

# Über den Kohlehydratgehalt der Flechten und den Einfluß der Chloride auf die Alkoholgärung.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)  
(Der Redaktion zugegangen am 30. November 1918.)

Die Zeitverhältnisse machen es wünschenswert, alle irgend erreichbaren Quellen von Kohlehydraten zu erschließen, auch wenn diese nicht für Genußzwecke, sondern nur für technische Zwecke verwertbar erscheinen, da hierdurch eine Quantität jetzt zur Alkoholgewinnung benutzter Stärke, namentlich in den Kartoffeln, für die Ernährung frei werden würde. Eine solche bisher nicht beachtete oder doch nicht verwertete Fundstelle für Kohlehydrate bilden die in manchen Gegenden in außerordentlicher Menge vorkommenden Flechten unserer heimischen Wälder und Heiden, insbesondere das Renntiermoos (*Cladonia rangiferina*) und das isländische Moos (*Lichen islandicus* sive *Cetraria islandica*).

Es ist bekannt, daß das isländische Moos ein durch Säuren hydrolysierbares Kohlehydrat enthält, das sogenannte Lichenin. Die einheitliche Natur desselben wird von manchen Autoren in Abrede gestellt. Es war nicht meine Absicht, auf diese Frage einzugehen — ich gedenke hierauf in einer besonderen Mitteilung zurückzukommen —, mich interessierte vielmehr die Frage nach der Höhe des Gehaltes an Kohlehydraten von dem oben genannten Gesichtspunkt aus. Für das Renntiermoos, das bei uns wohl noch mehr verbreitet ist wie das isländische Moos, liegen meines Wissens keine Angaben über daraus isolierte Kohlehydrate vor, indessen war es

doch sehr wahrscheinlich, daß solche in demselben vorkommen. Darauf deutet der Umstand hin, daß das Renntiermoos im hohen Norden für die Rentiere die Hauptnahrung darstellt, vielleicht die einzige Nahrung.

Nachträglich bin ich nun allerdings darauf aufmerksam gemacht worden, daß meine Annahme der mangelnden Verwertung der Flechten nicht ganz richtig ist, wenigstens insofern nicht, als in dem Handbuch der Spiritusfabrikation von Maercker-Delbrück die Herstellung von Spiritus aus denselben erwähnt ist. Da die vorliegende Arbeit schon druckfertig war, habe ich sie dieses Umstandes wegen nicht zurückziehen bzw. nicht umarbeiten wollen, und komme in einer Nachschrift auf die Angaben in Maercker-Delbrück zurück.

### 1. Lichen islandicus.

Die Analyse einer nicht entbitterten Probe von käuflichem isländischen Moos ergab folgende Zusammensetzung:

100 Teile enthalten:

Lichenin . . . . .	59,45 <sup>1)</sup>
Fett (Ätherextrakt) . . . . .	4,30
Eiweiß . . . . .	4,73
Organische Substanz außer Lichenin .	19,47
Asche . . . . .	2,01
Wasser . . . . .	10,04

Dazu bemerke ich noch folgendes:

1. Das Lichenin ist nach der Hydrolyse mit Salzsäure bestimmt. Zu diesem Zweck wurden 5 g mit 91 ccm Wasser und 9 ccm Salzsäure von 1,126 D — ungefähr entsprechend einer Salzsäure von 2,5% HCl —  $2\frac{1}{2}$  bis 3 Stunden am Rückflußkühler erhitzt, filtriert, mit heißem Wasser gut nachgewaschen, auf 100 ccm eingedampft, nochmals von Abscheidungen durch ein trockenes Filter abfiltriert, in 10 ccm der Glukosegehalt gewichtsanalytisch mit Fehlingscher Lösung bestimmt. Es wurden erhalten 0,6382 g  $\text{Cu}_2\text{O} = 64,36\%$  Traubenzucker<sup>2)</sup>. Der auf dem Filter gebliebene

<sup>1)</sup> Eine Anzahl anderer gut stimmender Bestimmungen ist weiter unten angeführt.

<sup>2)</sup> Berechnet unter der freilich nicht ganz korrekten Annahme, daß 1 g  $\text{Cu}_2\text{O} = 0,5042$  g Traubenzucker ist. Die Allihnsche Reduktions-tabelle konnte nicht benutzt werden, weil sie so hohe Werte nicht ent-

Rückstand wurde, so gut es ging (halbtrocken), vom Filter abgelöst, nochmals mit 100 ccm des salzsauren Wassers am Rückflußkühler gekocht usw., schließlich auf 50 ccm eingedampft. 10 ccm gaben 0,0538 g  $\text{Cu}_2\text{O}$  = 1,70 % Zucker. Im ganzen ergab sich also ein Zuckergehalt von 66,06 %. Zur Berechnung des Lichenin wurde in der für Amylum üblichen Weise der Zuckergehalt mit  $\frac{1}{10}$  multipliziert. Da die Wägung des  $\text{Cu}_2\text{O}$ , auf einen Papierfilter gesammelt, wie ich sie angewendet habe, vielfach als veraltet betrachtet wird, bedarf es vielleicht einer Rechtfertigung, warum ich dieses Verfahren und nicht das Allihnsche benutzt habe. Die Vorwürfe, die man dem älteren Verfahren macht, sind hauptsächlich, daß eine teilweise Oxydation des  $\text{Cu}_2\text{O}$  zu befürchten ist und daß sich ein Kupfergehalt des Filters, der sich durch bläuliche Färbung desselben bemerkbar macht, kaum zu vermeiden sei. Ich selbst habe es in einer älteren Arbeit<sup>1)</sup> für geboten erachtet, für den Kupfergehalt des Filters 1 mg in Abzug zu bringen. Beide Fehler lassen sich aber ausschließen, wenn man es vermeidet, die stark alkalische Lösung auf das Filter zu bringen. Ich verfuhr folgendermaßen: Einige Minuten nach Beendigung der Reduktion wurde die über dem  $\text{Cu}_2\text{O}$  stehende Lösung fast ganz in ein Becherglas abgegossen, das  $\text{Cu}_2\text{O}$  in der Schale mit heißem Wasser übergossen. Dabei gelangen nur die geringen Mengen bzw. Spuren des obenauf schwimmenden  $\text{Cu}_2\text{O}$  in das Becherglas. Diese setzen sich bald ab; es wurde wieder abgegossen und das  $\text{Cu}_2\text{O}$  mit heißem Wasser in die Schale gespritzt. Benutzt wurden Filter Nr. 590 Schleicher und Schüll von 11 cm Durchmesser. Das Auswaschen ist dann in der Regel schon in einer Viertel- bis halben Stunde beendet. Das Filter adsorbiert aus so dünnen Lösungen kein Kupfer und erscheint nach dem Trocknen vollkommen weiß, eine Korrektur ist unnötig. Bestimmt man in salzsaurer Lösung, so hat man für die Vollendung des Auswaschens einen sehr feinen Indikator, geschah die Bestimmung in schwefelsaurer Lösung, so wurde dem Waschwasser in der Schale ein wenig Chlornatrium hinzugesetzt, da die Reaktion auf Schwefelsäure doch vielleicht nicht von genügender Feinheit ist. Außerdem darf das letzte Waschwasser, das sowohl mit  $\text{AgNO}_3$ , als auch mit  $\text{BaCl}_2$  geprüft wurde, natürlich nicht alkalisch reagieren.

Für die Reinheit des erhaltenen  $\text{Cu}_2\text{O}$  spricht seine lebhafte und rein rote Farbe. — Vielfach wird auch die Anwendung von Papierfiltern überhaupt als unsicher angesehen, das ist aber nicht der Fall, wenn man bis 120° trocknet. Ich habe das alte Verfahren vorgezogen, weil es viel einfacher ist, als das Allihnsche. Dieses hat übrigens auch seine Schattenseiten, namentlich ist es nicht leicht, den Asbest richtig zu stopfen: stopft

hält. Außerdem gilt sie, streng genommen, nur für die Allihnsche Lösung, während ich die Fehlingsche benutzte, die Zuckerwerte sind also eher etwas zu niedrig.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift 3. 84.

man ihn nicht fest genug, so geht  $\text{Cu}_2\text{O}$  hindurch und die Analyse ist verloren, stopft man andererseits zu fest, so verzögert sich die Bestimmung ungebührlich.

