

Study the effect of agar extraction pH on its yield and physical properties from the Syrian marine alga *Pterocladia capillacea*

Dr. Hamed Mayhoob*
Dr. Assef Abbas**
Ali Mahmood***

(Received 6 / 4 / 2017. Accepted 25 / 5 / 2017)

□ ABSTRACT □

The research aims to study is to study the effect of the pH factor of *Pterocladia capillacea* on agar yield and some of its physical properties using different degrees of pH (4- 5.5 - 5.5 - 6.5 - 7.5 - 7.5 - 8). The maximum yield of agar was 37.45% at pH = 5 and 562g / cm² and viscosity 10.7cP and 15.45% at pH = 8 with the highest strength of 768 g /cm² and viscosity of cP 156. The degree of melting and melting of agar Between (22- 33.5 °C) and (75- 86 °C), respectively.

key words: pH, yields agar, gel strength, viscosity, Gelling and melting temperature, *Pterocladia capillacea*.

*Professor, Department of Botany, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.

** Assistant Professor, Department of Botany , Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.

***PHD Student, Department of Botany, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria.

دراسة تأثير درجة pH استخلاص الأغار في مردوده و خواصه الفيزيائية من الطحلب البحري السوري *Pterocladia capillacea*

الدكتور حامد ميهوب*

الدكتور أصف عباس**

علي محمود***

(تاريخ الإيداع 6 / 4 / 2017. قبل للنشر في 25 / 5 / 2017)

□ ملخص □

يهدف البحث إلى دراسة تأثير عامل pH استخلاص الأغار من الطحلب البحري *capillacea* في مردود الأغار وبعض خصائصه الفيزيائية وذلك باستخدام درجات مختلفة من pH (4- 4.5 - 5 - 5.5 - 6 - 6.5 - 7 - 7.5 - 8). بلغ المردود الأعظمي للأغار المنتج 37.45 % عند درجة pH=5 و قوة تهلم 768 g/cm^2 ولزوجة cP10.7 وأدنى قيمة 15.45% عند درجة pH=8 مترافقة مع أعلى قوة تهلم 768 g/cm^2 ولزوجة cP 156. تراوحت درجة تهلم و نوبان الأغار بين (22 و 33.5 °C) ثم (75 و 86 °C) على التوالي.

الكلمات المفتاحية: pH ، مردود الأغار، قوة الهلام، اللزوجة، درجة حرارة النوبان و التهلم، الطحلب الأحمر

capillacea Pterocladia

* أستاذ - قسم النبات - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

** أستاذ مساعد - قسم النبات - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

*** طالب دراسات عليا (دكتوراه) - قسم النبات - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

مقدمة:

تعد الطحالب البحرية مصدراً هاماً للغذاء والأسمدة الزراعية والعلف الحيواني والطاقة (Macartain *et al*, 2007). كما تحتوي جدران بعض الطحالب على مواد هامة تسمى الغرويات الطحلبية Phycocolloids (أغار Agar ، الكاراجينان Carrageenan و ألجينات Alginate) والتي تتمتع بخواص هامة كالتهمل (Gelling) واللزوجة (Viscosifier) والتثبيت (Stabilizer) (Delattre *et al*, 2011). وتملك هذه المواد خصائص علاجية واسعة الطيف. للعديد من الأمراض مثل تخثر الدم (Cumashi *et al*, 2007) والأمراض السرطانية (Hossam *et al*., 2016) ومضادات للفيروسات (Ghannam *et al*, 2013) ومضادة للأكسدة (Khairy and El-Sheikh, 2015) وصادات للجراثيم (زينب و آخرون ، 2011).

ينتمي الأغار إلى عائلة من السكريات الكبريتية المتعددة وهو المكون الرئيسي لجدار الخلية في الطحالب الحمراء يتم استخلاصه من بعض الطحالب الكبيرة Macroalgal كالكلاسيلاريا (*Glacilaria*)، الجيليديوم (*Gelidium*)، الجيليديلا (*Gelidiella*) و البتيرو كلاديا (*Pterocladia*) من رتبة *Gelidiales* و (*Craigie*, 1990). وتتوزع شركات إنتاج الأغار من الطحالب البحرية على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم شيلي، اليابان، الصين، الهند، فرنسا، اسبانيا ، البرازيل و إيطاليا، (Silva *et al*, 2010; Bottalico *et al*, 2008; Imeson, 2010).

