

609. E. Salkowski: Ueber die Kohlehydrate der Hefe.

[Aus dem chem. Laboratorium des Patholog. Instituts zu Berlin.]

(Eingeg. am 1. December; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. A. Pinner.)

II. Die Hefecellulose.

In meiner ersten Mittheilung ¹⁾ über die Kohlehydrate der Hefe habe ich berichtet, dass man zur Darstellung des Hefegummis aus Presshefe diese mit 3procentiger Kalilauge zum Sieden erhitzt und etwa eine halbe Stunde darin erhält. Der Rückstand, welcher dabei bleibt, besteht der Hauptsache nach aus Hefecellulose. Man wäscht ihn zuerst durch Decantation, dann auf dem Filter mit heissem Wasser und prüft eine nicht zu kleine, gut ausgewaschene Probe durch nochmaliges Erhitzen mit 3procentiger Kalilauge auf etwa noch darin enthaltenes Hefegummi. Erforderlichenfalls wird die ganze Quantität nochmals mit 3procentiger Kalilauge heiss extrahirt. Durch Behandeln mit Wasser, salzsäurehaltigem Wasser, wiederum mit Wasser, Alkohol, Aether wird das Präparat gereinigt. Um sehr hartnäckig anhaftendes Fett zu entfernen, muss man die Cellulose tagelang in nicht zu grossen Antheilen im Soxhlet'schen Apparat mit Aether auskochen. Aus 2 Kilo Hefe wurden so in einem Versuch 62.6 g Cellulose (lufttrocken, mit 4.37 pCt. Wasser und 2.47 pCt. Asche) erhalten.

Naturgemäss ist die so dargestellte Cellulose, welche ein schwach gelbliches, stärkemehlartiges Pulver darstellt, stets etwas aschehaltig — zwischen 1.7 und 2.6 pCt. der Trockensubstanz — und auch nicht frei von Stickstoff-Substanzen. Der Stickstoff-Gehalt beträgt 0.40—0.45 pCt. der Trockensubstanz. Auf die Frage, ob diese Cellulose zu den echten Cellulosen nach der Eintheilung von E. Schultze oder zu den Hemicellulosen zu rechnen sei, gehe ich hier nicht ein, da sich diese Frage nicht in Kürze beantworten lässt.

Die auffallendste Eigenschaft dieser nach der mikroskopischen Untersuchung lediglich aus stark geschrumpften Zellmembranen bestehenden Cellulose ist, dass sie sich mit Jodjodkaliumlösung braunroth färbt. Diese Färbung ist sowohl unter dem Mikroskop zu beobachten, als auch wenn man die Cellulose in Wasser suspendirt und dann Jodlösung hinzusetzt. Die Färbung ist anseheinend ganz gleichmässig, dennoch besteht die Cellulose aus 2 Substanzen, von denen die eine sich mit Jod färbt, die andere nicht. Wenn man nämlich die Cellulose längere Zeit mit viel Wasser am Rückflusskühler kocht oder besser im Digestor bei 2 bis 2¹/₂ Atmosphäre erhitzt, so geht etwa die Hälfte derselben in Lösung. Die Lösung zeigt intensive Jodreaction, der Rückstand dagegen, falls die Er-

¹⁾ Diese Berichte 27, 497.

hitzung lange genug fortgesetzt war, nicht einmal eine Andeutung einer solchen. Erhitzt man 5 g Hefecellulose mit 1 L Wasser 20 Stunden lang bei 2—2 $\frac{1}{2}$ Atmosphären, so ist man sicher, dass der Rückstand sich mit Jod nicht mehr färbt. Die Cellulose lässt sich also auf diesem Wege in 2 Antheile A und B spalten, welche man nach Analogie des Dextrins als Erythrocellulose und Achroocellulose bezeichnen könnte. Dabei ist indessen zu bemerken, dass der mit Jod sich färbende Antheil bisher nur in löslicher Form erhalten werden konnte. — Die Spaltung ist keine ganz glatte. Einerseits geht stets auch etwas von der Achroocellulose in Lösung, wiewohl nur wenig, andererseits tritt als secundäres Product auch gährungsfähiger Zucker in geringer Menge auf.

