

Amerikaner L. Baur und K. Link<sup>5)</sup> gerade diese eingehend untersucht und Endgruppenbestimmungen durchgeführt haben.

Acetylierte Nitro-pektine wurden nicht zur Konstitutionsermittlung herangezogen, weil hier noch zu den bisherigen Komponenten ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ ) die Acetylgruppe kommt, und so die Auswertung der Ergebnisse zu kompliziert und ungenau wird.

### Beschreibung der Versuche.

1) Vorbereitung des Nitro-pektins zur Analyse: Um ein zur Analyse genügend reines Produkt zu erhalten, wurde das Nitro-pektin mehrfach umgefällt, indem es jeweils in Aceton gelöst und mit dem 50-fachen Volumen dest. Wassers ausgefällt wurde. Nach mehrmaligem Digerieren mit dest. Wasser wurde der Stoff abgesaugt und leicht abgepreßt. Diese Operation wurde so oft vorgenommen, bis der Aschengehalt unter 0.05% betrug. Das Produkt wurde mit Alkohol und Äther behandelt und in der Fischer-Pistole über  $\text{P}_2\text{O}_5$  bei  $65^\circ/0.1$  mm bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Zum Vergleich wurde außerdem jeweils eine Molekül-Fraktionierung durch Ausfällen in Aceton-Wasser-Gemischen verschiedener Konzentration ausgeführt.

2) Analysenmethoden: Methoxyl-Bestimmungen wurden im Apparat von Hans Meyer und Bamberger<sup>6)</sup>, ausgeführt. Carboxyl-Bestimmungen nach Tollens-Lefèvre<sup>7)</sup>, aber unter Zwischenschaltung eines Verbrennungsofens mit  $\text{PbO}_2$  und  $\text{MnO}_2$  sowie Kaliumchromat<sup>8)</sup> zur Zerstörung der entstandenen Stickoxyde. Zur Parallelbestimmung wurde das entstandene  $\text{CO}_2$  als  $\text{BaCO}_3$  gefällt,  $\text{BaCO}_3$  wurde als Sulfat gewogen. Das entstandene Puffulol wurde als Phloroglucid bestimmt<sup>9)</sup>.

Hrn. Prof. Dr. F. A. Henglein danken wir für die vielen Anregungen und für die fördernde Unterstützung unserer Arbeit.

---

## 281. G. G. Schneider und H. Bock: Über die Konstitution der Pektinstoffe.

[Aus d. Institut für Chem. Technik d. Techn. Hochschule Karlsruhe.]

(Eingegangen am 14. Juni 1937.)

Die Pektinstoffe bilden als stetige Begleiter der Cellulose einen wesentlichen Bestandteil der Zellwandungen im Nährgewebe der grünen Pflanzen. Im Gegensatz zum einheitlichen Aufbau der Cellulose ist die Konstitution der Pektinstoffe bis heute stets als äußerst kompliziert und verwirrend angegeben worden. Die Erforschung ihrer chemischen Zusammensetzung ist zwar Gegenstand zahlreicher Arbeiten gewesen, insbesondere konnte Ehrlich durch systematische Bearbeitung der Pektinstoffe in den letzten Jahrzehnten als wichtigstes Spaltprodukt die *d*-Galakturonsäure isolieren, aber alle bisherigen Vorstellungen über den Gesamtbau der Pektinstoffe sind, wie in dieser Arbeit bewiesen wird, mit grundlegenden Eigenschaften der Pektinstoffe nicht in Einklang zu bringen.

<sup>5)</sup> Morell, Baur u. Link, Journ. biol. Chem. **105**, 12 [1934].

<sup>6)</sup> Hans Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung organ. Verbindungen (1931), S. 487.

<sup>7)</sup> Lefèvre, Dissertat. Göttingen (1907), S. 32; van der Haar, Monosaccharide und Aldehydsäuren (1920), S. 72.

<sup>8)</sup> Orthner u. Reichel, Organ. Chem. Praktikum, Verlag Chemie.

<sup>9)</sup> van der Haar, Monosaccharide und Aldehydsäuren, **6**, S. 482.

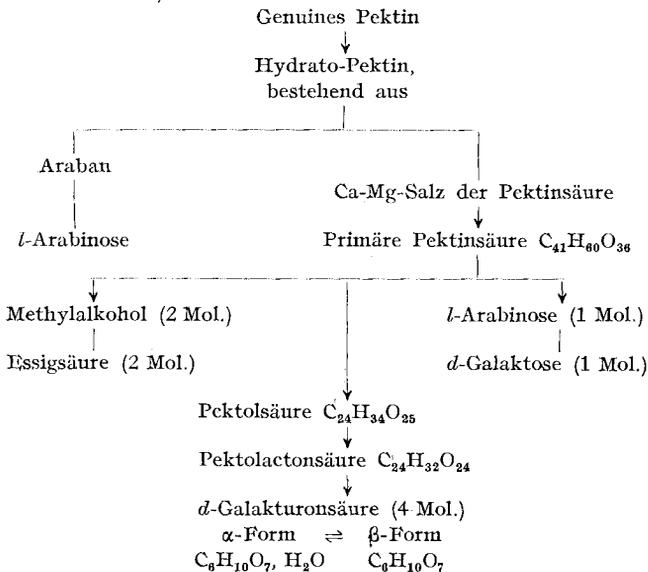
In einer Reihe von Arbeiten aus unserem Institut über die Veresterung von Pektinstoffen<sup>1)</sup> konnte in neuester Zeit gezeigt werden, daß diese besser isolierbar und leichter Untersuchungen zugänglich sind, wenn man sie mit Säuren z. B. zu Nitro-pektin verestert. Eingehende Studien der Eigenschaften dieser Ester sowie Konstitutionsermittlung an ihnen ergaben mit großer Sicherheit, daß Nitro-pektin eine nitririerte Galakturonsäurekette darstellt, deren COOH-Gruppe teilweise mit  $\text{CH}_3\cdot\text{OH}$  verestert ist, und deren Molekülgröße je nach der Herkunft und Behandlungsart zwischen 20000 bis weit über 100000 schwankt<sup>2)</sup>.

