

ОРДЕНА ЛЕНИНА И ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ АКАДЕМИЯ НАУК УССР

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ АН УССР

A

8237

На правах рукописи

ЧЕРНО Наталия Кирилловна

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА, СТРОЕНИЯ
И СВОЙСТВ ПОЛИСАХАРИДОВ ХАРОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ

Chara aculeolata Kütz

Специальность 02.00.10 - биоорганическая
химия, химия природных соединений и физио-
логически активных веществ

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Одесса - 1979

Работа выполнена в Одесском технологическом институте пищевой промышленности им. М.В. Ломоносова.

Научный руководитель — доктор химических наук,
профессор М.С. ДУДКИН

Официальные оппоненты — академик АН МССР, доктор
химических наук, профессор
Г.В. ЛАЗУРЬЕВСКИЙ

доктор биологических наук
А.П. ЛЕВИЦКИЙ

Ведущее учреждение — Тихоокеанский институт биоорганической
химии ДВНЦ АН СССР

Защита диссертации состоится "18" июня 1979 г.
в 10 часов на заседании специализированного Совета, шифр
К.016.58.01, по органической, биоорганической химии, химии при-
родных соединений и физиологически активных веществ при Физико-
химическом институте АН УССР по адресу: 270080, г. Одесса-80,
Черноморская дорога, 86, Физико-химический институт АН УССР
(зал заседаний).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке инсти-
тута.

Автореферат разослан "15" мая 1979 г.

Ученый секретарь
специализированного Совета,
кандидат химических наук Т. Давы ДАВИДЕНКО Т.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы и задачи исследований. Одной из важней-
ших задач в области науки, выдвинутых XXV съездом КПСС, является
расширение комплексных исследований Мирового океана. Его раститель-
ный и животный мир являются признанным сырьевым источником для про-
мышленности и сельского хозяйства. Водоросли, например, богаты уг-
леводами, азотистыми веществами, содержат различные микроэлементы,
ферменты, пигменты и могут быть использованы для производства ряда
ценных технических продуктов.

Для определения научно-обоснованных путей использования водо-
рослей необходима исчерпывающая информация о их химическом составе,
строении и свойствах основных биополимеров.

Изучение химии водорослей важно и в теоретическом отношении.
Оно представляет интерес для многих отраслей науки и, в частности,
для биоорганической химии, поскольку химия углеводов водорослей,
составляющих основную массу их таллома, является одним из ее слож-
нейших и малоизученных разделов. Эти исследования имеют значение
для понимания процесса эволюции, оценки влияния экологических усло-
вий на природу клеточных стенок и структуру клеточных веществ. Их
результаты вносят вклад в создание систематики низших растений, хе-
мотаксономии и т.д. В этом направлении ведутся работы советскими и
зарубежными учеными (Усов, Оводов, Персиваль и др.).

Наиболее изучены красные и бурые водоросли. Сведения о биохимии
водорослей других отделов скудны, а в ряде случаев практически
отсутствуют. Перспективны исследования водорослей, не используемых
промышленностью, но потенциально пригодных для этих целей — зеленых,
харовых. Последние весьма характерны для северо-западной части Чер-
ного моря (запасы более 1,5 млн. тонн). В народном хозяйстве они
применения не находят, что обусловлено отсутствием их характеристики



и обоснованных рекомендаций по использованию.

В связи с этим, настоящую работу мы посвятили химическому исследованию макрофитов ассоциации *Chara aculeolata* Kütz, преобладающей в фитопленках харовых водорослей Черного моря, и работе на основании полученных данных рекомендаций по ее использованию. В ходе исследований определялась необходимость расширенной характеристики азотистых веществ, строения и свойств отдельных полисахаридов, ферментативной атакующести сырья.

Основная научная новизна и практическая ценность работы.

Впервые изучен химический состав нового сырья - харовой водоросли *Ch. aculeolata*. Дана характеристика углеводного комплекса водоросли и установлена природа его отдельных компонентов. Показана специфичность в наборе полисахаридов; синтезируемых *Ch. aculeolata*. Установлено строение и определены свойства резервного и структурного гликанов, гликаногалактуронана, показаны их особенности. Впервые в харовых водорослях обнаружен кислый сульфатированный гетерополисахарид и дана его характеристика. Изучена ферментативная атакующесть таллома водоросли. Показана возможность получения из нее кормовых брикетов с высокими физико-механическими показателями.

Результаты исследования химии водоросли позволили сделать вывод о ее кормовых достоинствах и рекомендовать возможные пути использования этого сырья в кормопроизводстве.