يتكون الأغار من سلاسل طويلة من الأغاروز (Agarose) و الأغارويكتين (Agaropectine). يشكل الأغاروز غالبية الأغار وهو يتكون من وحدات متعاقبة من د- غالاكتوروز (D-Galactose) و 3.6 انهيديرو غالاكتوروز (3,6 anhydro-L-galactose) وهو الذي يمنح الأغار القدرة على التهمل. أما الأغارويكتين فيحتوي بالإضافة لجزيئات الغلاكتوروز إلى مجموعات من الكبريتات وحمض البيروفيك و الميتوكسيل (Imeson, 2010; Venugopal, 2011). يمكن لجزيئات الغلاكتوروز في الأغارو بكتين أن تستبدل بالكبريتات وحمض البيروفيك و

الميتوكسيل اعتماداً على نوع الطحلب، وفترة الجمع أو طريقة الاستخلاص (Armisen *et al*., 2009). يعتمد مردود و تركيب الأغار على أنواع الطحالب والشروط البيئية التي توجد فيها (ChemIDplus (2011) فصل النمو (NIL *et al*, 2016) و طريقة الاستخلاص (Kumar and Fotedar, 2009; Sousa *et al*., 2010).

يستخدم الأغار كإضافة غذائية منذ اكتشافه من أكثر من 350 سنة (Imeson, 2010). ويتم استخدامه حالياً في منتجات المخابز والحلويات والمرببات، الحلويات ومنتجات الألبان (Imeson, 2010; Venugopal, 2011). بالإضافة إلى استخداماته في صناعة الأغذية، مجالات تطبيقية مختلفة (صيدلانية، طبية، مستحضرات التجميل تقانات حيوية، مخابر (الميكروبيولوجيا) الأحياء الدقيقة (كأوساط زرعية) وطب الأسنان (مواد طبقات الأسنان) (Armisen *et al*, 2009; Imeson, 2010).

أهمية البحث وأهدافه:

تخضع عملية استخلاص الأغار إلى عدة عوامل رئيسية مؤثرة (حرارة ، pH، زمن استخلاص.....) في مردوده وخصائصه الفيزيائية والكيميائية لذا يهدف البحث إلى دراسة تأثير درجة pH استخلاص الأغار من الطحلب

البحري السوري *Pterocladia capillacea* في مردوده و خواصه الفيزيائية وذلك من أجل تحسين جودته وإمكانية استعماله في المجالات المختلفة مستقبلاً وذلك بسبب قلة الأبحاث في هذا الموضوع عن هذا الطحلب.

طرائق البحث و مواده :

المادة النباتية:



شكل (1) يبين الشكل العام لطحلب بتيروكلاديا كابيلاسيا *Pterocladia capillacea*

ينتمي طحلب البتيروكلاديا كابيلاسيا الشكل (1) (S.G. Gmel.) Bornet & Thur

Pterocladia capillacea إلى:

- شعبة الطحالب الحمراء *Rhodophyta*
- صف *Florideophyceae*
- رتبة *Gelidiales*
- فصيلة *Gelidiaceae*
- جنس *Pterocladia*

المراجع التصنيفية (ميهور، 1991، عباس، 1992، ميهور وعباس، 1992، Pereira and Neto, :1992).

2015

جمع العينات:

تم جمع عينات الطحلب من شاطئ كورنيش جبلة خلال عام 2014-2015 م، نقلت مباشرة إلى مختبر البحث العلمي في قسم علم الحياة النباتية ضمن عبوات بلاستيكية، غسلت بالماء العذب جيداً لإزالة الشوائب والمواد العالقة عليها، ومن ثم جففت في الهواء الطلق وفي المحم بدرجة حرارة (60 °C) حتى ثبات الوزن (Marinho-Soriano *et al.*, 2001).

استخلاص الأغار:

- 1- تم الاستخلاص الأغار طبيعياً (بدون استخدام مواد كيميائية) وذلك بوزن 35 g من الطحلب الجاف *Pterocladia capillacea* وأضيف إليها 1750 مل من الماء المقطر.
- 2- تم استخلاص الأغار بدرجة الحموضة pH مختلفة (4- 4.5 -5 -5.5 -6 -6.5 -7 -7.5 -8) بينما الزمن (2 سا) ودرجة حرارة (100°C) ثابتة.
- 3- رشح المحلول بواسطة قطعة قماشية ذات ثقب قطرها 10 ميكرون.
- 4- ترك المحلول في درجة حرارة الغرفة بهدف الحصول على خلاصة أغار جامدة.
- 5- تم الحصول على الأغار بشكل بودرة باستخدام طريقة التجميد والتذويب (Freezing-Thawing Method) وتعتمد على وضع المنتج في درجة حرارة 10 °C. وضعت في اليوم التالي في درجة حرارة الغرفة لخروج الماء منها و بعض الشوائب غير المرغوب بها مثل الأصبغة والسيللوز والبروتينات. أعيدت الخلاصة إلى الدرجة -10°C، وهكذا تتكرر هذه العملية من 4 إلى 5 مرات من أجل التخلص من الماء الزائد والحصول على الأغار الطبيعي بعد ذلك نغسل المنتج بالأسيتون لإزالة بعض الاصبغة ثم تسحق الخلاصة لنحصل على أغار بشكل بودرة (Armisen and Galatas, 2000; Armisen *et al.*, 2009; Pereira-Pacheco *et al.*, 2007).

