

Orangenschalen - mehr als nur Bioverpackung?

Analyse von Duft- und Strukturstoffen in einem Abfallprodukt

Erarbeitet von:	Betreut von:
<i>Cleo Kraut</i> (16), Klasse 10	Dr. <i>R. Friedel</i> , DStR. i. n.
<i>Amelie Mielke</i> (16), Klasse 10	Erstellt an:
<i>Karmella SZIKORA</i> (17), Klasse 10	<i>A.-v.-Humboldt-Schule</i> , Viernheim
<i>Nico GREGORINCIC</i> (17) Q 1-Phase	Von:
<i>Deniz Ferhat MAL</i> (19) Abiturient	<i>CcdH / Chemie- u. Umwelt-AG</i>



Orangensaft, frisch gepresst (Reklamebild)

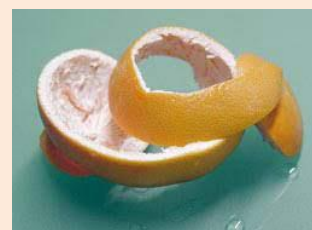
Inhaltsverzeichnis:

Titelblatt: Summary/Zusammenfassung

1. Einleitung.....	S. 2
2. Material und Methoden.....	S. 2
2.1. Material	S. 2
2.2. Methoden	S. 3
2.2.1. Duftstoff-Analytik.....	S. 3
2.2.2. Pektin-Darstellung	S. 4
3. Ergebnisse.....	S. 4
3.1. Duftstoff-Analyse.....	S. 4
3.2. Pektin-Darstellung	S. 7
4. Diskussion	S. 8
5. Literaturangaben.....	S. 10
Danksagung.....	S. 10



O-Schalen (oben)
Grapefruit-Schalen (unten)



Zusammenfassung:

Bei der Herstellung von Orangensaft fällt viel Abfall in Form von Orangenschalen an - das fällt jedem Konsumenten von frisch gepresstem Saft in der Obstabteilung eines Kaufhauses auf. Von diesem Abfall könnten möglicherweise sowohl dessen Aromastoffe als auch das Strukturmaterial verwertet werden, vorausgesetzt, es liegen extrahierbare Mengen der Duftstoffe vor und/oder die Fasern der Schale bestehen aus entsprechenden Quell- und Gelierstoffen.

Wir versuchten deshalb

- (1) aus Orange- und Grapefruitschalen die ätherischen Öle zu extrahieren und mittels HPLC auf den Duftstoff Valencen und das Insektenrepellent Nootkaton zu testen;
 - (2) Orangenschalen zum Geliermittel Pektin zu verarbeiten.
- Die potenzielle Bedeutung von Nootkaton für die nicht-pharmakologische Zoonosen-Prävention wird diskutiert

Summary:

In the production of orange juice, a lot of waste material in the form of orange peels is generated. This is a fact that is obvious for every consumer of freshly squeezed juice in a juice shop.

It is conceivable that both the flavoring substances (i. e. Valencene and Nootkatone) as well as the structural substances /biopolymers (i. e. pectin) could be isolated from this waste material, provided that there are extractable quantities of these fragrances in the peel, as well as sufficient amounts of fibre –containing gelling substances.

Therefore, we tried

- (1) to extract the essential oils from orange and grapefruit peels and to investigate the presence of the fragrance Valencene and the insect repellent Nootkatone using HPLC;
- (2) to process the orange peels into the gelling agent pectin.

Orangenschalen- mehr als nur Bioverpackung?

Analyse von Duft-und Strukturstoffen in einem Abfallprodukt

von

Cleo KRAUT, Amelie MIELKE, Karmella SZIKORA, Nico GREGORINCIC, Deniz Ferhat MAL
Alexander-von-Humboldt-Schule, Viernheim

1. Einleitung

Orangen und Grapefruit sind beliebte "Südfrüchte" und gehören bei uns zu den wichtigsten Vitamin-C-Lieferanten im Winter. Sie werden nicht nur als Obst konsumiert, sondern vor allem in Form von Getränken, z.B. als Saft oder Nektar. In Limonaden stellen sie wichtige Geschmacksfaktoren dar. Zunehmender Beliebtheit erfreut sich frisch gepresster O-Saft aus Orangen, den man in vielen Großmärkten bekommen kann.

Bei einer solchen Saftpresse ist uns aufgefallen, dass dabei Schalenmaterial als Abfall säckeweise anfällt; bei einer industriellen Saftproduktion muss das dementsprechend eine riesige Menge sein.

Eine Internetrecherche ergab, dass bei den Zitrusfrüchten im äußeren, farbigen Teil der Schale sog. "ätherische" Öle bläschenartig gespeichert vorliegen; diese sollen die Duftstoffe **Valencen (2)** und **Nootkaton (4)**, neben viel **Limonen (1)** enthalten. Valencen und Nootkaton gehören chemisch zur Stoffklasse der Terpene (3), sie werden als Parfüm-Rohstoffe und als hautpflegende Mittel verwendet; zudem belegen neuere entomologische Forschungen eine *Repellens*-Wirkung für Nootkaton [Insekten abwehrender Effekt], die insbesondere bei sog. *vektor-born diseases* [Krankheiten, die durch Wirbellose –Insekten, Zecken- übertragen werden] eine zunehmende medizinisch-prophylaktische Bedeutung gewinnt.

Der innere Teil der Schale ist reinweiß und besteht aus weichem, schwammartigem Gewebe, teilweise mit weich-faseriger Struktur.

Dieses Material ist im Wesentlichen aus 2 Komponenten zusammengesetzt: aus dem üblichen pflanzlichen Gerüststoff Cellulose und dem ähnlichen, aber viel komplexer aufgebauten botanischen Grundstoff **Pektin**, das im Wesentlichen ein Riesenmolekül aus GUS-Bausteinen (**Galacturonsäure**, einem Zuckerderivat) darstellt.

Pektin ist ein wichtiges, vielfach genutztes Geliermittel, z.B. für Marmeladen und Gelees, aber auch für Gummibärchen. Es wird vor allem aus Apfeltrester (einem vergleichbaren agrarischen Abfallprodukt) hergestellt. Für Veganer ist es unverzichtbar.

Spezialpektine aus Citrusfrüchten werden bereits vermarktet, diese werden aber v.a. aus Zitronen- und Lemonen-Schalen hergestellt.

