

Mitteilung aus dem Institut für biochemische Technologie der Technischen  
Hochschule Wien

## Über das Hefemannan

Von R. Garzuly-Janke

(Eingegangen am 6. Mai 1940)

### I. Allgemeiner Teil

#### 1. Das Mannan-Problem

Die bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse über das Hefemannan oder Hefegummi sind reich an Widersprüchen. Dies bezieht sich nicht nur auf die chemischen und physikalischen Eigenschaften dieser Verbindung, sondern auch auf ihre Rolle im Zellgeschehen und ihre Beziehung zur Hefezellmembran und zum Hefeglykogen. Schon die Darstellungsmethoden lassen nicht entscheiden, ob das Hefegummi Inhaltstoff oder ein integrierender Zellmembran-Bestandteil ist oder ob es vielleicht zu dem gelatinösen Netzwerk von Hansen in engerer Beziehung steht. Schützenberg<sup>1)</sup> isolierte als erster aus der Hefe durch Auskochung mit Wasser und nachheriger Fällung mit Alkohol eine gummiartige Masse, die er für identisch mit arabischem Gummi hielt. Nach der Schwefelsäure-Hydrolyse gab diese Substanz eine positive Fehling-Reaktion. Béchamp<sup>2)</sup> hat auf gleichem Weg das Hefegummi isoliert; er bestimmte die Drehung zu  $(\alpha) = 59-61^{\circ}$ . Sowohl Béchamp als auch Schützenberg oxydierten den durch Hydrolyse erhaltenen Sirup des Hefegummis mit Salpetersäure und isolierten angeblich Schleimsäure. Die nächsten Forscher, die sich mit dem Hefegummi beschäftigten, Nägeli und Loew<sup>3)</sup>,

<sup>1)</sup> Schützenberg, Compt. rend. 78, 493, 698 (1874).

<sup>2)</sup> Béchamp, Compt. rend. 78, 645 (1874).

<sup>3)</sup> C. Nägeli u. O. Loew, Liebigs Ann. Chem. 193, 322 (1873).

schieden aus wäßrigen Auskochungen der Hefe ein Produkt ab, das eine Drehung von  $(\alpha) = +78^{\circ}$  zeigte. Bei der Oxydation des Hydrolysenproduktes erhielten sie Zuckersäure. Nach Nägelis Ansicht ist das Hefegummi ein Bestandteil der Zellwand.

Casagrandi<sup>1)</sup>, der sich ebenfalls mit dieser Substanz beschäftigte, betrachtete sie als zum Zellinhalt gehörig. Hessenland<sup>2)</sup> erhielt aus Hefe durch 6-malige Auskochung mit Kalkmilch und nachherige Ausfällung mit Alkohol ein weißes hygroskopisches Pulver, das mit den vorerwähnten Verbindungen große Ähnlichkeit aufwies;  $(\alpha)$  betrug  $+98,17^{\circ}$ . Die Hydrolyse ergab Mannose und Glucose.

Eingehende Studien über Hefegummi stammen von Salkowsky<sup>3)</sup>. Sowohl Salkowsky als auch Oshima<sup>4)</sup> haben das Hefegummi aus den alkalischen Auskochungen der Hefe isoliert und mittels Fehlingscher Lösung über die Cu-Verbindung gereinigt.

Salkowsky verwendete bei seinen Versuchen zur Hefeauslaugung anfänglich eine 3<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-ige, später sogar eine 60<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-ige Lauge. Die Summenformel seiner Verbindung gab er mit  $C_{12}H_{22}O_{11}$  an,  $(\alpha)$  mit  $+90,1^{\circ}$ .

Alle diese Befunde wurden durch Meigen und Spreng<sup>5)</sup> einer kritischen Überprüfung unterzogen. Diese Forscher untersuchten die auf verschiedene Weise dargestellten Präparate auf ihre Zusammensetzung und Drehung; bei der Hydrolyse konnten sie immer neben Mannose auch Glucose isolieren. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen bei ihrer Untersuchung über das Hefegummi auch Euler und Fodor<sup>6)</sup>. Diesen Forschern zufolge soll dessen Zusammensetzung zwischen 2 Glucose zu 1 Mannose und 2 Mannose zu 1 Glucose schwanken.

