

## Ultraviolett-Absorptionsspektren von Seidenfibroin und Cellulose in Lithiumbromidlösung\*.

Von

E. Schauenstein, E. Treiber, W. Berndt, W. Felbinger und H. Zima.

Aus dem Institut für theoretische und physikalische Chemie der Universität Graz.

Mit 12 Abbildungen.

(Eingelangt am 18. Dez. 1953. Vorgelegt in der Sitzung am 14. Jan. 1954.)

Die Auflösung von reinem, entbastetem Seidenfibroin in konz. LiBr führt zu einer Abnahme der Peptenolatabsorption im Gebiete von  $4000 \text{ mm}^{-1}$  und zu einer Verschiebung der phenolischen Tyrosindissoziationskurve nach kleineren pH-Werten. Daraus wird auf eine Sprengung von Wasserstoffbrücken zwischen den Peptidgruppen geschlossen. Die festgestellten Effekte sind reversibel, wie Messungen an dialysierten Seidenlösungen zeigen.

Analoge Messungen an Cellulose führen zu einer Erhärtung gegenwärtiger Vorstellungen über den Mechanismus der Photolyse und erlauben gewisse Hinweise auf die Natur der  $\beta$ -Cellulose.

Die Eigenschaften hochmolekularer Stoffe werden in erheblichem Ausmaß durch den molekularen und übermolekularen Bau bestimmt. Morphologische Faktoren treten in wirksamer Konkurrenz mit der chemischen Natur der Kettenglieder. Bekanntlich verdanken fast alle Faserstoffe (Ausnahme z. B. Glasfasern) ihre Fasereigenschaft Kettenmolekülen, die sich perlschnurartig aus verschiedenen Grundbausteinen aufbauen können. Weiters werden die Eigenschaften geprägt von der Kettenlänge und Orientierung, Faltung, Packung, Textur usw. Solche

---

\* Die vorliegende Arbeit sei Herrn Prof. Dr. A. Franke aus Anlaß seines 80. Geburtstages ergebenst gewidmet. Mit den Autoren entbieten alle Angehörigen des Institutes für theoretische und physikalische Chemie der Universität Graz dem Jubilar die herzlichsten Wünsche. Der Vorstand des Institutes: O. Kratky.

Hinweise machen u. a. verständlich, daß sich z. B. auffallend viele Parallelen zwischen Seide und Cellulose ergeben. Die Unlöslichkeit in den üblichen Lösungsmitteln ist in beiden Fällen sicher durch die starken zwischenmolekularen Wechselwirkungen bedingt, die wohl intermicellare Einlagerungen (Inklusion, Hydratisierung usw.) zulassen können, jedoch einer monodispersen Zerteilung im Wege stehen. Speziell für das Seidenfibroin, aber auch weitgehend für die Cellulose, sind unter den zwischenmolekularen Kräften besonders Wasserstoffbrücken maßgebend. Es ist daher nicht verwunderlich, daß viele Reagenzien, denen vornehmlich eine wasserstoffbrückensprengende Wirkung zugesprochen wird, sowohl Seidenfibroin als auch Cellulose lösen; für beide Substanzen stellt z. B. Kupferäthylendiamin wohl eines der besten Lösungsmittel dar.

Obwohl über die Ursachen der Lyotropie — über das „In-Lösung-Gehen“ — von Makromolekülen in konzentrierten Salzlösungen — heute noch wenig bekannt ist, darf wohl angenommen werden, daß die Auflösung in den meisten Fällen — zumindest primär — in einer Sprengung der H-Brücken besteht, wie dies z. B. an *Seide*<sup>1 a, b</sup> wie auch an *Wolle*<sup>2</sup> nachgewiesen wurde. Das Lösevermögen bestimmter Salze hat in letzter Zeit — vielfach gerade im Zusammenhang mit optischen Messungen — erneute Aufmerksamkeit gefunden. Es sei hingewiesen auf die zusammenfassende Arbeit von *Dobry*<sup>3</sup> und ihre UV-Untersuchung an Polyacrylonitril, gelöst in  $\text{NaClO}_4$ , sowie auf die Ausführungen von *Bartunek*<sup>4</sup>, die sich auf Cellulose beziehen. Leider wissen wir noch wenig über die Beeinflussung des gelösten Stoffes durch die konzentrierte Salzlösung. In einigen Fällen entstehen, wie z. B. sicher beim LiCNS nachgewiesen, mit Cellulose Additionsverbindungen, bei  $\text{Be}(\text{ClO}_4)_2$  wäre mit Oxydationswirkungen zu rechnen<sup>5</sup> und in  $\text{ZnCl}_2$  werden, wie z. B. im Falle der Cellulose, bekanntlich starke Abbaueffekte beobachtet. Über eine Entstehung chromophorer Dehydratisierungsprodukte bei Cellulose (furfurolartige Stoffe) durch warme LiBr-Lösung ist nichts bekannt.

Nehmen wir nun an, daß sowohl bei der Seide als auch bei Cellulose die Behandlung mit konzentrierter LiBr-Lösung zu einer Sprengung von Wasserstoffbrücken führt, so zeigt eine nähere Betrachtung der speziellen Verhältnisse, daß sich ein solches, äußerlich ähnliches, chemisches Verhalten spektral in grundverschiedener Weise dokumentieren müßte.

Das liegt darin begründet, daß in der Seide im wesentlichen Brücken

<sup>1</sup> a) *E. Ambrose, C. H. Bamford, A. Elliott und W. Hanby, Nature* **167**, 264 (1951). — b) *B. Toms und A. Elliott, ibid.* **169**, 877 (1952).

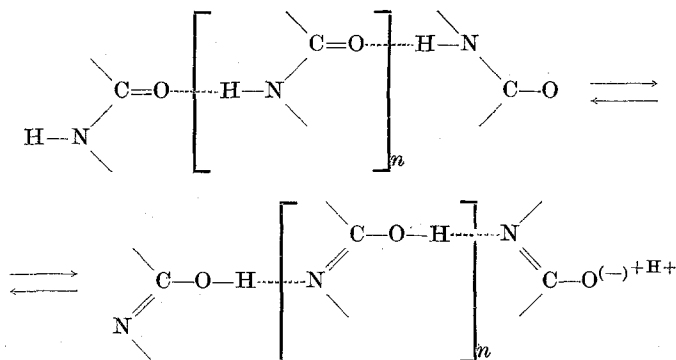
<sup>2</sup> *P. Alexander, Ann. N. Y. Acad. Sci.* **53**, 653 (1951).

<sup>3</sup> *A. Dobry-Duclaux, Chem.-Ztg.* **76**, 805 (1952).

<sup>4</sup> *R. Bartunek, Das Papier* **7**, 153 (1953).

<sup>5</sup> Auch im Falle des Polyacrylonitrils in  $\text{NaClO}_4$  treten möglicherweise ähnliche Effekte auf (*W. Berndt*).

vom Typ N-H...O vorhanden sind, in der Cellulose aber O-H...O-Brücken. Beide Brückentypen sind nicht als selbständige chromophore Gruppierungen aufzufassen. Beim Eiweiß aber ermöglichen ausgedehnte Systeme des oben genannten Typs in alkalischer Lösung eine Enolatbildung der H-gebundenen Peptidgruppen nach folgendem Schema<sup>6 a, b, c, d</sup>:



Damit ist verbunden das Auftreten der Absorption der Enolatgruppen („Peptenolatgruppen“) in alkalischem Medium, die sich additiv der Eigenabsorption der aromatischen Aminosäuren im Gebiet von etwa 4000  $\nu'$  überlagert.<sup>8</sup>

Da nur die Anwesenheit ausgedehnter H-Brückensysteme<sup>7</sup> die Voraussetzung für eine solche Enolatbildung darstellt, ist es einleuchtend, daß aus der Stärke der zusätzlichen Peptenolatabsorption<sup>7a</sup> auf die An- oder Abwesenheit von interpeptidischen H-Brücken geschlossen werden kann.

Demgegenüber ist bei der Cellulose mit ähnlichen Effekten im UV nicht zu rechnen. Damit fällt auch die Möglichkeit eines indirekten eindeutigen Nachweises solcher Brücken im UV weg.

