

## REAKCIA PEKTÍNU SO ŽELATÍNOU (II) ZLOŽENIE KOMPLEXOV PEKTÍNU A ŽELATÍNY

V. ZITKO, J. ROSÍK

ČSAV, Chemický ústav Slovenskej akadémie vied v Bratislave

Pri reakcii pektínu so želatínou dochádza v intervale hodnôt pH 2,50—4,75 k flokulácii komplexov pektínu a želatíny [1]. V citovanej práci sme uviedli výsledky elektroforetického a viskozimetrického sledovania tejto reakcie. V predloženej práci sledujeme zloženie komplexov, ktoré vznikajú pri reakcii pektínu so želatínou. Venujeme pritom pozornosť i správaniu galaktanu, ktorý sprevádza pektín v preparátoch jablného pektínu i vo väčšine ovocných štiav [2—4].

### Experimentálna časť

Použili sme želatínu a tri pektínové preparáty (jablčný pektín Lachema, pektín „fialová páska“ a diazometánom esterifikovaný pektín „fialová páska“), ktoré sme bližšie charakterizovali v predchádzajúcich prácach [1, 5]. Pri príprave základných roztokov pektínu a želatíny, ako aj jednotlivých pokusných sérií sme postupovali spôsobom opísaným v [1].

Zrazenina komplexov pektínu a želatíny sa oddelila odstrednením pri 21 000 g a v čírom roztoku sa stanovil obsah želatíny, pektínu a galaktanu. Želatína sa stanovila biuretovou reakciou [6]; pre používanú želatínu platí:

$$c_z[\text{mg/ml}] = 1,86 E_{565}^4, \quad (1)$$

kde  $E_{565}^4$  = extinkcia v 4 cm kyvete pri 565 m $\mu$ .

Pektín a galaktan sme stanovili spektrofotometrickou metódou na stanovenie pektínu, arabanu a galaktanu vedľa seba [2]. Pri tejto metóde sa využíva ultrafialové absorpčné spektrum produktov, ktoré vznikajú z uvedených polysacharidov zahriatím v prostredí 90 % kyseliny sírovej. Koncentrácia pektínu, arabanu a galaktanu sa vypočíta z hodnôt extinkcií pri 340, 275 a 215 m $\mu$  podľa rovníc:

$$c_A = -1,35 E_{215} + 2,76 E_{275} - 0,86 E_{340} \quad (2a)$$

$$c_G = -0,57 E_{215} - 0,34 E_{275} + 2,85 E_{340} - 0,007 \quad (2b)$$

$$c_K = +2,32 E_{215} - 0,27 E_{275} - 0,48 E_{340} - 0,049 \quad (2c)$$

kde  $c_A, c_G, c_K$  = koncentrácia arabanu, galaktanu, resp. pektínu v 100  $\mu\text{g/ml}$ ,

$E_{215}, E_{275}, E_{340}$  = extinkcia pri indexovaných vlnových dĺžkach v 1 cm kyvetách.

Za podmienok tohto stanovenia želatína, resp. jej rozkladné produkty absorbujú svetlo len v oblasti 215 m $\mu$ . Pri stanovení uvedených polysacharidov a želatíny vedľa seba treba teda hodnotu  $E_{215}$  korigovať o hodnotu extinkcie želatíny  $E_{215}^z$ . Pre použitú želatínu platí:

$$E_{215}^z = 0,185 c_z, \quad (3)$$

kde  $c_z$  = koncentrácia želatíny v mg/ml.

Na druhej strane prítomnosť pektínu zvyšuje hodnotu  $E_{565}^4$  pri stanovení želatíny biuretovou reakciou, takže i v tomto prípade je potrebné urobiť korekciu. Pri stanovení želatíny v prítomnosti použitých pektínových preparátov sme na výpočet koncentrácie želatíny za prítomnosti pektínu namiesto rovnice (1) používali rovnicu (4), ktorú sme stanovili na základe modelových pokusov:

$$c_z = 1,86 E_{565}^4 - 0,01 c_K \quad (4)$$

Koncentrácia pektínu, arabanu, galaktanu a želatíny sa potom vypočíta postupnými aproximáciami. Pre dostatočne presný výsledok stačia obvykle 2—3 aproximácie. Na základe hodnoty  $E'_{215}$  získanej pri konečnej aproximácii sa potom z rovníc (2a, 2b) vypočíta koncentrácia arabanu a galaktanu. Obsah arabanu v používaných pektínových preparátoch bol veľmi nízky (2—3 %), preto sme ani araban pri reakcii pektínu so želatínou nesledovali. V prípade pektínu „fialová páska“ a esterifikovaného pektínu „fialová páska“ bol i obsah galaktanu pomerne nízky (7,7 %) [2]; v tomto prípade sa počítalo len množstvo pektínu podľa rovnice (2c).

