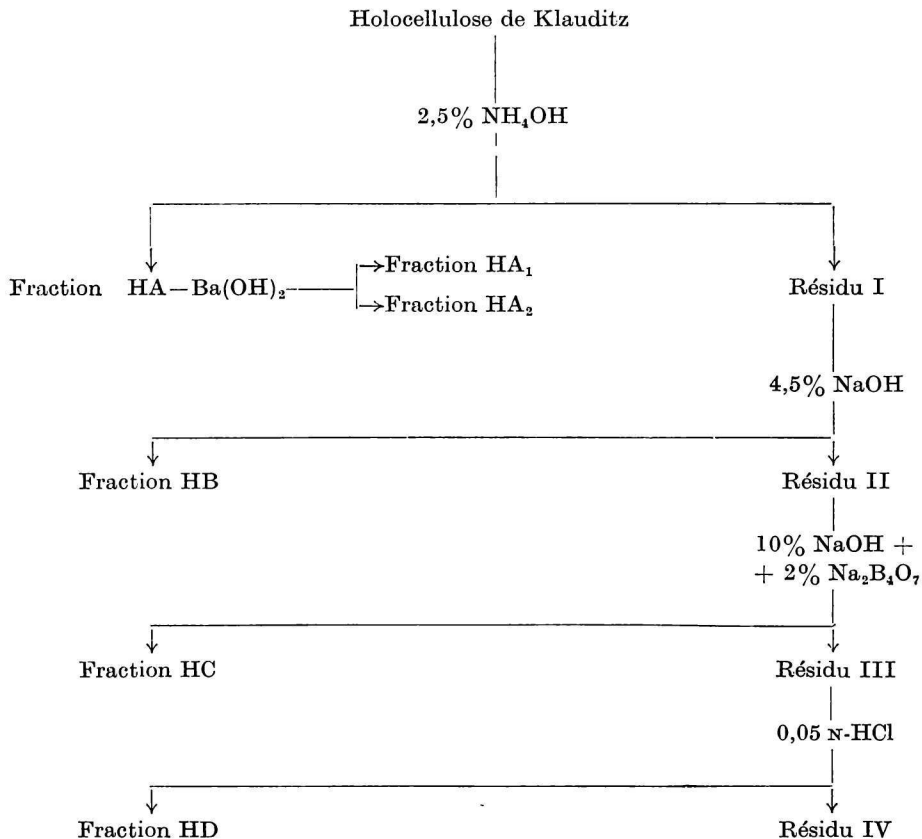
---

Communication présentée au colloque franco-tchécoslovaque sur la Chimie et la Biochimie des Glucides, Smolenice (Slovaquie), 29. Septembre — 4. Octobre 1969.

aqueuses à 2,5% de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , à 4,5% de  $\text{NaOH}$  et à 10% de  $\text{NaOH}$  en plus de 2% de  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  comme le réactifs d'extraction dans les premiers trois degrés d'extraction, pendant qu'on a employé une solution de 0,05 N-HCl dans le quatrième degré acide. Puisque la composition de la fraction obtenue dans le degré d'extraction acide a été tout à fait différente de celle des fractions obtenues dans les degrés alcalins, on a soumis cette fraction à une étude plus profonde.

