مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (6) العدد (3) 2022

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (6) No. (3) 2022

دراسة تأثير درجة الحرارة والزمن في استخلاص الأولفان لنوعين من الطحلب الأخضر *Ulva* من الساحل السوري

الدكتور جورج ديب*

الدكتور حسن البودي**

محمود تقلا***

(تاريخ الإيداع 12/23/ 2021 – تاريخ النشر7/6/ 2022)

□ ملخّص □

تم في هذا البحث استخلاص الأولفان (سكر متعدد كبريتي) لنوعين من الطحالب الخضراء *Ulva fasciata* و *Ulva lactuca* المجموعة من الساحل السوري وحساب المردود لكل منهما، بالإضافة لدراسة تأثير كل من درجة الحرارة والزمن على المردود.

أظهرت النتائج تفوق الطحلب *U. fasciata* على الطحلب *U. lactuca* في محتوى الأولفان حيث بلغ المردود 27.35% و 24.38% على التوالي في الشروط المرجعية (pH=2 ، 90^0 م ،3 ساعات)، وعند التعديل في شروط الاستخلاص ارتفع المردود للنوعين حتى بلغ 29.55% و27.11% على التوالي وذلك عند درجة حرارة 85 مئوية وزمن 3ساعات، بينما كانت أخفض قيمة للمردود 11.76% من طحلب *U. lactuca* عند درجة حرارة 75مئوية وزمن ساعة واحدة مقابل 12.30 %من طحلب *U. fasciata* في نفس الشروط.

الكلمات المفتاحية : أولفان، سكر متعدد، استخلاص، الطحلب الأخضر *Ulva fasciata* ، الطحلب الأخضر *Ulva lactuca* .

*أستاذ – قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية . gdeeb61@gmail.com

** أستاذ مساعد – قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية .boudi251162@gmail.com

***طالب دراسات عليا (دكتوراه) – قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية .

mahmoudtakla1@gmail.com

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (6) العدد (3) 2022

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies –Basic Sciences Series Vol. (6) No. (3) 2022

Studying the effect of temperature and the time on Ulvan extraction from two types of green algae *Ulva* from Syrian coast

Dr. George Deeb*
Dr. Hasan Albodi**
Mahmoud Takla***

(Received 23/12/2021.Accepted 7/6/2022)

□ABSTRACT □

In this study, ulvan (sulphated polysaccharide) was extracted from two species of green algae: *Ulva fasciata* and *U.lactuca,* which were collected from the Syrian coast and calculate the yield for each, in addition to study the effect of temperature and the time on the yield.

The results showed that *U. fasciata* was superior to *U. lactuca* in ulvan content where the yield was 27.35% and 24.38% respectively at reference condition of (pH=2 ، 90^0 C, 3 hours), upon modifying in the extraction conditions, the yield of two types increased until it reached 29.55% and 27.11% respectively, at a temperature of 85^0 C and time 3 hours, while the lowest yield was 11.76% of *Ulva lactuca* at 95^0 C and 1 hour opposite 12.30% of *U. fasciata* at the same conditions.

Key words: Ulvan, polysaccharide, extraction, Ulva fasciata, Ulva lactuca

* Professor, Department of Botany, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia , Syria. gdeeb61@gmail.com

** Assistant Professor, Department of chemistry , Faculty of Sciences, Tishreen University , Lattakia , Syria. boudi251162@gmail.com

***PHD Student, Department of Botany, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria. mahmoudtakla1@gmail.com

1- مقدمة :

