

Analyse der molekularen Struktur von Pektinen mit der GPC/SEC mit Dreifachdetektion

Dr. Gerhard Heinzmann

Einleitung

Pektine kommen in allen höheren Landpflanzen vor. Man findet Pektine in den festeren Bestandteilen der Pflanzen, beispielsweise den Stängeln, Blüten und Blättern. Sie sind in den Mittellamellen und primären Zellwänden enthalten und übernehmen dort eine festigende und wasserregulierende Funktion. Die Pektinzusammensetzung ist nicht nur von Pflanze zu Pflanze unterschiedlich, sondern hängt ebenso vom Typ und Alter des Pflanzengewebes ab. Besonders pektinreich sind Pflanzen mit relativ harten Bestandteilen wie z. B. Zitrusfrüchte und Äpfel.

Aufgrund ihrer Fähigkeit, Gele zu bilden, sind Pektine in der Lebensmittelindustrie, der Pharmaindustrie oder für Kosmetika ein unverzichtbarer Bestandteil vieler Produkte, bei denen aus den verschiedenen Gründen Gelliermittel, Verdickungsmittel oder Stabilisierungsmittel eingesetzt werden. In der Nahrungsmittelindustrie und teils auch im Haushalt wird Pektin zur Herstellung von Gelees, Konfitüren und Marmeladen verwendet. Pektine werden oft als rein pflanzliches Ersatzmittel für Gelatine verwendet [1].

Struktur von Pektinen

Pektine sind Polysaccharide deren Hauptbestandteil die α -D-Galacturonsäure als Monomer ist. Diese Galacturonsäure-Monomere sind über α -1,4-glycosidische Bindungen miteinander verbunden und bilden so das Rückgrat (*backbone*) des Pektinmoleküls. Dieser lineare *backbone* wird periodisch durch 1,2-Bindungen mit α -L-Rhamnose unterbrochen. Der Einbau dieser Desoxyzucker-Einheiten führt dazu, dass es in der formal geradlinigen Polygalacturonsäurekette zu Störungen kommt: die Ketten werden „geknickt“. Die Rhamnose-Bausteine in natürlichen Pektinen wiederum tragen oligomere Seitenketten aus den Zuckern Arabinose, Galactose oder Xylose. Diese Seitenketten sind homopolymer, bestehen also jeweils nur aus einer dieser Zuckerarten, und sind maximal zwanzig Bausteine lang. Die Verzweigungen in der Kette durch L-Rhamnose und ihre Seitenketten treten nicht regelmäßig auf, sondern häufen sich in den

sogenannten *hairy regions*. Im Gegensatz dazu heißen die linearen Teile der Kette *smooth regions*.

Neben den Verzweigungen der Hauptkette finden sich weitere Merkmale im Pektinmolekül. Die Hydroxylgruppen am C2- oder C3-Atom der Galacturonsäureeinheiten sind zu geringen Teilen acetyliert oder durch weitere Neutralzucker, wie D-Galactose, D-Xylose, L-Arabinose, L-Rhamnose, substituiert – auch hier vorwiegend in den *hairy regions*. Die Carboxylgruppen der Polygalacturonsäure sind teilweise mit Methanol verestert. Der Grad der Veresterung und Acetylierung schwankt mit der Herkunft des Pektins, hat aber entscheidenden Einfluss auf die chemischen Eigenschaften. Deshalb werden Pektine anhand ihres mittleren Veresterungsgrades VE klassifiziert [1].

Charakterisierung der molekularen Struktur von Pektinen

Die molekulare Struktur von Pektinmolekülen kann mit der GPC/SEC mit Dreifachdetektion (Mehrwinkel-Lichtstreuung, Viskositätsdetektion und Brechungsindexdetektion) bestimmt

werden. Ausgangspunkt der Strukturbestimmung ist der Mark-Houwink-Plot.