Pri meraniach sa použil spektrofotometer UVISPEC Hilger.

## Výsledky a diskusia

### 1. Kontrola analytickej metódy

Presnosť analytického postupu opísaného v experimentálnej časti sme si overili analyzovaním zmesí roztokov pektínu a želatíny pri pH 4,75, keď reakcia pektínu so želatínou neprebíha [1] a zloženie zmesí možno vypočítať zo známych koncentrácií základných roztokov pektínu a želatíny. Pritom sa ukázalo, že stanovené množstvo galaktanu je vždy vyššie, priemerne o 16,1 % a stanovené množstvo želatíny o 12,8 % než skutočné množstvo. Príčina spočíva zrejme v tom, že extinkcia v zmesi pektínu, sprievodných polysacharidov a želatíny nie je presne aditívna. Získané výsledky, už korigované o uvedené hodnoty, sú v tab. 1. Ako vyplýva z hodnôt v tab. 1, priemerné absolútne hodnoty chýb stanovenia sú pre pektín 7,0 %, pre želatínu 6,6 % a pre galaktan 3,2 % stanoveného množstva.

### 2. Zloženie komplexov pektínu a želatíny v závislosti od ekvivalentovej váhy pektínu, od pH a celkovej koncentrácie pektínu a želatíny

Na nižšie uvedených diagramoch je zloženie komplexov pektínu a želatíny znázornené závislosťou váhového percenta pektínu v roztoku, resp. v zrazenine od celkového percenta pektínu v sústave. (Percentá sa vzťahujú na súčet váhových množstiev pektínu a želatíny, v prípade jablčného pektínu i galaktanu.) Na diagramoch čiarkovane zakreslená priamka s prechádza bodmi, v ktorých sa percento pektínu v roztoku, resp. v zrazenine rovná celkovému percentu pektínu v sústave. Čiary vyjadrujúce závislosti percenta pektínu v roztoku a v zrazenine sa na priamke s pretínajú. Vľavo od tohto priesečníka

Tabuľka 1

Stanovenie galaktanu, pektínu a želatíny vedľa seba  
(*G* = galaktan, *K* = pektín, *Z* = želatína)

	mg		Rozdiel v % stanov. hodnoty		mg		Rozdiel v % stanov. hodnoty
	skutoč.	stanov.			skutoč.	stanov.	
<i>G</i>	7,20	7,16	— 0,56	<i>G</i>	5,28	5,15	— 2,52
<i>K</i>	9,96	10,75	+ 7,35	<i>K</i>	7,30	7,05	— 3,55
<i>Z</i>	5,72	6,06	+ 5,60	<i>Z</i>	10,29	10,60	+ 2,92
<i>G</i>	3,84	3,65	— 5,20	<i>G</i>	2,40	2,34	— 2,56
<i>K</i>	5,31	5,70	+ 6,85	<i>K</i>	3,32	2,90	—14,50
<i>Z</i>	13,73	13,30	— 3,23	<i>Z</i>	17,16	16,10	— 6,60
<i>G</i>	16,28	16,38	+ 0,61	<i>G</i>	12,21	12,36	+ 1,21
<i>K</i>	24,20	23,34	— 3,69	<i>K</i>	18,15	16,44	—10,40
<i>Z</i>	10,12	11,94	+15,20	<i>Z</i>	20,24	21,84	+ 7,35
<i>G</i>	4,07	4,50	+ 9,55				
<i>K</i>	6,05	5,90	— 2,54				
<i>Z</i>	40,48	38,34	— 5,60				

je oblasť nadbytku želatíny, vpravo oblasť nadbytku pektínu. Úsečka priesečníka zodpovedá bodu maximálnej flokulácie [1].

