

## Zur Kenntnis der Kohlehydrate von *Lichen islandicus*.

Von  
**E. Salkowski.**

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)  
(Der Redaktion zugegangen am 14. April 1920.)

Über die Kohlehydrate der Flechten, speziell des sog. isländischen Mooses (*Cetraria islandica* sive *Lichen islandicus*) herrscht, wie ich<sup>1)</sup> gelegentlich meiner Arbeit über die quantitativen Verhältnisse der Zuckerbildung aus denselben feststellen konnte, keine Einigkeit; das kann bei der amorphen Beschaffenheit derselben nicht gerade wundernehmen; sehr auffällig ist aber, daß von manchen Autoren behauptet wird, daß die Kohlehydrate Jodreaktion geben, von anderen bestritten. Man sollte meinen, daß eine so einfache Frage sich doch leicht entscheiden lassen müßte. Da das aber anscheinend nicht der Fall ist, kann man daraus wohl schließen, daß bezüglich der Jodreaktion ungewöhnliche Komplikationen bestehen müssen. Diese Sachlage hat mich zu einigen Versuchen hierüber veranlaßt.

Ehe ich über meine Ergebnisse berichte, möchte ich zwei Belege für die Verschiedenheit der Ansichten mitteilen.

In dem von Tollens verfaßten Artikel „Lichenin“ in Ladenburgs Handwörterbuch der Chemie Bd. 6, S. 123—124 heißt es wörtlich:

„Das sog. isländische Moos, jene medizinisch gebrauchte Flechte, welche mit Wasser gekocht gallertig gestehende Flüssigkeiten liefert, gibt beim Extrahieren mit konzentrierter Salzsäure und schleunigem Fällen des Extrakts mit Alkohol farbloses oder schwach gelbliches Lichenin  $C_6H_{10}O_5$  als spröde, in kaltem Wasser quellende, in kochendem sich lösende Masse, letztere Lösung gelatiniert beim Erkalten.

Oder man kocht isländisches Moos, welches vorher durch Digerieren mit alkalischen Flüssigkeiten, Kalk oder Chlorkalk von Bitterstoffen be-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 104, S. 105 (1919).

freit ist, mehrfach mit Wasser aus, worauf sich unreines Lichenin aus den Extrakten absetzt, welches durch Kochen mit Wasser und Fällen mit Alkohol gereinigt wird. In den Auszügen soll Isolichenin gelöst bleiben. Nach Hönig und Schubert ist neben Lichenin Stärke in amorpher Form vorhanden, welche man als Lichenin- oder Flechtenstärke bezeichnen soll; Jod bringt in dem Rohprodukt Bläuung hervor, besonders bläut es die abgeschiedene mit Wasser gewaschene Gallerte, aber sehr viel weniger als Stärke, und es ist Licheninstärke hiervon die Ursache.“

Nach dieser Beschreibung, die sich nicht durch Klarheit auszeichnet, möchte man annehmen, daß vorwiegend die Gallerte Jodreaktion gibt, was mit der Angabe, daß Licheninstärke in den Lösungen bleibt, offenbar in Widerspruch steht.

Eigene Untersuchungen hat Tollens<sup>1)</sup> in Gemeinschaft mit Ulander über die Kohlehydrate vieler Flechten, u. a. auch *Lichen islandicus*, angestellt. Er sagt darüber l. c.:

„Das aus den mit Kaliumcarbonat gereinigten Flechten durch Auskochen mit Wasser, Fällen mit Alkohol usw. gewonnene Lichenin zeigte nach mehrmaligem Auflösen in heißem Wasser und Wiederfällen mit Alkohol keine blaue oder grünliche Färbung mit Jod.“

Ebenso ist der Wortlaut in dem Handbuch über Kohlehydrate<sup>2)</sup>.