## Schéma 1

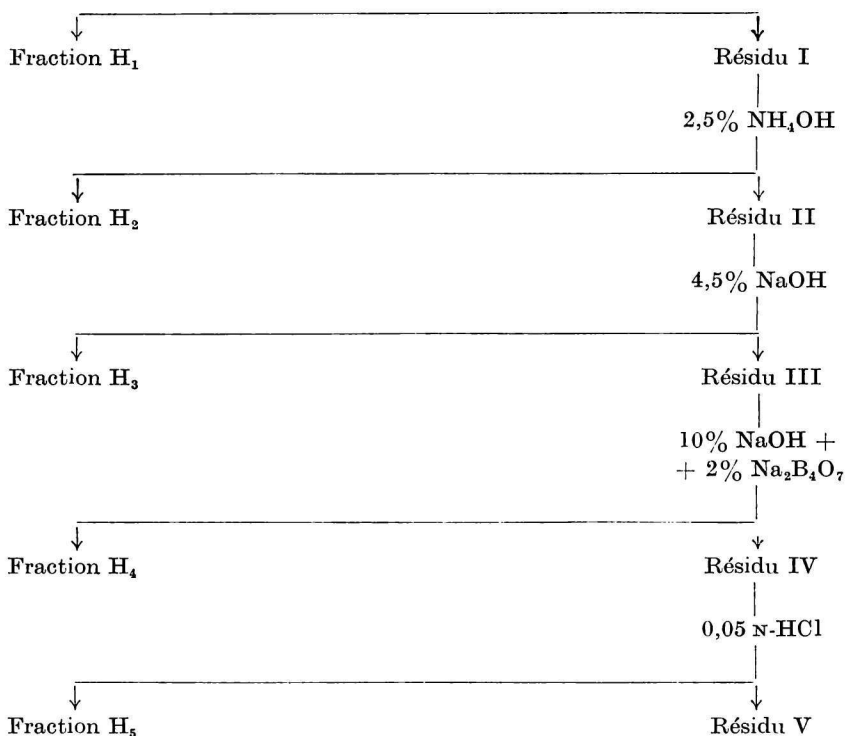
## Extraction fractionnée du premier mode



## Partie expérimentale

On a procédé de cette façon qu'on a effectué une extraction d'après le schéma 2 outre l'extraction précitée. Ce procédé de l'extraction fractionnée diffère du procédé précédent seulement par l'introduction d'un degré d'extraction acide devant d'autres degrés dont l'ordre n'a pas changé. Les analyses des fractions obtenues dans le premier ainsi que dans le deuxième procédé de l'extraction fractionnée sont présentées dans les tableaux

## Schéma 2

 Extraction fractionnée du deuxième mode  
 Holocellulose de Klauditz  
 0,05 N-HCl


1 et 2. Les fractions obtenues dans les degrés d'extraction acides ne contenaient ni des monoses ni des oligosides et on a constaté au moyen de l'électrophorèse libre qu'elles renfermaient un mélange de polysides.

Les fractions obtenues dans les deux procédés d'extraction étaient analysées. Le dosage des groupes méthoxyles a été fait suivant la méthode de Viebeck—Brecher, pendant que l'évaluation de la proportion molaire des sucres neutres a été réalisée après l'hydrolyse totale par chromatographie sur papier avec le système solvant: acétate d'éthyle—pyridine—eau (8 : 2 : 1).

### Résultats et discussion

Il résulte de ces analyses présentées dans les tableaux 1 et 2 que les fractions obtenues dans les degrés d'extraction acides avaient des compositions semblables indépendamment si le degré d'extraction acide avait été mis devant ou après les degrés d'extraction alcalins. La composition de la portion neutre des polysides obtenue dans les degrés d'extraction acides différait de celle des fractions obtenues dans les degrés d'extraction alcalins par une teneur en galactose et arabinose élevée.

Tableau 1

Analyse des fractions obtenues pendant l'extraction fractionnée I

Fraction	Rendement <sup>a</sup> [%]	-OCH <sub>3</sub> [%]	-COOH [%]	Proportion moléculaire des sucres					
				Gal	Glc	Man	Ara	Xyl	Rha
HA <sub>1</sub>	15,5	3,26	5,84	6,0	1,4	—	5,5	100	3,6
HA <sub>2</sub>	7,7	2,59	3,90	—	1,0	—	1,2	100	2,3
HB	20,4	1,96	2,85	1,1	1,1	—	1,8	100	1,1
HC	7,4	1,23	2,32	—	8,8	15,1	—	100	1,1
HD	0,6	0,69	3,90	10,0	3,0	—	9,6	1,4	1,5

a) Rapporté à l'holocellulose a. s.