Wir haben zwecks "Verwertung" von Orangenschalen untersucht

- ob die wertvollen Duftstoffe *Valencen* und *Nootkaton* in den Schalen in rentabler Menge vorhanden sind und extrahiert werden können;
- ob man die Orangen-Schalen zu Pektin weiterverarbeiten kann.

2. Material und Methoden

2.1. Material

- (1) Die Orangenschalen aus der Orangensorte *Navelina* (Bioqualität: „ohne chemisch-synthetische Nacherntebehandlung“) bezogen wir vom Saftexpress-Stand eines EDEKA-Marktes, Herkunftsland Spanien, Erntezeit September 2020.
- (2) Die Grapefruit-Früchte der *Demeter* bezogen wir von *>Nah und Gut<*, Viernheim. Herkunftsland war Florida, Erntezeit Oktober 2020.
- (3) Die Vergleichslösungen „*Naturreines ätherisches Öl Orange*“ und „*Naturreines ätherisches Öl Grapefruit*“, Fa. Profissimo, stammten aus der Drogeriemarktkette „*dm*“.
- (4) Die Extraktionsmittel Ethanol, Essigester, Aceton, Chloroform und 1-Propanol, alle in p.a. Qualität, waren von Firma MERCK, Darmstadt.
- (5) Die Vergleichsstoffe (Reinstoffe) *Valencen* und *Notkatoon* stammten aus der Naturstoffsammlung MERCK

2.2. Methoden

2.2.1. Duftstoff-Analytik

2.2.1.1. Orangenschalen-Aufarbeitung

Aus dem tiefgefrorenen O-Schalen-Vorrat wurde die Trockenmasse durch den Gewichtsverlust im Trockenschrank (60°C/ 48 Std.) bestimmt.

[1] Extraktion von Trockenmaterial:

- a) „Kaltextraktion“: 50g getrocknete Schalen wurden im Rundkolben mit 200ml Aceton über 7 Tage mazeriert. Der Ansatz wurde dann am Rückfluss kurz aufgeköcht, heiß abfiltriert und dann tiefgekühlt aufbewahrt (Nr.1, „Probe 2“).
- b) „Heißextraktion“: Die mazerierten Orangenschalen wurden mit 125 ml 1-Propanol am Rückfluss heiß nachextrahiert. Die alkoholische Lösung wurde heiß abfiltriert.

[2] Extraktion von Frischmaterial:

200g frisch eingefrorene Orangenschalen („fresh frozen“) wurden im 1 L-Rundkolben im Heiz-Pilz mit 200ml 1-Propanol am Rückfluss ausgeköcht. Nach 1Std. wurde heiß abfiltriert (Nr. 2, „Probe 3“). Alle 3 Extrakte wurden tiefgefroren aufbewahrt und später am Rotationsverdampfer bei 40°C und 200 hPa (Aceton), bzw. bei 45°C und 140 hPa (1-Propanol) zu öligen Rückständen abrotiert. Aliquots der nicht-konzentrierten Extrakte wurden unverdünnt, Proben der konzentrierten Extrakte wurden verdünnt (Acetonitril) in die HPLC (HPLC-Datenblatt) eingesetzt.

2.2.1.2. Grapefruitschalen-Aufarbeitung

Von Grapefruitschalen wurde die Trockenmasse – wie bei den Orangenschalen beschrieben – bestimmt.

168,8g frische Grapefruitschalen (entspricht 2 großen Früchten) wurden in Rundkolben im Heiz-Pilz

- (1) mit 200 ml Chloroform erhitzt
- (2) mit 150ml Aceton am Rückfluss gekocht

und danach abgegossen und abfiltriert.

Beide Lösungen wurden am Rotationsverdampfer (40°C/140 hPa) schonend eingengt.

Die öligen Rückstände wurden mit HPLC analysiert, ebenso wie die Vergleichslösungen *Grapefruit-Öl* und *Orangen-Öl*.

2.2.1.3 HPLC-Analysen

Wie in den Diagrammen angegeben, wurden

- die Extraktionslösungen bzw. die Extrakt-Öle unverdünnt oder mit Acetonitril verdünnt,
- die kommerziellen Öle stark verdünnt,
- die Vergleichssubstanzen frisch gelöst

eingesetzt.

Von den Lösungen wurden, wie angegeben, 5-20µl auf die Säule in die HPLC- Anlage eingespritzt. Eluiert wurde mit dem Fließmittel *Acetonitril : Wasser (mit 0,1% TFA) = 95 : 5* im Gradientenwechsel. Als Sorbens diente *Chromolith SpeedRod RP-18e*, mittlerer Porendurchmesser 2µm (in einer Li-ChroART- Säule, Säulenlänge 50mm, 4,6mm Durchmesser). Der Druck beträgt 12bar, die Fließgeschwindigkeit 0,5ml/min.

Die Chromatogramme liefen 20min. Die Detektion erfolgt im kurzwelligen UV bei 220nm.

Für die erste Grapefruit-HPLC-Analyse wurde die Extraktion, abweichend vom üblichen Schema, folgendermaßen variiert:

Von frischgewonnenen Grapefruit-Schalen wurde das innere, weiße Schalengewebe entfernt, von der äußeren orange-gelben Hülle wurden 20g mit 50ml Ethanol kalt extrahiert. Die Extraktionslösung wurde unverdünnt in die HPLC eingesetzt.

Als Bestätigungsexperiment wurde einem Aliquot dieser Lösung verdünnte Nootkaton-Lösung zugemischt. Hiervon wurden 10µl ohne weitere Verdünnungen in der HPLC analysiert.

2.2.1.4 GC-Analysen

Von den Reinsubstanzen Valencen und Nootkaton, von unseren Extrakten aus Orangenschalen und Grapefruit-schalen sowie von den kommerziellen Duftölen – Orangenöl und Grapefruit-Öl - wurden Aliquots in Dichlormethan gelöst. Davon wurde 1 µl in den Gaschromatographen eingespritzt. Bei steigenden Temperaturen von 50-320°C wurde in einer 30m Säule, Durchmesser 0,25mm eluiert. Detektiert wurde mit einem Flammenionisations-Detektor.