تم تحديد النسبة المئوية للمردود من العلاقة:

$$\text{المردود } \% = \frac{\text{(الوزن الجاف للأغار)}}{\text{(الوزن الجاف للطحالب)}} \times 100$$

(Heydari *et al.*, 2014; Kumar and Fotedar, 2009).

قياس الخواص الفيزيائية:

- قياس لزوجة الأغار: تم تحضير محلول من الأغار (1.5%) في بيشر سعته 100 مل، تقاس اللزوجة باستخدام جهاز قياس اللزوجة Nahita موديل (2/807) الشكل (2) عندما تصبح درجة حرارة المحلول 8 °C (Armisen and Galatas., 1987)°.
- تم قياس قوة الهلام Gel Strength عن طريق صب محلول الأغار (1.5%) في أطباق بتري ثم تترك في درجة حرارة الغرفة حتى يجمد ثم تحفظ في الدرجة 10 °C لمدة 15 ساعة (Chirapart and Ohno, 1993). تم قياس قوة الهلام في الدرجة 20 °C باستخدام جهاز Penetrometer موديل G4 الشكل (3).
- تم قياس درجة حرارة تجمد الأغار Gelling Temperature وقياس درجة حرارة ذوبان الأغار Melting Temperature حسب الطريقة المتبعة عند كل من (Armisen and Galatas., 1987; Freile-Pelegrin and Robledo., 1997; Praiboon *et al.*, 2006).



الشكل (2) جهاز قياس اللزوجة من النوع (Nahita) موديل (2/807)



الشكل (3) جهاز قياس قوة الهلام من النوع Penetrometer موديل G4

التحليل الإحصائي:

حللت النتائج إحصائيا بإجراء اختبار L.S.D لإيجاد الفروق المعنوية عند مستوى معنوية $\alpha=5\%$ باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS.

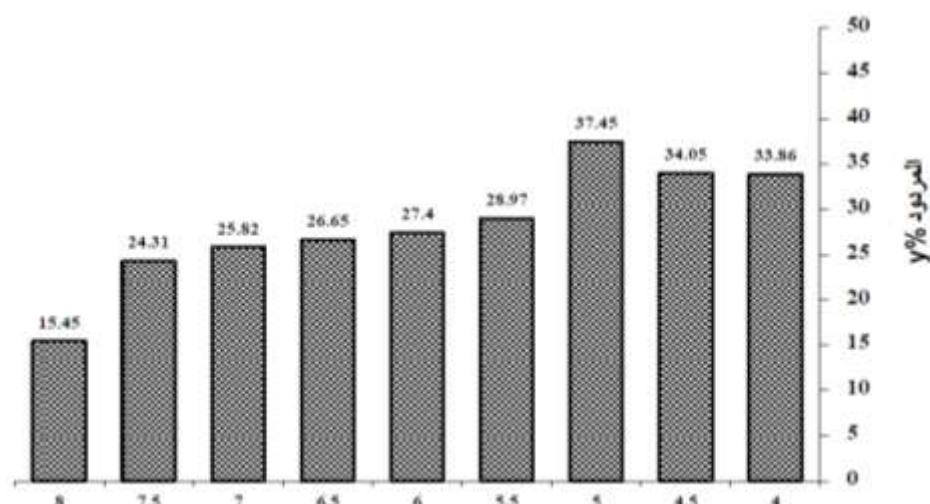
النتائج والمناقشة:

1- مردود الأغار

تراوح مردود الأغار المستخلص من 15.45 إلى 37.45% من الوزن الجاف للطحلب (الجدول 1 و الشكل 4). وتتوافق هذه النتائج مع مردود الأغار للطحلب نفسه في كل من فنزويلا (12.4-32.1% (Lemus et al., 1991 والبرازيل 5-33% (Oliveira et al., 1996) و البرازيل 15-34% (Oliveira and Berchez, 1993) وهاوي 28.9-31.1% (Santos, 1980) وأعلى منه في كل من باربادوس (جزيرة في البحر الكاريبي) 15.3% (Young et al, 1971) وفي مصر 14-27% (Rao and Bekheet, 1976)، واسبانيا 15-29.9% (Freile-Pelegrin et al, 1996) و سوريا 12-36% (عباس، 2010) والبرازيل 36.5-37% (Santos, 1980) تايوان 5.1-37.2% (Lai and Lii, 1998) بينما كان أقل من فلوريدا 41% (Cote and Hanisak, 1986) وبلغ 44% في هاواي (Santos and Doty, 1983).

