مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (36) العدد (1) 2014
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (36) No. (1) 2014

بعض خصائص الألجينات المستخلصة من الطحالب السمراء البحرية السورية

الدكتور آصف عباس*

(تاريخ الإيداع 27 / 8 / 2013. قبل للنشر في 28 / 1 / 2014)

□ ملخّص □

تمّ استخلاص الألجينات من ثلاثة أنواع من الطحالب السمراء : طحلب سارغاسيوم فولغار *Sargassum vulgare* و كولبومينيا سينوزا *Colpomenia sinuosa* وطحلب بادينا بافونيكا *Padina pavonica* تمّ جمع العينات من الشاطئ السوري ثم دُرس مردود و لزوجة الألجينات والنسبة بين حمض المانوريك (M) وحمض الغليكورونيك(G). تميّزت ألجينات السارغاسيوم بمردودٍ عالٍ (27%) ولزوجة منخفضة ونسبة M/G مرتفعة (1.9) . فيما يتعلق بألجينات كلّ من البادينا والكولبومينيا فقد بلغت قيمة المردود (18%،21%) واللزوجة (180 سنتبواز ، 240سنتبواز) بينما النسبة M/G (0.8، 1.4) على التوالي.

اعتمّاداً على نتائج هذه الدراسة، يمكن أن يشكل الطحلب *Sargassum vulgare* مصدراً مهماً لإنتاج الألجينات التجارية مستقبلاً.

الكلمات المفتاحية: طحالب سمراء، استخلاص الألجينات، بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية للألجينات.

* مدرس – قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (36) العدد (1) 2014
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (36) No. (1) 2014

Some properties of alginates extracted from the Syrian marine brown algae

Dr. Assef Abbas*

(Received 27 / 8 / 2013. Accepted 28 / 1 /2014)

□ ABSTRACT □

The alginates were extracted from 3 species of brown algae: *Sargassum Padina pavonica pavonica* and *Colpomenia sinuosa*. The samples were collected from the Syrian coast and studied the yield, viscosity and the proportion mannuronic acid to guluronic acid (M/G). The Sargassum alginates characterized with high yield (27%), low viscosity (120 cP) and high M/G ratio (1.9). For the Padina and Colpomenia alginates: the yield was (18% , 21%), the viscosity was (180 cP, 240 cP) and the M/G ratio attained a (0.8, 1.4) respectively.

Based on the results of this study, the Sargassum alga can be potentially good sources for production of commercial alginates in future.

Keywords: Brown algae, Extraction of Alginates, Some Physical and Chemical Characterization Alginates.

* **Assistant Professor, department of Botany, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة:

تتعمق الدراسات والأبحاث حول الفوائد الطبية والصحية للطحالب البحرية و خاصة تأثير ما تحتويه من مركبات فعالة وأهميته تجاه العديد من الأمراض. بدأ الاستثمار المباشر للطحالب من خلال اكتشاف الأهمية الإستراتيجية للغرويات الطحلبية(اغار، ألجينات, كاراجينان ..) والإمكانات المتعددة لاستخدامها في مجالات متعددة (طبية، صيدلانية، غذائية، مستحضرات التجميل ....) يعدّ حمض الالجين من أهم الغرويات المستخدمة على نطاق واسع وفي مجالات عدة منذ أكثر من مئة سنة خلت. ينتمّي حمض الالجين و أملاحه (ألجينات الكالسيوم، ألجينات الصوديوم..) إلى مجموعة السكاكر الخطية المتعددة، يستخلص من الطحالب السمراء (Phaeophyceae) ، يغزر في الجدار الخلوي بشكل أملاح غير منحلة(Kloareg. and Quatrano, 1988) و تصل نسبته الى 52% من الوزن الجاف للطحلب .(Glicksman 1983; Moe *et al.*, 1995) يتألف حمض الالجين من حمض المانورونيك β–D–mannuronic (M) وحمض الغليكورونيك α–L–guluronic (G) تنتظم هذه الحموض في سلاسل طويلة لتؤلف مجموعات متجانسة مكونة من MM و GG و أخرى غير متجانسة (Hirst *et al.*, 1964; Haug and Larsen , 1966 ; Rees, 1969 ; Atkins *et al.*, 1970; Smidsrod, 1965; Haug and Gacesa, 1988). MG تشكل بعض الطحالب السمراء مصدراً استثمارياً لإنتاج الألجينات مثل أنواع طحلب اللامينايا Laminaria وأنواع طحلب الماكروسيتيس Macrocystis (المكسيك، النرويج، فرنسا, كندا) (McHugh, 1987 ; Skj°ak–Bræk and Martinsen, 1991).

