

А. КОЛЛИСТ, Я. ПАРИС, Т. ПЮССА

ВЫДЕЛЕНИЕ, ХАРАКТЕРИСТИКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ АГАРОНОСНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

2. Изменение свойств агаров в ходе очистки и концентрирования экстракта *

Представлена О. Эйзенем

Изучен ход концентрирования и очистки экстракта из 7 агароносных водорослей морей СССР. Для характеристики продуктов определялись: содержание воды, зольность, прочность и температура плавления 1%-ного студня, температура застудневания 1%-ного раствора, содержание серы и электроэндоосмотическая подвижность полиэтиленгликоля в 1%-ном студне.

Показано, что высококачественный агар можно получить из водорослей *Gracilaria verrucosa* и *Ahnfeltia tobuchiensis*. Агары из *Phyllophora nervosa* и *Furcellaria fastigiata* характеризуются более низкими значениями прочности студня и относительно высокими зольности и содержания серы, причем эти показатели в ходе очистки вываренного экстракта практически не улучшаются.

Ранее нами [1] были обсуждены количественные результаты фракционного экстрагирования желирующих веществ из 7 агароносных водорослей морей СССР. Выяснилось, что по выходу этих веществ водоросли можно разделить на две группы. Было также показано, что в ходе концентрирования и очистки любой фракции общее содержание сухих веществ значительно уменьшается.

Желирующие полисахариды, получаемые из красных водорослей, можно разделить на несколько групп [2].

1) Агар-агары (agar-agar), или агары (agar), — полигалактаны со сравнительно низким содержанием ионогенных группировок, получаемые из красных водорослей *Gelidium*, *Pterocladia*, *Gracilaria* и др. Агары, полученные из этих водорослей, можно химическими или физическими методами разделить на две основные фракции — агарозу и агаропектин [3]. Агароза является относительно электронеутральным полигалактаном с высокой желирующей способностью. Агаропектин, наоборот, имеет малую желирующую способность, и в нем высоко содержание заряженных группировок [3]. В СССР изготавливают агары из водорослей *Ahnfeltia plicata* и *Ahnfeltia tobuchiensis*.

2) Агароиды (agaroid) — смесь полигалактановых молекул с высокой заряденностью и повышенным содержанием серы. В СССР агароид изготавливают из *Phyllophora nervosa*, и он называется филлофораном.

* Агарами мы называем все полученные по ранее разработанной методике [1] желирующие вещества независимо от исходной водоросли.

- 3) Эухеман (*eucheuman*) — полигалактан, изготавливаемый из водорослей *Eucheuma*. По свойствам близок агариду.
- 4) Фунорин (*funorin*), или фуноран (*funoran*), — полисахарид из водорослей *Gloiopeltis*. Из фунорина выделен полисахарид типа агарозы, но общее содержание серы в фунорине значительно выше, чем в агарах.
- 5) Каррагинан (*carrageenin* = *carragheenin* = *carragheenan*) — высокозаряженный полисахарид из багрянок *Gigartina*, *Gloiopeltis*, *Gymnogongrus*, *Iridea*.
- 6) Фурцелларан (*furcellaran*) — желирующий полисахарид из водоросли *Furcellaria*. По своим свойствам близок каррагинанам. В СССР изготавливают фурцелларан на базе балтийской фурцеллярии (*Furcellaria fastigiata*).
- 7) Гипнеан (*hypnean*). Исходная водоросль *Hypnea*.
- 8) Иридопсцин (*iridophycin* = *iridophycan*) — из водоросли *Iridophycus*; является также желирующим полисахаридом, близким каррагинанам.

В литературе называется свыше ста видов красных водорослей, из которых выделен желирующий полигалактан.

Нами изучены концентрирование и очистка желирующих веществ, выделенных из багрянок морей СССР (их перечень и принятые сокращения их названий даны в [1]).