1) Dampft man die Lösung ein, so scheidet sich die gelöste B-Cellulose grösstentheils in gallertiger Form aus, die Trennung wird vollständig, wenn man die abfiltrirte Lösung, deren Volumen nach dem Eindampfen bei jeder Operation mit 5 g Hefecellulose etwa 200 ccm betrug, mit dem mehrfachen Volumen Alkohol absolut. ausfällt, den abfiltrirten Niederschlag mit Alkohol und Aether entwässert und einige Stunden bei 110—120° erhitzt. Behandelt man den Rückstand mit Wasser, so bleibt unlöslich gewordene Achroocellulose zurück. Durch Fällung des Filtrats mit absolutem Alkohol, Waschen mit Alkohol und Aether ev. Wiederholung dieser Operation erhält man ein weisses, in Wasser leicht lösliches Pulver von sehr geringem Aschengehalt. Häufig zeigt die Lösung auch die bekannte Erscheinung, dass sie beim Zusatz von Alkohol nur milchig trübe wird, eine Ausfällung aber erst eintritt, wenn man eine Spur Chlornatriumlösung hinzusetzt.

Die wässrige Lösung dieses Körpers ist nie ganz klar, sie zeigt vielmehr stets eine geringe Opalescenz, welche auch bei monatelangem Stehen (unter Zusatz von etwas Chloroform) unverändert bleibt, ähnlich dem Glycogen, jedoch schwächer, sie ist ferner stark rechtsdrehend. Nach 2 Versuchen mit Präparaten verschiedener Darstellung ergab sich, bezogen auf bei 110° getrocknete Substanz α_D , am Laurent'schen Halbschattenapparat bei Natriumlicht bestimmt, = 174.1 resp. 173.3°, im Mittel 173.7°.

Als Zusammensetzung ergab sich nach von Dr. Martin Hahn in München freundlichst für mich ausgeführten Analysen in Procenten:

	I.	II.	Mittel
C	44.26	44.02	44.14
H	6.54	6.52	6.53

Die Formel $C_6H_{10}O_5$ würde erfordern 44.44 C und 6.17 H. Die Analysenzahlen sprechen dafür, dass auch in dem bei 110° getrockneten Präparat noch Wasser festgebunden ist, ebenso wie dieses für

das Glycogen angenommen wird, dessen Formel nach Huppert¹⁾ $6(C_5H_{10}O_5) + H_2O$ ist, von anderer Seite zu $11(C_6H_{10}O_5) + H_2O$ angenommen wird.

Die Reaction des in Rede stehenden Körpers mit Jodjodkaliumlösung stimmt mit der des Glycogens durchaus überein, ebenso die Fällbarkeit durch Barytwasser. — Beim Behandeln mit verdünnten Säuren geht dieser Körper so gut wie quantitativ in *d.* Glucose über. Auch Speichel wirkt schnell saccharificirend, anscheinend jedoch etwas langsamer, als dieses bei Glycogenlösung gleicher Concentration der Fall ist. Die Unterschiede werden namentlich dann bemerkbar, wenn man nur sehr wenig Speichel zu dem Versuch nimmt.

Es lässt sich nicht verkennen, dass dieser Körper, welchem man die lösliche Modification der in der Hefecellulose supponirten Erythrocellulose, oder vielleicht mit Rücksicht auf seine Entstehung und Zusammensetzung Erythrohydrocellulose nennen könnte, eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Glycogen des thierischen Organismus hat. Dennoch kann von einer Identität nicht die Rede sein. Ganz abgesehen von der Art der Entstehung dieses Körpers bildet die spezifische Drehung und die sehr viel schwächere Opalescenz der Lösung einen ganz bestimmten Unterschied. Die Opalescenz ist im Allgemeinen etwa $\frac{1}{8}$ so stark, wie die des Glycogens, aber etwas wechselnd, ja sie war bei einigen Präparaten sogar sehr schwach und es scheint, dass sie um so schwächer ist, je sorgfältiger das Präparat mit Alkohol und Aether gereinigt ist, sodass doch der Verdacht nicht ganz abzuweisen ist, dass die Opalescenz auf Spuren von Verunreinigungen beruht.

