



Spectroscopic and rheological characterization of sodium alginate extracted from three Phaeophyceae seaweeds (*Dictyopteris polypodioides*, *Dilophus ligulatus* and *Halopteris scoparia*) from El Jadida shoreline – Morocco (Caractérisation spectroscopique et rhéologique des alginates de sodium extraits de trois algues marines Phaeophyceae (*Dictyopteris polypodioides*, *Dilophus ligulatus* et *Halopteris scoparia*) de la côte d'El Jadida – Maroc)

Z. Belattmania¹, R. Zrid¹, A. Reani¹, S. Elatouani¹, E.M. Sabbar², A. Mourtadi³,
R. El Moznine³, O. Cherkaoui⁵, F. Bentiss⁴, B. Sabour^{1*}

⁽¹⁾ Laboratoire de Biotechnologie Végétale, Ecologie et Valorisation des Ecosystèmes.

⁽²⁾ Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux.

⁽³⁾ Laboratoire de Physique de la Matière Condensée.

⁽⁴⁾ Laboratoire de Catalyse et de Corrosion des Matériaux – Faculté des Science, Université Chouaib Doukkali, BP20, El-Jadida 24000, Maroc.

⁽⁵⁾ ESITH, BP 7731 - Oulfa, Casablanca.

Received 8 Oct 2014, Revised 7 Nov 2014, Accepted 17 Dec 2014

* Corresponding Author. E-mail: sabour.b@ucd.ac.ma

Abstract

In Morocco, despite the taxonomic richness of the Atlantic and Mediterranean coastlines, marine flora exploitation is limited to the commercial harvesting of few red algae. In this paper, three Pheophyceae species, namely *Dictyopteris polypodioides*, *Dilophus ligulatus* and *Halopteris scoparia*, harvested from El Jadida coasts – Morocco, were analyzed for sodium alginate yield, spectroscopic and rheological properties. The alginate yields for these three species are 21.92, 8.8 and 4.16 % dry weight, respectively. FTIR-ATR spectra of *D. polypodioides* and *D. ligulatus* exhibit strong similarity with those of commercial alginate while *H. scoparia* show atypical spectrum without the required characteristics bands. The rheological tests indicate that all obtained gels exhibit a Newtonian behavior with a linear dependency of the shear stress and the shear rate except for *D. ligulatus* at higher concentrations with non-Newtonian sodium alginate fluids. Viscosities (η) at 0.5% alginate solutions are about 1.92, 1.97 and 1.91 mPa.s respectively for *D. polypodioides*, *D. ligulatus* and *H. scoparia* and increase proportionally with alginate concentration for the three species.

Keywords: brown seaweeds, Sodium alginate, FTIR-ATR, Rheology.

Résumé

Malgré la richesse taxonomique des côtes maritimes marocaines atlantique et méditerranéenne, l'exploitation de la flore marine est limitée à la récolte de quelques espèces d'algues rouges, commercialement utilisées pour l'extraction de l'agar-agar. Dans ce travail, sont présentés et discutés pour la première fois au Maroc, les résultats de l'extraction, du calcul des rendements, de la caractérisation spectroscopique par infrarouge et du comportement rhéologique de l'alginate de sodium extrait de *Dictyopteris polypodioides*, *Dilophus ligulatus* et *Halopteris scoparia*, trois espèces d'algues brunes (Phaeophyceae) récoltées de la côte d'El Jadida, Maroc. Les rendements pour ces trois espèces sont respectivement de l'ordre de 21.92, 8.8 et 4.16%. L'analyse des alginates par spectroscopie infrarouge FT-IR ATR montre que les spectres de *D. polypodioides* et *D. ligulatus* présentent une forte similarité avec l'alginate commercial testé et avec les données de la littérature scientifique alors que le spectre de *H. scoparia* est différent et présente des bandes qui ne répondent pas aux caractéristiques spectroscopiques déterminantes requises. Les tests rhéologiques effectués indiquent que les gels obtenus présentent généralement un comportement Newtonien avec une dépendance linéaire de la contrainte de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement excepté pour l'espèce *D. ligulatus* pour laquelle un comportement non-newtonien a été observé notamment à forte concentration. La viscosité (η) augmente chez les trois espèces en fonction de la concentration en alginate de sodium et elle est de l'ordre de 1.92, 1.97 et 1.91 mPa.s à la concentration de 0.5% chez *D. polypodioides*, *D. ligulatus* et *H. scoparia*, respectivement.

