
POLYSACCHARID-ZUSAMMENSETZUNG DES BETA-GLUCAN-KOMPLEXES AUS ZUNDERSCHWAMM (FOMES FOMENTARIUS)

Hendrik Wetzel



8. Berlin – Brandenburgisches Forschungssymposium

AGENDA

- Einführung
- Zusammensetzung des Beta-Glucan-Komplexes aus Zunderschwamm
 - Analytisches Protokoll
 - Ergebnisse
- Schlussfolgerungen

Einführung

- Auftragsanalyse:
 - Prüfung von 2 Proben:
 - Beta-Glucan-Komplex
 - Beta-Glucan-Komplex Ausgangsmaterial
 - Glucan- und Chitingehalt nach Totalhydrolyse

Einführung

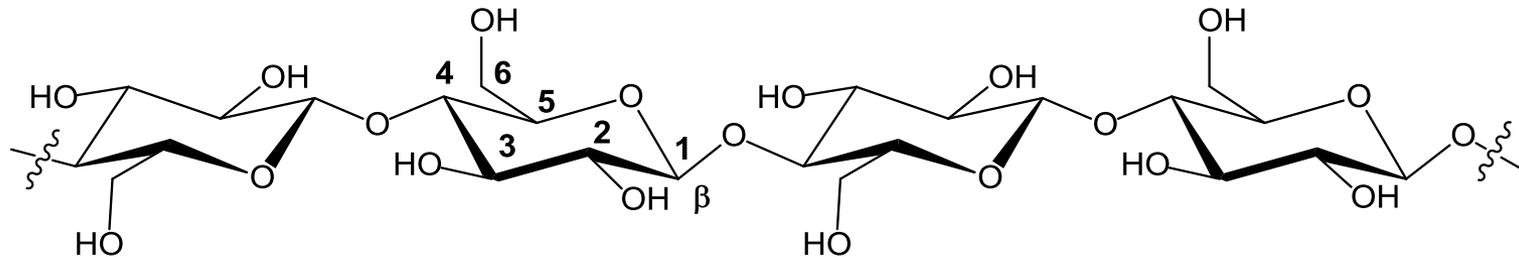
- Glucan
 - Oligosaccharide und Polysaccharide, die nahezu vollständig aus D-Glucopyranose-Einheiten (D-Glucose) aufgebaut sind
 - Lineare, verzweigte und cyclische Glucane
 - 8 mögliche glycosidische Bindungstypen: (1→2)-, (1→3)-, (1→4)- und/oder (1→6)-Bindungen sowie α - oder β -Verknüpfungen
 - Häufigste Vertreter:
 - Cellulose - β -1,4-glycosidisch-verknüpft
 - Stärke - α -1,4- und α -1,6-glycosidisch-verknüpft

Römpp – Enzyklopädie zur Chemie: 2014 Georg Thieme Verlag KG; <https://roempp.thieme.de/roempp4.0>

Einführung

■ Glucan:

■ Cellulose



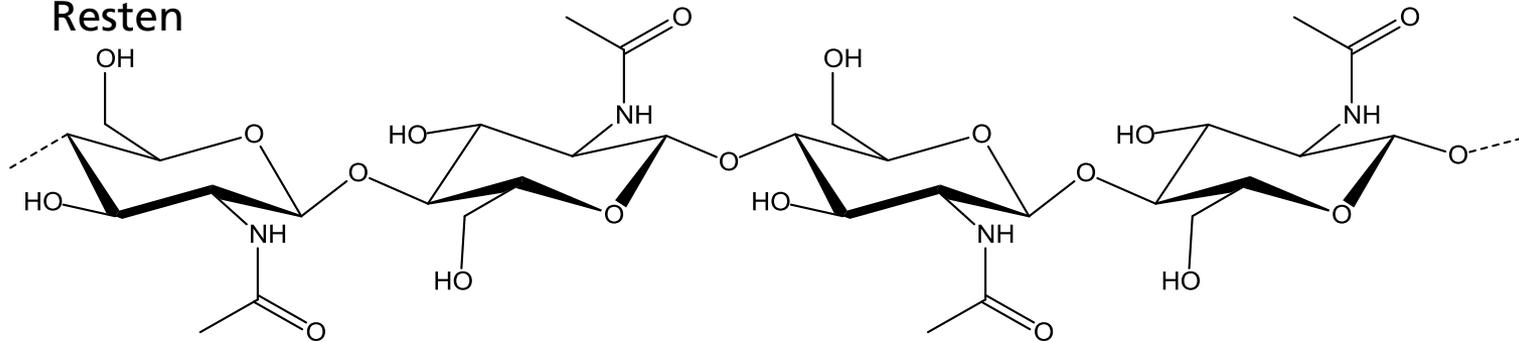
■ Totalhydrolyse

- Spaltung der glycosidischen Bindung
- Addition von Wasser
- Reaktionsprodukt Glucose