Экспериментальная часть

Методика экстрагирования и дальнейшей обработки желирующих веществ приведена в [1]. Растворы, отобранные после каждого этапа обработки [1], для получения проб сушились при комнатной температуре. С целью изучения процессов очистки и концентрирования желирующих веществ определялись следующие показатели** проб после каждого из четырех этапов очистки.

1. Содержание воды (%) определено высушиванием пробы до постоянного веса при 70—80 °C в сушильном шкафу.
2. Общее содержание золы (%) установлено озолением пробы при 800°.
3. Прочность 1%-ного студня*** определена на приборе Валенти (ТУ 6-09-4157-75. Агароза). При этом время выдержки студня при комнатной температуре — не менее 12 ч [4], а скорость увеличения нагрузки на слой студня ≈ 200—250 г/мин.
4. Температура плавления 1%-ного студня*** (°C) определена по общеизвестной методике [5]. Вместо капилляра к концевой части термометра был прикреплен кусок студня.
5. Температура застудневания 1%-ного раствора*** (°C) определялась визуально и касанием остывшего раствора стеклянной палочкой.

Для некоторых образцов дополнительно определены следующие показатели:

6. Содержание серы (%) по весовому методу [6] в навеске пробы ≈ 1 г.
7. Склонность к электроэндоосмосу 1%-ного студня [7] характеризовалась сдвигом полосы 3%-ного раствора полиэтиленгликоля (ПЭГ) в студне соответ-

** Все расчеты сделаны на абсолютно сухое вещество в образце.

*** Поскольку 1%-ные растворы желирующих веществ, полученных из водорослей *P. n.*, не желируются (образуется вязкая студнеобразная масса), для определения этих показателей использовались 2,5%-ные студни и растворы.

ствующего желирующего вещества. Использовались ПЭГ фирмы Flucka A. G. (Швейцария) с молекулярной массой 20 000 и прибор электрофореза ОЕ 201 фирмы Labor Min (Венгрия). Толщина пластинки геля 3 мм, расстояние между электродными мостиками из фильтровальной бумаги FN-8 70 мм, напряжение 250 ± 10 В, время электрофореза 5 ч.

Результаты и их обсуждение

Весь процесс очистки (табл. 1 и 2) условно разделен на три этапа, сущность которых разъяснена в [1].

1. Ход изменения средних величин прочности студня приведен на рисунке. В большинстве случаев прочность в ходе очистки агара повышается, причем характер и диапазон повышения зависят в первую очередь от типа водоросли, а также, но в меньшей мере, от номера фракции. Например, для *A. t.* I прочность студня повышается относительно равномерно — среднее повышение на 1-, 2- и 3-м этапах очистки (без учета номера фракции) составляет соответственно 38, 39 и 23% от общего повышения в ходе всей очистки. В случае *A. t.* II самым важным является 1-й этап очистки (соответственно 62, 21 и 17%). При очистке экстракта *G. v.* основное повышение прочности достигается в 1- и 3-м этапах — 41, 13 и 38% соответственно. Но имеются и исключения. Например: 1) фракции II и III для *F. f.* I, когда последний этап очистки уменьшает прочность, или 2) фракции I и II для *A. p.*, когда прочность постоянна. Аналогичная картина наблюдается для водоросли *P. n.*: при очистке двух первых фракций величина прочности существенно не меняется.

При оценке эффективности каждого этапа очистки в общем повышении величины прочности в случае остальных водорослей, кроме *A. t.* I, *A. t.* II и *G. v.*, возникают некоторые затруднения. Главным образом они обусловлены вышеупомянутым достижением величинами прочности максимума или их неизменностью. Для водоросли *P. n.*, по данным III и IV фракций (табл. 1), величины прочности 48, 4 и 48% соответственно. Малое ее повышение во 2-м этапе очистки трудно объяснить, поскольку потеря сухих веществ в ходе 2-го этапа почти равна величине потери сухих веществ в ходе 3-го этапа [1].

По нашему мнению, все этапы очистки важны для получения очищенного агара, обладающего высокой прочностью студня.