Апробация диссертационной работы. Основные положения диссертационной работы докладывались на V и VI Всесоюзных конференциях по химии и биохимии углеводов (Тбилиси, 1972 г.; Ростов-на-Дону, 1977 г.), на II Всесоюзной конференции по использованию полисахаридов и лигнина (Рига, 1973 г.), на Всесоюзном совещании по "Морской альгологии - макрофитобентосу" (Москва, 1974 г.), в Южном научном центре АН УССР на городских конференциях (Одесса, 1975 г., 1977 г.),

на заседаниях Одесских отделений Всесоюзного Биохимического (1976 г.) и Всесоюзного Ботанического общества (1976 г.), на научно-практической конференции "Опыт и проблемы комплексного использования ресурсов моря в сельском хозяйстве" (Одесса, 1976 г.) и на научных конференциях Одесского технологического института пищевой промышленности в 1971, 1975, 1976, 1977 годах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части (4 главы), выводов и перечня литературных источников. Приведенные в ней данные опубликованы в научных работах, список которых дан в конце автореферата. Диссертация содержит 154 страницы машинописного текста, 27 рисунков и 38 таблиц. Библиография включает 267 наименований, в том числе 135 иностранных.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования служила харовая водоросль *Chara aculeolata* Kütz произрастающая в Ягорлыцком заливе Черного моря. Сбор сырья проводили в осенний период 1969, 1971 и 1972 гг. Водоросли очищали от посторонних примесей и фиксировали. Для анализов использовали измельченный материал.

В процессе изучения химического состава водоросли в ней определяли стандартными методами содержание легко- и трудногидролизуемых полисахаридов, золы и общего азота, форм и фракций азотистых веществ, микро- и макроэлементов, витаминов. Протеолиз таллома водоросли вели последовательным воздействием на нее пепсина и трипсина.

Гомогенность полисахаридных препаратов устанавливали с помощью электрофореза, гель-хроматографии на сефадексах, фракционирования на ДЭАЭ-целлюлозе.

Мономерный состав полисахаридов определяли, гидролизуя их минеральными кислотами и далее хроматографируя продукты гидролиза на

бумаге в сопоставлении с заведомыми образцами в различных системах растворителей.

Строение полисахаридов изучали, применяя параллельно методы периодатного окисления и распада по Смитту, метилирования, кислотного и ферментативного гидролиза, фрагментации макромолекул, УФ- и ИК-спектроскопии.

Метилированные продукты подвергали гидролизу и метанолизу. Метилгликозиды идентифицировали с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) и газофазной хроматографии (ГХ). Полидисперсность целлюлозы определяли фракционным осаждением ее из растворов в железовиннонатриевом и кадмийэтилендиаминовом комплексах.

Молекулярную неоднородность целлюлозы оценивали, применяя методы рентгеноструктурного анализа и алкоголиза.

Ферментативную атакуемость сырья определяли лабораторным методом *in vitro*, последовательно воздействуя на него целлюлазой и протеолитическими ферментами пепсином и трипсином.

УФ-спектры снимали на приборе СФ-4А, ИК-спектры получали на приборе ИКС-14 в таблетках КВ, рентгеноструктурный анализ проводили в Институте химии древесины АН Латвийской ССР на рентгеновской установке УРС-50 ИМ.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ, ИХ ОБОБЩЕНИЕ

И О Б С У Ж Д Е Н И Е

I. Химический состав

Общий химический состав. Харовая водоросль включает спирто- и эфирорастворимые вещества, минеральные элементы и азотистые соединения, углеводы (табл. I). Особенностью является способность аккумулировать значительные количества минеральных веществ, в том числе различных микроэлементов. *Ch. aculeolata* - это природный

концентрат кальция, цинка и марганца (табл. 2). По их содержанию она значительно превосходит многие наземные растения.

Таблица I

Общий химический состав водоросли, %

Спирто- и эфирорастворимые	Общий азот	Сырой протеин	Зола	Углеводы		Остаток после ТП	Зола остатка
				ТП	ЛП		
0,9	1,6	10,0	34,0	26,5	15,5	6,1	57,3

Таблица 2

Минеральный состав водоросли

Макроэлементы, %			Микроэлементы, мг%					
P	K	Ca	Co	Mo	Cu	B	Zn	Mn
0,16	0,57	13,60	0,02	0,19	0,40	1,9	13,2	17,2

Содержание азотистых веществ в водоросли *Ch. aculeolata* несколько выше, чем у других видов харовых. По их количеству она близка к зеленым: кладофоре, энтероморфе, хетоморфе.

Основная масса сухих веществ водоросли, составляющая 42%, представлена углеводами. Доминирующей в них является фракция трудногидролизуемых полисахаридов. Такое высокое ее содержание необычно для водорослей других отделов.

В моносахаридном составе гидролизата ЛП обнаружены уроновые кислоты, галактоза, гликоза, арабиноза, ксилоза и рамноза. По данным количественного анализа мономерного состава ЛП вероятно содержание в углеводном комплексе резервного гликана, полимера, имеющего кислый характер, и полисахарида типа ксилана.