الجدول 1: تأثير درجة pH الاستخلاص في مردود الأغار و خواصه الفيزيائية من الطحلب *Pterocladia capillacea*

درجة الـ pH	المردود %Y	قوة الهلام g/cm ²	اللزوجة cP	الذوبان °C	التهمل °C
4	33.86±2.47b	402±4.5h	3.5±0.23c	75±1.25f	22±3.26e
4.5	34.05±2.48b	496±0.57g	8.5±1.2c	78±0.10ef	23±1.71ce
5	37.45±2.44a	562±2.70f	10.7±0.56c	80±2.24ce	26±0.25bc
5.5	28.97±1.75c	634±10.1e	12±1.24c	80±1.4ce	27±2.42b
6	27.4±1.61cd	674±1.54ce	106±11.03b	82.5±2.31bc	29±1.90b
6.5	26.65±1.46cde	695±3.21bc	115±7.24b	83±3.15abc	32.5±2.1a
7	25.82±1.95de	717.5±21.1abc	120±4.35b	85±1.23ab	33±1.19a
7.5	24.31±1.37e	737±6.21ab	145±2.11a	85±10.23ab	33.5±1.47a
8	15.45±2.31f	768±2.12a	156±2.47a	86±4.78a	33.5±2.05a
LSD (p<0.05)	2.60	60.1	20.02	3.01	3.45
الأغار التجاري		550	6	85-88	42-44

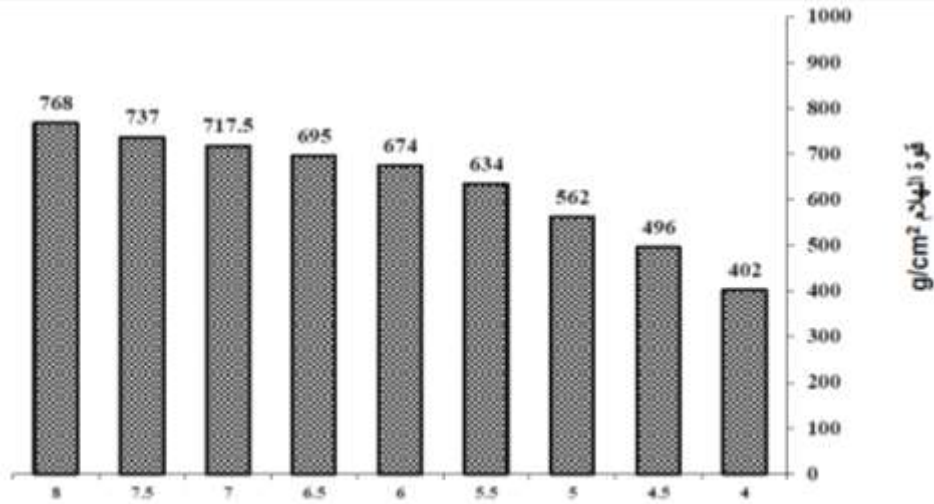


الشكل (4) يبين تأثير pH الاستخلاص على مردود الأغار

يبين الجدول (1) تأثير درجات الـ pH على مردود الطبيعي، حيث نلاحظ وجود علاقة عكسية بين قيمة المردود ودرجة الـ pH، فكلما ارتفعت درجة الـ pH من الدرجة 5 إلى 8 انخفض المردود كما هو موضح بالشكل (4) حيث أن مردود الأغار في درجة pH=5 يكون 37.45% و ينخفض إلى 15.45% عند pH=8، وهذه النتائج تتوافق مع النتائج التي تم الحصول عليها عند (محمود، 2012) على طحلب *Hypnea musciformis*، ويعزى السبب إلى أن الميل باتجاه حموضة الوسط يساعد في تخريب الجدار الخلوي وبالتالي خروج الأغار إلى الوسط الخارجي مما يؤدي إلى زيادة المردود (Hilliou *et al.*, 2005, 2006).

2- قوة الهلام :

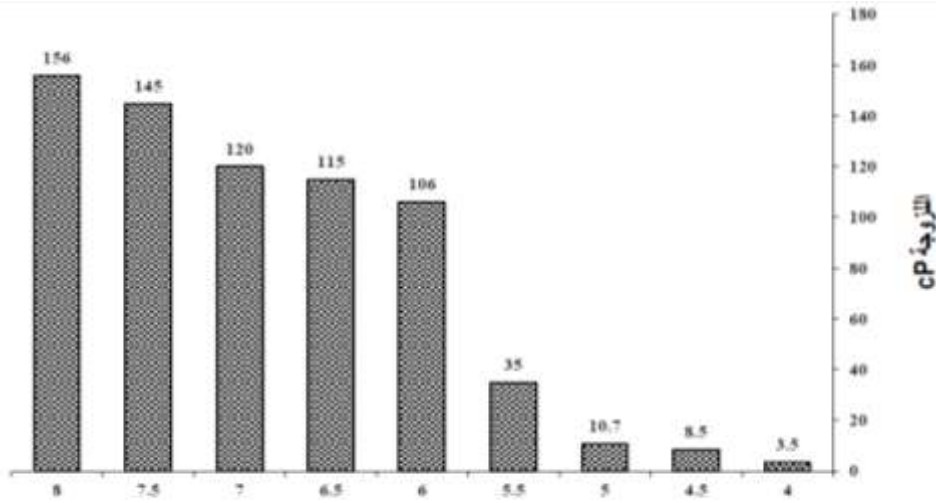
يبين الجدول (1) والشكل (5) أن هناك علاقة طردية بين قوة الهلام ودرجة الـ pH الاستخلاص، حيث أنه كلما انخفضت درجة الـ pH نقصت قوة الهلام، حيث نلاحظ أن قوة هلام الأغار عند درجة pH = 4 هو 402 g/cm² ثم ارتفعت مع زيادة درجة الـ pH لتصل إلى 768 g/cm² عند درجة pH=8، وهذا يعزى إلى انخفاض الوزن الجزيئي لسلاسل الأغار نتيجة انخفاض درجة الحموضة (محمود، 2012; Hilliou *et al.*, 2005, 2006; Langendorff *et al.*, 2000; Michaela *et al.*, 2007).