2. Величины температуры плавления 1%-ного студня (2,5%-ного для водоросли *P. n.*) в ходе очистки тоже значительно изменяются. В случае *P. n.*, *A. p.* и *G. v.* эти величины постепенно и равномерно увеличиваются, в случае *A. t.* и *F. f.* температура плавления очень часто проходит через максимум, соответствующий пробе 3. (В табл. 1 и 2 для слабых гелей с прочностью менее 100 величины температуры плавления и застудневания не приведены, поскольку их определение для таких слабых студней затруднено.) Средние величины температуры плавления (независимо от номера фракции и пробы) для изученных водорослей возрастают в ряду: $P. n. = F. f. < A. p. < G. v. < A. t. I = A. t. II$ (табл. 1). В случае *P. n.* величины температуры плавления в ходе очистки изменяются мало.

3. Величина температуры застудневания 1%-ного раствора (2,5%-ного для *P. n.*) мало изменяется в ходе очистки агара, получаемого из всех изученных водорослей, и ее средняя величина растет в ряду: $P. n. < A. p. < F. f. < A. t. I = A. t. II < G. v.$

Таблица 1

Показатели, характеризующие ход очистки вываренных
желирующих веществ

Фракция — проба (число опытов)	Прочность 1%-ного студня, г	Температура плавления, °С *	Температура застуднева- ния, °С *	Зольность, %
1	2	3	4	5
<i>Ahnfeltia tobuchiensis</i> I				
I — 1 (4)	не желир.	—	—	25,4
I — 2 (1)	113	—	—	11,8
I — 4 (4)	229	74	34	3,4
II — 1 (4)	72	—	—	15,9
II — 2 (1)	408	75	35,5	8,1
II — 3 (1)	430	79	35,5	7,1
II — 4 (4)	628	81,5	36	2,0
III — 1 (4)	148	70,5	32	13,8
III — 2 (1)	265	76	35	7,3
III — 3 (2)	790	87	36	2,1
III — 4 (4)	906	83	36,5	1,4
IV — 1 (4)	197	71	32	13,8
IV — 2 (1)	277	90	32	5,8
IV — 3 (1)	824	86	34,5	2,2
IV — 4 (4)	1044	85	37	1,1
V — 1 (4)	72	—	—	17,7
V — 2 (1)	412	84	34	11,0
V — 3 (1)	512	89	34	6,8
V — 4 (4)	574	77,5	35	1,5
VI — 1 (1)	72	—	—	22,5
VI — 2 (1)	182	83	32,5	11,9
VI — 4 (4)	266	73	33	3,1
<i>Ahnfeltia tobuchiensis</i> II				
I — 1 (5)	не желир.	—	—	19,8
I — 2 (3)	142	78,5	32	6,8
I — 4 (5)	217	76	33	1,8
II — 1 (5)	72	—	—	14,8
II — 2 (3)	415	81,5	34	5,4
II — 3 (3)	437	83,5	35	4,2
II — 4 (5)	503	82	35	2,7
III — 1 (5)	72	—	—	15,3
III — 2 (3)	451	84,5	34	6,1
III — 3 (3)	512	85,5	34,5	3,9
III — 4 (5)	726	82,5	35	2,1
IV — 1 (5)	85	—	—	13,8
IV — 2 (3)	384	77,5	34	5,5
IV — 3 (3)	629	82,5	35	2,9
IV — 4 (5)	637	81	35	2,0

