

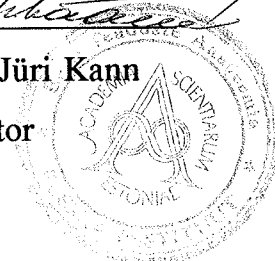
EV Kultuuri- ja Haridusministeerium
KEEMIA INSTITUUT

Kinnitan



Prof. Jüri Kann

Direktor



LÄÄNEMERE VETIKAVARUDE KUI TAASTUVA LOODUSVARA SÄÄSTLIK JA MAJANDUSLIKULT OPTIMAALNE KASUTAMINE

Keemilis-tehnoloogiline osa

I AASTA-ARUANNE

EV Keskkonnaministeeriumi tellimusel
(leping nr. 7) valminud töö

Koostanud: Kalle Truus
vastutav täitja

Tallinn, 1995

Lepingu täitjad:

Merike Vaher, teadur

Andres Kollist, konsultant

Kalle Truus, grupijuht

Töös on osalenud:

Prof. Tõnis Pehk Keemilise ja Bioloogilise Füüsika
Instituudist (Tallinn)

Prof. Anatoli Usov Venemaa TA Orgaanilise Keemia
Instituudist (Moskva)

SISUKORD

Sissejuhatus	4
KIRJANDUSE ÜLEVAADE	
1. Vetikaliik <i>Furcellaria lumbricalis</i> (Huds.) Lamour.	6
1-1. Vormid ja levik maailmas	6
1-2. Kassari lahe vetikaplast	7
1-3. Tehnoloogiline uurimine ja kasutamine	8
2. Karraginaanid (vetika-polüsahhariidid)	9
2-1. 'Struktuur-omadus' seosed	9
2-2. Furtsellaraani struktuuritüüp	13
EKSPERIMENTAALOSA	
3. Üldpõhimõtted furtsellaraani eraldamiseks ja modifitseerimiseks	15
4. Furtsellaraani ekstraktsioon ja saagis	15
4-1. Ekstraktsioon ülerõhul	15
4-1-1. Metoodikad	17
4-1-2. Tulemuste arutelu	17
4-2. Ekstraktsioon normaalarõhul	18
5. Vetikagalaktaanide leelistöötlus	19
5-1. Raadiospektroskoopiline uurimus	19
5-2. Monosahhariidkoostis ja leelistöötluse mõju	20
6. Resümeerivad uurimused ja kalkulatsioonid	24
6-1. Selgitavaid märkusi	24
6-2. Furtsellaraani geelitugevuse sõltuvus keetmiskeskonna leeliselisusest	24
6-3. Kokkuvõte	26
TSITEERITUD KIRJANDUS	29

Sissejuhatus

Käesoleva uurimistöö õiguslikuks aluseks on Riigikogu poolt 23. novembril 1994.a. kinnitatud riiklik programm Kassari lahe töenduslike punavetikate uurimiseks. Programmi tellijaks ja otseseks finantseerijaks on EV Keskkonnaministeerium.

Vajadus sellise uurimisprogrammi järele on tingitud Kassari lahe vetikaplasti, mis on EV üks olulisemaid taastuvaid loodusvarasid, suurest tundlikkusest välismõjutuste suhtes - seda muidugi kõrvuti majanduslike huvidega, mida nende varude mõistlik ja otstarbekas eksploatatsioon annab. Teatud kahjustusest ja loodusliku tasakaalu rikkumisest alates algab pöördumatu degradatsioon: toimub vetikaplasti vältimatu häving. Hinnalise loodusvara hilisem taastamine pole võimalik - seda on kinnitanud arvukad taolised juhtumid kogu maailmas, sh. Läänemeres. Allpool (p. 1-1) leiab see küsimus detailsemat käsitlust.

Ainus reaalne võimalus nimetatud vetikavarude ohutuks ja ratsionaalseks kasutamiseks on seostada vetikate hoolikalt kindlaksmääratud väljapüügi lubatud mahud nende kohapealse kasutamisega (ümbertöötlusega). Selleks näeb programm ette võimalike püügimahtude määrangu (Eesti Mereinstituut) *kompleksselt* väljatöötlusega selle toormekoguse otstarbekaks tehnoloogiliseks kasutamiseks (Keemia Instituut). Töötlemata toorvetikate eksport (meie laiuskraadidelt) on loodushoidlikust seisukohast niisama mõeldamatu kui majanduslikust aspektist lähtudes [1,2].

Niisiis on kolmeks aastaks (1995 -1997) planeeritud vetikaprogrammi keemilis-tehnoloogilise osa *eesmärgiks* välja töötada optimaalne tehnoloogiline skeem nende vetikate kasutamiseks ulatuses, mida lubavad Eesti Mereinstituudi uuringud juurdekasvu ja püüginormide osas. Käesolev köide sisaldab esimese kolmandiku neist uurimustest.

1995. aastal Keemia Instituudi polüsahhariidide uurimisgrupis läbiviidud uuringud on keskendunud vetikatest ekstraheeritud geelistuvate polüsahhariidide

(karraginaanide) keemilistele ja reoloogilistele omadustele, nagu seda tingib nende ainete reaalne, praktiline kasutamine (peamiselt toiduainetetööstuses). Eeskätt on uuritud ja käsitatud vetikaliiki *Furcellaria lumbricalis* (Huds.) Lamour. Teise vetikaplastis esineva liigi *Coccolytus truncatus* (Pall.) Wynne a Heine (endise nimetusega *Phyllophora truncata* (Pall.) Newroth et Taylor) osas on uuringud planeeritud peamiselt 1996. aastasse; et aga teatud eelkatseid on siiski juba alustatud, siis leiab ka see liik käesolevas töös mõningat käsitlemist. Seega on antud kõites esitatud uurimus aluseks, mille baasil viimasel, 3. uurimisaastal esitatakse optimaalne keemilis-tehnoloogiline väljatöötlus Kassari lahe vetikate kompleksseks kasutamiseks.

KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1. Vetikaliik *Furcellaria lumbricalis* (Huds.) Lamour.

1-1. Vormid ja levik maailmas.

Vetikaliik *Furcellaria lumbricalis* esineb looduses mitme vormina, millest sagedamini eristatakse kahte - kinnitunud ja kinnitumata vormi. Kassari lahe vetikaplastis esineb peaaegu eranditult kinnitumata vorm, mida kirjanduses sageli nimetatakse liigiks *Furcellaria fastigiata* [3]. Keemilis-tehnoloogilisest seisukohast ei ole olulisi erinevusi selle vetikaliigi eri vormide vahel (vt. lähemalt lk. 18). Üldised kirjandusandmed leviku kohta maailmas reeglina ei erista vetikaliikide erinevaid vorme.

Vetikaliiki *Furcellaria lumbricalis* leidub [4] nii Põhja-Atlandi ida- kui lõunaosas, kuid töenduslikult kasutatavaid varusid esineb vaid Põhja-Euroopas ja Kanadas. Euroopas moodustab tema peamine levikuala järgmise suure kaare: Barentsi meri (Novaja Zemlja, Teravmäed) - Fääri saared - Briti saarestik - Biskaia lahe lõunaosa. Riimveelisesse Läänemerre tungib see liik kuni Vaasa saarestikuni Botnia lahes ja Kohtla-Järve - Kotka liinini Soome lahes. Vähemal määral on see liik levinud Põhja-Atlandi paljudes piirkondades, näit. Norra fjordides [5], kuid Gröönimaa ja Islandi ümbruses teda ei esine [4]. Põhja-Ameerikas (Kanadas) piirdub selle vetikaliigi levik peamiselt kitsa alaga Püha Lawrence' i lahes ja Nova Scotia põhjarannikul.

Läänemeres on see vetikaliik laialt levinud. Suuremad (töenduslikud) varud esinesid Taanis (eriti Kattegati väinas). Vetikaid hakati siin tehnoloogilisest seisukohast uurima juba II Maailmasõja ajal; 15 aasta jooksul (1946-1960) suurenes geelistuva materjali (nn. furtsellaraani, kommertsnimetusega *Danagar*) tootmine Taani vetikatest üle 18 korra, ulatudes 1960. aastal 1,2 miljoni naelani (544 tonni) [6]. Veel 1960.-tel aastatel oli väljapüük 20-30 tuhat tonni toorvetikaid aastas, kuid 1970.-ks aastaks olid

töenduslikud varud praktiliselt ammendatud [7]: ülemäärane väljapüük oli rikkunud loomuliku tasakaalu.

Kui Taanis hävitati *töenduslikud* varud, siis Läänemere järgmises suures areaalis (500 km kaugusel Kassari plastist) - Pucki lahes (Poola) hävitati 1980. te aastate keskpaigaks see vetikaliik (varud 1957. a. - üle 13 tuhande tonni) täielikult [8]. Siingi oli põhjuseks asjaolu, et tegelik tehnoloogiline skeem polnud kooskõlas väljakujunenud ökoloogilise tasakaalu tingimustega: liigse väljapüügi tagajärjel hakkasid vohama pruunvetika-perekonna *Ectocarpaceae* liigid, hävitades täielikult punavetika *Furcellaria lumbricalise* ja pruunvetika *Fucus vesiculosuse*.

