Spectroscopic analysis of a sulfur-rich sugar extract of the bioactive fucoidan from the brown alga Sargassum vulgare

Dr. Ahmed Qara Ali*
Dr. Hussam Eddin Laika **
Hala Zlekha***

(Received 16 / 10 / 2024. Accepted 5 / 5 /2025)

□ ABSTRACT □

This research deals with a qualitative study, using Fourier transform infrared technology, of some biologically active sugar extract rich in fucoidan in the brown algae Sargassum vulgare. Samples were collected in the spring of 2023 from the Higher Studies area on the beach of the city of Latakia, and the extraction process was carried out with hot water using an ultrasound device.

The infrared spectrum (FT-IR) of the sugar extract confirmed that it contains fucoidan, as sulfur groups appeared in the spectrum, as did hydroxyl groups common in all types of sugars, and also the carboxyl group of uronic acid, which is one of the monomers that make up the fucoidan polymer, with wave numbers indicating to the presence of the C-H bond belonging to the following monosaccharides: fucose, glucose, mannose, and xylose.

The spectrum also indicated the presence of proteins, as the wave number appeared at 1700 cm^{-1}, which indicates the bond stretching vibration (C=O), which is particularly due to the peptide bond. The wave number also appeared at 1282 cm^{-1}confirming an asymmetric vibration of the bond (O=S=O) present in the sulfate ester group, as the percentage of organic sulfates belonging to fucoidan reached The sugar content reached 23.06%. The yield of calcium alginate was 2.424%, and the yield of the pure sugar extract of alginate rich in fucoidan was 1.75%.

Keywords: Sargassum vulgare, fucoidan, FT-IR.

Copyright **:**Latakia University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

* **Professor, Department of Marine Chemistry, Higher Institute for Marine Research, Latakia University, Latakia, Syria.**
****Professor, Department of Marine Chemistry, Higher Institute for Marine Research, Latakia University, Latakia, Syria.**
***** **Master's student - Department of Marine Chemistry - Higher Institute for Marine Research - Latakia University, Latakia – Syria.** halazleikha369@gmail.com

تحليل طيفي لخلاصة سكرية كبريتية غنية بمركب الفوكوئيدان الحيوي من الطحلب البني*Sargassum vulgare*

د. أحمد قره علي*

د. حسام الدين لايقه**

حلا زليخة***

(تاريخ الإيداع 16 / 10 / 2024. قُبِل للنشر في 5 / 5 /2025)

□ ملخّص □

يتناول هذا البحث دراسة كيفية بتقانة الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه لخلاصة سكرية نشطة بيولوجياً غنية بمركب الفوكوئيدان في الطحلب البني *Sargassum vulgare*، حيث تم جمع العينات في ربيع 2023 من منطقة الدراسات العليا في شاطئ مدينة اللاذقية والقيام بعملية الاستخلاص بالماء الساخن باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية.

أكد طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) للخلاصة السكرية أنها تحتوي على الفوكوئيدان حيث ظهرت المجموعات الكبريتية في الطيف، كما ظهرت مجموعات الهيدروكسيل الشائعة في جميع أنواع السكريات، وأيضاً مجموعة الكربوكسيل التابعة لحمض اليورونيك وهو أحد المونوميرات المكونة لبوليمير الفوكوئيدان، مع أعداد موجية تشير إلى وجود الرابطة (C-H) التابعة لمجموعة السكريدات الأحادية التالية: للفوكوز والغلوكوز والمانوز والزيلوز.

أشار الطيف أيضاً إلى وجود بروتينات حيث ظهر العدد الموجي 1700 cm^{-1} ، الأمر الذي يشير إلى اهتزاز تمدد الرابطة (C=O) والتي تعود بشكل خاص إلى رابطة الببتيد، كما ظهر العدد الموجي 1282 cm^{-1} مؤكداً على اهتزاز غير متماثل للرابطة (O=S=O) الموجودة في مجموعة استر الكبريتات، حيث وصلت نسبة الكبريتات العضوية العائدة للفوكوئيدان في الخلاصة السكرية إلى 23.06%. بلغ مردود ألجينات الكالسيوم 2.424%، ومردود الخلاصة السكرية النقية من الألجينات والغنية بالفوكوئيدان 1.75% .

