Bestimmung und Charakterisierung von Pektinen mit Hilfe von Ionenaustauschern

Autor(en): **Anyas-Weisz, L. / Solms, J. / Deuel, H.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **42 (1951)**

Heft 2

PDF erstellt am: **31.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-982449

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

[13]) *H. Schulz,* Verh. d. D. Phys. Ges. 21, 227 (1919).
[14]) *A. Krogh,* J. Biol. Chem. 74, 393 (1927).
[15]) *E. C. Wood* in den Annual Reports (Chem. Soc. L.) 1947.
[16]) (Symposium), Anal. Chem. 21, 115 (1949).
[17]) *H. Schulz,* Industrielle Psychotechnik 2, 5 (1925).
[18]) *N. Goldstern,* Ind. Psychotechnik 5, 207 und 281 (1928).
(Diese beiden seltenen Bände wurden zur Verfügung gestellt durch die Generaldirektion SBB, wofür wir bestens danken.)
[19]) *O. Schönrock* in F. Kohlrausch: Praktische Physik, 17. Auflage, 1935; gekürzt in der 18. Auflage, 1943.
[20]) *Landolt-Börnstein,* 3. Ergänzungsband, 1767 (1935).
[21]) *Beilstein,* 31, 424 (1938), Syst. Nr. 4764 B.
[22]) *C. A. Browne* und *F. W. Zerban,* Sugar Analysis, 3. Ed., 1941.
[23]) *O. Schönrock,* Z. f. phys. Chem. 34, 87 (1900).

Bestimmung und Charakterisierung von Pektinen mit Hilfe von Ionenaustauschern

Von *L. Anyas-Weisz, J. Solms* und *H. Deuel*
(Agrikulturchemisches Institut der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich)
(Dezember 1950)

A. Allgemeines

Pektinstoffe sind hochpolymere Verbindungen, deren Makromoleküle fadenförmig sind. Bei der *Pektinsäure* (Polygalacturonsäure) sind zahlreiche D-Galacturonsäure-Bausteine durch 1,4-glycosidische Bindungen miteinander verknüpft. Charakteristisch für *Pektin* ist, dass ein Teil der Carboxylgruppen der Polygalacturonsäure mit Methylalkohol verestert ist. Zusätzlich können die sekundären Hydroxylgruppen an den C-Atomen 2 und 3 der Galacturonsäure-Bausteine partiell mit Essigsäure verestert sein. Azetylgruppen finden sich z.B. beim Rüben- und Flachspektin.

Die *chemische Analyse* von Pektinen erstreckt sich vor allem auf die Ermittlung der gesamten Uronsäure-Carboxylgruppen, der freien Carboxylgruppen und der mit Methylalkohol veresterten Carboxylgruppen. Falls die sekundären Hydroxylgruppen mit Essigsäure verestert sind, wird häufig noch eine Azetylbestimmung ausgeführt. — Auf die direkten und indirekten Methoden zur Bestimmung des Molekulargewichtes des Pektins, das für Eigenschaften wie das Geliervermögen ausschlaggebend ist, wird im folgenden nicht eingegangen.

Einige *übliche Bestimmungsmethoden* für Pektin sollen kurz aufgezählt werden.

Für die Ermittlung des *Gesamtpektins* wird häufig die *Ca-Pektatmethode* nach *Carré* und *Haynes* (3, 9, 18, 32, 13) angewendet. Das Pektin wird mit Natronlauge völlig verseift, mit Ca-Chlorid als Ca-Pektat gefällt, getrocknet und gewogen. Bei der Trocknung erhält man keine Gewichtskonstanz. Es hat sich bewährt, während 8 bis 10 Stunden bei 105° C zu trocknen. — An Stelle von Ca-Pektat kann man auch *Pektinsäure* ausfällen und gravimetrisch bestimmen (23a). — Nach *Lüdtke* und *Felser* (21, 22) kann der Ca-Pektatniederschlag mit alkoholischer Salzsäure Ca^{++}-frei und mit Alkohol Cl^{-}-frei gewaschen werden. Die erhaltene Pektinsäure wird dann mit alkoholischer Lösung von *Natriumazetat* perkoliert. Die freigesetzte Essigsäure wird im Perkolat titrimetrisch bestimmt, sie ist der vorhandenen Menge an Pektinsäure äquivalent. — Der Gehalt an Gesamt-Uronsäure kann ausserdem durch *Decarboxylierung* nach *Lefèvre* und *Tollens* ermittelt werden (20, 33, 19).

Die *freien Carboxylgruppen* können in den Lösungen reiner Pektinpräparate direkt titrimetrisch bestimmt werden (5).

Für die titrimetrische Ermittlung der *Methoxylgruppen* (5, 8, 24) wird das Pektin durch Zugabe eines bekannten Überschusses an Natronlauge zur neutralen Pektinlösung verseift. Durch Rücktitration mit Säure wird die verbrauchte Laugenmenge ermittelt. Aus den Bestimmungen der freien Carboxylgruppen und der Methylestergruppen lässt sich die Gesamtmenge an Pektin und dessen Veresterungsgrad (5) berechnen. Wenn das Pektinpräparat auch Azetylgruppen enthält, lassen sich die Methoxylgruppen titrimetrisch nicht bestimmen, da sie zusammen mit den Azetylgruppen erfasst werden. — Die Methoxylbestimmung nach *Zeisel* (35, 23b) liefert bei den von anhaftendem Alkohol befreiten Präparaten (16) sehr zuverlässige Werte.

Die *Azetylgruppen* lassen sich wegen der praktisch stets vorhandenen Methoxylgruppen titrimetrisch nicht ermitteln. Für ihre Bestimmung wird mit Lauge oder Säure verseift und die freigewordene Essigsäure im Destillat bestimmt (4, 10, 11).