Závislosť zloženia komplexov pektínu a želatíny od ekvivalentovej váhy pektínu vyplýva z porovnania zloženia komplexov želatíny s pektínom „fialová páska“ o ekvivalentovej váhe 295 (diagram 1, krivky 1) a s esterifikovaným pektínom „fialová páska“ o ekvivalentovej váhe 1890 (diagram 1, krivky 2). So vzrastajúcou ekvivalentovou váhou pektínu vzrastá percento pektínu v zrazenine a priesečník kriviek percenta pektínu v roztoku a v zrazenine sa posunuje k vyšším hodnotám celkového percenta pektínu v sústave. V komplexoch pektínu a želatíny, ktorých výsledný elektrický náboj je nulový, musí váhový pomer pektínu a želatíny zodpovedať pomeru ich ekvivalentových váh; s rastúcou ekvivalentovou váhou pektínu bude teda percento pektínu v zrazenine vzrastať. Súčasne je z diagramu 1, ako aj z ďalej uvedených podobných diagramov zrejme, že zloženie vyzrážaných komplexov pektínu a želatíny nie je konštantné, ale závisí od celkového percenta pektínu v sústave. Z toho vyplýva, že v zrazenine sú prítomné i komplexy, ktorých výsledný elektrický náboj nie je nulový.

Sledované hodnoty ekvivalentových váh pektínu predstavujú dva prakticky možné extrémne prípady. Krivky na diagrame 1 teda ohraničujú oblasť, v ktorej sa pohybuje zloženie komplexov pektínu a želatíny. Na diagrame 1 a podobne i na ďalších diagramoch je zachytená len určitá stredná oblasť hodnôt celkového percentuálneho obsahu pektínu v sústave. Analytické stanovenie

pektínu a želatíny v okrajových oblastiach (pri malých a veľkých hodnotách percenta pektínu v sústave) je totiž málo presné, pretože v týchto oblastiach sa do zrazeniny vylučuje iba malé množstvo komplexov pektínu a želatíny.

Okrem toho ide v tomto prípade o stanovenie malého množstva jednej zložky vedľa nadbytku druhej zložky.

Na diagrame 2 je znázornené zloženie komplexov jablčného pektínu a želatíny v závislosti od pH. S klesajúcou hodnotou pH (krivky 3: pH

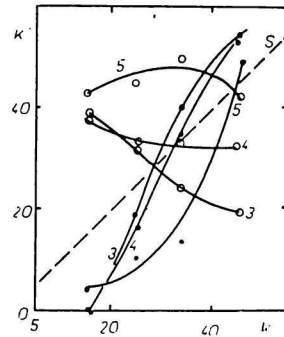
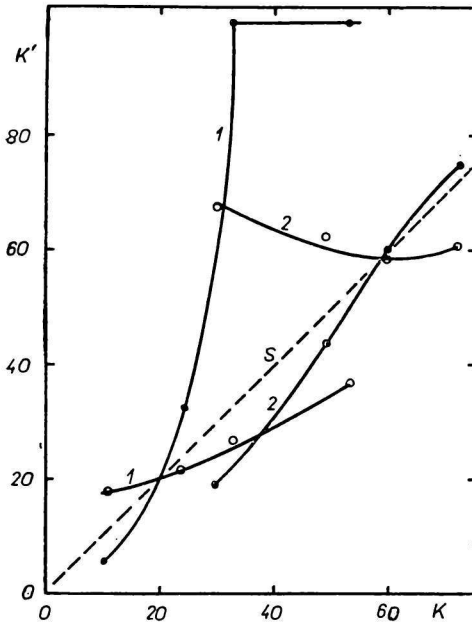


Diagram 1. Zloženie komplexov pektínu a želatíny v závislosti od ekvivalentovej váhy pektínu.

na osi úsečiek: celkové percento pektínu v sústave K

na osi poradníc: percento pektínu v roztoku, resp. v zrazenine K'

Krivky 1: pektín „fialová páska“, ekvivalentová váha 295; krivky 2: esterifikovaný pektín „fialová páska“, ekvivalentová váha 1890.

● ● ● percento pektínu v roztoku

○ ○ ○ percento pektínu v zrazenine

0,1 M acetátový tlmivý roztok o pH 3,74; celková koncentrácia pektínu a želatíny 0,05 %.

Diagram 2. Zloženie komplexov pektínu a želatíny v závislosti od pH.

na osi úsečiek: celkové percento pektínu v sústave K

na osi poradníc: percento pektínu v roztoku, resp. v zrazenine K'

Krivky 3: pH 4,05; krivky 4: pH 3,57; krivky 5: pH 3,12. Jablčný pektín Lachema, 0,1 M acetátový tlmivý roztok (v prípade 5 hodnota pH upravená HCl). Celková koncentrácia pektínu a želatíny 0,05 %.

