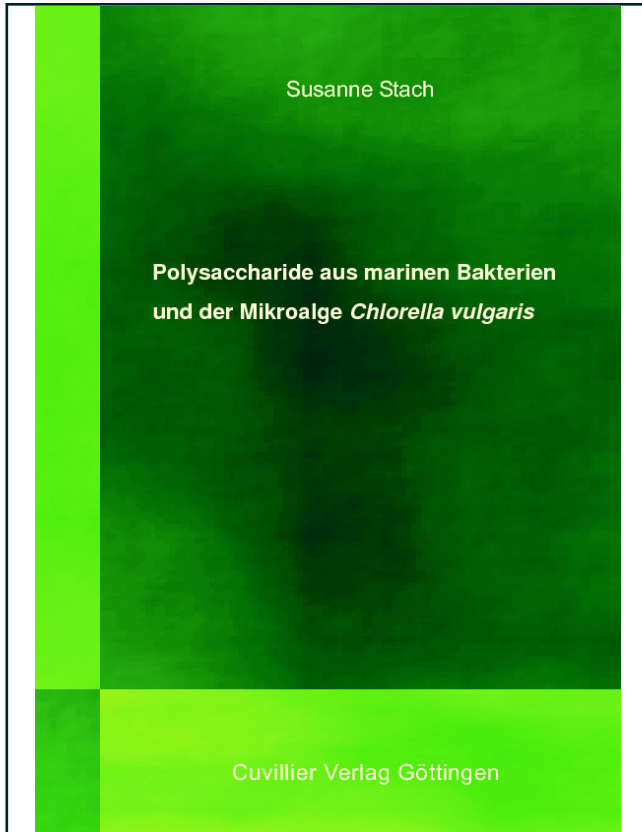




Susanne Stach (Autor)

**Polysaccharide aus marinen Bakterien und der
Mikroalge *Chlorella vulgaris***



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/2578>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

1	Einleitung	1
1.1	Marine oligotrophe Bakterien	1
1.1.1	<i>ANT 4a / ANT 60b</i>	1
1.1.2	Biofilme	4
1.2	Extrazelluläre polymere Substanzen (EPS)	6
1.2.1	Funktion und Verwendung	6
1.2.2	Weitere relevante Substanzklassen	9
1.3	Algen	13
1.3.1	<i>Chlorella vulgaris</i>	17
1.4	Strukturaufklärung von EPS und Zellwandpolysacchariden	23
2	Zielsetzung	25
3	Probenmaterial	26
4	Charakterisierung der EPS von <i>ANT 60b</i> und <i>4a</i>	27
4.1	Isolierung der EPS	27
4.2	Bausteinanalyse der EPS-Dialysate	28
4.2.1	Hydrolyse von Polysacchariden	28
4.2.2	Gaschromatographie der TMS-Oxime	29
4.2.3	HPAEC/PED (High performance anion exchange chromatography / Pulsed electrochemical detection) der Monosaccharide	32
4.2.4	Kapillarelektrophorese nach reduktiver Aminierung der Monosaccharide	38
4.2.5	Gaschromatographie der Alditolacetate	41
4.2.6	Reduktion von Uronsäuren	49
4.2.7	Photometrische Bestimmung von Uronsäuren (Carbazol-Reaktion)	52
4.2.8	Ergebnis der Bausteinanalytik	53
4.3	Bestimmung der Verknüpfungsmusters	54
4.3.1	Standardmethylierungsanalyse	55
4.3.2	Reduktiver Abbau	56
4.3.3	<i>EPS 60b_01</i>	57
4.3.4	<i>EPS 4a_01</i>	59
4.4	ATR/IR-Spektroskopie	62
4.5	Nachweis und Bestimmung von Aminosäuren	65
4.5.1	Dünnschichtchromatographie von Aminosäuren	65
4.5.2	Gaschromatographie der <i>N</i> -TFA- <i>O</i> -Methylester von Aminosäuren	65
4.6	Größenausschlusschromatographie nach enzymatischem Verdau	70
4.7	Untersuchung der SEC-Fractionen	72
4.7.1	<i>EPS 60b_03_SEC</i>	72
4.7.2	<i>EPS 4a_SEC</i>	77
4.8	Ergebnis	81