Jedoch muß nach Aufhebung aller zwischenmolekularen Kräfte bei Cellulose eine Beobachtung der vermuteten Eigenabsorption möglich sein, die bei der Cellulose insofern von erheblichem Interesse ist, als Einblicke in den Mechanismus der Photolyse erwartet werden dürfen.<sup>7b</sup>

Auch darf darüber hinaus gegebenenfalls erwartet werden, daß solche Absorptionsmessungen Anhaltspunkte über die Natur von Fremdgruppen

<sup>6 a)</sup> E. Schauenstein, Mh. Chem. 80, 820 (1949). — b) O. Kratky und E. Schauenstein, Z. Naturforsch. 5 b, 281 (1950). — c) O. Kratky und E. Schauenstein, Trans. Faraday Soc., Discuss. 1951, Nr. 11. — d) E. Schauenstein, Melliands Textilber. 33, 591 (1952).

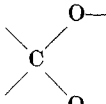
<sup>7</sup> K. Wirtz, Z. Elektrochem. 54, 47 (1950).

<sup>7a</sup> Wir verdanken Herrn Prof. Dr. B. Eistert den Hinweis, daß an Stelle der bisher gebrauchten Bezeichnung „Peptenol“ der Ausdruck „Peptenolat“ zu setzen ist.

<sup>7b</sup> Vgl. A. Sippel, Reyon Zellwolle, 1953, Heft 9, 3.

liefern sowie über Veränderungen, die einzelne Kettenglieder unter dem Einfluß von Oxydantien u. dgl. erleiden, Aufschluß geben. Fortschritte in dieser Richtung würden einen Beitrag zum Problem der Depolymerisationsreaktionen u. ä. liefern. Schließlich lassen sich in weiterer Folge vielleicht auch Hinweise auf nichtcellulosische Begleitstoffe und deren Natur grundsätzlich erwarten.

Zufolge des Fehlens einer markanten Selektivabsorption im zugänglichen Bereich des Quarz-UV bei Cellulose, die wir in erster Näherung, wie ältere Untersuchungen zeigten, bis ins fernere UV als weitgehend transparent ansprechen müssen, treten gegenüber der Untersuchung des Seidenfibroins mit dem stark chromophoren l-Tyrosin erhebliche Schwierigkeiten auf, die im experiment. Teil noch einer kurzen näheren Erwähnung bedürfen. Vorwegnehmend sei festgestellt, daß chromophore Effekte bei Cellulose durch einen verbotenen Übergang der OH-Gruppe zu erwarten sind, sowie durch schwache Resonanzeffekte der Kon-

figuration  <sup>8</sup>. Mit einer Komplikation durch End- und Fremd-

gruppen sowie Fehlerstellen und Assoziationen mit diversen Cellulosebegleitern ist grundsätzlich zu rechnen. Infolge der strukturellen Eigenart des Cellulosebausteins ist eine Fixierung tautomerer, im UV beobachtbarer Grenzstrukturen durch H-Brücken — im Gegensatz zum Eiweiß — nicht anzunehmen. Ein Einfluß der H-Brücken kann sich höchstens auf eine Absorption der OH-Gruppen und eventueller Carbonylgruppen, die in den Fremdgruppen usw. vereinzelt auftreten können, auswirken.

### I. Untersuchungen am Seidenfibroin.

Reines, entbastetes Seidenfibroin stellt für UV-spektrographische Messungen insofern ein besonders günstiges Objekt dar, als es 10 bis 14% l-Tyrosin enthält, das zunächst die einzige praktisch wirksame chromophore Gruppe in der Seide darstellt. Vorangegangene Untersuchungen mit *Berndt*<sup>9,6a</sup> am renaturierten Seidenfibroin ergaben aber die bereits erwähnte Überlagerung der Tyro inbande mit der speziell den H-gebundenen Peptidgruppen zugeschriebenen zusätzlichen Absorption, im alkalischen Medium also mit der Peptenolat-Absorption. — Als niedermolekulare Modellsubstanz für den Peptenolat-Effekt wurde zunächst, gemeinsam mit *Bürgermeister*<sup>10</sup> das cycl. Glycyltyrosinanhidrid eingehend untersucht<sup>6a</sup>, das praktisch genau den gleichen Effekt der Zusatz-

<sup>8</sup> H. Mohler und J. Sorge, *Helv. Chim. Acta*, **23**, 1200 (1940).

<sup>9</sup> W. Berndt, *Diss. Univ. Graz* (1951).

<sup>10</sup> E. Bürgermeister, *Diss. Univ. Graz* (1950).

absorption im neutralen und alkalischen Gebiet zeigt. Hier kann also die Voraussetzung für eine Enolatbildung der CO-NH-Gruppe nicht durch eine Wasserstoffbindung, sondern nur durch den starren Einbau in das Ringsystem des Diketopiperazins gegeben sein.

*Präparatives:* Es wurden Kokonfäden von *Bombyx mori* mit 1,5%iger Sodalösung bei 80° C entbastet, wobei die Lösung 3mal gewechselt wurde. Nach gründlichem Wässern der Seide wurde diese luftgetrocknet und in diesem Zustand nach vorheriger Einwaage in einer gesättigten Lösung von

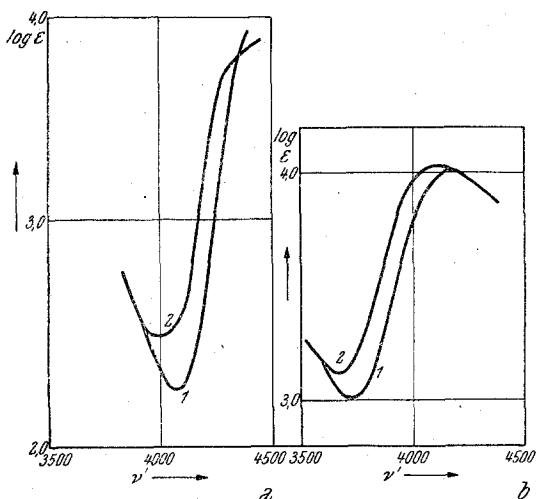


Abb. 1 a. Absorptionsdifferenz zwischen Glycyltyrosin anhydrid und L-Tyrosin bei pH 6,3 nach Schauenstein und Bürgermeister<sup>8 d</sup>. Kurve 1: L-Tyrosin, Kurve 2: Glycyltyrosin anhydrid.  
Abb. 1 b. Absorptionsdifferenz zwischen Glycyltyrosin anhydrid und L-Tyrosin bei pH 13. Kurve 1: L-Tyrosin, Kurve 2: Glycyltyrosin anhydrid.

torblende<sup>11</sup>). Von besonderem Interesse ist natürlich der Vergleich mit den wässrigen Lösungen von Seidenfibroinogen<sup>12</sup>, wie sie in Kurve 2 der Abb. 2 eingezeichnet ist. Man kann zunächst die befriedigende Übereinstimmung der beiden Maxima hinsichtlich der Extinktionshöhe feststellen, woraus geschlossen werden darf, daß der Tyrosingehalt beider Präparate praktisch der gleiche ist (Fehlergrenze der Methode  $\pm 0,02$  in  $\log \epsilon'$ ). Die geringe, außerhalb der Fehlergrenze liegende Abweichung der Extinktionskoeffizienten ( $0,02 \log \epsilon'$ ) dürfte wohl auf Unterschiede im Wassergehalt der Seide zurückgehen.

<sup>11</sup> H. v. Halban, G. Kortüm und B. Szigethi, Z. Elektrochem. 42, 628 (1936).

<sup>12</sup> D. Coleman und F. O. Howitt, Proc. Roy. Soc. London, Ser. A 190, 145 (1947); vgl. auch Anm. 6 d.

Lithiumbromid gelöst. Das Lithiumbromid war vorher durch 5maliges Umkristallisieren auf optische Reinheit gebracht worden. Es wurden 100 mg Seide in 64 ml Lithiumbromid bei Zimmertemperatur innerhalb von zirka 12 Std. gelöst. Nach dieser Zeit haftet ein Teil der Substanz als zähe, fadenziehende Masse an den Gefäßwänden, die erst beim Verdünnen mit Wasser sich restlos auflöst.

Lösung in gesättigtem Lithiumbromid.

Das Spektrum solcher gesättigter Lithiumbromid-Seidelösungen zeigt die Kurve 1 in Abb. 2 (Methode: Doppelspektren mit rotierender Sektorblende<sup>11</sup>).