الشكل (5) يبين تأثير درجة pH الاستخلاص على قوة هلام الأغار

3- اللزوجة

يبين الجدول (1) وجود فرق معنوي بين تأثير درجة pH الاستخلاص المختلفة على لزوجة الأغار الطبيعي، حيث توجد علاقة طردية بين اللزوجة و درجة pH الاستخلاص، فكلما زادت درجة pH الاستخلاص ارتفعت قوة اللزوجة، ويعود السبب في ذلك إلى أن زيادة درجة PH يخفض من التفاعلات الكهربائية المستقرة في المحلول مما يؤدي إلى انخفاض اللزوجة (Langendorff *et al.*, 2000; Michaela *et al.*, 2007) حيث أن لزوجة الأغار في درجة PH=4 هو 3.5 cP وترتفع إلى 120 cP في درجة PH=7، لتبلغ أعلى قيمة 156 cP عند pH=8 كما هو موضح بالشكل (6). وهذه النتائج تتوافق مع نتائج دراسات (محمود، 2012) على طحلب *Hypnea musciformis*.

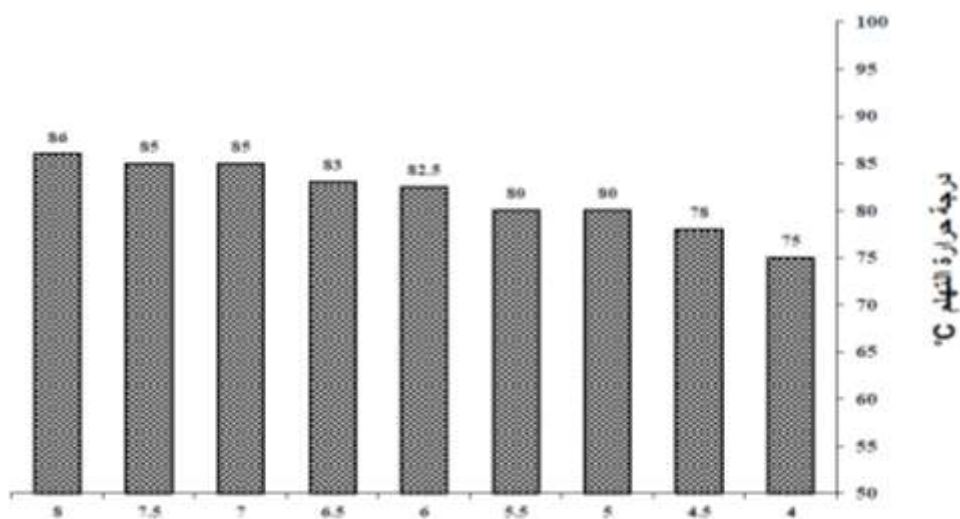


الشكل (6) يبين تأثير درجة pH الاستخلاص على لزوجة الأغار

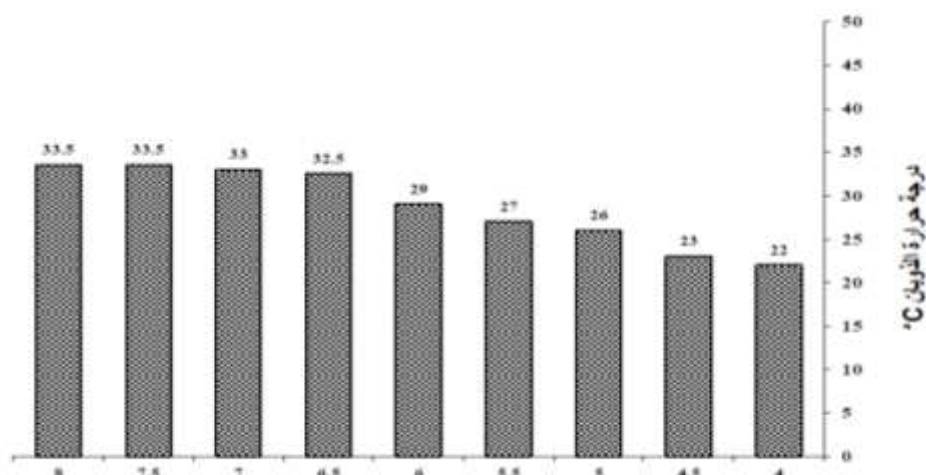
4- درجة حرارة الذوبان والتهم

نلاحظ من الجدول (1) وجود فرق معنوي في تأثير درجة pH الاستخلاص على درجة حرارة ذوبان وتهم الأغار الطبيعي، حيث نلاحظ وجود علاقة طردية بين درجة pH الاستخلاص وبين درجة حرارة ذوبان و تهم الأغار.