2. Fett ist gleich Ätherextrakt, durch 10stündiges Extrahieren von 2,5 g am Soxhlet bestimmt. Erhalten 0,1074 g.

3. Als Eiweiß ist angenommen  $\text{N} \times 6,25$ . Zur Bestimmung dienten 1,120 g. Es wurden gebunden 6,05 ccm  $n'_{10}$  Säure.

4. Wasser und Asche. 1,452 g verloren bei  $120^\circ$  0,1460 g und hinterließen 0,0292 g Asche.

5. Cellulose, Rohfaser und sonstige organische Substanz durch Differenz bestimmt.

Danach liefert das isländische Moos eine erhebliche Quantität reduzierenden Zuckers, sodaß eine technische Verwertung mindestens nicht außerhalb des Bereiches der Möglichkeit liegt. Mit Rücksicht auf diese Möglichkeit schien es mir wünschenswert, zu sehen, ob die Hydrolyse nicht ebenso gut wie mit Salzsäure auch mit Schwefelsäure ausführbar ist. Es ergab sich auffallenderweise, daß eine äquivalente Menge Schwefelsäure hierzu nicht ausreicht, sondern mehr erforderlich ist.

Erhitzt man 5 g isländisches Moos mit einer Mischung von 85 ccm Wasser und 15 ccm verdünnter Schwefelsäure (200 g  $\text{H}_2\text{SO}_4$  aufgefüllt auf 1 Liter)  $2\frac{1}{2}$  Stunden und filtriert nach dem Erkalten, so tritt entweder schon auf dem Filter Gelatinieren ein oder im Filtrat beim Stehenlassen. Es wurde daher 100 ccm 6%ige Schwefelsäure angewendet und außerdem die Kochdauer auf 3 Stunden verlängert. Wie oben beschrieben, wurde das Volumen von 100 ccm wiederhergestellt, jedoch nur 5 ccm zur Bestimmung der Reduktion verwendet, mit Fehlingscher Lösung erhitzt. Erhalten 0,3278 g  $\text{Cu}_2\text{O}$ , das ergibt  $68,7\% = 61,83\%$  Lichenin, also etwas mehr, wie bei der Hydrolyse mit Salzsäure. Der nach dem Auswaschen erhaltene Lichen-Rückstand wurde, so gut es ging, vom Filter genommen und nochmals mit 100 ccm 2,5%iger Salzsäure erhitzt usw., beim Kochen mit Fehlingscher Lösung blieb nur ein kaum sichtbarer rötlicher Hauch in der Porzellanschale.

Selbstverständlich ist in der Technik das Erhitzen am Rückflußkühler ausgeschlossen und durch Zufießenlassen von

Wasser zum Ersatz des verdampften Wassers zu ersetzen, man kann statt dessen aber auch im Autoklaven bei geringem Überdruck erhitzen.

20 g isländisches Moos wurden mit 400 ccm 6% iger Schwefelsäure 3 Stunden bei einer Atmosphäre im Autoklaven erhitzt, samt dem Ungelösten in einen Meßzylinder gebracht und gut nachgespült. Volumen 720 ccm. Es wurde durch ein trockenes Filter filtriert. 10 ccm gaben 0,3612 g  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Daraus berechnet sich ein Zuckergehalt von  $65,57\% = 59,01\%$  Lichenin.

Vergärbarkeit der erhaltenen Hydrolysate. Einfluß der Chloride auf die Gärung.

Da an eine Verwendung der durch Hydrolyse erhaltenen Zuckerlösungen zu Genußzwecken zunächst nicht zu denken war, erhob sich als wesentlich die Frage, ob der Zucker vollständig vergärbar sei. Aus naheliegenden Gründen wurden zu den Versuchen zunächst die durch Hydrolyse mit Schwefelsäure erhaltenen Lösungen verwendet. Sie wurden durch Eintragen von Calciumkarbonat von Schwefelsäure befreit, vom Calciumsulfat abfiltriert und dann so weit eingedampft, daß der Zuckergehalt etwa 10% betrug, mit gut wirksamer Hefe angesetzt; nach 3–4 Tagen war kein Zucker mehr nachweisbar bzw. nur bedeutungslose Spuren, indessen ging mitunter der Zuckergehalt resp. der Gehalt an reduzierender Substanz doch über Spuren hinaus. Auf die Ursache dieser Erscheinung komme ich noch zurück.

Die Hydrolyse mit Salzsäure erfordert nun viel weniger Säure als die mit Schwefelsäure, es fragte sich daher, ob sich nicht auch mit Salzsäure erhaltene Lösungen vergären lassen. Entfernen läßt sich die Salzsäure aus den Lösungen nicht. Ein Versuch, dies durch Kochen mit Bleikarbonat, Abfiltrieren von Bleichlorid nach längerem Stehen und Beseitigen des noch in Lösung befindlichen Bleichlorids durch Natriumsulfat zu bewirken, ergab zwar eine gärungsfähige Lösung, führte aber zu einem erheblichen Verlust an Zucker. Eindampfen ist selbstverständlich ebenso ergebnislos, da die Salzsäure ja erst

bei erheblicher Konzentration entweicht. Auch das Eindampfen unter vermindertem Druck führt zu keinem positiven Ergebnis. Bei einem zur Kontrolle angestellten Versuch mit 5%iger Traubenzuckerlösung in 2,5%iger Salzsäure gingen nur Spuren oder doch minimale Mengen von Salzsäure in das Destillat über. Es blieb also nur Neutralisieren mit einem Alkali übrig und es fragte sich, ob und wie weit Salze die Gärung stören. In Oppenheims Buch: „Die Fermente“ finde ich darüber nur<sup>1)</sup>: „Salpeter und  $\text{CaCl}_2$  hemmen, weil sie die Tryptase aktivieren, ähnlich die Sulfate von Na,  $\text{NH}_4$ , Mg, nicht Fe, Mn, Co, Al.“ Möglicherweise beziehen sich diese Angaben auch nicht auf Hefe, sondern auf Zymase. Es war also nötig, Vorversuche über den Einfluß der Chloride auf die Gärung anzustellen.

Die Versuche wurden mit 5%iger Traubenzuckerlösung angestellt, der so viel von verschiedenen Chloriden hinzugesetzt wurde, als bei der Neutralisation der angewendeten 2,5% Salzsäure entstanden wären; nur bezüglich des Calcium wurde ein anderer Weg eingeschlagen, da sich  $\text{CaCl}_2$  ja nicht mit hinreichender Genauigkeit abwägen läßt. Die Versuche hatten folgendes Resultat bei der Prüfung nach 48 stündigem Stehen im Thermostaten bei ca. 37°:

1. auf 100 ccm 4 g NaCl: kein Zucker (wiederholt angestellt),

2. auf 100 ccm 5,1 KCl: Spur Zucker (?),

3. auf 100 ccm 3,66  $\text{NH}_4\text{Cl}$ : kein Zucker,

4. 100 ccm + 9 ccm Salzsäure von 1,126 D mit  $\text{CaCO}_3$  neutralisiert, eingedampft auf 100 ccm, entsprechend 3,85%  $\text{CaCl}_2$ . Die Gärung setzte nach dem Hefezusatz sehr schnell ein, nach 48 Stunden war keine Spur Zucker vorhanden. Da die Hydrolysate nur 3,2% Zucker enthielten, wurden auch mit einer Traubenzuckerlösung von 3,2% Versuche angestellt, jedoch beschränkte ich mich bei dieser Lösung auf einen Zusatz von NaCl und  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , das Resultat war dasselbe.

Wie verhielten sich nun die Hydrolysate aus Lichen

<sup>1)</sup> Dritte Auflage 1910 II, S. 420.

nach der Neutralisation? Sie zeigten gute Vergärung, indessen blieben mitunter doch kleine Mengen Zucker unvergoren.