Wesentlich ist aber die Tatsache, daß das Maximum der Seide in Lithiumbromid um rund  $50 \nu'$  kurzwelliger liegt, was bereits darauf schließen läßt, daß die Einwirkung des Lithiumbromids zu einer weitgehenden Sprengung des Teilchenverbandes geführt hat. Ob und in welchem Ausmaß diese Sprengung peptidische Bindungen oder Nebenvalenzbindungen erfaßt hat, läßt sich ohne Dialyse nicht ohne weiteres entscheiden. Das starke Absinken des Minimums bei  $4000 \nu'$  in der LiBr-Lösung läßt aber bereits die offenbar unter der Einwirkung der hochkonzentrierten Salzlösung eingetretene starke Abnahme der Zusatzabsorption erkennen, woraus auf eine Sprengung der präexistenten H-Brücken des Fibroinogens geschlossen werden darf.

#### Lösung in verdünntem Lithiumbromid.

Nun wurde der Einfluß einer Verdünnung der gesättigten LiBr-Seidelösung mit dest. Wasser (1 : 3) untersucht. Das bei pH 5,15 resultierende Spektrum ist in Kurve 3 der Abb. 3 wiedergegeben. Im Vergleich zum Seidenspektrum in gesättigtem Lithiumbromid treten keine großen Unterschiede auf, nur das Maximum ist um  $15 \nu'$  wieder nach rot gerückt. Vergleichen wir mit den Kurven von Glycyltyrosinanhidrid (Kurve 2) und Tyrosin (Kurve 1), beide vollständig in der Phenolform, so erkennt man, daß das Minimum der gelösten Seide deutlich tiefer liegt als im Anhydridspektrum, den Wert des freien Tyrosins aber bei weitem noch nicht erreicht. Auch der steile UV-Ast liegt gegenüber Fibroinogen und Glycyltyrosinanhidrid merklich kurzwelliger. Daraus ergibt sich:

1. Die schwächere Zusatzabsorption der Seide in Lithiumbromid bei  $\text{pH} \leq 7$  läßt im Vergleich zum Anhydrid und Fibroinogen darauf schließen, daß bei der Lösung in Lithiumbromid ein Teil der H-Brücken zwischen den Peptidgruppen gesprengt worden ist.

2. Die bereits meßbar gewordene hypsochrome Verschiebung des UV-Astes, an dessen Lage bekanntlich auch die Absorption der normalen,

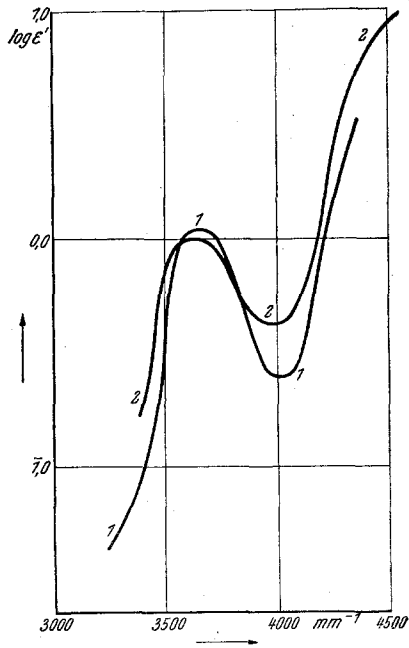


Abb. 2. Kurve 1: Seide in ges. LiBr, Kurve 2: Seidenfibroinogen in Wasser nach *Schauenstein* und *Berndt*<sup>6</sup>d.

d. h. nicht H-gebundenen, mesomeren CO-NH-Gruppen beteiligt ist, zeigt, daß auch bereits an die Möglichkeit einer gleichzeitigen Proteolyse gedacht werden muß.

Ein strenger Vergleich der Spektren 2 und 3 der Abb. 3, die alle sicherlich den zu 100% in der Phenolform vorliegenden Tyrosingruppen entsprechen, mit dem bei pH 6,3 gemessenen Spektrum des Seidenfibroinogens (Kurve 4) ist nicht möglich, weil das Tyrosin im Fibroinogen auch bei pH 6,3 noch nicht vollständig in der Phenolform vorliegt<sup>13</sup>; trotzdem läßt der Vergleich mit dem Anhydridspektrum, das ja praktisch die Absorption der Phenolform des Tyrosins im Fibroinogen repräsentiert<sup>14</sup>, die Aussage zu, daß die Lösung in Lithiumbromid einen Teil der H-Brücken zwischen den Peptidgruppen des Fibroinogens gesprengt hat. Das Kurvenstück 1a in Abb. 3 stellt die Überlagerung der reinen Tyrosinabsorption mit der mesomeren Peptidabsorption dar, also jenes Spektrum, das bei Sprengung sämtlicher H-Brücken zu erwarten wäre. Als Beispiel für ein Protein, dessen Spektrum den Kurvenverlauf vom Typ 1a (Abb. 3) zeigt, sei das Rinderfibrinogen genannt<sup>15,16</sup>. Die experimentellen Kurven 1 Abb. 2, bzw. 1 Abb. 3 zeigen, daß die Sprengung nur einen Teil dieser H-Brücken erfaßt haben kann. Quantitative Aussagen über das Ausmaß der Spaltung lassen sich den Spektren nicht entnehmen.

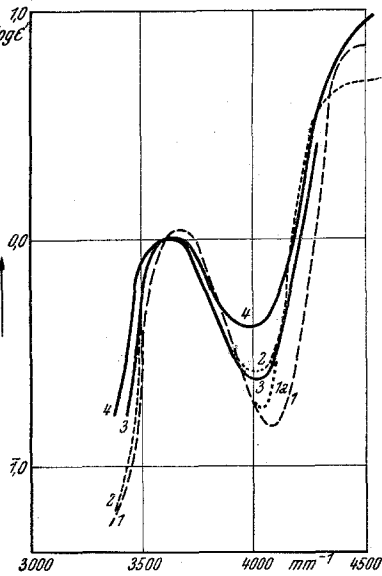


Abb. 3. Kurve 1: l-Tyrosin nach Schauenstein und Treiber<sup>23</sup>, Kurve 2: Glycyltyrosinanhydrid nach Schauenstein und Bürgermeister<sup>6 d</sup>, Kurve 3: Seide in verd. LiBr, pH 5,15, Kurve 4: Seidenfibroinogen nach Schauenstein und Berndt<sup>13</sup> in Wasser.

Um die bisherigen Aussagen weiterhin zu überprüfen, wurde nunmehr das Absorptionsspektrum der verdünnten LiBr-Seidelösung bei pH 13 vermessen. Aus dieser Aufnahme lassen sich Rückschlüsse auf die Absorption der Phenolform der in der Seide eingebauten Tyrosinreste bzw. der Enolform der H-gebundenen Peptidgruppen gewinnen und es war

<sup>13</sup> W. Berndt, Diss. Univ. Graz (1951); vgl. auch Anm. 6 d.

<sup>14</sup> Anm. 6 d.

<sup>15</sup> M. Hoehenegger, Diss. Univ. Graz (1952).

<sup>16</sup> E. Schauenstein und M. Hoehenegger, Z. Naturforsch. 8 b, 473 (1953).

zu erwarten, daß sich eine sinngemäße Übereinstimmung mit den bisherigen Ergebnissen zeigen würde. Die folgende Abb. 4 zeigt in Kurve 1 das Spektrum der verdünnten LiBr-Seidelösung bei pH 13. Man sieht hier die Effekte noch deutlicher und es ergibt sich daraus, daß die oben ausgesprochene Erwartung tatsächlich vollauf zutrifft. Die Kurve stimmt einerseits im Maximum bei 3430  $\nu'$  mit den Kurven von renaturierter Seide, Glycyltyrosinanhydrid und freiem l-Tyrosin gut überein,

zeigt andererseits aber ab 3700  $\nu'$  eine viel geringere Zusatzabsorption als das Fibroinogen, bzw. das Anhydrid. Im Vergleich zum Tyrosin jedoch verbleibt noch eine geringe Mehrabsorption in diesem Gebiet. In völliger Analogie zu den Ergebnissen, die bei  $\text{pH} \geq 7$  hinsichtlich der Absorption der Phenolform des Tyrosins, bzw. der Ketoform der H-gebundenen Peptidgruppen, gewonnen wurden (vgl. Abb. 3), können wir somit auch den Kurven der Abb. 4 (Phenolatform) entnehmen, daß die Lösung in Lithiumbromid einen beträchtlichen Teil der Zusatzabsorption zum Verschwinden gebracht hat, die im Spektrum von renaturierter Seide bzw. Glycyltyrosinanhydrid in Erscheinung tritt. Nachdem diese Zusatzabsorptionen den Enolatformen der zum Tyrosinrest benachbart stehenden Peptidgruppen zugeschrieben worden waren, die sich auf Grund von H-Brücken im Sinne von Wirtz ausbilden können, müssen wir

auch aus den Kurven der Abb. 4 den Schluß ziehen, daß die Einwirkung des Lithiumbromids einen Teil dieser H-Brücken gesprengt hat.