В гидролизате ТП преобладает гликоза, имеются также незначительные количества ксилозы, рамнозы и галактозы.

Негидролизуемый остаток (табл. I) представлен веществом аро-

матической природы, по-видимому, лигнином, на что указывают его положительная реакция с флороглюцином, специфический УФ-спектр с максимумом поглощения в области 280 нм, идентификация в продуктах окисления нитробензолом ванилина и параксибензальдегида.

С помощью стандартных методов в харовой водоросли определен состав и содержание некоторых витаминов. Наряду со значительными количествами никотиновой и пантотеновой кислот, обнаружены: тиамин, рибофлавин, каротин, цианкобаламин.

Азотистые вещества характеризовали, определяя соотношение их отдельных форм, фракционный и аминокислотный состав, ферментативную атакуемость.

Показано, что в комплекс азотистых веществ исследуемой водоросли входят водо-, соле-, спирто- и щелочерастворимые соединения. Их основная масса представлена белками. Белковые вещества *Ch. aculeolata* как белки метаболически активных тканей частично связаны с клетчаткой, что подтверждается наличием в талломе трудно-растворимых азотистых соединений. В состав гидролизата белка входят 15 аминокислот, из которых более 50% составляют незаменимые аминокислоты. Протеолиз белка хары проводили последовательно воздействуя на таллом пепсином и трипсином. Глубина расщепления белка пепсином составила 10%, трипсином - 15%. Показано, что глубина протеолиза в значительной мере определяется первичной структурой белка *Ch. aculeolata*.

Фракционирование полисахаридов. Полисахариды выделяли методом последовательной экстракции водоросли различными растворителями. Определяли их содержание в сырье и мономерный состав. Характеризуя выделенные продукты, применяли гель-фильтрацию на сефадексах, ферментативный гидролиз, спектрофотометрию. При выборе условий фракционирования исходили из данных, полученных при определении химиче-

ского состава *Ch. aculeolata*.

Схема фракционирования водоросли включила следующие этапы: выделение водорастворимых веществ, веществ, растворимых в оксалате аммония, щелочерастворимых продуктов.

Содержание водорастворимых полисахаридов (ВРП) в водоросли составляет 3,5%. В их гидролизате преобладает глюкоза, остальные мономеры, за исключением рамнозы, присутствуют практически в одинаковых соотношениях (табл. 3).

Таблица 3

Моносахаридный состав гидролизатов фракций (молярные соотношения)

Экстрагент	Моносахарид					
	Уроновые кислоты	Галактоза	Глюкоза	Арабиноза	Ксилоза	Рамноза
Вода	0,8	1,1	1,5	1,0	0,9	следи
Оксалат аммония	5,0	1,3	1,0	1,2	1,3	следи
КОН, 5%, 20°C	0,3	0,5	1,2	0,5	0,8	0,2
КОН, 5%, 90°C	0,2	0,4	1,3	0,8	0,8	0,3
КОН, 24%, 20°C	0,5	следи	1,0	следи	0,7	следи

Фракционированием суммарных ВРП сефадексах G -75, G -100 и G -150 получены две фракции с различными молекулярными массами. Анализ показал, что полисахарид с меньшей молекулярной массой имеет нейтральный характер, более высокомолекулярный - кислый. Нейтральный полисахарид представлен крахмалоподобным веществом, на что указывают: положительная реакция с иодом, специфика УФ-спектра его иодного комплекса, высокая атакуемость β -амилазой. Кислый полисахарид этерифицирован остатками серной кислоты и имеет сложный мономерный состав. Наряду с уроновы-

ми кислотами в него входят остатки галактозы, глюкозы, арабинозы, ксилозы и рамнозы.

Фракция, выделенная оксалатом аммония, составляет более 17% от веса сухих веществ водоросли и является наиболее значительной по содержанию углеводов (табл. 3). При гидролизе полисахарида, экстрагируемого этим растворителем, в значительных количествах образуется *D*-галактуроновая кислота, что позволило предположить принадлежность этого полимера к классу гликаногалактуронов - пектиновых веществ.

Щелочерастворимые полисахариды, выделенные в различных температурных условиях 5% КОН, практически одинаковы по мономерному составу. Полимеры, экстрагируемые 24% КОН, содержат меньше арабинозы и галактозы. Сочетая пересаживание этих полисахаридов спиртом с их амилолизом, получили продукт, в гидролизате которого преобладает ксилоза.

Остаток водоросли после экстракции состоит в основном из углеводосодержащих веществ. Характерное фиолетовое окрашивание, возникающее при обработке его хлорпикнидом, устойчивость к кислотному гидролизу, преобладание глюкозы в гидролизате указывают на его целлюлозоподобный характер.