2.2.2. Pektin-Darstellung (5)

Von den extrahierten Orangenschalen (Ansatz Nr. 2, „fresh frozen“, Einsatz 200g) ließen wir die Lösungsmittel bei Raumtemperatur abdunsten.

In einem Becherglas haben wir dann 380ml Wasser zugefügt und den Ansatz mit 0,1mH₂SO₄ unter Rühren auf pH 3 eingestellt.

Das Gemisch wurde 3 Stunden bei niedriger Heizstufe auf der Heizplatte geköchelt und danach im Kühlschrank kalt gestellt.

Nach 48h Stunden wurde die Suspension zunächst durch Gaze filtriert. Der Rückstand wurde mit 150ml Wasser ausgewaschen und der Gazefilter vorsichtig leicht ausgewrungen.

Die vereinigten Brühen wurden mit 1000ml Ethanol versetzt und erneut kalt gestellt.

Die Ausfällungen wurden 48 Stunden später abfiltriert, mit 100ml Ethanol nachgewaschen und in der Petri-schale im Trockenschrank getrocknet (3 Tage / 40°C).

Das getrocknete Produkt wurde gemörsert und ausgewogen.

3. Ergebnisse

3.1. Duftstoff-Analyse

3.1.1. Orangen-Extrakte

Die frisch gepressten Orangenschalen neigen sehr zum Schimmelbefall, sogar bei 45°C Trocknungstemperatur. Deshalb mussten wir bei 60°C trocknen, wobei wahrscheinlich Verluste an ätherischem Öl auftreten, wie wir am Geruch der Raumluft feststellen konnten. (Deshalb wurde die Extraktion nochmals mit nicht-getrockneten Schalen wiederholt.)

Der Trockenmasse-Anteil wurde mit 20,2% bestimmt.

Extraktionen:

Ansatz 1a:

Die Aceton-Extraktion der *getrockneten* Schalen war schon als „Kalt-Extraktion“ zitronengelb gefärbt, beim Aufkochen vertiefte sich die Farbe.

Beim Abrotieren entstand ein gelbes Öl mit etwas weißlichem Niederschlag.

Die Gesamtausbeute (Öl und Niederschlag) betrug 5,4g (=10,8% der Trockenmasse).

Ansatz 1b:

Die Nachextraktion der Orangenschalen-Essigester-Extraktion mit dem polaren 1-Propanol ergab erneut eine gelbe Lösung. Beim Einengen am Rotationsverdampfer blieb hier ein orangefarbenes Öl mit einer gelb gefärbten Ausfällung zurück. Die Gesamtausbeute betrug 3,1g (= 6,2%).

V 2: Die „*fresh frozen*“ Schalen ergaben bei der Extraktion mit 1-Propanol eine orangefarbene Flüssigkeit.

Das Abdampfen ergab ca. 10ml eines orangefarbenen Öls von sehr angenehmem Geruch.

3.1.2. Grapefruit -Extrakte

Der Trockenmassenanteil der Grapefruitschalen beträgt 37%.

Extraktionsergebnisse:

Aus frischen Grapefruitschalen von 2 großen Früchten (= 168,8g) ließen sich mit 200ml Chloroform nur 40ml dekantieren. Der Rest ließ die Schalen aufquellen, die Farbe schlug dabei von gelb-orange nach karotten-orange um. Die filtrierte Lösung war orange-gelb und trüb (wahrscheinlich mitgeschlepptes Wasser) und wurde am Rot-verdampfer eingeeengt.

Ausbeute: ca. 4ml.

Die Nachextraktion der CHCl_3 -gesättigten Grapefruit-Schalen mit 200ml Aceton bewirkte ein weiteres Aufquellen der Schalen, die in Struktur und Farbe ähnlich wie Aprikosen-Fruchtfleisch aussehen.

Die filtrierte Lösung – ca. 150ml, war gelb und trüb und wurde am Rotationsverdampfer eingedampft.

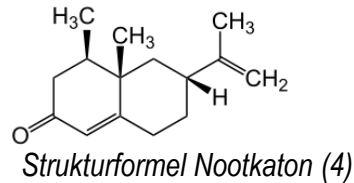
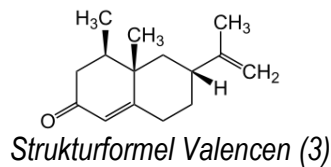
Ausbeute: ca. 8ml Öl (kein Niederschlag).

3.1.3. HPLC-Analysen der Orangen- und Grapefruit-Schalen

Die HPLC-Analysen wurden von Herrn Thomasberger, Fa. MERCK, auf unsere Anfrage hin durchgeführt.

[1] HPLC-Analysen der Vergleichssubstanzen: Bestimmung der Laufzeit

Für die HPLC-Analyse von Gemischen ist die Kenntnis der Laufzeit der gesuchten (Rein-)Stoffe essenziell. Deshalb haben wir vorab die RT-Werte (*retention-time*, „Rückhaltefaktor“) von Valencen und von Nootkaton bestimmt (Diagramm ohne Abb.).



Ergebnis:

Unter den angegebenen Bedingungen beträgt die Laufzeit

- von Valencen **15,18min**,
- Nootkaton erscheint bei **4,77 min**.

Die verwendeten Konzentrationen von 9,6µg und 4,4µg bzw. die eingesetzten Mengen von 27µg bzw. 44 µg ergeben optimal detektierbare Ausschläge. Die Valencen-Probe ist nicht chromatographisch rein.

[2] HPLC-Analysen von Orangenschalen

Analysiert wurden

Versuch 1a: getrocknete Schalen („Kaltextraktion“ mit Aceton) und

Versuch 2 : frisch-gefrorene Schalen (mit 1-Propanol).

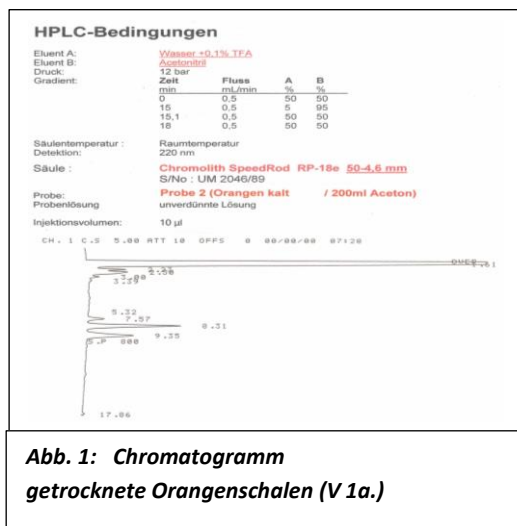


Abb. 1: Chromatogramm getrocknete Orangenschalen (V 1a.)