Eine weitere Untersuchungsmethode ist durch die Ermittlung der phenolischen Dissoziationskurve der Tyrosingruppen gegeben. Hierzu sei nochmals bemerkt, daß das Absorptionsband mit dem Maximum bei zirka 3600  $\nu'$  (vgl. Abb. 2 und 3) der reinen Phenolform, das Absorptionsband mit dem Maximum bei 3430  $\nu'$  (Abb. 4) der reinen Phenolatform des Tyrosins (freie Aminosäure, eiweißgebunden oder als cyclisches Anhydrid) zuzuschreiben ist. Beide Absorptionsbanden wandeln sich kontinuierlich, dem MWG folgend, ineinander um und wenn man bei einer beliebigen, aber konstanten Wellenlänge die Extinktionen bei verschiedenem pH mißt, so kann man daraus die phenolische Dissoziations-

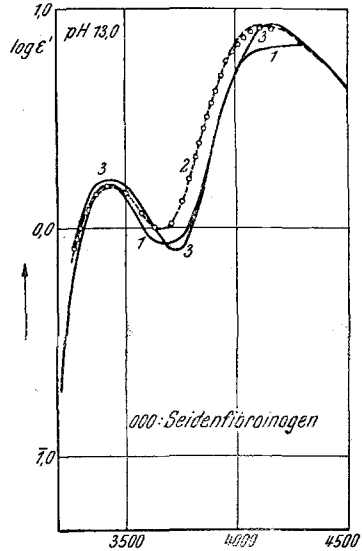


Abb. 4. Kurve 1: Seide in verd. LiBr, pH 13, Kurve 2: Glycyltyrosinanhydrid, pH 13, Kurve 3: l-Tyrosin, pH 13; Seidenfibroinogen, pH 13.



kurve errechnen<sup>17,18,19</sup>. Im folgenden konkreten Fall wählen wir hierzu 4000  $\nu'$ , weil hier die spektralen Effekte in ausreichendem Maß erscheinen und gleichzeitig eine günstige Kurvensteigung vorliegt. Setzt man also die Extinktion bei 4000  $\nu'$ , die sich bei pH 13 einstellt, gleich 100% Phenolatform ( $\epsilon'_{O(-)}$ ) und die bei pH 5,15 gemessene ( $\epsilon'_{OH}$ ) gleich 0% Phenolatform (100% Phenolform), so entspricht die Differenz beider

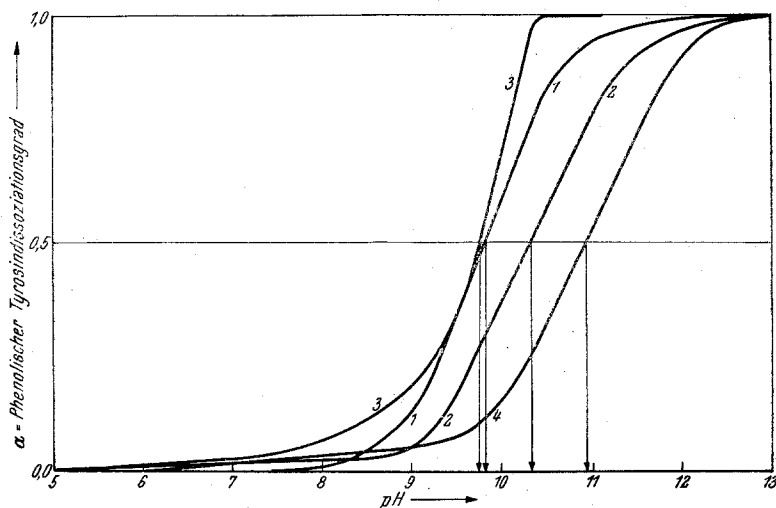


Abb. 5. Kurve 1: l-Tyrosin nach Schauenstein und Treiber<sup>23</sup>, Kurve 2: Seidenfibrinogen nach Schauenstein und Berndt<sup>13, 6d</sup>, Kurve 3: Seide in verd. LiBr, Kurve 4: Lithiumbromid-Seide, dialysiert.

Werte dem durch die Phenolatabsorption hervorgerufenen Absorption-zuwachs. Ermittelt man bei einem beliebigen Zwischen-pH-Wert die Extinktion bei 4000  $\nu'$  ( $\epsilon'_{\kappa}$ ), so ergibt sich der Prozentsatz Phenolat aus der Beziehung:

$$\% \text{ Phenolat} = \frac{\epsilon'_{\kappa} - \epsilon'_{OH}}{\epsilon'_{O(-)} - \epsilon'_{OH}} \cdot 100,$$

womit der phenolische Dissoziationsgrad  $\alpha$  bestimmt ist. Diese  $\alpha$ -Werte, gegen das pH aufgetragen, ergeben dann die phenolische Dissoziationskurve des Tyrosins, die sich somit auf optischem Wege verhältnismäßig einfach und sicher bestimmen läßt. Es ist nun allgemein bekannt, daß der Einbau des Tyrosins in einen Eiweißkörper die phenolische Dissozia-

<sup>17</sup> N. Kretchmer und R. Taylor, J. Amer. Chem. Soc. 72, 3291 (1950).

<sup>18</sup> M. Ratzenhofer, E. Schauenstein und W. Berndt, Z. Biologie 104, 384 (1951).

<sup>19</sup> E. Katchalsky, J. Amer. Chem. Soc. 75, 284 (1953).

tionskurve nach höheren pH-Werten verschiebt, was in der Literatur mit der Überlagerung der elektrischen Felder der sonstigen im Eiweiß anwesenden polaren oder ionoiden Gruppen erklärt wird<sup>20,21</sup>. Auch die renaturierte Seide fügt sich in diese empirische Regel sehr gut ein, wie die beiden Dissoziationskurven 1 und 2 der Abb. 5 zeigen.

Auch die verdünnte LiBr-Seidelösung ermöglicht Spektralaufnahmen bei verschiedenem pH-Wert, wobei die Kurvenschar der Abb. 6 resultiert. Die nach dem oben beschriebenen Verfahren entnommene phenolische Dissoziationskurve ist in Abb. 5, Kurve 3, eingetragen. Wie man der Abb. 5 entnehmen kann, ist in der LiBr-Lösung der Seide ein doppelter Effekt im phenolischen Dissoziationsverhalten aufgetreten, nämlich eine Verschiebung der Kurve und gleichzeitig eine Abweichung von jenem Kurvenverlauf, der durch das MWG bestimmt ist. Die Verschiebung erfolgt rückläufig gegen kleinere pH-Werte und ist so stark, daß die Dissoziationskurve im linearen Abschnitt wieder praktisch mit der des freien Tyrosins zusammenfällt. Wie einfach aus dem MWG abzuleiten ist<sup>22</sup>, stellt jener pH-Wert, der einem  $\alpha$ -Wert von 0,5 entspricht, den negativen

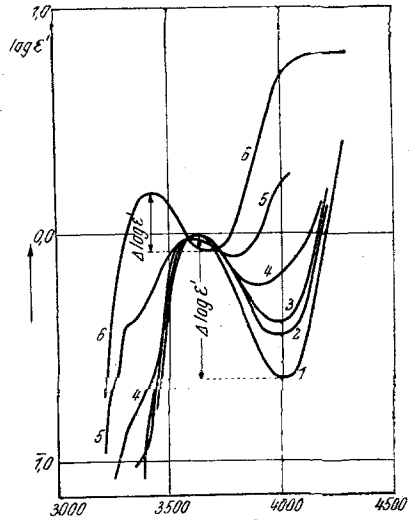


Abb. 6. Seide in verd. LiBr, Kurve 1: pH 5,15, Kurve 2: pH 6,15, Kurve 3: pH 7,70, Kurve 4: pH 8,15, Kurve 5: pH 9,50, Kurve 6: pH 10,5 bis 13.