Mots clés : Algues brunes, alginate de sodium, FTIR-ATR, Rhéologie.

Au Maroc, pays à double façade maritime atlantique et méditerranéenne, la richesse taxonomique en algues marines est considérable dépassant les 600 espèces tout au long de ses côtes [8]. Malgré cette diversité algale, l'exploitation de la flore marine est limitée à la récolte de presque une seule espèce de Rhodophyceae, *Gelidium sesquipedale*, commercialement utilisée pour l'extraction de l'agar-agar. En effet, plusieurs autres algues rouges et brunes sont abondantes sur nos côtes mais les données sur la composition et les propriétés physico-chimiques de leurs polysaccharides sont quasi-absentes et pourtant nécessaires pour toute possibilité d'exploitation industrielle future. En particulier, il n'y a pas d'industrie d'alginate au Maroc et presque aucune information n'est disponible sur les espèces potentiellement candidates, la nature, la quantité et la qualité des alginates. Dans ce contexte, le présent travail s'intéresse, pour la première fois au Maroc, à la valorisation des trois algues brunes de la côte atlantique marocaine *Halopteris scoparia* (Linnaeus) Sauvageau 1904, *Dictyopteris polypodioides* (De Candolle) J.V. Lamouroux 1809 et *Dilophus ligulatus* (Kützinger) J. Feldmann 1937, par l'extraction, la purification, l'évaluation des rendements et la caractérisation des alginates par des techniques spectroscopiques et rhéologiques appropriées.

2. Matériel et méthodes

2.1. Préparation de la biomasse algale

Les espèces *Dictyopteris polypodioides*, *Dilophus ligulatus* et *Halopteris scoparia* ont été récoltées sur la côte Atlantique Marocaine au niveau de deux points de prélèvement de la zone médiolittorale de la ville d'El Jadida (Figure 2). Ces algues ont été rincées à l'eau de robinet plusieurs fois et puis à l'eau distillée afin d'enlever les épiphytes et les débris adhérant à leurs thalles. Séchées à l'air libre pendant deux jours puis passés à l'étuve à 60°C pendant deux jours, les échantillons ont été broyés en de petits fragments et conservés dans des sachets en plastique hermétiquement fermés.