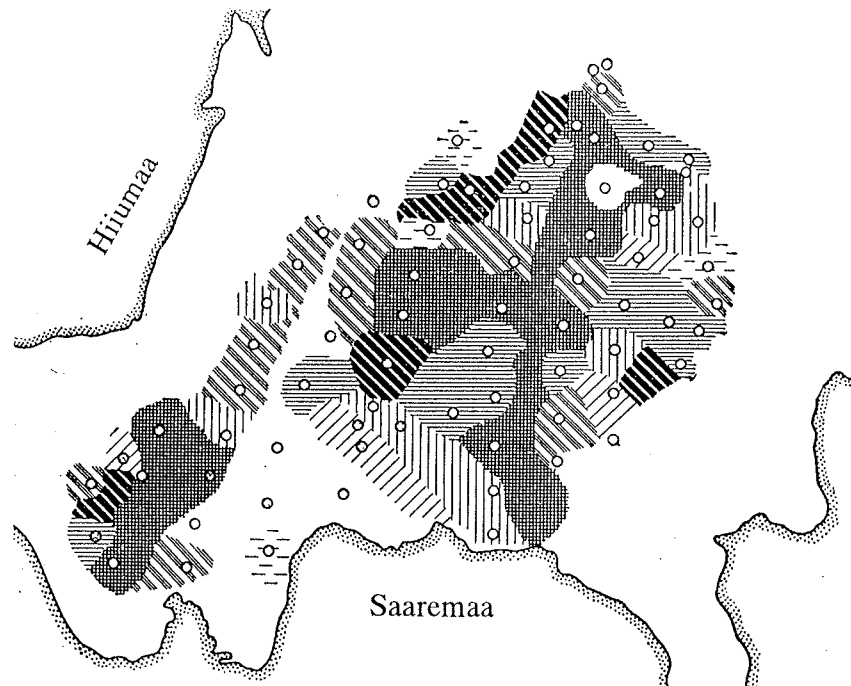
Tehnoloogilise skeemi spetsiifika (eriti meie laiuskraadidel) peab olema välja töötatud lähtuvalt hoolikalt kalkuleeritud väljapüügi mahtudest, mille määrab ära väljakujunenud ökoloogiline tasakaal.

1-2. Kassari lahe vetikaplast

Erineva biomassi jaotuse ja liigilise koostisega Kassari lahe vetikaplast asub kõrgemate servadega süvendis Hiiumaa, Saaremaa ja laidudega piiratud alal. See on omapärase hüdrooloogilise režiimiga Väinamere osa, kus vee soolsus on vahemikus 6,5 - 7,5‰. Plastis esinevad dominantidena liigid *Furcellaria lumbricalis* f. *aegagropila* ja *Coccotylus truncatus* (Pall.), vähemal määral leidub siin veel 13 pruun- ja punavetikaliiki. Tsünoos on analoogne varem Pucki lahes ja Kesk-Kattegatis esinenud vetikaplastidega [9].

Plasti on viimati põhjalikumalt uuritud 1960.-te aastate alguses (mitmetest publikatsioonidest vt. eriti [10]). Neil andmetel sisaldab vetikaplast 157 tuhat tonni biomassi (joon. 1).

Kirejeva neid andmeid tsiteerivad laialttuntud monograafiad [11]. Võrdlemisel ka teiste allikate ja ülevaateartiklitega (näit. [12]) tuleb Kassari lahe vetikaplasti pidada erakordselt mahukaks; vetikaliigi *Furcellaria lumbricalise* osas on aga kindlasti tegemist Euroopa (tõenäoliselt ka kogu maailma) suurimate varudega. Kuigi seda plasti



Joon. 1. Erineva tihedusega Kassari lahe vetikaplast Kirejeva [10] andmetel: üldpindala $\approx 220 \text{ km}^2$, katvus 50 g ... 2 kg biomassi/ m^2 .

pole viimastel aastatel väga põhjalikult uuritud, on Eesti Mereinstituudi andmetel [13] varud väga hästi säilinud.

1-3. Tehnoloogiline uurimine ja kasutamine: lühiülevaade

Vetikaliigi *Furcellaria lumbricalise*, aga ka *Coccotylus truncatuse* (varasema nimetusega *Phyllophora truncata*) kasutamine geelistuvate ainete töenduslikuks eraldamiseks on üldtuntud [14].

Geelistuvate galaktaanide (nn. *karraginaanide*, vt. p. 2) tööstuslik tootmine Eestis Kassari plasti (ja Läänemere teistest) *Furcellaria lumbricalise* varudest algas jaanuaris 1967 ja kestis maini 1994. Eraldatud produkti, nn. *estagarit* kasutati (peam. RAS Kalevi poolt) marmelaadi geelistuva agendina.

Tootmistegevusele eelnesid (juba alates 1950.-te aastate lõpust) keemilis-

tehnoloogilised uuringud ja katsetused. 1962. aastal kaitsti sel teemal ka väitekirj [15], 1980.-tel aastatel aga saadi 4 autoritunnistust [16]. Ilmunud on ka hulganisti erineva teadustasemega artikleid, milledest nimetame paari viimast [17, 18].

Kokkuvõtteks võib öelda, et oma aja kohta käsitlesid need uurimused sageli küllalt otstarbekalt ja professionaalselt tehnoloogilise külje üksikküsimusi (vastavate polüsahhariidide struktuuri teaduslikku uurimist käsitleme punktis 2). Kuid vaatluse alt jäid täiesti välja paljud kesksed momendid, milleta kaasaegne vetika-polüsahhariidide tehnoloogia pole mõeldav, näit. alkoholsadestus. Ei uuritud kuivatamistingimusi, termilist destruktsiooni, standardiseerimisprotsessi ega kaaliumioonide sisaldust ja mõju. Kõige olulisemaks puuduseks oli aga protsessi vaatlemine üksikküsimustena, mitte ühtse, süsteemse tervikuna.

Praktiliselt kõik need uurimused jäid Eesti ainsas agaroiditehases (asus Kärla lähedal Sõmeras, Saaremaal) rakendamata. Juba selle väiketehase asukoht oli keskkonnakaitselisest aspektist ebasobiv. Agaroidi ekstraheerimiseks vetikatest ja selle kuivatamiseks kasutati ebaökonomseid ja iganenud printsiipe, mis drastiliselt reostasid produkti ja raiskasid energiat. Kuigi selle agaritehase (väike-ettevõtte *Estagar*) toodang teatud perioodil osaliselt rahaldas marmelaaditööstuse vajadusi, on kaasaja tingimustes mõeldamatu taoliste produktide toiduainetetööstuses rakendamine (karraginaanide tänapäevaseks peamiseks kasutusala on erinevad piimatööstuse harud).

Tehase maksimumtoodang oli u. 100 t agaroidi aastas; pankrotistumise *otseseks* põhjuseks oli energia (kütuse) raiskamine: soojust (mille hind moodustas $\approx 70\%$ produkti omahinnast) kasutati aastas u. 10 tuhande tonni vee aurustamiseks väga ebaökonomsetes tingimustes.

2. Karraginaanid (vetika-polüsahhariidid)

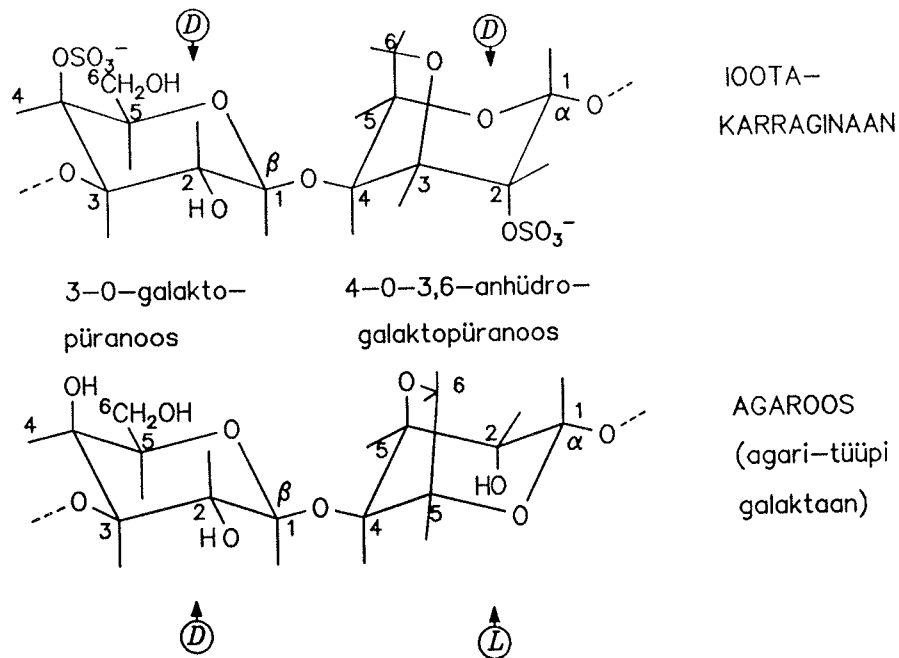
2-1. 'Struktuur - omadus' seosed [19-22]

Karraginaanid on teatud punastes merevetikates sisalduvad polüsahhariidid (keemiliselt ehituselt *galaktaanid*, s.t. galaktoosjääkidest koosnevad biopolümeerid).