Diese Erkenntnisse an den Pektin-estern stehen jedoch im Widerspruch zu der bisher angenommenen Konstitution der Pektinstoffe selbst. Insbesondere fällt die relativ einfache Konstitution und der celluloseartige Aufbau des Nitro-pektins im Gegensatz zu dem komplizierten Bau der Pektinstoffe auf, die aus den verschiedensten Komponenten zusammengesetzt sein sollen. Es war daher naheliegend, daß wir von den Erkenntnissen an den Estern ausgehend versuchten, die Konstitution der Pektinstoffe selbst zu klären. Zu diesem Zwecke war es jedoch nötig, die bisher herrschende Auffassung über die Konstitution der Pektinstoffe kritisch zu betrachten und ihre Stützen zu prüfen.

Die heutige Auffassung von der Konstitution der Pektinstoffe stützt sich in der gesamten Literatur so grundlegend auf die Ehrlich'sche Anschauung, daß wir uns hauptsächlich mit dieser auseinanderzusetzen haben.

Diese sei kurz nach Ehrlich skizziert:

Gesamtübersicht<sup>3)</sup>:

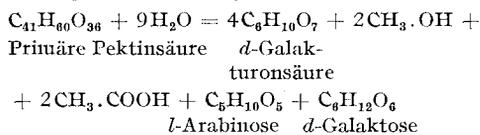


<sup>1)</sup> Henglein u. Schneider, B. **69**, 323 [1936]; Schneider u. Ziervogel, B. **69**, 2530 [1936]; G. Schneider u. U. Fritschi, B. **69**, 2537 [1936]; **70**, 1611 [1937].

<sup>2)</sup> vergl. Abbild. 2 d. Abhandl. von Schneider u. Fritschi, B. **70**, 1615 [1937].

<sup>3)</sup> Abderhalden, Handb. d. Biol. Arbeitsmethoden (Urban u. Schwarzenberg), Berlin 1936, Teil 11, II, S. 1538, 1522, 1529, 1524.

„Die primäre Pektinsäure . . . . . ließ sich aus sehr verschiedenen Pflanzen mit identischen Eigenschaften und gleichen Analysenzahlen ihrer Bausteine gewinnen und zeigt übereinstimmend die Bruttoformel  $C_{41}H_{60}O_{36}$ . Diese primäre Pektinsäure wird durch Säuren, Laugen und Fermente in ihre Bausteine gespalten und zerfällt bei der Totalhydrolyse nach folgender Gleichung:



Die primäre Pektinsäure wäre also chemisch als eine Dimethoxy-diacetyl-arabino-galacto-tetragalakturonsäure aufzufassen. Sie ist eine Estersäure, die zwei Carboxyle in freier Form und zwei Carboxyle an zwei Moleküle Methylalkohol esterartig gebunden aufweist. Die beiden freien Carboxyle sind in dem natürlichen pektinsäuren Salz, aus dem die Säure erhalten wird, mit Calcium und Magnesium gesättigt. Der Methylalkohol ist aus der Pektinsäure durch Verseifung mit Lauge schon in der Kälte und auch durch ein Ferment (Pektase) abspaltbar. Als Grundkörper der nicht reduzierenden primären Pektinsäure ist eine komplexe vierbasische Säure anzusehen, gebildet aus den vier freien Carboxylgruppen von vier Molekülen *d*-Galakturonsäure, die selbst mittels ihrer maskierten Aldehydgruppen untereinander in glykosidartiger Bindung verankert und außerdem noch an anderen Stellen ihres Moleküls in ähnlicher Bindung mit je einem Molekül *l*-Arabinose und *d*-Galaktose und in esterartiger Bindung mit zwei Acetylgruppen verbunden sind.“

„Mit der ringförmigen Struktur des Tetragalakturonsäure-Gerüsts, die sich schon im Innern des ursprünglichen Pektinmoleküls vorfindet und bei mildem Abbau in dem Bruchstück der Pektolsäure erhalten bleibt, hängen ganz offenbar die eigentümlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften der Pektinstoffe auf das engste zusammen, namentlich die auffallende Erscheinung ihrer Fähigkeit, besonders feste und steife Gelees und Gallerten zu bilden.“

In diesen Zitaten sind kurz die wesentlichsten Punkte der Ehrlich'schen Anschauungen enthalten. Es erhebt sich die Frage, welche Beweisgründe für diese Auffassung vorhanden sind.

Die „Tetragalakturonsäure“, das Gerüst der Pektinstoffe: Ehrlich konnte als letztes Spaltprodukt bei gelindem Säureabbau die *d*-Galakturonsäure isolieren und hat in ihr den wichtigsten Baustein der Pektinstoffe erkannt. Auf Grund von Bruttoanalysen und kryoskopischen Molekulargewichtsbestimmungen kam Ehrlich zu der Ansicht, daß als Hauptgerüst der Pektinstoffe eine Tetragalakturonsäure, also eine 4-er Einheit, anzunehmen ist, die gewöhnlich einen großen Ring bildet.

Diese Ansicht ist unbedingt ein Fehlschluß, da die zugrunde liegenden kryoskopischen Molekulargewichtsbestimmungen nicht richtig sind, was von uns schon mehrfach betont wurde<sup>4)</sup>. Wir haben eingehend bewiesen, daß den Pektin-estern Molekülgrößen von 20000 bis weit über 100000 zukommen<sup>5)</sup>. Daraus ist zu schließen, daß die Pektinstoffe selbst vor der Veresterung eher größere, niemals aber kleinere Moleküle besaßen, da bei der Veresterung wie Nitrierung immer nur ein Molekülabbau erfolgen kann. Insbesondere zeigten Untersuchungen, daß die Pektinsäure kein definiertes Molekulargewicht besitzt, sondern daß diese Verbindung je nach der Gewinnung, nach der Herkunft usw. verschiedene Molekülgrößen aufweist.

<sup>4)</sup> Henglein u. Schneider, B. **69**, 323 [1936]; G. Schneider u. U. Fritschi, B. **69**, 2537 [1936].

<sup>5)</sup> G. Schneider u. U. Fritschi, B. **69**, 2541 [1936]; **70**, 1611 [1937].