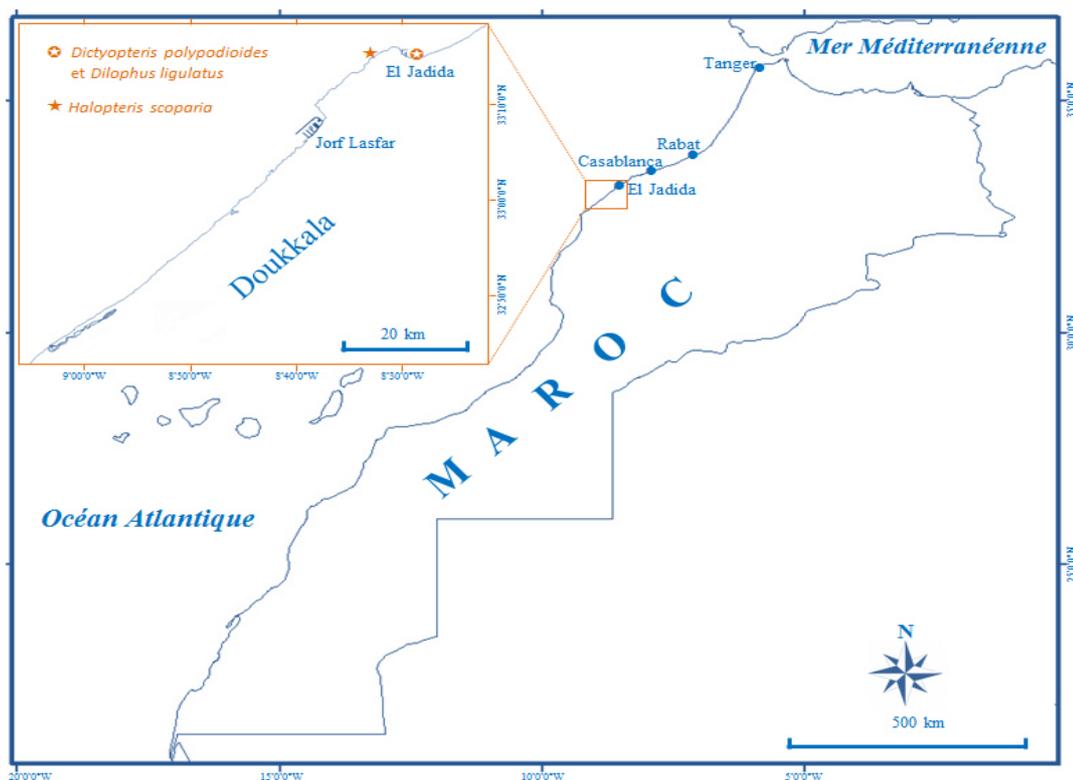


Figure 2 : Localisation des sites de prélèvement de *Dictyopteris polypodioides*, *Dilophus ligulatus* et *Halopteris scoparia*.

2.2. Extraction des alginates de sodium

Le protocole d'extraction des alginates a été adapté de ceux de [9] et [10]. Des échantillons de la biomasse sèche de chaque espèce d'algue ont été formolés pendant 24 h puis lavés avec de l'eau distillée avant d'être trempés dans de l'acide chlorhydrique. Après 24h de lixiviation, les échantillons ont été immergés dans une solution de carbonate de sodium. L'alginate de sodium obtenu est filtré et recueilli par centrifugation. Le processus est répété pour le résidu solide afin d'épuiser la biomasse en alginates. Les fibres d'alginate sont

recupérés par précipitation dans l'éthanol, lavés avec l'acétone et placés dans un four à 50°C pour le séchage jusqu'à poids constant. Les rendements d'alginate sont exprimés en pourcentage du poids sec initial de l'algue (%PS).

2.3. Analyse par spectroscopie infrarouge

Les échantillons de l'alginate de sodium ont été séchés à 50°C pendant 3 h dans une étuve avant l'analyse. Les spectres infrarouges ont été enregistrés à température ambiante sur la plage de nombre d'onde 4000-600 cm⁻¹ avec un spectromètre de type Thermo Scientific Nicolet iS10 FT-IR équipé d'un diamant ATR (Attenuated Total Reflectance) et d'un logiciel OMNIC de traitement de spectres. Un total de 32 scans a été adopté sous une résolution de 4 cm⁻¹.

2.4. Analyse rhéologique

Différentes concentrations de solution d'alginate de sodium allant de 0,5 à 2% ont été préparées afin de déterminer la viscosité de l'alginate des espèces étudiées. L'analyse rhéologique a été réalisée avec un rhéomètre HAAK MARES équipé d'une géométrie de mesure à plans parallèles et surfaces lisses (rayon 25 mm, entrefer 1 mm). Le rhéomètre est couplé à un ordinateur moyennant le logiciel HAAKE Reowin Data Manager qui permet une analyse ultérieure des données. Les mesures sont réalisées à 20°C. Le protocole utilisé consiste en une variation linéaire de la vitesse de cisaillement entre 0 et 600 s⁻¹ et un précisaillement de 180 secondes.

