



Doctoral Thesis

Charakterisierung der Struktur von Pektinen während der Reifung und Lagerung von Äpfeln

Author(s):

Wechsler, Daniel Emil

Publication Date:

1997

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-001794331> →

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](#).

30. Juni 1997

Diss. ETH Nr. 12044

**Charakterisierung der Struktur von
Pektinen während der Reifung und
Lagerung von Äpfeln**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels

DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von

Daniel Emil Wechsler

Dipl. Lm.-Ing. ETH

geboren am 7. April 1966

von Willisau-Land und Kriens (LU)

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. R. Amadò, Referent

Prof. Dr. A.G.J. Voragen, Korreferent

R. Amadò

Zürich 1997

ZUSAMMENFASSUNG

Pektine gehören zusammen mit Cellulose und den Hemicellulosen zu den Zellwandpolysacchariden. In pflanzlichen Geweben spielen Pektine eine besondere Rolle, da sie als Bestandteil von Zellwänden sowie als Kittsubstanz in der Mittellamelle wichtige Funktionen erfüllen. Dank zahlreichen Forschungsarbeiten der letzten 30 Jahre konnte die Struktur dieser komplexen Polysaccharide weitgehend aufgeklärt werden. Bezüglich der Feinstruktur bestehen aber auch heute noch grosse Wissenslücken.

Beim Wachstum, der Reifung und beim Zerfall von pflanzlichen Geweben sowie bei der industriellen Verarbeitung von Früchten und Gemüsen werden bei den Pektinen beachtliche strukturelle Veränderungen beobachtet. Aufgrund zahlreicher Forschungsarbeiten kann davon ausgegangen werden, dass die mit diesen Prozessen einhergehenden Veränderungen der textuellen Eigenschaften weitgehend auf Veränderungen der chemischen Struktur von Pektinen beruhen. Die Erforschung der Feinstruktur von Pektinen ist deshalb eine wichtige Voraussetzung für das Verständnis der Zusammenhänge zwischen der Struktur und den funktionellen Eigenschaften dieser komplexen Polysaccharide.

In der vorliegenden Arbeit wurden anhand von Pektinfraktionen aus unreifen, erntefrischen und gelagerten Äpfeln die strukturellen Veränderungen von Pektinen während der Reifung untersucht. Zur Charakterisierung der Strukturen der Pektinfraktionen wurden Methylierungsanalysen und Abbaueversuche mit Reinenzymen eingesetzt.

Bei der Durchführung von Methylierungsanalysen können zahlreiche Artefakte auftreten, welche die Aussagekraft der Resultate einschränken. In einem ersten Teil der Arbeit wurde deshalb die Methode zur Durchführung von Methylierungsanalysen in zahlreichen Vorversuchen überprüft und optimiert. Die Resultate dieser Untersuchungen zeigten, dass die Bedingungen für Eindampfungsschritte sowie die Methode zur Acetylierung der partiell methylierten Alditole bedeutende Auswirkungen auf die Qualität der Analysenresultate haben.

Die Charakterisierung nativer Pektinfraktionen mittels Methylierungsanalysen ergab deutliche Unterschiede zwischen den Pektinen der Mittellamelle (CDTA-

Fraktionen) und jenen der Primärwand (Fraktionen N1 und N2), die vor allem auf Differenzen in den Neutralzuckerseitenketten beruhen. In den CDTA-Fraktionen wurden lineare (1→4)-Galactane, verzweigte Arabane und Arabinogalactan Typ II nachgewiesen. In den Fraktionen N1 und N2 waren lineare Galactane und hochverzweigte Arabane die dominierenden Neutralzuckerseitenketten. Arabinogalactan Typ II war in den N-Fraktionen nur in Spuren enthalten.

Während der Reifung sinkt bei Apfelpektinen der Anteil an Neutralzuckerbausteinen kontinuierlich ab, wobei vorwiegend Verluste an Galactose beobachtet werden. Die Resultate der Methylierungsanalysen von Pektinfraktionen aus verschiedenen Reifestadien haben klar gezeigt, dass die Abnahme an Galactose auf den Abbau der linearen, (1→4)-verknüpften Galactanseitenketten zurückzuführen ist.