Präziser sind die Angaben in Beilstein, 3. Aufl., S. 1098 u. 1099, die ich der Raumersparnis halber nur insoweit wiedergebe, als sie die vorliegende Frage betreffen. Es heißt daselbst im wesentlichen nach den Angaben der oben angeführten Autoren und einer Dissertation von Errera aus dem Jahr 1882, die mir nicht im Original zugänglich war:

1. Lichenin  $C_6H_{10}O_5$ . — Neben wenig Licheninstärke (Flechtenstärke, eine in Wasser lösliche Stärke) in den Flechtenarten, besonders in *Cetraria islandica* . . . Die heiße Lösung<sup>3)</sup> wird koliert und das<sup>4)</sup> ausgeschiedene Lichenin durch wiederholtes Lösen in heißem Wasser und Ausfrieren der filtrierten Lösung gereinigt. Quillt in kaltem Wasser, löst sich vollständig in heißem. Wird nicht gebläut durch Jod.

2. Isolichenin. Aus dem wäßrigen Auszug scheidet sich Lichenin aus. Nach 24 Stunden wird filtriert, das Filtrat durch Abdampfen konzentriert, mit Alkohol gefällt. Löslich in Wasser, wird durch Jod gebläut.

Dabei ist meiner Meinung nach nicht abzusehen, wie bei diesem Verfahren die lösliche Flechtenstärke von Hönig und Schubert ausgeschlossen ist, wenn man nicht, was das wahrscheinlichste ist, annimmt, daß die Ausdrücke „Flechtenstärke“ und „Isolichenin“ Synonyma sind.

<sup>1)</sup> Berichte d. deutsch. Chemischen Gesellschaft Bd. 39, S. 404.

<sup>2)</sup> 3. Aufl. 1914 S. 539 und 540.

<sup>3)</sup> Nämlich die Abkochung der Flechte. E. S.

<sup>4)</sup> Augenscheinlich nach dem Erkalten. E. S.

Meine eigenen Beobachtungen haben nun folgendes ergeben:

Dampft man eine heiß filtrierte Abkochung von *Lichen islandicus* auf dem Wasserbad ein, so scheiden sich bald an der Oberfläche Häute aus, die bei vorsichtigem Abgießen des flüssigen Anteils in der Schale haften bleiben. Bringt man nun in die Schale nach dem Erkalten Jodlösung von der üblichen Zusammensetzung (10 g Jod, 20 g Jodkalium im Liter) und verteilt sie durch Umschwenken, so färben sich die Häute mehr oder weniger schön blau, manchmal ganz ebenso schön, wie gleich behandelter Stärkekleister. Läßt man die Schale stehen, so findet man am nächsten Tage die Färbung ganz verschwunden oder bis auf Reste, wenn zufällig kompaktere Klumpen vorhanden waren. Beim Übergießen mit Wasser stellt sich die Färbung nicht wieder her. Die Jodstärke verhält sich ganz anders. Sie trocknet unter denselben Verhältnissen zu einem schwärzlichen oder braunroten Überzug, oft mit Metallglanz, ein, der auf Zusatz von Wasser sofort wieder eine tiefblaue Färbung annimmt. Hier besteht also ein wesentlicher Unterschied: augenscheinlich ist das Jod in der Jodstärke weit fester gebunden, als in der in Rede stehenden Jodverbindung.

Es wurden nun zunächst 2 Lichenpräparate dargestellt.

1. Verreiben von Lichen mit rauchender Salzsäure zu einem Brei, Verdünnen mit Wasser nach kurzem Stehen, Filtrieren in Alkohol hinein, Auswaschen damit, Entwässern durch Alkohol und Äther, Trockenreiben. Weißes Pulver, das sich in heißem Wasser in einer Konzentration von 1 : 100 mit leichter Trübung löst.

2. Auskochen von Lichen, heiß Filtrieren, Füllen mit Alkohol, Behandeln mit Alkohol absol. und Äther usw. Weißes Pulver mit einem leichten Stich ins Gelbliche. Lösung in heißem Wasser 1 : 100 nicht ganz vollständig. Die Lösung mußte filtriert werden, die Konzentration ist also etwas geringer als 1 %ig. Beide Präparate färben sich in trockenem Zustand beim Übergießen mit Jodlösung blauschwarz, ebenso wie *Amylum*.