Tableau 2

Analyse des fractions obtenues pendant l'extraction fractionnée II

Fraction	Rende- ment <sup>a</sup> [%]	-OCH <sub>3</sub> [%]	Proportion moléculaire des sucres					
			Gal	Glc	Man	Ara	Xyl	Rha
H <sub>1</sub>	1,75	3,67	10,0	t	—	6,8	2,5	1,2
H <sub>2</sub>	15,4	2,49	3,0	1,0	—	2,5	100	t
H <sub>3</sub>	26,3	2,53	t	1,5	—	2,0	100	t
H <sub>4</sub>	6,8	1,85	—	36	82	—	100	—
H <sub>5</sub>	0,45	—	10	—	—	12,1	1,5	t

a) Rapporté à l'holocellulose a. s.

t — traces.

Cette composition approchait celle de la fraction obtenue par l'extraction de la farine de bois à l'oxalate d'ammonium qu'on emploie pour l'isolation des substances pectiques du bois (tab. 3).

Tableau 3

Extraction à l'oxalate d'ammonium 0,5% du bois de charme

Fraction	Rende- ment <sup>a</sup> [%]	-OCH <sub>3</sub> [%]	Proportion moléculaire des sucres					
			Gal	Glc	Man	Ara	Xyl	Rha
H <sub>F</sub>	2,15	2,91	10	t	—	3,5	3,8	0,9

a) Rapporté au bois a. s.

t — traces.

Ces différences entre les compositions obtenues dans les degrés d'extraction acides et alcalins se manifestaient encore plus expressivement dans les portions de polyosides acides des fractions particulières. Ces portions étaient caractérisées par la composition du mélange des acides uroniques et aldouroniques obtenues pendant l'hydrolyse partielle [2, 3]. Les produits de l'hydrolyse partielle étaient séparés par chromatographie préparative avec le système solvant: acétate d'éthyle—acide acétique—acide formique—eau (18 : 3 : 1 : 4). Les résultats des analyses des

Tableau 4

Hydrolyse partielle des fractions obtenues pendant l'extraction fractionnée du premier mode

Fraction	Proportion des composants dans les portions acides des hydrolysats mg COOH							
	$K_1$	$K_2$	$K_3$	$K_4$	$K_5$	$K_6$	$K_7$	$K_8$
HA <sub>1</sub>	0,88	—	3,03	0,85	2,71	t	8,90	5,84
HA <sub>2</sub>	—	t	1,72	—	t	—	5,25	3,04
HB	0,15	—	1,94	t	0,58	t	6,90	2,52
HC	0,32	t	1,24	t	t	—	6,72	2,90
HD	—	—	—	2,31	59,85	t	1,55	t

t — traces.

$K_1$ : 6-O-β-D-GlcUAp-D-Gal

$K_2$ : 2-O-α-D-GlcUAp-D-Xyl

$K_3$ : 2-O-(4-O-Me-α-D-GlcUAp)-4-O-β-D-Xylp-D-Xyl

$K_4$ : 2-O-α-D-GalUAp-L-Rha

$K_5$ : D-GalUA

$K_6$ : D-GlcUA

$K_7$ : 2-O-(4-O-Me-α-D-GlcUAp)-D-Xyl

$K_8$ : 4-O-Me-D-GlcUA

fractions obtenues pendant le premier procédé d'extraction sont donnés dans le tableau 4. Les données de ce tableau indiquent une teneur élevée en acide D-galacturonique et surtout en acide diuronique 2-O-α-D-GalUAp-L-Rha dans la fraction obtenue dans le degré d'extraction acide. Une certaine similitude se marque dans la composition de la fraction HA<sub>1</sub> représentant cette part de la fraction extraite à la solution aqueuse d'ammoniac qui n'a pas été précipitée par la solution saturée de Ba(OH)<sub>2</sub>. Les mêmes traits typiques se sont manifestés dans le cas des fractions obtenues dans les degrés d'extraction acides du deuxième procédé ainsi que de la fraction obtenue par l'extraction directe du bois à la solution d'oxalate d'ammonium (tab. 5).