تنتمي الطحالب البحرية إلى المشريات التي ليس لها جذور أو ساق أو أوراق حقيقية وهي بسيطة التركيب وغير متخصصة نسبياً (Thirumaran *etal*., 2009)، شكلت الطحالب البحرية مصدر للغذاء منذ القدم (Pangestuti and Kim, 2011)، حيث استخدمت في تغذية الحيوان بسبب غناها بالبروتين (Bendary *etal*.,2013)، بالإضافة إلى استخدامها في المجالات الطبية (Synytsya *etal*.,2010) والصيدلانية (Kim *etal*.,1998)، نظراً لهذه الأهمية تم البدء بدراسة الطحالب البحرية محلياً بشكل تصنيفي ومن ثم الانتقال إلى نواحي تطبيقية تضمنت استخدام الطحالب كأسمدة حيوية زراعية (Deeb *etal*.,2017)، كما تمت دراسة تأثيرها على الجراثيم (Dawod and Mesto,1997)، وغيرها. علاوة على ذلك جذبت الطحالب البحرية مؤخراً الانتباه كونها تشكل مصدراً للغرويات الطحلبية المختزنة في جدرها الخلوية مثل الآغار والكاراجينان والألجينات (Mayer and Hamann,2002) بالإضافة لبعض المركبات التي لم تدرس بشكل وافي من حيث طرق الاستخلاص والخواص مثل الأولفان الموجود بشكل خاص في أجناس رتبة Ulvales من الطحالب الخضراء(Cunha and Grenha,2016) والذي يُظهِر نشاط مضاد للأكسدة (Huimin, *etal*.,2005)كما يلعب دوراً في خفض الكولستيرول(Qia,*etal*.,2012) ويبدي نشاط معادٍ للفيروسات عند الإنسان والطيور وخاصةً فيروسات الأنفلونزا (Ivanova *etal*.,1994) كما لوحظ تأثيره بشكل عالي ومحدد ضد فيروس الحلأ البسيط (Cassolato *etal*.,2008) بالإضافة لخواصه الكيميائية والفيزيائية الفريدة التي جعلته مادة هامة للعديد من التطبيقات الغذائية والزراعية والصيدلانية (Lahaye and Robic,2007) ، بالرغم من هذه الأهمية للأولفان لا توجد دراسات محلية وافية تناولت استخلاصه أو دراسة خواصه للتحقق من إمكانية استثماره، وبالرغم من أن الطحالب الخضراء تتفوق على الحمراء والسمراء من حيث التنوع ومناطق الانتشار، ونظراً لأهمية الأولفان وانتشار أجناس رتبة Ulvales بكثافة على امتداد الساحل السوري قمنا في دراستنا على التركيز باستخلاص الأولفان من النوعين *U.fasciata* و *U.lactuca* ودراسة تأثير بعض الشروط على المردود تمهيداً لاستثماره مستقبلاً بالشكل الأمثل.

2-أهمية البحث وأهدافه :

نظراً للأهمية التطبيقية التي يشكلها الأولفان في المجالات الطبية والصيدلانية والغذائية والزراعية والإقبال العالمي في البحث عن مصادر طبيعية متجددة وبسبب غزارة الطحالب الخضراء على الشاطئ السوري، نرى من المهم استخلاص الأولفان وتحديد تأثير بعض الشروط المخبرية كدرجة الحرارة والزمن في المردود تمهيداً لدراسة بعض خواصه لمعرفة مجالات استثماره مستقبلاً.

3-مواد البحث وطرائقه:

3-1-الخصائص الشكلية والتصنيف لعينات الطحالب :

التصنيف العلمي:

صف : *Ulvophyceae*

رتبة : *Ulvales*

فصيلة : *Ulva*ceae

جنس : *Ulva*

نوع : *U.fasciata*

U.lactuca

● *Ulva fasciata* : يتميز بمشرة خضراء صفيحية قائمة تتثبت بواسطة جزء قرصي صغير تنطلق منه أجزاء شريطية عريضة في المنتصف وضيقة قرب القمة. يبلغ طول المشرة أكثر من 30 سم، وتتميز بحواف مموجة، وهو نوع شائع واسع الانتشار على شواطئنا ولا سيما في المياه المعرضة للتلوث بالمواد العضوية كمصبات مياه الصرف الصحي.

● *Ulva lactuca* : يتميز بمشرة صفيحية عريضة ذات لون داكن أكثر من النوع الأول حوافه مموجة قد يصل طوله إلى 18 سم وعرضه إلى 30 سم، ينمو على الصخور أو متثبتاً بالطحالب الأخرى.

ويتواجد النوعان بكميات كبيرة على الشواطئ السورية (Mayhoob,1976؛ Abbas,1992)

الشكل(1) الشكل العام لطحلب *Ulva faciata* **الشكل(2) الشكل العام لطحلب *Ulva lactuca***

3-2-جمع العينات الطحلبية :

جمعت عينات *U. fasciata* و *U. lactuca* من شاطئ المدينة الرياضية (بمدينة اللاذقية) خلال ربيع 2020، وتم غسلها بالماء العذب ثم بالماء المقطر بشكل جيد وذلك للتخلص من الملوحة والشوائب العالقة بها، ثم نقلت إلى المخبر بأكياس بلاستيكية وجففت في الظل لعدة أيام ثم في محمٍ عند الدرجة 60^0 م حتى ثبات الوزن،

وسحقت بطاحونة كهربائية لتصبح على شكل مسحوق ناعم، ووضعت في عبوات بلاستيكية محكمة الإغلاق لحين الاستعمال، وسجلت المعلومات المتعلقة بمكان وتاريخ الجمع على العبوات البلاستيكية.