In der Technik ist nun meines Wissens mit einer 3,2 %igen Zuckerlösung für die Vergärung nichts anzufangen, die Lösungen müssen weit konzentrierter sein. Am nächsten liegt es natürlich, die Hydrolysate nach dem Neutralisieren einzudampfen, die Frage ist indessen, ob die dadurch bedingte höhere Salzkonzentration die Gärung nicht stört. Auch hierüber waren Versuche mit Traubenzucker erforderlich. Unter der Annahme, daß die neutralisierten Hydrolysate zunächst auf das halbe Volumen eingedampft würden, diente zu den Versuchen eine 6,4 %ige Traubenzuckerlösung, die mit so viel Salz versetzt wurde, wie bei dem Neutralisieren einer 5 %igen Salzsäurelösung entstanden wäre. Das Verhalten dieser Lösung 48 Stunden nach dem Zusatz der Hefe und Einstellen in den Brutschrank war folgendes:

1. 8 % NaCl: Spur Zucker,
2. 10,2 % KCl: kein Zucker,
3. 7,3 %  $\text{NH}_4\text{Cl}$ : minimale Spur Zucker,

4. 100 ccm der 6,4 % Lösung wurden mit 8 ccm Salzsäure von 1,126 D versetzt, mit  $\text{CaCO}_3$  neutralisiert, wieder auf 100 ccm gebracht, entsprechend einem Gehalt an  $\text{CaCl}_2$  von 7,70 %, usw. Die Flüssigkeit gab nach 48 Stunden noch starke Zuckerreaktion. Zur Bestimmung des unvergorenen Anteils wurde aus der ganzen Flüssigkeit (die kleine abgenommene Probe blieb unberücksichtigt) der Kalk mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ausgefällt, filtiert, nachgewaschen, Filtrat und Waschwasser, nachdem durch geringen Salzsäurezusatz genau neutrale Reaktion hergestellt war, wieder auf 100 ccm gebracht, 50 ccm wurden zur Bestimmung nach Fehling verwendet. Es wurden erhalten 0,0856 g  $\text{Cu}_2\text{O} = 0,0432$  g Zucker = 13,42 % des angewendeten. Ein  $\text{CaCl}_2$ -Gehalt von rund 7,7 % verhindert also zwar nicht die Gärung, bewirkt aber, daß sie unvollständig bleibt. Neutralisation mit  $\text{CaCO}_3$  bzw. Schlemmkreide, die am billigsten wäre, kommt also in praxi kaum in Frage.

Dementsprechend fielen nun auch die Versuche mit den nach dem Neutralisieren auf das halbe Volumen eingedampften

Hydrolysaten von ungefähr 6,4 % Zucker aus, nur schien hier der nicht vergorene Rest eher größer zu sein.

Ein sehr auffälliges Ergebnis hatte ein Versuch mit einer stärkeren Zuckerlösung. 25 ccm einer Traubenzuckerlösung von 12,8 % entsprechend einem auf das Vierfache eingedampften Hydrolysat wurde mit 2 g NaCl, also 8 %, zur Gärung angesetzt. Die Gärung stand nach 48 Stunden still, obwohl noch erheblich Zucker vorhanden war: sie kam erst wieder in Gang, als die Gärungsmischung mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt und etwas neue Hefe hinzugesetzt war. Dagegen zeigte eine 12,8 % ige Traubenzuckerlösung mit 4 % NaCl vollständige Vergärung. Während also ein Prozentgehalt von 8 NaCl die Gärung einer 6,4 % igen Traubenzuckerlösung kaum gestört hatte, war dies bei einer doppelt so starken in sehr erheblichem Grade der Fall.

Dem entsprach nun auch ein Versuch mit einem Hydrolysat, bei dem von vornherein darauf ausgegangen wurde, einen höheren Zuckergehalt zu erzielen.

10 g Lichen wurden mit 100 ccm 2,5 % iger Salzsäure (statt wie sonst 200 ccm) 3 Stunden im Autoklaven bei  $1\frac{1}{2}$  Atmosphären erhitzt, verdünnt, koliert, abgepreßt, der kleine Kolierbeutel noch in Wasser ausgeknetet, alles vereinigt, filtriert, gut nachgewaschen und auf 50 ccm eingedampft, von schwärzlichen pulverigen Ausscheidungen durch ein trockenes Filter filtriert. Es war zu erwarten, daß diese Lösung etwa  $12\frac{1}{2}$  % Zucker enthalten würde. Dem entsprach die Bestimmung durchaus. Aus 2 ccm wurden erhalten 0,500 Cu<sub>2</sub>O. Der Zuckergehalt betrug danach 12,6 %. Die mit Natriumkarbonat etwas überneutralisierte, dann spurweise mit Weinsäure angesäuerte Flüssigkeit wurde zur Gärung angesetzt: nach 48 Stunden war noch reichlich Zucker vorhanden. Jetzt wurde mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und noch etwas Hefe hinzugesetzt, wieder in den Brutschrank gebracht. Die Gärung kam aufs neue in Gang, nach 48 Stunden waren nur noch Spuren von Zucker vorhanden. Das Ergebnis war also dasselbe wie bei der entsprechenden Zuckerlösung.

Es schien mir von Interesse, den Einfluß relativ kleiner

Mengen von Chlornatrium auf die Gärung einer noch konzentrierteren Zuckerlösung, nämlich einer solchen von 20%, festzustellen. Anteilen einer solchen wurden durch Verreiben mit Chlornatrium ein Gehalt an diesem von 4% : A, bzw. 6% : B, bzw. 8% : C erteilt, diese Mischungen zur Gärung angesetzt, sowie zur Kontrolle eine NaCl-freie 20%ige Zuckerlösung D.

Nach 48 Stunden enthielten 10 ccm von

A	0,03479 g Zucker = 1,73 %	der ursprünglich vorhandenen	2 g
B	0,0997 " " = 4,97 %	" " " "	2 "
C	1,799 " " = 9,0 %	" " " "	2 "

während die Kontrollprobe D sich als gänzlich zuckerfrei ergab. Mit steigender Quantität des NaCl-Gehaltes ist also, wie zu erwarten war, die Quantität des unvergorenen Zuckers größer; bemerkenswerter als dies ist aber die Tatsache, daß schon ein Gehalt von 4% NaCl bei einer 20%igen Lösung die vollständige Vergärung verhinderte, während er in schwächerer Lösung ohne Einfluß war. Die angeführten Beobachtungen zeigen übereinstimmend, daß das Chlornatrium in um so geringerer Konzentration schon störend wirkt, je höher die Konzentration der Zuckerlösung ist.

Versuche, das Hydrolysat an Zucker anzureichern.

Nach dem eben Ausgeführten ist die Herstellung einer konzentrierteren durch Salzsäureeinwirkung erhaltenen, dann neutralisierten Zuckerlösung, wie sie die Technik erfordert, durch Eindampfen nicht ausführbar, um so weniger, als der störende Einfluß des Salzgehaltes mit zunehmender Zuckerkonzentration zunimmt. Es bestand also die Aufgabe, eine größere Zuckerkonzentration zu erreichen, ohne daß der Gehalt an NaCl nach dem Neutralisieren mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  4% überstieg.

Hierzu verfuhr ich folgendermaßen: 10 g Lichen wurden mit 100 cm 2,5%iger Salzsäure wie gewöhnlich 3 Stunden im Autoklaven bei  $1\frac{1}{2}$  Atmosphären erhitzt, mit Wasser verdünnt, koliert, gut nachgewaschen und abgepreßt. Die gesamte erhaltene Flüssigkeit wurde filtriert, nachgewaschen, auf 100 ccm eingedampft. Mit dieser Lösung wurden nun aufs neue 10 g Lichen erhitzt usw., die erhaltene Lösung auf 100 ccm gebracht. 1 ccm dieser Lösung gab 0,4312 g  $\text{Cu}_2\text{O}$  = 10,87% Zucker. Ein Teil der Lösung wurde mit trockenem  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  neutralisiert und zur Gärung angesetzt. Die Gärung trat schon nach einer halben Stunde ein, nach 48 Stunden war keine Gärung mehr wahrnehmbar, eine kleine Probe der Lösung gab jedoch noch starke Zuckerreaktion. Die Mischung wurde

nun mit etwa dem gleichen Volumen Wasser versetzt und in ein neues Gärungsröhrchen gefüllt; die Gärung kam wieder in Gang, Reduktion jedoch nach 48 Stunden noch vorhanden, bei nochmaliger Umfüllung aus dem ganz mit Gas erfüllten Röhrchen ergab sich wiederum neue Gärung, die erst nach einigen Tagen stillstand. Die vergorene Flüssigkeit erwies sich nun erst als zuckerfrei in dem Sinne, daß sie nicht mehr reduzierte, indessen ist dieser Versuch als nicht ganz rein verlaufen zu bezeichnen, da die Flüssigkeit schwach alkalische Reaktion zeigte, nicht frei war von unangenehmem Geruch und das entwickelte Gas von Natronlauge nicht ganz vollständig absorbiert wurde. Soviel geht aber jedenfalls aus dem Versuch hervor, daß eine aus Lichen hergestellte Zuckerlösung von 10,8%, auch wenn ihr NaCl-Gehalt 4% nicht überschreitet, innerhalb 48 Stunden nicht vollständig vergärt.