Les résultats de ces recherches prouvent que d'autres polyosides acides, caractérisés par la présence d'acide en leurs macromolécules, se trouvent en petites quantités dans les hémicelluloses du bois d'espèces feuillues en plus de 4-O-méthyl-glucuronoxylane. La composition de ces polyosides indique qu'il s'agit des substances voisines ou appartenantes au groupe des substances pectiques. De même la composition de la fraction extraite du bois à l'oxalate d'ammonium ainsi que la composition de

Tableau 5

Analyse des fractions chargées de „substances pectiques“ obtenues pendant les extractions fractionnées

Fraction	Rendement [%]	-OCH <sub>3</sub> [%]	Proportion moléculaire des sucres					Proportion des composants dans les portions acides des hydrolysates						
			Gal	Glc	Ara	Xyl	Rha	K <sub>1</sub>	K <sub>3</sub>	K <sub>4</sub>	K <sub>5</sub>	K <sub>6</sub>	K <sub>7</sub>	K <sub>8</sub>
HA <sub>1</sub>	15,5	3,26	6,0	1,4	5,5	100	3,6	+	++	+	++	t	+++	++
HD	0,6 <sup>a</sup>	0,69	10,0	3,0	9,6	1,4	1,5	-	-	+	+++	t	+	t
H <sub>1</sub>	1,75 <sup>a</sup>	3,67	10,0	t	6,8	2,5	1,2	+	-	++	+++	-	+	t
H <sub>5</sub>	0,45 <sup>a</sup>		10,0	-	12,1		1,5	+	-	t	+++	+	t	-
H <sub>F</sub>	2,15 <sup>b</sup>	2,91	10,0	t	3,5	3,8	0,9	+	t	++	+++	+	+	t

a) rapporté à l'holocellulose

K<sub>1</sub>: 6-O-β-D-GlcUAp-D-Gal

b) rapporté au bois a. s.

K<sub>3</sub>: 2-O-(4-O-Me-α-D-GlcUAp)-4-O-β-D-Xylp-D-Xyl

t - traces

K<sub>4</sub>: 2-O-α-D-GalUAp-L-Rha

+ - peu

K<sub>5</sub>: D-GalUA

++ - moyenne teneur

K<sub>6</sub>: D-GlcUA

+++ - beaucoup

K<sub>7</sub>: 2-O-(4-O-Me-α-D-GlcUAp)-D-XylK<sub>8</sub>: 4-O-Me-D-GlcUA

la fraction obtenue par l'extraction à la solution d'ammoniac dans le premier degré du premier procédé d'extraction confirment cette vue. L'existence des polyosides acides de ce type a été prouvée dans le bois de *pin maritime* par Roudier [4]. Mais il y a aussi une objection qui se présente dans cette connection. On sait que l'extraction des substances pectiques est relativement facile à faire et voilà pourquoi elles devraient passer en solution déjà pendant les premiers degrés des deux procédés d'extraction conformément à la littérature [5]. Mais les résultats de nos analyses prouvent la présence de l'acide D-galacturonique dans toutes les fractions qui ont été obtenues dans les deux procédés d'extraction. Ce fait, en apparence inattendu, peut être expliqué par la conception que la plupart des polyosides du type pectique, dits polyuronides du bois, entre en solution dans le premier degré d'extraction, mais une certaine portion continue à rester dans les parois des cellules en conséquence de son accessibilité limitée. Cette portion passe en solution graduellement à mesure que d'autres polyosides qui la préservent de l'action de l'agent extractif sont extraits. Cela a pour conséquence que ces substances souillent tous les fractions et rendent difficile les recherches structurales de ces composants polyosidiques qui sont concentrés dans les fractions particulières.

## Bibliographie

1. Ebringerová A., Kramár A., Rendoš F., Domanský R., *Holzforchung* **21**, 74 (1967).
2. Adams G. A., *Can. J. Chem.* **35**, 556 (1957).
3. Ebringerová A., Kramár A., *Cellulose Chem. Technol.* **2**, 67 (1968).
4. Roudier A. J., *Actes du symposium international de Grenoble*, p. 113, 1964.
5. Kertesz Z. I., *The Pectic Substances*, p. 102. Interscience Publishers, New York, 1951.

Traduit par R. Domanský