حيث كانت درجة حرارة ذوبان الأغار 75 °C عند الدرجة 4 وارتفعت إلى 85 °C عند درجة pH=7، ومع زيادة درجة ال pH = 8 إلى 86 °C الشكل (7)، أما درجة حرارة تهلم الأغار فكانت 22 °C عند الدرجة 4 وأصبحت إلى 33 °C عند درجة pH=6، ومع زيادة درجة ال pH إلى 8 ارتفعت درجة حرارة تهلم الأغار إلى 33.5 °C كما هو موضح بالشكل (8) وهذه النتائج تتوافق مع نتائج (محمود، 2012: Michaela *et al.*, 2000; Langendorff *et al.*, 2007).



الشكل (7) يبين تأثير درجة pH الاستخلاص على درجة حرارة تهلم الأغار



الشكل (8) يبين تأثير درجة pH الاستخلاص على درجة حرارة ذوبان الأغار



الشكل (9) يبين الأغار المستخلص من الطحلب *Pterocladia capillacea* قبل الطحن



الشكل (10) يبين الأغار المستخلص من الطحلب *Pterocladia capillacea* بعد الطحن

الاستنتاجات والتوصيات:

- 1- يمكن الحصول على مردود جيد يتراوح من 24.31% إلى 27.4% في الأغار الطبيعي عند درجة pH من 6 إلى 7.5 وهو بمواصفات فيزيائية جيدة
- 2- يزداد مردود الأغار مع انخفاض درجة pH حتى الدرجة 5 ومع تراجع في خواصه الفيزيائية.
- 3- يمكن التحكم بمردود الأغار وخواصه الأخرى ومثل اللزوجة عن طريق التحكم بشروط طريقة الاستخلاص وذلك للاستفادة منه في مجالات أوسع.
- 4- يشكل طحلب *Pterocladia capillacea* مصدراً طبيعياً لإنتاج الأغار وبمواصفات تجارية عالمية. لذا فمن الضروري حمايته و محاولة استزراعها و استثماره تجارياً في المستقبل نظراً لأهميته الطبية و الاقتصادية.

المراجع:

1. زينب ، أسمهان: عباس ، آصف و قرّة علي ، أحمد ، الفعالية الصادة لمستخلصات بعض الطحالب البحرية السورية تجاه بعض الأحياء الدقيقة الممرضة، مجلة جامعة تشرين - سلسلة العلوم البيولوجية. العدد (3). المجلد (33). 2011. 103-116.
2. عباس ، آصف، تأثير التغيرات الفصلية في مردود كاراجينان الطحلب البحري *Hypnea musciformis* وصفاته في المياه السورية. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية . العدد الأول. المجلد (28) . 2012. 155-167.
3. عباس، آصف. مساهمة في دراسة استخلاص الأغار من الطحلب البحري السوري بتيروكلاديا كابيلاسيا (*Pterocladia capillacea*) مجلة جامعة تشرين ، العدد3. المجلد32، 2010، 80-102.
4. عباس، آصف. (1992) مساهمة في دراسة النباتات البحرية القاعية على شاطئ اللاذقية . أطروحة ماجستير ، كلية العلوم، جامعة تشرين.
5. محمود، علي. مساهمة في دراسة طرائق استخلاص الكاراجينان من الطحلب *Hypnea sp.* وخصائصه الفيزيائية والكيميائية وبعض تطبيقاته. رسالة ماجستير في البيئة والتصنيف النباتي. كلية العلوم، جامعة تشرين، 2012.
6. ميهوب ، حامد و عباس ، اصف. الطحالب ذات الأهمية الاقتصادية و الطبية في سوريا: الطحالب السمراء و الخضراء. مجلة جامعة دمشق . مجلد 8 العدد 4 ص : 51-72. 1992
7. ميهوب، حامد. الطحالب البحرية ذات الأهمية الاقتصادية والطبية في سورية؛2-الطحالب الحمراء، مجلة جامعة تشرين، المجلد13، 1991 العدد3، 80-102.
8. ARMISEN, R. and F. GALATAS. *Production and properties and uses of agar*. In: (D. S. McHugh, ed.) *Production and Utilization of Products from Commercial Seaweeds* FAO, 1987, pp. 1-57.
9. ARMISEN, R. and GALATAS, F. *Agar*. In G. O. Phillips & P. A. Williams (Eds.), *Handbook of hydrocolloids*, Cambridge. England. CRC Press, 2000, pp. 21-40.
10. ARMISEN, R.; GALATAS, F.; PHILLIPS, G.; and WILLIAMS, P. *Agar*. In G. Phillip & P. William (Eds.), *Handbook of hydrocolloids* ,Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2009 , pp. 82-107.
11. BOTTALICO A., FOGLIE C.I.D., FANELLI M. *Growth and reproductive phenology of Pterocladia capillacea (Rhodophyta: Gelidiales) from the southern Adriatic Sea*. Botanica Marina. 2008; 51: 124-131.
12. CHIRAPART, A. and OHNO, M. *Seasonal variation in the physical properties of agar and biomass of Gracilaria sp. (chorda type) from Tosa Bay, southern Japan*. Hydrobiologia, 260/261, 1993, 541-547.
13. COTE G,L. HANISAK M, D. *Production and properties of native agars from Gracilaria tikvahiae and other red algae*. Bot. mar. 29: 1986, 359-366.
14. CRAIGIE, J. Cell walls, 221-258p. In: *Biology of the Red Algae*, Cambridge University Press. 1990, 517p.