<sup>1)</sup> Casagrandi, Zbl. Bakteriol. Parasitenkunde **3**, 574 (1897).

<sup>2)</sup> Hessenland, Z. Ver. Rübenzuckerind. **42**, 671 (1892).

<sup>3)</sup> E. Salkowsky, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **31**, 305 (1900/01); **69**, 466 (1910); **92**, 75 (1914); Ber. dtsh. chem. Ges. **27**, 497, 925, 3325 (1894).

<sup>4)</sup> Oshima, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **36**, 42 (1902).

<sup>5)</sup> Meigen u. Spreng, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **55**, 48 (1908).

<sup>6)</sup> v. Euler u. Fodor, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **72**, 339 (1908).

Daoud und Ling<sup>1)</sup> haben nach der Salkowskyschen Methode das Hefegummi isoliert; ihrer Ansicht nach ist Hefegummi ein Bestandteil der Hefezellmembran, in welcher es an Phosphorsäure und Kieselsäure verestert vorkommen soll.

Mit Ausnahme von Schützenberg und Béchamp bedienten sich alle übrigen vorstehend genannten Untersucher alkalischer Lösungen. Diese alkalische Auslaugung der Hefe wurde auch weiterhin beibehalten. So haben Kraut und Eichhorn<sup>2)</sup> versucht, das aus alkalischer Lösung isolierte und mittels Fehlingscher Lösung über die Cu-Verbindung gereinigte Hefegummi einer weiteren Reinigung zu unterziehen, indem sie eine Adsorption an Kaolin versuchten. Das so gewonnene Produkt zeigte genau die gleichen Eigenschaften wie ein durch enzymatischen Abbau erhaltenes Hefegummi.

Es fehlte nicht an Einwänden gegen diese Art der alkalischen Hefeaufarbeitung. So vertreten Zechmeister und Toth<sup>3)</sup> die Ansicht, daß die alkalische Verkochung der Hefe die restlose Herauslösung der leicht hydrolysierbaren Polysaccharide nicht ermöglicht und außerdem Veränderungen in deren Zusammensetzung herbeiführt.

Trotzdem kochen sie ihre Hefe erst mit verd. Lauge, dann mit 3% Salzsäure und erhalten ein aus d-Glucoseresen aufgebautes Polysaccharid, das in 1,3-Verkettung vorliegen soll. Sewag, Cattaneo und Maiweg<sup>4)</sup> haben die Zechmeistersche Arbeit kritisch überprüft, und meinen, daß weder die erwähnte Polyose noch auch Hefegummi und Glykogen in der ursprünglichen Hefe vorhanden sind, sondern erst durch die Behandlung mit heißem Alkali aus anderen Kohlehydraten entstehen.

Diese Ansicht ist aber, was die neue Polyose betrifft, sowohl durch Zechmeister, als auch durch Stockhausen und Silbereisen<sup>5)</sup> widerlegt worden. Zur Aufstellung der Konstitutionsformel des Hefegummis haben Haworth und Hirst<sup>6)</sup> ebenfalls eine aus alkalischer Lösung dargestellte Verbindung verwendet.

<sup>1)</sup> K. M. Daoud u. A. R. Ling, Wschr. Brauerei 48, 537 (1931).

<sup>2)</sup> H. Kraut u. F. Eichhorn, Ber. dtsh. chem. Ges. 60, 1639 (1927).

<sup>3)</sup> L. Zechmeister u. G. Toth, Biochem. Z. 270, 309 (1934).

<sup>4)</sup> Sewag, Cattaneo u. Maiweg, Liebigs Ann. Chem. 519, 111 (1935).

<sup>5)</sup> F. Stockhausen u. K. Silbereisen, Wschr. Brauerei 52, 257 (1938).

<sup>6)</sup> Haworth, Hirst u. Isherwood, J. chem. Soc. (London) 1937, 784.

