



Doctoral Thesis

Changes in the pectic substances during the ripening of apples

Author(s):

Fischer, Monica

Publication Date:

1993

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000915674> →

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](#).

Diss. ETH No 10336

24. Nov. 1993

Changes in the pectic substances during the ripening of apples

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY
ZURICH

for the degree of Doctor of Natural Sciences

presented by
Monica Fischer
Dipl. Chem. University of Neuchâtel
born June 16, 1964
citizen of Canada and Peseux (NE)

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. R. Amadó, examiner
Prof. Dr. A.G.J. Voragen, co-examiner

Zurich 1993

R. Amadó
23.11.93

Summary

The softening of fruits during ripening has long been the subject of research because of its scientific and economic importance. These textural changes have usually been associated with modifications in the cell wall components, especially the pectic polymers. The present investigation was carried out in order to study in more detail the changes in the pectins and hemicelluloses during the growth and ripening of two apple varieties (Golden Delicious and Glockenapfel).

The cell wall material of apples was isolated as an alcohol-insoluble residue and three distinct pectic fractions and two hemicellulosic fractions were extracted from it. The three pectic fractions consisted of a chelator-soluble fraction, a cold sodium carbonate soluble and a room temperature sodium carbonate soluble fraction. The two hemicellulosic fractions were extracted with 1 and 4 molar sodium hydroxide respectively. The cell wall fractions as well as the residue left after extraction were then characterised by means of their galacturonic acid and neutral sugar content. The evolution of the molecular weight distribution of the fractions during growth and ripening was examined by gel permeation chromatography. In addition, the degrees of methyl esterification and acetylation of the alcohol-insoluble residue and the chelator-soluble pectin were followed during development.

The chelator-soluble pectin was a linear polymer with a low degree of branching and a high degree of methyl esterification, probably mostly originating in the middle lamella. The pectins soluble in sodium carbonate were more highly branched and contained a larger proportion of neutral sugars. They corresponded to pectins from the primary cell wall. The gel filtration chromatograms showed that the chelator-soluble pectin was quite homogenous while the primary wall pectin possessed two populations, one of high molecular weight and high degree of branching and one with a lower molecular weight and a smaller galacturonic acid to neutral sugar ratio.

During ripening the polymers from all three fractions tended to become less polydisperse and shift towards slightly higher average molecular weights.

During growth and ripening there was an overall loss of galactose and arabinose residues from arabinogalactan, arabinan and galactan side-chains. In the pectic fractions from the primary cell wall there was evidence of a two-stage process with degradation of galactan side-chains at the beginning of ripening followed by loss of arabinose residues after the onset of senescence. In the chelator-soluble fraction the content of both sugars declined concurrently.

The hemicellulosic fractions contained xyloglucans as well as a small proportion of pectic polymers. The 4 molar sodium hydroxide also solubilised a mannan or glucomannan. The cellulosic residue remaining after extraction still contained about 10 % of the initial galacturonic acid besides cellulose and xyloglucans. The fraction soluble in 1 molar sodium hydroxide showed a slight shift towards lower molecular weights during ripening.

The alcohol-soluble residue, which was also examined in the course of this study, contained mainly fructose, sucrose, glucose and malic acid along with minor quantities of other sugars and acids and amino acids. The sugars increased up to harvest after which their content stayed relatively constant while the malic acid content declined during growth and ripening. The amino acid content of the alcohol-soluble residue also decreased with time.

Résumé

A cause des enjeux scientifiques et économiques le fait que la chair des fruits devient tendre au cours de la maturation a longtemps été un sujet de recherche. Ces changements de texture ont généralement été associés avec des modifications des composés de la paroi cellulaire, et plus spécialement, des pectines. Le présent travail avait pour but d'examiner de manière plus détaillée les changements dans les pectines et les hémicelluloses durant la croissance et la maturation de deux variétés de pommes (Golden Delicious et Glockenapfel).