Tollens scheint diesen Versuch nicht angestellt zu haben, sonst würde er ihn wohl erwähnt haben<sup>1)</sup>.

An der Lösung der beiden Präparate wurde das Verhalten zu Jodlösung untersucht, und zwar einerseits zu solcher von der üblichen Znsammensetzung (10 g Jod, 20 g Jodkalium auf 1 Liter), andererseits zu 20fach verdünnter. Beide wurden tropfenweise zugesetzt.

Das erste Präparat zeigte bei Zusatz von einem Tropfen der starken Jodlösung eine schwache rötlich-blaue Färbung — augenscheinlich infolge von Dextrinbildung durch die rauchende Salzsäure, die bei weiterem Zusatz verschwand<sup>2)</sup>; mit der schwachen Jodlösung eine schwache lichtblaue Färbung, die beim Erwärmen verschwand. Beim Erkalten stellte sich eine leichte grünliche Färbung her.

Das zweite Präparat gab mit der stärkeren Jodlösung intensive Blaufärbung, beim Erwärmen verschwindend, beim Erkalten sich wiederherstellend. Ebenso verhält sich die schwächere Jodlösung bei genügendem Zusatz.

Zur Kontrolle wurden dieselben Versuche mit einer 1%igen Lösung von löslicher Stärke angestellt. Die Erscheinungen waren dieselben, die Färbungen jedoch unvergleichlich stärker. Eine Lösung von 1 ‰ löslichem Amylum gab noch eine stärkere Reaktion wie eine 1%ige des in Rede stehenden Präparates.

Es ist nicht recht verständlich, warum Tollens an seinem Präparat die Blaufärbung mit Jod nicht beobachtet hat, da es doch ebenso dargestellt war, wie das meinige, abgesehen von der vorhergehenden Behandlung des Lichen mit 2%iger Kaliumcarbonatlösung, die ich absichtlich unterlassen habe, um nicht möglicherweise leicht lösliche Kohlehydrate zu verlieren. Es ist möglich, daß Tollens mit dem Zusatz von Jodlösung nicht vorsichtig genug gewesen ist, indessen doch wenig wahrscheinlich, da Errera ja die Reaktion erhalten hat und nicht anzunehmen ist, daß dieser bei Anstellung der Jodreaktion be-

<sup>1)</sup> Über die Bedeutung dieser Erscheinung siehe weiter unten.

<sup>2)</sup> Eine 5%ige Lösung, die kalt etwas gelatinös war, wurde bei Zusatz der  $\frac{1}{20}$  Jodlösung rot; das Darstellungsverfahren ist also zu verwerfen.

sondere Vorsicht hat walten lassen. Man muß wohl noch an eine andere Erklärung denken. Kylin<sup>1)</sup> hat durch seine Untersuchungen an Algen, speziell *Laminaria digitata* festgestellt, daß das in ihnen vorhandene Kohlehydrat Laminarin einen Reservestoff für den Winter darstellt, in den das Wachstum dieser Algen fällt. Kylin fand im Herbst 21,4—35% Laminarin, dagegen Ende März nur 0,4—2,0%. Es ist denkbar — ob Untersuchungen darüber vorliegen, ist mir nicht bekannt —, daß das gleiche auch für Lichen gilt und das Material von Tollens zufällig aus einer ungünstigen Periode stammte.