3-3-استخلاص مركب الأولفان :

تم وضع 60 غ من مسحوق النوعين الطحلبيين كل على حدا في 1 ل من محلول حمض كلور الماء pH=2 ، ويحرك، ثم وضع في حمام مائي ساخن بدرجة حرارة 90^0 م لمدة 3 ساعات، بعد ذلك يرشح ويبرد بدرجة حرارة الغرفة، ومن ثم يتم تثفيله (10000 دورة/الدقيقة لمدة 20 دقيقة)، ورشح القسم الطافي مرة ثانية، ومن ثم تم تعديل pH الوسط إلى 3.5 بإضافة NaOH، وبعد ذلك تمت إضافة 3 أضعافه من الإيتانول 96%، ووضع في المثفلة من جديد(5000 دورة/الدقيقة لمدة 20 دقيقة)، ثم أخذ الراسب وتمت معالجته مرة ثانية بالإيتانول وثفل أيضاً (5000 دورة/الدقيقة لمدة 10 دقائق)، ثم جفف عند الدرجة 40^0 م حتى ثبات الوزن ،ثم طُحِن لحين استخدامه.(Yaich *etal.*,2013)

حساب المردود من العلاقة: **المردود Y%= [(الوزن الجاف للأولفان) / (الوزن الجاف للطحالب)] × 100**

وأجريت 5 مكررات لكل نوع من الطحالب.

كررت طريقة الاستخلاص ذاتها للنوعين، مع تعديل الشروط من درجة الحرارة والزمن ثم تم حساب المردود لكل تجربة، ومن ثم قورنت النتائج.

تم إجراء البحث في مخابر قسم علم الحياة النباتية في كلية العلوم بجامعة تشرين.

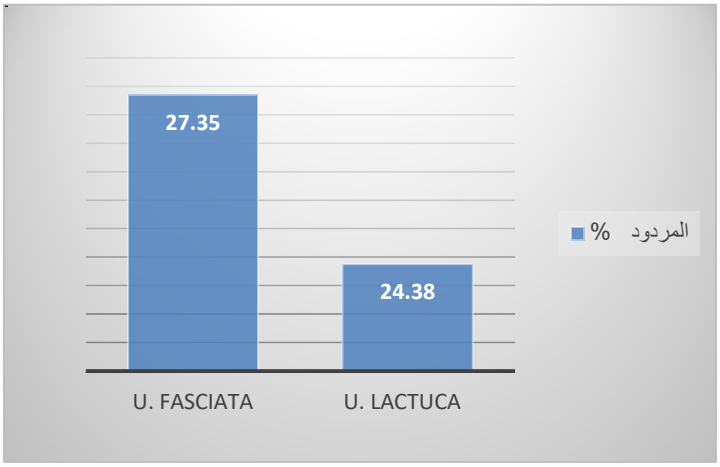
4-النتائج و المناقشة :

4-1-استخلاص الأولفان:

أظهرت النتائج جدول(1) والشكل(3)، أن المردود الأعلى للأولفان كان من الطحلب *U. fasciata* حيث بلغ 27.35% في حين كان المردود من الطحلب *U. lactuca* 24.38%

جدول (1) الوزن الجاف للأولفان والمردود في الشروط المثلى

نوع الطحلب	وزن مسحوق الطحلب بـ(غ)	وزن الأولفان الجاف ب(غ)	المردود%
U. fasciata	60	16.41	27.35
U. lactuca	60	14.63	24.38