Таким образом, фракционирование показало, что в углеводном комплексе харовой водоросли имеются полисахариды типа крахмала, пектина, гемипеллиоз и целлюлозы, а также кислый сульфатированный гетерополисахарид сложного мономерного состава.

Целлюлозу выделяли обработкой сырья спиртовым раствором азотной кислоты. В качестве основного мономерного звена она содержит *D*-глюкозу, которую дополнительно идентифицировали переводом в гликозавон. В состав гликана входит 2,38% зольных веществ

и 0,6% азота. Строение полисахарида устанавливали, параллельно применяя методы метилирования, периодатного окисления, дегградации по Смитту, выделения олигомера и ИК-спектроскопии. Метилирование по модифицированному методу Хэуорса. В гидролизате метилированного продукта идентифицированы в основном 2,3,6-три-0-метил-*D*-глюкопираноза и 2,3,4,6-тетра-0-метил-*D*-глюкопираноза в следовых количествах. Одновременно в метанолизате методами ГТХ и ТСХ идентифицированы метилгликозиды этих метилированных сахаров.

В гидролизате гликана, предварительно преобразованного в полиол, преобладает эритрит.

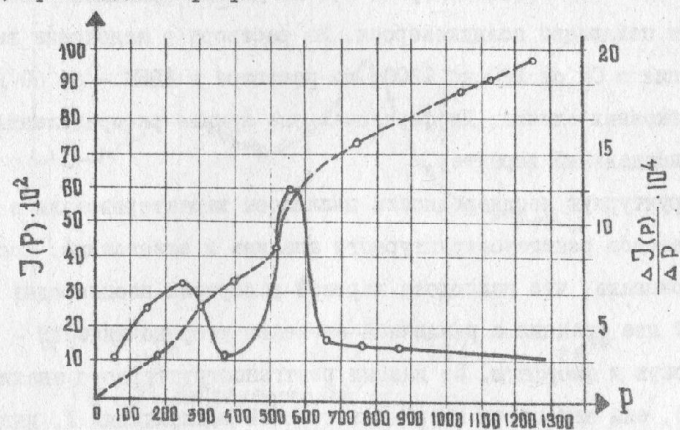


Рис. 1. Кривые ММР целлюлозы по данным фракционирования из ее раствора в кадоксене.

При ацетоллизе полисахарида образовался октаацетат целлобиозы. Подвергнув его дезацетилированию, получили целлобиозу.

На ИК-спектре обнаружена полоса поглощения в области 890 см^{-1} , соответствующая колебаниям β -аномеров пиранозных звеньев.

Эти данные показывают, что структурный гликан харовой водо-

росли по строению основной цепи аналогичен целлюлозе высших растений и представляет собой линейный полимер, состоящий из звеньев *D*-глюкопираноз, соединенных β -1-4 гликозидными связями.

Для изучения молекулярной неоднородности полимера применяли методы фракционирования из растворов в железовиннонатриевом (ЖВНК) и кадмийэтилендиаминовом (кадоксен) комплексах. Средняя степень полимеризации полисахарида, определенная в растворе ЖВНК, составила 592, кадоксена - 545. Полученные результаты представлены в виде интегральных и дифференциальных кривых распределения по степеням полимеризации (рис. 1). По данным фракционирования, препарат целлюлозы полидисперсен. Из раствора в кадоксене выделены фракции с СП от 180 до 1200; из раствора в ЖВНК - от 60 до 1377 глюкозных единиц. Дифференциальные кривые распределения имеют бимодальный характер.

Структурную неоднородность целлюлозы характеризовали с помощью методов рентгеноструктурного анализа и алкохолиза. Исследования показали, что целлюлоза харовой водоросли неоднородна и содержит две фракции с различной степенью упорядоченности - кристаллическую и аморфную. По данным рентгеноструктурного анализа (рис. 2), она находится в кристаллической модификации I, индекс ее упорядоченности равен 0,43, а размер кристаллитов, рассчитанный по рефлексу - 26\AA .

Целлюлоза *Ch. aculeolata* расщепляется под действием целлюлолитических ферментов. Степень ее атакуемости значительно ниже атакуемости хлопка. Это может объясняться как особенностями надмолекулярной структуры, так и ингибирующим влиянием сопутствующих зольных и азотистых веществ.

Крахмалоподобный гликан выделяли из водоросли параллельно

рядом методов: экстракцией горячей водой, хлорной кислотой, раствором хлоральгидрата. Продукты очищали пересаживанием через иодный комплекс, получили соответственно полисахариды А, В и С, в гидролизатах которых преобладает глюкоза. Их характеризовали, определяя коэффициент экстинкции, предел β -амилолиза, оптические свойства иодного комплекса.