Einführung

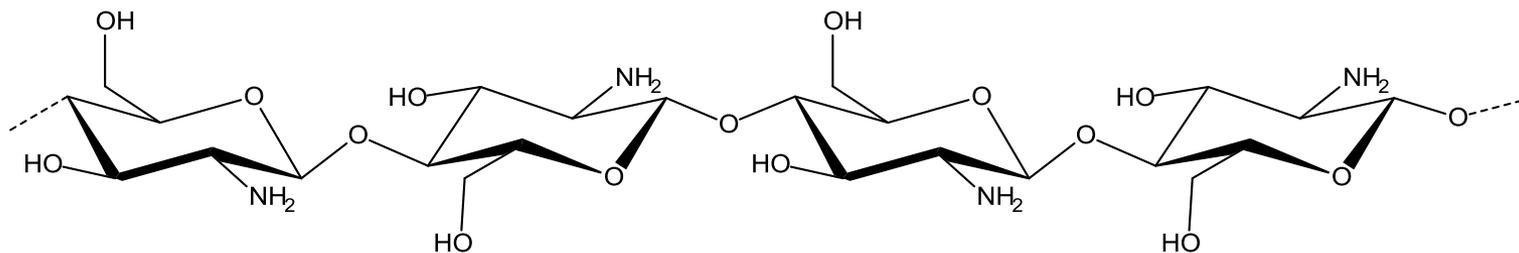
■ Chitin

- Ketten von β -1,4-glycosidisch verknüpften N-Acetyl-d-glucosamin (GlcNAc)-Resten



