

Gew. 17000 bezogen, so ergibt sich, daß eine solche Peptid-Kette 9 Arginyl- und 2 Lysyl-Reste enthält. Tatsächlich werden nach der Behandlung mit dem Enzym 11 neue Endgruppen — je 2300 Mol — freigelegt, d. h. jede der basischen Aminosäuren muß in sämtlichen Peptiden jeweils an die gleiche Aminosäure gebunden sein.

Die Blockierung des N-terminalen Prolins konnte geklärt werden: Durch Einwirkung von Hydroxylamin ( $p_H$  7,0, 60 °C, 24 h) wird Prolin ebenfalls als N-terminaler Rest in Freiheit gesetzt. Diese Reaktion muß als Transpeptidierung gedeutet werden, Prolin ist sehr wahrscheinlich in der Seitenkette durch  $\beta$ - oder  $\gamma$ -Carboxyl-Gruppen<sup>81)</sup> blockiert.

Bei weiteren Untersuchungen der Konstitution des Proteins konnte aus Dinitrophenyl-Protein mit Trypsin ein kristallisiertes, N-terminales Peptid mit 21 Aminosäuren isoliert werden<sup>82)</sup>. Durch Behandlung mit Chymo-

trypsin und Umsatz mit Dinitrofluorbenzol konnte das C-terminale Hexapeptid isoliert und in der Struktur aufgeklärt werden. Die Sequenz lautet: Threo · Ser · Gly · Pro · Ala · Threo<sup>83)</sup>.

Es besteht kein Zweifel, daß das Tabakmosaik-Virus-Protein aus ca. 2300 identischen Peptid-Ketten besteht. Die Einheitskette enthält ca. 140–150 Aminosäuren. Durch die vollständige Aufklärung der Struktur der Peptid-Kette wäre eine wertvolle Grundlage für die Erkennung der Biosynthese der Eiweißstoffe und der Viren gegeben. Der Aufbau des Proteins wird durch die Nucleinsäure gesteuert. Im Falle des Tabakmosaik-Virus ist diese selbst und ihr Produkt, die Peptid-Kette, zugänglich. Durch Vergleich der Aminosäure-Sequenz im Peptid mit der Nucleotid-Sequenz werden sich wertvolle Rückschlüsse auf den Mechanismus der identischen Reproduktion ergeben.

Eingegangen am 24. September 1956 [A 781]

<sup>81)</sup> G. Braunitzer, *Biochim. biophysica Acta* 19, 576 [1956].

<sup>82)</sup> G. Schramm u. F. Anderer, *Naturwissenschaften* 42, 4274 [1955].

<sup>83)</sup> C. J. Niu u. H. Fraenkel-Conrat, *Arch. Biochem. Biophysics* 59, 538 [1955].

## Zur Morphologie der Gefriertrocknung

Von Prof. Dr. F. PATAT und Dipl. Chem. J. HARTMANN

Institut für chemische Technologie der T. H. München

Bei der Gefriertrocknung von Lösungen fadenförmiger und kugelförmiger Hochpolymerer, niedermolekularer Zucker und sogar anorganischer Salze wurden Gerüststrukturen von teilweise bemerkenswerter Festigkeit erhalten. Das makroskopische Bild der Trockensubstanzen wird bei allen Stoffgruppen durch die Textur des ausfrierenden Lösungsmittels bestimmt.

Im Rahmen von Untersuchungen über das anomale Fließverhalten von Lösungen extrem hochmolekularer Dextrane<sup>1)</sup> griffen wir zurück auf das Verfahren der Gefriertrocknung. Wir beabsichtigten damit, in Anlehnung an die Versuche zum Nachweis der Gerüststruktur in thixotrop erstarrten Tongelen von U. Hofmann und Mitarbeitern<sup>2)</sup> das Vorliegen analog isolierbarer räumlicher Strukturen aus Fadenmolekeln als Ursache der Fließanomalien unserer hochverdünnten Lösungen zu prüfen.

Wir erhielten nun zwar durch Absublimieren des Lösungsmittels aus eingefrorenen hochpolymeren Dextran-Lösungen raumerfüllende Strukturen, die außerordentlich ähnlich den von Hofmann isolierten Tongerüsten waren, aber es ließen sich ausnahmslos auch aus verdünnten Lösungen der verschiedenartigsten Testsubstanzen (Hochpolymere ohne rheologische Besonderheiten, niedermolekulare Stoffe) makroskopisch gleichartige Trocknungsprodukte isolieren.