Полисахарид А характеризуется величиной степени полимеризации, равной 55. Высокое значение "синего числа" - 1,34; значи-

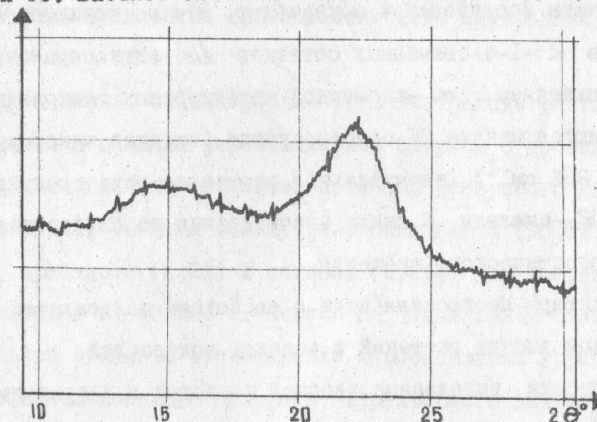


Рис. 2. Дифрактограмма целлюлозы.

тельная ферментативная атакуемость - 90% позволили предположить линейный характер построения его молекулы.

Для выяснения строения, наряду с ферментализмом, применяли методы периодатного окисления, деградации по Смиту и ИК-спектроскопию. Полисахарид, модифицированный в полиальдегид, далее восстанавливали в высокомолекулярный полиол. В продуктах его гидролиза идентифицированы глицерин и эритрит, при этом на один моль глицерина приходится 25 молей эритрита. Такое соотношение последних при данной степени полимеризации возможно при наличии линей-

ной цепи в исходном полимере и связи I-4 между мономерными остатками.

Основная информация о характере построения молекулы была получена на основании данных метилирования. Исследуемый полисахарид метилировали по Хакомори и затем подвергали формолизу. В его гидролизате обнаружены 2,3,6-три-0-метил- β -D-глюкопираноза и 2,3,4,6-тетра-0-метил- β -D-глюкопираноза в соотношении 45:1, моно- и ди-метильные производные не найдены.

Результаты исследований показывают, что полисахарид А линейен и состоит из α -I-4 связанных остатков β -D-глюкопиранозных единиц. Подтверждением α -аномерной конфигурации гликозидных центров являются данные ИК-спектроскопии (наличие максимума поглощения при 856 см^{-1}), значительная расщепляемость продукта под действием β -амилазы, а также значительная положительная величина удельного оптического вращения.

По характеру построения цепи и свойствам полисахарид аналогичен амилозам высших растений и зеленых водорослей.

Полисахариды, выделенные хлорной кислотой и хлоральгидратом, идентичны. Поэтому дальнейшему исследованию подвергали только продукт В. Значительное уменьшение величин его коэффициента экстинкции (0,60) и предела β -амилолиза (52%) по сравнению с продуктом А, свидетельствуют об изменении характера построения его молекулы и указывают на разветвленный тип структуры этого полисахарида. Прямым доказательством наличия в нем ответвлений послужила идентификация в продуктах гидролиза его метилированного производного, наряду с 2,3,6-три-0-метил- β -D-глюкопиранозой и 2,3,4,6-тетра-0-метил- β -D-глюкопиранозой, 2,3-ди-0-метил- β -D-глюкопиранозы (молярные соотношения 20:1:1).

Содержание линейной фракции в полисахариде В составляет око-

ло 12%.

Совокупность данных, полученных при изучении разветвленного компонента рядом методов, позволила определить степень его ветвления, а также размеры внутренней и наружной цепей. Установлено, что полисахарид типа амилопектина характеризуется наличием одного ответвления у шестого углеродного атома на каждые 19-20 остатков β -D-глюкопиранозных единиц. Основная его цепь построена из α -I-4 связанных остатков β -D-глюкопираноз. От амилопектинов высших растений отличается соотношением длин внутренней и наружной цепей.

Пектин выделяли из водоросли путем экстракции раствором оксалата аммония и очищали пересаживанием спиртом с последующим амилолизом для удаления возможных примесей резервного глюкоана. В его состав входят остатки галактуроновой кислоты (90,5%), глюкозы (2,2%), арабинозы (1,2%) и ксилозы (0,2%). Характеристика вещества приведена в таблице 4. Пектин *Ch. aculeolata* отличается незначительной степенью этерификации карбоксильных групп. Он не содержит эфирносвязанного сульфата, характерного для многих водорослевых полисахаридов.