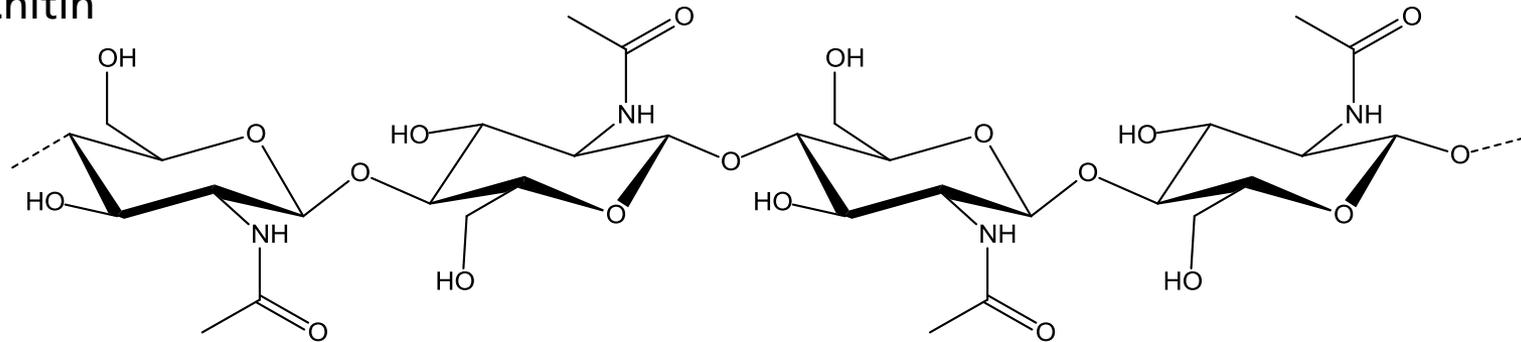
■ Chitosan

- Deacetyliertes Produkt aus Chitin durch Behandlung mit Alkalien



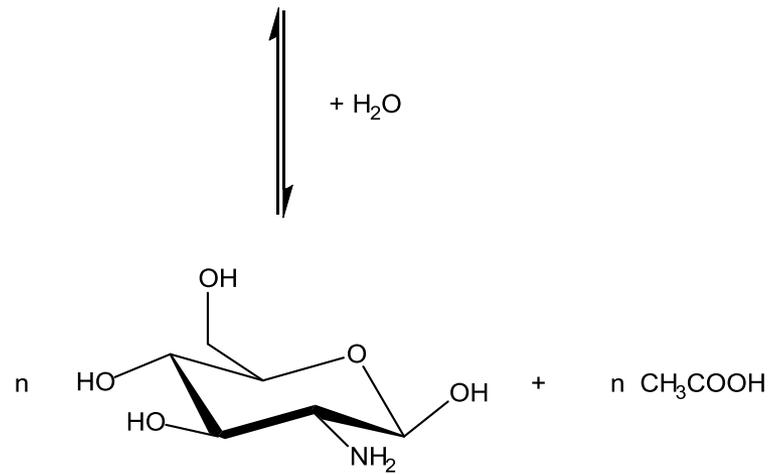
Einführung

■ Chitin



■ Totalhydrolyse durch starke Säuren

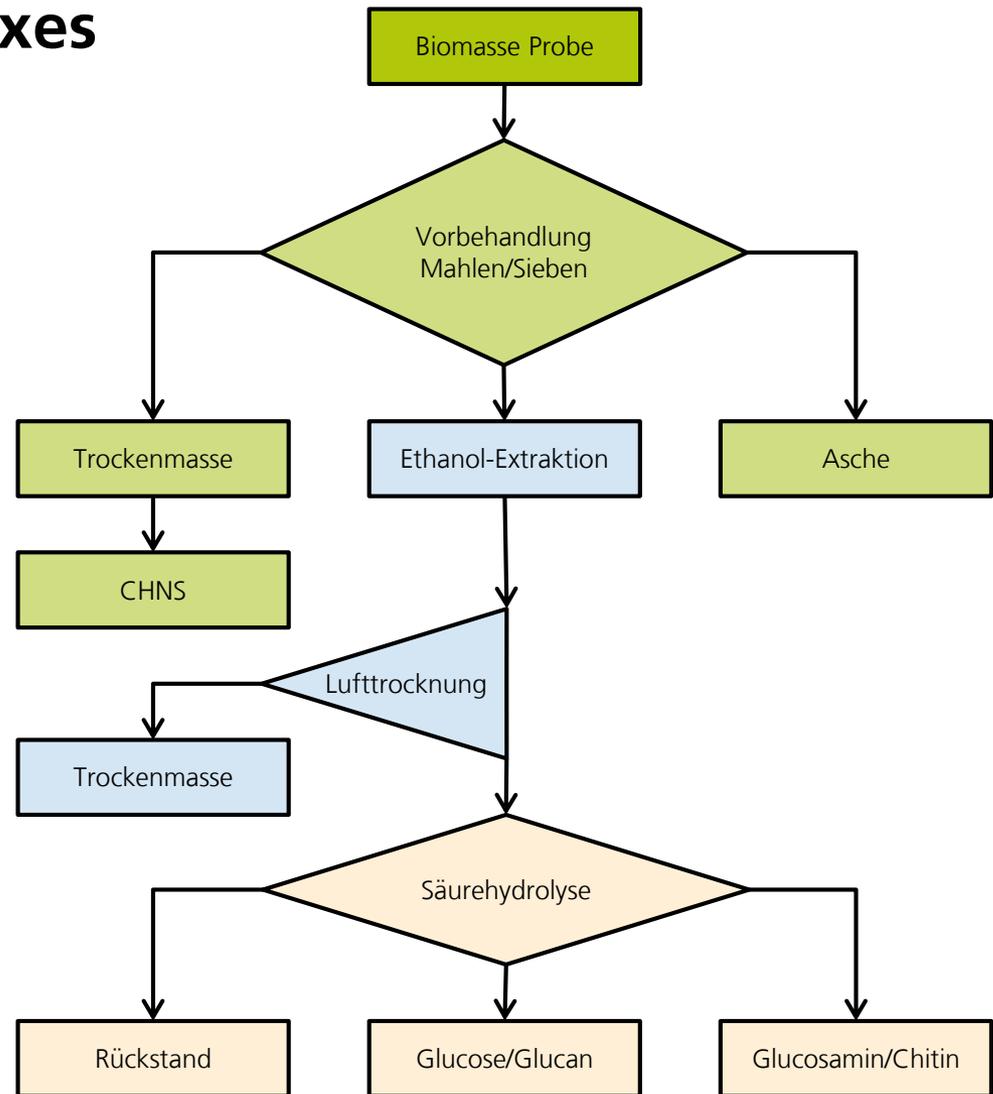
- Spaltung der glycosidischen Bindung und Deacetylierung
- Addition von Wasser
- Reaktionsprodukt Glucosamin und Essigsäure



Bestimmung der Polysaccharid-Zusammensetzung des Beta-Glucan-Komplexes

Analyse-Protokoll auf Basis international anerkannter Methoden empfohlen von:

- NREL - National Renewable Energy Laboratory
 - NREL/TP-510-48087, -42620, -42618, -42619, -42621, -42622, -42625
- ASTM - American Society for Testing and Materials
 - D5896-96, E1690-08, E1721-01, E1756-08, E1757-01, E1758-01
- TAPPI Test Methode
 - T 249 cm-00



Bestimmung der Polysaccharid-Zusammensetzung des Beta-Glucan-Komplexes

■ Probenpräparation:

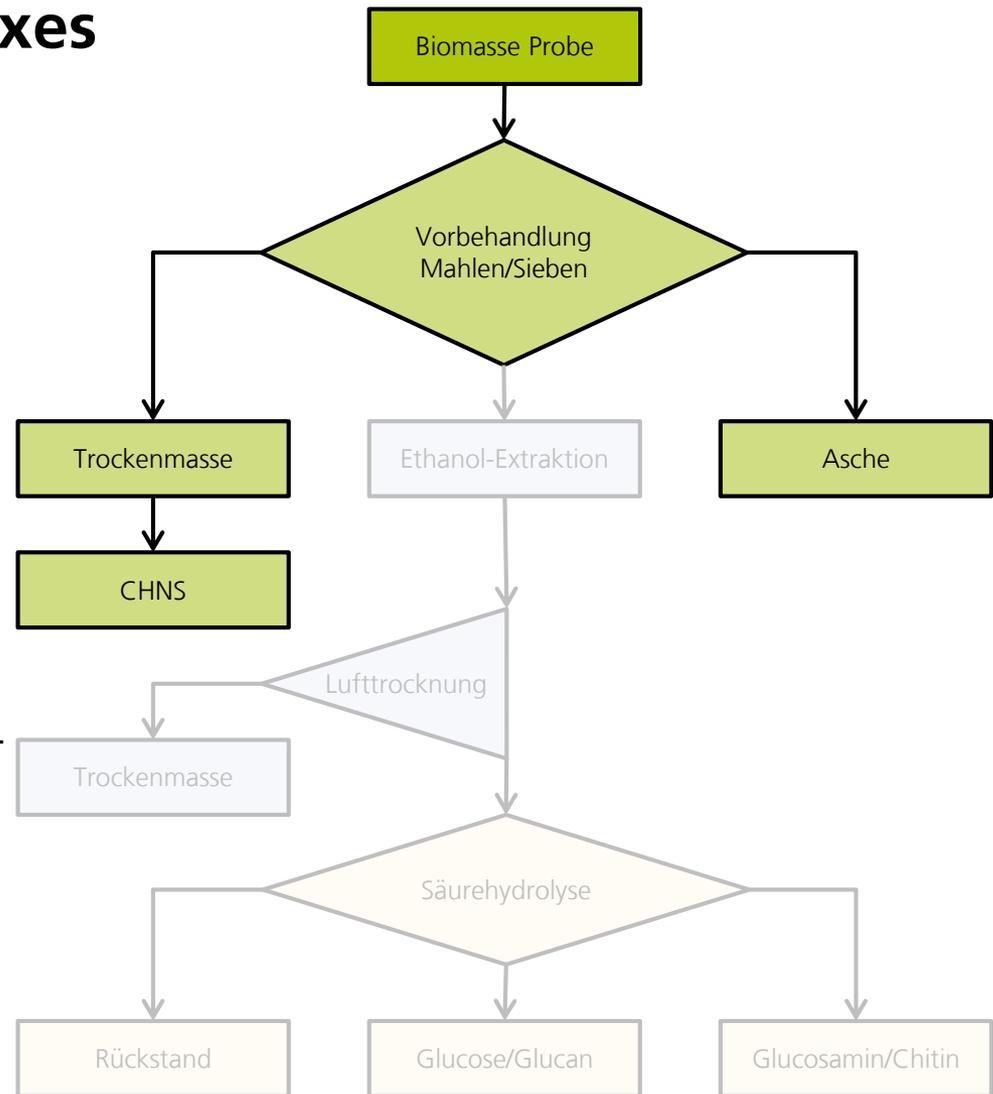
- Vorzerkleinerung mit Schneidmühle SM 2000 (Retsch)
- Feinzerkleinerung: Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200 (Retsch) Siebgröße 0,5 mm