In der vorliegenden Arbeit wird eine Methode beschrieben, die eine einfache und rasche Bestimmung und Charakterisierung von Pektinen ermöglicht. Wesentlich dabei ist, dass es leicht gelingt, mit Hilfe von *Kationen- und Anionenaustauschern* niedermolekulare Elektrolyte aus den Pektinlösungen zu entfernen. Auch die bei der Verseifung azetylhaltiger Pektine abgespaltene Essigsäure wird zurückgehalten. Für die Bestimmungen sind an den wässrigen Lösungen lediglich acidimetrische Titrationen auszuführen.

Die *Anwendung von Ionenaustauschern* für die Gewinnung und Analyse von Pektinen wurde bereits wiederholt vorgeschlagen. Pektinlösungen können durch Perkolation über Kationen- und Anionenaustauscher von niedermolekularen Elektrolyten gereinigt werden (34, 7). Es wurde auf eine derartige Behandlung von Pektinextrakten hingewiesen (12). Bei der Gewinnung von Galacturonsäure aus Pektinstoffen durch Hydrolyse können Anionenaustauscher zur Isolierung der Säure herangezogen werden (27). Vor der Extraktion von Pektinen aus Citrusschalen können die Erdalkaliionen entfernt werden, indem die Schalen in Wasser suspendiert und mit Kationenaustauschern in der H-Form in Kontakt gebracht werden. Die nachfolgende Extraktion liefert unter schonenden Bedingungen eine gute Ausbeute und ein hochwertiges Pektinprodukt (2, 25).

B. Grundlagen und Ausführung der Pektinbestimmung mit Hilfe von Ionenaustauschern

1. Ionenaustauscher *)

Für die Pektinbestimmungen dürften sich die meisten im Handel befindlichen *Ionenaustauscher* (26, 6) eignen. Die Analysenlösungen werden meist nacheinander durch Schichten von Kationen- und Anionenaustauschern perkoliert. — Als *Kationenaustauscher* wurden grobkörniger Wofatit K, Dowex 50 und Amberlite IR-120 in der H-Form mit guten Ergebnissen verwendet. Für die Auflösung von Ca-Pektaten und -Pektinaten wurden die Kationenaustauscher in der Na-Form gebraucht. — Als *Anionenaustauscher* bewährten sich Amberlite IR-4B und Amberlite IRA-400. *Gemischtbett-Austauscher* (28) aus Amberlite IR-120 und Amberlite IRA-400 sind leistungsfähig und vereinfachen die Bestimmung, da nur mit einer Umtauschsäule gearbeitet werden muss.

Es muss darauf geachtet werden, dass die Austauscher jeweils nach Fabrikvorschrift regeneriert und vor allem mit destilliertem Wasser gründlich ausgewaschen werden, bis das durchgeflossene Wasser gegen Bromthymolblau als Indikator praktisch neutral ist.

2. Grundlagen der Methode

Die hier beschriebene Bestimmungsmethode beruht auf der Beobachtung, dass bei der Perkolation einer Na-Pektat-Elektrolytlösung über Kationenaustauscher in der H-Form und anschliessend über Anionenaustauscher in der OH-Form die niedermolekularen Ionen quantitativ eingetauscht werden, während die hochmolekularen Pektinsäureanionen nicht zurückgehalten werden. Die freie Pektinsäure bleibt im Wasser gelöst oder suspendiert und kann im Filtrat titriert werden. In Tabelle 1 ist die Trennung von Pektat- und Azetatanionen dargestellt.

Bemerkenswert bei den Versuchen der Tabelle 1 ist vor allem, dass der verwendete Anionenaustauscher die niedermolekularen Azetatanionen vollständig, die hochmolekularen Pektatanionen jedoch überhaupt nicht adsorbiert. Die Ionentrennung ist auf morphologische Hinderung des Ionenaustausches zurückzuführen. Die Pektinsäuremoleküle können zufolge ihrer Grösse nicht in die kleinen Poren des Austauschharzes eintreten und werden daher nicht festgehalten (7).

Hochmolekulare Pektinstoffe können daher vor und nach alkalischer Verseifung mit Hilfe von Ionenaustauschern von allen niedermolekularen Elektrolyten befreit werden. Durch einfache Titrationen lassen sich nun die freien Carboxylgruppen und die Estergruppen des Pektins ermitteln. Diese Methode eignet sich zur Analyse ungereinigter Pektinpräparate und von in Pflanzen-

---

*) Wir möchten Herrn dipl. ing. chem. *F. Furrer* von der Eidg. Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz, Eidg. Techn. Hochschule, Zürich, für die freundliche Überlassung der Ionenaustauscher und für manchen praktischen Rat bestens danken.

Tabelle 1

Trennung von Pektat- und Azetationen durch Perkolation wässriger Lösungen über Ionenaustauscher

Ionenaustauscher: Amberlite IR-120 (H-Form)
Amberlite IR-4B (OH-Form)
Analysenprobe: je 100 cm³ Lösung

Vor Perkolation			Nach Perkolation
Na-Pektat Milliäq.	Na-Azetat Milliäq.	Gesamtelektrolyte Milliäq.	Pektinsäure Milliäq.
1,89	0,72	2,61	1,87
1,89	0,67	2,56	1,89

2 g Pektinsäure wurden nach Neutralisation mit NaOH in 500 cm³ Wasser gelöst. Je 100 cm³ davon wurden mit unterschiedlichen Mengen Na-Azetat versetzt, durch Kationen- und dann durch Anionenaustauscher perkoliert. Darauf wurde mit dest. Wasser gründlich nachgewaschen. Das Perkolat wurde titriert. (Es war frei von flüchtiger Essigsäure.)

extrakten gelösten Pektinen. Da in Begleitung von Pektinstoffen Makroanionen ähnlicher Konstitution in der Natur kaum vorkommen, ist diese Methode für die Pektinanalyse anwendbar. Wasserunlösliche Pektinsalze, vor allem Ca-Pektinate, können durch Behandlung mit einem Kationenaustauscher in der Na-Form in wasserlösliche Na-Pektinate übergeführt und so einer Bestimmung zugänglich gemacht werden. Dagegen ist das im Gewebe verankerte Protopektin mit der hier angegebenen Methode nicht direkt analysierbar. Erst nach Überführung in wasserlösliches Pektin kann es bestimmt werden.