15. CUMASHI A., USHAKOVA N. A., PREOBRAZHENS KAYA M. E., D'INCECCO A., PICCOLI A., TOTANI L., TINARI N., MOROZEVICH G.E., BERMAN A.E., BILAN M.I. *A comparative study of the anti-inflammatory anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds.* Glycobiology. 2007; 17: 541–552.
16. DELATTRE C., FENORADOSOA T. A., MICHAUD P. GALACTANS: *An Overview of their Most Important Sourcing and Applications as Natural polysaccharides.* Brazilian archives of biology and technology. 2011; 54: 1075-1092.
17. FREILE-PELEGRIN, Y.; D. ROBLEDO. *Effects of season on the agar content and chemical characteristics of Gracilaria cornea from Yucata'n, Me'xico.* Bot. Mar, 40, 1997, 285–290.
18. FREILE-PELEGRIN, L., ROBLEDO, Y., ARMISN, D, R., GARCIA-REINA, G. *Seasonal changes in agar characteristics of two populations of Pterocladia capillacea in Gran Canaria, Spain.* Journal of Applied Phycology 8: 1996, 239-246, 239.
19. GHANNAM, A. ABBAS, A. ALEK, H. AL-WAARI, Z. KTAIFANI, M. *Enhancement of local plant immunity against tobacco mosaic virus infection after treatment with sulphated-carrageenan from red alga (Hypnea musciformis) Physiological and Molecular Plant Pathology, ScienceDirect .84 ,2013, 19-27.*
20. HEYDARI, M. NEMATOLLAHI, M, A, MOTAME- DZADEGAN, A. HOSSEINI-PARVAR, S, H, HOSSEINI, S, A, *Optimization of the yield and Quality of Agar from Gracilaria persica, Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences., Vol 3 Spl Issue III, 2014: 289-295.*
21. HILLIOU, L., LAROTONDA, F, D, S., ABREU, P., RAMOS, A, M., SERENO, A, M., GONCALVES, M, P. *Chemical and physical characterization of biopolymers extracted from Portuguese carrageenophyte seaweeds. Biomolecular Engineering, 23, 2005, pp: 1-9.*
22. HILLIOU, L., LAROTONDA, F, D, S., ABREU, P., RAMOS, A, M., SERENO, A, M., GONCALVES, M, P. *“Effect of extraction parameters on the chemical structure and gel properties of k/i-hybrid carrageenans obtained from Mastocarpus stellatus”, Biomolecular Engineering, 23, 2006, pp:201–208*
23. HOSSAM, M. MOHAMMAD, H. ADNAN, E. ASSEF, A. ABDULMUNIM , A., HUSSEIN, D. OULA, S. AHMAD, G. *Iduction of C1 phase cell cycle arrest apoptosis in MDA MB 231 human Breast cancer cells by sulfated polysaccharide extracted from Laurencia Papillosa.CCIN-D-16-00034R1. Journal Cancer cell international. 2016, 16 (1), 1.*
24. IMESON, A. Ch. 3 Agar. In: A. Imeson (Ed.). 2010. *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents* West Sussex, UK: Wiley-Blackwell Publishing. 2009.pp. 31- 49.
25. KHAIRY. H, M. EL-SHEIKH, M, A. *Antioxidant activity and mineral composition of three Mediterranean common seaweeds from Abu-Qir Bay, Egypt, Saudi Journal Of Biological Sciences,2015,1-8.*
26. KUMAR, V. ; FOTEDAR, R. *Agar extraction process for Gracilaria cliftonii.* Carbohydrate Polymers, 78, 2009, 813–819.
27. LAI, M,K., C. LI. *Effects of Extraction Conditions on Structural and Rheological Characteristics of Agar from Pterocladia capillacea and Carrageenan from Grateloupia filicina , Botanica Marina Vol. 41, 1998, pp. 223-234 .*