■ Feststoffgehalt (Trockenmasse):

- Trocknung im Umlufttrockenschrank bei 105 °C (16 h)

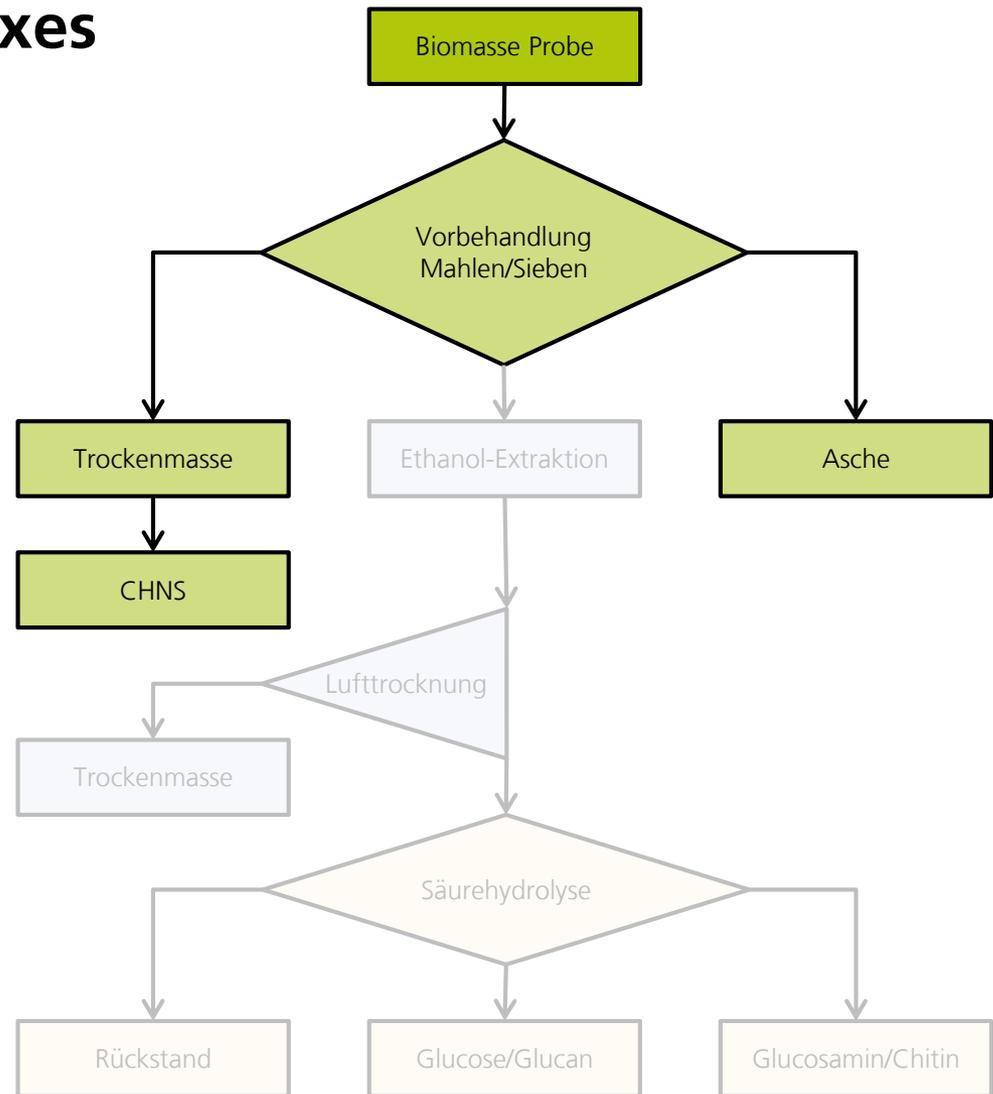
■ Asche: anorganische Bestandteile

- Verwendung eines Mufflofens mit Temperaturrampe (T_{\max} : 575 °C)