3. Analysengang

Für die Bestimmung der *gesamten Uronsäure-Carboxylgruppen des Pektins* (p) wird die Untersuchungslösung mit einem Überschuss an Natronlauge zur Verseifung aller Methyl- und Azetylester versetzt. Anschliessend werden durch Perkolation über Kationen- und Anionenaustauscher alle niedermolekularen Elektrolyte entfernt. Die Pektinsäure wird im Perkolat mit 0,1n-Natronlauge titriert. Die verbrauchten Äquivalente an Natronlauge entsprechen den Uronsäure-Carboxylgruppen p.

Zur Ermittlung der *freien (unveresterten) Carboxylgruppen des Pektins* (x) wird die Untersuchungslösung zur Entfernung aller störenden, niedermolekularen Elektrolyte über Kationen- und Anionenaustauscher perkoliert. Das Pektin wird im Perkolat mit 0,1n-Natronlauge titriert. Die verbrauchten Äquivalente an Natronlauge entsprechen den freien Carboxylgruppen x.

Die *Methoxylgruppen des Pektins* (y) lassen sich aus den Bestimmungen der gesamten und freien Uronsäure-Carboxylgruppen berechnen. Die Äquivalente Methoxylgruppen ergeben sich aus folgender Differenz: $y = p - x$.

Zur Berechnung der *Azetylgruppen des Pektins* (z) sind zunächst die *gesamten Estergruppen des Pektins* (e) zu bestimmen. Durch Zugabe eines genau bekannten Überschusses an Natronlauge zur neutralisierten Pektinlösung werden alle Estergruppen verseift. Die nicht verbrauchte Lauge wird mit Säure zurücktitriert. Die verbrauchten Äquivalente an Natronlauge entsprechen den gesamten Estergruppen e. Die Azetylgruppen z ergeben sich als Differenz zwischen den gesamten Estergruppen e und den Methoxylgruppen y ($= p - x$). Die Äquivalente Azetylgruppen sind also nach folgender Gleichung zu berechnen: $z = e + x - p$. — Falls im Pektin keine Azetylgruppen vorhanden sind, ist e gleich y. — Die beschriebene Azetylbestimmung kann, wie weiter unten gezeigt wird, durch die Anwesenheit niedermolekularer Ester gestört werden. Diese Ester können vor der Bestimmung von e durch Umfällung des Pektins abgetrennt werden. — Bei hohem Gehalt der Untersuchungslösung an niedermolekularen Elektrolyten ist es empfehlenswert, die Untersuchungslösung vor der Bestimmung von e über Kationen- und Anionenaustauscher zu perkolieren.

4. Durchführung der Bestimmungen

Je 30 cm³ *Kationen- und Anionenaustauscher* werden in wässriger Aufschlämmung in getrennte Perkolationsröhren mit einem Durchmesser von 16 bis 18 mm, die unten mit einem Hahn versehen sind, gespült. Die Perkolationssäulen dürfen keine Luftblasen enthalten. *Die Säule des Kationenaustauschers wird über der des Anionenaustauschers angeordnet und ist mit einem Trichter versehen.* Beide Röhren werden miteinander verbunden, so dass eine kontinuierliche Flüssigkeitssäule während der Perkolation gebildet wird. Die Analysenflüssigkeit, die höchstens 6—8 Milliäq. auszutauschende Elektrolyte enthalten darf, wird tropfenweise (20—25 cm³ Flüssigkeit pro Minute) perkoliert. Nach der Perkolation wird mit 300—400 cm³ destilliertem Wasser nachgewaschen. Die Perkolation von zu hoch konzentrierten Pektinlösungen (mehr als 0,5 % Pektin) ist zu vermeiden, da bei zu hoher Viskosität der Lösung die Perkolation zu langsam erfolgt und ausserdem die Gefahr besteht, dass in der Säule des Kationenaustauschers etwas ausgeflockte Pektinsäure zurückbleibt.

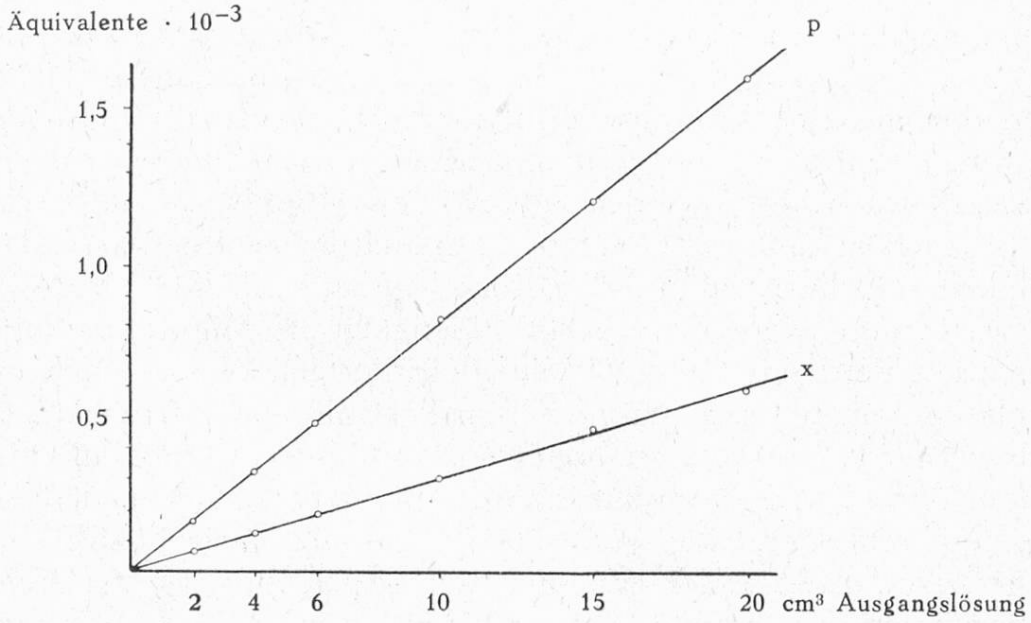
Die *Bestimmungen* der gesamten Carboxylgruppen p, der freien Carboxylgruppen x und der gesamten Estergruppen e werden zweckmässig an *getrennten Proben ausgeführt.* Dazu werden der Untersuchungslösung aliquote Teile entnommen. Eventuell kann auch an einer Probe nacheinander x, e und p bestimmt werden. Für genaue Titrationen wird dabei jedoch die Lösung durch die wiederholte Perkolation und Nachwaschung zu verdünnt.