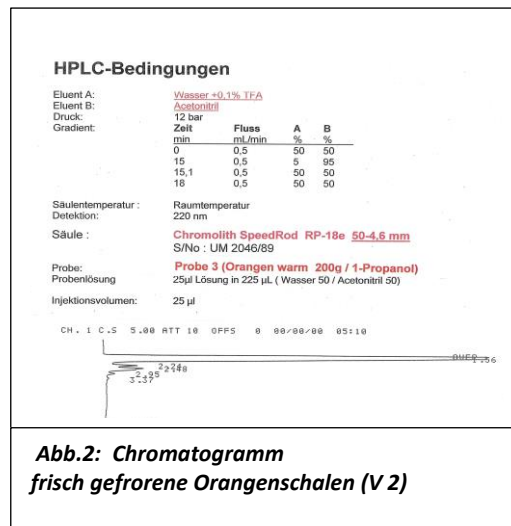


Abb.2: Chromatogramm frisch gefrorene Orangenschalen (V 2)

- Beide Proben zeigen weder bei 4,90min (= Nootkaton) noch bei 15,18 min (= Valencen) ein Signal.
Die gesuchten Stoffe sind also in unseren Extrakten nicht (in nachweisbarer Menge) vorhanden.

[3] Deshalb haben wir zum Vergleich das kommerziell erhältliche Orangenöl „*Naturreines ätherisches Öl Orange Profissimo*“ analysiert und als Gegenprobe, das Grapefruit-Öl „*Naturreines ätherisches Öl Grapefruit Profissimo*“ getestet.

Wir finden im Orangen-Öl den Hauptpeak bei 8,52min und 2 große Peaks bei 7,66 und bei 8,48min, aber kein relevantes Signal, das auf Valencen hinweist (und eine vernachlässigbare, kleine Spur beim Rt-Wert von Nootkaton).

Grapefruit-Öl zeigt dagegen 2 Hauptpeaks (3,17/3,38min und 8,50 min) und 6 weitere starke Signale, bei 2,15, 4,25, 4,88, 7,71, 9,34 und bei 10,55 min), darunter *Peak Nr.5 bei 4,88min, den wir als Nootkaton-Signal* ansehen. Valencen ist aber nicht nachweisbar (Chromatogramme nicht abgebildet).

→ Deshalb haben wir als Kontroll-Lauf Grapefruit-Öl mit Originalsubstanz Nootkaton gemischt und erneut mit HPLC analysiert (Chromatogramme nicht abgebildet):

Im Wesentlichen treten die gleichen Peaks bei den entsprechenden (fast gleichen) Rt-Werten auf: Peak Nr. 4 ist in der Mischung relativ viel größer im Grapefruit-Öl ohne Zumischung, was man auch an den jeweiligen Flächenverhältnissen von Peak 4 zum Hauptpeak erkennen kann

(Grapefruit-Öl $2,4171 : 30,271 = 0,0798$

Grapefruit-Öl + Nootkaton: $4,951 : 42,664 = 0,115$).

Ergebnis: Der Peak bei 4,88min entspricht also nachweislich dem Nootkaton .

Bei diesem Stand der Ergebnisse können wir festhalten:

- Nootkaton ist aus Orangenschalen nicht extrahierbar, bzw. in den Schalen gar nicht vertreten.
- Nootkaton kommt aber stattdessen vermutlich in Grapefruit-Schalen vor.

[4] Deshalb haben wir Grapefruit-Schalen extrahiert und analysiert:

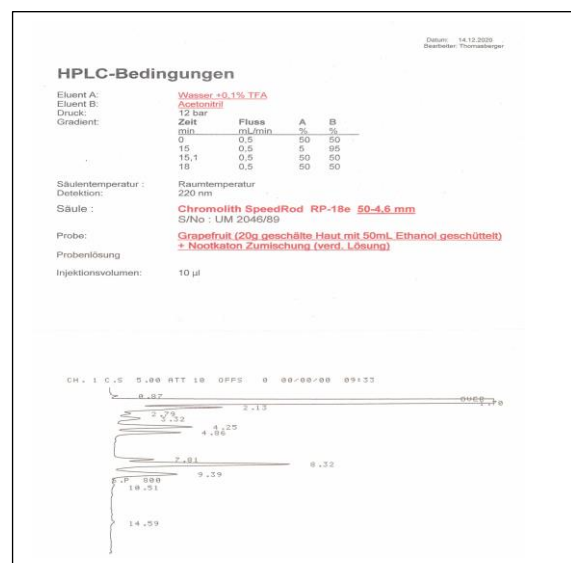
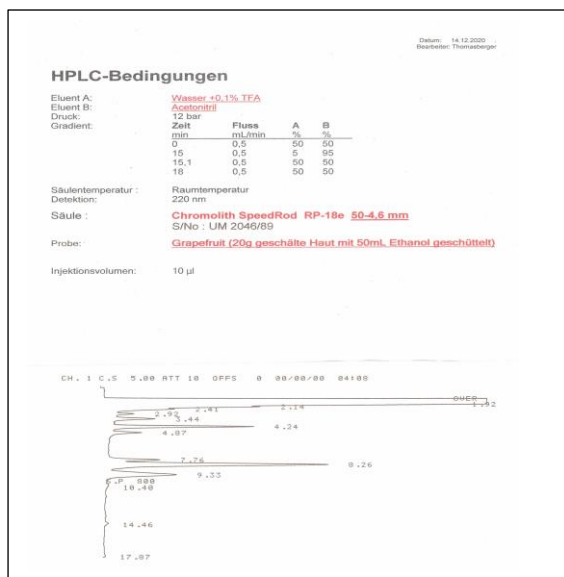


Abb.3: Chromatogramm Grapefruit (Schalenextrakt) Abb.4: Chromatogramm Grapefruit mit Nootkaton

Der Extrakt zeigt zwischen 2,14min und 9,33 min **8** deutliche Peaks (ohne den Lösungsmittelpeak).

Die Hauptpeaks liegen bei 4,24 und 8,26 und sie können z. Z. nicht zugeordnet werden (Lemonen?)