Sowohl Kraut als auch Haworth betrachten das Hefegummi als eine nur aus Mannoseresten aufgebaute Substanz. Auf Grund der hier zitierten Arbeiten erblickte man im Hefegummi einen Zellwandbestandteil.

Nach Willstätter<sup>1)</sup> und seiner Schule ist das Hefegummi auch enzymatisch angreifbar, und zwar durch  $\beta$ -Amylase (Malz-amylase). Die  $\alpha$ -Amylase hingegen soll überhaupt keinen Einfluß ausüben. Willstätter und Racke<sup>1)</sup> haben zwecks Freilegung der Hefesaccharase die Hefe einem enzymatischen Abbau unterworfen; es wurde mit Pepsin und Trypsin gearbeitet, wobei ein großer Teil des Hefegummis in Lösung ging.

Ein spezifisches, Hefegummi abbauendes Enzym wurde durch Kraut, Eichhorn und Rubenbauer<sup>2)</sup> beschrieben.

Außer bei der Hefe hat man Mannane auch bei Bakterien und höheren Pflanzen vorgefunden. Im Gegensatz zur Cellulose und Stärke treten bei diesem Kohlehydrat große Unterschiede auf. Das Mannan stellt eine polymerhomologe Reihe langgliedriger Kettenmoleküle dar; in den meisten Fällen ist es strukturell homogen, nur aus Mannoseresten aufgebaut; es sind aber auch inhomogene Ketten bestehend aus Glucose-Mannose-resten bekannt.

Manche Mannane wie z. B. die aus dem Samen der Steinnußpalme erinnern in ihren Eigenschaften an die Cellulose und sind unlöslich. Andere wieder sind quellbare Schleime, wie der aus den Knollen von Orchideen gewonnene Salepschleim.

Es handelt sich bei diesen Unterschieden nur um eine Verschiedenheit in der Größe der Molate, die aber alle einheitlich nur aus Mannose aufgebaut sind.

Lüdtke<sup>3)</sup> untersuchte eingehend das Mannan der Steinnuß. Durch Behandlung mit 5—10% Lauge konnte das Mehl in ein Mannan A zerlegt werden, das in dieser Laugenkonzentration löslich ist, und in ein Mannan B, das erst von viel stärkeren Laugen angegriffen wird. Klages<sup>4)</sup> betrachtet das Mannan B

---

<sup>1)</sup> R. Willstätter u. H. Racke, Liebigs Ann. Chem. **425**, 1 (1921); **427**, 111 (1921).

<sup>2)</sup> H. Kraut, F. Eichhorn u. H. Rubenbauer, Ber. dtsch. chem. Ges. **60**, 1644 (1927).

<sup>3)</sup> M. Lüdtke, Liebigs Ann. Chem. **456**, 201 (1927).

<sup>4)</sup> Fr. Klages, Liebigs Ann. Chem. **509**, 159 (1934); **512**, 185 (1934).

als die höher aggregierte oder höher molekulare Form mit einer Kettenlänge von 70—80 Mannoseresten, nach der Reduktionsmethode bestimmt. Die Ketten sollen aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Mannopyranose aufgebaut sein. Salepmannan wurde von Pringsheim<sup>1)</sup> und Klages<sup>2)</sup> eingehend untersucht; dabei erfolgte die Isolierung einer Mannobiose und einer Tetra- und Penta-Mannose. In allerjüngster Zeit hat Husemann<sup>2a)</sup> am gleichen Mannan umfangreiche viscosimetrische und osmometrische Untersuchungen ausgeführt.

Aus dem japanischen Nahrungsmittel Konyaku wird Konjakmannan gewonnen. Das Mehl wird aus den Knollen der Araceae *Amorphophallus konjak* R. Koch dargestellt. Diese Verbindung ist von Interesse, weil sie nach der Feststellung von Nishida und Hashima<sup>3)</sup> aus Glucose und Mannose aufgebaut sein soll.