Die Titrationen werden mit 0,1n-Lösungen von Natronlauge bzw. Mineralsäuren ausgeführt. Als Indikator eignet sich Bromthymolblau, auch Phenolphthalein usw. (18).

Für die *alkalische Verseifung* des Pektins müssen möglichst günstige Bedingungen eingehalten werden. Es ist zu berücksichtigen, dass einerseits die letzten Reste der Estergruppen nur sehr schwer abgespalten werden (5) und dass andererseits bei zu hoher Temperatur und Laugenkonzentration die Pektinmakromoleküle in unerwünschter Weise angegriffen werden (1). — Die alkalische Verseifung wird im folgenden stets bei Zimmertemperatur während zwei Stunden ausgeführt. Der Untersuchungslösung wird 0,1n-Natronlauge zugesetzt und zwar in einer Menge, die etwa der zehnfachen Menge an vorhandenen Estergruppen entspricht. Bei sehr stark verdünnten Pektinlösungen ist die Laugenkonzentration etwas zu erhöhen, da die alkalische Verseifung als bimolekulare Reaktion durch Verdünnung stark verlangsamt wird.

Die Bestimmungen von p, x und e nach der oben angegebenen Methode sind an reinen Pektinen bekannter Zusammensetzung geprüft worden. Es zeigt sich *gute Übereinstimmung mit anderen Untersuchungsmethoden.* Die hier beschriebene Titrationsmethode liefert auch sehr *gut reproduzierbare Werte.*

Bei den Versuchen der Figur 1 wurden Lösungen von Apfelpektin mit *verschiedenem, bekanntem Pektingehalt* untersucht. Es wurden die gesamten Uronsäure-Carboxylgruppen p und die freien Carboxylgruppen x des Pektins titrimetrisch ermittelt. Dazu wurde zunächst eine ca. 1,5 %ige Pektinlösung hergestellt. Es wurden Proben von 2, 4, 6, 10, 15 und 20 cm³ Pektinlösung ent-



Figur 1

Bestimmung des Pektins in Lösungen mit verschiedenem, bekanntem Pektingehalt

Ionenaustauscher: Amberlite IR-120 (H-Form)
Amberlite IR-4B (OH-Form)
p = gesamte Carboxylgruppen
x = freie Carboxylgruppen

nommen und mit destilliertem Wasser etwas verdünnt. p und x wurden nun, wie oben angegeben, ermittelt. Die Ergebnisse zeigen, dass die gefundenen Werte für p und x streng proportional mit der vorgelegten Menge an Pektin ansteigen.

5. Berechnungen aus den Titrationsergebnissen

Die Ergebnisse der Titrationen werden in Äquivalenten angegeben. Aus diesen Werten kann die Menge an Pektinstoff in g und der Veresterungsgrad des Pektins in % berechnet werden (5, 14, 17, 30).

Für die Berechnungen der Gewichtsmenge an Pektin ist die Kenntnis der Äquivalentgewichte derjenigen Bausteine nötig, die das Pektinmakromolekül aufbauen. Galacturonsäureanhydrid hat ein Äquivalentgewicht von 176 und Galacturonsäureanhydrid-methylester ein solches von 190. Ca-Pektat besitzt ein Äquivalentgewicht von 195. Durch Azetylgruppen wird das Gewicht des Reinpektins erhöht. Ein Äquivalent Azetylgruppen bedingt eine Gewichtserhöhung um 42 g. — Der *Gehalt an Pektinstoff in g* kann daher nach folgenden Gleichungen berechnet werden:

Pektinsäure in g	$= 176 \cdot p$
Ca-Pektat in g	$= 195 \cdot p$
Pektin ohne Azetylgruppen in g	$= 176 \cdot x + 190 \cdot y$
Pektin mit Azetylgruppen in g	$= 176 \cdot x + 190 \cdot y + 42 \cdot z$

Der Veresterungsgrad des Pektins mit Methylalkohol wird auf die gesamte Menge an Uronsäure-Carboxylgruppen (p) bezogen. Der Veresterungsgrad des Pektins mit Essigsäure wird auf die gesamte Menge an sekundären alkoholischen Hydroxylgruppen ($2 \cdot p$) bezogen. — Die *Veresterungsgrade des Pektins in %* können daher nach folgenden Gleichungen berechnet werden:

Veresterung mit Methylalkohol in %	$= 100 \cdot y / p$
Veresterung mit Essigsäure in %	$= 100 \cdot z / 2 \cdot p$

C. Anwendungsbeispiele

An einigen Anwendungsbeispielen sei die Bestimmung und Charakterisierung von Pektinstoffen mit Hilfe von Ionenaustauschern aufgezeigt. Teils wird zum Vergleich noch die übliche Ca-Pektatmethode herangezogen.

In den folgenden Tabellen bedeuten, ebenso wie oben angegeben:

p = gesamte Uronsäure-Carboxylgruppen
x = freie Carboxylgruppen
y = Methoxylgruppen
e = gesamte Estergruppen (Methoxyl + Azetyl)
z = Azetylgruppen.

1. *Konfitüren*

Bei den Heisswasserextrakten aus *Konfitüre* zeigte sich eine gute Übereinstimmung zwischen Ionenaustauscher- und Ca-Pektatmethode. Zur Konfitüre hinzugefügtes Pektin, dessen Menge genau bekannt war, wurde nach beiden Methoden in bemerkenswerter Übereinstimmung und Genauigkeit miterfasst (Tabelle 2). Der Veresterungsgrad mit Methylalkohol beträgt für das Quittenpektin 64,5 % und für das zugesetzte Pektin 62 %.

