

УДК 582.26—119.2

## К РАЗРАБОТКЕ МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТУДНЕОБРАЗУЮЩЕГО ВЕЩЕСТВА В АГАРОИДЕ

Ю. Г. Воронова, А. И. Усов, Н. И. Рехина

Цель данной работы — поиск метода количественного определения полисахарида студнеобразователя в растворах, основанного на химических свойствах этого вещества.

Студнеобразующие свойства агаров обусловлены главным образом содержащейся в них фракцией нейтрального полисахарида агарозы [11], в то время как в каррагинанах эти свойства связаны в основном с наличием  $\alpha$ -компонента — сульфатированного галактана, построенного из остатков 4-сульфата каррабиозы. Имеющиеся сведения о структуре главного компонента агароида позволяют отнести его к полисахаридам группы каррагинанов. Об этом свидетельствуют способность агароида давать гель в присутствии калийных солей, достаточно высокое содержание в нем сульфатных групп и, главное, тот факт, что входящая в его состав 3,6-ангидрогалактоза относится к D-ряду [4, 5, 7, 10].

Исходя из этого, мы предприняли фракционирование агароида двумя способами: осаждением хлористым калием (метод, специфичный для каррагинанов) и осаждением хлористым цетилпиридинием или цетавлоном (метод, позволяющий отделить сульфатированные полисахариды от нейтральных примесей) и изучили студнеобразующие свойства полученных фракций.

Осаждение производили из 1%-ных растворов агароида, предварительно очищенных диализом от низкомолекулярных веществ. Хлористый калий в виде 20%-ного раствора прибавляли до конечной концентрации (4%), студнеобразующий осадок  $\alpha$ -компонент отделяли центрифугированием, переводили в Na-соль диализом против NaCl, затем диализовали против воды и лиофилизовали. Маточный раствор после отделения студня, содержащий растворимый  $\lambda$ -компонент, также диализовали против воды и лиофилизовали (опыт 1). Цетавлон прибавляли в виде 10%-ного водного раствора при энергичном перемешивании до полного осаждения кислых полисахаридов.

Осадок отделяли, промывали водой и спиртом и переводили в Na-соль встряхиванием с насыщенным спиртовым раствором NaJ, растворяли в воде, диализовали и лиофилизовали. Маточный раствор после отделения осадка цетавлоновых солей, содержащий нейтральные полисахариды, также диализовали и лиофилизовали (опыт 2). Полученные в опытах 1 и 2 фракции агароида характеризовали по содержанию сульфата и по студнеобразующей способности 2,5%-ных растворов полисахарида, содержащих 70% сахара.

Сульфат определяли после кислотного гидролиза турбидиметрическим методом, измеряя оптическую плотность суспензии сульфата бария, стабилизированного желатиновым раствором [8]. Прочность студней определяли на приборе Валента по методике. Выходы фракций и полученные аналитические характеристики приведены в табл. 1.

Таблица 1

Фракционирование раствора агароида хлористым калием (опыт 1) и цетавлоном (опыт 2)

Номер опыта	Фракция агароида	Выход к экстракту, %	Содержание SO <sub>4</sub> -групп, %	Прочность студня, г
1	κ-Компонент	60,0	12,4	1900
	λ-Компонент	12,0	10,2	—
2	Кислая фракция	80,7	12,3	2300
	Нейтральная фракция	8,0	Следы	—

Примечание. Студнеобразующая способность исходного агароида (2,5%-ного раствора) равнялась 1800 г.

Кроме данных, приведенных в табл. 1, был определен моносахаридный состав фракций агароида методом хроматографии на бумаге. Для этого образцы гидролизовали, нагревая с 2 н. соляной кислотой в запаянных ампулах при температуре 100°С в течение 6 ч. Хроматографирование производили нисходящим способом на бумаге FN-11 в течение 20 ч в системе растворителей бутанол — пиридин — вода (6 : 4 : 3). Зоны сахаров обнаруживали, обрабатывая хроматограммы кислым фталатом анилина. Идентификацию моносахаридов проводили с помощью набора свидетелей (галактоза, глюкоза, манноза, ксилоза). Хроматограммы гидролизатов полисахаридных фракций показаны на рис. 1 и 2.

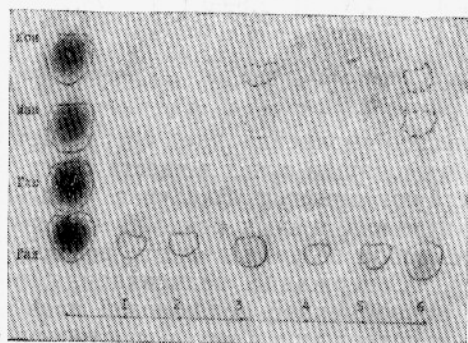


Рис. 1. Хроматограмма агароида, фракционированного хлористым калием:

1—3 — λ-компонент; 4—6 — κ-компонент.

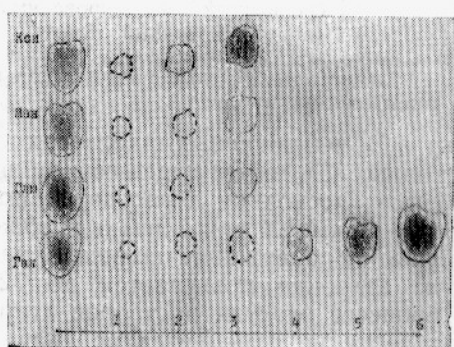


Рис. 2. Хроматограмма агароида, фракционированного цетавлоном:

1—3 — неосажденный компонент; 4—6 — цетавлоновая соль полисахарида.