Таблица 4

Характеристика пектина

$[\alpha]_D^{20}$	Азот, %	Зола, %	Молекулярная масса, у.е.	Функциональные группы, %		
				Свободные COOH-	OMe-	OAc-
290,8 ⁰	0,01	4,40	24000	21,09	1,02	-

Продукт полностью осаждается цетавлоном и сернокислым алюминием. По данным хроматографии на сефадексах G-75, 100 и 150 он однороден по молекулярной массе. Исследование методом

фракционирования на ДЭАЭ-целлюлозе показало присутствие одной фракции кислого полисахарида, элюируемой щелочью (рис. 3). Все это свидетельствует о гомогенности выделенного пектина.

ИК-спектр продукта подобен спектрам пектинов высших растений.

Пектин *Ch. aculeolata* разрушается под действием пектиназы на 78%. В продуктах ферментализации, наряду с D-галактуронозой кислотой обнаружены все нейтральные моносахариды, входящие в его состав, и олигомеры, имеющие кислый характер. Последние выделяли препаративно и подвергали дополнительному кислотному гидролизу. В составе их гидролизатов найдены только остатки D-галактуронозой кислоты, которые образуют основную однородную цепь полисахарида.

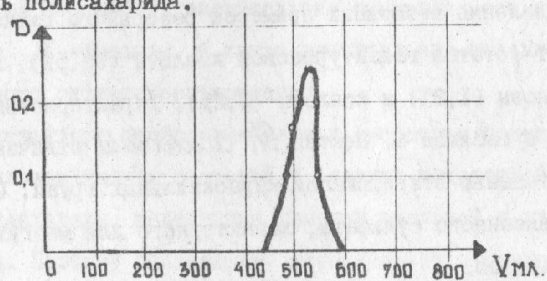


Рис. 3. Выходная кривая фракционирования пектина на ДЭАЭ-целлюлозе

Далее была изучена структура основного полиуронидного фрагмента молекулы пектина, полученного путем частичного кислотного гидролиза. Подобно исходному пектину, его фрагмент характеризуется высокой величиной положительного удельного оптического вращения. Он состоит только из остатков D-галактуронозой кислоты, незначительно этерифицирован и отличается значительно меньшей величиной молекулярной массы. Для выяснения строения фрагмента при-

меняли метод метилирования. Так как метилирование галактуронана протекает с трудом, его предварительно восстанавливали до галактана. В гидролизате модифицированного продукта идентифицирована 2,3,6-три-0-метил- D-галактоза и незначительные количества 2,3,4,6-тетра-0-метил- D-галактозы. Параллельно в продуктах метанолиза методами ГЖХ и ТСХ обнаружены метилгликозиды 2,3,6-три- и 2,3,4,6-тетра-0-метил- D-галактозы. Соединения с низкой степенью метилирования не найдены. Это доказывает, что галактан, а следовательно, и исходный галактуронан, содержит неразветвленную цепь остатков D-галактуронозой кислоты. Значительная положительная величина удельного вращения полисахарида указывает на α -конфигурацию гликозидных центров. Дополнительным доказательством α -1-4 связи между остатками D-галактуронозой кислоты послужила его высокая атакуемость пектиназой. В отличие от исходного пектина он расщепляется практически полностью.

Таким образом, подобно пектинам высших растений, основной фрагмент пектина *Ch. aculeolata* - галактуронан, линейен, состоит из остатков D-галактуронозой кислоты в пиранозной форме, связанных по месту 1-4 углеродных атомов.

Сульфатированный полисахарид экстрагировали водой, очищали от примесей резервного глукана, а затем осаждали спиртом. В его составе обнаружено 8,5% сульфогрупп, 10% белка, не удаляемого по методу Севага, а также остатки галактуронозой кислоты - 15,3% и нейтральных мономеров: галактозы, глюкозы, арабинозы, ксилозы и рамнозы в молярных соотношениях 4,2:10:7,2:7,4:3,0.

По данным хроматографии на сефадексах он однороден по молекулярной массе. Фракционирование на ДЭАЭ-целлюлозе привело к разделению полимера на две фракции, незначительно отличающиеся содержанием D-галактуронозой кислоты.



Деструкцию молекулы полисахарида проводили, подвергая его автогидролизу, ацетолузу, ферментолузу и частичному кислотному гидролизу. Каждый из выделенных высокомолекулярных фрагментов гидролизовали дополнительно и определяли мономерный состав. Показано, что все они имеют одинаковый качественный мономерный состав. Осколок с минимальным содержанием остатков арабинозы и ксиланы получили, гидролизуя исходный продукт H_2SO_4 . По-видимому, в нем отсутствует однородная основа, подобная полиурониду в пектине. Лабильность остатков ксиланы и арабинозы может указывать на их периферийное расположение в молекуле полимера.

КОРМОВЫЕ ДОСТОИНСТВА ХАРОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ

Ферментативная атакуемость в значительной мере определяет кормовые достоинства сырья. Ее изучали лабораторным методом *in vitro*, последовательно обрабатывая водоросль целлюлазой, пепсином и трипсином. Анализ показал, что переваримость водоросли достаточно высока и достигает 80%.