Tabelle 2

Bestimmung und Charakterisierung des Pektins einer Quittenkonfitüre

Ionenaustauscher: Amberlite IR-120 (H-Form)
Amberlite IR-4B (OH-Form)
Analysenprobe: je 25 cm³ Extrakt, entsprechend 10 g Konfitüre

Zugesetztes Pektin			Ionenaustauscher-Methode			Ca-Pektat-Methode
x Milliäq.	p Milliäq.	Ca-Pektat berechnet mg	x Milliäq.	p Milliäq.	Ca-Pektat berechnet mg	Ca-Pektat bestimmt mg
—	—	—	0,036	0,132	25,8	22,7
0,039	0,102	19,9	0,076	0,241	46,9	42,8
Zugesetztes Pektin als Differenz erhalten:			0,040	0,109	21,1	20,1

100 g Quittenkonfitüre wurden mit ca. 150 cm³ Wasser im Turmix gemischt, 40 Minuten auf dem kochenden Wasserbad extrahiert und heiss auf ein Filter gegeben. Das Filtrat wurde auf 250 cm³ aufgefüllt (13). Je 25 cm³, entsprechend 10 g Konfitüre, wurden für die Bestimmungen verwendet. Ferner wurde noch Pektinlösung bekannter Konzentration zu einer Probe zugesetzt. Für die Ermittlung von p wurde die Probe mit 40 cm³ bzw. 70 cm³ 0,1n-Natronlauge versetzt und nach 2 Stunden Verseifungsdauer durch Kationen- und Anionenaustauscher perkoliert und titriert. Die Titrationen wurden mit Mikrobüretten ausgeführt. Für die Ca-Pektatbestimmung wurden je 25 cm³ Extraktionslösung mit 100 cm³ 0,1n-Natronlauge, nach 15 Minuten mit 50 cm³ 1n-Essigsäure und nach weiteren 5 Minuten mit 50 cm³ 1m-Ca-Chloridlösung versetzt. Nach einer Stunde wurde die Mischung aufgekocht, heiss durch ein gewogenes Filter filtriert und der Niederschlag bis zur Cl^--Freiheit mit heissem Wasser ausgewaschen und 8 Stunden bei 105° C getrocknet und gewogen (13).

2. *Fruchtsäfte*

In *Fruchtsäften* kann mit Hilfe von Ionenaustauschern p, x und y leicht bestimmt werden.

Es ist jedoch zu beachten, dass Fruchtsäfte zugesetzte niedermolekulare Ester, wie Benzoesäureester, enthalten können. In einem solchen Fall können allfällig

vorhandene Azetylgruppen z nicht ohne weiteres ermittelt werden. Das Pektin müsste erst durch Umfällung von niedermolekularen Estern befreit werden. Nach den bisherigen Kenntnissen enthalten Fruchtsaftpektine höchstens sehr wenige Azetylgruppen.

Ionogene, hochmolekulare Begleitstoffe, wie z.B. Eiweisse und Uronsäuren enthaltende Polysaccharide, die durch Ionenaustauscher nicht abgetrennt werden könnten, können auch stören, kommen jedoch praktisch kaum vor. Zuweilen werden Eiweisse künstlich den pektinhaltigen Lösungen zugesetzt. Oft wird Gelatine zur Klärung von Lösungen verwendet. Nach der Perkolation über Kationen- und Anionenaustauscher verbraucht bei der Titration 1 g Gelatine 0,2 Milliäq. Natronlauge. Ist die Gelatinekonzentration bekannt, lässt sich der Fehler abschätzen. Er beträgt bei gleicher Gewichtsmenge Gelatine wie Pektin etwa 3,5 %, bezogen auf die gesamten Carboxylgruppen des Pektins. Die Eiweisse können auch vor der Bestimmung mit Tannin ausgefällt werden.

In den Tabellen 3 und 4 sind Pektinbestimmungen an einem Trauben- und einem Apfelsaft zusammengestellt. Der Traubensaft hat einen kleinen Pektingehalt von 0,03 % und ein Pektin mit einem sehr geringen Methoxylgehalt, der durch die Wirksamkeit der safteigenen Pektase erklärt werden kann. Der Apfelsaft enthält 0,05 % Pektin mit einem Veresterungsgrad von 61,8 %. Beim Traubensaft weist eine ausgeprägte Differenz zwischen den Werten der Ionenaustauschermethode und der Ca-Pektatmethode auf einen grossen Gehalt an Begleitstoffen. Beim Apfelsaft ist die Übereinstimmung der beiden Methoden wenig befriedigend. Den Fruchtsäften wurden, wie bei der Konfitüre, bekannte Mengen an Pektin zugesetzt. Diese Zusätze wurden auch hier mit der gleichen Übereinstimmung und Genauigkeit wie bei der vorangehenden Analyse miterfasst.

Tabelle 3

Bestimmung und Charakterisierung des Pektins eines Traubensaftes

Ionenaustauscher: Amberlite IR-120 (H-Form)
Amberlite IR-4B (OH-Form)
Analysenprobe: je 25 cm³ Traubensaft

Zugesetztes Pektin			Ionenaustauscher-Methode			Ca-Pektat-Methode
x Milliäq.	p Milliäq.	Ca-Pektat berechnet mg	x Milliäq.	p Milliäq	Ca-Pektat berechnet mg	Ca-Pektat bestimmt mg
—	—	—	0,036	0,040	7,8	20,1
0,037	0,097	18,9	0,071	0,131	25,6	41,1
Zugesetztes Pektin als Differenz erhalten:			0,035	0,091	17,8	21,0

Tabelle 4

Bestimmung und Charakterisierung des Pektins eines Apfelsaftes

Ionenaustauscher: Amberlite IR-120 (H-Form)
Amberlite IRA-400 (OH-Form)
Analysenprobe: je 25 cm³ Apfelsaft

Zugesetztes Pektin			Ionenaustauscher-Methode			Ca-Pektat Methode
x Milliäq.	p Milliäq.	Ca-Pektat berechnet mg	x Milliäq.	p Milliäq.	Ca-Pektat berechnet mg	Ca-Pektat bestimmt mg
—	—	—	0,021	0,055	11,7	6,4
0,037	0,097	18,9	0,057	0,151	29,5	27,4
Zugesetztes Pektin als Differenz erhalten:			0,036	0,096	18,7	21,0

Die Bestimmungen wurden direkt an je 25 cm³ Fruchtsaft ausgeführt. Es wurde genau wie bei den Pektinuntersuchungen an Quittenkonfitüre vorgegangen.