Из анализа состава моносахаридов следует, что наиболее однородной является фракция кислого полисахарида, осаждаемого цетавлоном. Очевидно эта фракция представляет собой сульфатированный галактан. При осаждении цетавлоном выход этой фракции высокий, и именно с этой фракцией связаны студнеобразующие свойства агароида (см. табл. 1). Следовательно, способность осаждаться цетавлоном, использованная нами для препаративного выделения полисахарида-студнеобра-

зователя, может быть положена в основу прямого метода его количественного определения [3]. Анализ основан на спектрофотометрическом определении избытка цетавлона, не вступившего в реакцию с полисахаридом, и в целом аналогичен методу, предложенному ранее для количественного определения каррагинанов [9].

В качестве иллюстрации применения предложенного метода анализа ниже приведены результаты определения сульфатированного галактана в растворах агароида, очищенных разными способами с использованием ионообменной целлюлозы и активированного угля.

Применение анионо- и катионообменной целлюлозы [6] позволяет удалить из растворов агароида значительное количество примесей и дает возможность получить агароид хорошего качества. С целью очистки использовали целлюлозную массу: анионит в хлор-форме и катионит в калиевой форме. Результаты определений полисахарида в различных растворах агароида приведены в табл. 2.

Таблица 2

Содержание полисахарида в различных растворах агароида

Номер опыта	Раствор агароида	Содержание, %		Полисахарид в сухом веществе агароида, %
		сухие вещества	полисахарид-студнеобразователь	
1	Неочищенный (производственный образец)	3,8	2,6±0,2*	68,4
	Очищенный анионитом	3,2	2,5±0,3	78,1
	Очищенный анионитом и катионитом	3,1	2,5±0,2	80,6
2	Неочищенный раствор (лабораторный образец)	2,2	1,5±0,1	68,2
	Очищенный анионитом	2,1	1,4±0,1	66,7
	Очищенный анионитом и катионитом	1,8	1,3±0,2	72,2
3	Очищенный активированным углем (производственный образец)	3,3	2,6±0,1	78,7

\* Ошибка измерений, рассчитанная по методу, принятому при расчете данных фотометрических измерений [1].

В неочищенных растворах количество полисахарида составляет только 68% по отношению к общему содержанию сухих веществ в агароиде, поскольку в растворах присутствуют примеси. В случае удаления примесей с помощью анионо- и катионообменных реакций относительное содержание полисахарида-студнеобразователя в сухом веществе агароида повышается до 72—80%. Содержание полисахарида в процессе очистки растворов агароида ионообменной целлюлозой практически не изменяется по сравнению с содержанием его в растворах агароида до очистки. Судя по результатам определения (см. табл. 2) обработка растворов агароида ионитами обеспечивает выход студнеобразователя, равнозначный выходу его в случае обработки активированным углем.

### Выводы

1. Сульфатированный галактан, обладающий студнеобразующими свойствами, можно выделить из раствора агароида методом цетавлонового осаждения.

2. Способность полисахарида образовывать нерастворимую цетавлоновую соль положена в основу метода количественного определения его содержания в агароиде, извлекаемом из филофоры.

3. Предложен метод количественного определения содержания полисахарида — основного студнеобразующего вещества в агароиде.

4. Обработка активированным углем и ионитами значительно повышает относительное содержание студнеобразователя в готовом продукте (до 80%).

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Асатиани В. С. Статистическая обработка результатов экспериментальных данных.—В кн.: Новые методы биохимической фотометрии. М., 1965, с. 495—509.

2. Атаев М. М., Баранов В. С. О гетерогенности агароида. М., ЦИНТИпищепром, 1968, вып. I, с. 14.

3. Воронова Ю. Г., Рехина Н. И., Усов А. И. О методе количественного определения содержания студнеобразующего вещества в агароиде.—«Экспресс-информация», 1973, вып. 8, с. 6—10.

4. Козарез Е. И., Дудкин М. С. Галактан черноморской водоросли *Phyllophora nervosa*.—«Химия древесины», 1971, № 8, с. 59—64.

5. О молекулярной и химической неоднородности агароида.—«Известия вузов СССР. Пищевая технология», 1975, № 4, с. 159—161. Авт.: С. Н. Ставров, М. Н. Тутупару, В. В. Волкова, Т. Т. Лесник.

6. Рехина Н. И., Воронова Ю. Г. Очистка растворов агароида с помощью привитой ионообменной целлюлозы.—«Рыбное хозяйство», 1971, № 11, с. 68.

7. Bayley, S. T. X-ray and infrared studies on carrageenan. *Biochem. Biophys. Acta*, 17, 1955, N 2, 194 p.

8. Dodgson, K. S., R. S. Price. A note on the determination of the ester sulfate content of sulphated polysaccharides. *Biochem.*, 1962, v. 84. 106 p.

9. Graham, H., L. Thomas. II Precipitation with long chain quaternary ammonium detergents. *J. Food Sci.* 27, 1962, 98 p.

10. Painter, T., E. Young, McLachlan. The location of the sulphate half-ester groups in furcellaran and X-carrageenan. *Proceedings of 5th Inter. Seaweed Symp.* 1965, 305 p.

11. Rees, A. Structure, conformation and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks. *Advances in Carbohydr. Chem. Biochem.* 24, 1969, p. 167—315.

**To elaboration of the method of quantitative determination of the content of gelforming substances in agaroid**

*Yu. G. Voronova, A. I. Usov, N. I. Rekhina*

#### SUMMARY

The investigation is made to find possibilities of a complete fractional isolation of galactan from agaroid solutions made of *Phyllophora nervosa*. It is shown that polysaccharides may be isolated from the agaroid solution using the salt precipitation method. It is confirmed that the gel-forming features of agaroid are dependent upon its content. The analytical method of polysaccharide determination is based on the capability of sulphated galactan to be precipitated with cetylpyridine chloride.

---