Сравнение полученных данных с имеющимися в литературе сведениями о составе и ферментативной атакуемости наземных кормовых растений показывает, что по величине переваримости и содержанию в ней клетчатки и сырого протеина исследуемая водоросль близка к траве и селу.

Брикетирование. С целью повышения доступности водоросли действию ферментов, а также для придания ей лучших технологических свойств, ее подвергли дополнительной обработке: а) брикетированием; б) горячей водой с последующим брикетированием; в) кислотно-щелочной обработке с последующим брикетированием. Полученные брикеты характеризуются низкой крошимостью, значительными ударной прочностью и водостойкостью. Кислотно-щелочная обработка способ-

ствует уменьшению крошимости брикетов и увеличивает их переваримость.

Пути использования харовой водоросли в кормопроизводстве.

Результаты проведенных анализов свидетельствуют о положительных кормовых качествах *Ch. aculeolata* и характеризуют ее как новое перспективное кормовое средство. Возможность непосредственного скармливания харовых водорослей и полное отсутствие токсических свойств показано многолетними опытами чл.-корр. АН УССР Тульчинской В.П. с сотрудниками. В результате изучения химического состава и ферментативной атакуемости определены некоторые пути использования этого сырья:

1. Включение водоросли в рационы кормления в качестве основного ингредиента, т.е. с учетом содержания в ней протеина, клетчатки, отдельных аминокислот и т.д.
2. Применение харовых в производстве комбикормов, премиксов, различного рода добавок как восполнителя только минеральных соединений.

Определение оптимальных кормовых рационов с включением харовой водоросли осуществляли с помощью экономико-математических методов на ЭВМ в вычислительном центре Одесского сельскохозяйственного института. Результаты расчетов показали, что их стоимость невысока и этим определяется экономическая целесообразность использования водоросли в данном направлении.

Хара может быть использована как источник микроэлементов. Это обусловлено ее уникальной способностью накапливать в талломе большие количества различных минеральных соединений. Расчеты показывают, что введение хары в комбикорма для птицы (№ репептов: ПК-11, I-12, I-13, I-17) в количестве 17,2 кг на 1 т ос-

нового рациона заменит добавляемый в виде сернокислой соли цинк на 100%, марганец - на 13%. Перспективно также введение хары в комбикорма, предназначенные для крупного рогатого скота. Добавление водоросли в комбикорма рецептов К 60-1 - К 60-7 в количестве 5,2 кг на 1 т заменит цинк на 100%, марганец - на 26% и обеспечит их кальцием на 7-41%.

Хара может служить наполнителем для премиксов, одновременно являясь источником цинка и марганца, 530,3 кг хары по содержанию цинка эквивалентны 1 т премикса П 60-1 и содержат 26% необходимого по рецептуре количества марганца.

Харовые водоросли могут быть использованы при производстве белково-витаминных добавок. Так, 15,5 кг водоросли полностью заменят вводимый на 1 т № 60-1 БВД сернокислый цинк и на 25% сернокислый марганец.

Предлагается рецепт сбалансированной по минеральному составу композиции на основе харовых и других водорослей Черного моря, восполняющей дефицит микроэлементов в кормах.

Добыча и переработка харовых водорослей в количестве 10% от их общего запаса - 150 тыс. тонн в год позволят обогатить минеральными веществами 3 млн. тонн комбикормов при максимально возможном введении водоросли 50 кг на 1 т комбикорма. Реальна заготовка харовых колхозами и совхозами, расположенными на побережье северо-западной части Черного моря.

Все вышесказанное позволяет считать перспективным использование нового источника растительного сырья - харовых водорослей в комбикормовой промышленности юга Украины.

В ы в о д ы

1. Изучен общий химический состав нового вида сырья - харовой

водоросли *Ch. aculeolata*, произрастающей в Черном море и его лиманах. Он специфичен по сравнению с высшими растениями и водорослями других отделов. Показано, что харовая водоросль - это природный концентрат минеральных солей и витаминов.

2. Дана характеристика азотистых веществ водоросли. Определено соотношение их форм, распределение по фракциям, аминокислотный состав и ферментативная атакуемость.

3. Установлено, что углеводный комплекс водоросли специфичен. В него входят полисахариды типа крахмала, гемицеллюлозы и целлюлозы, а также кислые полимеры двух типов: один из них этерифицирован остатками серной кислоты и имеет весьма сложный мономерный состав, другой в качестве основного мономерного звена содержит D -галактуроновую кислоту.