يعتمّد استعمال الألجينات في المجالات التطبيقية على لزوجتها و النسبة M/G. تستخدم في المجال الطبي (معالجة الحروق و الجروح ، مضاد لحموضة المعدة، سرطان السرغوما، صناعة الاسنان...) و الصناعات الغذائية، الصيدلانية، مستحضرات التجميل..) (Fujiihara and Nagumo, 1992; Ibanez et Umetsu, 2002; Sousa *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2010; Ei Thu *et al.*, 2012; Nallamuthu *et al.*, 2012; Georg Jensen *et al.*, 2012).

أهمية البحث وأهدافه:

تكمن أهمية هذا البحث في التعرّف على بعض خصائص الألجينات السورية و تحديد جودتها التجارية و إمكانية استثمارها صناعياً في المستقبل ويهدف إلى:

1. استخلاص الألجينات من بعض الطحالب السمراء السورية
2. دراسة بعض الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للألجينات المنتجة
3. انتقاء أهم الطحالب السمراء ذات الاهمية الاقتصادية

طرائق البحث و مواده :

مواد البحث

1 . طحلب سارغاسيوم فولغار *Sargassum vulgare* C.Agardh

شكل –1– يبيّن الشكل العام لطحلب *Sargassum vulgare*

يملك هذا الطحلب مشرة قائمة متمّايزة إلى شبه ساق و أوراق، تتثبت بواسطة جزء قرصي قاعدي ويحمل شبه الساق فروعاً أوليةً طويلةً تحمل بدورها فروعاً ثانوية صغيرة (شكل 1). تتمّيز الأوراق بحواف مسننة و ضلع متوسط وفي إبطها أعضاء التكاثر (عنقودية قصيرة ومتفرعة) و أعضاء العوم. ينمو في البرك الشاطئية و حتى عمق 3م ، نوع شائع و يوجد في شاطئ المدينة الرياضية وجبلة و بانياس(Mayhoob,1976 ، ميهوب وعباس، 1992، عباس، 1992).

2 . طحلب كولبومينيا سينوزا *Colpomenia sinuosa* (Mertens ex Roth) Derbès & Solier

يتمّيز هذا الطحلب بمشرته المؤلفة من حويصلات كبيرة غير منتظمة يتراوح قطرها بين 3–8 سم و هي ذات لون بني مصفر(شكل 2). ينمو متثبتاً على طحالب أخرى ويبلغ أوج نموه في فصل الصيف، يصادف بغزارة على شاطئ المدينة الرياضية وعرب الملك و جبلة (Mayhoob,1976 ، ميهوب وعباس، 1992، عباس، 1992).

شكل –2– يبيّن الشكل العام لطحلب *Colpomenia sinuosa*

3. طحلب بادينا بافونيكا ***Padina pavonica*** **(Linnaeus) Thivy**

تتصف المشرة بأنها صفيحية مروحية الشكل مقسمة طولياً على نحو غير منتظم، النمو هامشي يتحقق عن طريق صف من الخلايا تقع في النهايات الملتفة للمشرة, يحمل السطح المعرض للضوء طبقة كلسيه ومجموعات متعاقبة من خطوط الأشعار السطحية (شكل 3). نوع شائع و يصادف بغزارة في المياه الضحلة الهادئة على أعماق تتراوح بين بضعة سنتيمترات إلى بضعة أمتار على شاطئ جنوبي جبلة و شمال اللاذقية (Mayhoob,1976 ، ميهوب وعباس، 1992، عباس، 1992).

شكل –3– يبيّن الشكل العام لطحلب *Padina pavonica*

4 . المواد الكيميائية و الأجهزة المستخدمة

الجينات الصوديوم، حمض كلور الماء، كاشف كاربازول، مقياس الطيف الضوئي (مخبر البحث العلمي قسم النبات، ، جهاز اللزوجة (مخبر بيوكيمياء الطحالب قسم النبات). أنجز هذا البحث في مخابر قسم علم النبات في كلية العلوم بجامعة تشرين خلال الفترة من 2011 حتى 2012 .