الكلمات المفتاحية: الطحلب البني *Sargassum vulgare*– فوكوئيدان– تقانة FT-IR .

حقوق النشر : مجلة جامعة اللاذقية– سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY–NC–SA 04

*استاذ – قسم الكيمياء البحرية _ المعهد العالي للبحوث البحرية _ جامعة تشرين اللاذقية _ سورية.

**استاذ – قسم الكيمياء البحرية _ المعهد العالي للبحوث البحرية _ جامعة تشرين اللاذقية _ سورية.

***طالبة ماجستير– قسم الكيمياء البحرية– المعهد العالي للبحوث البحرية– جامعة تشرين اللاذقية– سورية.

halazleikha369@gmail.com

مقدمة:

تشتهر الموارد البحرية بمصدرها الغني والاستثنائي للمركبات النشطة بيولوجياً لمختلف التطبيقات التجارية مثل المكملات الغذائية والمستحضرات المغذية والأدوية ومستحضرات التجميل والمواد الكيميائية الزراعية [1]. تحتوي الطحالب البحرية مجموعة متنوعة من العناصر الغذائية مثل المعادن والبروتينات والفينولات والسكريات والفيتامينات [2]، والتي تظهر تأثيرات مفيدة على عوامل الخطر المرتبطة بالعديد من الأمراض، بما في ذلك ارتفاع ضغط الدم وفرط شحميات الدم والسكري والسمنة لدى البشر [3]. تعد الطحالب البنية من أكثر المنتجين لهذه الجزيئات [4]، حيث تشكل السكريدات المتعددة 50% من الوزن الجاف للطحالب البحرية البنية وقد تصل إلى 70% في بعض الأنواع [5].

شكلت بعض أنواع الطحالب البحرية مشكلة بيئية عالمية بسبب غمرها للشواطئ مثل *Ulva* من الطحالب الخضراء، و*Sargassum* من الطحالب البنية وذلك نتيجة منع ضوء الشمس من الوصول إلى داخل العمود المائي وانخفاض معدل انحلال الغازات في المياه، هذا بالإضافة لمشكلة السياحة وتغيير أنشطة الصيد المحلية، وللتغلب على هذا الأمر فقد تم استثماره كمصدر للعديد من الجزيئات الحيوية الهامة لتطبيقات مختلفة: غذائية وزراعية وطبية [6].

الفوكوئيدان هو متعدد سكاريد كبريتي يوجد في الجدار الخلوي للطحالب البنية، ويصل مردود استخلاصه إلى (W/W) (5-10%) في الشكل الخام [7]. يتضمن التركيب الكيميائي له الفوكوز ($C_6H_{12}O_5$) وبعض السكريات الأخرى بما في ذلك الغلاكتوز ($C_6H_{12}O_6$) والغلوكوز ($C_6H_{12}O_6$) والمانوز ($C_6H_{12}O_6$) وأيضاً حمض اليورونيك [8]. تعد هذه السكريات الأحادية بالإضافة إلى أحماض اليورونيك المتنوعة مثل حمض الغلوكورونيك (G) ($C_6H_{10}O_7$) والمانورونيك (M) ($C_6H_{10}O_7$) أكثر المركبات المشتركة في تركيب الفوكوئيدان. ومع ذلك، لا يزال هناك جدال حول ما إذا كانت مكونات (M) و (G) والتي تعد اللبنات الأساسية للألجينات، في الواقع جزءاً من الفوكوئيدان أو مجرد مستخلصات ملوثة [9]. يشكل التنوع البنيوي للفوكوئيدان تحدياً للبكتيريا البحرية، مما يستلزم تطور سلاسل أنزيمية معقدة لتحلله، والذي وإذا لم يتم تحلله يمكنه أن يتجمع ذاتياً في جزيئات تغوص في أعماق المحيط وتخزن الكربون لعدة قرون [10]. تتنوع هذه البنية ومحتوى الكبريتات اعتماداً على نوع الطحالب البنية ومراحل نموها والموقع الجغرافي وظروف الاستخلاص مؤثرة بذلك على الأنشطة البيولوجية التي يظهرها الفوكوئيدان بما في ذلك: مضادات أورام، مضادات أكسدة، مضادات تخثر [11].