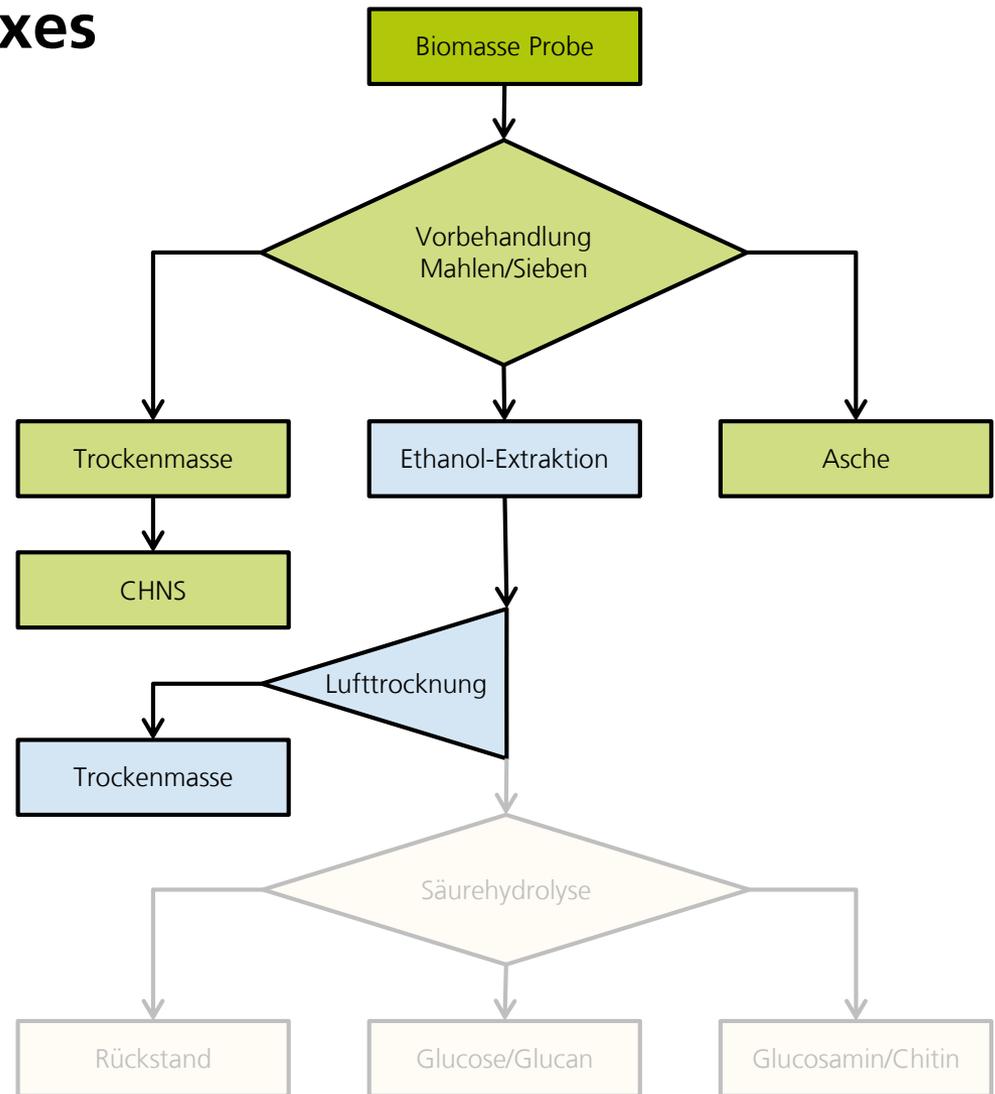
Bestimmung der Polysaccharid-Zusammensetzung des Beta-Glucan-Komplexes

- Stickstoffbestimmung:
 - Messung des Stickstoff-Gehalts mittels FlashEA 1112 Elemental Analyzer Series CHNS/O (Thermo Finnigan)
- Mehrere mögliche Stickstoffquellen in Pilzen:
 - Chitin/Chitosan
 - Glycoprotein
 - Protein
 - Melanin