جمع العينّات

تمّ جمع عينّات الطحالب من شاطئ كورنيش جبلة و المدينة الرياضية ثم نقلت مباشرة إلى المختبر ضمن عبوات بلاستيكية، غسلت جيداً بالماء العذب لإزالة الشوائب والمواد العالقة عليها، ومن ثم جففت في الهواء الطلق لتصبح جافة تمّاماً ثم في المحم بدرجة (60°م).

استخلاص الألجينات

تمّ وضع 50 غ من الطحالب الجافة في بيشر يحوي 1500 مل من الماء المقطر يحوي 2% فورم الدهيد لمدة 24ساعة. تهدف هذه المرحلة إلى التخلص من المواد الفينولية التي تصبغ الألجينات المنتجة باللون البني الغامق. غسلت الطحالب المعالجة بالماء المقطر، ثم وضعت في محلول يحوي ماءً مقطراً و 0, 2 N من حمض كلور الماء لمدة 24 ساعة. ثم عولجت الطحالب المدروسة بعد التخلص الجيد من أثار الحمض بكربونات الصوديوم 3% بدرجة حرارة 60°م لمدة 6 ساعات و مع التحريك المستمّر (Calumpong *et al.*, 1999; Andriamanantoanina and Rinaudo., 2010)

رشحت الخلاصة باستخدام قطعة قماشية ذات ثقوب قطرها 10 ميكرون ثم رُسبت ألجينات الصوديوم باستخدام الايتانول بتركيز 95% على شكل ألياف بنية اللون ثم غُسلت بالأسيتون و جُففت بمحم درجة حرارته 60°م.

تحديد النسبة M/G

تمّ تحضير محلول من الألجينات المستخلصة (1%) ثم وضع في غشاء من السلوفان محكم الإغلاق موجود ضمن اسطوانة زجاجية تحوي ماء مقطر لمدة 24 ساعة(يبدل الماء في الاسطوانة كل 12 ساعة). يبخر المحلول باستخدام مبخر دوار للحصول على خلاصة ألجينات الصوديوم النقية ثم توضع في مجفف حراري للحصول على الالجينات بشكل مسحوق ناعم. تمّ إذابة 50ملغ من ألجينات الصوديوم النقية في 8 مل من الماء المقطر وأضيفت 4مل من حمض كلور الماء (1M)، ترك المزيج لمدة 2 ساعة، فصل المحلول (باستخدام مثفلة) إلى سائل طافي يحتوي على سلاسل MM أما الراسب فيحتوي على GG و MG. تمّ إذابة هذا الراسب بإضافة 5, 3 مل من الماء المقطر وعدلت درجة الحموضة للحصول على الطافي MG والراسب GG. تمّ إجراء المعايرة للمحاليل الثلاثة (MM,MG,GG) باستخدام مقياس الطيف الضوئي والكاشف كاربازول (Dubois *et al.*, 1956; Haug et Larsen, 1966).

يتمّ حساب النسبة M/G باستخدام القانون الآتي:

$$M/G = \frac{MM + MG/2}{GG + MG/2}$$

قياس لزوجة ألجينات الصوديوم

تمّ إذابة (اغ) من بودرة ألجينات الصوديوم في 100 مل من الماء المقطر، تمّ قياس اللزوجة (باستخدام جهاز قياس اللزوجة Nahita موديل 2/807) في درجة حرارة 25±5 (Glicksman, 1983)

النتائج والمناقشة:

مردود الألجينات

الجدول -1- يبين النسبة M/G و قيم مردود و ولزوجة الألجينات المنتجة

اسم الطحلب	المردود %	النسبة M/G	اللزوجة (سنتيبواز)	لون الألجينات
Padina pavonica	18	0.8	180	بني فاتح
Colpomenia sinuosa	21	1.4	240	بني غامق
Sargassum vulgare	27	1.9	120	بني غامق

يبين الجدول (1) أن مردود الألجينات يتراوح بين 18% (Padina) و 27% (Sargassum) بالنسبة للوزن الجاف. تتوافق هذه النتائج مع مردود السارغاسيوم (25- 30%) في كلّ من الهند وماليزيا (Omar *et al.*, 1988; Alankararao *et al.*,1988). وأظهرت عدة دراسات سابقة أن المردود يتغيّر بحسب طريقة الاستخلاص، إذ إن هناك عوامل عدة (درجة الحرارة، تركيز كربونات الصوديوم، زمن الاستخلاص) تلعب دوراً مهماً في المردود والخصائص الفيزيائية والكيميائية للألجينات (McHugh, 1987; Arvizu Higuera *et al.*, 1996) وأيضاً نوع الطحلب وحلقة حياته (Miller, 1996)، فصل النمو (Haug, 1964) والعوامل البيئية (Venegas *et al.*, 1993).