أهمية البحث وأهدافه

أهمية البحث

تجذب السكريات المتعددة المشتقة من الموارد الطبيعية اهتماماً متزايداً كمنتجات غذائية ومغذيات نظراً لفوائدها الصحية، أثار الفوكوئيدان، وهو متعدد السكاريد والذي يعتمد على الفوكوز الكبريتي في تركيبه والمستخلص من الطحالب البنية، اهتمام المجتمع العلمي على مدى العقد الماضي لأنه يمتلك مجموعة واسعة من الأنشطة البيولوجية مثل مضادات الأكسدة، ومضادات الالتهاب، ومضادات التخثر، وتنظيم المناعة ومستحضرات التجميل والنسيجية.

تعد هذه الدراسة هي الأولى محلياً على هذا البوليمير الحيوي.

أهداف البحث

1- استخلاص الفوكوئيدان من الطحلب البني *Sargassum vulgare*.
2- تحليل كيفي للخلاصة السكرية الغنية بمركب الفوكوئيدان.
3- تحديد تركيز الكبريتات في الخلاصة.

طرائق البحث ومواده

1- جمع العينات:

جمعت عينات من الطحلب *Sargassum vulgare* كما في الشكل 1 المتوفر على شاطئ شاليهات الدراسات العليا الموضح بالشكل 2 في فصل الربيع لعام 2023. غسلت العينات بالماء عدة مرات لإزالة جميع الأتربة العالقة عليها، ثم تركت عدة أيام لتجف في الظلام بدرجة حرارة الغرفة وطحنت وخزنت بعيداً عن الرطوبة لحين الاستخدام.

الشكل 1: الطحلب *Sargassum vulgar*.

الشكل 2: موقع جمع العينات من شاليهات الدراسات العليا.

2- الأجهزة المستخدمة:

- الأمواج فوق الصوتية (ULTRASONIC CLEANER).
- جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء (JASCO / FT- IR – 4100).
- جهاز الطرد المركزي (HETTICH - ROTOFIX 32 A).
- ميزان رقمي حساس (Sartorius ± 0.0001g موديل ED224S).
- تحليل طيفي ضوئي (UV/VIS Spectrophotometer) ماركة ZUZI (Models 4211/20).

3- المواد الكيميائية المستخدمة:

- الايتانول C_2H_5OH (MERCK).
- كلوريد الكالسيوم من شركة (LOBA.CHEMIE PVT. LTD).
- بروميد البوتاسيوم من شركة (Riedel– de Haen).
- حمض كلور الماء (HCl) عالي النقاوة (37%) من شركة Panreac.
- كبريتات الصوديوم اللامائية Na2SO4 نقاوة 99% من شركة (Qualikems, India).
- بلورات كلوريد الباريوم ثنائي الماء النقية (BaCl2.2H2O) من شركة (sham lap).

جميع هذه المواد مخبرية عالية النقاوة.

4- العمل المخبري

i. استخلاص السكريدات المتعددة

تم معالجة 30g من عينات الطحالب الجافة اعتماداً على طريقة [12] باستخدام الايتانول (85%) C_2H_5OH (EtOH) بهدف إزالة الأصبغة والدهون ومركبات الوزن الجزيئي المنخفض. تم الاستخلاص باستخدام الماء الساخن على جهاز الأمواج فوق الصوتية (ULTRASONIC CLEANER) كما هو موضح في طريقة [13] وفق الشروط التالية: (t= 58 min) ، (T= 70°C) ، (نسبة المذيب إلى المادة الصلبة: (1:80 g/ml)}. تم استخلاص الفوكوئيدان القابل للذوبان في الماء ومعه ألجينات الصوديوم الموجودة في الجدار الخلوي للطحالب البنية والقابلة للذوبان في الماء أيضاً. تم الفصل بين السكريدات الموجودة في الخلاصة كما يلي: عزل الألجينات عن طريق ترسيبها