Othsujki<sup>4)</sup> konnte zeigen, daß beim enzymatischen Abbau des Konjakmannans mittels Takadiastase ein Trisaccharid entsteht, das nach der Schwefelsäure-Hydrolyse in 2 Moleküle Mannose und 1 Molekül Glucose zerlegt ist. Das Mannan des *Penicillium Charlesii* wurde durch Haworth<sup>5)</sup> und seine Schule untersucht; es soll aus in 1, 6-Stellung verknüpften Mannopyranoseresten aufgebaut sein.

Hess und Lüdtkke<sup>6)</sup> haben aus Nadelhölzern ein Mannan isoliert, das Ähnlichkeit mit Mannan A zeigt.

## 2. Eigene Versuche

Es ist bekannt, daß bei der Einwirkung von mildem Alkali auf reduzierende Zucker  $\alpha$ -Inversion eintritt und außerdem Isomerisierung zwischen Aldose und Ketose zu beobachten ist. Die Gegenwart von Phosphaten begünstigt diesen Vorgang. Bei der Einwirkung von konzentrierterem Alkali auf reduzierende Zucker bei höherer Temperatur finden unter Gelbfärbung tiefer gehende Änderungen statt, wobei unter Zerfall der Kohlenstoff-

<sup>1)</sup> H. Pringsheim, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 140, 299 (1924).

<sup>2)</sup> Fr. Klages, Liebigs Ann. Chem. 523, 224 (1936).

<sup>2a)</sup> E. Husemann, J. prakt. Chem. [2] 155, 241 (1940).

<sup>3)</sup> K. Nishida u. H. Hashima, C. 1931, I, 295; 1932, II, 2633.

<sup>4)</sup> T. Othsujki, Acta phytochim. 4, 1 (1928—29).

<sup>5)</sup> Haworth, Raistrick u. Stacey, Biochem. J. 29, 612 (1935).

<sup>6)</sup> F. Hess u. M. Lüdtkke, Liebigs Ann. Chem. 466, 26, (1927).

kette der Hexosen Verbindungen mit 3-C-Atomen entstehen. In der Kälte ist auch mit der Saccharinsäurebildung zu rechnen.

Dies war bei der alkalischen Darstellung des Hefegummis zu berücksichtigen, obwohl in der Arbeit von Kraut und Eichhorn<sup>1)</sup> darauf hingewiesen wurde, daß die alkalische Gewinnung ohne Einfluß auf die Konstitution dieses Polysaccharides ist. Zur Darstellung größerer Mengen von Hefegummi wurden die Methoden von Salkowsky<sup>2)</sup>, Daoud und Ling<sup>3)</sup> und von Harden und Young<sup>4)</sup> angewendet. Es ist auch versucht worden, aus wäßrigen Hefeauszügen das Mannan zu isolieren. In beiden Fällen sind auch Protoplasmabestandteile in Lösung gegangen; reines Mannan ist aus diesen Lösungen über die Cu-Fehling-Verbindung zu erhalten.

Eine Auslaugung der Hefe mit Wasser bei langsam ansteigender Temperatur — ausgedehnt auf 100—120 Stunden — behebt diese erwähnte Schwierigkeit auch nicht. Im Filtrat hat man daher ständig neben dem Kohlehydrate Eiweißbestandteile.

Bei Versuchen über die beste Zeit der Schwefelsäure-Hydrolyse von Hefemannan konnte die Beobachtung gemacht werden, daß kalte 75 %ige Schwefelsäure dieses polymere Kohlenhydrat aus der Zelle herauslöst. Wird nach 24-stündigem Stehenlassen die Hefe-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Suspension mit der 5—8-fachen Menge Wasser verdünnt, anschließend zentrifugiert und das so erhaltene Filtrat mit dem gleichen Volumen Alkohol versetzt, so erhält man einen weißen Niederschlag, der alle charakteristischen Eigenschaften des Hefegummis zeigt.