Es fragte sich nun, ob sich die von Errera und andern gemachte Angabe bestätigen läßt, daß die Jodreaktion nur dem sog. Isolichenin, nicht dem Lichenin zukommt. Zur Untersuchung dieser Frage wurde eine heiß filtrierte und sterilisierte Abkochung von Lichen wochenlang stehengelassen, der Brei mit der Schüttelmaschine zerschüttelt, dann unter weiterem Wasserzusatz aufs Filter gebracht und lange Zeit gewaschen, bis man annehmen konnte, daß dem unlöslichen Anteil nichts mehr vom löslichen anhaftete, dann in Alkohol gebracht usw. „A“, das Filtrat ohne das Waschwasser, wurde eingedampft und in Alkohol gegossen usw. B und A wurde dann noch einmal in heißem Wasser gelöst, das Verfahren wiederholt. In trockenem Zustand stellt B ein lichtbräunliches Pulver dar, das sich beim Kochen mit 100 Teilen Wasser nur teilweise löst. A löste sich vollkommen klar; die Lösung blieb beim Stehen bis zum nächsten Tag vollkommen flüssig, war jedoch ziemlich stark gelb gefärbt. Die Lösung gab mit der gewöhnlich gebrauchten Jodlösung nur eine undeutliche Reaktion, mit der schwachen dagegen schöne Blaufärbung. Die Ursache der mangelhaften Reaktion mit Jodlösung ist die Eigenfärbung derselben. Setzt man zu der schön ausgefallenen Reaktion aufs neue starke Jodlösung, so wird sie undeutlich. Denselben Effekt hat ein Zusatz von Karamel (Lösung aus sog. „Zuckercouleur“) oder

<sup>1)</sup> Kylin, Diese Zeitschr. Bd. 94, S. 397.

Eisenchlorid. Dasselbe gilt übrigens auch für sehr schwache Amylumlösungen, z. B. in der Konzentration 1:10000. Es empfiehlt sich daher, die Reaktion auf Amylum und Glykogen nicht allein mit der üblichen Jodlösung anzustellen, sondern bei zweifelhaftem Ausfall auch mit 20fach verdünnter. Gleichzeitig geht daraus hervor, daß bei gelbgefärbten Lösungen der negative Ausfall der Reaktion Spuren von Amylum bzw. Glykogen nicht ausschließt. Wendet man eine 5%ige Lösung von A an, so bekommt man auch mit der starken Jodlösung, wenn man nicht gar zuviel von derselben hinzusetzt, intensive Blaufärbung. Die Lösung von B gab unter keinen Umständen eine positive Reaktion. Trotzdem färbt sich das Trockenpräparat B beim Übergießen mit der starken Jodlösung fast schwarz. Diese Farbenercheinung ist, wie sich bald ergab, nicht als positive Jodreaktion aufzufassen. Sie tritt ebenso ein, wenn man statt des Lichnins ein Häufchen von zerriebenem Filtrierpapier anwendet oder entfettete Watte — ja selbst Glykogen verhält sich fast ebenso. Die verdünnte Jodlösung wirkt auf das trockene Pulver nicht anders, wie irgend eine gelblich gefärbte Flüssigkeit.

Ähnliche Erscheinungen beobachtet man bekanntlich auch an Filtrierpapier<sup>1)</sup>. Tropft man die starke Lösung auf, so entsteht ein dunkelbrauner Fleck mit lichtblauen Rändern. Eine 5fach verdünnte gibt gleichfalls einen bräunlichen Fleck mit bläulichen Rändern, allmählich verbreitert sich die blaue Zone, die ihrerseits (um nichts aus der Beschreibung fehlen zu lassen) von einem schwach violetten Rand umgeben ist, auf Kosten der Braunfärbung. Wendet man dagegen eine 20fach verdünnte Lösung an, entweder indem man die Jodlösung aufgießt oder das Papier in dieselbe eintaucht, so entsteht sofort eine mehr oder weniger blaue Färbung, die allmählich verblaßt und am nächsten Tage völlig oder bis auf einen leichten violetten Schimmer bei der Betrachtung bei durchfallendem Licht verschwunden ist.