بكلوريد الكالسيوم على شكل ألجينات الكالسيوم الهلامية غير القابلة للذوبان في الماء، وبعدها الحصول على الفوكوئيدان من الرشاحة بإضافة EtOH (90%)

ii. تحليل الخلاصة السكرية الغنية بالفوكوئيدان

تم تحديد المجموعات الوظيفية الموجودة في الخلاصة السكرية الغنية بالفوكوئيدان وذلك بمزج 1mg من الخلاصة الجافة مع 10mg من بروميد البوتاسيوم KBr الجاف النقي وحول المزيج إلى مسحوق عالي النعومة، ليتثنى القيام بالتحليل المطلوب باستخدام تقانة مطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فوريه باستخدام جهاز (JASCO / FT- IR 4100) –.

iii. تحديد محتوى الكبريتات في الفوكوئيدان

تعتمد الطريقة القياسية لتحديد محتوى الكبريتات في الفوكوئيدان وفق [14] على تحديد محتوى الكبريتات اللاعضوية أولاً، ثم التحلل الحمضي للفوكوئيدان لتحرير جميع الزمر الكبريتية العضوية وتحديد الكبريتات الكلية (عضوية وغير عضوية) عن طريق ترسيبها باستخدام كاشف كلوريد الباريوم الجيلاتيني على شكل كبريتات الباريوم التي تمتص الضوء عند طول الموجة 405nm ليتثنى بذلك تقدير كمية الكبريتات السكرية العضوية. واستخدام كبريتات الصوديوم لإنشاء منحني عياري للكبريتات.

- تحضيير السلسلة العيارية: تم تحضير سلسلة محاليل عيارية للكبريتات ppm (200 .150 .100 .50 .20).
- تحضير العينات المحلمهة: تم إذابة 5mg من خلاصة الفوكوئيدان الجافة في $1250\mu l$ من HCl (0.5M) والتسخين في حمام جاف على الدرجة 105°C لمدة ثلاث ساعات.
- تحضير العينات الغير محلمهة: تم إذابة 25mg في $2500\mu l$ ماء مقطر وعملية الطرد المركزي على الشروط التالية: (13000 دورة لمدة ربع ساعة في درجة حرارة الغرفة)، تم أخذ 1ml من المادة الطافية والمزج مع $750\mu l$ من $HCl\ (1M)$ ليكمل الحجم حتى 1.5 ml بالماء المقطر.
- تحضير محلول كلوريد الباريوم الجيلاتيني: 600mg جيلاتين حيواني في 200ml ماء مقطر والتسخين عند T= 80°C لمدة 10min ثم إضافة 2g من كلوريد الباريوم والحفظ عند الدرجة 4°C.
- التحليل: تم مزج 1ml من العينات والمحاليل العيارية مع 5ml من كاشف كلوريد الباريوم الجيلاتيني والمزج جيداً لمدة 20min وقراءة الامتصاصية عند الطول الموجي 405 nm.

النتائج والمناقشة

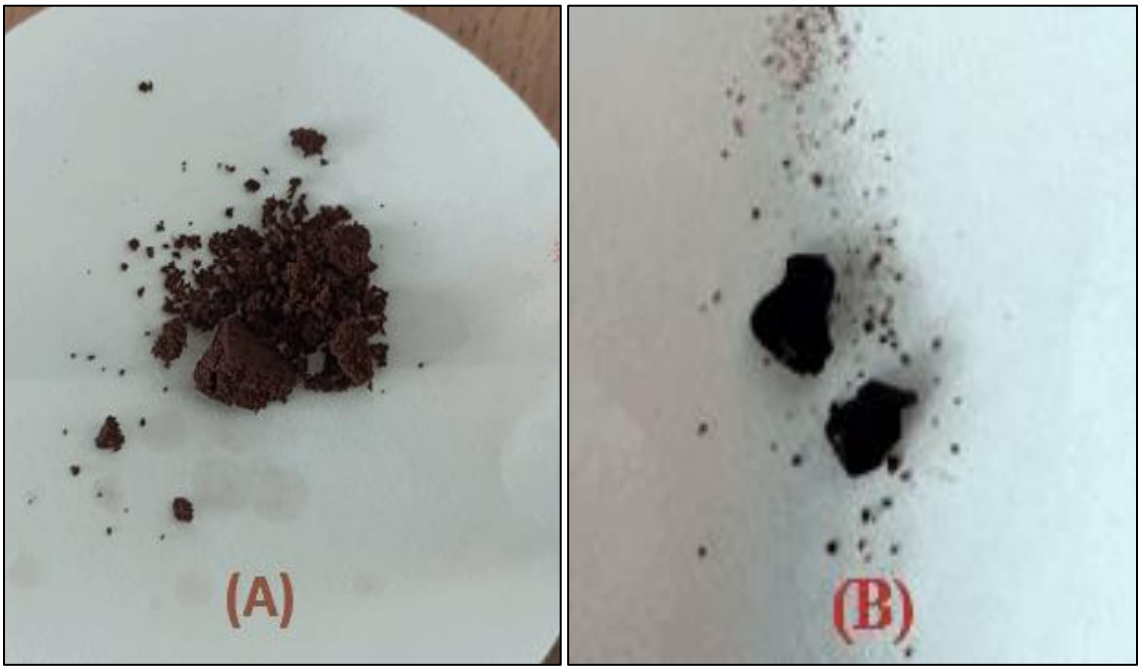
1- لخلاصة السكرية:

تم الحصول على نوعين من السكريدات الموجودة في الطحلب *Sargassum Vulgare* الأولى هي الألجينات التي تم عزلها عل شكل ألجينات الكالسيوم، والثانية هي خلاصة سكرية غنية بالفوكوئيدان مع الامينارين تظهر في الشكل 3 ، كما يبين الجدول 1 متوسطات قيم مردود السكريدات والذي تم حسابه من العلاقة التالية:

المردود= (وزن السكريدات النهائي /وزن العينة الأصلية الجاف) * 100

الجدول 1: مردود السكريدات المتعددة الناتج عن الإستخلاص المائي من الطحلب *Sargassum Vulgare*.

اسم الطحلب	مردود الألجينات بعد ترسيبها بشكل ألجينات الكالسيوم (%)	مردود الخلاصة السكرية بعد ترسيبها مع الإيتانول (%)
Sargassum Vulgare	2.424	1.75



(A): ألجينات الكالسيوم. (B): الخلاصة السكرية الغنية بالفوكوئيدان.

الشكل 3: صور للخلاصات السكرية من طحلب *Sargassum vulgare*.

2- دراسة طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR):

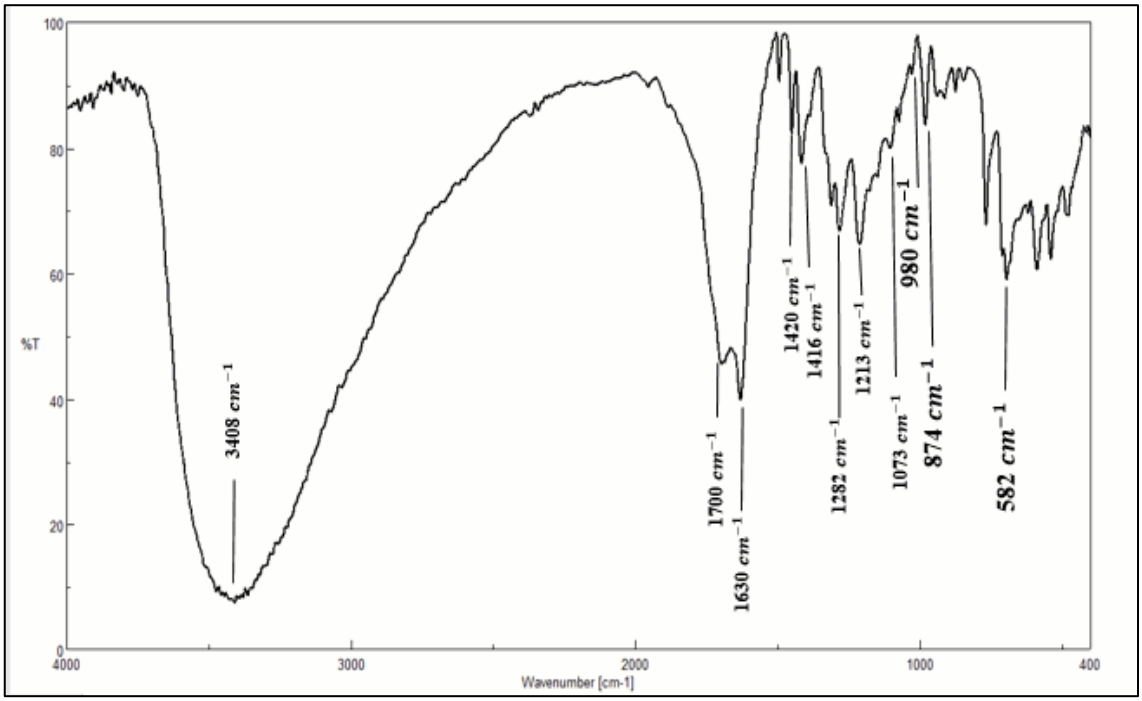
يشير العدد الموجي $1073cm^{-1}$ إلى رابطة إيتر (C-O-C) الموضح في الشكل 4 [15] ، كما يشير العدد الموجي $1700cm^{-1}$ ناتج عن تمدد الرابطة (C-O) التابعة لحمض الغلورونيك [16].