3. Extrakte aus protopektinhaltigen Pflanzengeweben

Protopektinhaltige Pflanzengewebe werden industriell mit Säuren oder eventuell auch Laugen aufgeschlossen. Dabei wird wasserlösliches Pektin bzw. Pektat gebildet. In den Extraktionslösungen finden sich neben den löslichen Pektinstoffen meist noch verschiedenste andere Verbindungen. Häufig sind hochmolekulare Hemizellulosen, auch nach wiederholter Umfällung, äusserst schwer vom Pektin abzutrennen. Diese Hemizellulosen sind wohl teils kovalent mit dem Pektin verknüpft (31). Da sie bei der Pektinfällung mitgerissen werden, fälschen sie die gravimetrischen Pektinbestimmungen. So weist z.B. Rübenpektin 30—60 % Arabane und Galaktane als Begleitstoffe auf (15).

Die Ionenaustauschermethode ist an Extrakten leicht durchführbar. Als Beispiel sind in Tabelle 5 Bestimmungen an Extrakten aus 2 Proben von Zuckerrübenschnitzeln angeführt. Die Menge an Ca-Pektat, die aus den Titrationen berechnet wurde, ist hier deutlich geringer als diejenige, die nach der gravimetrischen Ca-Pektatmethode erhalten wurde. In den Pektatniederschlägen wurde ausserdem noch nach Behandlung mit Ionenaustauschern der Gehalt an reiner Pektinsäure festgestellt. Diese Bestimmungen stimmten mit den direkt an den Extrakten erhaltenen titrimetrischen Ermittlungen gut überein. Hier haften also am Pektin Begleitstoffe sehr fest. Die Bestimmungen nach der Ionenaustauschermethode werden durch diese Begleitstoffe nicht gestört.

Tabelle 5

Bestimmung des Gesamtpektins in Extrakten aus Zuckerrübenschnitzeln

Ionenaustauscher: Amberlite IR-120 (H-Form)
Amberlite IR-4B (OH-Form)

Das Gesamtpektin wird stets als Ca-Pektat pro 1 kg Zuckerrübenschnitzel angegeben.

			Schnitzel A	Schnitzel B
I	*Ionenaustauschermethode am Extrakt*	Ca-Pektat in g	90,2	94,6
II	*Ca-Pektatmethode am Extrakt*	Ca-Pektat in g	166,0	128,0
III	*Ionenaustauschermethode am Ca-Pektatniederschlag* *)	Ca-Pektat in g	87,4	88,6
IV	*Reines Ca-Pektat in % des Ca-Pektatniederschlages*	III in % von II	53	69

*) Zur Auflösung des Ca-Pektates wurde Amberlite IR-120 (Na-Form) verwendet.

Aus 500 g trockenen Zuckerrübenschnitzeln wurde Pektin mit sehr stark verdünnter Natronlauge extrahiert. An aliquoten Teilen der Extrakte wurden Analysen ausgeführt. p wurde mit Hilfe von Ionenaustauschern ermittelt, und daraus wurde der Gehalt an

Tabelle 6

Bestimmung und Charakterisierung azetylhaltiger Pektine

Ionenaustauscher: Amberlite IR-120 (H-Form)
Amberlite IR-4B (OH-Form)
Analysenprobe: je 100 cm³ wässrige Lösung

Präparat	p Milliäq. (Gesamt)	x Milliäq. (freie -COOH)	y Milliäq. ($-COOCH_3$)	z Milliäq. ($-OCOCH_3$)
	Natürliche azetylhaltige Zuckerrübenpektine			
C	0,43	0,40	0,03	0,36
D	1,25	1,23	0,02	0,03
	1,26	1,25	0,01	0,04
	Künstlich azetylierte Apfelpektine			
E	0,44	0,33	0,11	0,18
	0,44	0,33	0,11	0,18
F	0,47	0,37	0,10	0,12
	0,48	0,38	0,10	0,11
G	0,94	0,33	0,61	0,19
	0,94	0,34	0,60	0,20

extrahiertem Gesamtpektin als Ca-Pektat pro 1 kg Schnitzel berechnet (I). Ausserdem wurde aus dem Extrakt Ca-Pektat nach der Ca-Pektatmethode gefällt, gravimetrisch bestimmt und ebenfalls pro 1 kg Schnitzel berechnet (II). Schliesslich wurde noch von diesem Ca-Pektatniederschlag mit Hilfe von Ionenaustauschern p bestimmt. Auch hier erfolgte eine Umrechnung pro 1 kg Schnitzel (III). (Siehe auch Tabelle 7.)

4. Azetylhaltige Pektine

Übliche Azetylbestimmungen (4, 10, 11) geben mit der hier beschriebenen Methode bei Pektinen gut übereinstimmende Werte (29). In den Versuchen der Tabelle 6 sind wässrige Lösungen von natürlichem Rübenpektin und künstlich azetyliertem Apfelpektin untersucht worden.

5. Wasserunlösliche Pektinate und Pektate

Durch Kontakt mit Kationenaustauschern in der Na-Form können z.B. wasserunlösliche Ca-Pektinate in wasserlösliche Na-Pektinate übergeführt werden. Diese können dann nach der Ionenaustauschermethode untersucht werden (Tabelle 7).