Dieses aus saurer Lösung isolierte Hefemannan läßt sich leicht in pulverige Form bringen. Zwecks Reinigung wird öfters aus wäßriger Lösung mit Alkohol umgefällt. Die so erhaltene Verbindung ist aschehaltig und weist außer C, H, O auch noch N und P auf.

Die aus verschiedenen Aufarbeitungen in alkalischer, rein wäßriger und saurer Lösung gewonnenen Hefemannane sind untereinander ziemlich verschieden. Diese Verschiedenheit der Eigenschaften als auch das Vorhandensein von N und P in den

---

<sup>1)</sup> H. Kraut u. F. Eichhorn, Ber. dtsch. chem. Ges. **60**, 1639 (1927).

<sup>2)</sup> E. Salkowsky, Ber. dtsch. chem. Ges. **27**, 497, 925, 3325 (1894).

<sup>3)</sup> K. M. Daoud u. A. R. Ling, Wschr. Brauerei **48**, 537 (1931).

<sup>4)</sup> A. Harden u. W. J. Young, J. chem. Soc. (London) **81**, 1224 (1902).

sauer gewonnenen Produkten läßt die Annahme zu, daß beim Hefemannan ein Kohlehydrat-Eiweiß- oder -Lipoid-Symplex vorliegt. Ähnliche Symplexe haben Przylecki und Willstätter bei anderen Polymeren beobachtet. Gegenüber Säuren sind diese Symplexe äußerst beständig; in verd. Alkali hingegen wird die Eiweiß- oder Lipoid-Kohlehydrat-Bindung rasch gelöst und es resultiert das N-freie Kohlehydrat.

Dies ist eine Erklärung für die Abweichungen in den chemischen und physikalischen Eigenschaften der auf verschiedenem Weg dargestellten Hefemannane. Bei der alkalischen Auslaugung der Hefe wird je nach Konzentration und Einwirkungsdauer der Lauge auf das ursprüngliche Hefemannan-Symplex die Eiweiß-Kohlehydrat-Bindung mehr oder weniger gelöst. Bei radikaler Behandlung bleibt dann schließlich das Mannan als reines asche-, N- und P-freies Kohlehydrat zurück.

Das aus saurer Aufarbeitung isolierte Hefemannansymplex hingegen enthält neben den Kohlehydratbestandteilen einen N- und P-haltigen Anteil. Willstätter hat bei einem anderen polymeren Kohlehydrat, dem Glykogen, ähnliches beobachtet. Desmoglykogen stellt ein Protein-Glykogen-Adsorbat dar, dessen biologische Bedeutung darin bestehen soll, daß es die stationäre Form des für den Abbau bestimmten Kohlehydrates darstellt.

## II. Experimenteller Teil

### 1. Verfahren mit alkalischer Extraktion

Bei der Darstellung des Hefegummis mittels alkalischer Extraktion wurden die Methoden von Salkowsky<sup>1)</sup>, Daoud und Ling<sup>2)</sup> sowie Harden und Young<sup>3)</sup> angewendet.

#### a) Darstellung des Hefegummis nach der Methode von Salkowsky<sup>1)</sup>

500 g frische Bäckerhefe werden mit 5 Liter 3%-Natronlauge 1 Stunde in gelindem Sieden gehalten. Nach Abdekantieren wird der Rückstand einmal mit Wasser gewaschen, Filtrat und Waschwasser vereinigt und mit 750 ccm Fehling-Lösung versetzt, am Wasserbad gelinde erwärmt, bis die Cu-Mannan-

<sup>1)</sup> E. Salkowsky, Ber. dtsch. chem. Ges. 27, 497, 925 (1894).

<sup>2)</sup> K. M. Daoud u. A. R. Ling, Wschr. Brauerei 48, 537 (1931).