لون الألجينات

تحتوي معظم الطحالب السمراء على مركبات فينولية تتوضع ضمن حويصلات تسمى بالأجسام الفيزودية (Ragan and Graigie, 1978)، تلعب دوراً كمواد فعّالة حيوية ضد الجراثيم والفطريات الممرضة (Abdel fatah *et al.*, 1999). تتغيّر نسبة هذه المركبات بحسب نوع الطحلب وهي المسؤولة عن تلوين الألجينات باللون البني الغامق كما يمكن أن تضعف لزوجة الألجينات (Smidsrod *et al.*, 1967) لذا نستخدم بعض المواد الكيميائية بهدف التخلص من المواد الفينولية وتثبيط دورها. بيّنت الدراسة التجريبية، أن أكثر الألجينات تلوناً هي المستخلصة من طحلب السارغاسيوم و هذا يدلّ على أن مزيل اللون المستخدم في هذه الطريقة (الفورم الدهيد) نوعي و يبدي فعالية تجاه ألجينات الكولبومينيا لذا لا بد من البحث عن مزيل آخر (Braud, 1974) .

لزوجة الألجينات

يتضح من النتائج في الجدول رقم 1 تأثير حرارة الاستخلاص وزمنه على لزوجة الألجينات، كلّما زاد زمن الاستخلاص(6 ساعات) مع درجة حرارة مرتفعة (60°م) قاد إلى انخفاض الروابط بين سلاسل الألجينات الطويلة مما يضعف اللزوجة (Moe *et al.*, 1995) كما تتأثر بالنسبة بين حمض المانورونيك وحمض الغلكورونيك. تتراوح لزوجة ألجينات الطحالب المدروسة من ضعيفة (ألجينات السارغاسيوم) إلى متوسطة (كولبومينيا) بحسب مقياس لزوجة الألجينات التجارية (Imeson, 1997). هذا الاختلاف في اللزوجة يقود إلى الاستخدام الواسع للألجينات و ذلك

حسب مجال استعمالها، فهناك تطبيقات تحتاج إلى لزوجة ضعيفة (صناعات دوائية، مستحضرات تجميل..) أو لزوجة مرتفعة مثل الصناعات الغذائية.

النسبة M/G

تعد النسبة بين حمض المانورونيك وحمض الغلكورونيك (M/G) عاملاً مهماً في تحديد هوية الألجينات وجودتها، فكلما كانت غنية بسلاسل GG ارتفعت قدرتها على التهلم و يعز السبب إلى شراهتها للعناصر المعدنية ثنائية وثلاثية التكافؤ، بينما ألجينات غنية بسلاسل MM فإنها تمّلك لزوجة وقدرة تهلم ضعيفة .(Smidsrod, 1974)

يوضح الجدول (1) بأن ألجينات البادينا تمّلك نسبة M/G منخفضة أي تحتوي السلاسل على GG أكثر من MM وهذه النتيجة تقود إلى إمكانية استخدام هذه الألجينات في صناعة المراهم و الكبسولات التي تستخدم لامتصاص العناصر الثقيلة أو المشعة و استخدامات صيدلانية أخرى ، بينما نلاحظ أن نسبة M/G في ألجينات الكولبومينيا والسارغاسيوم هي 1.4 و 1.9 على التوالي، أي تمّلك سلاسل غنية بحمض المانورونيك و فقيرة بحمض الغلكورونيكMM أكثر من GG و هذه النسبة تتوافق مع دراسات (Alankararao *et al*, 1988) . للنبات نفسه. ارتفاع نسبة MM في سلاسل الجينات السارغاسيوم يمنحها إمكانية الاستخدام طبياً في تثبيط مرض سرطان السرغوما 180 بحسب دراسات (Sousa *et al*., 2007).

