



Doctoral Thesis

Chromatographische Fraktionierung von Pektinstoffen an Diäthylaminoäthyl-Cellulose

Author(s):

Heri, Walter

Publication Date:

1962

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000089167> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Chromatographische Fraktionierung von Pektinstoffen an Diäthylaminoäthyl-Cellulose

VON DER
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
IN ZÜRICH
ZUR ERLANGUNG DER WÜRDE EINES
DOKTORS DER TECHNISCHEN WISSENSCHAFTEN

GENEHMIGTE
PROMOTIONSARBEIT

VORGELEGT VON

Walter Heri

dipl. Ing.-Agr. ETH
von Biberist (SO)

Referent: Herr Prof. Dr. H. Deuel
Korreferent: Herr Prof. Dr. L. Ettlinger

4. Zusammenfassung

1. In dieser Arbeit wurde versucht, Pektinstoffe durch Ionenaustauschchromatographie an DEAE-Cellulose zu fraktionieren. Es wurden Pektinstoffe mit verschiedenem Gehalt an Begleit-Polysacchariden, mit verschiedenen Veresterungsgraden und mit verschiedenen Kettenlängen fraktioniert, um den Einfluss dieser Faktoren auf das Haftvermögen und die Trennbarkeit abzuklären.

2. Das Adsorptionsvermögen von DEAE-Cellulose (Phosphat-Form) für nieder- und hochveresterte Pektine, sowie für hochgereinigte und ballastreiche Pektinsäure wurde bestimmt. Es lag in der Größenordnung von 20 bis 50 mg Anhydrogalakturonsäure pro g DEAE-Cellulose. Das Adsorptionsvermögen von DEAE-Cellulose für niederverestertes Pektin ist grösser als für hochverestertes Pektin. Das Adsorptionsvermögen von DEAE-Cellulose für hochreine Pektinsäure ist grösser als für Pektinsäure, welche reich an Begleit-Polysacchariden ist.

3. Als Modellsubstanz für die Begleit-Polysaccharide der Pektinstoffe diente ein Zuckerrübenaraban, das mit einer Ausbeute von 21 % aus Zuckerrübenschnitzeln extrahiert wurde.

Als eine an Begleit-Polysacchariden reiche Pektinsäure, diente Zuckerrübenpektinsäure. Diese wurde mit 74-proz. Ausbeute an Uronsäure aus frisch zubereiteten Zuckerrübenschnitzeln extrahiert.

4. Als neutrales Polysaccharid haftet Zuckerrübenaraban an DEAE-Cellulose bedeutend schwächer als die sauren Pektinstoffe. Eine genügende Adsorption des Arabans erfolgte nur im schwach alkalischen Bereich (Hydroxyl- oder Borat-Form). Pektinstoffe hingegen haften an DEAE-Cellulose bereits im schwach sauren und neutralen Gebiet. Ein künstliches Gemisch von Araban und hochreiner Pektinsäure konnte demnach an DEAE-Cellulose in Phosphat-Form (pH 5,5) durch Elution mit Na-Phosphatpuffer (pH 5,5) steigender Konzentration sowie anschliessende Gradientelution mit 0,01 bis 0,5 N NaOH wieder in seine Komponenten aufgetrennt werden.

5. Aus Zuckerrübenpektinsäuren, welche reich an Begleit-Polysacchariden sind, konnte durch die gleiche Elutionstechnik lediglich ein Bruchteil ihrer Begleit-Polysaccharide abgetrennt werden. Der grösste Teil wurde zusammen mit der Pektinsäure eluiert. Diese wurde dabei in Fraktionen mit verschiedenen Reinheiten aufgetrennt. Diese Trennungen führten zur Annahme einer kovalenten Verknüpfung der Begleit-Polysaccharide mit der Polygalakturonsäurekette.

6. Pektinsäurepräparate verschiedenen Reinheitsgrades wurden an DEAE-Cellulose fraktioniert: hochreine Pektinsäure haftet stärker an DEAE-Cellulose als Pektinsäure, welche reich an Begleit-Polysacchariden ist.

7. Handelspektine verschiedenen Veresterungsgrades wurden an DEAE-Cellulose in Phosphat-Form (pH 4,5) durch Elution mit 0,1 bis 1 M NaH_2PO_4 -Lösungen fraktioniert. Die Fraktionierung dieser

Pektine erfolgte nach dem Veresterungsgrad: niederveresterte Pektine haften stärker an DEAE-Cellulose als hochveresterte Pektine. Apfelpektine erwiesen sich hinsichtlich des Veresterungsgrades homogener als Citruspektine.

8. Durch Säure, Alkali und Orangen-Pektinesterase auf etwa den gleichen Veresterungsgrad (ca. 50 %) verseifte Pektine wurden an DEAE-Cellulose in Phosphat-Form (pH 4,5) durch Elution mit 0,1 bis 0,6 M NaH_2PO_4 -Lösungen und 0,1 bis 0,2 N NaOH fraktioniert. Sauer und alkalisch verseifte Pektine konnten in zwei Hauptfraktionen aufgetrennt werden, deren Veresterungsgrad wenig oberhalb, bzw. wenig unterhalb des Veresterungsgrades des Ausgangsmaterials lag. Enzymatisch verseifte Pektine konnten hingegen in mehrere Fraktionen aufgetrennt werden, deren Veresterungsgrade zwischen 92 und 24 % lagen. Nur 30 % der eluierten Menge Pektin besaßen einen dem aufgetragenen Präparat entsprechenden Veresterungsgrad. Die Resultate dieser Fraktionierungen wurden mit den verschiedenen Verseifungsmechanismen in Beziehung gebracht.