Da unseres Wissens vergleichende Untersuchungen über die morphologische Beschaffenheit gefriergetrockneter Substanzen bislang nicht vorliegen, seien unsere bisherigen Beobachtungen und Ergebnisse mitgeteilt.

In einseitig geschlossenen zylindrischen Glasröhrchen (Füllhöhe ca. 2,5 cm) wurden die Lösungen sorgfältig eingefroren und die Lösungsmittel anschließend im Vakuum vollständig heraussublimiert. Die Trocknungssubstanzen waren:

- 1.) gering verzweigte, fadenförmige Hochpolymere (native Dextrane, Polyvinylalkohol, Polyvinylacetat),
- 2.) stark verzweigte, Hochpolymere mit Kugelgestalt (Ovalbumin, Glykogen),
- 3.) niedermolekulare Zucker (Saccharose, Maltose, Glucose) und
- 4.) anorganische Salze (KCl).

<sup>1)</sup> F. Patat u. J. Hartmann, *Makromolekulare Chemie* 78, 422 [1956].

<sup>2)</sup> R. Fahn, A. Weiss u. U. Hofmann, *Naturwissenschaften* 39, 35 [1952]; *Ber. dtsh. keram. Ges.* 30, 21 [1953].

Bis auf das in Benzol gelöste Polyvinylacetat wurden die Stoffe in Wasser gelöst. Während in der Praxis aus Gründen der Wirtschaftlichkeit meist hohe Ausgangskonzentrationen gefordert werden, trockneten wir auch recht verdünnte Systeme.

Zunächst seien die Ergebnisse der Trocknung der 1. Stoffklasse besprochen. Man erhält (bei Verwendung der Röhrchen) je nach Ausgangskonzentration mehr oder weniger dichte pflanzenmarkähnliche Substanzpfropfen, die — abgesehen von einer geringfügigen substanzabhängigen Schrumpfung — das vorherige Volumen der Lösung erfüllen, eine — wiederum stoffabhängige — Elastizität zeigen und die ihre Form auch nach Absprengen der Glasummantelung beibehalten. Beim Zusammendrücken zerrieseln sie nicht, sondern die faserige bis schwammartige Struktur verklebt sich unter Dichteerhöhung.

Bild 1 zeigt getrocknetes Dextran.

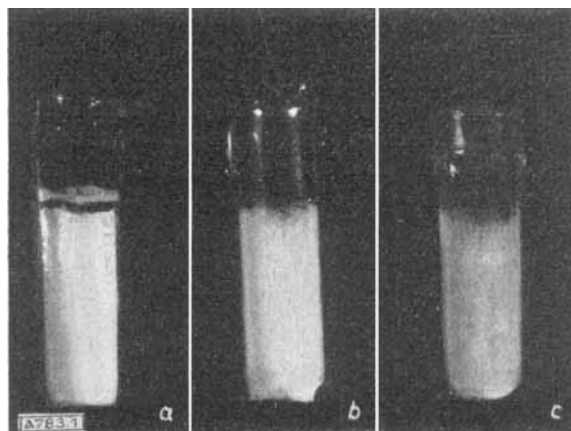


Bild 1  
Gefriergetrocknete Dextranlösungen. a) 20 mg/ml, b) 10 mg/ml, c) 1 mg/ml

Die makroskopische Struktur ist in gewissen Grenzen durch die Geschwindigkeit des Einfrierens (fein- oder grobkristalline Lösungsmittelausscheidung) zu beeinflussen.

Unter dem Mikroskop erkennt man, daß bei höheren Konzentrationen von Kanälen durchzogene Lamellen und gröbere Fäden gerüstbildend sind, während mit abnehmen der Konzentration schließlich nur mehr ein feinstes dreidimensionales Netzwerk die Formbeständigkeit bewirkt.

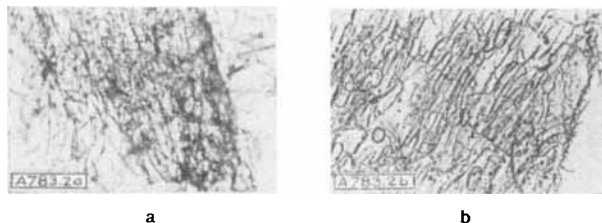


Bild 2  
Mikraufnahmen des Trockengutes (Dextran), Vergr.  $33\frac{1}{3}$   
a) 5 mg/ml, b) 20 mg/ml

Vergleichende Röntgenaufnahmen gefrier- und normalgetrockneter Stoffe zeigten, daß der Einfrierprozeß den Ordnungszustand der Fadenmolekeln offenbar nicht zu verändern vermag; es war keine Strukturierung der amorphen Polymeren erkennbar.