1	2	3	4	5
V — 1 (5)	72	—	—	17,6
V — 2 (3)	419	78,5	34	5,1
V — 3 (3)	558	79	34	3,7
V — 4 (5)	658	82,5	35	1,5
VI — 1 (5)	72	—	—	19,9
VI — 2 (3)	376	76	35	11,2
VI — 4 (5)	504	79	34,5	1,4
<i>Gracilaria verrucosa</i>				
I — 1 (3)	72	—	—	20,2
I — 2 (2)	107	—	—	11,1
I — 3 (1)	128	58	39	10,6
I — 4 (3)	164	67	38	4,2
II — 1 (1)	72	—	—	16,9
II — 2 (1)	110	—	—	8,9
II — 3 (1)	127	58	39	5,6
II — 4 (2)	244	70	37	4,3
III — 1 (3)	145	60	33	17,8
III — 3 (1)	594	71	38	3,6
III — 4 (3)	665	83	39	2,6
IV — 1 (3)	254	75	36	16,8
IV — 2 (2)	687	82	37	7,6
IV — 3 (1)	732	82	38,5	5,5
IV — 4 (3)	1102	89	37	1,0
V — 1 (3)	134	75	33	18,8
V — 2 (2)	529	71	37	11,3
V — 4 (3)	1044	85	37	1,7
<i>Ahnfeltia plicata</i>				
I — 1 (1)	72	—	—	10,1
I — 2 (1)	72	—	—	6,8
I — 3 (1)	112	55	31	4,5
I — 4 (2)	102	64	32	3,8
II — 1 (1)	72	—	—	15,4
II — 2 (1)	184	55	33	7,7
II — 3 (1)	179	55	32,5	7,3
II — 4 (2)	171	69	33	3,9
III — 1 (1)	72	—	—	14,7
III — 3 (1)	140	66	31,5	6,4
III — 4 (2)	239	73	33,5	5,3
IV — 1 (1)	не желир.	—	—	21,3
IV — 2 (1)	126	55	33	13,7
IV — 4 (2)	165	74	33,5	7,3
V — 1 (1)	не желир.	—	—	21,3
V — 2 (1)	231	62	33,5	23,5
V — 4 (1)	532	75	34	2,1

1	2	3	4	5
<i>Furcellaria fastigiata</i> I				
I — 1 (3)	96,7	52	28	21,0
I — 2 (3)	150	56	28	15,2
I — 3 (2)	266	60	32,5	18,6
I — 4 (4)	314	53	33,5	17,9
II — 1 (3)	72	—	—	22,1
II — 2 (2)	129	63	36	22,2
II — 3 (3)	430	64	35,5	22,1
II — 4 (4)	362	58	34	20,4
III — 1 (2)	72	—	—	22,2
III — 2 (2)	73	—	—	19,9
III — 3 (2)	309	63	44	17,0
III — 4 (4)	235	60	35	19,6
IV — 1 (3)	72	—	—	24,4
IV — 2 (1)	72	—	—	25,7
IV — 3 (2)	110	—	—	12,6
IV — 4 (4)	153	—	—	17,8
<i>Furcellaria fastigiata</i> II				
I — 4 (1)	—	64,5	34	—
II — 4 (1)	282	55	33,5	22,4
III — 4 (1)	113	—	—	22,9
IV — 4 (1)	143	—	—	28,4
<i>Phyllophora nervosa</i> **				
I — 1 (1)	372	55,5	28	23,4
I — 2 (1)	952	58,5	24	19,6
I — 3 (1)	1082	60,5	22,5	—
I — 4 (1)	957	62	23	17,3
II — 2 (1)	1182	61,5	23	23,0
II — 3 (1)	1192	60,5	23	15,2
II — 4 (1)	1122	62	23,5	15,3
III — 1 (1)	832	58,5	23	21,5
III — 2 (1)	1192	59,5	23,5	22,2
III — 3 (1)	1252	61,0	24	23,6
III — 4 (1)	1732	62,5	24,5	18,5
IV — 1 (1)	387	56,5	23,5	—
IV — 2 (1)	1192	59,5	24,5	—
IV — 3 (1)	1222	62,5	25	—
IV — 4 (1)	1842	63,5	25	17,2
V — 2 (1)	392	55	22,5	—
V — 4 (1)	1192	60	24	18,4

* Если прочность студня очень низка, точное измерение величин температур плавления и застудневания затруднено и их не определяли.

** Поскольку в случае *P. n.* 1%-ные растворы не дают студня, соответствующие величины прочности студня, температуры плавления студня и температуры застудневания раствора получены для 2,5%-ных студней или растворов.