Karraginaanid on agari-*taolised* polüsahhariidid (agaroidid), mitte agari-tüüpi polüsahhariidid; nende nimetamine agariks on ebaõige (seega on nimetused *danagar* ja *estagar* ekslikud). Nii agarites kui agaroidides on makromolekulaarset ahelat moodustavad galaktoosjäägid (või nende derivaadid, näit. anhüdrogalaktoosjäägid) järjestikku seotud vahelduvate 1,3- ja 1,4-sidemetega. Kui aga agari-tüüpi polüsahhariidides on üksteisele järgnevad galaktoosjäägid ahelas erineva ruumilise konfiguratsiooniga (*D*- ja *L*- isomeerid), siis agari-*taolistes* polüsahhariidides on nad kõik ühesugused (*D*-isomeerid) - selles seisnebki selgelt defineeritav *fundamentaalne* struktuurierinevus agarite ja agaroidide vahel (vt. joon. 2). See struktuurierinevus on üheks oluliseks põhjuseks nende kahte erinevat tüüpi galaktaanide omadustes.

Kuigi loodus on väga rikas eri tüüpi polüsahhariidide poolest (nad on elusaines väga levinud, moodustades $\approx 70\%$ kogu Maa biomassist), leidub karraginaanseid polüsahhariide *ainult* teatud merevetikates. Neid ei osata sünteesida ja nende *detailne* primaarstruktuur on tundmatu.

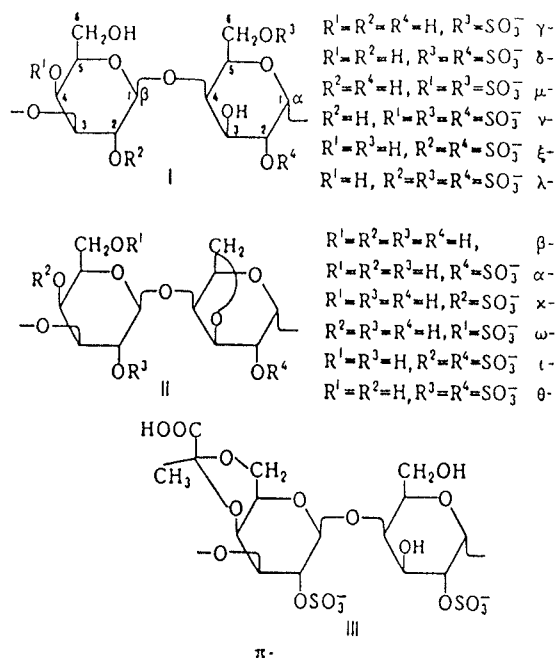
Karraginaanid on valged või kergelt värvunud amorfsed ained molekulmassiga mõnesaja tuhandest kuni mõne miljonini. Eri tüüpi karraginaanide (neid loetletakse kuni 15) struktuurierinevused seisnevad peamiselt galaktoostsüklite erinevas substitutsioonis; umbes pooled nendest galaktaanitüüpidest sisaldavad osa galaktoosi *anhüdrogalaktoosi* kujul (joon. 3).



Joon. 2. Struktuurierinevus agari-tüüpi galaktaanide (agaroosi) ja agaroidide (ioota-karraginaani) vahel.

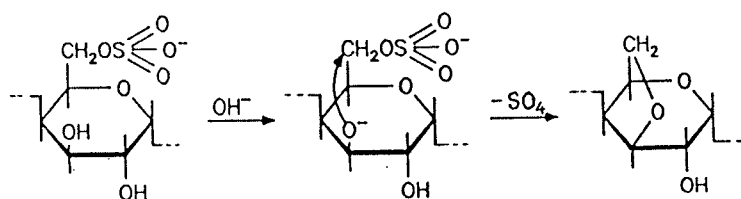
Anhüdrgalaktoosi sisaldavatel karraginaanidel on rida ühiseid omadusi. Vesi-keskkonnas moodustavad nad leelismetallioonide juuresolekul tugevaid termoreversiivseid geele. Karraginaanide geelimoodustamisvõime sõltuvus (erinevalt agaritest) keskkonnaioonjõust on tingitud nende polümeerahela laetusest (kõrgest sulfaadisisaldusest).

Eriti suur geelistumisvõime on α -karraginaanil (vt. joon. 3) kaaliumioonide juuresolekul. Muidugi sõltub geelistumisvõime veel mitmetest teistest galaktaani (ja ka keskkonna) omadustest, mida joon. 3 ei peegelda (näit. molekulmassist).



Joon. 3. Karraginaanide struktuuritüübid [19].

Heade *potentsiaalsete* geelistumisomadustega (viimane on töenduslike karraginaanide äärmiselt oluline näitaja) võivad olla ka mõned sellised karraginaanid, mis anhüdrogalaktoosi ei sisalda (või sisaldavad seda väga vähe), kuid mille galaktoosüklid on 6. asendis sulfateeritud ja 3. asendi hüdroksüülrühmad on vabad. Sellisel juhul võivad leeliselises keskkonnas sulfaatrühmad elimineeruda, moodustades 3,6-anhüdrotsükleid (geelitugevus suureneb):



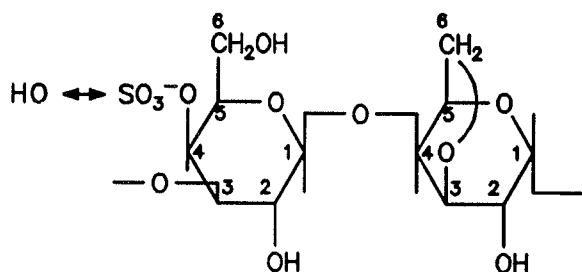
Niisiis selgitab ülaltoodud skeem, kuidas on teatud juhtudel võimalik lihtsa leelistöötuse abil suurendada galaktaani anhüdrogalaktoosi-sisaldust ja seeläbi tema geelistumisvõimet. Geelimumustamine aga ongi üks peamisi põhjusi, miks selliseid polüsahhariide üldse kasutatakse.

Eeltoodud põgus ülevaade on selgituseks ka *furtsellaraani-tüüpi* karraginaanide eraldamise ja modifitseerimise põhiprintsiipidele.

2-2. Furtsellaraani struktuuritüüp

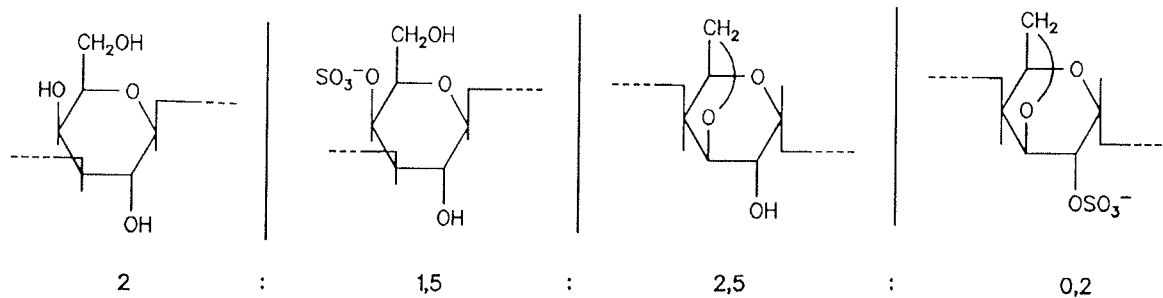
Furtsellaraanideks nimetatakse teatud suhteliselt väikese väävlisisaldusega karraginaanitüüpe (joonisel 3 esitatud struktuuride hübriide), mis esinevad *Furcellaria* perekonna punavetikates.

Furtsellaraanide struktuuri eripärad on selgelt ja korrektselt identifitseeritud peamiselt 1970.-tel aastatel [23-25]. Nende uurimuste alusel on tegemist **alasalfoateeritud æ-karraginaanidega** (galaktoostsükli 4. asend on osaliselt sulfoateerimata):



Nagu eelpool (p. 2-1) mainitud, on æ-karraginaanidel üldiselt hea geelistumisvõime (kaaliumioonide manulusel), kuid muidugi sõltub see *konkreetsel* polüsahhariidi puhul lokaalsetest eripäradest, nagu vetika liik (vorm), keskkonnatingimused, eraldamistehnoloogia jms. Furtsellaraanide üldisi omadusi on käsitletud paljudes allikates (vt. näit. [6,22,26]).

Läänemerest pärinevate furtsellaraanide struktuuri spetsiifikat on uurinud Usov jt. [27,28]. Nende uurimuste alusel sisaldab ka Läänemere *Furcellaria* alasalfoateeritud æ-karraginaani tüüpi polüsahhariide, kuid lisaks esineb veel *ι*-karraginaanile iseloomulikke tsükleid (see viib geelitugevuse vähenemisele). Lõpp-kokkuvõttes võib nimetatud uurimistulemused esitada järgmise poolkvantitatiivse skeemina:



Nagu nähtub skeemilt, ei võimalda ükski esitatud struktuurikomponent geelitugevuse tõusu leelistöötluse toimet (lk. 12 toodud skeemi alusel).