Logarithmus der Dissoziationskonstante, also in unserem Fall  $pK_{\text{Phenol}}$  dar und wir dürfen somit aus der Koizidenz der Kurven 1 und 3 der Abb. 5 entnehmen, daß die Oxyphenylgruppen der in Lithiumbromid gelösten Seide praktisch die gleiche Dissoziationskonstante haben wie das freie Tyrosin.

Die Abweichung vom MWG, offenbar eine charakteristische Wirkung des Lithiumbromids, läßt derzeit noch keine gesicherte Diskussion zu.

Fassen wir zusammen, so können wir sagen, daß die Lösung der Seide in Lithiumbromid folgende spektralen Veränderungen im Vergleich zum renaturierten Fibroinogen, bzw. zum freien Tyrosin bewirkt hat:

<sup>20</sup> Ch. Tanford, J. Amer. Chem. Soc. 72, 302 (1950).

<sup>21</sup> J. L. Crammer und A. Neuberger, Biochemic. J. 37, 302 (1943).

<sup>22</sup> L. Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin: Springer-Verlag, 1922.

a) Das Absorptionsmaximum im Neutralgebiet rückt in der konzentrierten Lithiumbromidlösung merklich nach kürzeren Wellen (vgl. Spalte a der Tabelle 1). In der verdünnten LiBr-Seidelösung jedoch zeigt es wieder den beim Fibroinogen gemessenen  $\nu'$ -Wert.

b) Die Zusatzabsorptionen, die im neutralen und im alkalischen Gebiet bei der renaturierten Seide festgestellt wurden, verschwinden zu einem erheblichen Teil. Als Maß können die Extinktionsdifferenzen herangezogen werden, die zwischen Maximum und Minimum beobachtet wurden (vgl. Spalte b der Tabelle 1).

c) Die phenolische Dissoziationskurve der Tyrosingruppen verschiebt sich nach kleineren pH-Werten. Als Maß für diesen Effekt kann die bei  $\alpha = 0,5$  ermittelte Dissoziationskonstante dienen (vgl. Spalte c der Tabelle 1).

d) Der bei  $\text{pH} \leq 7$  gemessene steil ansteigende UV-Ast ist um zirka 30  $\nu'$  hypsochrom verschoben.

Die unter a, b, c genannten Effekte weisen alle in die gleiche Richtung und lassen den Schluß zu, daß die Lösung in Lithiumbromid einen Teil der H-Brücken zwischen  $>\text{C}=\text{O}$ - und  $-\text{N}-\text{H}$ -Gruppen des Fibroins gesprengt hat. Außerdem läßt aber die hypsochrome Verschiebung des UV-Astes bei  $\text{pH} \geq 7$  eine bereits nicht mehr vernachlässigbare Proteolyse vermuten.

Das Substrat dürfte demnach einerseits aus niederen Peptiden, eventuell freiem Tyrosin, andererseits aus hochmolekularen Anteilen, zum Teil sicher noch aus Eiweißteilchen bestehen.

Eine Dialyse der Lösung müßte das Lithiumbromid sowie die niederen Komponenten weitgehend entfernen und damit die spektrale Untersuchung des nicht mehr dialysierbaren hochmolekularen Anteiles ermöglichen. Hiervon lassen sich Aufschlüsse erwarten, ob es bei Entfernung des Lithiumbromids etwa zu einer neuerlichen Ausbildung von Wasserstoffbrücken kommt.

Tabelle 1.

	pH 7		pH 13	pK
	$\nu'_{\text{max}}$	$\Delta \log \epsilon'^*$	$\Delta \log \epsilon'^*$	
Fibroinogen .....	3645	0,40	0,21	10,33
Seide in LiBr ges. ....	3655	0,87	nicht bestimmt	
„ „ „ verd. ....	3640	0,63	0,26	9,85
l-Tyrosin .....	3660	0,87	0,30	9,85
	a	b		c

\*  $\Delta \log \epsilon'$  bedeutet die Differenz:  $\log \epsilon'_{\text{max}} - \log \epsilon'_{\text{min}}$  (vgl. hierzu Abb. 6!).

Messungen an der dialysierten Seidenlösung.

Zu diesem Zweck wurden die Lösungen der Seide in gesättigtem Lithiumbromid, nach Verdünnung mit dest. Wasser (1 : 2), in Kollodiumsäckchen mindestens 36 Stdn. bei Zimmertemperatur gegen dest. Wasser dialysiert. Nach diesem Zeitraum konnte im Wassermantel des Dialysators kein Br<sup>-</sup> mehr nachgewiesen werden. Die so von Lithiumbromid befreite Lösung zeigte starke Eiweißfällungsreaktionen und ergab, bei verschiedenen pH-Werten spektrographiert, die Kurvenschar der Abb. 7.

Wie schon die starke Fällungsreaktion zeigte, ergibt auch das Spektrum eindeutig die Anwesenheit tyrosinhaltiger hochmolekularer Komponenten mit Eiweißcharakter<sup>23</sup>. Betrachten wir zunächst die bei pH 5,75 erhaltene Kurve 1 der Abb. 7 im Vergleich zu Kurve 1 der Abb. 6, so fällt auf, daß die Dialyse zu einer *Hebung des Minimums bei 4000 v'* geführt hat, wie Tabelle 2 zeigt. Es soll hier gleich bemerkt werden, daß auch noch höhere Lagen des Minimums beobachtet wurden, jedoch unter nicht näher untersuchten und daher nicht befriedigend reproduzierbaren Bedingungen. Über das Ausmaß der Hebung des Minimums kann somit keine endgültige Aussage gemacht werden, doch ist an der Realität des Effekts nicht zu zweifeln. Wiederum treten die gleichen Effekte, nur viel deutlicher, bei den bei pH 13 aufgenommenen Spektren zutage (Tabelle 2).

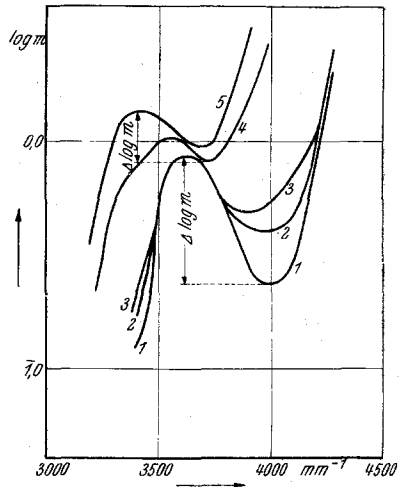


Abb. 7. Lithiumbromid-Seide, dialysiert. Kurve 1: pH 5,75, Kurve 2: pH 8,65, Kurve 3: pH 9,70, Kurve 4: pH 10,80, Kurve 5: pH 12,75.

Tabelle 2.

	pH 13	pH 5,15—5,75
	$\Delta \log \epsilon'$	$\Delta \log \epsilon'$
Seide in LiBr verdünnt .....	0,26	0,63
„ „ „ dialysiert .....	0,16*	0,55, 0,30*
Glycyltyrosinanhidrid .....	0,20	0,59
Fibroinogen .....	0,21	0,40
Tyrosin .....	0,30	0,87

\* Für die Größe dieser Werte ist es belanglos, ob die Kurve in m oder  $\epsilon'$  angegeben wird.

<sup>23</sup> E. Schauenstein und E. Treiber, J. Polymer Sci. 5, 145 (1950).

