

## 170. Untersuchungen über Getreideschleimstoffe

V. Spaltung eines Glycoproteins durch Oxydationsmittel<sup>1)</sup>

von H. Neukom und W. Kündig

(23. V. 62)

Die chromatographische Trennung der Schleimstoffe des Weizenmehls an Diäthylaminoäthyl-Cellulose (DEAE-Cellulose) hat 5 Fraktionen ergeben, nämlich ein reines Arabinoxylan und 4 Glycoproteine<sup>2)</sup>. Bei Zugabe von Spuren eines Oxydationsmittels (NaClO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, KBrO<sub>3</sub> usw.) erstarren die Lösungen von Weizenmehlschleimstoffen bekanntlich zu einem Gel<sup>3)</sup>. Durch Fraktionierung der aus dem Gel extrahierbaren Substanzen an DEAE-Cellulose konnte gezeigt werden, dass wahrscheinlich nur *eine* Glycoproteinfraktion an der Ausbildung der Gelstruktur beteiligt ist<sup>4)</sup>.

Tabelle 1. Präparative Fraktionierung von stärkefreiem Mehlextrakt (1,5 g) an einer DEAE-Cellulosekolonne (100 g)

Fraktion Nr. (eluiert mit)	Ausbeute mg	Anteil am stärke- freien Extrakt %	Zusammensetzung der Fraktionen		
			Protein- gehalt (N × 6,25) %	Poly- sacch.- gehalt %	Quantitative Zusammensetzung der Polysaccharide %
1 (Wasser) . . . . .	584	40,4	—	100	Arabinose 43,0 Xylose 57,0
2 (0,01M Na-Borat) . .	427	28	13	87	Galaktose 20,2 Arabinose 46,6 Xylose 39,2
3 (0,1M Na-Borat) . .	161	10,4	24	76	Galaktose 53,1 Arabinose 46,9
4 (0,5M Na-Borat) . .	173	12,1	30	70	Galaktose 36,0 Arabinose 47,0 Xylose 17,0
5 (0,5N NaOH) . . . .	134	9,1	38	62	Galaktose 28,0 Arabinose 26,0 Xylose 46,0

Um die während der oxydativen Gelierung der Weizenschleimstoffe sich abspielenden Reaktionen und vor allem die für die Gelierung verantwortliche Glycoproteinfraktion näher zu untersuchen, wurden die einzelnen Fraktionen der Weizenschleimstoffe präparativ dargestellt. Dazu wurde die bereits früher beschriebene Chromatographie an DEAE-Cellulose in Boratform<sup>2)</sup> verwendet. An einer DEAE-Cellulose-

<sup>1)</sup> IV. Mitt.: H. NEUKOM & W. KÜNDIG, *Chemistry & Ind.* 1962, 779.

<sup>2)</sup> W. KÜNDIG, H. NEUKOM & H. DEUEL, *Helv.* 44, 823 (1961).

<sup>3)</sup> J. C. BAKER, H. K. PARKER & M. D. MIZE, *Cereal Chemistry* 20, 267 (1943).

<sup>4)</sup> W. KÜNDIG, H. NEUKOM & H. DEUEL, *Helv.* 44, 969 (1961).

kolonne aus ca. 100 g Austauschermaterial konnten 1,5 g der wasserlöslichen, stärkefreien Polysaccharide und Glycoproteine aus Weizenmehl fraktioniert werden. Aus den Eluaten dieser Austauscherkolonne wurden die einzelnen Fraktionen durch Lyophilisieren gewonnen. Die Ausbeute und die Zusammensetzungen der einzelnen Fraktionen sind aus Tabelle 1 ersichtlich.

Von allen Fraktionen wurden 2-proz. wässrige Lösungen hergestellt und deren Verhalten gegenüber Oxydationsmitteln geprüft. Eine Gelbildung konnte einzig mit der Lösung des Glycoproteins der Fraktion 2 (Elution mit 0,01M Na-Borat) erzielt werden. Die Geliertendenz war allerdings schwächer im Vergleich zu einer gleich konzentrierten Lösung von Mehlextrakt. Mit Ausnahme der Fraktion 1 (reines Arabinoxylan) gab keine Fraktion eine ganz klare wässrige Lösung. Aus diesen beiden Beobachtungen muss daher angenommen werden, dass die Glycoproteine während der Fraktionierung an DEAE-Cellulose in Boratform zum Teil verändert werden. Die Viskositätswerte der einzelnen Fraktionen zeigten ebenfalls grössere Unterschiede (vgl. Tab. 2). Das für die oxydative Gelierung der Mehlextrakte verantwortliche Glycoprotein 2 weist eindeutig die grösste Viskosität auf; nach Zusatz von  $H_2O_2$  trat nur bei dieser Fraktion eine Viskositätserhöhung ein.