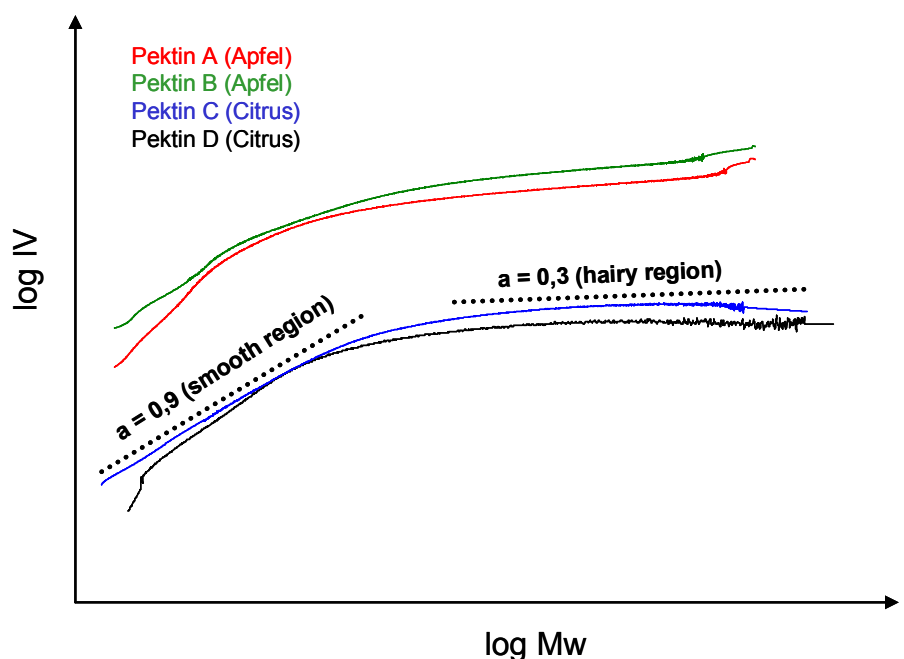
Der Mark-Houwink-Plot ist der zentrale Strukturplot in der GPC/SEC. Es werden logarithmisch die Intrinsischen Viskositäten gegen das Molekulargewicht der Probe aufgetragen.

$$\log IV = \log k + a \times \log Mw$$

(Mark-Houwink-Gleichung)

Für ein Polymer oder Biopolymer das eine lineare Kette ohne Verzweigungen ausbildet ergibt sich eine Gerade mit einer Steigung von 0,6-0,8 (a-Wert). Für verzweigte Polysaccharide wie z. B. Dextran resultiert ein geringerer a-Wert. Eine Probe mit einer sehr kettensteifen Struktur weist hingegen einen a-Wert aus der größer ist als 0,8. Beispiele hierfür sind die Hyaluronsäure und das nahezu stäbchenförmige DNA-Molekül.

Aus dem Mark-Houwink-Plot können über die Zimm-Stockmayer-Theorie die Verzweigungsgrade von Polymer- und Biopolymerproben ermittelt werden. Prinzipiell gilt dass ein Polymermolekül mit einer größeren intrin-



Überlagerung der Mark-Houwink-Plots von vier Pektinproben

sischen Viskosität bei einem vorgegebenen Molekulargewicht eine geringere molekulare Dichte und somit eine offenerere, eventuell gestrecktere Form aufweist während hingegen ein Molekül mit einer kleineren intrinsischen Viskosität bei gleichem Molekulargewicht eine höhere molekulare Dichte und somit eine kompaktere, ggf. verzweigte Struktur aufweist.

Die Abbildung zeigt die Überlagerung der Mark-Houwink-Plots von vier Pektinproben. Bei Probe A und B handelt es sich um Pektine die aus Äpfeln gewonnen wurden, die Pektinproben C und D stammen aus Zitrusfrüchten.

Zum einen zeigt der Mark-Houwink-Plot die unterschiedlichen Strukturen die im Pektinmolekül vorkommen. Im niedermolekularen Teil ist der a -Wert, also die Steigung der

Kurve $> 0,8$ und konstant was auf eine lineare und kettensteife bzw. gestreckte Molekülform hindeutet. Hier handelt es sich um die bereits beschriebene *smooth region* der Pektinmoleküle.

Im hochmolekularen Teil ist der a -Wert $< 0,4$ was auf eine sehr dichte und kompakte, ggf. stark verzweigte Molekülform hindeutet. Dieser Bereich ist die *hairy region* der Pektinmoleküle.

Weiterhin zeigt die sehr gute Übereinstimmung der Mark-Houwink-Kurven der beiden Apfelpektine (Probe A und B) und der beiden Zitruspektine (Probe C und D) dass mit der Technik der GPC/SEC mit Dreifachdetektion auch der Ursprung bzw. die Natur einer Pektinprobe ermittelt werden kann.

Fazit

Mit der Technik der GPC/SEC mit Dreifachdetektion können die Molekulargewichte und die Intrinsischen Viskositäten von Pektinmolekülen zuverlässig bestimmt werden. Aus diesen beiden Informationen kann der Mark-Houwink-Plot erzeugt werden der deutlich den Unterschied zwischen den linearen *smooth regions* und den verzweigten *hairy regions* der Pektinmoleküle aufzeigt. Weiterhin konnten vier Pektine nach Ihrer Herkunft unterschieden werden (Apfelpektine und Zitruspektine).

Literatur

- [1] <https://de.wikipedia.org/wiki/Pektine> (Oktober 2015)