Der Peak bei 4,87 gehört zu den kleineren und entspricht dem Rt-Wert des Nootkaton.

Der Vergleich mit der Nootkaton-Zumischung zeigt ebenfalls 8 Peaks (zwischen 2,13 und 9,39 min)

und ist in der Größenverteilung und den Rt-Werten praktisch identisch mit dem Ausgangs-Chromatogramm – bis auf den Nootkaton-Peak bei 4,86 min, dessen Fläche jetzt fast so groß wie die des Peaks bei 4,25min ist.

Das beweist, dass der Peak bei 4,87 tatsächlich ein Nootkaton-Signal darstellt, dass also unser Grapefruitschalen-Extrakt Nootkaton enthält.

3.1.4. Gaschromatographie-Analysen

Abschließend haben wir unser Ergebnis durch eine GC-Analyse bei der Firma MERCK überprüfen lassen.

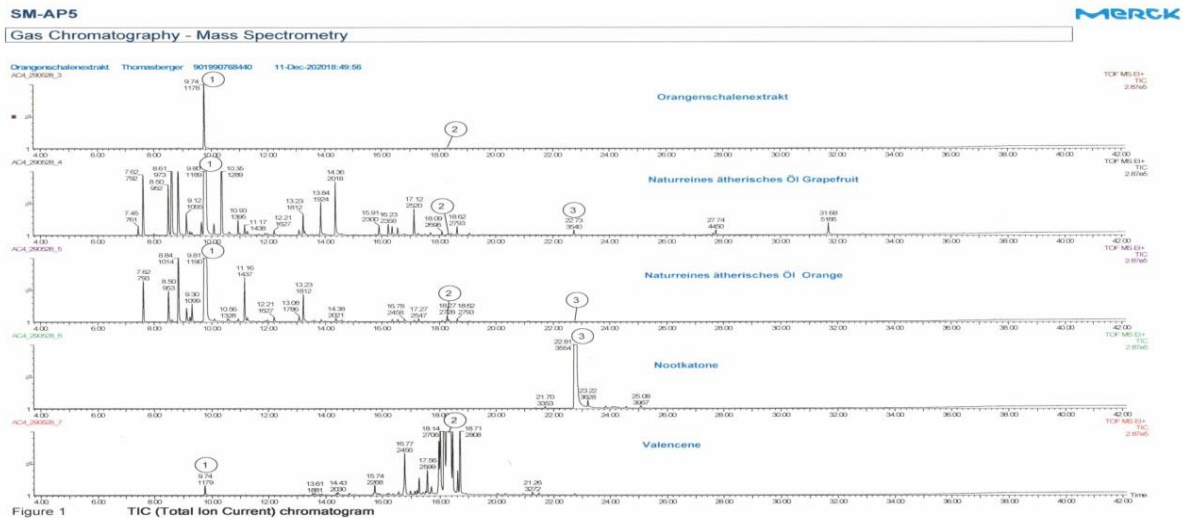


Figure 1

Abb.5: Gaschromatographische Analyse von Orangenschalen, Grapefruit-Öl, Orangen-Öl und Vgl. Nootkaton, Valencen.

- 1) Zeile 4 zeigt den Rt-Wert der Reinsubstanz Nootkaton: 22.81min.
- 2) In Zeile 5 ist an der Vielzahl der Peaks zu sehen, dass die eingesetzte Valencen-Charge nicht aus einer einheitlichen Molekülsorte besteht, sondern aus verschiedenen Isomeren zusammengesetzt ist, die sich gas-chromatographisch auftrennen lassen; der Hauptpeak bei 18,27 wird als eigentliches Valencen-Signal angesehen.
- 3) In Zeile 1 wird gaschromatographisch bestätigt, dass unser **Orangenextrakt** höchstens Spuren von Valencen (Markierung „2“) enthält; Nootkaton kommt gar nicht vor. Der Extrakt enthält praktisch nur Limonen (Markierung „1“).
- 4) In Zeile 3 erkennt man, dass naturreines ätherisches **Orangen-Öl** aus mindestens 6 Hauptkomponenten zusammengesetzt ist, unter denen Limonen (Markierung „1“) besonders heraussticht. Valencen ist eine winzige Nebenkompone und Nootkaton nicht nachweisbar.
- (5) Dagegen ist „Naturreines ätherisches Öl / Grapefruit“ in Spur 2 mit 11-15 kleinen bis großen Peaks deutlich komplexer zusammengesetzt. Die Hauptkomponente ist zwar ebenfalls Limonen (Markierung „1“), Nootkaton ist aber als geringe Nebenkompone (Markierung „3“) eindeutig nachweisbar. Valencen ist nur eine winzige Begleitkomponente (Markierung „2“), ähnlich wie im Orangen-Öl.

Wir können also unsere Analysen wie folgt zusammenfassen:

- (1) Der Hauptbestandteil der ätherischen Komponenten sowohl der Orangen- als auch der Grapefruitschalen ist nicht, wie angenommen, Valencen oder Nootkaton, sondern das einfacher gebaute Limonen.
- (2) Der Duftstoff Valencen kommt in Orangen in geringer Menge und in Grapefruit nur in Spuren vor.
- (3) Der wertvolle Parfüm-Rohstoff Nootkaton ist in Orangen nicht nachweisbar und in Grapefruit nur in geringen Mengen vorhanden.

3.2. Pektin-Herstellung

Ein möglicher Wertstoff in Orangenschalen ist aber anscheinend Pektin. Dieses haben wir aus den Schalen durch saure, partielle Hydrolyse kolloid in Lösung gebracht.

Um die Säurestärke auf pH 3 abzusenken, braucht man mehr Schwefelsäure als bei der Ansäuerung von A. dest., beim Auskochen entsteht eine zähflüssige, honigartige Masse.



**Abb. 6, 7, 8: partiell hydrolysierte O-Schalen beim Abseihen durch Gaze
/ nach eingießen in EthOH (2 Phasen!)
/ nach Umrühren (→Gelieren)**

Aus 200g extrahierten Orangenschalen (in 380ml Ansatzvolumen) haben wir 260ml Pektin-Lösung gewinnen können, wohin nach Spülen und Auswringen nochmals 150ml dazukamen.