4,05; krivky 4: pH 3,57; krivky 5: pH 3,12) rastie percento pektínu v zrazenine a bod maximálnej flokulácie sa posunuje k vyšším hodnotám celkového obsahu pektínu v sústave. Ide o podobný efekt ako v prvom prípade, tentoraz v dôsledku zmien aktuálnej ekvivalentovej váhy so zmenou pH [1].

Zloženie komplexov pektínu a želatíny v závislosti od celkovej koncentrácie pektínu a želatíny je uvedené na diagrame 3. S klesajúcou celkovou koncentráciou pektínu a želatíny sa body maximálnej flokulácie posunujú k nižším

hodnotám celkového percenta pektínu v sústave. Tento efekt, ktorý sme pri predehádzajúcich meraniach viskozity [1] nezachytili, je zrejme vyvolaný rastom aktuálnej ekvivalentovej váhy pektínu s koncentráciou, prípadne i sú-

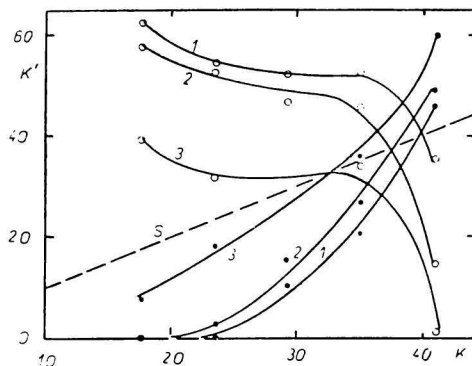


Diagram 3. Zloženie komplexov pektínu a želatíny v závislosti od celkovej koncentrácie pektínu a želatíny. na osi úsečiek: celkové percento pektínu v sústave  $K$

na osi poradnic: percento pektínu v roztoku, resp. v zrazenine  $K'$   
Celková koncentrácia pektínu a želatíny: 3,71 mg/ml (krivky 1); 2,47 mg/ml (krivky 2); 1,24 mg/ml (krivky 3). Jablňný pektín Lachema, 0,1 M acetátový tlmivý roztok o pH 3,57.

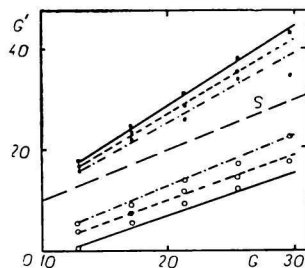


Diagram 4. Percento galaktanu v roztoku a v zrazenine komplexov pektínu a želatíny. na osi úsečiek: celkové percento galaktanu v sústave  $G$

na osi poradnic: percento galaktanu v roztoku ● ● ● ●  $G'$ , percento galaktanu v zrazenine ○ ○ ○  $G'$ .

Celková koncentrácia pektínu a želatíny:  
————— 3,71 mg/ml  
- - - - - 2,47 mg/ml  
- · - · - 1,24 mg/ml

0,1 M acetátový tlmivý roztok o pH 3,57.

časným poklesom aktuálnej ekvivalentovej váhy želatíny (v obidvoch prípadoch ide o potlačanie stupňa disociácie karboxylových skupín rastúcou koncentráciou polyelektrolytu).

### 3. Správanie galaktanu pri reakcii pektínu so želatínou

Percento galaktanu v roztoku, resp. v zrazenine ( $G'$ ) je v závislosti od celkového percenta galaktanu v sústave ( $G$ ) znázornené na diagrame 4. (Percento galaktanu sa vzťahuje na súčet váhových množstiev galaktanu, pektínu a želatíny.) Ako z diagramu 4 vyplýva, galaktan sa pri reakcii pektínu so želatínou čiastočne strháva do zrazeniny. Percento galaktanu v roztoku i v zrazenine lineárne vzrastá s rastúcim celkovým percentom galaktanu. S rastúcou celkovou koncentráciou pektínu a želatíny percento galaktanu v roztoku stúpa, v zrazenine klesá (diagram 4).