In der Regel werden die Färbungen von Filtrierpapier

<sup>1)</sup> Verwendet wurde zunächst Papier von Schleicher und Schüll Nr. 597 und 604.

mit Jod auf einen Amylumgehalt desselben bezogen. Diese Erklärung ist aber sicher, wenn überhaupt, nur zum Teil zutreffend. Wenn man ein etwa 1 qcm großes, in Stücke geschnittenes Stück Filtrierpapier gründlich mit Wasser auskocht, ohne daß indessen das Papier seine Form verliert, das Wasser abgießt, event. filtriert, und auf etwa 3—4 ccm eindampft, so nimmt diese Lösung auf vorsichtigen Zusatz der auf  $\frac{1}{20}$  verdünnten Jodlösung eine sehr schwache lichtblaue Färbung an (bei Zusatz der starken Jodlösung ist keine Färbung zu bemerken). Der zweite und dritte Auszug, ebenso behandelt, gibt keine Reaktion. Läßt man das Papier an der Luft trocknen, so gibt es am nächsten Tage wiederum Blaufärbung mit der  $\frac{1}{20}$ -Lösung, anscheinend schwächer. Taucht man das blaugefärbte Papier statt dessen in Alkohol absolutus, so verschwindet die blaue Färbung zusehends. Es ist zuzugeben, daß der Alkohol eine so geringe Quantität der Jodamylumverbindung in so dünner Schicht schnell zersetzen könnte — hat doch v. Fellenberg<sup>1)</sup> sogar auf die Zersetzbarkeit der Jodamylumverbindung durch Erhitzen mit Alkohol ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Amylums nach anfänglicher Fällung als Jodverbindung gegründet —, es ist aber doch nicht abzusehen, wie eine so kleine Quantität Stärke, wie sie der Blaufärbung entspricht, dem erschöpfenden Auskochen mit Wasser widerstehen könnte. Man wird also die Blaufärbung, die sich übrigens auch an Leinwand zeigen läßt, als Eigenfärbung des Jods auffassen müssen. An dieser Deutung machte mich nun aber das Verhalten des sonst in der Regel von mir benutzten quantitativen, mit Salzsäure und Flußsäure ausgezogenen Filtrierpapiers Nr. 590 von Schleicher und Schüll irre, denn dieses färbte sich mit derselben Jodlösung nicht blau. Zufällig war ich in der Lage, die aus derselben Quelle stammenden, mit Salzsäure und Flußsäure extrahierten Filtrierpapiere Nr. 589 (1—4), und zwar mehrere aus verschiedenen Probesendungen stammende Exemplare und das gehärtete Filter 575 zu prüfen. Alle gaben mit der schwachen Jod-

<sup>1)</sup> v. Fellenberg, Referat im Zentralbl. f. Bioch. u. Biophysik Bd. 19 Nr. 17, S. 516 (1917/19).

lösung recht ausgesprochene Blaufärbung, ebenso — schwächer — mit Wasser, dem einige Tropfen alkoholische Jodlösung hinzugesetzt waren, die beim Eintauchen in Alkohol zusehends verschwand. Dagegen zeigte Schreibpapier keine Blaufärbung mit der Jodlösung. Dies bestärkt mich in der Deutung, daß die Absorption des KJ und eine bestimmte Beschaffenheit der Oberfläche an der Erscheinung beteiligt ist.

Die Jodstärke wird jetzt wohl allgemein nach den Untersuchungen von Mylius<sup>1)</sup> als eine Verbindung angesehen, die außer an die Stärke selbst gebundenem Jod noch Jodwasserstoff bzw. Jodalkali enthält. Ob die Jodverbindung des löslichen Kohlehydrats von Lichen dieselbe, d. h. eine analoge Zusammensetzung besitzt, ist wohl recht zweifelhaft. Abgesehen davon, daß es mir nicht gelungen ist, nach dem Verfahren, das Mylius bei der löslichen Stärke angewendet hat, nämlich durch starkes Ansäuern der Reaktionsmischung mit verdünnter Schwefelsäure eine Ausflockung zu erzielen — auch Zusatz konzentrierter Kochsalzlösung blieb wirkungslos —, spricht gegen eine Analogie der Umstand, daß sich das Jod bei der in Rede stehenden Verbindung beim Eintrocknen mehr oder weniger vollständig verflüchtigt, sicher vollständig, wenn man etwa 8 ccm der mit 5% iger Lösung des löslichen Kohlehydrats (also des Isolichenins, um diese Bezeichnung zu gebrauchen) angestellten Jodreaktion in einem flachen Schälchen stehen läßt. Man findet dann nach 24 Stunden einen leicht gelblich gefärbten Rückstand, der seine Farbe beim Übergießen mit Wasser nicht ändert, dagegen bemerkenswerterweise aufquillt und sich erst beim Erwärmen löst. Die Erscheinung des gallertigen Aufquellens zeigt sich natürlich auch beim Eintrocknen einer Lösung ohne Jodzusatz. Das von dem gallertig Gequollenen abgegossene Wasser gibt mit der schwachen Jodlösung eine rötlich-violette Färbung (bei der