Es sind nun von verschiedenen Seiten Angaben über das Vorkommen von Glycogen in der Hefe gemacht worden, so von Errera²⁾ und Laurent³⁾, meiner Ansicht nach sind dieselben aber ohne ausreichende Begründung. Es ist nicht unmöglich, dass es sich bei diesen Angaben um eine Verwechslung mit dem beschriebenen Körper handelt. In meiner ersten Mittheilung habe ich schon angegeben, dass der wässrige Auszug der Hefe das die Jodreaction gebende Kohlehydrat enthält. Es ist wohl möglich, dass dasselbe in den Hefezellen in gelöster Form existirt, sei es als Vorstufe bei der Bildung der Cellulose, sei es umgekehrt als Umwandlungsproduct derselben. Es ist auch nicht ausgeschlossen, dass dieser Körper eine ähnliche Function hat, wie das Glycogen im Thierkörper.

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 18, 138.

²⁾ Compt. rend. Tome 101. Dasselbst auch die Literatur. Hr. Errera bin ich für die freundliche Uebersendung eines Separatabdruckes zu bestem Dank verpflichtet.

³⁾ Annal. d. l'institut Pasteur III (1889) 113.

In neuerer Zeit giebt M. Cremer¹⁾ an, dass er Hefeglycogen direct aus Hefe nach dem Brücke'schen Verfahren (Anwendung von Kaliumquecksilberjodid) zunächst als Rohglycogen isolirt, dann »durch fractionirtes Ausfällen« gereinigt habe. Er giebt für dieses Hefeglycogen $\alpha_D = 198.9^\circ$ an, was mit der Drehung des animalischen Glycogens nach der Angabe von Huppert ($\alpha_D = 196.63^\circ$) so gut wie vollständig übereinstimmt.

Mir ist es bisher nicht gelungen, auf diesem Wege zu einem reinen Präparat zu gelangen. Dasselbe enthielt stets Gummi in beträchtlicher Quantität und war ausserdem augenscheinlich noch anderweitig verunreinigt, wie aus der ausserordentlich hygroskopischen Beschaffenheit hervorging.

In einer früheren Mittheilung²⁾ habe ich angegeben, dass das sogenannte (aus Cellulose dargestellte) Hefeglycogen sich beim Erhitzen auf 130° partiell in Cellulose zurückverwandelt. Diese Angabe kann ich nicht aufrecht erhalten: sie findet ihre Erklärung darin, dass dem damals zu den Versuchen benutzten Präparat noch eine gewisse Quantität Achroocellulose beigemischt war, welche, wie oben angegeben, beim Erhitzen unlöslich wird.

2) Die Achroocellulose bleibt beim Erhitzen der Hefecellulose im Digestor — die Erhitzung geschah in einem in den Autoclaven passenden cylindrischen Porzellengefäss von 1.8 L Inhalt, welches ich mir für diese und ähnliche Zwecke habe anfertigen lassen — als gequollene zusammenhängende Masse von kautschukartiger Beschaffenheit zurück, welche in ihrer Form einen Abdruck des Erhitzungsgefässes darstellt und ein weit grösseres Volumen einnimmt, als die angewendete Hefecellulose³⁾. Selbst beim Aufbewahren in Alkohol bleibt diese Form ziemlich unverändert. Beim Einlegen von Stücken derselben in Jodlösung bleibt jede Färbung aus. Trocknet man die gequollene Masse längere Zeit auf dem Wasserbad, so erhält man die Achroocellulose in Form einer zusammenhängenden Haut, welche sich nur äusserst schwer pulvern lässt. In dieser Form wird sie beim Kochen mit 5procentiger Schwefelsäure am Rückflusskühler nur schwierig und unvollständig gelöst, während beim Kochen der Presshefe selbst mit 5procentiger Schwefelsäure die Kohlehydrate derselben, wie ich vor einigen Jahren gezeigt habe⁴⁾, mit Leichtigkeit und fast vollständig gelöst und saccharificirt werden.