الشكل (3) التمثيل البياني للمردود في الشروط المثلى

وهذا يتوافق مع (Hussein *etal*,2015) في مصر مع اختلاف النسبة، حيث بلغ المردود من *U. fasciata* 16.96% ومردود *U. lactuca* 14.83%، وتوافق مع مجال المردود في أمريكا حيث تراوحت 29-8% (Lahaye and Robic,2007)، وتفوقت هذه النسب للمردود على نسبته في البرازيل 21.1% (Paulert *etal*,2010) والفيلبين 23.71% (Magdugo *etal*,2020) واليابان8.5% (Tako *etal*,2015) وفرنسا 21.5% (Robic *etal*,2009)، في حين انخفض عن مستوى المردود في تونس البالغ 32.67% (Yaich *etal*,2013)، أرجعت هذه الاختلافات في قيم المردود وفق العديد من الدراسات إلى اختلاف الطحالب المستخدمة والشروط الفيزيولوجية والبيئية المرافقة لنموها(Cardozo *etal*., 2007; Wang *etal*., 2014)، كما أن المحصول الكمي والنوعي للأولفان ممكن أن يتفاوت بشكل ملحوظ اعتماداً على طريقة الاستخلاص وعمليات التنقية ومصدر الكتلة العضوية للطحالب (Alves *etal*,2013) بالإضافة إلى شروط تخزين الكتلة العضوية للطحالب التي تم جمعها والمعالجة قبل الاستخلاص(Robic *etal*,2008) .

4-2- تأثير درجة الحرارة والزمن على المردود:

درس تأثير درجة الحرارة والزمن على مردود الاستخلاص لكل نوع من الأولفان المدروس، وتبين الجداول التالية النتائج التي تتم الحصول عليها.

جدول (2) علاقة درجة الحرارة والزمن بالوزن الجاف للأولفان المستخلص من طحلب *U. fasciata* مقدراً بـ(غ)

الحرارة(^{0}م) / الزمن(ساعة)	75	80	85	90	95
1	7.38	9.24	11.03	10.55	9.83
1.5	8.14	10.75	13.40	12.82	11.23
2	8.89	11.93	14.46	13.58	11.87
2.5	10.85	12.04	15.24	16.20	13.44
3	11.03	13.45	17.73	16.41	14.65
3.5	10.50	12.55	15.86	15.35	14.03

جدول(3) علاقة درجة الحرارة والزمن بمردود الاستخلاص % للأولفان المستخلص من طحلب *U. fasciata*

الحرارة(^{0}م) / الزمن(ساعة)	75	80	85	90	95
1	12.30	15.40	18.38	17.58	16.38
1.5	13.56	17.91	22.33	21.36	18.71
2	14.81	19.88	24.10	22.63	19.78
2.5	18.08	20.06	25.40	27.00	22.40
3	18.38	22.41	29.55	27.35	24.41
3.5	17.50	20.91	26.43	25.58	23.38

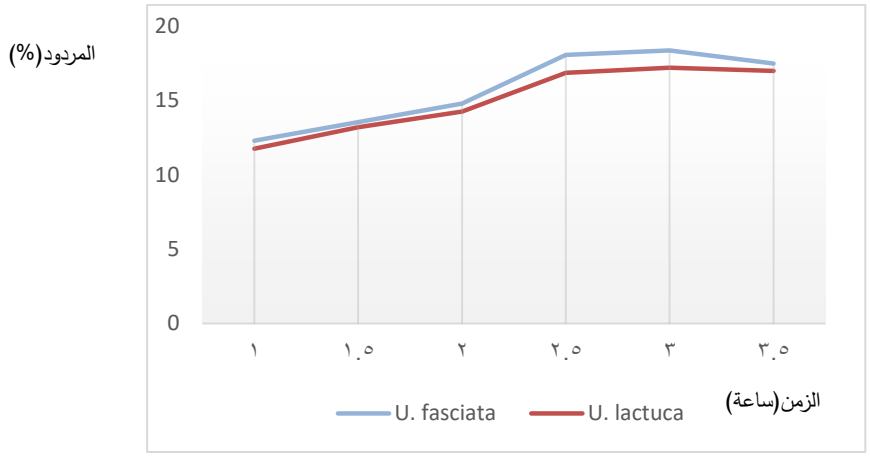
جدول(4) علاقة درجة الحرارة والزمن بالوزن الجاف للأولفان المستخلص من طحلب *U. lactuca* مقدراً بـ(غ)

الحرارة(^{0}م) / الزمن(ساعة)	75	80	85	90	95
1	7.06	8.86	10.14	9.05	8.13
1.5	7.92	10.12	11.48	9.57	9.21
2	8.56	11.14	12.75	11.50	10.08
2.5	10.12	11.92	14.50	12.87	12.13
3	10.33	13.14	16.27	14.63	14.05
3.5	10.20	12.11	15.38	13.45	13.10