Les parois cellulaires de pommes ont été isolées sous forme d'un résidu insoluble à l'alcool duquel trois fractions pectiques distinctes et deux fractions hémicellulosiques ont été extraites. Les trois fractions pectiques consistaient en une fraction soluble dans un agent chélatant et deux fractions extraites au carbonate de sodium, une à froid et l'autre à température ambiante. Les deux fractions hémicellulosiques ont été extraites avec de l'hydroxyde de sodium 1 et 4 M respectivement. La teneur en acide galacturonique et en oses neutres des fractions de matériel cellulaire ainsi que du résidu de l'extraction a été examinée. L'évolution de la distribution des poids moléculaires des fractions au cours du développement a été suivie par chromatographie d'exclusion stérique. De plus, les degrés d'estérification et d'acétylation du résidu insoluble à l'alcool et des pectines solubilisées par l'agent chélatant ont aussi été examinés durant la croissance et la maturation.

La pectine soluble dans l'agent chélatant était constituée d'un polymère linéaire possédant un faible degré de ramification et un degré d'estérification élevé. Elle provenait probablement surtout de la lamelle moyenne. Les pectines solubles dans le carbonate de sodium étaient plus ramifiées et contenaient une proportion plus élevée d'oses neutres. Elles correspondaient aux pectines de la paroi cellulaire primaire. L'analyse des fractions par chromatographie d'exclusion stérique a montré que les pectines solubles dans l'agent chélatant étaient assez homogènes alors que les pectines des parois primaires possédaient deux populations. L'une, de poids moléculaire élevé,

était hautement ramifiée tandis que l'autre, de poids moléculaire plus bas, possédait un rapport d'acide galacturonique et d'oses neutres plus faible. Durant la maturation, les polymères devenaient moins hétérogènes et leur poids moléculaire devenait plus élevé.

Durant la croissance et la maturation, les chaînes latérales d'arabinogalactanes, de galactanes et d'arabinanes perdaient des résidus arabinose et galactose. Dans les fractions pectiques de la paroi primaire, il semblait que la dégradation se déroulait en deux étapes. En effet, la dégradation des galactanes était suivie de la perte de résidus arabinoses après le début de la sénescence. Dans la fraction solubilisée par l'agent chélatant, les contenus des ces deux oses ont diminué de façon parallèle.

Les fractions hémicellulosiques contenaient une faible proportion de polymères pectiques ainsi que des xyloglucanes. La soude 4 M a aussi solubilisé une mannane ou glucomannane. Le résidu cellulosique restant après l'extraction contenait encore environ 10% de l'acide galacturonique initial ainsi que de la cellulose et des xyloglucanes. La fraction soluble dans la soude 1 M a présenté un léger déplacement vers un poids moléculaire moyen plus bas au cours de la maturation.

Le résidu soluble dans l'alcool, qui a aussi été examiné dans le cadre de cette thèse, contenait principalement du fructose, de la saccharose, de glucose et de l'acide malique ainsi que de faibles quantités d'autres oses, acides et acides aminés. La proportion des oses a augmenté jusqu'à la cueillette puis est restée relativement constante durant le stockage. Le contenu en acide malique, par contre, a diminué au cours du développement. Le contenu en acides aminés a aussi baissé au cours du temps.

Zusammenfassung

Das Weichwerden von Früchten während der Reifung wird wegen seiner wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Bedeutung seit langem untersucht. Diese Änderungen in der Textur werden im allgemeinen mit Veränderungen von Zellwandkomponenten, insbesondere den Pektinstoffen, assoziiert. Die vorliegende Arbeit wurde durchgeführt, um einen detaillierten Einblick in die Veränderungen von Pektinstoffen und Hemicellulosen während der Entwicklung und Reifung von zwei Apfelsorten (Golden Delicious und Glockenapfel) zu erhalten.