يشير العدد الموجي $1630\ cm^{-1}$ إلى تمدد غير متماثل في مجموعات الكربوكسيلات (O-C-O) والتي ربما تكون مرتبطة في أحماض اليورونيك الموجودة في الفوكوئيدان [17]، وقد يكون مرتبطاً بالرابطة (C=O) التابعة لمجموعة حمض الكربوكسيل (-COOH) [18]. يشير العددان الموجيان$^{-1}$ 1630 cm و $1420\ cm^{-1}$ إلى اهتزازات تمددية متماثلة وغير متماثلة للكربوكسيلات ($RCOO^{-}$) الأمر الذي يشير لبقايا حمض اليورونيك [19].

يشير العدد الموجي $1416cm^{-1}$ إلى اهتزازات انحناء غير متماثل للرابطة (C-H) للفوكوز والغلوكوز والمانوز والزيلوز [17] ، تعزى إلى تمدد الرابطة ($-CH_2$) من السكريدات الأحادية [20].

يشير العدد الموجي $3408\ cm^{-1}$ إلى تمدد الرابطة (OH) [16]، كما يمثل العدد الموجي $588\ cm^{-1}$ مساهمة تمدد الرابطة (C-C-H) [21]. يمثل العدد الموجي $1213 cm^{-1}$ اهتزازات تمدد الرابطة (S=O) [22]. يشير العدد الموجي $1282\ cm^{-1}$ لاهتزاز غير متماثل للرابطة (O=S=O) الموجودة في مجموعة استر الكبريتات [23].

يمكن ربط العدد الموجي $1700\ cm^{-1}$ الموجود في الطيف بأن الخلاصة تحوي بروتينات: يعود هذا العدد إلى اهتزاز تمدد الرابطة (C=O) والتي تعود بشكل خاص إلى رابطة الببتيد [24]، يعود العدد الموجي $980\ cm^{-1}$ لاهتزازات التشوه المتماثلة وغير المتماثلة للمتيليدين في الفوكوز [18].



الشكل 4: طيف (FT-IR) للخلاصة السكرية الغنية بالفوكوئيدان من الطحلب البني *Sargassum Vulgare*.

1- الكبريتات في الخلاصة:

بلغ مردود الكبريتات الحرة (اللاعضوية) 18.27%، أما الكبريتات الكلية (الكبريتات اللاعضوية + الكبريتات السكرية العضوية) 41.33%، وبالتالي فإن نسبة كبريتات مركب الفوكوئيدان في الخلاصة السكرية 23.06%. تأتي هذه النسبة ضمن المجال الذي ذكرته الدراسات المرجعية، حيث تتراوح نسبة الكبريتات في الفوكوئيدان بين 5% إلى 38% [25]. تقاربت كمية الكبريتات العائدة للفوكوئيدان مع القيم المرجعية لكبريتات الفوكوئيدان النقي (28.56%) في النوع *Sargassum polycystum* [26]، (27.80±3.59%) في النوع *Sargassum hystrix* [27]،

الاستنتاجات والتوصيات:

1- تم استخلاص نوعين من السكريدات (ألجينات والفوكوئيدان) من الطحلب البني *Sargassum vulgare* بمردود 2.424% و 1.75% لكل منها على التوالي.