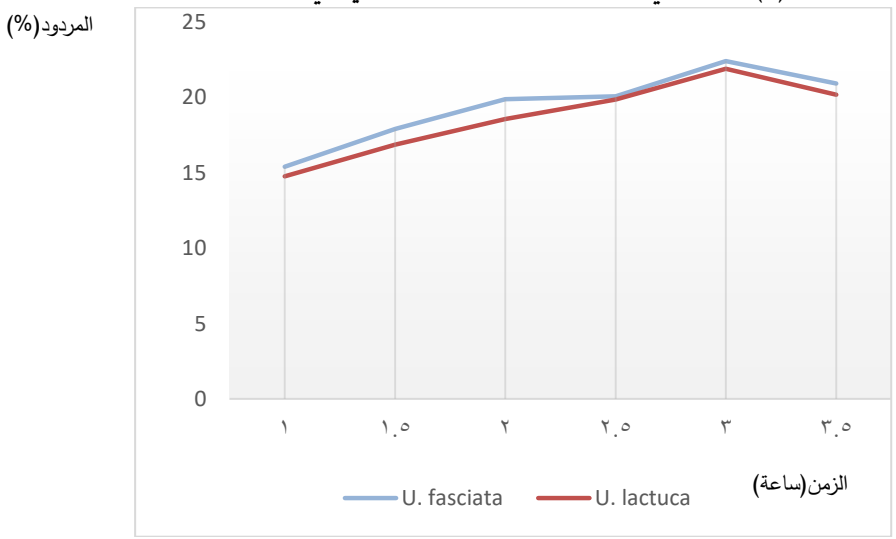
جدول(5) علاقة درجة الحرارة والزمن بمردود الاستخلاص % للأولفان المستخلص من طحلب *U. lactuca*

الحرارة(^{0}م) / الزمن(ساعة)	75	80	85	90	95
1	11.76	14.76	16.90	15.08	13.55
1.5	13.20	16.86	19.13	15.95	15.35
2	14.26	18.56	21.25	19.16	16.80
2.5	16.86	19.86	24.16	21.45	20.21
3	17.21	21.90	27.11	24.38	23.41
3.5	17.00	20.18	25.63	22.41	21.83

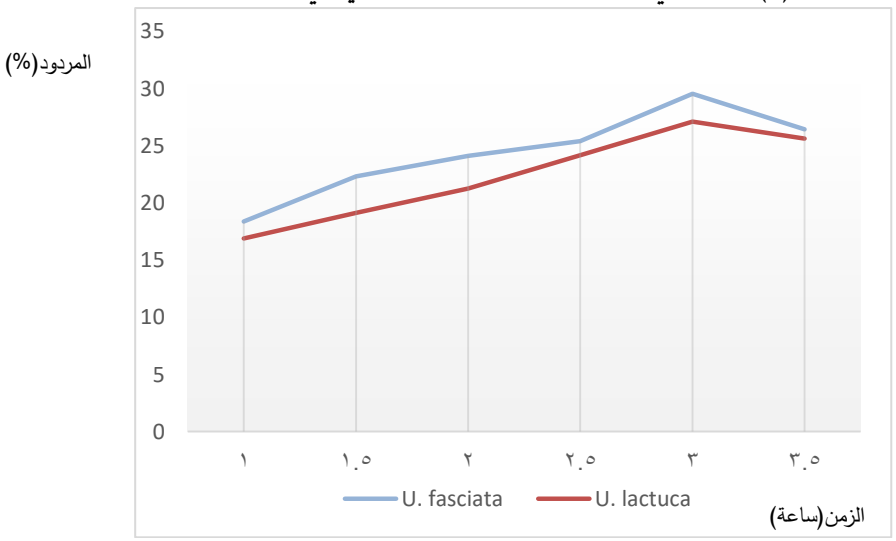
وتبين الأشكال من(4 حتى8) التمثيل البياني للمردود عند درجات الحرارة المختلفة من (90–75) درجة مئوية في أزمنة مختلفة من (3.5–1) ساعة.