Durch Wiederholung der geschilderten Operation gelingt es, zu einer Zuckerlösung von 14,7% bei einem NaCl-Gehalt von 4% zu gelangen, indessen hat diese Anreicherung keinen Zweck, da ja schon die 10,87%ige Lösung nicht vollständig vergärt.

#### Über die Ursache der unvollständigen Vergärbarkeit.

Wie ich in den vorhergehenden Abschnitten ausgeführt habe, ist die Vergärung der Hydrolysate in manchen Fällen unvollständig. Es ist dabei zu unterscheiden, ob die vergorenen Flüssigkeiten nur noch reduzierten oder ob sie noch gärungsfähigen Zucker enthalten. Die letztere Erscheinung wurde nur an salzhaltigen Hydrolysaten und nur bei höherem Zuckergehalt der Lösung beobachtet; es blieb dann auch bei einem Gehalt von nicht mehr wie 4% NaCl die Gärung unvollständig und kam bei Verdünnung wieder in Gang. Für diesen Fall ist nur die Erklärung möglich, daß die Hydrolysate eine gärungshemmende Substanz enthalten, deren Einfluß durch Verdünnung aufgehoben wird. Diese Erklärung wird dadurch gestützt, daß Lösungen von 12,8% Traubenzucker bei einem Gehalt von 4% NaCl vollständig vergären, während das bei den Hydrolysaten von ähnlichem Zuckergehalt und 4% NaCl nicht der Fall ist. Für diese Fälle ist also das Bestehenbleiben reduzierender Eigenschaften, abhängig vom Zuckergehalt, genügend erklärt. Hier handelt es sich nur um die Erklärung der Beobachtung, daß auch in durch Schwefelsäure erhaltenen Hydrolysaten sowie in den durch Salzsäure erhaltenen von geringem NaCl-Gehalt und niedrigem Zuckergehalt

mitunter reduzierende Eigenschaften nach der Vergärung bestehen bleiben. Für diese Fälle kommen nur zwei Erklärungsmöglichkeiten in Betracht:

1. Ein etwaiger Gehalt der Hydrolysate an Pentosen<sup>1)</sup>; auf solche sind die vergorenen Flüssigkeiten wiederholt mittelst der Orcinreaktion untersucht, stets mit negativem Resultat.

2. Die Gegenwart von reduzierendem, aber nicht vergärbarem Dextrin. Über die Frage der Existenz von reduzierendem Dextrin scheinen die Meinungen auseinander zu gehen, nach dem, was Musculus und Mering<sup>2)</sup> in einer lange Zeit zurückliegenden Arbeit hierüber ausgeführt haben, scheinen mir aber Zweifel an der Existenz solcher nicht berechtigt. A priori ist es selbstverständlich, daß bei der Einwirkung von Säuren auf Lichenin Zwischenstufen von Dextrincharakter auftreten, der Beweis hierfür würde aber nur durch die Darstellung aus in der üblichen Weise dargestellten Hydrolysaten erbracht werden können. Der Gegenstand schien mir nicht wichtig genug, um hierfür die erforderlichen großen Mengen von Alkohol zu opfern. Immerhin kann ich zweierlei zur Stütze der Annahme von reduzierendem Dextrin als Ur-

<sup>1)</sup> Während in den abgeregorenen Zuckerlösungen keine Pentose nachweisbar war, fanden sich bei nachträglich angestellten Versuchen kleine Mengen davon beim Destillieren einer Quantität der Zuckerlösung mit Salzsäure, nachweisbar durch Anilinacetat (namentlich wenn man eine Probe des Destillates in einem Reagensglas zum Sieden erhitzte, in das ein mit Anilinacetat getränkter Papierstreifen eingeführt war), die Orcinreaktion und Bildung von Phloroglucid bei Zusatz von in Salzsäure gelöstem Phloroglucin. Die Zersetzung der Pentose bei der Gärung erklärt sich vielleicht durch gleichzeitig stattgefundene Fäulnis, die wiederholt festgestellt wurde. Daß Pentosen im Gemisch mit Traubenzucker der Gärung unterliegen können, wohl stets nur bei begleitender Fäulnis, haben Blumenthal und Bendix nachgewiesen (Zeitschr. f. diät. und physik. Therap. Bd. 3 Heft 7). Die Zersetzung von Pentosen, die faulenden Eiweißmischungen zugesetzt waren ohne Traubenzucker, habe ich nachgewiesen (diese Zeitschr. Bd. 30 S. 484, 1899), mitunter unter erheblicher Alkoholbildung. Aus zwei Versuchen mit je 5 g Arabinose erhielt ich zusammen 3,5 g fast 97%igen (Vol %) Alkohol neben flüchtigen Fettsäuren, während drei andere Versuche keinen Alkohol lieferten.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift Bd. 20 S. 403 (1878).

sache der unvollständigen Vergärung anführen. Aus einer nur eine Stunde mit Säure gekochten Versuchsflüssigkeit — der Versuch verunglückte durch Springen des Kolbens — wurde nach dem Neutralisieren und Einengen durch Zusatz von Alkohol eine relativ geringe Quantität unverändertes Lichenin entfernt, der wässrig-alkoholische Auszug eingedampft, mit Alkohol absolut. gefällt, der Niederschlag in Wasser gelöst und nochmals gefällt, mit Alkohol und Äther entwässert. Es wurde so ein bräunlich-weißes, mit Jodlösung nicht reagierendes Pulver erhalten, das reduzierte, aber nicht vergäerte. Weiterhin wurde durch Erhitzen eines vergorenen, aber noch reduzierenden salzfreien Hydrolysates mit Schwefelsäure, Entfernung dieser durch Baryumkarbonat usw. eine Flüssigkeit erhalten, die starke Gärung zeigte. Es ist demnach anzunehmen, daß die, nicht in allen Fällen wahrgenommene, Unvollständigkeit der Vergärung, soweit sie nicht durch Salzgehalt verursacht war, auf einem Gehalt an reduzierendem Achroodextrin beruht. Es lag nahe, das Dextrin auch durch einen Vergleich der Reduktion mit der Zirkularpolarisation nachzuweisen; der Versuch ist auch gemacht, führte indessen zu keinem entscheidenden Ergebnis, die Einzelheiten können daher übergangen werden.

Ist der durch die Hydrolyse erhaltene zuckerhaltige Sirup genießbar?

Die Auszüge von *Lichen islandicus* schmecken bekanntlich bitter. Der Bitterstoff soll sich — als von Cetrarsäure herührend, die „stark und rein bitter schmeckt“ — durch Behandlung des isländischen Moores mit Alkalien entfernen lassen. Daher benutzte ich zur Untersuchung dieser Frage ein von Gebe in Dresden bezogenes Präparat von entbittertem Lichen. 25 g desselben wurden mit 500 ccm 6%iger Schwefelsäure 3 Stunden im Autoklaven bei  $1\frac{1}{2}$  Atmosphären erhitzt, der erhaltene saure Auszug so, wie es in dem betreffenden Versuch der Anreicherung an Zucker mit Salzsäure beschrieben ist, nochmals mit 25 g Lichen erhitzt, aus dem eingedampften Auszug zuerst die Schwefelsäure durch Strontiumhydroxyd und

-karbonat entfernt, nach 24stündigem Stehen vom Strontiumsulfat abfiltriert, dann mit Blutkohle (Merck) entfärbt, was nur schwer gelang, und wieder eingedampft, zuletzt bei möglichst niedriger Temperatur. Es ergab sich so ein Sirup, der süß, aber nebenher unangenehm schmeckte und eine nicht unbedeutliche Quantität Strontium enthielt, augenscheinlich als Salz der Flechtensäuren, deren Entfernung durch die vorgängige Behandlung des Lichen mit Alkalien also augenscheinlich nicht vollständig gelungen war. Das Strontium wurde durch Natriumkarbonat entfernt, jedoch wurde für den Geschmack hierdurch erklärlicherweise nichts gewonnen.