Wir sehen, daß in der dialysierten Lösung die Absorptionsdifferenz zwischen Maximum und Minimum den beim Glycyltyrosinanhydrid bzw. Fibroinogen festgestellten Wert bereits unterschritten hat. Der kurzwellige Kurvenast hat wieder eine deutliche Rotverschiebung erfahren und besitzt die gleiche Absorptionslage wie Glycyltyrosinanhydrid bzw. Fibroinogen (Abb. 8). Wir entnehmen daraus, daß die Effekte, die durch die Lösung der Seide in gesättigtem Lithiumbromid bewirkt wurden, reversibel sind und daß nach Entfernung des Salzes die Zusatzabsorption

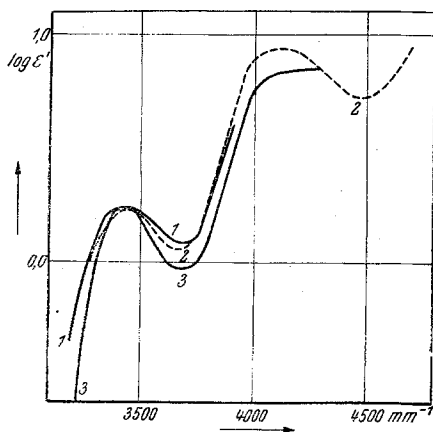


Abb. 8. Kurve 1: Lithiumbromid-Seide, dialysiert, pH 13, Kurve 2: Glycyltyrosinanhydrid bzw. Seidenfibroinogen, pH 13, Kurve 3: Seide in verd. LiBr, pH 13.

sogar noch etwas stärker auftritt als bei Fibroinogen bzw. Glycyltyrosinanhydrid. Die spektralen Änderungen, die wir an der dialysierten Lösung feststellten, dürfen auf Grund der bisherigen Ergebnisse allgemein im Sinne einer Änderung im Aufbau des Teilchens gedeutet werden. Die spezielle Interpretierung geht dahin, daß eine Restitution von Wasserstoffbrücken zwischen den Peptidgruppen der Tyrosinbausteine angenommen wird. Wenn diese Deutung stimmt, so muß man erwarten, daß sich auch die phenolische Dissoziationskurve der Tyrosylgruppen in der dialysierten Seidenlösung wieder nach

höheren pH-Werten verschoben hat. Um diese Frage zu prüfen, wurden die Kurven der Abb. 7 in Richtung auf den phenolischen Dissoziationsgrad ausgewertet, wobei die Dissoziationskurve 4 der Abb. 5 resultiert. Das Ergebnis bestätigt vollauf die Richtigkeit unserer Erwartung, wobei es von besonderem Interesse ist, daß die phenolische Dissoziationskurve der dialysierten Seidenlösung einerseits genau die gleiche Neigungstangente aufweist wie sie die Kurven des Glycyltyrosinanhydrids und des Fibroinogens zeigen, andererseits aber noch beträchtlich stärker ins alkalische Gebiet verschoben liegt. Dies entspricht überraschend gut der Tatsache, daß das Spektrum der dialysierten Lösung, wie oben erwähnt, eine stärkere Peptenolatabsorption zeigt als das Fibroinogen.

Zusammenfassend ergibt sich somit, daß bei der Dialyse der Lithiumbromid-Seidelösung zweifellos mit einer neuerlichen Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen den Peptidgruppen zu rechnen ist und daß dabei unter Umständen sogar mehr Peptidgruppen vernetzt werden

als im renaturierten Fibroinogen. Diese Befunde stehen in Einklang mit den Ergebnissen der UR-Spektrographie, die von Bamford<sup>1,24</sup> veröffentlicht wurden und aus denen hervorgeht, daß nach der Dialyse von Lösungen der Seide in LiBr keine meßbare Abnahme der H-gebundenen Peptidgruppen eintritt. Offenbar werden also durch die hohe Salzkonzentration die interpeptidischen Wasserstoffbrücken des Seidenfibroins reversibel gelöst, wobei es auch zu einer gleichfalls reversiblen Verschiebung der phenolischen Tyrosindissoziation kommt.

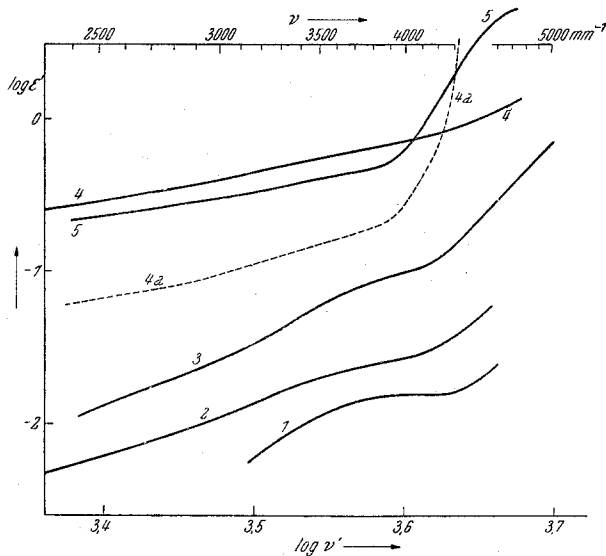


Abb. 9. Schein- und Konsumptivabsorptionskurven im doppeltlogarithmischen Maßstab von: Kurve 1: Cellobiose in Wasser, Kurve 2: Dextran in Wasser, Kurve 3: Amylose in Wasser, Kurve 4: Inulin in Wasser, Kurve 4a: Inulin in Lauge, Kurve 5: Alginsäure (als Film).

Ob und wie weit sich die festgestellte Brückensprengung auf intra- oder intermolekulare H-Brücken bezieht, kann auf Grund der vorliegenden Messungen nicht beurteilt werden.

## II. Untersuchungen an Cellulose.

Bevor wir uns der Diskussion der Meßergebnisse an der Cellulose zuwenden, muß in gedrängter Form untersucht werden, welche Absorptionseffekte wir grundsätzlich bei Cellulose erwarten dürfen und welchen verschiedenen Ursachen sie ihr Entstehen verdanken können.

<sup>24</sup> C. H. Bamford, Trans. Faraday Soc., Discus. 1951, 208, Nr. 11.

Mit Sicherheit auszuschließen ist — wie eingangs betont — im Gegensatz zur Seide die Existenz stark chromophorer Gruppen, selbst dann, wenn wir die möglichen Verunreinigungen usw. in die Betrachtung mit einbeziehen, mit Ausnahme des aromatischen Lignins, welches bei vorliegender Probe aller Voraussicht *nicht* in Erscheinung tritt.

Schwache Absorptionseffekte sind jedoch zunächst in Analogie zu den Alkoholen und Zuckern zu erwarten. Wenn auch das Ausmaß dieser an sich schwachen Effekte heute noch umstritten ist, so ist man gegenwärtig doch geneigt anzunehmen, daß die OH-Gruppe über  $\sim 4300 \text{ mm}^{-1}$  schwach absorbiert (verbotener Übergang). Mehrere OH-Gruppen können sich nun verstärken, auch wenn sie nicht unmittelbar am selben C-Atom sitzen (vgl. <sup>25</sup>). Wir dürfen daher für den Cellobioserest eine ähnliche verwaschene, bathochrom verschobene schwache Absorption — wie sie für verbotene Übergänge charakteristisch ist ( $\epsilon \ll 500$ ) — erwarten, die durch den Einfluß der H-Brücken zumindest stark abgeschwächt, wenn nicht sogar wieder hypsochrom verschoben ist (vgl. Kurve 1, Abb. 9).

Weitere Absorptionseffekte am reinen Polysaccharid wären auf Grund älterer Anschauungen zunächst nicht zu erwarten, es sei denn, man nimmt für die Zuckerreste eine teilweise offene Form an. Das Ausbleiben einer C=O-Bande bei Glucose usw. wird u. a. als ein Beweis dafür gewertet, daß praktisch *ausschließlich* die Cyclohalbacetalform vorliegt. Im

Fall einer partiell offenen Form könnte die Unterdrückung der C=O-Absorption auch durch Hydratisierung und Assoziation erklärt werden, die beispielsweise bereits beim Glycerinaldehyd stark in Erscheinung tritt (Kurve 5, Abb. 10).

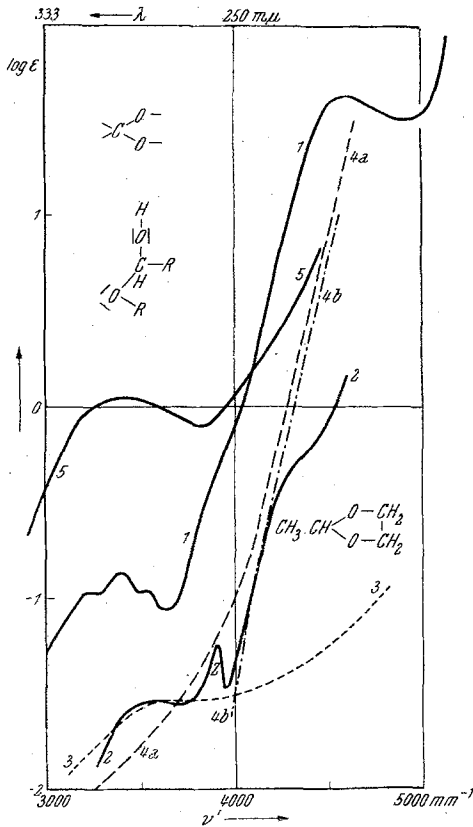
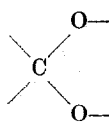


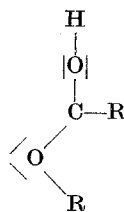
Abb. 10. Molare, dekadische Absorptionskoeffizienten von: Kurve 1:  $\alpha$ -Oxyäthyläthyläther nach Mohler und Sorge, Kurve 2: Glycolacetal nach Felbinger, Kurve 3:  $\alpha$ -Methylglucosid in Wasser nach Berndt (unveröffentlicht), Kurve 4a: Chlorhydrat in 20%igem Alkohol nach Berndt und Lang, Kurve 4b: Chloroform nach Lang und Treiber bzw. Kreman, Pestemer und Bernstein, Kurve 5: Glycerinaldehyd nach Berndt und Treiber\*.