Weiter konnten die Amerikaner L. Baur und K. Link durch vollkommene Methylierung und Endgruppenbestimmung zeigen, daß die Einheit der Polygalakturonsäure, die nach weitgehendem Abbau der Pektinstoffe durch 8-stdg. Erhitzen mit 5-proz. Salzsäure auf dem Wasserbade zurückbleibt, mindestens 10 Galakturonsäuren sein müsse<sup>6)</sup>. Wie Baur und Link zeigten, führt die Einwirkung von HCl in absol. Methylalkohol auf Pektolsäure und Pektolactonsäure nach Ehrlich<sup>7)</sup> zu Methylestern, aus deren Analyse, insbesondere aus der Methylalkoholbestimmung, hervorgeht, daß die Pektolsäure und Pektolactonsäure Ehrlichs nicht eine Tetragalakturonsäure ist, sondern aus etwa 10 Galakturonsäure-Einheiten besteht. Die Amerikaner schließen mit Recht: „Ehrlichs belief, that his Pektolsäure and Pektolactonsäure preparations are definite compounds containing 4 Galacturonic acid units, is not in harmony with the results obtained.“ Auf Grund unserer und der davon unabhängig von anderen gefundenen Argumente kann der Begriff der Tetragalakturonsäure nicht mehr aufrecht erhalten werden.

Einen eigentlichen Beweis für die Annahme einer Ringform<sup>8)</sup>, die schon aus genetischen Gründen unwahrscheinlich sein dürfte und ohne Analogie in der Pflanzenwelt wäre, ist aus den Arbeiten Ehrlichs nicht zu ersehen, denn Bruttoanalysen und Molekulargewichtsbestimmungen geben keinen Beweis für einen so gewagten Ringschluß.

Dahingegen deuten die von uns an Pektin-ester-Fäden<sup>8)</sup>, von Corbeau und Burgers<sup>9)</sup> und von Baur und Link<sup>10)</sup> an Pektin-Fäden ausgeführten Röntgenuntersuchungen auf gestreckte Moleküle. Es liegen demnach als Gerüst der Pektinstoffe keine Tetragalakturonsäuren in Ringform, sondern ohne Frage Galakturonsäure-Ketten vor, wie schon mehrfach von uns in früheren Arbeiten betont wurde.

Die Bruttoformel  $C_{41}H_{60}O_{36}$  und ihre Hydrolysgleichung: Abgesehen von der Auffassung der Tetragalakturonsäure als Gerüst der Pektinstoffe ist der Hauptteil der Ehrlichschen Anschauung in der Bruttogleichung zu sehen.

Ehrlich stellt die Behauptung auf, alle Pektinstoffe seien gleich und hätten besagte Formel. Er veröffentlicht zum Beweis z. B. folgende Tabelle:

Primäre Pektinsäure aus wandständigem Pektin<sup>8)</sup>.

Ausgangsmaterial	Mol.-Gew.	Galakturonsäure $C_6H_{10}O_7$	Methylalkohol $CH_3 \cdot OH$	Essigsäure	Arabinose $C_5H_{10}O_5$	Galaktose $C_6H_{12}O_6$
Für $C_{41}H_{60}O_{36}$ . . . . . theoret. berechn.	1128	68.8	5.7	10.6	13.3	15.9
Citronenschalen . . . . .	1342	68.3	6.0	10.0	12.9	15.6
Apfelsinenschalen . . . . .	1350	67.3	6.0	10.9	14.2	15.6
Zuckerrüben . . . . .	1166	67.5	5.5	10.4	13.1	14.8

Hat ein Pektin nicht diese Zusammensetzung, dann ist es nach Ehrlich irgendwie fermentativ oder hydrolytisch abgebaut.

<sup>6)</sup> S. Morell, L. Baur u. K. Link, Journ. biol. Chem. **105**, 1 [1934].

<sup>7)</sup> F. Ehrlich, Biochem. Ztschr. **250**, 525 [1932]; **251**, 204 [1932].

<sup>8)</sup> Henglein u. Schneider, B. **69**, 321 [1936].

<sup>9)</sup> van Iterson (L. Corbeau u. W. Burgers), Chem. Weekbl. **1933**, 2 (C. **1934** I, 312). <sup>10)</sup> Morell, Baur u. Link, Journ. biol. Chem. **105**, 4 [1934].

Ehrlich versuchte, in dem Wirrwarr der Pektinchemie eine Gesetzmäßigkeit zu finden bzw. eine Systematik zu konstruieren. Er glaubte, diese in der Formel, d. h. in dem gleichen Verhältnis zwischen Arabinose und Galaktose auf der einen Seite und Galakturonsäure auf der anderen Seite bei verschiedenen Pflanzen gefunden zu haben. Diese Gesetzmäßigkeit besteht nicht. Gerade in dem Unterschied des Verhältnisses von Arabinose bzw. Galaktose und Galakturonsäure liegt ein wesentliches Merkmal der aus verschiedenen Pflanzen gewonnenen Pektinstoffe.

Die Formel  $C_{41}H_{60}O_{36}$  begründet Ehrlich z. B. mit den obengenannten Analysenwerten. Ein genau bestimmbares Beispiel sei herausgegriffen:

Nach der Formel muß der Methylalkoholgehalt für alle Pektinsorten 5.7% sein. Ehrlich gibt nun in obiger Tabelle für Apfelsinen- und Citronenpektin den Wert 6.0 an. Nach den meisten anderen Angaben Ehrlichs enthalten Apfel-, Citronen- und Apfelsinenpektin einen viel höheren Wert (8—11% Methylalkohol). Dies erklärt Ehrlich damit, daß er zwischen primärer Pektinsäure aus wandständigem Pektin, die der Formel gehorchen, und zwischen partiell fermentativ abgebauten Pektinsäuren aus leichtlöslichen Pektinaten unterscheidet. Alle Pektine, die also nicht der Formel und somit seiner Systematik gehorchen, sind nach Ehrlichs Ansichten irgendwie abgebaut.

Dazu ist zu sagen, daß es uns trotz zahlloser Untersuchungen nicht gelungen ist, eine einigermaßen durch Umfällen gereinigte Pektinsäure aus Äpfeln, Citronen, Apfelsinen usw. auf schonende Art herzustellen, die nicht einen weit höheren Wert von Methylalkohol und entsprechend andere Formelwerte besessen hätte. Wenn ein solches Pektin den Wert von 6% Methylalkohol besitzt, so gibt es nur 2 Möglichkeiten: Entweder die Pektinsäure ist so verunreinigt, daß der Prozentgehalt an Pektinsäure durch Ballaststoffe (Pentosane) zurückgedrängt ist, was sich durch mehrfaches Umfällen aus 70-proz. Alkohol an starkem Anstieg des Methoxyl-Wertes zeigen läßt, oder die Pektinsäure ist so abgebaut, daß die Methoxylgruppen teilweise durch Fermente oder Hydrolyse abgespalten sind.