Um über die Größe des Gehaltes an Flechtensäuren, die an sich kein Hindernis für die Anwendbarkeit bilden würden, da das isländische Moos ja als Medikament benutzt wird, eine Vorstellung zu gewinnen, wurden folgende Versuche angestellt:

1 150 ccm eines Auszuges aus nicht entbittertem Lichen von unbekannter Konzentration wurden eine Viertelstunde lang mit Strontiumkarbonat gekocht, heiß filtriert und nachgewaschen. Das Filtrat mit Schwefelsäure versetzt und einige Zeit auf dem Wasserbad erhitzt, um eine bessere Abscheidung des Strontiumsulfats und gleichzeitig bessere Filtrierbarkeit durch beginnende Hydrolyse des Lichenins herbeizuführen, dann filtriert, schwefelsäurefrei gewaschen, getrocknet, geglüht, gewogen. Erhalten 0,0608 g  $\text{SrSO}_4$ .

In einem Kontrollversuch wurde Strontiumkarbonat mit 150 ccm Wasser ebenso lang gekocht, filtriert, Filtrat (ohne Nachwaschen) mit Schwefelsäure versetzt. Auch nach mehrtägigem Stehen war keine Abscheidung von Strontiumsulfat zu bemerken.

Zur Feststellung der Konzentration des obigen Lichenauszuges wurden Filtrat und Waschwasser vom Strontiumsulfat eingedampft, durch Zusatz von Wasser und 30 ccm verdünnter Schwefelsäure auf das Volumen von 150 ccm gebracht, mehrere Stunden am Rückflußkühler gekocht. Aus 10 ccm wurden mit Fehlingscher Lösung erhalten 0,2002 g  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Das entspricht für die ganze Quantität 1,515 g Zucker.

Als Flechtensäuren werden für Lichen angegeben: Cetrarsäure, Lichenstearinsäure (Lichen-terinsäure) und Protocetrarsäure. Natürlich konnte nur eine von die-en Säuren als Repräsentant gewählt werden, am geeignetsten schien mir die Cetrarsäure. Die Berechnung der Quantität derselben aus dem erhaltenen Strontiumsulfat stößt nun auf die eigentümliche Schwierigkeit, daß für die Cetrarsäure drei verschiedene Formeln angegeben werden, in denen allen sie zweibasisch erscheint. In Beilstein (3. Aufl. I S. 2082) heißt es „Cetrarsäure  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_9$  oder

$C_{30}H_{30}O_{12}$  (Hilger und Buchner Berichte 23, 464), im Ergänzungsband wird S. 1219 als Zusammensetzung angegeben  $C_{26}H_{20}O_{12}$  "(Hesse<sup>1)</sup>).

Ich habe der Berechnung die Formel von Hilger und O. Buchner und von Hesse zu Grunde gelegt. Nach der ersteren berechnen sich aus dem Strontiumsulfat 0,1972 g Cetrarsäure = 11,32 % der Summe von Glukose und Cetrarsäure, nach der zweiten nur 0,1577 g = 9,4 % der genannten Säuren.

Da es denkbar ist, daß sich beim Kochen mit Säuren erst Flechtensäuren aus höher zusammengesetzten Verbindungen abspalten und es doch gerade auf den Gehalt des Hydrolysats an Flechtensäuren ankommt, wurden noch folgende Versuche gemacht:

1. 10 g isländisches Moos wurden wie gewöhnlich mit 200 ccm 6 %iger Schwefelsäure 3 Stunden lang gekocht, nach dem Erkalten genau das Volumen von 200 hergestellt (mit den ungelösten, nicht erheblichen Resten) durch ein trockenes Filter filtriert. 100 ccm wurden heiß mit Strontiumhydratlösung genau neutralisiert, jedoch so, daß die Reaktion auf Lakmus noch schwach sauer war. Das Treffen dieses Punktes wird dadurch sehr erleichtert, daß schon vor Eintritt alkalischer Reaktion die rötlichgelbe Farbe dieser Lösung in Graublau umschlägt. Es wurde filtriert, gut nachgewaschen und etwa auf 50 ccm eingedampft. Leider war eine nochmalige Filtration nötig, da die Lösung sich staubförmig schwärzlich getrübt hatte. Um den Verlust an Strontiumsulfat durch seine Löslichkeit nicht zu sehr zu erhöhen, wurde nur wenig nachgewaschen. Die Lösung nach dem Ansäuern mit Salzsäure heiß mit Schwefelsäure gefällt und zur Verminderung der Löslichkeit des Strontiumsulfats dasselbe Volumen Alkohol hinzugesetzt, am nächsten Tage filtriert und bis zum Verschwinden der HCl-Reaktion nachgewaschen. Erhalten 0,1724 g  $SrSO_4$ . Daraus berechnet sich unter Zugrundelegung der Formel  $C_{30}H_{30}O_{12}$  ein Gehalt des isländischen Mooses an Cetrarsäure = 10,92 % bzw. die Summe von Glukose und Cetrarsäure enthält 14,09 % Cetrarsäure oder, wie der technische Ausdruck lautet, „Nichtzucker“. Natürlich ist damit nicht gesagt, daß außer der Cetrarsäure in dem Gemisch nicht auch noch anderer „Nichtzucker“ enthalten ist. Dabei ist angenommen, daß das isländische Moos in lufttrocknem Zustand rund  $\frac{2}{3}$  seines Gewichts an Glukose liefert. Bei Annahme der Formel von Hesse würden die entsprechenden Zahlen 8,94 und 11,84 % sein.

<sup>1)</sup> Zum Überfluß findet sich noch eine vierte Formel in Partheil-Otto, Organische Chemie S. 572, nämlich  $C_{20}H_{18}O_9$ . — Für die Lichensterinsäure liegen die Verhältnisse auch nicht besser. In Beilstein I S. 625 heißt es: Lichenstearinsäure  $C_{14}H_{24}O_8$  (einbasisch) oder nach Hilger und Buchner (Ber. 23, 462)  $C_{43}H_{76}O_{13}$  (zweibasisch). Im Supplement zu diesem Bande heißt es dagegen: „Lichensterinsäure hat die Zusammensetzung  $C_{19}H_{32}O_4 = C_{18}H_{31}O_2 \cdot CO_2H$ .“

2. 10 g Lichen wurden ebenso behandelt, dann jedoch nach starkem Verdünnen heiß filtriert und so lange nachgewaschen, bis das Waschwasser Kongopapier nicht mehr bläute, Filtrat und Waschwasser auf 200 ccm eingedampft, durch ein trockenes Filter filtriert und 100 ccm zur Bestimmung verwendet, die ebenso verlief, jedoch eine etwas geringere Quantität  $\text{SrSO}_4$  lieferte, nämlich 0,1636 g  $\text{SrSO}_4$ . Daraus berechnet sich für das isländische Moos ein Gehalt von 10,37% bzw. 8,48% nach der Hesseschen Formel, für die Summe an Zucker und Flechtensäure ein Gehalt von 13,15% bzw. 11,22%. Selbstverständlich sind diese Angaben nur als grobe Annäherungen aufzufassen und jedenfalls wegen der Löslichkeit des  $\text{SrSO}_4$  als Minimalwerte; als solche auch aus dem Grunde, weil die Sättigung der sauren Lösungen mit Strontiumhydrat vielleicht keine vollständige war. Es schien mir aber besser, diesen Fehler zu machen, als in den entgegengesetzten zu verfallen, da sich erfahrungsgemäß ein Überschuß von Erdalkalien in so zusammengesetzten Flüssigkeiten durch  $\text{CO}_2$  und Eindampfen nicht mit Sicherheit vollständig entfernen läßt.

Nachträglich erschien es mir wünschenswert, Versuche darüber anzustellen, wie sich mit Schwefelsäure angesäuerte Lösungen von Glukose gegenüber Strontiumhydrat und -karbonat verhalten. Eine Lösung von 5 g Traubenzucker in 200 ccm Wasser wurde mit 20 ccm verdünnter Schwefelsäure versetzt und heiß mit Strontiumhydratlösung genau abgeseättigt, die eingedampfte, ganz schwach getrübbte Lösung filtriert und einmal nachgewaschen. Das neue Filtrat mit Salzsäure angesäuert und heiß mit verdünnter Schwefelsäure versetzt: es blieb vollkommen klar: auch am nächsten Tage war keine Ausscheidung zu bemerken. Derselbe Versuch wurde auch mit Strontiumkarbonat in geringem Überschuß gemacht. Beim Eindampfen des Filtrats schied sich ein wenig Strontiumkarbonat aus. Das Filtrat gab mit Schwefelsäure keine Fällung.