Tabelle 7

Bestimmung und Charakterisierung unlöslicher Ca-Pektinate

Ionenaustauscher

zur Auflösung des Präparates: Amberlite IR-120 (Na-Form)
für die Bestimmung des Pektins: Amberlite IR-120 (H-Form)
Amberlite IR-4B (OH-Form)

Präparat	Eingewogene Menge Ca-Pektinat g	p Milliäq.	Gesamtpektin berechnet als Ca-Pektat g	Gehalt des Ausgangspräparates an reinem Ca-Pektat %
H	0,6897	2,442	0,4762	69
I	0,7100	1,869	0,3645	51
K	0,8665	2,100	0,4095	47
L	0,7444	1,779	0,3469	47

Unlösliches Ca-Pektinat wurde in Kontakt mit einem grösseren Überschuss an Kationenaustauschern in der Na-Form in wenig Wasser unter Schütteln als Na-Salz gelöst. Dann wurde die gesamte Mischung auf eine Säule von Kationenaustauscher (Na-Form) gebracht, perkoliert und mit Wasser nachgewaschen. Das Perkolat wurde in Messkolben aufgefangen und an aliquoten Teilen desselben das Pektin mit Hilfe von Ionenaustauschern bestimmt.

6. Verschiedene Anwendungen

Ionenaustauscher können ferner für zahlreiche Untersuchungen an Pektinstoffen herangezogen werden.

Für die Bestimmung der *Viskosität* von Pektinlösungen ist es oft erwünscht, fremde Elektrolyte abzutrennen. Durch Perkolation über Ionenaustauscher kann dies rasch erreicht werden. Diese Ausgangslösungen können dann unter den jeweiligen Standardbedingungen gemessen werden.

Der *enzymatische Pektinabbau* kann mit Hilfe von Ionenaustauschern verfolgt werden (7). Anionenaustauscher entfernen aus den Lösungen nur niedermolekulare, saure Bruchstücke. Man kann daher die Art des Enzymangriffs studieren. Ähnliches gilt auch für die Untersuchung der *Stabilität der Pektinmakromoleküle* gegenüber Alkalien usw.

Die vorliegende Arbeit wurde durch Mittel aus dem Weinbaufonds des Eidg. Volkswirtschaftsdepartementes ermöglicht. Wir danken bestens für diese Unterstützung.

Zusammenfassung

1. Wässrige Lösungen von hochmolekularen Pektinen und Pektaten können bei Perkolation durch Schichten von Kationenaustauschern in der H-Form und Anionenaustauschern in der OH-Form von allen niedermolekularen Elektrolyten gereinigt werden. Pektine und Pektinsäuren werden von den gebräuchlichen Anionenaustauschern nicht adsorbiert, da die relativ kleinen Poren der Austauscher das Eindringen der Makromoleküle nicht gestatten. Dieses Verhalten gegenüber Ionenaustauschern ermöglicht eine rasche titrimetrische Bestimmung und Charakterisierung von Pektinen. Zu diesem Zweck kann die Analysenlösung nacheinander durch Kationen- und Anionenaustauscher oder durch einen Gemischtbettaustauscher perkoliert werden.
2. Nach Perkolation der Analysenlösung über Kationen- und Anionenaustauscher können die freien, unveresterten Carboxylgruppen des Pektins titrimetrisch bestimmt werden.
3. Wird zur Analysenlösung Natronlauge im Überschuss zugegeben, so tritt Verseifung der Estergruppen (Methoxyl und Azetyl) des Pektins unter Bildung von Na-Pektat ein. Nach Perkolation dieser Lösung über Kationen- und Anionenaustauscher können die gesamten Uronsäure-Carboxylgruppen des Pektins titrimetrisch bestimmt werden.
4. Wird zur neutralisierten Analysenlösung ein bekannter Überschuss an Natronlauge zugegeben, so kann durch Rücktitration mit Säure die gesamte Menge an vorhandenen Estern (Methoxyl, Azetyl usw.) bestimmt werden.
5. Aus der Differenz der gesamten und freien Carboxylgruppen kann der Methoxylgehalt des Pektins berechnet werden.
6. Aus der Differenz der gesamten Estergruppen und der Methoxylgruppen kann der Azetylgehalt des Pektins berechnet werden, wenn keine niedermolekularen Ester vorhanden sind.
7. Aus den Titrationen kann die Menge an Reinpektin in g und die Veresterung mit Methylalkohol und Essigsäure in % berechnet werden.
8. Die Eignung der angegebenen Methode zur Ermittlung des Pektingehaltes und zur Charakterisierung der Pektine wird an einigen Beispielen gezeigt, so an Pektinpräparaten, Quittenkonfitüre, Traubensaft, Apfelsaft, Extrakten aus Zuckerrüben und künstlich azetylierten Apfelpektinen.

9. Unlösliche Ca-Pektinate können durch Kontakt mit Kationenaustauschern in der Na-Form in Lösung gebracht und so der Analyse zugänglich gemacht werden.
10. Hochmolekulare, nicht-ionogene Begleitstoffe stören die titrimetrischen Bestimmungen nicht. Mit Zuckerrübenpektin, das wahrscheinlich noch durch Hauptvalenzen fixierte Hemizellulosen enthält, wird titrimetrisch ein bedeutend tieferer Wert erhalten, als nach der gravimetrischen Ca-Pektatmethode.
11. Eventuell vorhandene Eiweisse können vor der Pektinanalyse mit Tannin ausgeflockt werden.