Meie uurimused on näidanud, et Läänemere punavetika *Furcellaria lumbricalise* polüsahhariidide leelistöötlusel on võimalik oluliselt tõsta nende geelitugevust ning isoleerida sellest looduslikust materjalist heade geelistumisomadustega produkt. Lähemalt on vastavaid tulemusi käsitletud eksperimentaalses osas.

E K S P E R I M E N T A A L O S A

3. Üldpõhimõtted furtsellaraani vetikatest eraldamiseks ja keemiliseks modifitseerimiseks

1° Ekstraktsioon polüsahhariidide isoleerimiseks vetikatest tuleb läbi viia nii, et võimalikult täielikult eraldada väärtuslik komponent.

Teiselt poolt - ekstraktsioon peab olema minimaalse kestvusega, et mitte kulutada liigselt energiat ning võimalikult säilitada polümeerahela natiivsust.

2° Leelismodifitseerimine (vt. p. 2-1) peab olema võimalikult efektiivne, kuid ei tohi seejuures veel põhjustada polüsahhariidi olulist destruktsiooni. Ekstraktsiooni ja modifitseerimist tuleb võimalust mööda ühitada, et hoida kokku aega ja vähendada tehnoloogia komplitseeritust.

Leelismodifitseerimine peab kindlustama 3,6-anhüdrogalaktoosi optimaalse sisalduse produktis nii, et protsesside hea tehnoloogilisuse tingimustes oleks geelitugevus küllalt kõrge.

3° Leelismetall-ioonide kasutamine sobivate geelistumistingimuste loomiseks peab olema optimaalne parima geelitugevuse saavutamiseks.

4° Furtsellaraani eraldamine ekstraktist ja produkti kuivatamine peab olema võimalikult vähedestruktiivne, energiasäästlik ja tehnoloogiline.

4. Furtsellaraani ekstraktsioon ja saagis

4-1. Ekstraktsioon ülerõhul

Et uurida *detailselt* vetikaliigi *Furcellaria lumbricalis* erinevate vormide ekstraktsioonidünaamikat eri tingimustes pikema aja vältel, keedeti vetikaid atmosfäärirõhust kõrgemal rõhul. Ülerõhu saavutamiseks kasutati meditsiinilist

Tabel 1

Fraktsioonekstraheeritud furtsellaraamide omadused

Vetika vorm (liik), polüsaaha- riidi vorm	Keeduse frakts. nr.	2% geeli		Komponentide sisaldused, %				Saagise jootus	
		geelitugevus G [g]	geelustumis- temp. [°C]	TUHK	NIISKUS	VÄÄVEL	3,6-AG	[g]	%
KINNITUNUD (=Furc. lumbricolis f. lumbricolis) Cd ²⁺	I	478	32	16,46	7,69	3,56	39,83	58,8	22,8
	II	514	33	19,25	5,71	3,50	37,91	81,1	31,5
	III	418	36	18,82	9,31	3,25	37,36	104,3	40,4
	IV	66	34	22,73	4,47	2,99	28,57	13,6	5,3
KINNITUNUD (=Furc. lumbricolis f. lumbricolis) K ⁺	I	394	38	18,80	8,70	3,01	39,78	71,0	29,4
	II	248	40	18,87	6,11	3,20	34,72	88,5	36,65
	III	202	39	18,13	7,86	3,33	33,21	70,5	29,19
	IV	—	—	23,70	5,34	2,69	27,31	11,5	4,76
KINNITUMATA (liik vtl. Lk,6) Cd ²⁺	I	450	39	19,41	6,88	4,01	33,38	93,5	38,6
	II	357	36	17,77	5,99	3,93	34,01	63,0	26,0
	III	107	35	23,06	2,56	3,30	38,14	64,2	26,5
	IV	<28	32	25,61	2,99	3,01	15,89	21,5	8,9

sterilisaatorit BK-75, fraktsioneeriv ekstraktsioon teostati temperatuuril $115 \pm 5^\circ\text{C}$. Fraktsioonide I - IV kogumise kestus oli vastavalt 2, 5, 10 ja 15 tundi. Kokkuvõtlikud andmed on esitatud tabelis 1.

4-1-1. Metoodikad

1. *Vetikaid* puhastati, pesti kraaniveega, nõrutati ja töödeldi leelise lahusega või suspensiooniga (25 g KOH või CaO 1kg vetikate kohta) 20°C juures 12h jooksul. Kasutati hüdromoodulit 10.

2. *Ülerõhul saadud ekstraktid* filtreeriti ja jäeti toatemperatuuril geelistuma.

3. *Geelid külmutati* - $10 \dots -15^\circ\text{C}$ juures ja sulatati järjestikku 2 korda, sulamisel eraldus vesi koos lisanditega. Järelejäänud furtsellaraanist võeti proov sellise arvestusega, et kuivatamisel 30°C juures ei oleks selle kuivkaal alla 5 g (kõikideks analüüsideks vajalik kogus).

4. *Geelitugevus* (G) määrati 1,5%-lise geeli puhul grammides. Eksperimendiseeria piirides määrati geelitugevus ühesugustes anumates, milledes geelikogused olid võrdsed; keskmine väärtus arvutati 3 paralleelist. Tagasijahuti all kuivast furtsellaraanist valmiskeedetud soolid geelistati termostaadis (20°C).

5. *Geelistumistemperatuur* mõõdeti visuaalselt termomeetriga.

6. *Tuhasisaldus* määrati proovi tuhastamisel 800°C juures.

7. *Niiskusesisaldus* määrati proovide kuivatamisel 30°C juures püsiva massini.

8. *Väävlisisaldus* määrati gravimeetriselt (baariumsulfaadina).

9. *3,6-anhüdrolaktoosi* (3,6-AG) määramiseks kasutati fruktoosi standardkõverat [29].

4-1-2. Tulemuste arutelu

Tabelis 1 pole näidatud produkti saagist lähtevetika suhtes, vaid selle jaotust

fraktsiooniti. Kirjeldatud eksperiment võimaldab detailselt analüüsida *Furcellaria lumbricalis*est eraldatud polüsahhariidide omadusi.

Üldine saagis vetika suhtes oli selles eksperimendiseerias vahemikus 24-26%, kuid pärast täiendavaid puhastamisi ja tehnoloogilisi kadusid on lõpp-saagis tööstuslikus protsessis tõenäoliselt $\approx 20\%$ (leelistöötuse korral). Puhta veega ekstraheerimise korral on see mõnevõrra madalam.

Keetmistulemused näitavad, et fraktsioonekstraheerimine ülerõhu tingimustes kulgeb väga aeglaselt (väävli ja 3,6-AG sisalduse muutused fraktsiooniti muutuvad vaid pikaajalisel keetmisel). Ekstraheerimise algfaasis (0-7 h) ei ole olulist vahet kinnitunud ja kinnitumata vetikavormide vahel: eraldunud galaktaanide geelitugevused on hästi võrreldavad. Kuid galaktaanide väljaekstraheerumine *kinnitumata* vormist (mis on Kassari plasti peamine alaliik) on siiski mõnevõrra kiirem; selle vetika keetmine üle 7 tunni ei ole otstarbekas.

4-2. Ekstraktsioon normaalrõhul

Ekstraktsioonikeskkonna mõju produkti saagisele ja geelitugevusele uuriti lihtsas katseseerias, mis on esitatud tabelis 2.

Vetikaid keedeti 4 tunni jooksul hüdro mooduliga 30. Ekstraheerunud galaktaanid sadestati (peale filtreerimist) etanooliga ja kuivatati. Polüsahhariididest valmistati 1,5%-lised lahused ning lasti geelistuda ühesugustes tingimustes: 20°C juures 2 tunni jooksul Geelitugevus G mõõdeti grammides (see väärtus iseloomustab minimaalset massi geelipinna 1 cm² kohta, mis põhjustab selle pinna rebestumise). Tulemused tabelis 2 näitavad selgelt kaaliumleelise kasutamise otstarbekust geelitugevuse tõstmise seisukohast; KOH kontsentratsiooni *optimumi* on lähemalt vaadeldud punktis 6-2.

Tabel 2

Punavetikate *Furcellaria lumbricalis* (Kassari laht)
ekstraktsioon erinevates keskkondades:
mõju saagisele ja geelitugevusele

Keskkond	Saagis, %	G [g]
Vesi	28,6	40
0,1 M NaOH	15,8	75
0,1 M KOH	27,7	495

5. Vetikagalaktaanide leelistöötlus

5.1. Raadiospektroskoopiline uurimus

Nagu eespool (lk. 14) näidatud, ei võimalda vetikaliigis *Furcellaria lumbricalis* identifitseeritud galaktaanstruktuurid [27,28] geelitugevuse olulist tõusu leelistöötamise tagajärjel. Aga nagu ülalpool just näidatud (tabel 2), on geelitugevuse tõus tegelikult väga oluline - ja see on määravaks tingimuseks nende galaktaanide praktilise kasutamise seisukohast.