<sup>3)</sup> A. Harden u. W. J. Young, J. chem. Soc. (London) 81, 1224 (1902).

verbindung als bläulich-weißer Niederschlag ausfällt. Nach Abgießen des Filtrats Rückstand mit Wasser abgespült und, in einer Reibschale gut verrieben, mit etwas HCl in Lösung gebracht. Die trübe Lösung in die 7-fache Menge Alkohol gegossen, läßt das Mannan als zähen, fadenziehenden, fast weißen Niederschlag erhalten, der zwecks neuerlicher Reinigung in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt wird. Nach Abdekantieren der Lösung Niederschlag mit Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet. Weißes staubiges Pulver, leicht löslich in Wasser; getrocknet bei  $110^{\circ}$  ist es nicht hygroskopisch.

b) Darstellung nach der Methode von Daoud und Ling<sup>1)</sup>

1 kg Bäckerhefe mit 5 Liter kochender 2%-Natronlauge 3 Stunden extrahiert, Filtrat unter vermindertem Druck auf etwa die Hälfte eingengt und mittels verd. Essigsäure das Natrium-Nucleat ausgefällt. Das Filtrat neuerlich alkalisch gemacht und i. V. auf etwa 200 ccm eingengt. Restlösung mittels Alkohol auf 55% Alkoholgehalt gebracht. Der ausgefallene klebrig zähe Niederschlag wird in Wasser gelöst, mit  $K_2CO_3$  versetzt, so daß dessen Konzentration 60% beträgt, und 2 Stunden erhitzt. Nach Filtration mit Fehling-Lösung das Mannan ausgefällt. Die weitere Reinigung durch Lösen in Wasser und Fällern mittels Alkohol wurde wie bei dem Salkowskischen Produkt vollführt.

c) Darstellung nach der Methode von Harden-Young<sup>2)</sup>

Mit Quarzsand verriebene Bäckerhefe wurde 3 Stunden mit Wasser ausgekocht, der Wasserextrakt mit Alkohol gefällt, der so erhaltene Niederschlag 2 Stunden mit 60% Kalilauge erhitzt, das aus dieser Lösung mittels Alkoholfällung erhaltene

| Mannan<br>Darstellung nach | Summen-<br>formel    | C     | H    | N | P | Asche | ( $\alpha$ ) <sub>D</sub> |
|----------------------------|----------------------|-------|------|---|---|-------|---------------------------|
| Salkowski                  | $C_{12}H_{22}O_{11}$ | 42,12 | 6,48 | — | — | —     | + 90,1                    |
| Daoud-Ling                 | $C_{12}H_{22}O_{11}$ | 42,00 | 6,70 | — | — | —     | + 70                      |
| Harden-Young               | $C_{12}H_{22}O_{11}$ | 42,02 | 6,78 | — | — | —     | + 78                      |
| Nach der Hydrolyse         | —                    | —     | —    | — | — | —     | 11,90                     |

<sup>1)</sup> K. M. Daoud u. A. R. Ling, Wschr. Brauerei 48, 537 (1931).

<sup>2)</sup> A. Harden u. W. J. Young, J. chem. Soc. (London) 81, 1224 (1902).



zähe, fadenziehende Produkt in Wasser gelöst und mit Hilfe der Fehling-Lösung die Cu-Mannanverbindung hergestellt. Niederschlag einmal mit Wasser gewaschen, dann gelöst und mit Alkohol gefällt; neuerliche Umfällung wie bei der Salkowskyschen Methode.

## 2. Wässerige Auslaugung

Schon Meigen und Spreng versuchten durch wäßrige Auskochung der Hefe das Hefegummi zu erhalten. Um eine möglichst schonungsvolle Behandlung der Hefe zu gewährleisten, wurde die Auslaugung mit Wasser in drei Stufen vorgenommen. Erstens wurde 6-mal mit dest. Wasser bei Zimmertemperatur geschüttelt, dann wurde mit 40° Wasser behandelt, woran sich eine 3-malige Auslaugung mit dest. Wasser im kochenden Wasserbad schloß. Die Zentrifugate kamen im Faust-Heim zur Einengung. Die so erhaltene krümelige braune Masse wurde in Wasser gelöst, zentrifugiert und mit Alkohol gefällt. Der hierbei erhaltene klebrige, etwas braune Bodensatz wurde einige Male aus Wasser-Alkohol umgefällt und die letzte Fällung 24 Stunden unter Alkohol aufbewahrt. Nach Verreiben des bröcklig-körnigen Bodensatzes mit Alkohol in der Reibschale und Abdunsten des Alkohols ließ sich schließlich ein feines, nicht hygroskopisches Pulver erhalten.