Таблица 2

Изменение показателей качества агаров в ходе очистки
(данные одного опыта)

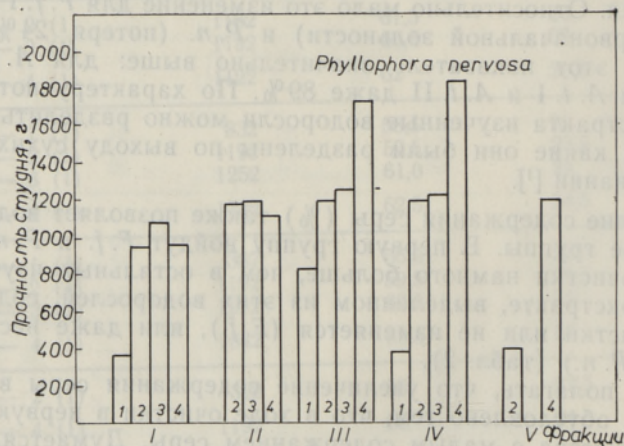
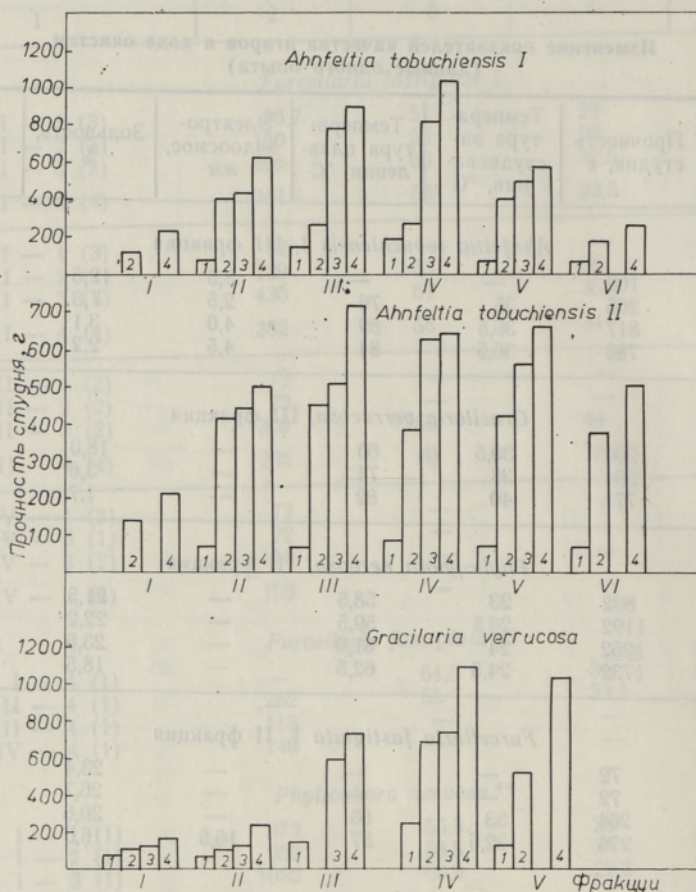
Номер пробы	Прочность студня, г	Температура застудневания, °C	Температура плавления, °C	Электроэндоосмос, мм	Зольность, %	Содержание серы, %
<i>Ahnfeltia tobuchiensis</i> I, III фракция						
1	109	—	—	3,5	12,5	0,72
2	265	35	76	2,5	7,3	0,33
3	817	36,5	89	4,0	3,1	0,36
4	786	36,5	84	4,5	2,2	0,27
<i>Gracilaria verrucosa</i> , III фракция						
1	200	30,5	60	—	18,0	1,57
3	594	38	71	—	3,6	0,40
4	771	40	82	—	1,7	0,33
<i>Phyllophora nervosa</i> , III фракция						
1	832	23	58,5	—	21,5	4,18
2	1192	23,5	59,5	—	22,2	5,44
3	1252	24	61,0	—	23,6	6,10
4	1732	24,5	62,5	—	18,5	6,14
<i>Furcellaria fastigiata</i> I, II фракция						
1	72	—	—	—	23,4	5,35
2	72	—	—	—	26,7	5,45
3	264	33	63	—	20,6	5,32
4	276	32,5	57	16,5	16,0	5,30