Et saada ülevaatlikku pilti struktuurimuutustest nende vetikagalaktaanide leelistöötamise käigus, uuriti neid raadiospektroskoopiliselt. ^{13}C -tuumamagnetresonants-spektrid võeti meie poolt ette valmistatud galaktaanproovidest Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituudi spektromeetril AM-500 (*Bruker*, Saksamaa) sagedusel 125,76 MHz. Uuritud lahused sisaldasid 1,5 - 2 % galaktaanstruktuure raske vee (D_2O) lisandiga tavalises vees. Spektreid koguti prootonite täieliku sidestamatuse režiimil temperatuuril 338 K. Allpool on kirjeldatud proovide ettevalmistust (fraktsioonide eraldamist vetikatest) selleks raadiospektroskoopiliseks uurimuseks.

A. Furtsellaraansegu. 120 g sorteeritud, pestud ja kuivatatud (60°C) vetikaid *Furcellaria lumbricalis* ekstraheeriti 3 tunni jooksul 3 l dest. veega. Ekstrakt

tseentrifuugiti ja agaroid sadestati lahusest etanooliga (vastavalt vahekorras 1 : 3), sadet pesti 75%-lise etanooli vesilahusega, kuivatati 60°C juures. Saagis 30,2%.

B.æ-Karraginaan. Meetodil A saadud furtsellaraan-segust eraldati λ-fraktsioon järgmiselt. Nimetatud segu (5g) leotati 17 tunni vältel 0,33 M KCl (400 ml) lahuses; lahus eraldati pärast seda tseentrifuugimisel. Sademele lisati uuesti 400 ml 0,33 M KCl lahust, lasti 4 tundi seista, tseentrifuugiti. Ühendatud tseentrifugaatidest sadestati λ-karraginaan etanooliga ja dialüüsi.

æ-Fraktsiooni eraldamiseks lahustati eelnimetatud sade 400 ml vees. æ-Karraginaan sadestati KCl lisamisel lõpp-kontsentratsioonini 0,33 M. Sültjas sade eraldati tseentrifuugimisel ja lahustati uuesti vees, kust æ-fraktsioon sadestati etanooliga. Sadet pesti vesi-etanooli seguga, kuivatati.

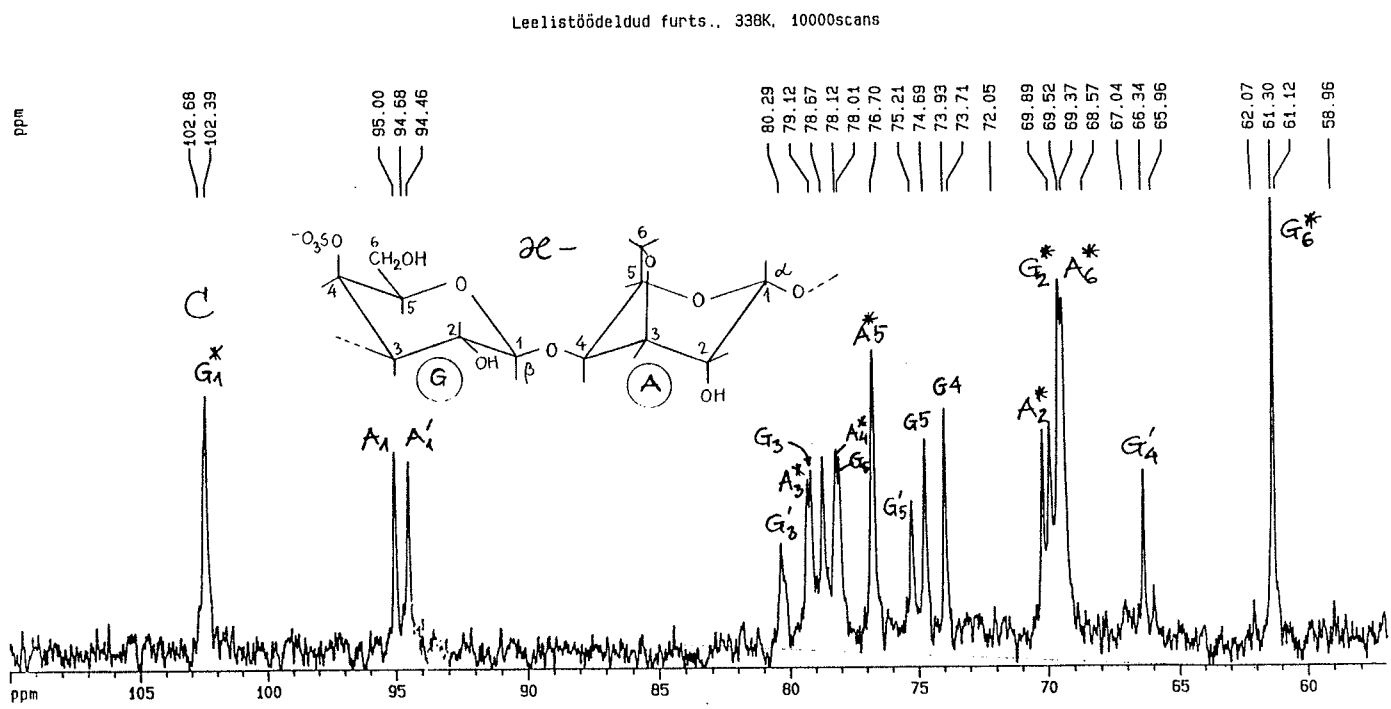
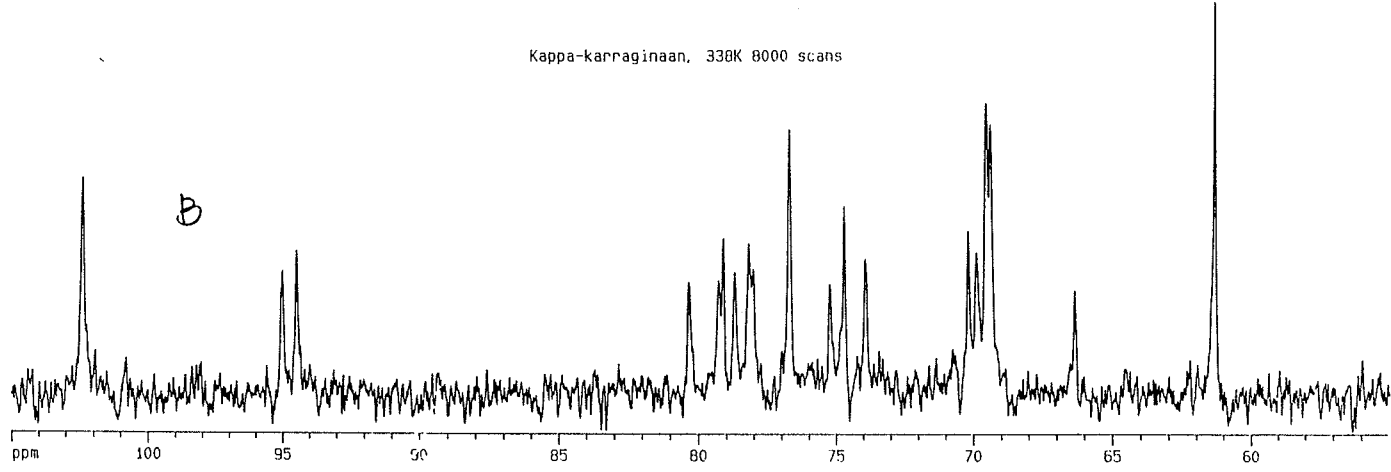
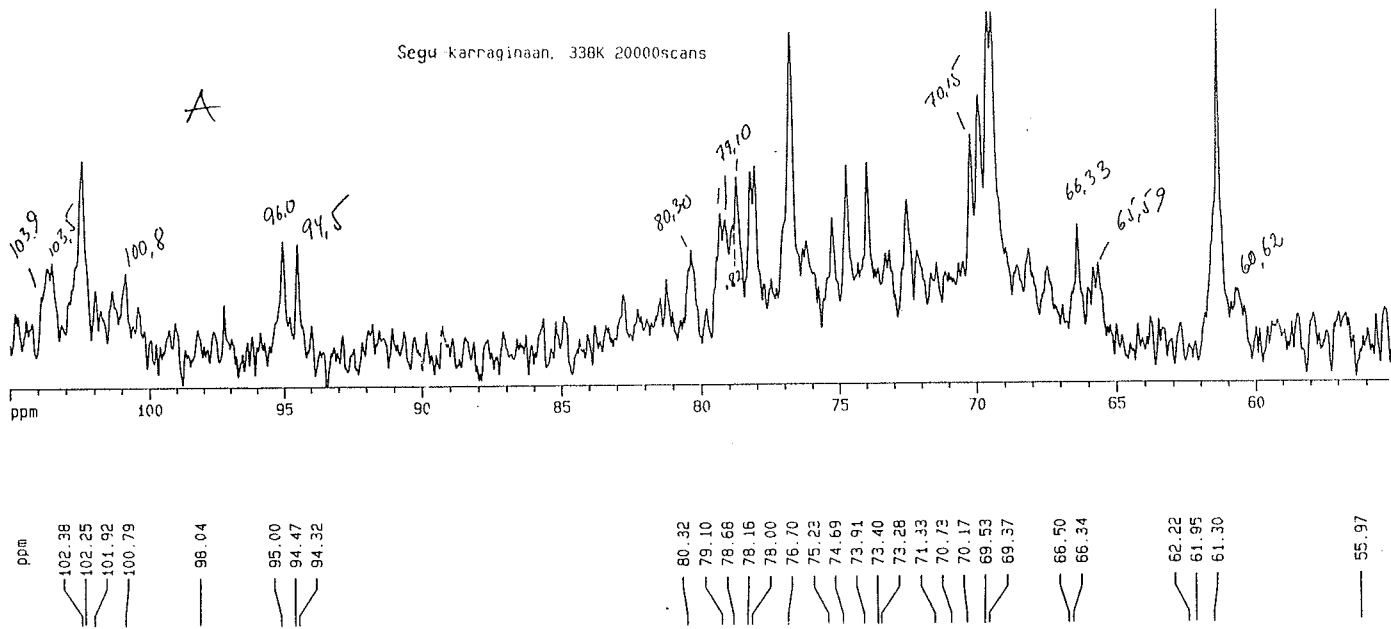
Ülaltoodud eraldamismetoodika toetub osaliselt allikale [30]; nende fraktsioonide kvantitatiivse vahekorra määramine ei ole korrektselt reprodutseeritav.