<sup>1)</sup> Mylius, Diese Zeitschr. Bd. 11, S. 306 (1887) und Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 20, S. 306 (1887). — Die Formeln stimmen übrigens nicht ganz überein. In dieser Zeitschrift lautet sie l. c. S. 344  $(C_6H_{10}O_5nJ)_4HJ$ , in den Berichten dagegen  $(C_{24}H_{40}O_{30}J)_4HJ$ . Es ist also hier  $n = 4$  gesetzt. Von dieser Annahme hängt aber augenscheinlich das Zahlenverhältnis von Jod zur Stärke ab.

mit Jodzusatz eingetrockneten anscheinend etwas stärker); es findet also schon bei der Einwirkung von Wasser allein Dextrinbildung statt. In einigen Beziehungen stimmt die Jodreaktion des Isolichenins (5%ige Lösung) mit der Stärkereaktion überein: die blaue Farbe bleibt bei Alkoholzusatz bestehen und beim Schütteln der Reaktionsmischung mit Chloroform oder Benzol, geht nur sehr wenig Jod in diese Lösungsmittel über — natürlich, wenn man nicht zuviel Jod hinzugesetzt hat — nicht mehr wie bei der Stärke — in einer andern Beziehung aber besteht, abgesehen von dem Verhalten beim spontanen Eintrocknen, ein sehr wesentlicher Unterschied. Natriumcarbonatlösung (gesättigt) bringt die Reaktion sehr bald zum Verschwinden, auf die Amylumreaktion wirkt sie dagegen nicht merklich ein. Beim Ansäuern stellt sie sich wieder her.

Für die Frage der Jodreaktion ergibt sich aus den vorstehenden Ausführungen eine Übereinstimmung mit der Angabe von Errera und andern, daß *Lichen islandicus* zwei Kohlehydrate enthält, ein beim Erkalten der heißen Lösung gelatinierendes, das Lichenin, das keine Jodreaktion gibt, und ein lösliches, das im Widerspruch mit Tollens und Ulander mit Jodlösung bei vorsichtigem Zusatz derselben eine sehr schöne und reine Blaufärbung gibt. Immerhin ist diese Färbung bedeutend schwächer als mit Amylum und es bleibt die Möglichkeit offen, daß das Isolichenin nicht einheitlicher Natur ist, die Jodreaktion vielmehr von einem dem Isolichenin in geringer Menge beigemischten dritten Kohlehydrat abhängt.

Beiläufig sei noch folgendes erwähnt. Die physikalische Beschaffenheit des Lichenins in feuchtem Zustand legte den Gedanken nahe, daß dasselbe zu den Pectinstoffen gehören oder solche enthalten möchte. Nach v. Fellenberg spalten die Pectinstoffe bei der Einwirkung von Natronlauge Methylalkohol ab. v. Fellenberg<sup>1)</sup> gibt zur Feststellung von Pectin ein auf dieses Verhalten gegründetes Verfahren genau an. Die Ausführung desselben an 1 g trockenem Lichenin gab mir ein negatives Resultat.

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. Bd. 85, S. 69.