Insbesondere muß betont werden, daß die Formelwerte Ehrlichs, wie man am leichtesten an dem Gehalt an Methoxylgruppen feststellen kann, nur willkürlich herausgegriffene Werte darstellen. Je mehr man die Pektinsäure durch Umfällen reinigt, ein Vorgang, bei dem kaum chemische Veränderungen vor sich gehen, desto mehr entfernen sich die Werte von dem formelmäßig verlangten Wert; Methylalkohol eilt z. B. einem Werte zu, der, je nach der Frucht, bei 9—12% liegt.

#### Darstellung der Pektinpräparate.

Diese ist deshalb hier so wichtig, weil Ehrlich die Abweichungen von seiner Formel mit einem stattgefundenen Abbau der Produkte begründet.

Die Pflanzenmaterialien wurde in einer Schneidemaschine zerkleinert und dann mit kaltem, destilliertem Wasser mehrmals ausgelaugt. Die Materialien wurden daraufhin etwa 4-mal  $\frac{1}{2}$  Stde. mit dest. Wasser ausgekocht. Die einzelnen Absude wurden getrennt, in Vakuum-Umlaufverdampfern aus Glas bei 30—40° eingedickt und die Konzentrate nach Zentrifugieren bei 2500 Touren in 70-proz. Alkohol ausgefällt. Darauf wurden die Produkte in wäßrigem Alkohol sinkender Konzentration so oft umgefällt und wieder zentrifugiert, bis die erforderliche Reinheit erreicht war.

Der von Ehrlich verwandte Säurezusatz zur Freimachung der Pektinsäure wurde bewußt zur Vermeidung irgendwelcher Hydrolyse in diesem Falle unterlassen, da das Behandeln mit kalten Säuren vorwiegend die Befreiung der Präparate von adsorbierten anorganischen Calcium-Magnesiumsalzen bewirkt, die bei vorliegender Betrachtung nicht stören.

Wir haben die Pektinsäuren, abgesehen von dem  $\frac{1}{2}$ -stdg. Auskochen, ohne jede Gefahr einer Beschädigung hergestellt und gereinigt. Da alle Pektinstoffe gewöhnlich durch Auskochen der Materialien mindestens mit Wasser, wenn nicht mit verd. Säure, gewonnen werden, so hatten wir Produkte vor uns, die allgemein als Pektinstoffe gelten. Auch Ehrlichs Produkte sind durch Auskochen mit Wasser gewonnen.

Zur Erkennung der Gesetzmäßigkeiten wurden nur gut gelierende, einwandfreie Pektinpräparate aus Citrus, Orangen, Apfeltrester sowie von Opeka untersucht. Der Grad des Abbaus der Produkte wurde durch Molekulargewichtsmessungen verfolgt. Abgebaute Produkte wurden verworfen. Aus diesem Grunde müssen auch die Messungen an Rübenpektin, das durch Wasserextraktion gewonnen wurde, entschieden abgelehnt werden. Wie auf S. 1629 gezeigt wird, ist solches Pektin, im Gegensatz zu dem Rübenpektin in der Zellwand selbst, derartig abgebaut, daß es als völlig zerstört nicht zu entscheidenden Messungen herangezogen werden kann. Ehrlich scheint sich aber gerade auf die Untersuchungen des Rübenpektins zu stützen! Es sei besonders darauf hingewiesen, daß es sich hier um hochmolekulare, hydrophile Kolloide handelt, die äußerst vorsichtig behandelt werden müssen; insbesondere muß entschieden Druck vermieden werden, wenn eine klare Löslichkeit bleiben soll.

Befreiung der Pektinsäure von Araban: Ehrlich sowie eine Reihe von Forschern sind der Ansicht, daß das Araban in 70-proz. Alkohol leicht löslich ist. Durch Behandeln der Pektinsäure mit 70-proz. Alkohol wäre demnach quantitativ die Pektinsäure von dem Araban zu befreien. Dies ist ein Fehlschluß. Pektinsäure (Ehrlich) ist ebenso wie Araban in Wasser leicht löslich, in Alkohol unlöslich. Wenn wir das Gemisch beider Stoffe mit wäßrigem Alkohol behandeln, so nehmen wir nicht eine Trennung nach Stoffen, also Pektinsäure und Araban vor, sondern eine Trennung nach Molekülgrößen, also eine Molekül-Fraktionierung. Dasselbe ist ja auch der Fall bei Zerlegung der Nitro-cellulose durch Aceton-Wassergemische in einzelne Fraktionen. Dabei lösen sich alle Moleküle, die unter einer gewissen Größe liegen, unabhängig davon, ob es sich um Pektinsäure oder Araban handelt; freilich ist die Grenze für beide nicht gleich.

Da jedoch die Pektinstoffe nach unserer Feststellung gewöhnlich ziemlich große Moleküle besitzen, so löst sich bis zu einer gewissen Alkoholkonzentration vorwiegend Araban. T. K. Gapanenkow<sup>11)</sup> hat jetzt durch osmotische Untersuchungen festgestellt, daß Araban, das mit 70-proz. Alkohol herausgelöst wurde, eine Molekülgröße von ungefähr 6000—7000 besitzt. Nach dieser Messung löst sich z. B. in 70-proz. Alkohol Araban, soweit die Molekülgröße unter 6000—7000 liegt. Die größeren Pentosane sind nicht in Lösung gegangen.

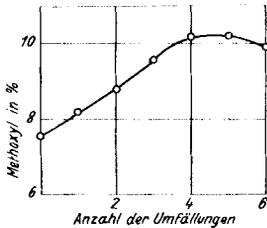
Demnach können wir durch Behandeln des Pektinsäure-Arabangemisches mit 70-proz. Alkohol nur dann reine Pektinsäure erhalten, wenn die begleitenden

<sup>11)</sup> C. 1937 I, 2780.