Läßt sich das Lichenin durch Fermente verzuckern?

Die Umständlichkeit der Hydrolyse des Lichenins durch Säuren legt die Frage nahe, ob diese nicht durch Fermente zu bewirken sei.

Zu den Versuchen hierüber dienten einerseits Abkochungen<sup>1)</sup> von isländischem Moos samt den beim Erkalten der Lösungen entstandenen Ausscheidungen, andererseits Präparate, die durch Eingießen von noch warmen Auszügen in Alkohol absolut., Auswaschen damit, Entwässern mit Alkohol und Äther dargestellt waren. Es wurden so weiße, z. T. auch gelblich-weiße

<sup>1)</sup> Versuche mit isländischem Moos in Substanz erschienen mir zwecklos.

Pulver erhalten, die sich träge und abgesehen von wenigen ungelöst bleibenden gequollenen Flöckchen klar in Wasser lösten. Die Lösungen von der gewählten Konzentration = 1% wurden beim Erkalten nicht gelatinös.

1. Versuche mit Pankreasdiastase. 1 g Pankreatin Rhenania wurde mit 100 ccm Wasser in der Reibschale verrieben, filtriert, das Filtrat war ganz klar. Gleiche Volumina des Auszuges und einerseits der 1%igen Licheninlösung, andererseits 1%igen Stärkekleisters wurden gemischt. Während die Mischung mit Stärkekleister schon nach wenigen Minuten starke Trommersche Probe gab, blieb beim Lichenin jede Reaktion aus, ebenso nach 24stündiger Digestion bei 40°. Die Lichen-Auszüge enthalten an sich schon etwas reduzierende Substanz, die Reduktion war nach 24stündiger Digestion mit Pankreasauszug nicht verstärkt. Versuche mit selbst dargestelltem Pankreaspulver hatten dasselbe Resultat.

2. Als pflanzliche Diastase diente ein käufliches Präparat, aller Wahrscheinlichkeit nach aus Malz dargestellt. Da dasselbe stark zuckerhaltig war, konnte es nicht direkt benutzt werden. Zur Reinigung wurde eine 10%ige filtrierte Lösung in das mehrfache Volumen Alkohol absolut. gegossen. Aus der anfangs gleichmäßig getrübbten Flüssigkeit schied sich allmählich nach Zusatz einer Spur von gelöstem Natriumacetat ein klebriger Niederschlag am Boden des Glases aus, der sich nach dem Abspülen mit Alkohol glatt und ganz klar in Wasser löste, jedoch noch nicht zuckerfrei war. Durch Wiederholung der Operation gelang es, zu einem Präparat zu gelangen, dessen Lösung in der beim Versuch angewendeten Konzentration alkalische Kupferlösung nicht mehr reduzierte<sup>1)</sup>. Gleiche Volumina dieser Lösung wurden mit 1%igem Stärkekleister einerseits, 1%iger Licheninlösung andererseits gemischt. Während die erstere Mischung schon nach wenigen Minuten starke Trommersche Probe gab, verlief die Reaktion in der Licheninlösung negativ und blieb auch fast ganz negativ nach 24stündigem Verweilen im Brutschrank.

<sup>1)</sup> Nach längerem Stehen zeigte sich eine Spur von rotem  $\text{Cu}_2\text{O}$  am Boden des Reagensglases.

3. Die Versuche mit Speichel ergaben gleichfalls keine Zuckerbildung mit Lichenin.

Diese negativen Ergebnisse stehen augenscheinlich in einem auffallenden Widerspruch mit dem Verhalten des Lichenins im Tierkörper. Es kann ja doch nicht zweifelhaft sein, daß dasselbe im isländischen Moos oder Renttiermoos, von den Renttieren verzehrt, mindestens zum großen Teil verwertet wird. Es müssen also noch andere Vorgänge bei der Aufschließung der Flechten und Überführung des Lichenins in Glukose tätig sein, vielleicht solche bakterieller Natur.

## 2. *Cladonia rangiferina*.

Das Renttiermoos war nicht so frei von anderen Pflanzenteilen wie das isländische Moos. Die zur Analyse dienende Probe wurde möglichst rein ausgesucht, es erwies sich jedoch als untunlich, das ganze zu den Versuchen benutzte Material in genau gleicher Weise von beigemischten Pflanzenteilen zu befreien. Dadurch ergaben sich natürlich kleine Differenzen in den Versuchsergebnissen.

Als Zusammensetzung ergab sich für 100 Teile (lufttrocken):

Lichenin . . . . .	54,63
Fett (Ätherextrakt) . . . . .	2,59
Eiweiß . . . . .	4,10
Sonstige organische Substanz . . . . .	26,96
Wasser . . . . .	10,59
Asche . . . . .	1,13

Dazu sei folgendes bemerkt:

1. Die Bestimmung des Lichenins geschah wie beim isländischen Moos durch Kochen mit Salzsäure von derselben Konzentration am Rückflußkühler. Es erwies sich jedoch wegen der voluminösen und sparrigen Beschaffenheit der Renttierflechte untunlich, mit 100 ccm Salzsäure auf 5 g Flechte auszukommen; vielmehr war es nötig, 200 ccm Salzsäure von 2,5 % HCl anzuwenden. Im übrigen wurde ebenso verfahren wie bei Lichen. 10 ccm des auf 100 ccm eingedampften Auszuges ergaben 0,6021 g  $\text{Cu}_2\text{O}$  = 60,70 % Glukose = 54,63 % Lichenin.

2. Ätherextrakt durch 10stündiges Ausziehen von 2,50 g am Soxhlet erhalten. Beim Stehen des Ätherauszuges scheiden sich schwefel-

gelbe Nadeln, augenscheinlich Usninsäure oder eine nahestehende Flechtensäure, aus, der Verdampfungsrückstand des Ätherauszuges bestand jedenfalls nur zum kleinsten Teil aus Fetten und löste sich größtenteils in Natriumkarbonatlösung. Die Lösung war anfangs grünlich, wurde allmählich bräunlich.

3. Zur N.bestimmung nach Kjeldahl dienten 1,375 g. Diese erforderten 6,45 ccm  $n_{10}$  Säure.

4. Wasser und Asche. 1,5046 g verloren bei  $115^{\circ}$  0,1594 g  $H_2O$  und hinterließen 0,0170 g Asche.

5. Sonstige organische Substanz durch Differenz bestimmt.

Bezüglich der Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure ergab sich dasselbe wie bei Lichen, es war 6% iger Schwefelsäure erforderlich (d. h. eine Säuremischung, die in 1 l 60 g  $H_2SO_4$  enthielt), 5 g mit 200 ccm dieser Säure am Rückflußkühler erhitzt usw. 10 ccm der auf 100 ccm eingedampften Lösung gaben 0,6360 g  $Cu_2O = 64,13\%$  Glukose = 57,72% Lichenin, also noch etwas mehr als bei Anwendung von Salzsäure.

Da das Erhitzen am Rückflußkühler des Schäumens wegen sehr unangenehm ist, außerdem in der Technik nicht anwendbar, wurde auch hier Erhitzen im Autoklaven angewendet.

20 g Cladonia wurden mit 400 ccm 6% iger Schwefelsäure 3 Stunden bei 1 Atmosphäre erhitzt, sodann samt der ungelösten Substanz auf 900 ccm gebracht, filtriert. die Reduktion in 10 ccm bestimmt. Diese lieferten 0,2370 g  $Cu_2O = 53,80\%$  Traubenzucker, also merklich weniger, als beim Erhitzen am Rückflußkühler. Der gut ausgewaschene Rückstand wurde noch einmal am Rückflußkühler mit 400 ccm 6% iger Schwefelsäure erhitzt, auf 550 ccm aufgefüllt, filtriert. 25 ccm des Filtrats gaben 0,026 g  $Cu_2O$ ; daraus berechnen sich 6,34% Traubenzucker, also im ganzen 60,14% der Cladonia Zucker = 54,13% Lichenin, fast genau übereinstimmend mit dem bei der Hydrolyse mit Salzsäure erhaltenen Wert. Nebenher geht aus dem Versuch hervor, daß 3stündiges Erhitzen bei 1 Atmosphäre nicht ausreicht, um alles Lichenin in reduzierende Substanz überzuführen.