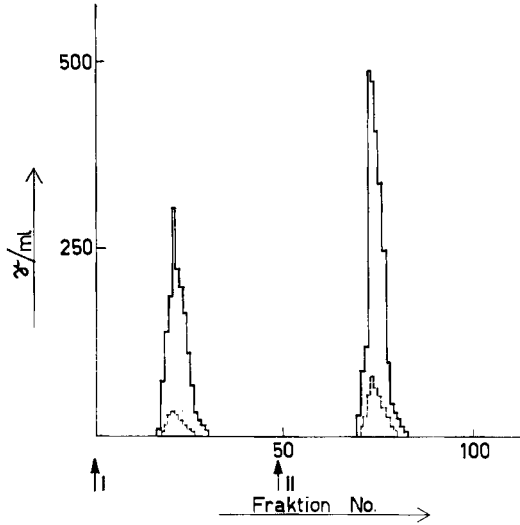
Tabelle 2. Viskosität ( $\eta$  rel.) von 0,5-proz. wässrigen Lösungen der einzelnen Fraktionen des stärkefreien Mehlextrakts, vor und nach Zugabe von  $H_2O_2$

Fraktion (eluiert mit)	Viskosität ( $\eta$ rel.) 0,5-proz. Lösung	
	ohne $H_2O_2$	nach Zusatz von $H_2O_2$
1 (Wasser) . . . . .	4,08	4,13
2 (0,01M Na-Borat) . .	5,34	9,12
3 (0,1M Na-Borat) . .	2,01	2,00
4 (0,5M Na-Borat) . .	2,28	2,24
5 (0,5N NaOH) . . . .	2,85	2,84
Mehlextrakt vor der Fraktionierung . . . .	4,1	—

Der Polysaccharidanteil der Gelstruktur besteht nur aus Arabinose und Xylose, Galaktose konnte darin nur in Spuren nachgewiesen werden<sup>4</sup>). Das Glycoprotein 2, welches für die Bildung der Gelstruktur in Frage kommt, enthält aber neben Xylose und Arabinose noch 20% Galaktose; es muss daher angenommen werden, dass während der oxydativen Gelierung der Galaktose enthaltende Teil des Glycoproteins 2 abgespalten wird. Zur weiteren Stützung dieser Annahme wurde eine 1-proz. Lösung des Glycoproteins 2 mit  $H_2O_2$  versetzt und darauf an einer DEAE-Cellulosekolonne in Boratform fraktioniert (vgl. Figur). In einer 1-proz. Lösung des Glycoproteins 2 tritt bei Zugabe von  $H_2O_2$  noch keine Gelbildung ein, da die Lösung offenbar noch zu verdünnt ist.

Wie die Figur zeigt, wird bei der Fraktionierung des oxydierten Glycoproteins 2 mit Wasser ein proteinhaltiges Arabinoxylan, das keine Galaktose enthält, eluiert. Mit 0,01M Na-Borat wird der Rest des Glycoproteins 2 eluiert. Der Galaktosegehalt dieser Fraktion ist um mehr als 50% höher als derjenige des ursprünglichen Glycoproteins 2 (vgl. Tab. 3). Durch die Oxydation muss demnach eine noch unbekannt

oxydationslabile Bindung innerhalb der Glycoproteinmolekel 2 gespalten werden, wobei sich eine Galaktose-freie und eine Galaktose-reiche Fraktion bildet. Bei der ersteren treten offenbar als Folge der oxydativen Spaltung Vernetzungsreaktionen ein, die in genügend konzentrierten Lösungen zur Gelierung, in zu stark verdünnten Lösungen zu Viskositäts erhöhungen führen. Es steht dabei noch nicht fest, ob durch



*Fraktionierung des mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxydierten Glycoproteins 2 (100 mg) an einer DEAE-Cellulosekolonne (20 g)*

Boratform; Elutionslösungen: I H<sub>2</sub>O; II 0,01M Na-Borat. Fraktionsvolumen 20 ml  
 — Polysaccharide                      - - - - - Proteine

(Rechromatographie des nicht oxydierten Glycoproteins 2 ergab keine weitere Auftrennung der Substanz)

Tabelle 3. *Fraktionierung des oxydierten Glycoproteins 2 (100 mg) an DEAE-Cellulose (20 g) in Boratform (vgl. Fig.)*

Fraktion (eluiert mit)	Anteil am Glyco- protein 2 %	Zusammensetzung der Fraktionen		
		Protein- gehalt %	Polysacch- gehalt %	Quantitative Zusammensetzung der Polysaccharide %
1 (Wasser) . . . . .	45,2	7	93	Arabinose 42,8 Xylose 57,2
2 (0,01M Na-Borat) . .	54,8	17	83	Galaktose 32,8 Arabinose 36,9 Xylose 29,7
Unbehandeltes Glycoprotein 2 . . .		13	87	Galaktose 20,2 Arabinose 46,6 Xylose 39,2

die Oxydation mit  $H_2O_2$  sämtliche Molekeln des Glycoproteins 2 gespalten werden, oder nur ein Teil davon.