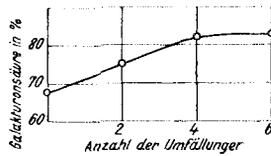
Pentosane sehr stark abgebaut sind und deshalb in Lösung gehen. Ein Trennen sehr hochmolekularer Pentosane von der Pektinsäure ist durch Behandeln mit 70-proz. Alkohol also nicht zu erreichen. Nach 5—6-maligem Umfällen mit 70-proz. Alkohol stellt sich allmählich ein konstanter Wert ein. Fällt man darauf mit verdünnterem Alkohol, so tritt eine Abtrennung einer Fraktion mit größerem Molekulargewicht auf. Eine Trennung gleich großer Moleküle kann auf diese Art überhaupt nicht erfolgen.

Umfällen von Opekta in 70-proz. Alkohol (Abbild. 1 und 2).

Anzahl der Umfällungen	% Methoxyl	% Galakturonsäure
0	7.6	68
2	8.89	75
4	10.2	82
6	9.91	83



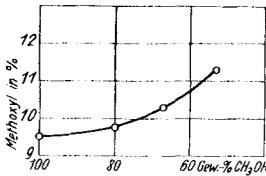
Abbild. 1.



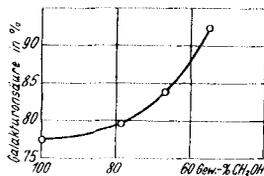
Abbild. 2.

Endwerte der Umfällung von Citruspektin in verschieden konz. Alkohol. (Abbild. 3 und 4).

Konz. des Alkohols in Gew.-%	100	79	67	53
% Galakturonsäure	77.5	79.5	84	92.5
% Methoxyl	9.52	9.78	10.3	11.4



Abbild. 3.



Abbild. 4.

Ehrlich war dagegen der Meinung, daß man mit 70-proz. Alkohol alles Araban entfernen könne. Was sich nicht löste, gehörte zur Pektinsäure. Dies ist der eigentliche Grund, warum die Formel Ehrlichs so kompliziert ist. Es werden alle Pentosane, die zufällig, nämlich auf Grund ihrer Molekülgröße, sich nicht in 70-proz. Alkohol lösen, in die Formel des Pektins hereingezogen.

Wieviel hochmolekulare Pentosane die Pektinstoffe begleiten, ist abhängig von der Fruchtart, der Reife, der Behandlung usw.

Zur Prüfung der Formelwerte Ehrlichs werden nur solche Messungen herangezogen, die unbedingt exakt sind. Eine Bestimmung der Pentosen neben der Galakturonsäure auf direktem Wege sowie Galaktosebestimmungen durch Gärung können wegen der Unsicherheit der Methoden nicht zur Entscheidung verwandt werden. Bestimmungen der Acetylgruppen geben ebenso wenig Aufschluß.

Als sicheres Kriterium für die Beurteilung der Formel sowie zum Vergleich der Pektinstoffe untereinander, kann, abgesehen von den Messungen der

Theoretischer Wert nach der Formel Ehrlichs	Kryoskop. Mol.-Gew.-Best.	1128	68.8	5.7
Frucht	Umgefällt in 70-proz. Alkohol	$\eta_{sp}/c^{10}$	% Galakturonsäure	% $\text{CH}_3\text{OH}$
Citrus 1. Absud	0	150	77.5	9.52
1	0		77	9.25
1	0		74	8.96
1	2		83	10.2
2	2		92.5	11.4
	(53-proz. Alkohol)			
2	0		77	8.9
2	2		81	10.1
3	0		74	8.76
3	2		84	10.2
4	2		82	10.1
Orangen				
1	0	80	72	8.51
1	2		82	9.8
2	0		70	8.32
2	2		82	9.78
3	2		83	9.9
4	2		83	9.84
Apfeltrester				
1	0	190	70.1	8.46
1	0		71.2	8.51
1	1		82.1	10.28
1	3		92	12.1
	(55-proz. Alkohol)			
2	0	150	72.3	8.91
2	1		75.8	9.7
3	0	115	73.2	8.91
3	1		79	9.62
4	1	60	81	9.78
Opekta				
	1	56	68	7.6
	2		75	8.8
	4		82	10.2
	6		83	9.94
Trester vergoren		25	85	4.7
Rüben		17	63	5.48

Molekulargewichte, die Bestimmung der Galakturonsäure<sup>12)</sup> sowie die Bestimmung der Methoxylgruppen<sup>13)</sup> herangezogen werden, die die eigentlich wesentlichen Bestandteile der Pektinstoffe darstellen.

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, daß sich sämtliche Pektinsäuren verschiedenster Herkunft und verschiedenster Behandlungsart unso mehr von den Formelwerten Ehrlichs entfernen, als die Produkte gereinigt werden. Ähnliche Werte wie Ehrlich erhält man nur, wie die beiden letzten Reihen zeigen, bei abgebauten oder stark verunreinigten Produkten. Durch diese Feststellung verliert die Formel Ehrlichs ihre Bedeutung.

### Die Konstitution der Pektinstoffe.

Wir haben damit gezeigt, daß die Vorstellungen Ehrlichs weder mit den Messungen an Pektinsäuren selbst noch mit den Eigenschaften der Ester in Einklang zu bringen sind. Insbesondere konnte bewiesen werden, daß die aufgestellte Formel  $C_{41}H_{60}O_{36}$  in keiner Weise den Tatsachen entspricht. Ehrlich hat eine Gesetzmäßigkeit zu finden geglaubt, die allen Pektinsorten eigen sein soll. Danach wären alle Pektine gleich, Rübenpektin, Obstpektin, Apfelpektin wie Citronenpektin, während doch die Praxis zeigt, daß die Pektinstoffe verschiedener Herkunft sich stark voneinander unterscheiden. Dies erkennt man schon daraus, daß auf gewöhnliche Weise hergestelltes Rübenpektin (Wasserabsud) nicht zum Gelieren zu bringen ist, während Obstpektin, auf dieselbe Weise gewonnen, prachtvoll geliert.

Die Gedankengänge, die uns zur neuen Auffassung der Pektinstoffe geführt haben, sind folgende: Nitropektin ist als nitrierte Polygalakturonsäure erkannt worden, deren COOH-Gruppen zum großen Teil mit Methylalkohol verestert sind. Der Ester ist frei von Arabinose, Galaktose und Acetylgruppen. Es drängt sich nun die Frage auf, ob eine nicht nitrierte Galakturonsäurekette, entsprechend methyliert, wie sie als Kern der Pektinstoffe angenommen werden muß, Gelifähigkeit besitzt.