Das Zellwandmaterial der Äpfel wurde als alkoholunlöslicher Rückstand isoliert, und drei verschiedene Pektinfraktionen sowie zwei Hemicellulosefraktionen wurden daraus extrahiert. Die drei Pektinfraktionen wurden in eine komplexbildnerlösliche, eine in kaltem Natriumkarbonat lösliche und eine in Natriumkarbonat bei Raumtemperatur lösliche Fraktion unterteilt. Die Hemicellulosefraktionen wurden mit 1- beziehungsweise 4-molarer Natronlauge extrahiert. Die verschiedenen Zellwandfraktionen sowie der Extraktionsrückstand wurden anhand ihrer Galakturonsäure- und Neutralzuckeranteile charakterisiert. Der Verlauf der Molekulargewichtverteilung während des Wachstums und der Reifung wurde mittels Gelfiltrationschromatographie verfolgt. Zusätzlich wurden noch der Veresterungs- und der Acetylierungsgrad des alkoholunlöslichen Rückstandes und der in Komplexbildner löslichen Pektinfraktion während der Entwicklung bestimmt.

Das im Komplexbildner lösliche Pektin war ein lineares, wenig verzweigtes Polymer mit hohem Veresterungsgrad und stammte wahrscheinlich zur Hauptsache aus der Mittellamelle. Die im Natriumkarbonat löslichen Pektine waren verzweigter und enthielten einen höheren Anteil an Neutralzuckern. Sie entsprachen Pektinstoffen aus der primären Zellwand. Die Gelfiltrationschromatogramme zeigten, dass das komplexbilnerlösliche Pektin ziemlich homogen war, während jenes aus der Primärwand aus zwei Populationen bestand. Eine Population wies ein hohes durchschnittliches Molekulargewicht und einen hohen Verzweigungsgrad auf,

während die andere Population ein tieferes mittleres Molekulargewicht und ein niedrigeres Verhältnis von Galakturonsäure zu Neutralzucker aufwies. Während der Reifung wurden die Polymere aller Pektinfraktionen weniger polydispers und wiesen ein leicht erhöhtes durchschnittliches Molekulargewicht auf.

Während des Wachstums und der Reifung wurde ein genereller Verlust an Galaktose- und Arabinoseresten aus den Arabinan-, Galaktan- und Arabinogalaktan-Seitenketten der Pektine festgestellt. In den Pektinen aus der Primärwand gab es Hinweise auf einen zweiphasigen Prozess, bei welchem zu Beginn der Reifung Galaktan-Seitenketten abgebaut, Arabinosereste jedoch erst nach Einsetzen der Alterung freigesetzt wurden. Im komplexbildnerlöslichen Pektin hingegen nahm der Gehalt an beiden Zuckern gleichzeitig ab.

Die Hemicellulosefraktionen enthielten Xyloglucane und wenig Pektin. Die 4-molare Natronlauge löste auch einige Mannane oder Glucomannane aus der Zellwand. Der Celluloserückstand enthielt noch ungefähr 10% der Galakturonsäure des alkoholunlöslichen Rückstandes sowie Cellulose und Xyloglucane. Bei der mit in 1-molarer Natronlauge extrahierten Hemicellulosefraktion wurde während der Reifung eine kleine Verschiebung in Richtung tieferer mittlerer Molekulargewichte beobachtet.

Der alkohollösliche Rückstand, der während der Gewinnung der Zellwandpräparate als Nebenprodukt gewonnen wurde, enthielt vorallem Fruktose, Saccharose, Glukose und Apfelsäure sowie kleinere Mengen an anderen Zuckern, Hydroxy- und Aminosäuren. Die Zuckergehalte nahmen bis zur Ernte zu und blieben dann relativ konstant. Der Apfelsäuregehalt hingegen nahm während des Wachstums und der Reifung ab. Der Aminosäuregehalt des alkohollöslichen Rückstandes nahm ebenfalls mit fortschreitender Reifung und Alterung ab.