2- بينت نتائج تحليل الأشعة تحت الحمراء FT-IR أن الخلاصة السكرية تحتوي على متعدد السكاريد الكبريتي فوكوئيدان.

3- بلغت نسبة الكبريتات العائدة للفوكوئيدان في الخلاصة السكرية 23.06%، الأمر الذي يجعل الخلاصة السكرية جيدة للأنشطة البيولوجية.

4- الاستمرار بمثل هذه الأبحاث في استخدام الطحالب البنية ذات الكتلة الحيوية العالية لإنتاج مركبات ذات فعالية كبيرة في مجالات مختلفة (طبية، صيدلانية وصناعة مستحضرات التجميل) وبتكلفة منخفضة.

References

[1] ALBOOFETILEH, MEHDI;REZAEI, MASOUD;TABARSA, MEHDI and YOU, SANGGUAN %J JOURNAL OF FOOD PROCESS ENGINEERING.*Ultrasound-assisted extraction of sulfated polysaccharide from Nizamuddinia zanardinii: Process optimization, structural characterization, and biological properties*.42,2,e12979pp,2019.

[2] AMIN, MUHAMAD NUR GHOYATUL;MISCHNICK, PETRA;ROSENAU, THOMAS and BöHMDORFER, STEFAN %J CARBOHYDRATE POLYMERS.*Refined linkage analysis of the sulphated marine polysaccharide fucoidan of Cladosiphon okamuranus with a focus on fucose*,122302pp .2024.

[3] APOSTOLOVA, ELISAVETA;LUKOVA, PAOLINA; BALDZHIEVA, ALEXANDRA, *et al.Structural characterization and in vivo anti-inflammatory activity of fucoidan from Cystoseira crinita (Desf.) Borry*.20,11,714pp,2022.

[4] COTAS, JOãO;LOMARTIRE, SILVIA;PEREIRA, LEONEL, *et al.Seaweeds as Nutraceutical Elements and Drugs for Diabetes Mellitus: Future Perspectives*.22,4,168pp,2024.

[5] CRAWFORD, CONOR J;SCHULTZ-JOHANSEN, MIKKEL;LUONG, PHUONG, *et al.Automated Synthesis of Algal Fucoidan Oligosaccharides*.146,27,2024,18320-18330pp.

[6] DEVI GV, YASHASWINI;NAGENDRA, APOORVA H;SHENOY P, SUDHEER, *et al.Fucoidan-incorporated composite scaffold stimulates osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells for bone tissue engineering*.20,10,589pp,2022.

[7] DOBRINČIĆ, ANA;BALBINO, SANDRA;ZORIĆ, ZORAN, *et al.Advanced technologies for the extraction of marine brown algal polysaccharides*.18,3,168pp,2020.

[8] EL RASHED, ZEINAB;LUPIDI, GIULIO;GRASSELLI, ELENA, *et al.Antioxidant and antisteatotic activities of fucoidan fractions from marine and terrestrial sources*.26,15,4467pp,2021.

[9] FAUZIEE, NUR AFIFAH MOHD;CHANG, LEE SIN;MUSTAPHA, WAN AIDA WAN, *et al.Functional polysaccharides of fucoidan, laminaran and alginate from Malaysian brown seaweeds (Sargassum polycystum, Turbinaria ornata and Padina boryana)*.167,1135-1145pp,2021.

[10] FLETCHER, HR;BILLER, P;ROSS, AB and ADAMS, JMM %J ALGAL RESEARCH.*The seasonal variation of fucoidan within three species of brown macroalgae*.22,79-86pp,2017.

[11] FLORES-CONTRERAS, ELDA A;ARAúJO, RAFAEL G;RODRíGUEZ-AGUAYO, ARATH A, *et al.Polysaccharides from the Sargassum and brown algae genus: extraction, purification, and their potential therapeutic applications*.12,13,2445pp,2023.