Beim Eingießen der vereinigten Lösungen in 1.000ml Ethanol entstehen zunächst 2 Phasen: die obere, ethanolische Fraktion ist klar und farblos, die untere ein gelbes Gel.

Beim Umrühren wird die Oberphase trüb, die Unterphase noch viskoser.

Nach längerem Mixen entsteht eine stabile Suspension, aus der sich das Pektin langsam als heller Feststoff aufschwimmend oben abscheidet. Dabei klärt die Lösung von unten her auf, bleibt aber intensiv gelb gefärbt:



Abb. 9, 10, 11: Pektinabscheidung / Aufschwimmendes Gel / Abfiltriertes Pektin

Das ausgeschiedene voluminöse Pektin ist leicht dekantierbar und lässt sich gut abfiltrieren.

Der gewaschene Niederschlag schrumpft stark beim Trocknen und zieht sich zu einem glasigen Film zusammen, wobei er sich bräunlich verfärbt.

Das "kristalline", harte Produkt lässt sich zu einem braunen Pulver mörsern.

Die Ausbeute beträgt 12%, bezogen auf die Orangenschalen-Trockenmasse (5g aus 200g Frischmasse, entsprechend 40,4 g Trockenmasse).

Aus der gelben Filtrat-Lösung lässt sich durch Destillation der Alkohol zurückgewinnen.

4. Diskussion

Bei unseren Überlegungen und Internet-Recherchen, wie man Orangenschalen-Abfall verwerten könnte, stießen wir - neben der möglichen Pektin-Produktion - auf Nootkaton. Dieses ätherische Öl (Smp. 36°C) gehört chemisch zu den sog. bicyclischen Terpenen, d.h. es besteht aus 2 Ringen, die aus 1,5 Terpen-Einheiten (= 1 1/2 Moleküle mit 10 C-Atomen), bzw. aus 3 Isopren-Bausteinen (verzweigte C₅H₁₀-Moleküle) aufgebaut sind (s. Strukturformel: „Ergebnisse“).

Nootkaton (4) lässt sich aus Valencen durch Oxidation (chemisch, enzymatisch oder voll-biologisch herstellen. Es kommt in 2 räumlich unterschiedlichen Molekülformen vor, von denen die sog. α -Form der Geruchsträger des Grapefruit-Aromas ist (die β -Form riecht holzartig). Diese α -Form wird als teurer Aromastoff vermarktet (5.000€/kg).

Eine spezielle biologische Eigenschaft von Nootkaton ist von hohem medizinische Interesse (6): Es wirkt als Repellent (Abwehrstoff) für beißende und stechende Insekten, die gefährliche Krankheiten übertragen können. Wenn auch z. Z. vor allem die *aerogen* übertragene Sars-CoV-2-Pandemie im Focus des öffentlichen Interesses und der Diskussion steht, so sollte man doch im Auge behalten, dass auch sog. Vektor-übertragene Krankheiten (*vector-born diseases*) für viele Menschen ebenfalls ein großes Risiko darstellen.

Nootkaton wirkt abschreckend oder toxisch auf folgende Krankheitsvektoren:

- (1) auf Zecken (*Ixodes*), Überträger der Lyme-Borrelien (Bakterien) und der FSME-Viren
- (2) auf eingeschleppte *Aedes*-Stechmücken, potenzielle Überträger von Zika-, Dengue- und Chikungunya-Viren (besonders bösartige Fieber-Erreger),
- (3) auf einheimische *Culex*-Mücken, mögliche Überträger des West-Nil-Virus, außerdem auf Kopfläuse und Bettwanzen.

Das Thema „Duftstoffe“ erhält jetzt in Corona-Zeiten zusätzlichen Auftrieb – so gibt es Empfehlungen, bei Maskenunverträglichkeit diese mit einem Duftstoff in geringen Mengen einzusprühen und auch den Ratschlag, Zitrus-Duftstoffe vor den Naseneingängen anzubringen (oder gar mit einem Wattestäbchen in die Nasengänge einzubringen), um dort eine lokale antivirale Wirkung zu erzielen.

Deshalb schien es uns einen Versuch wert, *Nootkaton* in Orangenschalen zu suchen.

Wie unsere Ergebnisse aber gezeigt haben, ist Nootkaton in Orangenschalen nicht vorhanden. Dieser Befund wurde mit der HPLC- und GC-Analyse bestätigt.

Auch die Nootkaton-Vorläufer-Substanz *Valencen* ist in unserem Extrakt nur in sehr geringen Mengen nachweisbar. Die Hauptfraktion des ätherischen Öls ist *Limonen*.

Dagegen enthalten Grapefruit-Schalen, die wir zusätzlich getestet haben, das gesuchte Nootkaton, wenn auch nur in mäßiger Konzentration.

Für eine Nootkaton-Extraktion müsste man also an Stelle von Orangenschalen mindestens Grapefruit-schalen verwenden. Möglicherweise wäre für kommerziell rentable Gewinnung aber sogar eher die Nootkaton-Scheinzypresse (*Alaska-Zeder*) die lohnendere Rohstoffquelle. In jedem Fall müsste es aber unbehandeltes Material sein, also in Bioqualität, frei von chemischen Konservierungsstoffen.

Auch die *Valencen*-Gewinnung aus Orangen (als Ausgangsprodukt für Nootkaton oder als eigener Duftstoff) scheint nicht besonders lohnend, ist aber prinzipiell möglich (und für *farbloses*, nicht gebräuntes Pektin wahrscheinlich sogar erforderlich). Zu überprüfen wäre, ob die Wasserdampfdestillation bei *Valencen* höhere Ausbeute liefert als die vorliegende Extraktion – was wir in einem Folgeprojekt testen wollen. Die Dampfproduktion ist aber sehr Energie-intensiv.

Unsere Befunde erklären, weshalb kommerzielle Duftöle überwiegend aus Limonen und nicht aus den selteneren Terpenen *Valencen* und *Nootkaton* bestehen.