Résumé

1. Les solutions aqueuses des pectines et des pectates macromoléculaires peuvent être purifiées de leurs électrolytes micromoléculaires, si l'on fait passer ces solutions à travers des couches d'échangeurs cationiques et anioniques sous forme de H et de OH. Les pectines et les acides pectiques ne sont pas adsorbés par les échangeurs usuels parce que les pores relativement étroits de ces derniers en rendent l'accès impossible. Ce comportement envers les échangeurs permet de déterminer et de caractériser rapidement les pectines par des méthodes titrimétriques. Dans ce but il faut faire passer les solutions à analyser à travers des échangeurs cationiques et anioniques ou mixtes.
2. La détermination titrimétrique des groupes carboxyliques non estérifiés de la pectine peut se faire après percolation de la solution à travers des échangeurs anioniques et cationiques.
3. Si l'on ajoute à la solution à analyser un surplus de NaOH, il se forme par saponification des groupes estérifiés (méthoxyle et acétyle) du pectate de sodium. Après percolation de cette solution à travers des échangeurs cationiques et anioniques, il est possible de déterminer titrimétriquement la totalité des groupes carboxyliques des acides uroniques.
4. Si l'on ajoute à la solution à analyser, préalablement neutralisée, un surplus connu de NaOH, il est possible de déterminer par rétrotitration avec de l'acide la totalité des estères (acétyle, méthoxyle, etc.).
5. La différence entre la somme de tous les groupes carboxyliques et les groupes carboxyliques libres donne la quantité des groupes méthoxyles de la pectine.
6. S'il n'y a pas d'estères micromoléculaires, la différence entre la somme de tous les groupes d'estères et les groupes méthoxylés permet de calculer la quantité d'acétyle.
7. Les résultats de la détermination titrimétrique permettent de calculer la quantité de pectine pure en grammes et le degré d'estérification de celle-ci avec des groupes méthoxyles et acétyles.
8. La valeur de cette méthode de détermination de la teneur en pectine et de ses caractéristiques est illustrée par plusieurs exemples: préparations des pectines de commerce, confitures de coings, jus de raisin et de pomme, extrait de betterave ainsi qu'avec des pectines acétylées artificiellement.
9. Le pectinate insoluble de calcium peut être rendu soluble comme pectinate de sodium au contact d'un échangeur cationique sous forme de sodium et en permet ainsi l'analyse.

10. Les substances accompagnantes macromoléculaires et non-ioniques ne gênent pas la détermination titrimétrique. Les résultats de la détermination titrimétrique de la pectine de betterave sont inférieurs aux résultats de la détermination gravimétrique par la méthode des pectates de calcium, parce que probablement des hémi-celluloses peuvent être fixées par valences principales à la pectine et augmentent ainsi les résultats gravimétriques.
11. Avant l'analyse de la pectine, les albumines éventuellement présentes peuvent être coagulées avec du tanin.

Literatur

[1]) *C. F. Ahmann* und *H. D. Hooker*, Ind. Eng. Chem. **18**, 412 (1926).
[2]) *H. L. Böhner* und *A. B. Mindler*, Ind. Eng. Chem. **41**. 448 (1949).
[3]) *M. H. Carré* und *D. Haynes*, Biochem. J. **16**. 60 (1922).
[4]) *F. B. Cramer* et al., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **15**, 319 (1943).
[5]) *H. Deuel*, Ber. Schweiz. Bot. Ges. **53**, 219 (1943).
[6]) *H. Deuel* und *F. Hostettler*, Exper. **6**, 445 (1950).
[7]) *H. Deuel*, *J. Solms* und *L. Anyas-Weisz*, Helv. Chim. Acta **33**, 2171 (1950).
[8]) *F. Ehrlich* und *A. Kosmahly*, Bioch. Z. **212**, 162 (1929).
[9]) *A. M. Emmett* und *M. H. Carré*, Biochem. J. **20**, 6 (1926).
[10]) *K. Freudenberg* und *M. Harder*, Liebigs Ann. **433**, 230 (1923).
[11]) *L. B. Genung* und *R. L. Mallatt*, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **13**, 369 (1941).
[12]) *R. Griessbach*, Austauschadsorbentien in der Lebensmittelindustrie. Leipzig, 1949, S. 61.
[13]) *H. Hadorn*, *R. Jungkunz* und *K. W. Biefer*, diese Mitt. **41**, 340 (1950).
[14]) *F. A. Henglein*, Makromol. Ch. **1**, 70 (1947).
[15]) *F. A. Henglein* und *B. Vollmert*, Makromol. Ch. **2**, 77 (1948).
[16]) *C. H. Hills*, *C. L. Ogg* und *R. Speiser*, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **17**, 507 (1945).
[17]) *C. H. Hills* und *R. Speiser*, Science **103**, 166 (1946).
[18]) *C. L. Hinton*, His Majesty's Stationary Office, London, 1939.
[19]) *G. Huber*, Diss. ETH, Zürich, 1951.
[20]) *K. U. Lefèvre* und *B. Tollens*, Ber. dtsch. chem. Ges. **40**, 4513 (1907).
[21]) *M. Lüdtke*, Z. angew. Ch. **48**, 650 (1933).
[22]) *M. Lüdtke* und *H. Felser*, Bioch. Z. **294**, 390 (1937).
[23]) Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. Washington, 1945. a) S. 389; b) S. 762.
[24]) *P. B. Myers* und *G. L. Baker*, Bull. Univ. Delaware Agr. Exp. Stat. No. 187 (1934).
[25]) *P. B. Myers* und *A. H. Rouse*, U.S.Patent 2 323 483 (1943).
[26]) *F. C. Nachod*, Ion Exchange, Theory and Application. New York, 1949.
[27]) *E. Roboz*, Report Sugar Research Foundation Inc. Nr. 51, 1 (1949).
[28]) *Rohm* und *Haas* Co., Resinous Reporter **9**. No. 4, 18 (1948).
[29]) *J. Solms*, Unveröffentl. Untersuchungen am Agr.-chem. Institut der ETH.
[30]) *R. Speiser*, J. Polymer Sci. **2**, 281 (1947).
[31]) *R. Speiser*, *C. R. Eddy* und *C. H. Hills*, J. Phys. Chem. **49**, 564 (1945).
[32]) *K. Täufel* und *E. Just*, Z.U.L. **59**. 175 (1941).
[33]) *R. L. Whistler*, *A. R. Martin* und *M. Harris*, J. Res. Nat. Bur. Stand. **24**, 13 (1940).
[34]) *K. T. Williams* und *C. M. Johnson*, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. **16**, 23 (1944).
[35]) *S. Zeisel*, Monatsh. Ch. **6**, 989 (1885).