Im dritten Teil dieser Arbeit wurden Pektinfraktionen verschiedener Reifestadien selektiv mit gereinigten Enzymen abgebaut. Bei diesen Abbauprobungen wurden die Enzyme endo-Polygalacturonase, endo-(1→4)-β-D-Galactanase, endo-(1→5)-α-L-Arabanase und α-L-Arabinofuranosidase einzeln und in verschiedenen Kombinationen eingesetzt. Die Abbauprodukte wurden mittels Gelfiltration aufgetrennt und die Struktur der enzymresistenten Rückstände untersucht. Die Bausteinbilanzen dieser Methylierungsanalysen ermöglichten einen vertieften Einblick in die Feinstruktur der Hairy Regions von Apfelpektinen. Beim enzymatischen Abbau verseifter Pektinfraktionen mit endo-Polygalacturonase wurde auch die Pektinfraktion Rhamnogalacturonan-II freigesetzt. Dieses Abbauprodukt wurde mittels Gelchromatographie isoliert und dessen Struktur charakterisiert. Die Ergebnisse der Methylierungsanalysen zeigen, dass Rhamnogalacturonan-II aus Äpfeln weitgehend die gleiche Struktur aufweist, wie Rhamnogalacturonan-II aus Bergahorn-Zellkulturen.

SUMMARY

Pectic substances belong together with cellulose and hemicelluloses to the plant cell wall polysaccharides. Pectic polymers are important constituents of the primary cell wall and of the middle lamella which connects adjacent cells. As a result of the research performed during the past 30 years, the structure of these complex polysaccharides has been elucidated to a large extent. It must be noticed, however, that the knowledge of the detailed structure of the pectins is still incomplete.

During the growth, ripening and the decay of plant tissues as well as during the industrial processing of fruits and vegetables, pectic substances undergo considerable structural changes. Based on the results of numerous research work it can be assumed that changes in the textural properties occurring during development of plant tissues and industrial processing are closely related to changes in the chemical structure of pectic polymers. In order to understand the relation between the structure and the functional properties of these complex carbohydrates, the elucidation of the detailed structure of pectic substances is an important need.

In the present work changes in the structure of pectic fractions isolated from unripe, mature and stored apples were investigated. Methylation analyses and degradation experiments with pure enzymes were carried out to characterize the structure of the pectic polysaccharides.

In the course of methylation analyses several artifacts may be formed, which reduce the reliability of the results. In a first part of this work, a methodological study was carried out in order to check and optimize the procedure used for the methylation analyses. The results of these experiments clearly showed that the conditions used for the evaporation steps and the procedure applied for the acetylation of the partially methylated alditols are critical factors, which have an important impact on the quality of the results of methylation analyses.

The methylation analyses of native pectic fractions revealed clear differences between the pectic polymers from the middle lamella (CDTA-fraction) and those from the primary cell wall (fractions N1 and N2). The differences originated mainly from the neutral sugar side-chains. Linear (1→4)-galactans, branched arabinans and type II arabinogalactan were present in the CDTA-fractions,

whereas (1→4)-galactans and highly branched arabinans were the dominant side chains in the N1 and N2 fractions. Type II arabinogalactan was present *only in traces*.

During ripening the proportion of neutral sugar residues in the pectic polymers of apples decreases continuously which is mainly due to a net loss of galactose residues. The results of the methylation analyses carried out with pectic fractions originating from different stages of ripening clearly showed that the decrease in galactose is related to the degradation of the linear, (1→4)-linked galactan side-chains.

In a third part of this work, pectic fractions originating from different stages of ripening were specifically degraded with purified enzymes. An endo-polygalacturonase, an endo-(1→4)-β-D-galactanase, an endo-(1→5)-α-L-arabinanase and a α-L-arabinofuranosidase alone and in different combinations were used in the degradation experiments. The degradation products were separated by gelfiltration and the structural features of the enzym resistant residues were investigated. The results of the methylation analyses of these fractions allowed a comprehensive insight into the *detailed structure of the hairy regions* of apple pectins. The degradation of saponified pectic fractions with endo-polygalacturonase liberated rhamnogalacturonan-II, a subunit of the pectic substances. The structure of this subunit was determined after isolation by gelfiltration. The results of the methylation analyses revealed the structure of rhamnogalacturonan-II from apples to be very similar to the one of rhamnogalacturonan-II from suspension-cultured sycamore cells.