Podľa výsledkov frakcionácie pektínových preparátov na DEAE-celulóze [4] jablňný pektín obsahuje galaktózu sčasti ako samostatný sprievodný polysacharid — galaktan, sčasti viazanú priamo v molekule pektínu. Pri

reakcii pektínu so želatínou do zrazeniny prechádza jednak galaktóza viazaná na pektín, jednak sa v dôsledku adsorpcie strháva časť voľného galaktanu. Váhový pomer galaktanu a pektínu v použitom preparáte jablčného pektínu je 0,725; po reakcii pektínu so želatínou hodnota váhového pomeru voľného galaktanu a voľného pektínu vzrastá podľa podmienok až na 2,90. Takto možno vysvetliť i pozorovanie, že v čerých ovocných šťavách a vínach prevláda obsah galaktanu nad obsahom pektínu, zatiaľ čo koncentrácia pektínu v nečerených muštach je podstatne vyššia než koncentrácia galaktanu [3]. Množstvo pektínu v ovocných šťavách totiž klesá v dôsledku enzymatického odbúrania, prípadne i čerenia tanínom a želatínou.

#### 4. Zloženie komplexov pektínu a želatíny v závislosti od koncentrácie chloridu draselného

V predchádzajúcej práci sme na základe meraní viskozity ukázali, že nízko-molekulové elektrolyty potláčajú flokuláciu komplexov pektínu a želatíny [1]. Zmeny zloženia týchto komplexov v závislosti od koncentrácie elektrolytu sme mohli vypracovaným analytickým postupom sledovať len v prípade

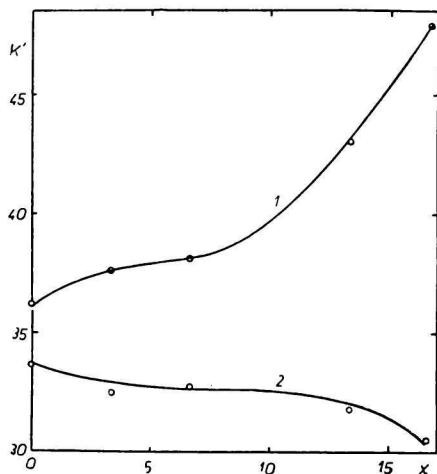


Diagram 5. Zloženie komplexov pektínu a želatíny v závislosti od koncentrácie chloridu draselného.

na osi úsečiek: koncentrácia KCl v mval/l X  
na osi poradnic: percento pektínu v zrazenine (krivka 1)  $K'$ , percento pektínu v roztoku (krivka 2)  $K''$ .

Jablčný pektín Lachema, celková koncentrácia pektínu a želatíny 0,05 %, váhový pomer pektínu a želatíny 0,85; pH 3,57 (upravené HCl).

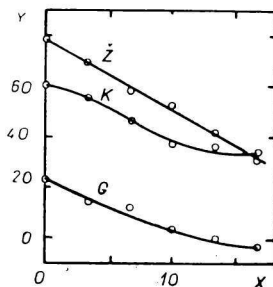


Diagram 6. Množstvo vyzrážaného pektínu, želatíny, resp. galaktanu v závislosti od koncentrácie chloridu draselného.

na osi úsečiek: koncentrácia KCl v mval/l X  
na osi poradnic: množstvo želatíny (krivka Ž), pektínu (krivka K), galaktanu (krivka G) v percentách celkového množstva Y.

Ostatné podmienky ako na diagrame 5.

chloridu draselného. Ostatné elektrolyty použité pri meraniach viskozity (chlorid vápenatý a primárne draselné soli kyseliny jablčnej a kyseliny citrónovej) stanovenie rušia.

Zloženie komplexov pektínu a želatíny pri celkovom váhovom pomere pektínu a želatíny 0,85 v závislosti od koncentrácie chloridu draselného je uvedené na diagrame 5. S rastúcou koncentráciou chloridu draselného percentuálny obsah pektínu v roztoku mierne klesá, percento pektínu v zrazenine podstatne vzrastá. Na diagrame 6 je znázornené množstvo pektínu, želatíny a galaktanu v zrazenine (vyjadrené v percentách celkového množstva v sústave) v závislosti od koncentrácie chloridu draselného. S rastúcou koncentráciou chloridu draselného klesá v najväčšej miere množstvo želatíny a galaktanu v zrazenine. Pri koncentrácii chloridu draselného ca 15 mva/l zrazenina už neobsahuje galaktan.