Überraschenderweise zeigte sich, daß die meisten amerikanischen technischen Pektinsorten, nach den Untersuchungsergebnissen Ehrlichs selbst, bei ausgezeichneter Gelifähigkeit keine Arabinose und Galaktose mehr enthalten. In diesem Zusammenhang wurde von uns zunächst Citruspektin hergestellt, das in Analogie zum technisch amerikanischen Pektin mit verdünnter Säure gewonnen war. Dieses zeigte bei mehrmaligem Umfällen die Werte, die einer reinen methylierten Polygalakturonsäure entsprechen. Die Gelifähigkeit war ebenso wie die der technischen Produkte ausgezeichnet.

Tabelle.

	Galakturonsäure	CH <sub>3</sub> .OH	Arabinose	Galaktose
Citruspektin . . .	96	11.6	0	0

<sup>12)</sup> Carboxylbestimmungen wurden nach Lefèvre sowie nach Staudinger-Kohn ausgeführt (Hans Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung organ. Verbindungen **1**, 386 [1931]).

<sup>13)</sup> Methoxylbestimmungen wurden ausgeführt nach der Methode von Zeisel im Apparat von Hans Meyer u. Bamberger (Hans Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung organ. Verbindungen **1**, 487 [1931]).

Nach Ehrlichs Anschauung sind bei dem technischen Pektin durch die Säurehydrolyse Arabinose und Galaktose so gut wie vollständig abgespalten. Bekannt ist, daß die Arabinose keinen wesentlichen Einfluß auf die Gelierfähigkeit hat.

Es liegt jetzt die Frage nahe, ob Arabinose und Galaktose überhaupt zu den Pektinstoffen gehören, oder ob sie nicht etwa Überreste der sogenannten Arabankomponenten Ehrlichs sind, d. h. einfach begleitende Pentosane usw. darstellen. Erinnern wir uns an die Reinigung der Pektinsäure mit 70-proz. Alkohol von Pentosanen, die lediglich eine Molekül-Fraktionierung darstellt.

Bei den technischen Pektinsorten sind die Pentosane durch die Säurebehandlung abgebaut, da sie sehr säureempfindlich sind. Beim Umfällen mit 70-proz. Alkohol lösen sich die abgebauten Pentosane, und wir erhalten daher nur die methylierte Polygalakturonsäure. Anders bei schonend behandeltem Pektin. Hier liegt es an der Obst- oder an der Rübenart, der Reife usw., welche Molekülgröße die begleitenden Pentosane usw. besitzen. Wie weiter oben gezeigt wurde, kann man durch vielfaches Umfällen mit derselben Alkoholkonzentration stets nur zu einem Endwert kommen. Durch Senken des Alkoholgehaltes, d. h. durch Lösen noch größerer Moleküle, eilt man jedoch Werten zu, die einer hochmethylierten Polygalakturonsäure entsprechen.

Citruspektin.

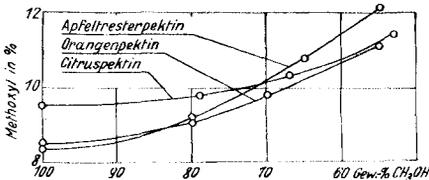
Konz. des Alkohols in Gew.-%	100	79	67	53
% Galakturonsäure	77.5	79.5	84	92.5
% Methoxyl	9.52	9.78	10.3	11.4

Orangen-Pektin.

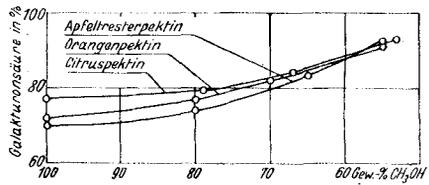
Konz. des Alkohols in Gew.-%	100	80	70	55
% Galakturonsäure	72	77	82	91
% Methoxyl	8.51	9.1	9.8	11.1

Pektin aus Apfeltrester.

Konz. des Alkohols in Gew.-%	100	80	65	55
% Galakturonsäure	70.1	74.2	83.1	92
% Methoxyl	8.46	9.21	10.78	12.1



Abbild. 5.



Abbild. 6.

Aus dieser Tabelle geht einwandfrei hervor, daß keine festen Beziehungen zwischen den Pentosanen und der Pektinsäure bestehen. Wenn die Arabinose usw. hauptvalenzmäßig in das Formelbild, ähnlich wie es sich Ehrlich vorstellt, eingebaut wäre, dann müßte sich vor allem eine feste Verhältniszahl ermitteln lassen. Im Gegenteil, lediglich

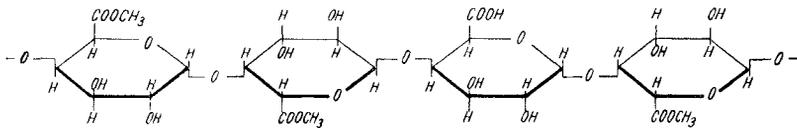
durch Umfällen mit verdünnterem Alkohol kann man die Pentosane bis auf ein Minimum entfernen.

Schließlich besteht kein Grund, die Pentosane oder andere Hemicellulosen in die Formel der Pektinstoffe einbauen zu wollen, nur deshalb, weil sie ebenso wasserlöslich wie die Pektinstoffe in die Absude gelangen und als Kolloide ähnlicher Struktur schwer abzutrennen sind.

Im Gegenteil, die Pektinstoffe stehen zu den Pentosanen im selben Verhältnis wie zu den Cellulosen der Zellwand. Außerdem besteht ein genetischer Zusammenhang zwischen Pektinstoffen und Pentosanen. Die Pektinstoffe, d. h. die Polygalakturonsäuren, können zu Pentosanketten durch Decarboxylierung abgebaut werden. Deshalb darf man auch die Abtrennungsmöglichkeiten nicht übertreiben. Aber daraus ergibt sich kein Recht, die Pektinformel unnötig und ohne Beweis durch Einbau der Arabinosen usw. zu komplizieren.

#### Die Formel der Pektinstoffe.

Die Pektinstoffe sind definitionsgemäß hochmolekulare, kohlehydratartige Pflanzenstoffe, welche die Fähigkeit haben, mit Zucker unter gewissen Bedingungen Gelee zu bilden. Sie sind die Geleebildner in den Früchten. Dieser Definition entsprechen die aus allen Früchten isolierbaren Stoffe, die sich als mehr oder minder mit Methylalkohol veresterte Galakturonsäureketten erwiesen haben. Den Pektinstoffen kommt demnach die einfache Formel zu:



Abbild. 7.