Ich habe es nun nicht für nötig gehalten, alle Gärungs-

versuche, die Anreicherungsversuche, die Dextrinfrage, die Beschaffenheit des Lichenins selbst, ebenso wie beim isländischen Moos zu untersuchen, mein Hauptaugenmerk vielmehr auf die Frage gerichtet, ob es nicht gelingen möchte, aus der Rentierflechte einen für Genußzwecke geeigneten Zuckersirup zu erhalten. Dabei kam natürlich nur die Anwendung der Schwefelsäure in Frage, und jedenfalls war eine Reinigung des Materials vor der Hydrolyse erforderlich. Diese Reinigung wurde zuerst durch Erhitzen mit Wasser unter Druck versucht. Dabei mußte der Verlust festgestellt werden.

10 g Substanz wurden mit 400 ccm Wasser 3 Stunden bei 2 Atmosphären erhitzt, durch Leinwand koliert, mit der Hand abgepreßt, der zusammengefaltete Beutel im Wasser durchgeknetet, alles vereinigt und eingedampft. Dabei trat Schwärzung und Trübung ein, es wurde daher filtriert. Die Filtration ging anfangs gut, stockte aber schließlich vollständig. Der Rest wurde mitsamt dem Filter mit Wasser gekocht, aufs neue filtriert und mit der Hauptmenge auf 200 ccm eingedampft. Diese Lösung schmeckte zusammenziehend, enthielt etwas Zucker, Ferroammon-sulfat gab leichte schwärzliche Färbung.

100 ccm wurden mit 10 ccm Salzsäure 3 Stunden am Rückflußkühler gekocht, das Volumen von 100 durch Verdampfen hergestellt. 10 ccm gaben 0,1568  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Daraus berechnen sich für die 200 ccm 1,58 g Traubenzucker. Da aus 10 g rund 6 g Zucker zu erwarten sind, so beträgt der Verlust bei der „Reinigung“ 26,3%. Dabei ist allerdings der bei dem Verfahren unvermeidliche mechanische Verlust nicht berücksichtigt.

Ein zweiter unter möglichster Vermeidung von Verlusten angestellter Versuch hatte ein ganz ähnliches Resultat. Der ebenso aus 10 g *Cladonia* erhaltene wässrige Auszug wurde auf 100 ccm gebracht, nach Zusatz von 10 ccm Salzsäure 3 Stunden am Rückflußkühler gekocht, das Volumen von 110 ccm hergestellt. 20 ccm gaben 0,4768 g  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Daraus berechnen sich für die ganze Quantität 1,322 g Glukose. Da aus 10 g rund 6 g Glukose zu erwarten waren, so sind 22% verloren gegangen.

Geringer war der Verlust bei der Reinigung durch Alkali.

10 g wurden mit 400 ccm einer 1%igen Natriumkarbonatlösung (auf trockenes Natriumkarbonat bezogen) kurze Zeit gekocht, durch Leinwand koliert, der Leinenbeutel in Wasser durchgeknetet usw., filtriert, Filtrat und Waschwasser unter 200 eingekocht, dann 18 ccm Salzsäure hinzugesetzt, auf 200 ccm gebracht, 3 Stunden am Rückflußkühler gekocht, mit einem bräun-

lichen Sediment, das sich abgeschieden hatte, auf 250 ccm aufgefüllt. 25 ccm gaben 0,0926 g  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Dies ergibt für die ganze Quantität 0,467 % Zucker. Der Verlust an Zucker beträgt danach nur 7,78 %.

Der nach dem Auskochen mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung gebliebene Rückstand wurde mit Wasser gewaschen, schließlich abkoliert, ausgepreßt und 3 Stunden im Autoklaven mit 6% iger Schwefelsäure bei 1 Atmosphäre erhitzt, aus dem erhaltenen Auszug mit  $\text{Sr}(\text{OH})_2$  und  $\text{SrCO}_3$  die Schwefelsäure entfernt, von  $\text{SrSO}_4$  abfiltriert, eingedampft mit Kohle behandelt, abfiltriert, eingedampft. Es resultierte ein Sirup, der süß schmeckte, jedoch nicht frei war von einem unangenehmen Nachgeschmack. Ebenso wie beim isländischen Moos enthielt auch dieser Sirup eine nicht unerhebliche Quantität Strontium, die Entfernung desselben durch Natriumkarbonat führte, wie bei Lichen, nicht zum Ziel, immerhin schien mir der Beigeschmack geringer als bei dem Sirup aus Lichen, und es wäre vielleicht möglich, ihn durch Korrigentien zu verdecken. Ob es möglich ist, die Flechtensäuren und damit wohl die Bitterstoffe vor der Hydrolyse vollständig zu entfernen, muß ich dahingestellt sein lassen.

Nachschrift. — Wie ich in der Einleitung zu meiner Arbeit erwähnt habe, ist die Herstellung von Alkohol aus Flechten in dem Handbuch der Spiritusfabrikation von Maercker und Delbrück bereits erwähnt. Die betreffende Stelle findet sich auf Seite 428 der 8. Auflage und lautet<sup>1)</sup>:

„Aus dem Renntiermoos (*Cladonia rangiferina*) und dem isländischen Moos wird in nördlichen Gegenden Spiritus gewonnen. Beide Flechten enthalten Flechtenstärke (Lichenin) und eine eigentümliche Form der Cellulose, welche durch verdünnte Säuren leicht in eine vollkommen gärungsfähige Zuckerart übergeführt werden kann. Nach Untersuchungen von Stenberg kann man auf diese Weise 65–70 % gärungsfähiges Material gewinnen. Zur Invertierung dürfen nur mäßige Säuremengen verwendet werden, weil sich sonst der schon gebildete Zucker zersetzt. Über 2,5 %<sup>2)</sup>“

<sup>1)</sup> Ich führe die Stelle wörtlich an, weil ich an eine Angabe in derselben anknüpfen möchte.

<sup>2)</sup> Es könnte auffallend erscheinen, daß ich auch gerade Salzsäure von ungefähr 2,5 %  $\text{HCl}$  angewendet habe. Das erklärt sich daraus

darf die Konzentration der Salzsäure keinesfalls sein. Die Neutralisierung vor dem Anstellen zur Gärung nimmt man gewöhnlich nicht mit Schlemmkreide, sondern mit Soda vor, um die Schlempe für die Fütterung brauchbar zu erhalten. Zur Gärung verdünnt man auf 5–6° Sacch.)<sup>4</sup>

Über die Existenz dieser von Stenberg angenommenen, leicht hydrolysierbaren Cellulose, welche also nach dem von E. Schultze eingeführten — übrigens meiner Meinung nach anfechtbaren — Begriff zu den Hemicellulosen zu rechnen wäre, habe ich einige Versuche angestellt, die darauf ausgingen, isländisches Moos soweit als möglich von Lichenin zu befreien, dann den Rückstand der Säurewirkung zu unterwerfen.

50g Lichen wurden mit 1 Liter Wasser 3 Stunden bei 2 Atmosphären erhitzt, kolliert, nachgewaschen, der Kolierbeutel gründlich in Wasser durchgeknetet, der Rückstand nochmals ebenso im Autoklaven erhitzt, filtriert. Das Filtrat — eine Probe — gab nach dem Kochen mit  $\frac{1}{2}$  Volumen Salzsäure 1 Minute lang positive Trommersche Probe. Der gut ausgewaschene Rückstand wurde daher ebenso zum 3. Male erhitzt, der Inhalt des Porzellaneinsatzes des Drucktopfes dann auf 1100 ccm gebracht, durch Papier filtriert. Die Filtration erfolgte fast vollständig, auf dem Filter blieb keine gelatinöse Masse. 1000 ccm des Filtrats wurden eingedampft, mit Wasser und 10 ccm Salzsäure auf 110 ccm gebracht, 3 Stunden am Rückflußkühler gekocht und nach Neutralisierung vollständig zur Zuckerbestimmung verwendet. Es wurden erhalten 0,0962 g  $\text{Cu}_2\text{O} = 0,0481$  g Zucker. Der ganze 3. Auszug enthielt also  $0,0481 \times 11 = 0,5291$  g Zucker.