Bestimmung der Polysaccharid-Zusammensetzung des Beta-Glucan-Komplexes

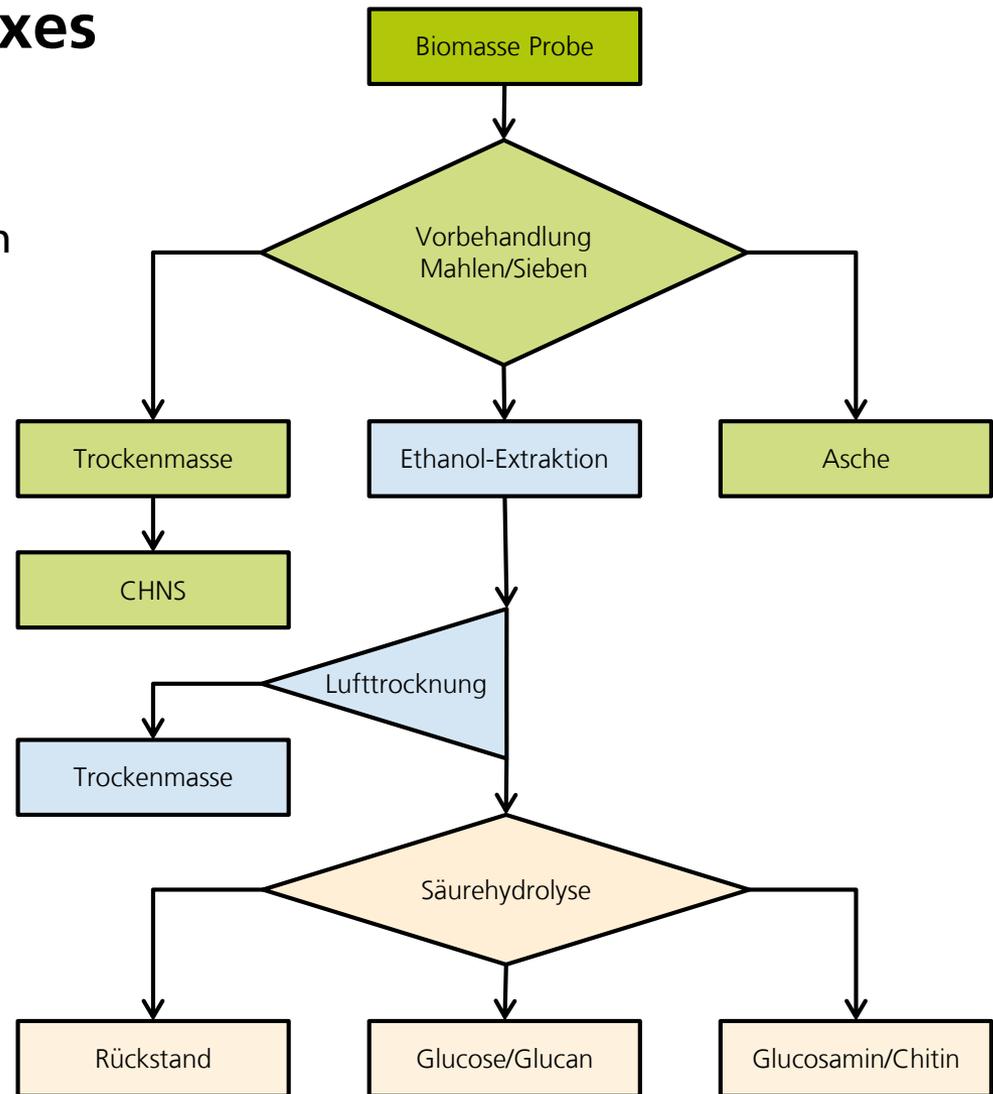
- Extraktion von Nichtgerüstmaterialien
 - Entfernung und Quantifizierung des extrahierbaren Anteils des Biomasserohstoffs (Wachse, Harze, Lipide)
 - 16 h Soxhlet Extraktion mit 95 % Ethanol



Bestimmung der Polysaccharid-Zusammensetzung des Beta-Glucan-Komplexes

■ Säurehydrolysen der extrahierten Proben:

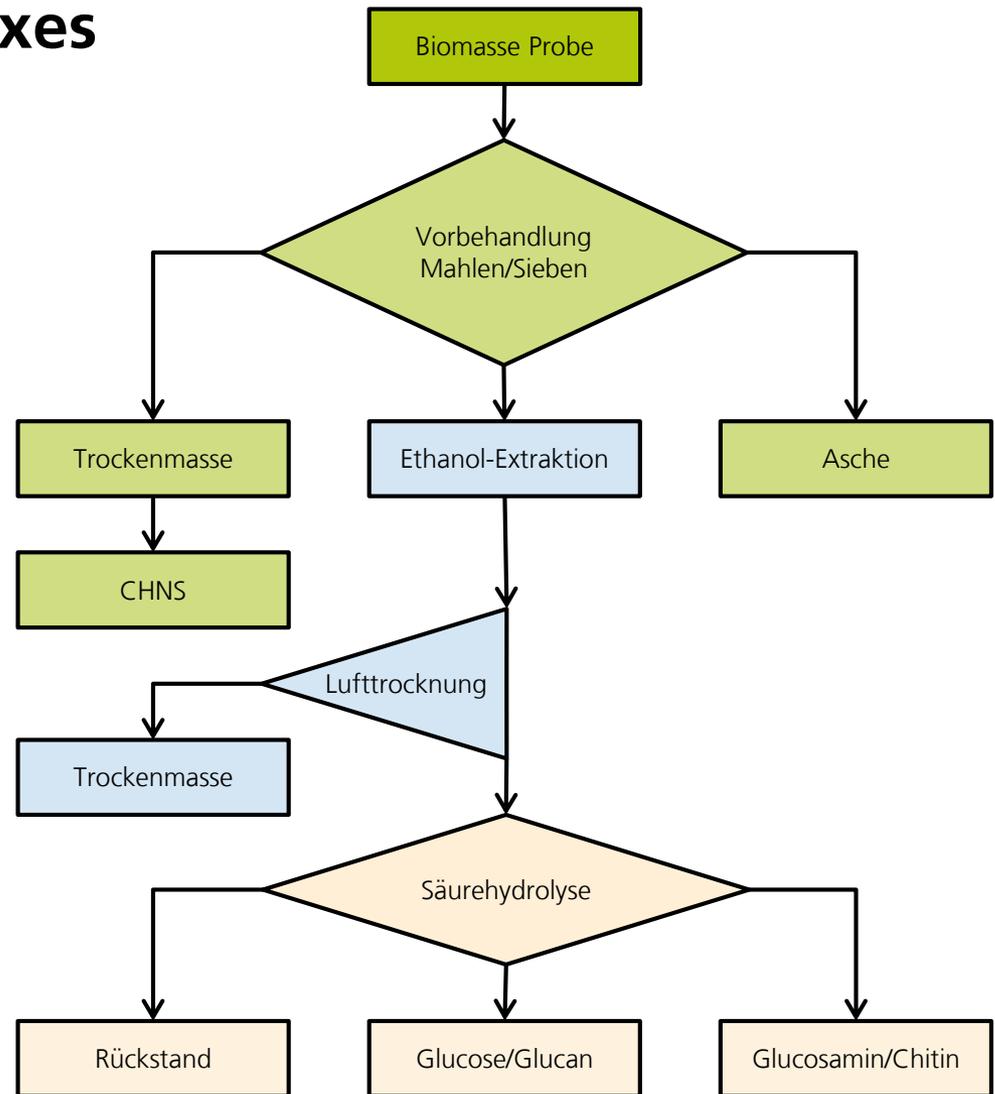
- Hydrolyse mit 6 n Salzsäure
7 h bei 100 °C*
- 2 stufige Hydrolyse mit Schwefelsäure
 1. Stufe: 72 % H₂SO₄ – 1 h bei 30 °C
 2. Stufe: Verdünnung auf 4 % - 1 h bei 120 °C im Autoklaven
- Vakuumfiltration der Hydrolyselösung durch Filtertiegel (Porosität: 8 µm)
- Analyse der säurelöslichen und säureunlöslichen Teile