C. Leelistöödeldud furtsellaraan. 40 g vetikaid (vt. p.A) ekstraheeriti 3 tunni vältel 1 l 0,16 M KOH lahusega. Ekstrakt tseentrifuugiti, furtsellaraan sadestati supernatandist etanooliga ja pesti etanooli vesilahusega. Kuivatati 60°C juures, saagis 20,8%.

Saadud proovidest võetud spektrid (tingimused vt. ülalpool) on esitatud joonisel 4. Jooniselt näeme, et keerulise furtsellaraansegu (A) spekter lihtsustub leelistöötuse käigus tunduvalt (C), muutudes peaaegu identseks kõige paremini geelistuva komponendi, æ-karraginaaniga (B).

5-2. Monosahhariidkoostis ja leelistöötuse mõju

Teatud kindla vetikaliigi polüsahhariidne koostis (s.t., neid polüsahhariide moodustavate monosahhariidide suhteline sisaldus) oleneb vetika geograafilisest kasvukohast ning kliimatilistest ja sesoonsetest tingimustest (näit. on see koostis kevadeti erinev sügisest). Riiimveelises Läänemeres võivad ilmuda veel lisaks



Joon. 4. *Furcellaria lumbricalis*est ekstraheeritud galaktaanide ^{13}C -tuumamagnetresonants-spektrid. Spektri kohal on näidatud skaneeringute arv; selgitused tekstis.

lisafaktorid (nagu soolsuse suured kõikumised, jmt.), mis otseselt ei olene ülalnimetatud tingimustest.

Norra uurijad on tuvastanud, et sesoonsed kõikumised vetikaliigi *Furcellaria lumbricalise* polüsahhariidide koostises tasanduvad väga olulisel määral leelistöötuse tagajärjel [31]. Sel asjaolul on suur tähtsus toodangu standardse, ühtlase kvaliteedi saavutamisel kogu aasta lõikes (meie vastav uurimus on planeeritud edaspidiseks). Norralaste raadiospektroskoopiliste analüüside (¹³C-TMR-spektrite) võrdlemisel meie omadega võib täheldada suurt sarnasust Nordcapi soojas hoovuses ja riimveelises Läänemeres elava *Furcellaria lumbricalise* galaktaankoostises [5,31], kuigi vetikate kasvutingimused ning välimus on üsna erinevad [32].

Küsimus komplitseerub veelgi, kui rääkida mitte vetikate, vaid *neist ekstraheeritud produkti* koostisest - see sõltub lisaks veel ekstraktsiooni- ja modifitseerimistingimustest [33]. Tabel 3 on üheks näiteks produkti monosahhariidkoostise sõltuvusele ekstraheerimise ajast ja leelistöötusest. Tuleb aga rõhutada, et andmetel on võrdlev tähendus ainult eksperimendiseeria piirides - ülalnimetatud asjaolude tõttu võivad *absoluutväärtused* erinevatel juhtudel tugevasti kõikuda.

Proovid analüüsiks saadi filtreeritud ekstrakti alkoholsadestusel, nende monosahhariidkoostise gaas-vedelik-kromatograafiliseks määramiseks kasutati spetsiaalset meetodikat [34].

Tabel 3

Läänemere *Furcellaria lumbricalis*est ekstraheeritud
 produkti (furtsellaraani) monosahhariidkoostis

		Fraktsiooni nr.			
		1	2	3	4
Ekstraktsiooni	Keskkond	vesi			0,1 M KOH
	-----	-----			-----
	aeg (h)	1	3	6	3
Furtsellaraani monosahhariidkoostis (% õhkuivast produktist):					
Ksüloos		0,63	0,67	0,64	0,64
2-O-Metüül-3,6-anhüdrogalaktoos		0,90	0,95	1,03	0,98
6-O-Metüülgalaktoos		2,09	2,69	2,61	1,96
3,6-Anhüdrogalaktoos (3,6-AG)		19,01	22,36	20,88	22,97
Mannoos		0,21	0,14	-	0,24
Glükoos		4,00	2,28	2,65	1,59
Galaktoos (Gal)		32,22	35,09	34,81	31,23
Summaarne suhkrusisaldus		59,30	64,48	62,62	59,87
Moolsuhe 3,6-AG/Gal		0,65	0,69	0,66	0,82

Nagu tabelist näeme, on *Furcellaria lumbricalise* polüsahhariidid tunduvalt komplitseerituma koostisega, kui seda varem oli tavaks arvata. Eelmiste uurimuste puuduseks oli asjaolu, et vetikast eraldati puhas æ-polüsahhariid [27,28], millest lähtutigi edasistes struktuuriuuringutes. Selgub aga, et *reaalne furtsellaraan* on keerulisem polüsahhariid, mis lisaks võimaldab olulist leelismodifitseerimist (seda iseloomustab suhte 3,6-anhüdrogalaktoos/galaktoos muutus), mille tagajärjel geelitugevus märgatavalt suureneb.

6. Resümeerivad uurimused ja kalkulatsioonid

6-1. Selgitavaid märkusi

Kuigi uurimistulemuste laiaulatuslik ühitamine ja üldistamine, standardiseerimisküsimused jms. on loomupäraselt planeeritud uurimisprogrammi lõppfaasi (1996.-sse, eriti aga 1997. aastasse), on siiski teatud vahekokkuvõtete tegemine ka siinkohal vajalik. Seda asjaolu kajastab vetikaliigi *Furcellaria lumbricalise* puhul üldistav uurimus, mis esitatakse punktis 6-2.

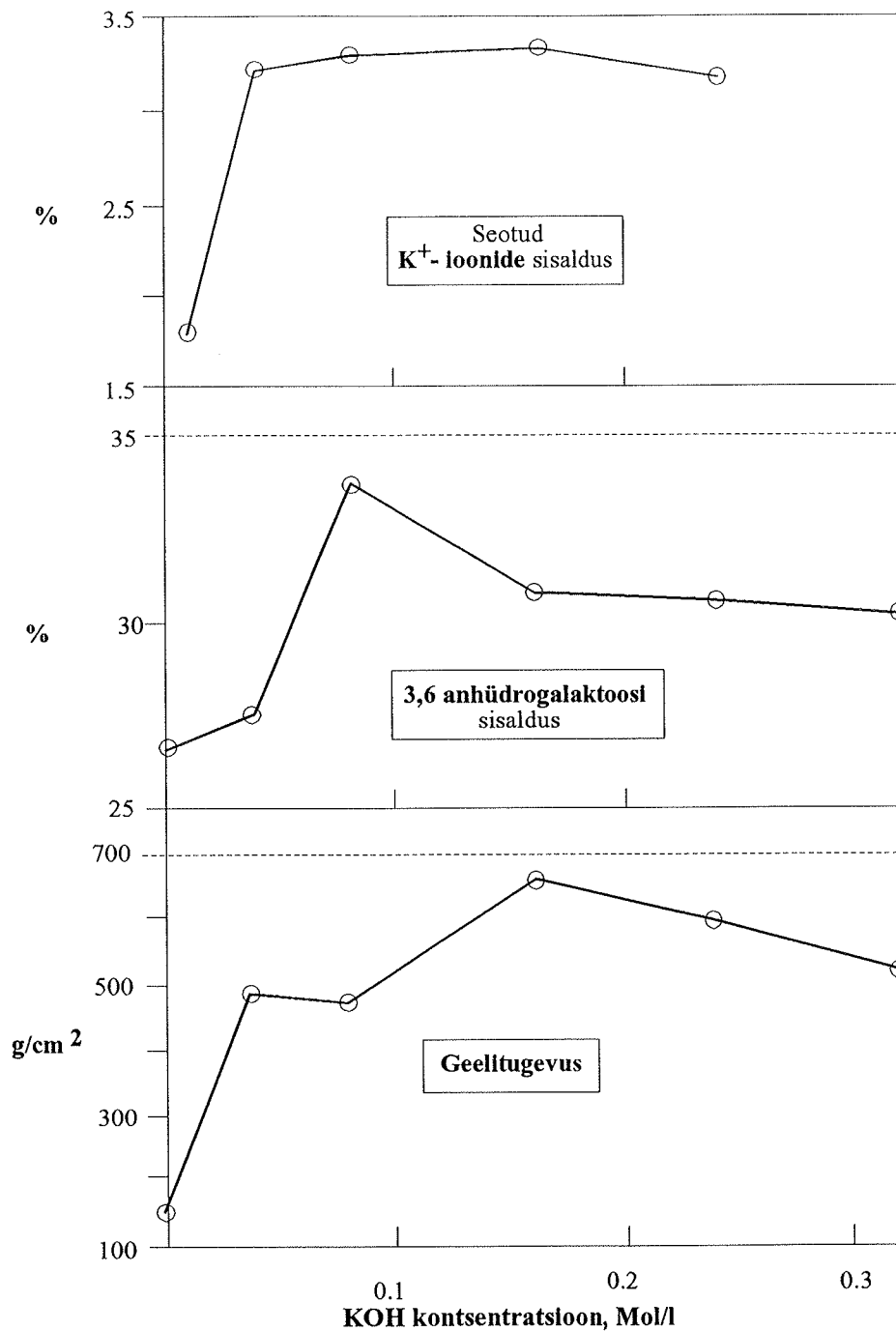
Teise plasti moodustava liigi, *Coccolytus truncatus* puhul on kavakohaselt läbi viidud vaid sissejuhatavad uuringud, mille tagajärjel on segunud vastavate polüsahhariidide üldine loomus. Need tulemused on kokkuvõtlikult esitatud punktis 6-3.

