



Doctoral Thesis

Charakterisierung der chemischen Struktur von Pektinen aus Roten Rüben (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*)

Author(s):

Strasser, Georg Rainer

Publication Date:

1998

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-001931405> →

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 Nr. 12595

**Charakterisierung der chemischen Struktur
von Pektinen aus Roten Rüben
(*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*)**

ABHANDLUNG
zur Erlangung des Titels
DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von
Georg Rainer Strasser
Dipl. Chem. (Universität Basel)
geboren am 9. Juli 1968
von Allschwil (BL)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. R. Amadò, Referent
Prof. Dr. A.G.J. Voragen, Korreferent

Zürich 1998

ZUSAMMENFASSUNG

Pektine gehören zu einer in der primären Zellwand und der Mittellamelle höherer Pflanzen vorkommenden Familie von Polysacchariden. Ihre Struktur und Funktion innerhalb der pflanzlichen Zellwand wurde mit Hilfe chemischer Analyse- und enzymatischer Abbaumethoden intensiv untersucht. Veränderungen in der Textur von Früchten und Gemüsen und in den Eigenschaften derer Produkte können mit Veränderungen innerhalb der Pektine zusammenhängen.

Zellwandmaterial von reifen Roten Rüben (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) wurde als alkoholunlöslicher Rückstand (AIR) isoliert. Der Cyclohexan-trans-1,2-diaminotetraacetat (CDTA)-lösliche Rückstand ergab ein chelatorlösliches Pektin. Dieses wurde mittels Anionen-Austausch-Chromatographie fraktioniert, wobei die Ionenstärke des Elutionspuffers stufenweise erhöht wurde. Die Hauptfraktion wurde durch Gel-Filtrations-Chromatographie weiter aufgetrennt. Dieses Chromatogramm zeigte einen breiten Peak, welcher dreigeteilt wurde. Von den isolierten Fraktionen wurden die Neutralzuckerzusammensetzung, der Gehalt an Uronsäuren und an Proteinen sowie der Acetylierungs- und Methylierungsgrad bestimmt. Zusätzlich wurden diese Fraktionen mit und ohne vorgängig erfolgter carbodiimid-aktivierter Reduktion mit NaBD₄ einer Methylierungsanalyse unterzogen.

Fraktionen beider chromatographischer Systeme wurden mit Enzymen, wie endo-Polygalacturonase, endo- β -(1 \rightarrow 4)-D-Galactanase, endo- α -(1 \rightarrow 5)-L-Arabanase und α -L-Arabinofuranosidase, stufenweise abgebaut. Abbauprodukte wurden mittels Gel-Filtrations- und Anionen-Austausch-Chromatographie fraktioniert. Polymere Fraktionen wurden durch carbodiimid-aktivierte Reduktion mit NaBD₄ und anschließender Methylierungsanalyse untersucht. Für den Nachweis von O-methylsubstituierten Zuckerbausteinen wurden ausgesuchte Fraktionen zusätzlich mit Trideuteromethyljodid anstelle von Methyljodid methyliert. Monomere und oligomere Fraktionen wurden mittels HPAEC-PAD analysiert.

Die wahrscheinlich aus der Mittellamelle von Roten Rüben stammenden CDTA-löslichen Pektine sind aus drei verschiedenen Einheiten zusammengesetzt: Ein Homogalacturonan, welches ungefähr 75% ausmacht, ein stark verzweigtes Rhamnogalacturonan I (RG-I) und ein typisches Rhamnogalacturonan II (RG-II). Jedes Pektinmolekül enthält zirka 6-13 RG-II-Einheiten pro RG-I-Einheit.

RG-I besitzt eine stark verzweigte und aus fast gleichen Mengen an Rhamnose und Galacturonsäure zusammengesetzte Hauptkette. Mehrheitlich aus Arabanen, Galactanen und Typ II Arabinogalactanen bestehende Seitenketten sind an dieser RG-I-Hauptkette angebracht. Einige dieser Arabane sind direkt oder indirekt über kurze Galactanketten mit dieser Hauptkette verbunden. Typ II Arabinogalactane bestehen aus "inneren", (1→3)-verknüpften Galactoseketten und aus kurzen, aus durchschnittlich ein bis drei Galactosebausteinen bestehenden, (1→6)-verknüpften "äusseren" Galactoseketten. Terminale Arabinosen sind an den O-3-Positionen dieser "äusseren" Ketten angebracht. Praktisch alle nicht-reduzierenden Enden werden durch Glucuronsäuren besetzt. Etwa $\frac{2}{3}$ dieser Glucuronsäuren enthalten Methylethergruppen und ungefähr $\frac{1}{10}$ sind wahrscheinlich mit terminalen Rhamnosin verknüpft.