1) Vortrag in der Münch. Ges. f. Morphol. u. Physiol. Kurze Notiz in Münch. med. Wochenschr. 1894 No. 26.

2) Du Bois-Reymond's Archiv 1890, 555.

3) In einigen Fällen wurde indessen ohne ersichtlichen Grund auch ein grösserer oder kleinerer Theil der Achroocellulose in flockiger Form erhalten.

4) Zeitschr. f. physiol. Chem. 13, 534.

Die Achroocellulose ist nicht einheitlicher Natur: sie liefert beim Behandeln mit Säuren zwar vorwiegend Glucose, aber auch nicht unerheblich Mannose.

610. F. Hoppe-Seyler. Ueber Chitin und Cellulose.

(Eingegangen am 4. December; mitgeth. in der Sitzung von Hrn. A. Pinner.)

In diesen Berichten 27, Heft 17, S. 3113—3115 ist von E. Winterstein soeben eine Mittheilung, betitelt »Ueber ein stickstoffhaltiges Spaltungsproduct der Pilzcellulose« veröffentlicht, die mir besonders durch ihren letzten Satz Veranlassung zu folgenden Bemerkungen giebt:

Unter Benutzung einer vor mehreren Jahren beschriebenen Isolierungsmethode, welche von Winterstein auch in der citirten Mittheilung erwähnt ist, habe ich mich seit längerer Zeit mit den der Cellulose verwandten Kohlehydraten von Thieren und Pflanzen beschäftigt und einige Resultate erhalten, deren kurze vorläufige Schilderung wohl jetzt zweckmässig sein wird, während die ausführlichen Mittheilungen erst später gegeben werden können.

Das Tunicin der Tunicaten hat sich auch bei der Behandlung mit Aetzkali bis 180° als übereinstimmend mit gewöhnlicher Cellulose erwiesen, dagegen hat das Chitin der Gliedertiere (untersucht wurden Panzer von Insecten, Krebsen, Scorpionen, Spinnen) eine recht merkwürdige Abweichung gezeigt. Während bei dem Erhitzen mit Aetzkali und ein wenig Wasser im Oelbade bis 180° (als Maximum) die Formen der Chitingewebe so wenig wie die Zellengewebe der Pflanzen bis hinab zu den Algen eine wesentliche Aenderung erkennen lassen, wird das Chitingewebe nach dieser Behandlung und sorgfältigem Auswaschen des Aetzkalis mit kaltem Wasser leicht löslich in verdünnter Essigsäure zur klaren Flüssigkeit gefunden und durch Alkalilauge wird aus dieser Lösung ein reichlicher voluminöser Niederschlag gefällt. Der Stickstoffgehalt des Chitins ist bei dieser Behandlung unverändert geblieben, aber im aufgelösten Aetzkali, mit dem das Chitin erhitzt war, fand sich Essigsäure und zwar so rein, dass nach Uebersättigen mit Schwefelsäure aus dem Destillate sofort das Baryumsalz und aus diesem das Silbersalz von berechneter Zusammensetzung erhalten wurden. Das Umwandlungsproduct des Chitins, welches neben Essigsäure entsteht, sich in Essigsäure, auch in äusserst verdünnter Salzsäure sehr leicht löst, dem ich den vorläufigen Namen Chitosan gegeben habe, zeigt insofern basische Eigenschaften, als es sich mit den Säuren leicht verbindet, beim Verdunsten der wässrigen Lösung der salzsauren Verbindung diese in quadratischen Krystallen liefert, die