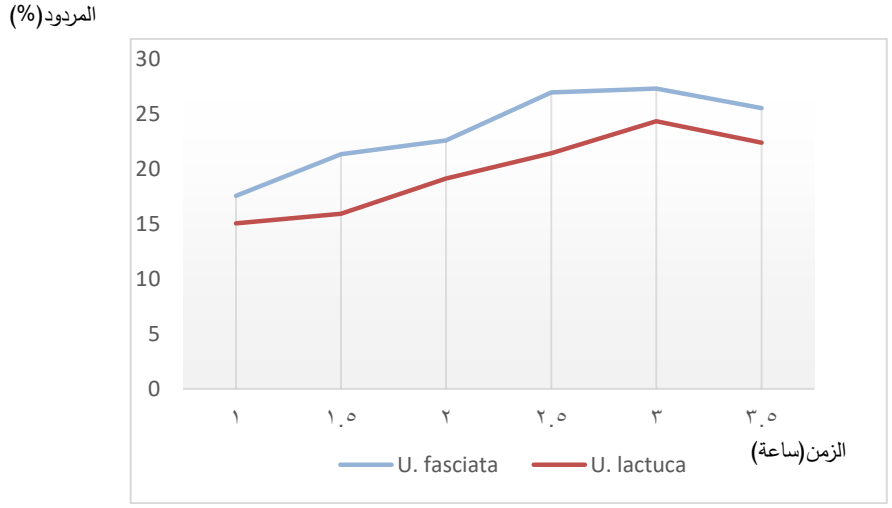
الشكل(4) تمثيل بياني للمردود عند درجة حرارة 75مئوية في أزمنة مختلفة



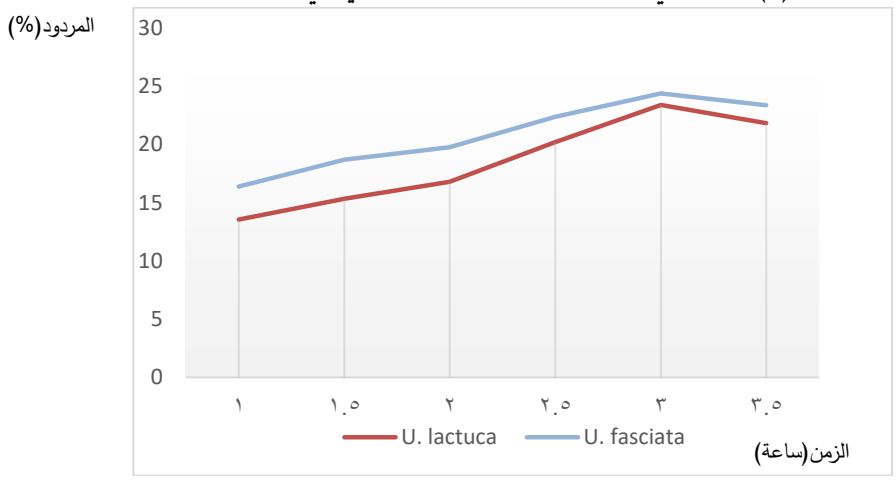
الشكل(5) تمثيل بياني للمردود عند درجة حرارة 80 مئوية في أزمنة مختلفة



الشكل(6) تمثيل بياني للمردود عند درجة حرارة 85 مئوية في أزمنة مختلفة



الشكل(7) تمثيل بياني للمردود عند درجة حرارة 90 مئوية في أزمنة مختلفة



الشكل(8) تمثيل بياني للمردود عند درجة حرارة 95 مئوية في أزمنة مختلفة

أظهرت النتائج أن القيمة العظمى للمردود بلغت 29.55% من طحلب *U. fasciata* مقابل 27.11% من طحلب *U. lactuca* عند درجة حرارة 85^0 م وزمن 3ساعات، وأخذت المنحنيات بالارتفاع نحو الحد الأعظمي المذكور ثم انخفضت تدريجياً شكل (6)، في حين كانت أخفض قيمة للمردود 11.76% من طحلب *U. lactuca* مقابل 12.30 %من طحلب *U. fasciata* عند درجة حرارة 75^0 م وبزمن ساعة واحدة، الجدول(5) و(3) وتشير النتائج أيضاً إلى انخفاض المردود تدريجياً بالابتعاد عن درجة الحرارة 85^0 م للأعلى أو للأسفل، ويعزى ذلك إلى أن درجات الحرارة المرتفعة قد تسبب تفكك في الروابط مما يؤدي إلى تناقص المردود في حين درجات الحرارة المنخفضة تكون غير قادرة على انتزاع الأولفان المتوضع في جدران خلايا الطحلب(Lahaye and Robic, 2007; Robic *etal*, 2009)، ومن الممكن أن يعزى هذا الانخفاض أيضاً إلى تفاعلات الأولفان مع مكونات جدار الخلايا الأخرى(Robic *etal*, 2009).