4. Изучено строение и определены свойства структурного гликана. Показано, что по первичной структуре он подобен целлюлозе высших растений и состоит из остатков β - D -гликопираноз, связанных 1-4 гликозидными связями. Получены данные, характеризующие его полидисперсность, структурную неоднородность, ферментативную гидролизуемость.

5. Показано, что крахмалоподобный полисахарид состоит из двух фракций, отличающихся характером построения цепи - линейной и разветвленной. Линейная, амилозоподобная фракция построена из α -1-4 связанных D -гликопиранозных единиц. Разветвленный компонент типа амилопектина характеризуется наличием одного ответвления на каждые 19-20 остатков D -гликопиранозных единиц. Основная цепь его построена из α -1-4 связанных остатков D -гликопираноз. От амилопектинов зеленых водорослей и высших растений отличается соотношением длин внутренней и наружной цепей.

6. Выделен и изучен гликаногалактуронан *Ch. aculeolata*

Установлено, что основной фрагмент его молекулы - полиуронид - линейен и построен из α -1-4 связанных остатков D-галактуроновой кислоты.

7. Впервые показано присутствие в харовых водорослях сульфатированного полисахарида и дана его характеристика.

8. Определена ферментативная атакуемость таллома водоросли в целом и отдельных ее компонентов.

9. Разработаны научно-обоснованные пути использования водоросли в кормопроизводстве. Рассчитаны рационы кормления сельскохозяйственных животных с включением хары. Показана возможность ее использования при производстве комбикормов, премиксов и различного рода добавок в качестве восполнителя минеральных веществ.

10. С целью оценки возможности практического использования харовой водоросли проведено ее брикетирование; определены физико-механические свойства полученных брикетов и их ферментативная атакуемость.

Основное содержание диссертации опубликовано в следующих работах в соавторстве:

1. Дудкин М.С., Арешидзе И.В., Черно Н.К. К изучению химического состава двух видов харовых водорослей.- Украинский ботанический журнал, 1971, № 6, с.762-764.
2. Дудкин М.С., Арешидзе И.В., Скорнякова Н.С., Козарез Е.И., Селич Е.Ф., Шкантова Н.Г., Черно Н.К., Дарманьян П.М., Песков В.А., Лукина Г.Д. Водоросли как сырье для производства простых сахаров, кормовых дрожжей и других продуктов, используемых в сельском хозяйстве.- В кн.: Продукты переработки древесины - сельскому хозяйству. Тезисы докладов всесоюзной конференции. II. Использование полисахаридов и лигнина.- Рига: Зинатне, 1973, с.32-39.
3. Дудкин М.С., Черно Н.К., Арешидзе И.В. Гликан из *Chara aculeolata* .- Химия природных соединений, 1973, № 4, с.480-483.

4. Арешидзе И.В., Дудкин М.С., Козарез Е.И., Лукина Г.Д., Песков В.А., Черно Н.К. Сравнительная характеристика состава и природы биополимеров водорослей и водных цветковых растений Черного моря как основа их использования.- В кн.: Всесоюзное совещание по "Морской альгологии - макрофитобентосу". Тезисы докладов.- М.: 1974, с.3-6.
5. Арешидзе И.В., Черно Н.К., Дудкин М.С. Свойства целлюлозы харовой водоросли *Chara aculeolata* Kütz .- Журнал прикладной химии, № 6, с.1411-1413.
6. Дудкин М.С., Арешидзе И.В., Черно Н.К. Использование харовых водорослей в комбикормовой промышленности.- В кн.: Научно-технический реферативный сборник. Комбикормовая промышленность.- М.: 1976, № 4, с.14-16.
7. Дудкин М.С., Арешидзе И.В., Черно Н.К., Чекой В.Н. Гликаны зеленых водорослей *Chara aculeolata* Kütz, *Cladophora vagabunda* и морской травы zostеры *Zostera nana* .- В кн.: Тезисы докладов У Всесоюзной конференции по химии и биохимии углеводов.- М.: Наука, 1972, с.53-54.
8. Черно Н.К., Дудкин М.С., Арешидзе И.В. Фракционирование полисахаридов *Chara aculeolata* .- Химия природных соединений, 1976, № 6, с.698-702.
9. Черно Н.К., Дудкин М.С., Арешидзе И.В. Пектиновые вещества *Chara aculeolata* .- Химия природных соединений, 1976, № 6, с.702-705.
10. Черно Н.К., Дудкин М.С., Арешидзе И.В. Строение полисахаридов харовой водоросли *Chara aculeolata* Kütz .- В кн.: Тезисы докладов УI Всесоюзной конференции по химии и биохимии углеводов.- М.: 1977, с.94-95.
11. Дудкин М.С., Арешидзе И.В., Черно Н.К. Азотистые вещества водоросли *Chara aculeolata* Kütz .- Растительные ресурсы, 1978, т.14, с.131-133.