(Die Formel stellt eine Galakturonsäure-Kette dar, deren Carboxylgruppe zu 75% mit Methylalkohol verestert ist. Diese Annahme, sowie die Lage der freien Carboxylgruppe ist willkürlich.)

Solche reinen Stoffe sind jedoch nur schwer zu gewinnen, weil sich die stets in Zellwänden befindlichen Pentosane und Hexosane immer mit den Pektinstoffen herauslösen und sich als Körper mit ähnlicher Molekülform kaum trennen lassen.

Ehrlich nimmt als weiteren wesentlichen Bestandteil im Pektinmolekül 10% Essigsäure in Form von Acetylgruppen an, und es erhebt sich nun die Frage: inwieweit sind im Pektin und damit in der angegebenen Formel Acetylgruppen vorhanden?

Ehrlich stützt die Annahme von Acetylgruppen auf Essigsäurewerte, die er nach Verseifen durch 5-stdg. Erhitzen mit 0.2-proz. Natronlauge auf dem Wasserbade erhielt. Bei völlig gereinigten, einwandfreien Produkten kann man aber mittels schonender Methoden keine Acetylgruppen feststellen. Solche Methoden sind z. B. die Verseifung mit *p*-Toluolsulfonsäure in absol. Alkohol nach Freudenberg-Harder<sup>14)</sup> oder mit *p*-Toluol-

<sup>14)</sup> Hans Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung organ. Verbindungen 1, 349 [1931].

sulfonsäure, 2.5-proz., 5-proz. Schwefelsäure in wäßriger Lösung, obwohl nach diesen Methoden sehr gut Acetyl-cellulose sowie auch acetyliertes Pektin<sup>15)</sup> bestimmbar sind. Aus dem ganzen Bau der Pektinstoffe ist aber nicht zu ersehen, warum etwaige Acetylgruppen in Pektin fester gebunden sein sollten als in Acetyl-cellulose und in künstlich acetyliertem Pektin. Kocht man jedoch die Pektinsäure mit 10% Schwefelsäure oder gar, wie Ehrlich es vorschlägt, 5 Stdn. mit 0.2-proz. Natronlauge, so tritt, wie sich durch Messungen der CO<sub>2</sub> aus den Carboxylgruppen zeigen läßt, eine vollständige Aufspaltung und Zersetzung auch der Galakturonsäure ein, die größtenteils zu Ameisensäure führt. Solche brutalen Methoden müssen jedoch unbedingt vermieden werden, weil bei dieser Zersetzung des Moleküls außer Ameisensäure auch andere Säuren in kleinerem Maße entstehen können. Da bei der schonenden Herstellung der Produkte keine Abspaltung von Acetylgruppen eingetreten sein kann, so besteht kein Grund zur Annahme, daß in den aus den Pflanzen isolierten Pektinstoffen irgendwelche Acetylgruppen vorhanden sind. Etwa auftretende Essigsäure ist noch kein Beweis für das Vorhandensein von Acetylgruppen, da erst bewiesen werden muß, daß diese Essigsäure nicht von fest anhaftenden Verunreinigungen oder bei brutalen Verseifungsmethoden von einer Zersetzung herrührt.

Die Untersuchung ist in dieser Hinsicht noch nicht abgeschlossen.

#### Die Leistungsfähigkeit der neuen Pektinformel.

Es ist zu prüfen, ob die Eigenschaften der Pektinstoffe der abgeleiteten, einfachen Formel in jeder Hinsicht entsprechen.

Die Vielzahl der Pektinstoffe: Es ist jedem Pektinpraktiker bekannt, daß Pektinstoffe auch bei genau gleicher Isolierung sehr verschieden sind, je nach der Fruchtart, dem Reifegrad usw. Nach der neuen Vorstellung bestimmen 3 Faktoren die Eigenschaften der Pektinstoffe:

1) Die Molekülgröße, die von grundlegender Bedeutung für eine ganze Reihe von Eigenschaften, z. B. für die Faden- und Filmbildung sowie für die Gefrierfähigkeit ist.

2) Der Grad der Veresterung der Polygalakturonsäure mit Methylalkohol. Durch Abspaltung von Methylalkohol auf fermentativem oder hydrolytischem Wege ändert sich die Löslichkeit der Pektinstoffe in Wasser. Ein niedriger Methylalkoholgehalt braucht nicht auf Abspaltung der Methoxylgruppen zu beruhen, sondern ist gewöhnlich auf die Anwesenheit größerer Mengen von Ballaststoffen zurückzuführen, die den Methoxyl-Wert herabdrücken.

3) Die Ballaststoffe, wie Pentosane usw., die stets mehr oder weniger die Pektinstoffe begleiten. Es ist ein großer Unterschied, ob bei der Wasserextraktion einer Frucht die Pektinstoffe ohne Verunreinigungen oder mit 50% Ballaststoffen in Lösung gehen. Wie wir gezeigt haben, ist ein Abtrennen der physikalisch und chemisch den Pektinstoffen sich ähnlich verhaltenden Pentosane praktisch schwer möglich; es sei denn, daß man durch Säurehydrolyse bei der Extraktgewinnung die säureempfindlichen Ballaststoffe abbaut, wie dies vorwiegend bei den Verfahren in Amerika geschieht. Daher sind die technischen Pektinprodukte in Amerika weitgehend frei von Ballaststoffen.

<sup>15)</sup> Schneider u. Ziervogel, B. 69, 2530 [1936].

Die Kombination dieser 3 Faktoren ergibt nun eine Vielfältigkeit dieser Pektinstoffe, die den Variationsmöglichkeiten der Natur allein gerecht werden kann. In eine Formel  $C_{41}H_{60}O_{36}$  kann man die Vielzahl der Pektinstoffe nicht hineinzwängen.