Sehr viel bessere Aussichten bietet die Möglichkeit der Verarbeitung zu Pektin. Übliches Ausgangsmaterial für den Gelierstoff ist Apfeltrester, der bei der Produktion von Apfelsaft (bzw. Hessischer Apfelwein) anfällt. Citrus-Pektin wird als Spezial-Verdickungsmittel aus Zitronen und Lemonen hergestellt. Orangenschalen könnten eine neue, zusätzliche Pektinquelle darstellen. In unserem Versuch war das frischgefällte Orangen-Pektin reinweiß, die Verfärbung ins Bräunliche ist keine Abbau-Reaktion des Pektins, sondern wahrscheinlich eine Oxidation von Begleitstoffen. Die Braunfärbung ähnelt dem Braunton von nicht-raffiniertem Rohrzucker und beeinträchtigt die Verwendung sicherlich nicht. Bezüglich Umweltrelevanz muss noch angemerkt werden, dass das Fällungsmittel Ethanol durch Destillation weitgehend zurückgewonnen werden kann. Durch dieses Verfahren entsteht also keine zusätzliche Umweltbelastung durch Abwasser oder Rohstoffverbrauch.

Als Abschluss des Projektes hatten wir eigentlich geplant, die Wirkung der Duftstoffe Nootkaton und Valencen, bzw. von Orangen- und Grapefruit-Öl auf die psychische Befindlichkeit, insbesondere auf die Konzentrationsfähigkeit – wie bei Prof. Hatt (7) angegeben - im Klassenverband zu testen. Corona-bedingt konnten wir das leider nicht mehr durchführen; wir haben vor, dies nach Beendigung des Lock down nachzuholen und das interessante Thema „Duftstoffe“ weiterzuführen.

Alternativ planen wir die Repellent-Wirkung von NOOTKATON gegen Zecken (*Ixodes ricinus*) anhand der (routinemäßigen) Befallskontrollen eines -uns bereits bekannten- Jagdhundes im Viernheimer Forst zu analysieren.

5. Literaturangaben

1. de.wikipedia.org › wiki › Limonen [Limonen – Wikipedia](#)
2. en.wikipedia.org › wiki › Valencen [Valencene – Wikipedia](#)
3. www.internetchemie.info › chemie-lexikon [Valencen - Internetchemie](#)
4. [de.wikipedia.org › wiki › Nootkaton](#) [Nootkaton – Wikipedia](#)
5. [www.h-f.group › unternehmen › herbstreith-fox](#) [Herbstreith & Fox - Die Pektin-Spezialisten › H&F Group](#)
6. [www.pressebox.de › inaktiv › evolva-holding-sa › boxid](#) [Potenzial von Nootkaton als künftiges Hilfsmittel... \[www.mta-dialog.de › artikel › mit-der-grapefruit-malar. Mit der Grapefruit Malaria bekämpfen - MTA Dialog\]](#)
7. Hanns Hatt, Das kleine Buch vom Riechen, Penguin-Verlag, München, 2019

Danksagung:

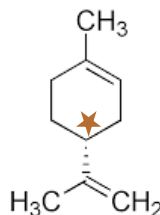
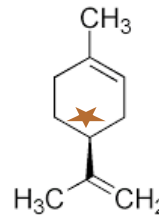
Wir bedanken uns

- bei Frau StRn *Zuric*, die uns die unverzichtbaren chemischen Grundlagen für dieses Projekt vermittelt hat,
- bei Herrn Dr. *E. Schatz* für Unterstützung beim Experimentieren und bei Herrn StD *J. Römer* für die Beratung,
- bei Herrn Dr. *Endress*, Laborleiter von Fa. *Herbstreith & Fox*, für wichtige Hinweise bezüglich Pektin
- bei Frau Dr. *M. Walla* für wertvolle medizinische Informationen,
- bei Herrn Dr. *R. Friedel* für die Stellung des Themas und die Betreuung der gesamten Arbeit
- und ganz besonders herzlich bei Herrn *A. Thomasberger*, Fa. MERCK, ohne dessen fachliche Unterstützung diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.
Ein Dankeschön auch an seine engagierten Mitarbeiter im Analytischen Zentrallabor bei MERCK!

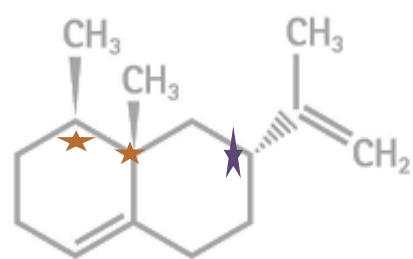
Anhang: Strukturformeln und Aufbau der untersuchten Substanzen

1. Strukturformeln der angegebenen Duftstoffe:

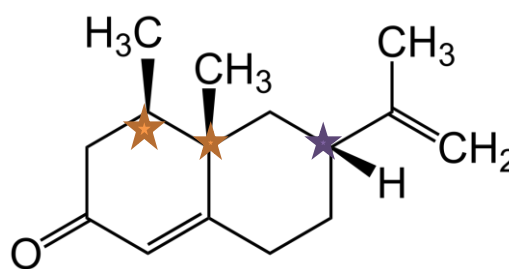
(1) Limonen:

<p>Allgemeine Angaben: Summenformel: $C_{10}H_{16}$ Molare Masse: $136,24 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ Schmelzpunkt: $-89 \text{ }^\circ\text{C}$ Siedepunkt: $175 \text{ }^\circ\text{C}$ → Besitzt 1 „asymmetrisch“ substituiertes C-Atom (C-Atom mit 4 verschiedenen Substituenten [Markierung / Stern] → → Optisch aktiv! → → unterschiedliche Geruchsqualität!</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>(+)-Limonen</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(-)-Limonen</p> </div> </div> <table border="1" style="width: 100%; margin-top: 10px;"> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;"> <i>rechts</i>drehend riecht nach Orangen (typ. Orangen-Aroma) </td> <td style="text-align: center; padding: 5px;"> <i>links</i>drehend riecht nach Pfefferminz / nach Nadelholz (Terpentin-artig) </td> </tr> </table>	<i>rechts</i> drehend riecht nach Orangen (typ. Orangen-Aroma)	<i>links</i> drehend riecht nach Pfefferminz / nach Nadelholz (Terpentin-artig)
<i>rechts</i> drehend riecht nach Orangen (typ. Orangen-Aroma)	<i>links</i> drehend riecht nach Pfefferminz / nach Nadelholz (Terpentin-artig)		