Die 2. Stoffklasse (kugelige Molekelgestalt) verhielt sich — abgesehen von einer etwas geringeren Elastizität und Widerstandsfähigkeit — soweit analog der 1. Substanzgruppe, daß sich ihre gesonderte Besprechung erübrigt.

Die Beurteilung von Festigkeit, Elastizität und Struktur ist bei sehr vielen Systemen überhaupt erschwert durch die spontane Feuchtigkeitsaufnahme der oberflächenreichen Trockensubstanzen.

Interessant war nun weiter die Trocknung gut kristallisierender niedermolekularer Zucker und anschließend auch das Verhalten anorganischer Salze (3. und 4. Stoffklasse). Sorgfältiges Einfrieren (Vermeidung der Phasentrennung usw.) vorausgesetzt erhielten wir durch das Absublimieren des Wassers in allen Fällen sich makroskopisch von den oben beschriebenen Texturen nicht unterscheidende raumerfüllende Gerüste.

In Bild 3 sind zwei derartige Pfropfen abgebildet, a) 10 mg/ml Saccharose, b) 10 mg/ml KCl.

Die mechanische Festigkeit (z. B. der KCl-Makrostruktur beim Raumgewicht 10 mg/ml) ist noch beachtlich, eine Isolierung des Pfropfens durch Absprengen des Glasröhrchens leicht möglich.

Die Entstehung der wasserfreien Salzgerüste ist wohl so zu erklären, daß beim Einfrieren nach relativ grober Kristallisation des Wassers mit Unterschreitung der eutektischen Temperatur die das Eis in Kanälen und Lamellen noch durchziehende flüssige Phase eutektischer Zusammensetzung so feinteilig auskristallisiert, daß die Salzkomponente dabei an vielen Punkten zusammenwächst und eine dreidimensional verfilzte mikrokristalline Gerüststruktur annimmt, die nach dem Absublimieren des Eises erhalten bleibt.

Das makroskopische Bild der Trockensubstanzen wird jedoch bei allen Stoffgruppen durch die Textur des ausfrierenden Lösungsmittels bestimmt und ist weitgehend unabhängig von Art und Menge des gelösten Stoffes, der die Zusammensetzung und die Schmelztemperatur des Eutektikums bedingt.

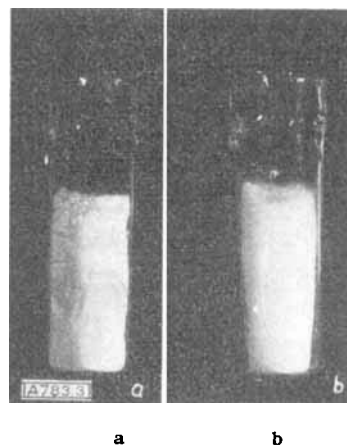


Bild 3  
Trockensubstanzen mit Einfrierstruktur; a) Saccharose 10 mg/ml, b) KCl 10 mg/ml

Zur Gefriertrocknung von Suspensionen ist in diesem Zusammenhang noch folgendes zu bemerken:

Wie bereits eingangs erwähnt, erhielten *Fahn, Weiss* und *Hofmann* durch Absublimieren des Suspensionsmittels aus eingefrorenen Tongelen ganz ähnliche raumerfüllende Trocknungsstrukturen. Die Möglichkeit einer Isolierung von Bentonit-, Kaolin- und Halloysit-Gerüsten wurde mit als Beweis dafür herangezogen, daß die thixotrope Versteifung der Suspensionen mit der Ausbildung derartiger Gerüststrukturen einhergeht.

Unter Berücksichtigung der Phänomene, die bei der Trocknung reiner Salzlösungen auftreten, liegt die Vermutung nahe, daß für das Aneinanderhaften der festen Teilchen — und damit für die Festigkeit der Gesamtstruktur — der Gehalt der Tonmineralien an freien Elektrolyten verantwortlich ist. Nur bei Abwesenheit auch geringer Mengen von „Verkittungssubstanz“ erscheint die Isolierbarkeit eines selbständigen elastischen Gerüsts aus Suspensionen diskutabel als Beweis für das Vorhandensein einer solchen stabilen Anordnung bereits vor dem Einfrierprozeß.

Unsere Untersuchungen an gefriergetrockneten Systemen werden mit verfahrenstechnischer Zielsetzung weitergeführt.

*Prof. Dr. W. Borchert, München, gilt unser Dank für die Röntgenuntersuchungen. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat die Arbeit dankenswerterweise durch Sachmittel unterstützt.*

Eingegangen am 7. November 1956 [A 783]