Kassari lahe vetikaplasti uurimisel ja kasutuselevõtul puutume kokku ühe spetsiifilise, teatud mõttes isegi kogu maailma ulatuses *unikaalse probleemiga*. Kuigi vetikakogumid maailma meredes pole liigilise koostise mõttes kunagi täiesti homogeensed, on üks, dominantne liik suurtes plastides siiski mõjusalt prevaleeriv - ja sellele ongi orienteeritud väljatöötatud tehnoloogia. Kassari plasti puhul on suures osas tegemist kahe ülalnimetatud liigi (enam-vähem võrdse esinemise juures) sellise füüsilise läbipõimumisega, et nende teineteisest eraldamine tehnoloogilises protsessis on täiesti välistatud. Järelikult tuleb välja töötada tehnoloogia nende vetikaliikide kompleksseks töötlemiseks.

Ühelt poolt seab selline olukord uurimuste ette huvitavad, ent komplitseeritud tingimused, teiselt poolt aga võimaldab selline looduslik toore laiemadiapasonilist tootesortimenti. Ulatuses, nagu see praegusel hetkel võimalik, käsitletakse seda küsimust punktis 6-3.

6-2. Furtsellaraani geelitugevuse sõltuvus keetmiskeskonna leeliselisusest

Joonisel 5 kujutatud sõltuvus väljendab üldistavalt oluliste tingimuste mõju furtsellaraani geelistumisomadustele.



Joon. 5. Furtcellaraani kaaliumioonide ja 3,6-anhüdrogalaktoosi sisalduse ning geellitugevuse sõltuvus ekstrahendina kasutatud KOH lahuse kontsentratsioonist

Nagu mainitud lk. 11, annavad tugevaima geeli æ-karraginaanile võimalikult lähedased struktuurid kaaliumioonide osavõtul. æ-Karraginaansete struktuuride prevaleerimine põhjustab ühtlasi 3,6-anhüdrogalaktoosi sisalduse tõusu (vrd. joon. 3).

Joonisel 5 esitatud katseseerias ekstraheeriti Läänemere vetikaid *Furcellaria lumbricalis* erineva kaaliumhüdroksiidi kontsentratsiooniga (0... 0,32 M/l) lahustes 4 tunni jooksul; seejuures toimus ühtlasi ka leelismodifitseerimine (sulfaatrühmade elimineerimine koos anhüdrotsükliite moodustumisega, vt. skeem lk. 12). Tsentrifuugimise või filtreerimisega selgitatud ekstraktist sadestati lahusesse läinud polüsahhariidid etanooliga (3 mahuosa 1 mahuosa lahuse kohta). Pretsipiteerunud furtsellaraanid kuivatati ja analüüsiti galaktaanmaatriksiga seondunud kaaliumioonide [35] ja anhüdrogalaktoosi [29] sisalduse osas, samuti määrati vastavatest kuivaineproovidest valmistatud 1,5%-liste lahuste geelitugevused.

Geelitugevuse maksimum (vt. joonis) saavutatakse ekstraktsioonil 0,16 molaarse kaaliumhüdroksiidi lahusega. See maksimum ei vasta täpselt KOH kontsentratsioonile lahuses, millega keetmine põhjustab 3,6-anhüdrogalaktoosi suurimat sisaldust (0,08 M KOH). Tehnoloogiline ideaal, mis arvestab ka lahuste viskoossustingimusi, peaks asuma nende kahe väärtuse vahemikus. Kuid lõplike järelduste tegemisel tuleb nii ekstraktsiooniaegade kui kontsentratsioonide osas arvestada ka teist vetikaliiki (vt. p. 6-1).

6-3. Kokkuvõte

Käesolev töö on kokkuvõte (koondaruanne) Keskkonnaministeeriumi poolt tellitud uurimistöö (leping nr. 7) täitmise kohta. See on esimene kolmandik aastateks 1995-1997 planeeritud vetikaprogrammi (kinnitatud Riigikogus 23. novembril 1994) keemilis-tehnoloogilisest osast.

Kahest vetikaplasti moodustavast dominantsest liigist käsitleb käesolev aruanne peamiselt vetikat *Furcellaria lumbricalis* (Huds.) Lamour. Töös on välja selgitatud selles vetikaliigis leiduvate polüsahhariidide koostis, sisaldus ja struktuursed eripärad

ning vastavad printsiibid, millel hakkab põhinema selle vetika töötlemistehnoloogia kõrgkvaliteetsete geelimoodustajate tootmiseks.

Sobivaks ekstraktsioonikeskkonnaks *Furcellaria lumbricalise* tehnoloogilisel töötlemisel on 0,1-molaarne (5,6 g/l) kaaliumhüdroksiidi lahus. Polüsahhariidide ekstraheerimisel selles lahuses toimub ühtlasi ka leelismodifitseerimine ja kaaliumioonidega rikastumine ulatuses, mis on kõige soodsamad parimate geelistumisomadustega produkti saamisel. Selles keskkonnas keemistemperatuuril 4 tunni jooksul ekstraheerunud polüsahhariidmass, nn. *furtsellaraan* on geelitugevusega 500 - 550 g/cm² (1,5%-line geel, 20°C).

Leelistöötlus tasandab osaliselt ka sesooneid kõikumisi vetika-polüsahhariidide kvaliteedis. Geelistumisomadusi iseloomustav moolsuhe 3,6-anhüdrgalaktoos/galaktoos suureneb leelistöötluse tagajärjel 0,69-lt 0,82-le. Töös on detailselt iseloomustatud ekstraktsioonidünaamikat fraktsioonide lõikes.

¹³C-tuumamagnetresonants-spektroskoopilised ja gaas-vedelik-kromatograafilised uurimused annavad tunnistust geelistumisomadustelt soodsate struktuuride tekkest ülalkirjeldatud režiimis töötamisel. Produkt on sobiv lahusest eraldada alkoholsadestusega. Kuivatamine peab toimuma pehmetes tingimustes; regenereeritud etanooli (või isopropanooli) kasutatakse korduvalt. Väljaselgitatud seaduspärasuste alusel on *Furcellaria lumbricalise* ökonoomse ja loodushoidliku keemilise tehnoloogia väljatöötamine otstarbekas ning reaalne.

Teine plasti moodustav vetikaliik *Coccolytus truncatus* sisaldab ι-karraginaani tüüpi, viskoosseid vesilahuseid moodustavaid polüsahhariide. Taolisi galaktaane kasutatakse maailmapraktikas laialdaselt piimatööstuses, mis ongi tänapäeval vetika-polüsahhariidide peamine kasutusala.

Seda vetikaliiki, mis samuti leiab maailmas tööstuslikku kasutamist, on seni vähem uuritud. Nendes vetikates leiduvate enamsulfateeritud galaktaanide (sisaldus ≈ 8% õhkkuiva vetika massist) leelismodifitseerimine pole tõenäoliselt ei otstarbekas ega võimalik, kuid leeliseline keskkond kiirendab siingi polüsahhariidide ekstraktsiooni looduslikust toormest. Esialgseid raadiospektroskoopilised uuringud näitavad nende galaktaanide püsivat koostist ekstraktsiooniajast sõltumatult.