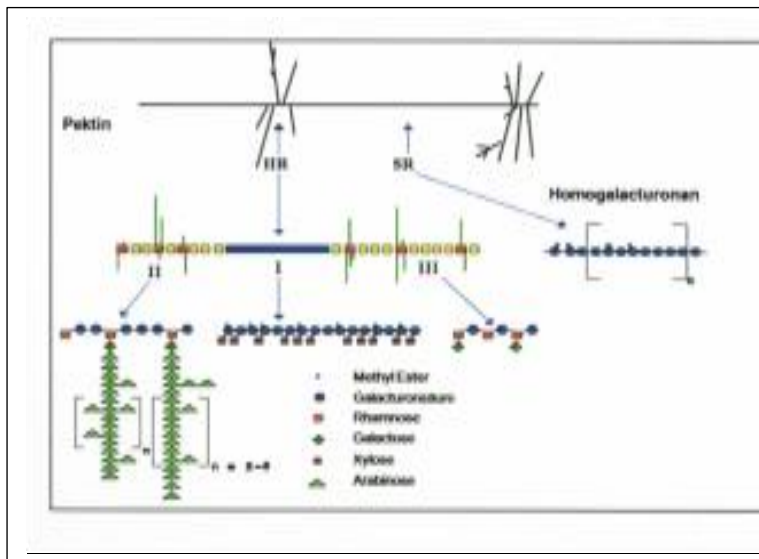
(2) Valencen:

<p>Allgemeine Angaben: Summenformel: $C_{15}H_{24}$ Molare Masse: $204,36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ Siedepunkt: 123°C (bei 11mm Hg) → Besitzt 3 „asymmetrisch“ substituierte C-Atome [Markierung / Sterne] → → $2^3 (=8)$ mögliche Isomere! In der Natur kommt nur +Valencen (=rechtsdrehend) vor (s. Abb.: Die beiden Methylgruppen gleichseitig, die C_3H_5-Gruppe entgegengesetzt)</p>	<div style="text-align: center;">  </div> <table border="1" style="width: 100%; margin-top: 10px;"> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;"> +Valencen: <i>rechts</i>drehend Geruch nach Orangen (benannt nach Valensina-Orangen) </td> </tr> </table>	+Valencen: <i>rechts</i> drehend Geruch nach Orangen (benannt nach Valensina-Orangen)
+Valencen: <i>rechts</i> drehend Geruch nach Orangen (benannt nach Valensina-Orangen)		

(3) Nootkaton:

<p>Allgemeine Angaben: Summenformel: $C_{15}H_{22}O$ Molare Masse: $218,33 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ Schmelzpunkt: 36°C Siedepunkt: $170 \text{ }^\circ\text{C}$ → Besitzt 3 „asymmetrisch“ substituierte C-Atome [Markierung / Sterne] → → $2^3 (=8)$ mögliche Isomere! → → In der Natur kommen nur +Nootkaton (=rechtsdrehend) und -Nootkaton (=linksdrehend) vor, die sich in der Position am violett markierten C-Atom unterscheiden.</p>	<div style="text-align: center;">  </div> <table border="1" style="width: 100%; margin-top: 10px;"> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;"> Abb.: +Nootkaton Geruch: nach Grapefruit Geruchsschwelle: $0,001 \text{ ppm}$ </td> <td style="text-align: center; padding: 5px;"> (Ohne Abb.) -Nootkaton Geruch: holzartig Geruchsschwelle: 1 ppm </td> </tr> </table>	Abb.: +Nootkaton Geruch: nach Grapefruit Geruchsschwelle: $0,001 \text{ ppm}$	(Ohne Abb.) -Nootkaton Geruch: holzartig Geruchsschwelle: 1 ppm
Abb.: +Nootkaton Geruch: nach Grapefruit Geruchsschwelle: $0,001 \text{ ppm}$	(Ohne Abb.) -Nootkaton Geruch: holzartig Geruchsschwelle: 1 ppm		

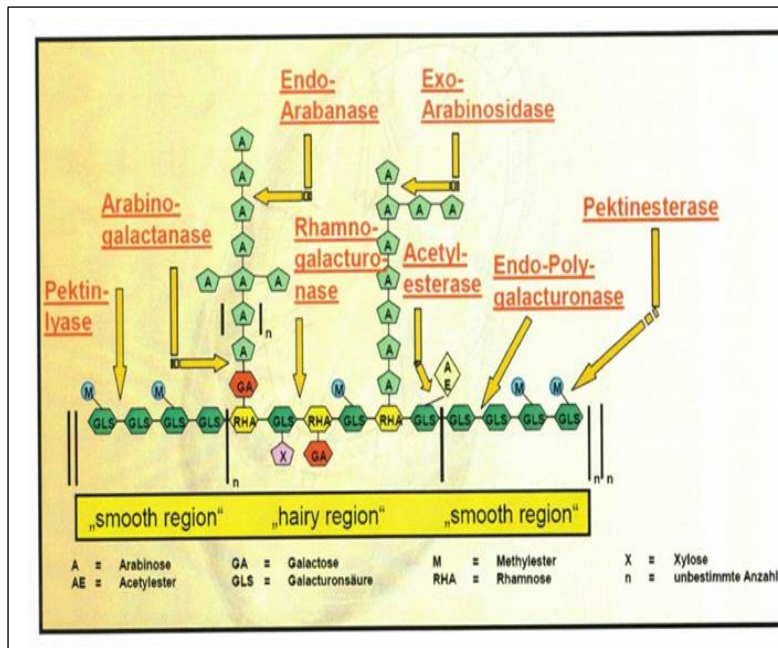
2. Modelldarstellung von Pektin



Oben: Pektin, ein fädiges Riesenmolekül aus längeren, glatten Abschnitten („smooth regions“) und büschelartigen Seitenketten („hairy regions“, Abschnitte mit Seitenketten).

Mitte: smooth regions – aus **Galacturonsäure**-Ketten (mit Methanol verknüpft) / hairy regions – aus Galacturonsäure, mit **Xylose** seitlich verbunden und mit **Rhamnose** verknüpft.

Unten: Der Rhamnose-Zucker ist mit langen, verzweigten **Arabinose**-Seitenketten verknüpft.



Darstellung

(1) der Angriffspunkte verschiedener Enzyme (zur kommerziellen Modifizierung des Pektins)

(2) der Unterschiedlichkeit der verschiedenen Zucker(derivate):

Galacturonsäure, Rhamnose, Arabinose

Galactose, Xylose, sowie Modifikationen (GLS-Methyl-, -Acetyl-Ester)