<sup>25</sup> M. Pestemer und H. Duftschmid, Mh. Chem. 73, 254 (1941).

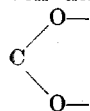
\* Reinsten Glycerinaldehyd wurde uns freundlicherweise von Herrn Prof. V. Frey (Wien) zur Verfügung gestellt, wofür wir bestens danken.



Zusätzliche Effekte sind aber durch die linksstehende Gruppierung gegeben. Die schwach chromophore Eigenschaft der Konfiguration rechts wurde von *Mohler*<sup>8</sup> am  $\alpha$ -Oxyäthyläthyläther erkannt und konnte von uns an mehreren Modellen verifiziert werden<sup>26</sup> (vgl. auch Abb. 10). (Prägnanter tritt der Absorptionseffekt auf, wenn Spannungen in den Bindungen herrschen, wie *Felbinger*<sup>27</sup> am ringförmigen Glycolacetal zeigen konnte.)



Wenn wir von Glucose absehen (man gedenke der erhöhten Reaktionsfähigkeit des am  $C_1$  sitzenden Acetalhydroxyls), wo die Verhältnisse schwerer diskutierbar sind, so tritt uns bereits im  $\alpha$ -Methylglucosid dieser „Chromophor“ ungestört in Erscheinung (Kurve 3, Abb. 10). Auch bei Cellobiose (*Felbinger* und *Treiber*) und ähnlichen Stoffen wurde eine schwache verwaschene Absorption beobachtet, die unserer Auffassung nach weniger von den wasserstoffbrückenbeanspruchten Hydroxylen, als vielmehr vom



-Chromophor herrührt (Abb. 9)<sup>26</sup>.

Die einwandfreie direkte Beobachtung einer solchen Absorption bei Cellulose würde genügen, um den Prozeß der Photolyse im Sinne von *Egerton*, *Sippel*, *Mark*, *Steurer* und *Treiber* zu verstehen, demzufolge Lichtenergie direkt aufgenommen wird, was zu einer Spaltung der  $\beta$ -glucosidischen Bindung führt. Nun ist das Vorliegen einer Absorption über  $3500\text{ mm}^{-1}$  für viele Polysaccharide<sup>26</sup> ziemlich sicher festgestellt (vgl. Abb. 9); ein einwandfreier direkter Nachweis für Cellulose steht aber noch aus, wenn man von den Reflexionsmessungen von *Champetier*<sup>28</sup> absieht (Abb. 11).

An dieser Stelle seien aber gleich noch die Schwierigkeiten derartiger Messungen beleuchtet. Cellophan z. B. scheidet als Untersuchungsobjekt praktisch aus, da neben Rückständen und Zusätzen aus dem Fabrikationsprozeß mit Schädigungen der Cellulose selbst zu rechnen ist, die sich u. a. in einem höheren Carboxylgruppenwert ausdrücken. Veränderungen der Cellulose treten natürlich auch in den gebräuchlichen Lösungsmitteln ein, so daß den durchgeführten Messungen in tiefgekühlter Schwefel- oder Phosphorsäure, Lauge u. ä. für diese Fragestellung kein größeres Gewicht beigelegt werden kann. Aber selbst für den Fall, daß man in den hier zu besprechenden lyotropen Lösungsmitteln ein indifferentes finden würde, erhebt sich noch die Frage nach den Absorptionsbeeinflussungen durch Fremdgruppen.

Im nativen Zustand dürfte an dem einen Kettenende ein Cellulosealdehyd in der Halbacetalform, am anderen Ende wahrscheinlich eine nichtreduzierende OH-Gruppe sich befinden. Halbacetale absorbieren nach *Pestemer*<sup>29</sup> sehr schwach und mit weiteren Schwächungen durch Hydratisierung ist zu rechnen, wie noch ausgeführt werden wird. (Im Zellstoff wird erstere Endgruppe durch die Aufschluß-, Bleich- und Veredlungsprozesse in eine Dilacton- bzw. Carboxylgruppe umgewandelt; über das Schicksal der nichtreduzierenden Endgruppe ist derzeit nichts näheres bekannt.)

<sup>26</sup> *E. Treiber*, Kolloid-Z. **130**, 39 (1953).

<sup>27</sup> *W. Felbinger*, Diss. Univ. Graz (1953).

<sup>28</sup> *G. Champetier* und *R. Marton*, Bull. soc. chim. France (5) **10**, 102 (1943).

<sup>29</sup> *M. Pestemer* und *P. Bernstein*, Mh. Chem. **63**, 236 (1933).



Als Fremdgruppen kommen nach den älteren Auffassungen vornehmlich Ester-, Acetal- und Halbacetalquerbindungen sowie Uronsäuren, nach neueren Überlegungen von *Jørgensen* Xylose- und Mannosereste in Frage. Schließlich ist noch mit der Anwesenheit sekundärer Fehlerstellen zu rechnen, und zwar von Dialdehyd- und Dienolstruktur sowie mit dem Auftreten von Uronsäuren. Zur Frage nach deren Absorption ist summarisch festzustellen, daß die Übergangswahrscheinlichkeit eines C=O-Chromophors durch —OH- und —O-Substituenten kleiner wird (*Mohler*) und daß zusätzlich mit weitestgehender oder vollständiger Hydratisierung zu rechnen ist, was auch *Rowen* auf Grund von UR-Messungen wahrscheinlich machte (vgl. auch <sup>30</sup>). [Schließlich sei noch auf Adsorptionseffekte von Sauerstoff an organischen Verbindungen aufmerksam gemacht (*Evans*<sup>31</sup>), die eine zusätzliche Absorption direkt oder indirekt bewirken können und die auch für die photochemische Degradation unter Umständen von Belang sind.]

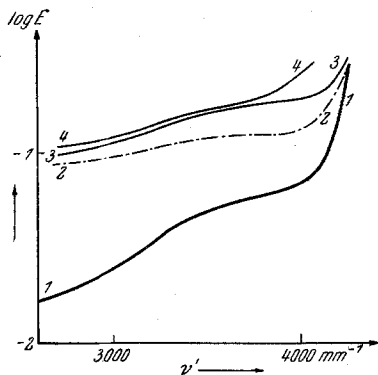


Abb. 11. Reflexionsspektren von Celluloseproben nach *Champetier* und *Marion*. Kurve 1: Nativecellulose, Kurve 2: Zellstoff, Kurve 3: merc. Cellulose, Kurve 4: Regeneratcellulose.

Schleimstoffe zu klären versucht<sup>32</sup>. Die Effekte sind klein und wenig markant. Diese Beobachtung steht in Übereinstimmung mit der Stellungnahme von *Scheibe*<sup>33</sup> zum Problem der End- und Fremdgruppenbestimmung in Hochpolymeren.

Um zu den vorstehend aufgeworfenen Fragen weiteres experimentelles Material beizubringen, wurden nun Cellulose sowie  $\beta$ -,  $\gamma$ - und Oxycellulosen in Lithiumbromid in Lösung gebracht (Abb. 12 a, b).

Schonendst isolierte, reinste  $\alpha$ -Cellulose in LiBr zeigt nun tatsächlich den vermuteten *schwachen* Absorptionseffekt (Abb. 12 a, Kurve 1), der

nach unserer gegenwärtigen Auffassung wohl *zum Teil* dem  $\begin{array}{c} \text{O} \\ | \\ \text{C} \\ | \\ \text{O} \end{array}$  Chromophor entstammen dürfte. Einen weiteren Beitrag liefern sicher

<sup>30</sup> *G. A. Jeffrey* und *G. S. Parry*, *Nature* **169**, 1105 (1952), ferner: *J. W. Rowen*, und *E. K. Plyler*, *J. Res. Nat. Bur. Stand.* **44**, 313 (1950).