Viimastel aastatel on selgunud sulfateeritud polüsahhariidide soodus mõju mitmesuguste viirushaiguste korral - asjaolu, mis tõenäoliselt suurendab nende senist kasutamist farmaatsias. Põhiosa vetikagalaktaanide maailmatoodangust kasutatakse senini ära väärtuslike looduslike paksendite ja želeerivate agentidena piimatööstuses (jogurtid, kreemid, pudingid jt. piimadesserdid), geelimoodustajana kondiitritööstuses (marmelaad, glasuurid, täidised), mikrobioloogias jm. Vetikaliikide *Furcellaria lumbricalise* ja *Coccolytus truncatuse* kompleksne töötlemine varieeritavates tingimustes annab võimaluse saavutada hinnatud geelimoodustajate laialdast sortimenti riigis, mis valdab selliseid, vähemalt Euroopa-osas unikaalseid vetikavarusid.

TSITEERITUD KIRJANDUS

1. Truus, K. Vetikad - meie unustatud loodusrikkus. - *Rahva Hää!*, 26. apr. 1994, lk. 5.
2. Truus, K. Eesti töenduslikud merevetikad on hävimisohus. - *Päevaleht*, 12. sept. 1994, lk. 6.
3. Trei, T. Taimed Läänemere põhjal. - Valgus, Tln., 1991. - 144 lk.
4. Holmsgaard, J.E., Greenwell, M., McLachlan, J. Biomass and vertical distribution of *Furcellaria lumbricalis* and associated algae. - Levring, T. (Ed.). Proc. 10th Intern. Seaweed Symposium. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1981, p. 309-314.
5. Knutsen, S.H. Isolation and analysis of red algal galactans. PhD Thesis. University of Trondheim, NTH, Norway, 1992. - 97 + 81 pp.
6. Schachat, R.E., Glicksman, M. Furcellaran, a versatile seaweed extract. - *Econ. Bot.*, 1959, 13, p. 365-370.
7. Lund, S., Christensen, J. On the collection of *Furcellaria* in Denmark during the years 1961 - 1967. - Proc. Sixth Intern. Seaweed Symposium. Subsecretaria de la Marina Mercante, Madrid, 1969, p. 699-701.
8. Kruk-Dowgiałło, L., Ciszewskij, P. (red.). Zatoka Pucka. Możliwości rewaloryzacji. Instytut Ochrony Środowiska, Warszawa, 1994, s. 178.
9. Kuk, H. Inimtegevuse mõjust Väinamere töenduslikule punavetikale agarikule (*Furcellaria lumbricalis*). - Inimtegevus ja keskkonnakaitse. (Tead.-praktil. konverents 19. ja 20. märtsil 1981.a.). - Tln.: ENSV TA, 1981, lk. 79-81.
10. Киреева М.С. Скопления неприкрепленных красных водорослей в морях Советского Союза. - Запасы морских растений и их использование. Наука, Москва, 1964, с. 3-25.
11. Chapman, V.I., Chapman, D.I. Seaweeds and Their Uses. 3rd Ed. Chapman & Hall, London, New York, 1980, p. 257.
12. Блинова Е.И. Ресурсы морских водорослей и трав в океане. -

- Биологические ресурсы мирового океана. Москва, 1979, с. 179-192.
13. Kukk, H. Suuline teade. Eesti Mereinstituut, 1994.
 14. Bonotto, S. List of multicellular algae of commercial use. - Marine Algae in Pharmaceutical Science/ H.A.Hoppe, T.Levring, Y. Tanaka, Eds. - Berlin, N.Y.: Walter de Gruyter, 1979, p. 121-137.
 15. Суйне О.Э. Агароподобные продукты из водорослей Балтийского моря (фурцелярия). Автореф. дисс. канд. техн. наук. Московский институт народного хозяйства им. Г.В. Плеханова, Москва, 1962.
 16. N.Liidu autoritunnistused nr. 719592(1980), nr. 922 503 (1982), nr. 952 201 (1982) ja nr. 1 024 054 (1983).
 17. Микулич Д.В., Волощенко И.А., Медведева Е.И. Студнеобразующая способность полисахаридов красных водорослей - *Furcellaria lumbriicalis* (Huds.) Lamour. и *Phyllophora truncata* (Pall.) Newroth et Taylor (Бухта Кассари, Балтийское море). - Раст. ресурсы, 1988, **24**, с. 456-459.
 18. Медведева Е., Кукк Х., Микулич Д. Исследование состава и некоторых свойств красных водорослей Балтики и выделенных из них полисахаридов. - Изв. АН Эстонии. Биол., 1989, **38**, с. 214-218.
 19. Усов А. И. Каррагинаны. - Химическая энциклопедия. Т. 2. Советская энциклопедия, Москва, 1990, с. 333-334.
 20. Towle, G.A. Carrageenan. - Industrial Gums. Polysaccharides and their derivatives. / R.L.Whistler, J.N. Bemiller, Eds. - N.Y.: Academic Press, 1973, p. 83-114.
 21. Witt, H.J. Carrageenan, Nature's most versatile hydrocolloid. - Biotechnology of Marine Polysaccharides/ R.R. Colwell, E.R. Pariser, A.J. Sinskey, Eds. - McGraw-Hill Int. Book Co., 1985, p. 345-360.
 22. Glicksman, M. Red seaweed extracts (agar, carrageenans, furcellaran). - Food Hydrocolloids. Vol. 2./ M. Glicksman, Ed. - Boca Raton (Florida): CRC Press Inc., 1983, p. 73-113.
 23. Lawson, C.J., Rees, D.A., Stancioff, D.J., Stanley, N.F. Carrageenans. Part 8. Repeating structures of galactan sulphates from *Furcellaria fastigiata*,

- Gigartina canaliculata*, *Gigartina chamissoi*, *Gigartina atropurpurea*, *Ahnfeltia durvillaei*, *Gymnogongrus furcellatus*, *Eucheuma cottonii*, *Eucheuma spinosum*, *Eucheuma isiforme*, *Eucheuma uncinatum*, *Aghardiella tenera*, *Pachymenia hymantophora*, and *Gloiopeltis cervicornis*. - J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1973, p. 2177-2182.
24. Penman, A., Rees, D.A. Carrageenans. Part 9. Methylation analysis of galactan sulphates from *Furcellaria fastigiata*, *Gigartina canaliculata*, *Gigartina chamissoi*, *Gigartina atropurpurea*, *Ahnfeltia durvillaei*, *Gymnogongrus furcellatus*, *Eucheuma isiforme*, *Eucheuma uncinatum*, *Aghardiella tenera*, *Pachymenia hymantophora*, and *Gloiopeltis cervicornis*. Structure of ξ -carrageenan. - J.Chem.Soc. Perkin Trans. 1, 1973, p. 2182-2187.
25. Painter, T. J. The location of the sulphate half-ester groups in furcellaran and α -carrageenan. - Proc. Fifth Intern. Seaweed Symposium. Pergamon Press, London, 1966, p. 305-313.
26. Bjerre-Petersen, E., Christensen, J., Hemmingsen, P. Furcellaran. - Industrial Gums. Polysaccharides and their derivatives/ R.L. Whistler, J.N. BeMiller, Eds. - N.Y.: Academic Press, 1973, p. 123-136.
27. Яроцкий С.В., Шашков А.С., Усов А.И. Полисахариды водорослей. XXV. Применение спекроскопии ^{13}C -ЯМР для анализа структуры полисахаридов типа α -каррагинана. - Биоорган. химия, 1978, **4**, с. 745-751.
28. Усов А.И., Архипова В.С. Полисахариды водорослей. XXX. Метилирование полисахаридов типа α -каррагинана из красных водорослей *Tichocarpus crinitus* (Gmel.) Rupr., *Furcellaria fastigiata* (Huds.) Lam. и *Phyllophora nervosa* (De Cand.) Grev. - Биоорган. химия, 1981, **7**, с. 385-390.
29. Yaphe, W., Arsenault, G.P. Improved resorcinol reagent for the determination of fructose, and of 3,6-anhydrogalactose in polysaccharides. - Anal. Biochem., 1965, **13**, p. 143-148.
30. Stancioff, D.J. (1965). US Patent 3,176,003 (to Marine Colloids, Inc.).

31. Knutsen, S.H., Grasdalen, H. Characterization of water-extractable polysaccharides from Norwegian *Furcellaria lumbricalis* (Huds.) Lamour. (Gigartinales, Rhodophyceae) by IR and NMR spectroscopy. - Bot. mar., 1987, **30**, p. 497-505.
32. Knutsen, S.H. Personal communication.
33. Vaher, M., Truus, K., Usov, A.I., Taure, I., Kuldvee, R. Polysaccharides from *Furcellaria lumbricalis* (Huds.) Lamour. (The Baltic Sea, Estonia): dependence of composition and rheological properties upon extraction conditions. - EUROCARB VIII. 8th European Carbohydrate Symposium (Seville, Spain, July 1995). Abstracts, B-49.
34. Усов А.И., Элашвили М.Я. Количественное определение производных 3,6-ангидрогалактозы и специфическое расщепление галактанов красных водорослей в условиях восстановительного гидролиза. - Биоорган. химия, 1991, **17**, с. 839-848.
35. Шарло К. Методы аналитической химии. Москва, 1965, с. 643.