وعند تعديل زمن الاستخلاص نجد أن القيم العظمى للمردود والموافقة لزمن 2 و 2.5 و 3.5 ساعة كانت على الترتيب 24.10% و 25.40% و 26.43% لطحلب *U. fasciata* في حين كانت لطحلب *U. lactuca* (جدول5) 21.25% و 24.16% و 25.63% على الترتيب عند نفس الشروط.

تشير النتائج أيضاً إلى انخفاض المردود إذا قل زمن الاستخلاص عن 3ساعات أو ازداد عنه، ليبلغ الحد الأعظمي عند الدرجة 85^0 م مما يدل على وجود صلة بين هذين العاملين في الاستخلاص، وتوافقت هذه النتائج مع دراستي (Kidgell, *etal*,2019؛Yaich *etal*,2017) من حيث الزمن واختلفت عنهما بدرجة الحرارة.

5-الاستنتاجات والتوصيات:

1- زيادة مردود الأولفان المستخلص من طحلب *U. fasciata* (27.35%) مقارنةً بمردود الأولفان المستخلص من *U. lactuca* (24.38%) في نفس الشروط المرجعية.

2- وافقت درجة حرارة 85^0 م القيمة العظمى للمردود المستخلص خلال زمن 3 ساعات إذ بلغت (29.55%) من طحلب *U. fasciata* مقابل (27.11%) من *U. lactuca*.

3- نوصي باستخلاص الأولفان من أنواع أخرى من الطحالب الخضراء السورية لأهميته الطبية والصيدلانية والزراعية.

4- نوصي بدراسة تأثير شروط أخرى للاستخلاص مثل درجات حرارة أخرى ودرجات pH مختلفة عن التي تم دراستها في بحثنا

6-المراجع :

1. Dawod.N,Mesto.B.*contribution to recovery the antimicrobial properties of some marine algae*. Damascus University Journal.vol(13)(2),1997,109-116.
2. Deeb.G,Abbas.A,Takla.M. *the effect of some Syrian algae powder on the growth of tomato plant under different conditions (laboratory and green house).*Tishreen University Journal, Vol(39),2017
3. ABBAS, A. 1992- Master Thesis. *Contribution to the study of marine benthic algae on the coast of Latakia*. Tishreen University - Faculty of Sciences – Syria.
4. Alves.A, Sousa.R, Reis.R.*practical perspective on ulvan extracted from green algae*, J. Appl. Phycol. 25 (2013) 407–424.
5. Cardozo, K,Guaratini, T,Barros, M,Falcão,V,Tonon, A,Lopes,N,Pinto,E. *Metabolites from algae with economical impact*.Comparative Biochemistry and Physiology - Part C, 146(1-2),2007, 60-78.
6. Bendary, M.M, M.I. Bassiouni, M.F. Ali, H.M. Gaafar ,AND A.SH. Shamas.*Effect of premix and seaweed additives on productive performance of lactating friesian cows*. International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science. VOL(3)(5),(2013).174-181.
7. Cassolato, J.E.F.; Noseda, M.D.; Pujol, C.A.; Pellizzari, F.M.; Damonte, E.B.; Duarte, M.E.R. *Chemical structure and antiviral activity of the sulfated heterorhamnan isolated from the green seaweed Gayralia oxysperma*. Carbohydr. Res. 2008, 343, 3085–3095.
8. Cunha,L., A. *Grenha, Sulfated Seaweed Polysaccharides as Multifunctional Materials in Drug Delivery Applications*, Mar. Drugs 14 ,2016, 1– 42.
9. Huimin, Q.; Tingting, Z.; Quanbin, Z.; Zhien, L.; Zengqin, Z.; Ronge, X.*Antioxidant activity of different molecular weight sulfated polysaccharides from Ulva pertusa Kjellm (Chlorophyta)*. J. Appl. Phycol.2005, 17,527-534.

10. Hussein .M; Hamouda.R; El-Naggar.N. and Karim-Eldeen.M.*Characterization, antioxidant potentiality and biological activities of the polysaccharide ulvan extracted fromthe marine macroalga ulva spp*. J.Agric.Chem.and Biotechn., Mansoura Univ.Vol. 6 (9),2015, 373 – 392.

11. Ivanova, V.; Rouseva, R.; Kolarova, M.; Serkedjieva, J.; Rachev, R.; Manolova, N. *Isolation of a polysaccharide with antiviral effect from Ulva lactuca. Prep. Biochem*.24, 1994, 83–97.

12. Kidgella,J.T, Marie Magnussonb, Rocky de Nysa, Christopher R.K. Glassonb. *Ulvan: A systematic review of extraction, composition and function*. Algal Research 39 ,2019, 101422.