Die zur Analyse verwendete Verbindung war 4-mal aus Alkohol-Wasser umgefällt worden.

| Mannan aus<br>H <sub>2</sub> O extrahiert                     | Kohlehydrat<br>nach W.-Sch.-Best. | N    | P    | Asche | ( $\alpha$ ) <sub>D</sub> |
|---|-----------------------------------|------|------|-------|---------------------------|
| (C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ) <sub>m</sub> | 85,8 %                            | 0,89 | 0,08 | 1,00  | + 62                      |
|   | 87                                | 0,99 | 0,09 | 1,18  | + 63                      |

## 3. Extraktion nach Säurebehandlung

Wird die an der Luft getrocknete Hefe mit 75% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> angeteigt und mindestens 24 Stunden bei Zimmertemperatur belassen, nachher mit etwa der 5-fachen Menge Wasser verdünnt und zentrifugiert, so kann man aus der wäßrig sauren Lösung mittels Alkoholfällung das Hefemannan erhalten. Nach der ersten Ausfällung ist das Kohlehydrat als halb feste zusammenhängende, fadenziehende Masse am Boden des Kolbens angesammelt. Abdekantieren der überstehenden Lösung und

Waschen des Niederschlages mit Alkohol ergibt sehr rasch einen festen, nicht klebrigen weißen Rückstand, der — mit Alkohol verrieben — schließlich in ein weißes Pulver zerfällt. Dieses erste Produkt ist zweckmäßig noch einigen Reinigungen zu unterwerfen, indem man das Pulver in Wasser löst, die Lösung zentrifugiert und mit Alkohol ausfällt. Die Fällung wird nach Abgießen der Lösung einige Zeit unter reinem, abs. Alkohol aufbewahrt. Zwecks raschen Trocknens ist es zweckmäßig, den alkoholfuchten Niederschlag in eine Reibschale zu bringen und durch Verreiben den Alkohol zu entfernen. Man erhält so ein trockenes, weißes Pulver, das selbst nach wochenlangem Stehen weder Feuchtigkeit anzieht, noch Zeichen des Zerfließens zeigt; es ist sehr leicht löslich in kaltem Wasser, in Säuren und in Laugen. Die wäßrige Lösung ist nicht ganz klar, die Trübung dürfte mit der kolloiden Natur der Verbindung zusammenhängen; möglicherweise tritt auch schon beim Trocknen allein eine Koagulation ein. Zur Analyse wurden verschieden oft umgefällte Produkte verwendet.

| Mannan aus H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -<br>Lösung isoliert | Kohlehydrat<br>nach Willst.-Schudl | N    | P    | Asche<br>% | ( $\alpha$ ) <sub>D</sub> |
|--|------------------------------------|------|------|------------|---------------------------|
| Mannan 10-mal umgef.   | 87,6                               | 1,09 | 0,12 | 2,00       | + 66,8                    |
| „ 16-mal „   | 89,5                               | 1,21 | 0,18 | 1,91       | + 67,2                    |
| Nach der Hydrolyse   | —                                  | —    | —    | —          | 11,88                     |

### Zusammenfassung

Das durch saure Aufarbeitung dargestellte Hefemannan stellt ein primäres Produkt der Hefezelle dar. Als äußerer Membranbestandteil der Hefezelle ist es als Symplex an Hefe-eiweiß- oder Hefelipoidverbindungen verankert. Hefepreßsäfte sowie rasch bereitete Hefe-Autolysatsäfte sind mannanfrei. Die alkalische Aufarbeitung der Hefe zerstört das Kohlehydrat-Symplex. Hydrolyse des Mannans ergibt reine Mannose, woraus der Schluß gezogen werden kann, daß am Aufbau des Hefemannanmoleküls nur die Mannose beteiligt ist.