[12] GARCíA-RíOS, VIRGINIA;RíOS-LEAL, ELVIRA;ROBLEDO, DANIEL and FREILE-PELEGRIN, YOLANDA %J PHYCOLOGICAL RESEARCH.*Polysaccharides composition from tropical brown seaweeds*.60,4,305-315pp,2012.

[13] HUSNI, AMIR;IZMI, NUZULIA;AYUNANI, FATIMAH ZAHRA, *et al.Characteristics and antioxidant activity of fucoidan from Sargassum hystrix: Effect of extraction method*.2022,1,3689724pp,2022.

[14] ISMAIL, MONA MOHAMED;IBRAHIM, HASSAN AH and EL ZOKM, GEHAN M %J HYDROBIOLOGICAL JOURNAL.*Comparison of Chemical Composition and Bioactivities of Polysaccharides of Brown Seaweeds, the Red Sea, Egypt, Hurghada*.60,3 , 2024.

[15] LIM, SENG JOE and AIDA, WAN MUSTAPHA WAN 2017. Extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed. *Seaweed polysaccharides.* Elsevier.

[16] LUTFIA, FADILAH NOR LAILI;ISNANSETYO, ALIM;SUSIDARTI, RATNA ASMAH and NURSID, MUHAMMAD %J BIODIVERSITAS JOURNAL OF BIOLOGICAL DIVERSITY.*Chemical composition diversity of fucoidans isolated from three tropical brown seaweeds (Phaeophyceae) species*.21,7,2020.

[17] NGUYEN, ANH NGOC;VAN NGO, QUANG;QUACH, THU THI MINH, *et al.Fucoidan from brown seaweed Tubinaria decurrens: Structure and structure-anticancer activity relationship*.259,129326pp,2024.

[18] RAJAURIA, GAURAV;RAVINDRAN, RAJEEV;GARCIA-VAQUERO, MARCO, *et al.Purification and molecular characterization of fucoidan isolated from Ascophyllum nodosum brown seaweed grown in Ireland*.21,5,315pp,2023.

[19] ROBERTO T, ABDALA DíAZ;VIRGINIA, CASAS-ARROJO;ÁNGELES, ARROJO-AGUDO MARíA, *et al.Antitumor and antioxidant activities of polysaccharides from the seaweed Durvillaea antarctica*.103,1,e14392pp,2024.

[20] ROY, DIPAK;SOBUJ, MOHAMMAD KHAIRUL ALAM;ISLAM, MD SHOEBUL, *et al.Compositional, structural, and functional characterization of fucoidan extracted from Sargassum polycystum collected from Saint Martin's Island, Bangladesh*.80,103542pp,2024.

[21] SENTHIL, S LAKSHMANA %J INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES.*A comprehensive review to assess the potential, health benefits and complications of fucoidan for developing as functional ingredient and* nutraceutical,134226pp. .2024

[22] *SHANTHI, NAGARAJAN;ARUMUGAM, PONNAN;MURUGAN, MARUDHAMUTHU, et al.Extraction of fucoidan from Turbinaria decurrens and the synthesis of fucoidan-coated AgNPs for anticoagulant application.6,46,30998-31008pp,2021.*

[23] *SUN, QI-LI;LI, YI;NI, LONG-QUAN, et al.Structural characterization and antiviral activity of two fucoidans from the brown algae Sargassum henslowianum.229,115487pp,2020.*

[24] TORRES, PRISCILA BEZERRA;NAGAI, ALICE;JARA, CARMEN EUSEBIA PALACIOS, *et al.Determination of sulfate in algal polysaccharide samples: a step-by-step protocol using microplate reader*.69,e21021pp,2021.

[25] YANG, JING;ZHAO, HE and QU, SHENGTAO %J INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES.*Therapeutic potential of fucoidan in central nervous system disorders: A systematic review*,134397pp. .2024

[26] ZHAO, MING;GARCIA-VAQUERO, MARCO;PRZYBORSKA, JOANNA, *et al.The development of analytical methods for the purity determination of fucoidan extracted from brown seaweed species*.173,90-98pp,2021.

[27] ZHOU, QING-LING;WANG, ZHUO;CHEN, WEN-TING, *et al.The structural characteristics, biological activities and mechanisms of bioactive brown seaweed polysaccharides: A review*.119,106303pp,2024.