4. Зольность образцов практически во всех случаях в ходе очистки уменьшается. Относительно мало это изменение для *F. f.* I (потеря лишь 15% от первоначальной зольности) и *P. n.* (потеря 24%). У других водорослей этот показатель значительно выше: для *A. p.* 71%, *G. v.* 85%, а для *A. t.* I и *A. t.* II даже 89%. По характеру потери зольности при очистке экстракта изученные водоросли можно разделить на те же две группы, на какие они были разделены по выходу сухих веществ при экстрагировании [1].

5. Изменение содержания серы (%) также позволяет водоросли разделить на две группы. В первую группу войдут *F. f.* и *P. n.* В них серы в начале очистки намного больше, чем в остальных изученных агарифитах. В экстракте, выделенном из этих водорослей, содержание серы в ходе очистки или не изменяется (*F. f.*), или даже несколько увеличивается (*P. n.*) (табл. 2).

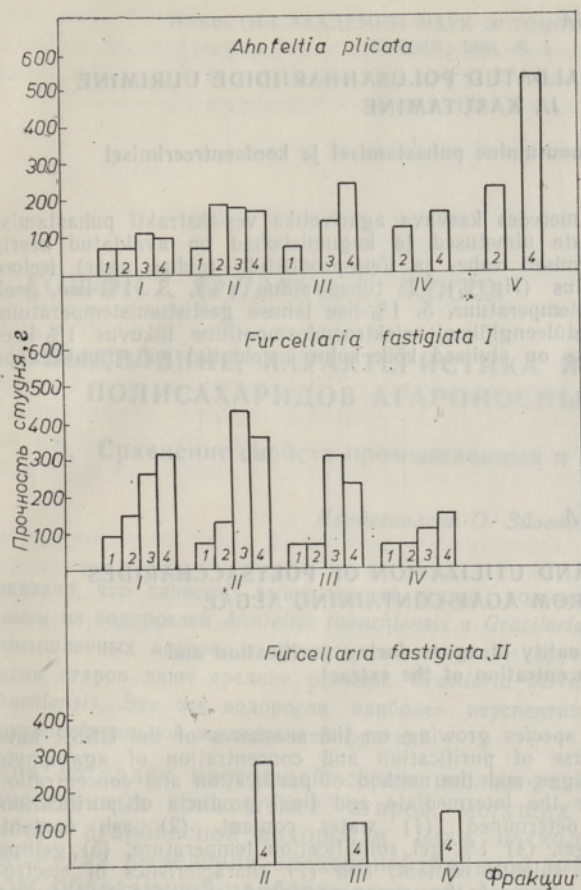
Можно полагать, что увеличение содержания серы в случае водоросли *P. n.* обусловлено тем, что в ходе очистки в первую очередь удаляются вещества с малым содержанием серы. Думается, что в случае *F. f.* происходит такой же процесс, но с тем различием, что несколько больше удаляется фракций с высоким содержанием серы.

В случае водорослей второй группы (*A. t.* I, *A. t.* II, *G. v.*) содержание серы уже в самом начале, сразу после экстрагирования (проба 1 [1]), значительно ниже, чем для водорослей первой группы. Когда используются *A. t.* I, *A. t.* II и *G. v.*, содержание серы в ходе очистки сильно



уменьшается. Здесь обращает на себя внимание то, что уменьшение содержания серы связано в основном с 1-м этапом очистки (табл. 2).

6. Электроэндоосмотический сдвиг полосы ПЭГ на агаровом геле в первом приближении линейно зависит от общей концентрации заряженных группировок в этом геле; его можно принять за меру электронейтральности данного агара. В табл. 2 представлены величины электро-



Ход изменения средних величин прочности студня желирующих веществ. (1—4 — номера проб.)

эндоосмотического сдвига только для водоросли *A. t. I*. Их зависимость от номера пробы характеризуется кривой, минимум которой соответствует пробе 2.