Der jetzt gebliebene Rückstand wurde nun in einer größeren Quantität Wasser aufgeschwemmt, nach längerem Rühren abkolliert, abgedrückt und mit 400 ccm 6% iger Schwefelsäure 3 Stunden im Autoklaven bei  $1\frac{1}{2}$  Atmosphären erhitzt, filtriert. 5 ccm gaben 0,1674 g  $\text{Cu}_2\text{O}$ , daraus berechnet sich der aus dem völlig erschöpften Rückstand durch Säure erhaltene Zucker zu 6,752 g, 100 g Lichenin liefern also 13,504 g Zucker nicht aus dem Lichenin, sondern aus Cellulose oder, daß diese Konzentration zur Hydrolyse von Amylum in der Nahrungsmittelchemie üblich ist und ich sie auch in einer früheren Arbeit in der Biochem. Zeitschrift Bd. 19 S. 42 benutzt habe.

mit anderen Worten, etwa  $\frac{4}{5}$  des durch Hydrolyse erhaltenen Zuckers stammen aus den Lichenin,  $\frac{1}{5}$  aus Cellulose.

2. 20 g isländisches Moos wurden ebenso wie in dem vorigen Versuch dreimal mit Wasser erhitzt. Das Volumen der 3. Abkochung betrug mit Spülwasser 1160 ccm. Das Ganze wurde durch ein trockenes Filter filtriert, die Hälfte des Filtrates = 580 ccm eingedampft, mit Wasser und 10 ccm Salzsäure auf 100 ccm aufgefüllt. Aus der verarbeiteten Quantität erhalten 0,2450 g  $\text{Cu}_2\text{O}$  = 0,250 g Zucker für die ganze 3. Abkochung.

Der bei der 3. Abkochung erhaltene Rückstand ebenso, wie im vorigen Versuch behandelt, möglichst vollständig in einen Kolben gebracht, mit 20 ccm Salzsäure, 180 ccm Wasser 3 Stunden am Rückflußkühler erhitzt, stark verdünnt, filtriert und so lange mit heißem Wasser nachgewaschen, bis die Reaktion mit Kongopapier negativ ausfiel (dies ist überhaupt fast stets geprüft, wo es sich um Auswaschen säurehaltiger Lösungen handelte), durch Eindampfen auf 200 ccm gebracht, nochmals durch ein trockenes Filter filtriert. 10 ccm gaben 0,2942 g  $\text{Cu}_2\text{O}$  = 2,966 g Zucker für die ganze Quantität. Der Zucker war völlig vergärbbar, Dextrin nicht nachweisbar. 100 g Lichen würden danach bei der Hydrolyse 14,83 g nicht aus dem Lichenin, sondern aus der Cellulose stammenden Zucker liefern. In analytischer Beziehung folgt daraus, daß der Ausdruck Lichenin in den Analysen nicht eigentlich Lichenin bedeutet, sondern Gesamtsumme des aus diesem und der Cellulose durch Hydrolyse erhaltenen Zuckers auf Lichenin umgerechnet. Zweifelhaft erschien mir aber, ob das Verhalten der Flechtencellulose in der Tat so wesentlich von der gewöhnlichen Cellulose abweicht, daß man genötigt ist, eine besondere Art Flechtencellulose anzunehmen. Hierüber wurden folgende Versuche gemacht:

1. 20 g Filtrierpapierschnitzel (Schleicher und Schüll Nr. 597) wurden mit 400 ccm 6 % iger Schwefelsäure 3 Stunden im Drucktopf bei 2 Atmosphären erhitzt. Das Volumen betrug nach der Erhitzung einschließlich des restierenden Filtrierpapiers und etwas zum Nachspülen gebrauchten Wassers 400 ccm. Es wurde durch ein trockenes Filter filtriert. 20 ccm lieferten

0,2160 g  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Daraus berechnet sich die aus 20 g Filtrierpapier gelieferte Glukose auf 2,178 g = 10,89 %.

2. 20. ebenso mit 36 ccm Salzsäure von 1,126 g D und 364 ccm Wasser (ungefähr 2,5% HCl) 3 Stunden bei  $1\frac{1}{2}$  Atmosphären erhitzt. Volumen = 400 ccm. 20 ccm lieferten 0,2726 g  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Die entstandene Glukose beträgt 2,746 g = 13,73 %.

Zu einem genauen quantitativen Vergleich fehlt nun allerdings die Unterlage, nämlich die Kenntnis der Quantität der Cellulose in 20 g Lichen; es ist aber auch ohne das klar, daß die nach erschöpfender Behandlung des isländischen Mooses zurückgebliebene Cellulose nicht soviel Zucker geliefert haben könnte, wenn es sich um gewöhnliche Cellulose handeln würde, da die 20 g Cellulose nur ungefähr ebensoviel Zucker geliefert haben, wie der aus 20 g isländischem Moos nach erschöpfender Behandlung mit Wasser gebliebene Rest.

Um diese Schlußfolgerung noch weiter zu stützen, wurden 3,00 g isländisches Moos nach dem Maerckerschen Verfahren der Amylumbestimmung behandelt. Sie lieferten 1,658 g Glukose. 100 Teile Lichen haben danach 55,27 Teile Glukose geliefert = 49,74 Teile Lichenin. Nach der im Eingang der Arbeit mitgeteilten Analyse liefern 100 g Lichen bei der Säurehydrolyse 66,06 g Glukose = 59,45 g Lichenin. Zieht man die Summe aller sonst ermittelten Bestandteile und das nach obiger Rechnung erhaltene Lichenin (nach Maercker) sowie rund 11 g Flechtensäure von 100 ab, so bleiben noch rund 18 g, die man als der Kohlehydratgruppe zugehörig betrachten kann. Diese haben, wie die Säurehydrolyse zeigt, ca. 10,79 g oder rund 60 % Glukose geliefert, während in den Versuchen mit Filtrierpapier 100 g Cellulose im Mittel nur 31 % Glukose geliefert haben. Auch diese Berechnung zeigt, daß das isländische Moos in der Tat eine besondere, durch leichte Hydrolysierbarkeit ausgezeichnete Cellulose enthält. Dabei ist die angestellte Überschlagsrechnung noch insofern ungünstig, als ein Teil der Cellulose wahrscheinlich schon durch die Erhitzung mit der verdünnten Milchsäure bei 3 Atmosphären hydrolysiert ist, andererseits ja auch höchst wahrscheinlich neben der leicht hydrolysierbaren Cellulose eine andere vor-

handen ist, welche durch 2,5 % Salzsäure nicht angegriffen wird, während bei der obigen Berechnung darauf nicht Rücksicht genommen ist.

### Zusammenfassung.

1. Durch Hydrolyse von Lichen islandicus und Cladonia rangiferina mit 2,5 % iger Salzsäure oder 6 % iger Schwefelsäure erhält man rund 66 % bzw. 60 % der lufttrockenen Substanz an Glukose.

2. Der Zucker ist vollständig vergärbar, nur mitunter bleibt ein kleiner, als Dextrin anzusehender Rest unvergoren.

3. Chlornatrium stört die Gärung von Traubenzucker, natürlich um so mehr, je höher der Gehalt daran ist; es kommt aber auch der Gehalt der Lösung an Traubenzucker in Betracht. Während eine Lösung von etwa 12 % bei einem Chlornatriumgehalt von 4 % vollständig, von 8 % NaCl fast vollständig vergärt, vergären von einer Lösung von 20 % und 4 % Chlornatrium nur etwa  $\frac{9}{10}$  des Zuckers. Dieselbe Lösung ohne Chlornatrium zeigt vollständige Vergärung. Noch mehr stört eine äquivalente Quantität von Chlorecalcium.

4. Die Hydrolysate der Flechten enthalten außer gärungsfähigem Zucker eine die Gärung störende Substanz; vielleicht kommt diese Eigenschaft den Flechtensäuren zu.

5. Die Flechten enthalten, wie bereits von Stenberg angegeben ist, eine leicht hydrolysierbare Cellulose, nach E. Schultzes Namengebung Hemicellulose.

6. Das Lichenin wird durch diastatische Fermente (Pankreas, pflanzliche Diastase, Speichel) nicht verzuckert.

7. Der Gehalt des isländischen Moores an in die Hydrolysate übergehenden Flechtensäuren, ausgedrückt als Cetrarsäure, berechnet sich, auf indirektem Wege bestimmt, unter Zugrundelegung der Formel  $C_{30}H_{30}O_{12}$  für diese im Minimum zu 10,92 % der lufttrockenen Substanz.