28. LANGENDORFF, V., CUVELIER, G., MICHON, C., LAUNAY, B., PARKER, A., DE KRUIF, C, G. *Effects of carrageenan type on the behaviour of carrageenan/milk mixtures*, Food Hydrocolloids, 14, 2000, 273–280.
29. LEMUS, A.; BIRD, K.; KAPRAUN, D.; KOEHN, F. *Agar yield, quality and standing crop biomass of Gelidium serrulatum, Gelidium floridanum and Pterocladia capillacea in Venezuela* . Food Hydrocolloids, 5, 1991, 469-480.
30. PEREIRA, L. NETO, J, M. *Marine Algae Biodiversity, Taxonomy, Environmental Assessment, and Biotechnology*, University of Coimbra, 2015.
31. MACARTAIN P., GILL C.I.R, BROOKS M., CAMPBELL R., ROWLAND I.R. *Nutritional Value of Edible Seaweeds*. Nutrition Reviews. 2007; 65:535–543.
32. MICHAELA, C, K., FRANTIS, B, K., VLADIMI, P., PAVEL, B., JAN, H., PAVEL ,V. *Effect of carrageenan type on viscoelastic properties of processed cheese* Food Hydrocolloids, 2007, 1-8.
33. MARINHO-SORIANO, E . ; SILVA, T.S.F and MOREIRA, W.S.C.. *Seasonal variation in biomass and agar yield from Gracilaria the cervicornis and Hydropuntia cornea from Brazil*. Bioresource Technology, 77, 2001,115-120.
34. NIL, S. S. ALI-MEHIDI, A. ZELLAL AND S. M. E. A ABI-AYAD , *Effects of season on the yield and quality of agar from Gelidium sesquipedale (Rhodophyta) from Mostaganem, Algeria*, African journal of biotechnology, Vol. 15(10), 2016, pp. 350-355.
35. OLIVEIRA, E . C; SAITO, R.M; SANTO NETO, J.F; GAROFALO, M.C. *Temporal and spatial variation in agar from a population of Pterocladia capillacea (Gelidiales, Rhodophyta) from Brazil*. Hydrobiologia, 326/327, 1996, 501-504.
36. OLIVEIRA, E . C . & F. A . S . BERCHEZ, *Resource biology of Pterocladia capillacea (Gelidiales, Rhodophyta) populations in Brazil* . Hydrobiologia 260/261 : 1993 .255-261.
37. PRAIBOON, J.; CHTRAPART, .; AKAKABE, .; BHUMIBHAMOND, O.; and KAJIWARAC, T. *Physical and Chemical Characterization of Agar Polysaccharides Extracted from the Thai and Japanese Species of Gracilaria*. ScienceAsia 32 Supplement, 1, 2006, 11-17.
38. PEREIRA-PACHECO,F. ROBLEDO, D. RODRIGUEZ CARAVAJAL, L . FREILE- PELEGRIN, Y, *Optimization of native agar extraction from Hydropuntia cornea from Yucatan, Mexico*. Bioresource Technology, 98, 2007-1278–1284.
39. RAO, A.V. and BEKHEET, I.A. *Preparation of Agar-Agar from the Red Seaweed Pterocladia capillacea off the Coast of Alexandria, Egypt*. Applied and environmental microbiology. Oct, 1976, p. 479-482.
40. SANTOS, G. *Quality of carrageenan and agar*. In: Abbott IA, Foster MS, Eklund LF (eds), *Pacific Seaweed Aquaculture*. Calif. Sea Grant College Program, Institute of Marine Resources, Univ. Calif., La Jolla, Calif.: ,1980, 123-129 & 200-201.
41. SANTOS, G. and DOTY, M.S. *Agar from some Hawaiian red algae*. Aquatic Botanny, 16, 1983, 385 – 389.
42. SILVA L.M.C.M., LIMA V., HOLANDA M.L., PINHEIRO P.G., RODRIGUES J.A.G., LIMA M.E.P., BENEVIDES N.M.B. *Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of Lectin from Marine Red Alga Pterocladia capillacea*. Biol. Pharm. Bull. 2010; 33: 830-835.

43. SOUSA, A.M.M. ; ALVES, V.D. ; MORAIS, S. ; DELERUE-MATOS, C.; GONCALVES, M.P. *Agar extraction from integrated multitrophic aquacultured Gracilaria vermiculophylla: Evaluation of a microwave-assisted process using response surface methodology.* Bioresource Technology, 101, 2010, 3258–3267.

44. VENUGOPAL, V. *Marine Polysaccharides: Food Applications.* Boca Raton, FL: CRC Press Taylor & Francis Group, 2011.

45. YOUNG K, DUCKWORTH, M, YAPHE, W. *The structure of agar. Part III. Pyruvic acid, a common feature of agars from different agarophytes.* Carbohyd. Res. 16: 1971, 446-448.