13. Kim, K. I., Seo, H. D., Lee, H. S., Cho, H. Y., and Yang, H. C. *Studies on the blood anticoagulant polysaccharide isolated from hot water extracts of Hizikia fusiforme Korean J*. Food Sci. Nutr. 27, 1998, 1204–1210.

14. Lahaye, M., and Robic, A. *Structure and functional properties of ulvan, a polysaccharide from green seaweeds*. Biomacromolecules.8, 2007, 1765–1774.

15. Magdugo.R, Terme.N, Lang.M, Pliego-Cortés .H , Marty .C, Hurtado.A, Bedoux.G, and Bourgougnon.N. *An Analysis of the Nutritional and Health Values of Caulerpa racemosa (Forsskål) and Ulva fasciata (Delile)—Two Chlorophyta Collected from the Philippines.* Molecules, MDPI, 25 (12), 2020,2901.

16. Mayer, A. M. and Hamann, M. T. *Marine pharmacology in 1999: compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anthelmintic, anti-inflammatory, antiplatelet, antiprotozoal and antiviral activities affecting the cardiovascular, endocrine, immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action*. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 132, 2002, 315–339.

17. MAYHOOB, H. *Recherches sur la ve'ge'tation 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, 286.

18. Pangestuti, R. AND Kim, S. K. *Neuroprotective effects of marine algae. Mar*. Drugs 9.(2011),803–818.

19. Paulerta.R, Ebbinghausb.D, Urlassb.C and Moerschbacher.B. *Priming of the oxidative burst in rice and wheat cell cultures by ulvan, a polysaccharide from green macroalgae, and enhanced resistance against powdery mildew in wheat and barley plants*. Plant Pathology , 59,2010, 634–642.

20. Qia, H.; Huang, L.; Liu, X.; Liu, D.; Zhang, Q.; Liu, S. *Antihyperlipidemic activity of high sulfate content derivative of polysaccharide extracted from Ulva pertusa (Chlorophyta).* Carbohydr. Polym. 2012, 87,1637–1640.

21. Robic .A, Rondeau-Mouro.C, Sassi .J, Lerat .Y, Lahaye.M. *Structure and interactions of ulvan in the cell wall of the marine green algae Ulva rotundata (Ulvales, Chlorophyceae).* Carbohydrate Polymers 77 (2009) 206–216.

22. Robic.A, Sassi.J, Lahaye.M, *Impact of stabilization treatments of the green seaweed Ulva rotundata (Chlorophyta) on the extraction yield*, the physico-chemical and rheological properties of ulvan, Carbohydr. Polym. 74 ,2008, 344–352.

23. Thirumaran, G.; Arumugam, M.; Arumugam, R. AND Anantharaman, P. *Effect of Seaweed Liquid Fertilizer on Growth and Pigment Concentration of Cyamopsis tetrogonolaba (L.) Taub*. Amer-Eurasian J. Agro., 2.(2009), 50-56.

24. Synytsya, A., Kim, W. K., Kim, S. M., Pohl, R., Synytsya, A., Kyasnicka, F., Copikova, J., and Park, Y. I. *Structure and antitumour activity of fucoidan isolated from sporophyll of Korean brown seaweed Undaria pinnatifida*. Carbohydr. Polym. 81, 2010, 41–48.

25. Tako1.M, Tamanaha.M, Tamashiro.Y, Uechi.S. *Structure of Ulvan Isolated from the Edible Green Seaweed, Ulva pertusa*. Advances in Bioscience and Biotechnology, 2015, 6, 645-655.

26. Wang, L., Wang, X., Wu, H., and Liu, R. *Overview on biological activities and molecular characteristics of sulfated polysaccharides from marine green algae in recent years. Marine Drugs*, *12*(9),2014, 4984-5020.

27. Yaich.H, Ben Amira.A, Abbes.F, Bouaziz.M, Besbes.S, Richel.A, Blecker.C, Attia.H, Garna.H. *Effect of extraction procedures on structural, thermal and antioxidant properties of ulvan from Ulva lactuca collected in Monastir coast*, International Journal of Biological Macromolecules, S0141-8130(17) , 2017,32003-2.

28. Yaich.H, Garna.H, Besbes.S, Paquot.M, Blecker.H, Attia.H. *Effect of extraction conditions on the yield and purity of ulvan extracted from Ulva lactuca*, Food Hydrocolloids 31 (2013) 375e382