5	Isolierung von Zellwandpolysacchariden aus <i>Chlorella vulgaris</i>	83
5.1	Extraktion von Zellwandpolysacchariden mit Natronlauge unterschiedlicher Alkalität	83
5.2	Bausteinanalyse der in 0.1, 1.0 und 4.4 M NaOH löslichen Polymere, welche mittels Dialyse und Fällung erhalten wurden	85
5.3	Größenausschlusschromatographie der alkalischen Extrakte	94
5.3.1	SEC der durch Dialyse erhaltenen Extrakte	94
5.3.2	SEC der gefällten Polymere	95
5.4	Untersuchung der SEC-Fractionen der gefällten Polymere	99
5.5	0.1 M NaOH-Extrakt nach Fällung: SEC-Fraktion 2	103
5.5.1	ATR/IR-Spektroskopie	103
5.5.2	Bausteinanalyse	104
5.5.3	Bestimmung des Verknüpfungsmusters	105
5.5.4	ESI-Massenspektrometrie	109
5.5.4.1	Partielle Methanolyse	112
5.5.4.2	ESI-MS ² nach partieller Hydrolyse	118
5.5.4.3	ESI-MS ³ nach partieller Hydrolyse	128
5.5.5	NMR-Spektroskopie (1 D und 2 D)	132
5.6	Laser-Scanning Mikroskopie	148
5.7	Bestimmung der antioxidativen Wirksamkeit (TEAC-Test)	150
6	Zusammenfassung und Ausblick	152
6a	Summary and Outlook	156
7	Material und Methoden	160
7.1	Probenmaterial	160
7.2	Chemikalien und Lösungsmittel	160
7.3	Geräteparameter	160
7.4	Isolierung von Polysacchariden	165
7.4.1	Extrazelluläre polymere Substanzen aus <i>ANT 60b</i> und <i>ANT 4a</i>	165
7.4.2	Zellwandpolysaccharide aus <i>Chlorella vulgaris</i>	165
7.5	Entfernung von proteinogenen Bestandteilen (Enzymatischer Verdau)	166
7.6	Größenausschlusschromatographie	166
7.7	Hydrolyse von Polysacchariden	166
7.8	Bausteinanalyse	167
7.8.1	Gaschromatographie der <i>N,O</i> -TMS-Oxime	167
7.8.2	HPAEC/PED der Monosaccharide	167
7.8.3	Kapillarelektrophorese der reduktiv aminierten Monosaccharide	167
7.8.4	Gaschromatographie der Alditolacetate	167
7.8.5	Reduktion von Uronsäuren	168
7.8.6	Quantitative Bestimmung von Uronsäuren	168
7.9	Bestimmung der Verknüpfungsstellen	169

7.9.1	Methylierung nach modifiziertem Hakomori-Verfahren	169
7.9.2	Methylierung nach Ciucanu und Kerek	169
7.9.3	Methylierung mit Trimethyloxoniumtetrafluoroborat	169
7.9.4	Methylierung nach Prehm	169
7.9.5	Ausbeuten nach Methylierung	170
7.9.6	Standardmethylierungsanalyse	170
7.9.7	Synthese von partiell methylierten Alditolacetaten	170
7.9.8	Reduktiver Abbau	171
7.10	ESI-Massenspektrometrie	171
7.11	Methoden zur Bestimmung von Aminosäuren	171
7.11.1	Dünnschichtchromatographie von Aminosäuren	171
7.11.2	Gaschromatographie der <i>N</i> -TFA- <i>O</i> -Methylester von Aminosäuren	171
7.12	Weitere angewandte Methoden	172
7.12.1	Laser-Scanning Mikroskopie	172
7.12.2	Bestimmung der antioxidativen Wirksamkeit (TEAC-Test)	172
8	Anhang	174
8.1	TMS-Oxime – Massenspektren	174
8.2	HPAEC-Chromatogramme	175
8.3	Elektropherogramme	180
8.4	Alditolacetate (<i>d</i> ₁ -markiert) – Massenspektren	182
8.5	Gaschromatogramme von partiell methylierten Alditolacetaten	185
8.6	ESI-Massenspektren	196
8.7	Bestimmung der antioxidativen Wirksamkeit (TEAC-Test)	206
9	Symbole und Abkürzungen	207
10	Literatur	210