* Ekblad, A.; Näsholm, T.: Plant and Soil 178: 29-35, 1996

Bestimmung der Polysaccharid-Zusammensetzung des Beta-Glucan-Komplexes

- Säureunlösliche Teil - Rückstand
 - Trocknung bei 105 °C
 - Bestimmung der Asche und des Stickstoffgehalts
 - Zusammensetzung ungeklärt
 - Mögliche Bestandteile:
 - Protein
 - Melanin

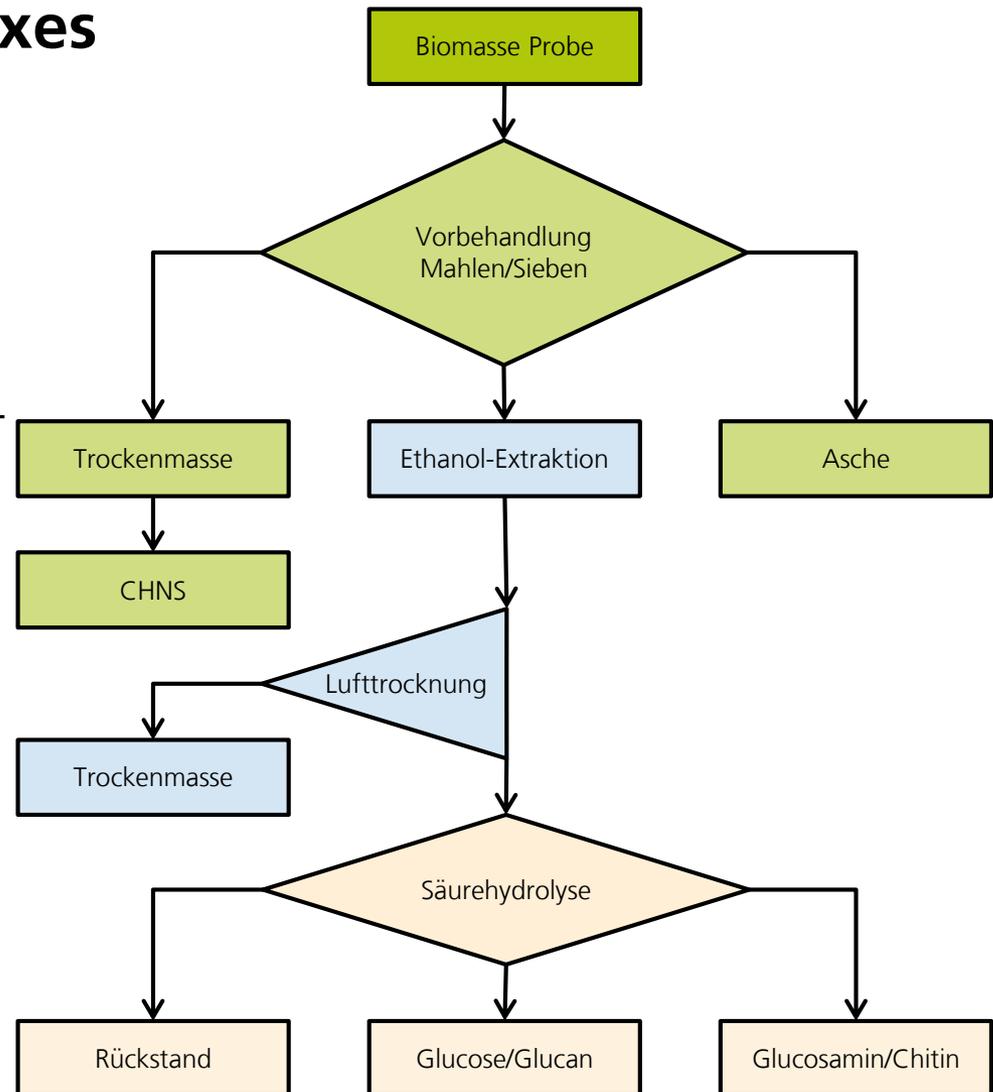


Bestimmung der Polysaccharid-Zusammensetzung des Beta-Glucan-Komplexes

Säurelösliche Anteile

- Bestimmung der Kohlenhydrat Zusammensetzung mittels Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographie mit gepulster amperometrischer Detektion