الاستنتاجات والتوصيات:

- أظهرت طريقة استخلاص الألجينات المستخدمة في هذا البحث إمكانية الحصول على مردود من ألجينات السارغاسيوم(27%) بمواصفات فيزيائية وكيميائية (اللزوجة، النسبة M/G) تسمح باستخدامه في صناعات تتطلب لزوجة ضعيفة وطبياً في إمكانية تثبيط مرض السرغوما.
- تتمّتع ألجينات البادينا و الكولبومينيا بمردود ضعيف و سلاسل GG أكثر و هذا ما يقود إلى استخدامها في الصناعات الدوائية و الغذائية نظراً لشراهتها للارتباط مع شوارد الكالسيوم و العناصر الثنائية التكافؤ.
- البحث عن طريقة استخلاص تلائم الطحلب و دراسة الشروط البيئية لنموه و أفضل الفصول لجمعه من أجل تحسين مردود الألجينات وخصائصها.
- انطلاقاً من هذه النتائج لا بد من الاستمّرار في البحث عن أنواع أخرى من الطحالب السمراء السورية بغية إمكانية استثمارها في مجالات عدة في المستقبل

المراجع :

1-ميهوب، حامد وعباس. آصف. *الطحالب ذات الأهمية الاقتصادية والطبية في سورية. 2-الطحالب السمراء والخضراء*. مجلة جامعة دمشق. 8، 1992، 51-72.

2-عباس، آصف. *مساهمة في دراسة النباتات البحرية القاعية على شاطئ اللاذقية*. اطروحة ماجستير، 1992، كلية العلوم، جامعة تشرين.

3- ABDEL FATAH, R., AL ESSA, H., and KORNPROBST, J.M.. *The phytochemistry of the macro and blue green algae of the arbian gulf*. Faculty of Science University of Qatar. 1999, 745p

4- ALANKARARAO, G. S. J. G., RAJENDRA PRASAD, Y., and RAMA RAO, K., *Alginic acid from Sargassum vulgare Børgesen Phykos* **27**: 1988,174–6.
5- ANDRIAMANANTOANINA, H., and RINAUDO, M., *Characterization of the alginates from five madagascan brown algae*. Carbohydrate Polymers 82 ,2010, 555–560.
6- ARVIZU HIGUERA, D.L., HERNANDEZ-CARMONA, G., and RODRIGUEZ-MONTESINOS, E.. *Effect of temperature and extraction time on the process to obtain sodium alginate from Macrocystis pyrifer*. Science.Mar., 22, 1996, 511-521.
7- ATKINS, E.D.T., MACKIE, W., and SMOLKO, E.E. *Crystalline structures of alginic acids.* Nature, 225, 1970, 626-628.
8- BRAUD, J.P. *Etude de quelques parametres écoologiques biologique et biochimiques chez une phéophycée des cotes bretonnnnes: Laminaria Ochroleuca.* These Doct, Uni Aix-Marseille II., 1974, 136P.
9- CALUMPONG, P. H., MAYPA, P. A., and MAGBANUA, M.. *Population and alginate yield and quality assessment of four Sargassum species in Negros Island, central Phillipines*. *Hydrobiologia, 398/399*, 1999, 211–215.
10- DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A., and SMITH, F. *Colorimetric method for determination of sugars and related substances.* Anal. Chem., 28, 1956, 350-356.
11- EITHI, H., ZULFAKAR, M.H., FERNNG, S. A*lginate based bilayer hydrocolloid films as potential slow-release modern wound dressing.* Carbohydrate Polymers Volume 434, Issues 1–2, 2012, 375–383.
12- FUJIIHARA, M., and NAGUMO, T. *The efect of the content of D-mannuronic acid and L-guluronic acid blocks in alginates on antitumor activity*. *Carbohydrate Research, 224*, 1992, 343–347.
13- GACESA, P. *Alginates*. Carbohydrate Polymers, 8(3), 1988, 161–182.
14- GEORG JENSEN, J.C., KNUDSEN, N., VIERECK, M., KRISTENSEN, A. ASTRUP. *Functionality of alginate based supplements for application in human appetite regulation. Food Chemistry, Volume 132, Issue 2*, 2012, *823-829*.
15- GLICKSMAN, M. *Food Hydrocolloids.* ed. Martin Glicksman, CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, vol, 2, 1983, 74–83.
16- HAUG, A. *Composition and properties of alginates*. Norw. Inst. For Seaweed Res., Rep. 30, 1964, 123P.
17- HAUG, A., and LARSEN, B. *A study on the constitution of alginic acid by partial acid hydrolysis*. Proc. Int. Seaweed Symp., 20, 1966, 271-277.
18- HAUG, A., and SMIDSROD, O. *Fractionation of alginates by precipitation with calcium and magnesium ions*. Acta Chem. Scand., 19, 1965, 1221-1226.
19- HIRST, E.L., PERCIVAL, E., and WOLD, J.K. *The structure of alginic acid. Part. IV: Partial hydrolysis of reduced polysaccharide*. J. Chem. Soc., 284, 1964, 1493-1499.
20- IBAÑEZ, J., UMETSU, Y. potential of protonated alginate beads for heavy metals uptake. Applied Radiation and Isotopes., 64, (2), 2002, 89–99
21- IMESON, A. *Thickening and gelling agents for food*. Technical Sales FMC corporation Food Ingredients Division Leicester, 1997, 22-44.
22- KLOAREG, B., and QUATRANO, R.S. *Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides*. *Oceanogr*. Mar. Biol. Annu. Rev. 26, 1988, 259-315.