Výsledky uvedené na diagrame 5 a 6 ukazujú, že účinkom chloridu draselného a možno predpokladať, že aj účinkom iných nízkomolekulových elektrolytov nielenže klesá celkové množstvo vyzrážaných komplexov pektínu a želatíny, ale mení sa aj ich zloženie. Skutočnosť, že pri určitých koncentráciách chloridu draselného zrazenina už neobsahuje galaktan, svedčí o tom, že prítomnosť chloridu draselného zabraňuje adsorpcii galaktanu na zrazenine komplexov pektínu a želatíny a že účinkom chloridu draselného prestáva so želatínou reagovať najskôr frakcia pektínu, ktorá obsahuje viazanú galaktózu.

### Súhrn

Vypracovala sa metóda na stanovenie pektínu, galaktanu, arabanu a želatíny vedľa seba. Touto metódou sa sledovalo zloženie komplexov, ktoré vznikajú pri reakcii pektínu so želatínou. Zloženie vyzrážaných komplexov pektínu a želatíny závisí od celkového zloženia sústavy. Percento pektínu v zrazenine sa pohybuje v rozmedzí 20–70 % v závislosti od aktuálnej ekvivalentovej váhy pektínu. Galaktan sprevádzajúci jablčný pektín sa pri reakcii pektínu so želatínou čiastočne strháva do zrazeniny. Za prítomnosti chloridu draselného vzrastá percento pektínu v zrazenine. Množstvo galaktanu strhávaného do zrazeniny sa pritom znižuje.

## РЕАКЦИЯ ПЕКТИНА С ЖЕЛАТИНОЙ (II) СОСТАВ КОМПЛЕКСОВ ПЕКТИНА И ЖЕЛАТИНЫ

В. ЗИТКО, Й. РОСИК

ЧСАН, Химический институт Словацкой академии наук в Братиславе

Разработан метод определения пектина, галактана, арабана и желатины возле себя. Этим методом исследовался состав комплексов, возникающих при реакции пектина с желатиной. Состав осажденных комплексов пектина и желатины зависит от сум-

марного состава системы. Содержание пектина в осадке варьирует от 20 до 70 % в зависимости от кажущегося эквивалентного веса пектина. Галактан сопровождающий яблочный пектин соосаждается отчасти с продуктом реакции желатини с пектином. В присутствии хлористого калия повышается содержание пектина в осадке. Количество соосаждающегося галактана притом уменьшается.

Поступило в редакцию 30. 10. 1961 г.

## REAKTION DES PEKTINS MIT GELATINE (II) ZUSAMMENSETZUNG DER PEKTIN-GELATINE-KOMPLEXE

V. ZITKO, J. ROSÍK

ČSAV, Chemisches Institut an der Slowakischen Akademie der Wissenschaften  
in Bratislava

Es wurde eine Methode der Bestimmung von Pektin, Galaktan, Araban und Gelatine nebeneinander ausgearbeitet. Mit Hilfe dieser Methode wurde die Zusammensetzung jener Komplexe untersucht, welche bei der Reaktion des Pektins mit Gelatine entstehen. Die Zusammensetzung der ausgefällten Pektin-Gelatine-Komplexe hängt von der Gesamtzusammensetzung des Systems ab. Der Prozentsatz des Pektins im Fällprodukt bewegt sich von 20 bis 70 %, u. zw. in Abhängigkeit vom aktuellen Äquivalentgewicht des Pektins. Galaktan, welches einen Begleitstoff des Apfelpektins bildet, wird bei der Reaktion des Pektins mit Gelatine teilweise in das Fällprodukt mitgerissen. In Gegenwart von Kaliumchlorid wächst der Prozentsatz des Pektins im Fällprodukt an, wobei sich die in das Fällprodukt mitgerissene Menge an Galaktan verringert.

In die Redaktion eingelangt den 30. 10. 1961

### LITERATÚRA

1. Zitko V., Rosík J., Vašátko J., Chem. zvesti 16, 175 (1962). — 2. Zitko V., Rosík J., Die Nahrung 5, 491 (1961). — 3. Zitko V., Rosík J., Die Nahrung 5 (1961). — 4. Rosík J., Zitko V., Vašátko J., Collection (v tlači). — 5. Zitko V., Rosík J., Chem. zvesti 15, 651—660 (1961). — 6. Asatiani V. S., *Biochimičeskij analiz I*, Tbilisi 1953, 151.

Do redakcie došlo 30. 10. 1961

*Adresa autorov:*

*Inž. Vladimír Zitko, inž. Jozef Rosík, Bratislava, Kollárovo nám. 2, Chemický pavilón SVŠT.*