**Optische Eigenschaften:** Die Pektinstoffe sind im Gegensatz zur Cellulose in der Pflanze isotrop. Ebenso sind die Pektingallerten, die sich im Mikroskop als feines Fadengewirr erweisen, isotrop. Daraus könnte man scheinbar einen Widerspruch mit der Vorstellung von Galakturonsäureketten ableiten, die ebenso wie Cellulose-Ketten anisotrop sein müßten. Aus den Untersuchungen an Pektin-estern mittels osmotischer und viscosimetrischer Messungen sowie aus den Filmeigenschaften geht hervor, daß die Pektinstoffe bei weitem nicht so gestreckte Formen besitzen wie die Cellulose. Die Filmbildungsfähigkeit ist bedeutend schlechter als bei der Cellulose, die Viscosität geringer, wenn auch das Pektin die Stärke in dieser Beziehung weit übertrifft. Da aber die Molekülform der Pektinstoffe schon durch die Anwesenheit der COOH-Gruppen gedrängter ist als bei der Cellulose, ist auch das Orientierungsvermögen der Pektinstoffe geringer. Erst durch Ausfällen der Pektin-Gallerten in Fadenform oder Ausdüsen von Pektin-ester-Fäden und ihr Strecken erhält man eine schwache Krystallit-Orientierung<sup>1)</sup>, was ein Beweis für das Vorliegen gestreckter Moleküle ist.

**Die Gelierfähigkeit der Pektinstoffe:** Die wichtigste Eigenschaft der Pektinstoffe ist die Gelierfähigkeit. Hierüber konnte die Ehrlichsche Formel so gut wie keine Aussagen machen; insbesondere war es nach der Formel Ehrlichs nicht möglich zu erklären, warum Rübenpektin, dem nach Ehrlich dieselbe Formel wie Apfelpektin zukommt, durch gewöhnliche Wasserextraktion gewonnen, nicht geliert.

Ohne im einzelnen auf die Feinheiten des Gelierproblems der Pektinstoffe einzugehen, was an anderer Stelle geschehen wird, sollen einige Daten zeigen, wieviel weiter wir mit den neuen Vorstellungen auch in die Frage der Gelierfähigkeit der Pektinstoffe eindringen können.

Ein Gelee stellt bekanntlich ein Wabennetz von Pektin-Fäden dar, die, wie ein Knäuel verfilzt, die Festigkeit des Gelees bewirken. Bei der Veränderlichkeit der Molekülgrößen der Pektinketten war in Analogie zu den Faserstoffen nun die Frage naheliegend, ob nicht die Molekülgröße bei der Verfilzung eine Bedeutung habe. Aus diesem Grunde wurde die Abhängigkeit der Gelierfähigkeit von Molekülgrößen untersucht, indem die aus den einzelnen Absuden isolierten Pektinsäuren durch vorsichtiges Nitrieren unter gleichen Bedingungen in Nitropektin übergeführt und deren Molekulargewichte viscosimetrisch und osmotisch bestimmt wurden<sup>16)</sup>.

Apfelpektin	1. Absud	280000	Citruspektin	1. Absud	220000
	2. Absud	220000	Orangenpektin	1. Absud	150000
	3. Absud	170000	Rübenpektin	1. Absud	20000—25000
	4. Absud	90000			

Aus dieser Tabelle läßt sich entschieden ein Zusammenhang zwischen Gelierfähigkeit und Molekülgröße feststellen. Der erste Absud aus Obst-

<sup>16)</sup> Die Molekülgrößen wurden durch Viscositätsmessungen an den unter gleichen Bedingungen nitrierten Pektinstoffen gemessen; s. auch <sup>1)</sup>.

tretern besitzt bekanntlich eine weit größere Gelierfähigkeit als der 3. und 4. Absud, was deutlich mit der Änderung der Molekülgröße zusammenhängt.

Endlich zeigt auch die verhältnismäßig kleine Molekülgröße der durch Wasserextraktion gewonnenen Pektinstoffe aus Rüben deutlich, warum das auf solche Art gewonnene Rübenpektin nicht zur Geleebildung befähigt ist: Die Molekülketten sind hier offenbar so klein, daß sie ebensowenig zur Geleebildung befähigt sind wie etwa abgebaute Cellulose zur Filmbildung. Da aber die Pektin-ester, die aus Rüben durch direkte Nitrierung gewonnen werden, Molekülgrößen bis weit über 100000 zeigten, so erkennt man, daß lediglich die stark fermentativ abgebauten Pektinstoffe aus den Rüben durch Wasserextraktion herauszuholen sind. Das Rübenpektin sitzt viel fester in der Zellwand als das Obstpektin, so daß nur ein kleiner Prozentsatz herausgeht; erst dann besteht die Möglichkeit, auch aus Rübenpektin Gelees machen zu können, wenn eine schonende Isolierung des Rübenpektins, also eine Isolierung von Rübenpektin mit größeren Molekülketten gefunden wird.

Im übrigen scheinen sich gewisse Parallelen mit den Erfahrungen bei Faserstoffen, also zwischen Filmbildung und Geleebildung zu ergeben.

#### Nomenklatur der Pektinstoffe.

Die Nomenklatur der Pektinstoffe ist in neuerer Zeit wohl allgemein nach den Vorschlägen Ehrlichs gehandhabt worden, wenn auch die Praxis noch andere Bezeichnungen gebrauchte. Wie wir bewiesen haben, sind die Ehrlichschen Pektinvorstellungen abwegig, und deshalb ist auch seine Nomenklatur irreführend. Wir schlagen daher vor, als Pektinstoffe die technischen Pektinprodukte zu bezeichnen, die noch Begleitstoffe enthalten, als Pektin die der Formel entsprechenden reinen Pektinstoffe, d. h. methylierte Polygalakturonsäure, als Pektinsäure die stark sauer reagierenden, teilweise oder vollständig von  $\text{CH}_3\text{OH}$  befreiten Polygalakturonsäuren, als Hydropektin die analog zu Hydro-cellulose durch Säurehydrolyse partiell abgebauten Pektinstoffe. Zu letzteren rechnen auch die Pektolsäure und die Pektolactonsäure nach Ehrlich, die jedoch keine definierten Molekülgrößen, sondern je nach Behandlungsart verschiedene Molekulargewichte besitzen. Andere Bezeichnungen sind nicht mehr nötig, da die reine Polygalakturonsäure keine weitere Bezeichnung braucht.

#### Zusammenfassung:

Die Stützen der bisher herrschenden Anschauungen über die Konstitution der Pektinstoffe werden kritisch geprüft und die Formel Ehrlichs widerlegt. Aus den Erkenntnissen an den Pektin-estern wird eine neue Pektinformel entwickelt, die die Eigenschaften der Pektinstoffe besser wiedergibt.

Hrn. Prof. Dr. F. A. Henglein danken wir für die vielen Anregungen und für die fördernde Unterstützung unserer Arbeit.