23- MAYHOOB, H. *Recherches sur la vegetation marine de la cote syrienne. Etude experimental sur la morphpge'nse et le development de quelques especes peu connues* . These Doctorat d' Etat. Caen. France. 1976, 286p

24- MCHUGH, D. J. *Production, properities and uses of alginates, production and utilization of products from Commercial Seaweeds,* FAO Fisheries Technical Paper 288, FAO, Rome, 1987, 58-114.

25- MILLER, I.J. *Alginates composition of some New Zealand brown seaweedzs,* Phytochemistry, 41, 1996, 1315-1317.

26- MOE, S. T., DRAGET, K. I., SKJ٥K-BRوK, G., and SMIDSRّD, O. *Alginates*. In A. M. Stephen (Ed.), *Food polysaccharides*. New York: Marcel Dekker, Inc. 1995, pp, 245–286

27- NALLAMUTHU, N.A., BRADEN, M., PATEL, M.P. *Some aspects of the formulation of alginate dental impression materials—Setting characteristics and mechanical properties.* dental materials 2 8, 2012, 756–762.

28- OMAR, S., AHMAD, N. and AHMAD, F., *Composition of Aiginates from Brown Seaweeds, Sargassum and Padina spp*. Pertanika 11(1),1988, 79-85

39- RAGAN, M.A., and GRAIGIE, J. S. *Phnolic compounds in brown and red algae. In Handbook of phycological Methods 2: Physiological and Biochemical methods, Hellebust J. A. Craigie. J. S.,* Cambridge Univ Pressm Cambridge, 1978, 158-179.

30- REES, D. A.. *Structure , conformation and mechanism in the formation of polysaccharide gels qnd netzorks*. Adv. Car. Chem. Biochem., 24, 1969 , 267-332.

31- SKJAK-BRÆK, G., and MARTINSEN, A. *Application of some algal polysaccharides in biotechnology. In: Guiry MD, Blunden G (eds) Seaweed resources in Europe: uses and potentials Wiley*, New York, 1991, 219–257.

32- SMIDSROD, O. *Molecular basis for some physical properties of qlginqtes in the gel state*. Faraday Disc. Soc., 57, 1974, 263-274.

33- SMIDSROD, O., HAUG, A., and LAESEN, B. *Oxidative reductive depolymerization: a note on the comparison of degradation rates of different polymers by viscosity measurements*. Carbohydr. Res., 5, 1967, 482-485.

34- SOUSA, A.P., TORRES, M.R., PESSOA, C., MORAES,O.M., FILHO, R.F., ALVES, A.N., LOTUFO, L.V. *In vivo growth-inhibition of Sarcoma 180 tumor by alginates from brown seaweed Sargassum vulgare*. Carbohydrate Polymers., 69, 2007, 7–13.

35- VENEGAS, M., MATSUHIRO, B., EDDING, M.F. *Alginate composition of Lessonia trabeculata growingin exposed and sheltered habitats*. Bot.Mar., 1993, 36, 47-51.

36- YU.A. SAPOZHNIKOV, S.N. KALMYKOV, I.P. EFIMOV V.P. REMEZ. *The sorption of ^{90}Sr from natural waters by alginates*. Applied Radiation and Isotopes,2010, 887–888.