HPAE-PAD – ICS 5000 (Dionex)



Bestimmung der Polysaccharid-Zusammensetzung des Beta-Glucan-Komplexes

Kohlenhydrat Zusammensetzung
mittels HPAE-PAD – ICS 5000

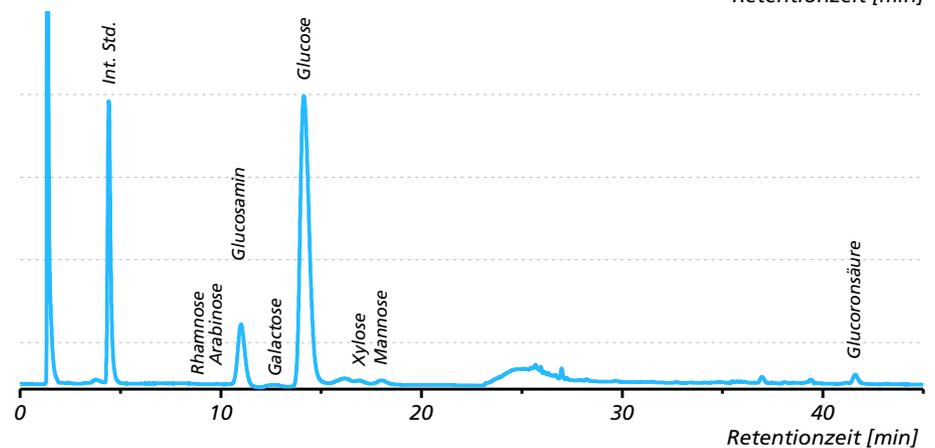
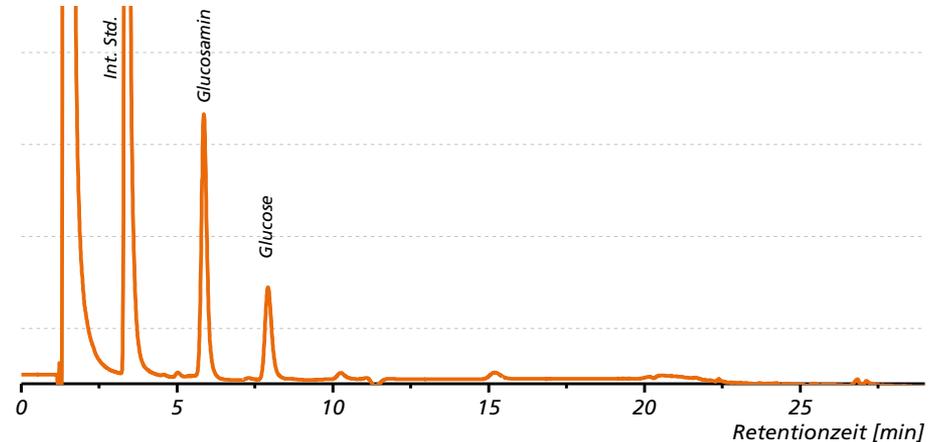
■ HCl Hydrolysat

Glucosamin → Chitin/Chitosan

■ H₂SO₄ Hydrolysat

Glucose → Glucan

Rhamnose, Arabinose, Galactose,
Xylose, Mannose, Uronsäuren u.a.
Monomere der Hemicellulose



Bestimmung der Polysaccharid-Zusammensetzung des Beta-Glucan-Komplexes

	Beta-Glucan-Komplex	Beta-Glucan-Komplex Ausgangsmaterial
	[%]	[%]
Glucan	42	40
Chitin / Chitosan	7,3 / 5,8	5,0 / 3,9
Hemicellulose	2	2
Glucuronsäure	1	1
Hydrolyse-Rückstand	25	21
Asche	6,1	1,8
Extrahierbares	3,4	9,5
Stickstoff	1,1	1,1
Stickstoff im Hydrolyse-Rückstand	2,1	1,7

Angaben beziehen sich auf ofentrockene Ausgangsproben

Schlussfolgerungen

- Durch Totalhydrolyse und chromatographische Bestimmung der entstandenen Glucose und Glucosamin wurde der Gehalt an Glucan und Chitin / Chitosan ermittelt
- Rückschlüsse auf den Bindungszustand sind mit diesen Methoden nicht möglich
- Neben Glucose und Glucosamin wurden weitere Monosaccharid in den Hydrolysaten nachgewiesen, die typische Bestandteile von Hemicellulose sind
- Unter anderem deutet Glucuronsäure darauf hin, dass auch weitere Polysaccharide in den Produkten enthalten sein könnten
- Z. B. könnten Hyaluronsäure bestehend aus D-Glucuronsäure und N-Acetyl-D-glucosamin enthalten sein (bekannt vom chinesischen Zitterpilz)

Kontakt

Fraunhofer Institut für Angewandte Polymerforschung
Geiselbergstrasse 69
14476 Potsdam-Golm
Germany

Dr. Hendrik Wetzel

Tel: +49 331 568 1604

Email: hendrik.wetzel@iap.fraunhofer.de

Internet: www.iap.fraunhofer.de

Danke für Ihre Aufmerksamkeit!