RG-II enthält seltene, charakteristische Zuckerbausteine, wie Apiose, 2-O-Methylxylose, 2-O-Methylfucose, KDO und DHA. Die Molekülmasse von RG-II wurde mittels MALDI-TOF-MS bestimmt und zeigte zwei Populationen mit Molekulargewichten von etwa 4'100 und 4'300. Arabinopyranose wurde ausschliesslich als terminaler Baustein gefunden. Folglich kann angenommen werden, dass die acerinsäurehaltige Seitenkette kürzer als diejenigen von anderen Pflanzen sein könnte. 1,3,4-verknüpfte Galactose und 1,2,3,4-verknüpfte Galacturonsäure konnten als zusätzliche Bausteine nachgewiesen werden.

SUMMARY

Pectins are a group of polysaccharides from the primary cell wall and the middle lamella of higher plants. Their structures and functions within the plant cell wall have been investigated extensively using chemical analysis and enzymatic degradation. Changes in the texture of fruits and vegetables and in the properties of their products can be related to changes in pectic components.

Cell wall material from ripe red beet (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) was isolated as alcohol insoluble residue (AIR). A chelator soluble pectin extracted by cyclohexane-trans-1,2-diaminotetraacetate (CDTA) from the AIR was fractionated by anion exchange chromatography using a stepwise increase in the ionic strength of the elution buffer. The main fraction was further fractionated by gel filtration chromatography. The resulting broad peak was divided into three parts by pooling fractions. Neutral sugar composition, uronic acid and protein content as well as degree of acetylation and methylation were determined for the isolated fractions. Furthermore methylation analyses of these fractions were performed prior and after carbodiimide-activated reduction of the pectic polysaccharides with NaBD₄.

Fractions from both chromatographic systems were degraded stepwise by various enzymes such as endo-polygalacturonase, endo- β -(1 \rightarrow 4)-D-galactanase, endo- α -(1 \rightarrow 5)-L-arabinanase, and α -L-arabinofuranosidase. The degradation products were fractionated by gel filtration or anion exchange chromatography. Polymeric fractions were investigated by methylation analysis after carbodiimide-activated reduction with NaBD₄. Selected fractions were additionally methylated with trideuteromethyl iodide instead of methyl iodide to enable the detection of O-methyl substituted sugars. Monomeric and oligomeric fractions were analysed by HPAEC-PAD.

The results indicate that the CDTA-soluble pectins, derived most probably from the middle lamella of red beet cell walls, are composed of three different units: a homogalacturonan, which counts for about 75%, a highly ramified rhamnogalacturonan I (RG-I), and a typical rhamnogalacturonan II (RG-II). Each pectic molecule consists of about 6-13 RG-II-units per RG-I-unit.

RG-I is composed of a highly ramified backbone containing approximately equal amounts of rhamnose and galacturonic acid. Side chains, mainly consisting of arabinans, galactans, and type II arabinogalactans are attached to the RG-I backbone. Some arabinans are connected via short galactan chains directly or indirectly to this backbone. Type II arabinogalactans are formed of internal chains consisting of (1→3)-linked galactans and short external chains composed of an average number of one to three (1→6)-linked galactose residues. Terminal arabinofuranoses are linked via the O-3-position to the external chains. Glucuronic acid is located at nearly all non-reducing ends of the molecule. About $\frac{2}{3}$ of the glucuronic acid residues are substituted by a methyl ether group and most probably about $\frac{1}{10}$ by a terminally linked rhamnose.

RG-II contains some rare but characteristic sugars, such as apiose, 2-O-methyl-xylose, 2-O-methyl-fucose, KDO and DHA. The molecular weight of RG-II was determined by MALDI-TOF-MS and showed the presence of two populations with molecular weights of about 4'100 and 4'300. The arabinopyranosyl residue was found to be terminally linked only and could not be detected as a linear or branched residue. Therefore it was deduced, that the aceric acid containing side chain is probably smaller than that reported from other plants. Additional residues of 1,3,4-linked galactose and 1,2,3,4-linked galacturonic acid could also be detected.