<sup>31</sup> *D. F. Evans*, *J. Chem. Soc. London* **1953**, 345.

<sup>32</sup> Vorgetragen beim Symposium „On the Chemistry of Wood“ in Stockholm (1953).

<sup>33</sup> *G. Scheibe* und *R. Fauss*, *Kolloid-Z.* **125**, 139 (1952).

auch die OH-Gruppen, vielleicht auch Verunreinigungen der oben diskutierten Art. Auf die sehr weitgehende Übereinstimmung in Lage und Form der Absorption mit der der Cellobiose sei verwiesen.

Damit scheint wohl der bei anderen Kohlehydraten mit größerer Sicherheit beobachtete, offenbar reelle Effekt<sup>26</sup> anscheinend auch bei der Cellulose in dem von verschiedenen Seiten vermuteten Wellenlängenbereich vorhanden zu sein.

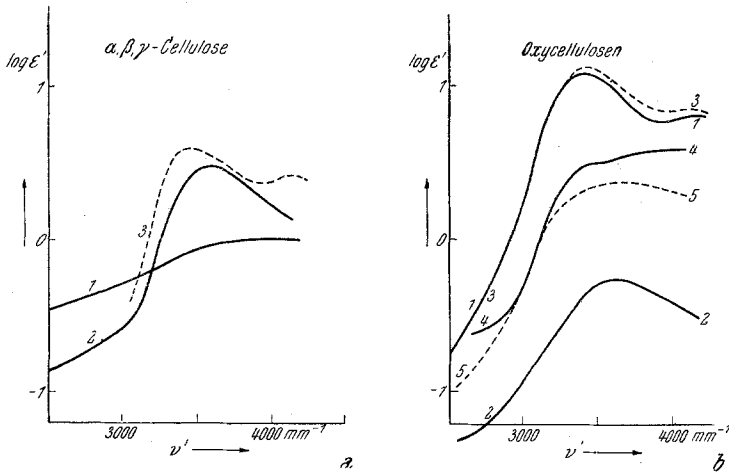


Abb. 12a. Kurve 1:  $\alpha$ -Cellulose in LiBr, Kurve 2:  $\beta$ -Cellulose in LiBr, Kurve 3:  $\gamma$ -Cellulose in LiBr.  
 Abb. 12 b. Kurve 1: (Brom)-Oxycellulose (nach Faber und Tollens), Kurve 2: ( $\text{HNO}_3$ )-Oxycellulose (nach Cross und Bevan), Kurve 3: ( $\text{HNO}_3$ )-Oxycellulose „B“, Kurve 4: (Bichromat)-Oxycellulose „A“, Kurve 5: (Bichromat)-Oxycellulose „B“.

Interessanterweise zeigen die  $\beta$ - und  $\gamma$ -Cellulosen — konventionell definierte „Fraktionen“ heterogener Natur, die sich durch Laugelöslichkeit und unterschiedliche Säurefällbarkeit auszeichnen — deutliche Maxima bei etwas niedrigeren Wellenzahlen, und zwar bei 3570 und 3430  $\text{mm}^{-1}$ , die qualitativ stark dem Absorptionsverlauf verschiedener „Oxycellulosen“ gleichen (vgl. Abb. 12 b). Im Falle der  $\beta$ -Cellulose, isoliert aus technischem (Buchen-)Zellstoff — die noch das Röntgendiagramm der  $\alpha$ -Cellulose zeigt<sup>34</sup> — wird der Schluß nahegelegt, daß diese offenbar weitgehend als Sekundärprodukte anzusprechenden Spaltstücke (Wilson) anoxydiert sind<sup>35</sup>. Damit in Übereinstimmung stehen auch unveröffentlichte chemische Untersuchungen der  $\beta$ -Fraktion von Kleinert. Diese Veränderungen der unter diese Definition fallenden Glucosane bzw.

<sup>34</sup> E. Treiber, W. Felbinger und M. Floriantschitsch, Österr. Chem.-Ztg. **54**, 106 (1953).

<sup>35</sup> E. Treiber, Diskussionsbemerkung, Svensk Papperstidn. **57** (1954) (Jännerheft, i. Dr.).

Cellulosane rührt wohl in der Hauptsache von den Aufschluß-, Bleich- und Veredelungsverfahren wie auch von der Fraktionierung her (Laugeeinfluß<sup>35</sup>). Ein Rückschluß auf die Natur der entsprechenden nativen Holzpolyosen (z. B. Fraktion A im Sinne von *O'Dwyer*) ist nicht ohne weiteres möglich. Aus dem Kurvenverlauf darf geschlossen werden, daß es sich bei den partiellen Oxydationsvorgängen nicht nur um die Bildung von (chemisch auch nachgewiesenen) Carboxylgruppen handelt, die weder in freier Form noch als Salze, wie an Polymannuronsäure gezeigt wurde, markant absorbieren, sondern um das Auftreten aldehydischer und ketonischer Gruppen, über deren Sitz, Natur usw. das Spektrum allerdings keinen Aufschluß gibt.

#### Zusammenfassung.

Die deutliche Abnahme der „Peptenolat-Absorption“ von Seidenfibroin in Lithiumbromid läßt auf eine *Spaltung der Wasserstoffbrücken* zwischen den Peptidgruppen schließen, wobei jedoch zwischen inter- und intramolekularen Brücken nicht unterschieden werden kann. Außerdem tritt eine Verschiebung der phenolischen Tyrosindissoziation nach kleineren pH-Werten ein. Beide Effekte sind reversibel: Nach Entfernung des LiBr durch Dialyse bildet sich die Peptenolatabsorption wiederum, sogar in noch stärkerem Ausmaße aus, als es im renaturierten Fibroin der Fall ist, während die phenolische Tyrosindissoziation wieder ins alkalische Gebiet rückt.

Das Auftreten bzw. Verschwinden der den H-gebundenen Peptidgruppen zugeschriebenen zusätzlichen Absorption (im alkalischen Medium Peptenolatabsorption) bei ein und demselben Protein beweist, daß diese Absorption keinesfalls etwa durch die normale Amidabsorption oder durch die peptidische Bindung des Tyrosins allein hervorgerufen werden kann. Die Zusatzabsorption der H-gebundenen CO-NH-Gruppen hängt vielmehr eindeutig vom *Strukturzustand* des *Eiweißmoleküls* ab und steht außerdem mit der Lage der phenolischen Tyrosindissoziation in offensichtlichem Zusammenhang. Beide Effekte werden als Ausdruck des *Vernetzungsgrades* des Moleküls durch interpeptidische Wasserstoffbrücken gedeutet.

Auch das „In-Lösung-Gehen“ der Cellulose wird im wesentlichen durch eine Aufhebung der zwischenmolekularen Kräfte, speziell der H-Brücken, hervorgerufen. Dieser Effekt ist allerdings im Gegensatz zur Seide kaum im UV-Spektrum beobachtbar, da es zu keiner Fixierung tautomerer Grenzstrukturen usw. kommt. Hingegen liefert die Beobachtung einer schwachen Eigenabsorption über  $3500 \text{ mm}^{-1}$ , auf deren Existenz bisher mehr indirekt auf Grund von Modelluntersuchungen, Bestimmung der Quantenausbeute usw. geschlossen wurde, eine weitere

Stütze für die Auffassung, daß die Photolyse in einer direkten Wechselwirkung zwischen dem eingestrahltten Licht und der Cellulose besteht, wobei es vorzugsweise zu einer Sprengung der  $\beta$ -glukosidischen Bindung kommt. Die Unsicherheiten in der Deutung des Effekts, der hier zum

Großteil der  $\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{O} \end{array}$ -Gruppierung zugeschrieben wird, durch starke Tyndalleffekte, Fremdgruppen usw., werden kritisch beleuchtet.

Paralleluntersuchungen speziell an der  $\beta$ -Cellulose zeigen, daß es sich hier nicht bloß um vorwiegend degradierte Cellulose handeln kann, sondern daß diese Fragmente bereits merklich chemisch verändert (anoxydiert) sind.