Die Fraktionierung des oxydierten Glycoproteins 2 an DEAE-Cellulose in Borat-form zeigt im weiteren, dass im Glycoprotein 2 nur die Galaktose für die Bildung von Boratkomplexen und damit für das Haften der Substanz an der DEAE-Cellulose verantwortlich ist. Das galaktosefreie Bruchstück haftet nicht mehr an der DEAE-Cellulose. Da für die Komplexbildung mit Borat vor allem die OH-Gruppen am C-3 und C-4 der Galaktose verantwortlich sind, dürfte im Glycoprotein 2 mindestens ein Teil der Galaktosereste endständig angeordnet sein.

Die beschriebene oxydative Spaltung des Glycoproteins 2 spielt wahrscheinlich bei der Vernetzung der Makromolekeln während der oxydativen Gelierung des Mehlextraktes eine wichtige Rolle; sie wurde auch in Mehlen beobachtet, die zu stark mit  $ClO_2$  gebleicht wurden<sup>1)</sup>. Die Schleimstoffe solcher Mehle bilden bei Zugabe eines Oxydationsmittels keine Gele mehr.

**Experimentelles.** – Die Herstellung der wässrigen, stärkefreien Mehlextrakte aus Manitoba-II-Mehl erfolgte wie bereits früher beschrieben<sup>2)</sup>.

*Präparative Chromatographie von Mehlextrakt an DEAE-Cellulosekolonnen.* Die Kolonnen (Durchmesser 6 cm, Höhe 40 cm) wurden mit je 100 g DEAE-Cellulose der BROWN COMPANY, Berlin, N. H., U.S.A. (Firmenbezeichnung: Reagent grade, Type 20, Lot Nr. 1073, Austauschkapazität 0,77 mÄq./g) wie bereits früher beschrieben<sup>5)</sup> hergestellt. Der stärkefreie Mehlextrakt wurde in 2- bis 3-proz. Lösung auf die Kolonne gegeben. Die Elution erfolgte stufenweise mit Wasser, 0,01M, 0,1M und 0,5M Na-Borat und 0,5N NaOH; Durchflussgeschwindigkeit 2 ml/Min. Die Eluate wurden in Fraktionen von 20 ml aufgefangen. Die entsprechenden Eluate wurden vereinigt, mit 2N HCl neutralisiert, durch Dialyse gegen destilliertes Wasser entionisiert und darauf lyophilisiert. Die Charakterisierung der Fraktionen durch qualitative und quantitative Papierchromatographie erfolgte wie bereits beschrieben<sup>2)</sup>.

*Viskositätsmessungen.* Die Viskositäten der einzelnen Fraktionen wurden mit 0,5-proz. wässrigen Lösungen in einem UBBELOHDE-Kapillarviskosimeter (Wasserwert 120 Sek.) bei 20° gemessen.

*Chromatographie des oxydierten Glycoproteins 2 an DEAE-Cellulosekolonne.* 10 ml einer 1-proz. Lösung des Glycoproteins 2 wurden mit 5 Tropfen einer 1-proz.  $H_2O_2$ -Lösung versetzt, 1 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen und darauf an DEAE-Cellulose in Boratform fraktioniert. Die Fraktionierung und die quantitative Bestimmung der Polysaccharide und Proteine in den Eluaten erfolgte wie bereits beschrieben<sup>2)</sup>.

Die mikroanalytischen N-Bestimmungen wurden durch das mikroanalytische Labor der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, ausgeführt.

Die vorliegende Arbeit wurde durch finanzielle Unterstützung der Firma GEBRÜDER BÜHLER, Uzwil, ermöglicht. Wir danken bestens für diese Unterstützung.

#### SUMMARY

The principal glycoprotein fraction of the soluble wheat flour pentosans has been prepared and shown to be cleaved by traces of oxidizing agents into a galactose-free fragment and a fragment enriched in galactose residue. The mechanism of this cleavage is not known yet.

Agrikulturchemisches Institut der  
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

<sup>5)</sup> H. NEUKOM, H. DEUEL, W. J. HERI & W. KÜNDIG, Helv. 43, 64 (1960).