9. Abgebaute Pektinsäuren wurden an DEAE-Cellulose in Phosphat-Form (pH 5,5) durch Gradientelution mit 0,01 bis 0,2 N NaOH fraktioniert. Die Fraktionierung erfolgte nach Kettenlänge: bei gleichem Reinheitsgrad haften niedermolekulare Pektinsäuren schwächer als höhermolekulare.

10. Orientierende Versuche mit Glykogen und löslicher Stärke zeigten, dass auch diese neutralen Polysaccharide an DEAE-Cellulose in Fraktionen aufgetrennt werden können. Anhand der

Jodfarbe der Stärkefraktionen konnte gezeigt werden, dass die verzweigte, amylopektinähnliche Fraktion schwächer haftet als die lineare, amyloseähnliche Fraktion.

Summary

1. This dissertation deals with experiments to fractionate pectic substances by ionexchange chromatography on DEAE-cellulose. Pectic substances with varying amounts of associated polysaccharides, with different degrees of esterification and varying chain lengths were fractionated to study the influence of these factors on the adsorption on DEAE-cellulose.

2. The adsorption capacity of DEAE-cellulose (phosphate-form) for pectins of low and high degrees of esterification, and for highly purified and impure pectic acids was determined. It was between 20 and 50 mg of anhydrouronic acid (AUA) per g of DEAE-cellulose.

The adsorption capacity of DEAE-cellulose was higher for pectins of low degree of esterification than for pectins of high degree of esterification.

The adsorption capacity of DEAE-cellulose for highly pure pectic acid was greater than that for pectic acids which were containing large amounts of associated polysaccharides.

3. Sugar beet araban, which was extracted from slices of sugar beets in a yield of 21 %, were used as model compounds for polysaccharides associated with pectic substances.

Sugar beet pectic acid was used as a pectic acid rich in associated polysaccharides. This was extracted in a yield of 74 % of AUA from freshly prepared slices of sugar beet.

4. Sugar beet araban, which is neutral, was adsorbed on the DEAE-cellulose to a much smaller extent than the acidic pectic substances. A significant adsorption of the araban was only possible under weakly alkaline conditions (hydroxyl- or borate-form). On the other hand, pectic substances were adsorbed on the DEAE-cellulose even in a weakly acidic or neutral medium. An artificial mixture of araban and highly pure pectic acid could be separated into its components on DEAE-cellulose in the phosphate-form (pH 5.5) through elution with Na-phosphate-buffer (pH 5.5) of increasing concentration followed by gradient elution with 0.01 to 0.5 N NaOH.

5. Only a fraction of the associated polysaccharides could be separated from the sugar beet pectic acid by the same elution technique. Most of the associated polysaccharides were eluted together with the pectic acid. The pectic acid was thereby separated into fractions of varying degrees of purity with respect to its AUA-content. These separations strongly support the assumption that the associated polysaccharides are covalently linked to the polygalacturonic acid chain.

6. Pectic acid preparations of different degrees of purity were fractionated on DEAE-cellulose: highly pure pectic acid was more strongly adsorbed on DEAE-cellulose than the pectic acid which was high in associated polysaccharides.

7. Commercial pectins of different degrees of esterification were fractionated on DEAE-cellulose in the phosphate-form (pH 4.5)

through elution with 0.1 to 1 M NaH_2PO_4 -solutions. The fractionation of these pectins was according to the degree of esterification: pectins of low degree of esterification were more strongly adsorbed on DEAE-cellulose than pectins of high degree of esterification. From the standpoint of the degree of esterification, the apple pectins were found to be more homogeneous than the citrus pectins. The results of these fractionations have been correlated to the various mechanisms of saponification.

8. Pectins saponified to the same degree of esterification by acid, alkali, and pectinesterase (PE) were fractionated on DEAE-cellulose in phosphate-form (pH 4.5) by elution with 0.1 to 1 M NaH_2PO_4 solutions and 0.1 to 0.2 N NaOH.

The pectins saponified by acid and alkali could be separated into two fractions with degrees of esterification slightly higher and slightly lower than that of the original material. On the other hand, PE-saponified pectins could be separated into several fractions with degrees of esterification between 92 and 24 %. Only 30 % of the eluted pectin possessed a degree of esterification corresponding to that of the material applied to the column.

9. Degraded pectic acids were fractionated on DEAE-cellulose in phosphate-form (pH 5.5) through gradient elution with 0.01 to 0.2 N NaOH. The fractionation was according to chain length: at the same degree of purity, high molecular weight pectic acids were more strongly adsorbed than low molecular weight pectic acids.

10. Preliminary experiments with glycogen and soluble starch showed that these neutral polysaccharides could also be fractionated on DEAE-cellulose. On the basis of the iodine test of the starch fractions it could be demonstrated that the branched amylopectin-like fraction was not as strongly adsorbed as the linear amylose-like fraction.