Несмотря на то, что мы располагали немногочисленными данными, можно выдвинуть гипотезу: в ходе 1-го этапа очистки (которому соответствует значительное уменьшение содержания серы) удаляется основная часть отрицательно заряженного агарового компонента. В то же время в составе коагеля остаются малозаряженные неагаровые компоненты. Во 2-м этапе очистки вымываются и неагаровые малозаряженные молекулы. В связи с этим средняя кон-

центрация заряда повышается. По-видимому, этот же процесс продолжается и во время 3-го этапа.

Авторы выражают благодарность М. Вахер, М. Лукк и С. Мяэсалу за оказанную техническую помощь.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коллист А., Парис Я., Пюсса Т. Выделение, характеристика и использование полисахаридов агароносных водорослей. 1. Выделение желирующих агаровых и агароподобных веществ из некоторых агароносных водорослей. — Изв. АН ЭССР. Химия, 1980, т. 29, № 2, с. 123—132.
2. Teuscher, E. Die Polysaccharide der Meeresalgen. — Biol. Rdsch., 1966, Bd. 5, H. 1, S. 1—18.
3. Araki, C. Seaweed polysaccharides. — Proc. IV Intern. Congr. Biochem., 1959, v. 1, p. 15—30.
4. Коллист А. П., Вахер М. Э., Парис Я. П. Влияние концентрации и времени выдержки растворов на прочность студней разных агаров и агароз. — В кн.: Тезисы докладов 3-й Республиканской конференции молодых ученых-химиков. Таллин, 1979, с. 58.
5. Organikum. Organisch-chemisches Grundpraktikum. Berlin, 1973, S. 86—89.
6. Грошев А. П. Технический анализ. М., 1958, с. 52—53.
7. Russel, B., Mead, T. H., Polson, A. A method of preparing agarose. — Biochim. Biophys. Acta, 1964, v. 86, p. 169—174.

Институт химии
Академии наук Эстонской ССР
Тартуский государственный университет

Поступила в редакцию
24/X 1979

A. KOLLIST, J. PARIS, T. PUSSA

AGARIVETIKATEST ERALDATUD POLÜSAHHARIIDIDE UURIMINE JA KASUTAMINE

2. Agarite kvaliteedi muutumine puhastamisel ja kontsentreerimisel

On esitatud seitsme NSV Liidu meredes kasvava agarivetika vesiekstrakti puhastamise ja kontsentreerimise käik (vetikate nimetused ja kogumiskohad on avaldatud seeria esimeses artiklis [1]) ning järgmised vahe- ja lõpp-produktide (puhas agar) iseloomustavad suurused: 1. veesisaldus ($H_2O\%$), 2. tuhasisaldus (%), 3. 1%-lise geeli tugevus, 4. 1%-lise geeli sulamistemperatuur, 5. 1%-lise lahuse geelistumistemperatuur, 6. väävlisisaldus (S%), 7. polüetüleenglükooli elektroendosmootiline liikuvus 1%-lises geelis. Kvaliteetse agari saamiseks on olulised kõik kolm kirjeldatud puhastamisetappi.

A. KOLLIST, J. PARIS, T. PUSSA

CHARACTERIZATION AND UTILIZATION OF POLYSACCHARIDES ISOLATED FROM AGAR-CONTAINING ALGAE

2. Alteration of quality of agars during purification and concentration of the extract

Seven agar-containing red algae species growing on the seashores of the USSR have been studied to follow the course of purification and concentration of agarophyte extract in detail. The names of algae and the method of purification and concentration have been published already. For the intermediate and final products of purification, following characteristics were determined: (1) water content, (2) ash content, (3) mechanical strength of 1% gel, (4) 1% gel solidification temperature, (5) gelling temperature of 1% solution, (6) sulphur content, and (7) characteristics of electroendosmosis. The course of alteration of the above-mentioned characteristics during the purification has been discussed. All the three main stages of purification applied proved to be important for obtaining high-quality agars.