3. Résultats et discussion

3.1. Rendement en alginate de sodium

Les rendements en alginate de sodium pour *Dictyopteris polypodioides*, *Dilophus ligulatus* et *Halopteris scoparia*, sont respectivement de l'ordre de 21,92, 8,8 et 4,16 %PS (% en alginate de sodium par rapport au poids sec initialement utilisé). En comparaison avec les données de la littérature (Tableau 1), la teneur en alginates de l'espèce *Dictyopteris polypodioides* s'avère très prometteuse et avoisine les rendements en alginates de certaines alginophytes telles que *Macrocystis pyrifera* (18-21 %PS), *Laminaria japonica* (20-26 %PS), *Laminaria japonica* (20-26 %PS). Ces teneurs restent néanmoins inférieures par rapport aux alginophytes qui dominent le marché mondial de l'industrie des alginates comme par exemple les espèces *Durvillaea antarctica* (53 %PS) et *Ecklonia cava* (35-38 %PS). Pour les deux autres espèces étudiées *Dilophus ligulatus* et *Halopteris scoparia*, les rendements enregistrés (8,8 et 4,16 %PS respectivement) restent largement inférieurs à ceux de *Dictyopteris polypodioides* et des autres alginophytes du marché industriel. Il est important de noter qu'il s'agit dans notre étude de données ponctuelles relevées à partir d'échantillons printaniers (mars 2014) et que des analyses tout au long du cycle annuel devraient être réalisées afin de vérifier la variation saisonnière des rendements chez les trois espèces étudiées.

Tableau 1: Comparaison des teneurs en alginates des espèces étudiées par rapport aux principales alginophytes dans le monde.

Espèce	Teneur en alginates (% Poids Sec)	Références
<i>Macrocystis pyrifera</i>	18 – 21	
<i>Laminaria japonica</i>	20 – 26	
<i>Laminaria hyperborea</i>	24 – 30	
<i>Laminaria digitata</i>	22 – 36	[6]
<i>Ecklonia cava</i>	35 – 38	
<i>Ascophyllum nodosum</i>	15 – 20	
<i>Fucus serratus</i>	18 – 28	
<i>Durvillaea antarctica</i>	53	[11]
<i>Lessonia trabeculata</i>	25,67	[12]
<i>Saccharina longicuris</i>	20	[13]
<i>Dictyopteris polypodioides</i>	21,92	
<i>Dilophus ligulatus</i>	8,8	Cette étude
<i>Halopteris scoparia</i>	4,16	

3.2. Analyse spectroscopique

L'analyse des alginates par spectroscopie infrarouge (FTIR - ATR) nous a permis de déterminer les groupes fonctionnels caractéristiques présents dans les alginates extraits des trois espèces d'algues brunes étudiées par rapport au spectre IR de l'alginate commercial. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures 3, 4 et 5.

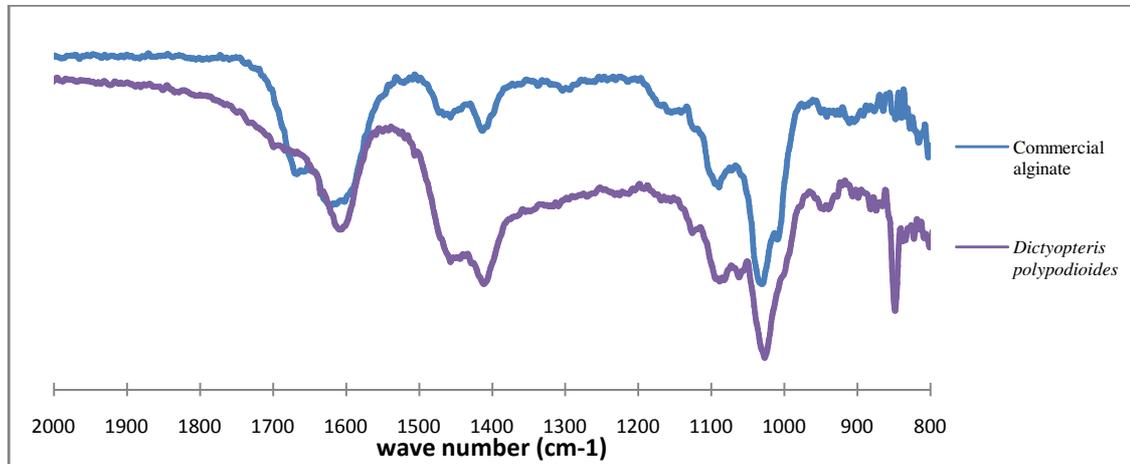


Figure 3: Spectres FTIR - ATR d'alginate de sodium de *Dictyopterus polypodioides* et de l'échantillon commercial.

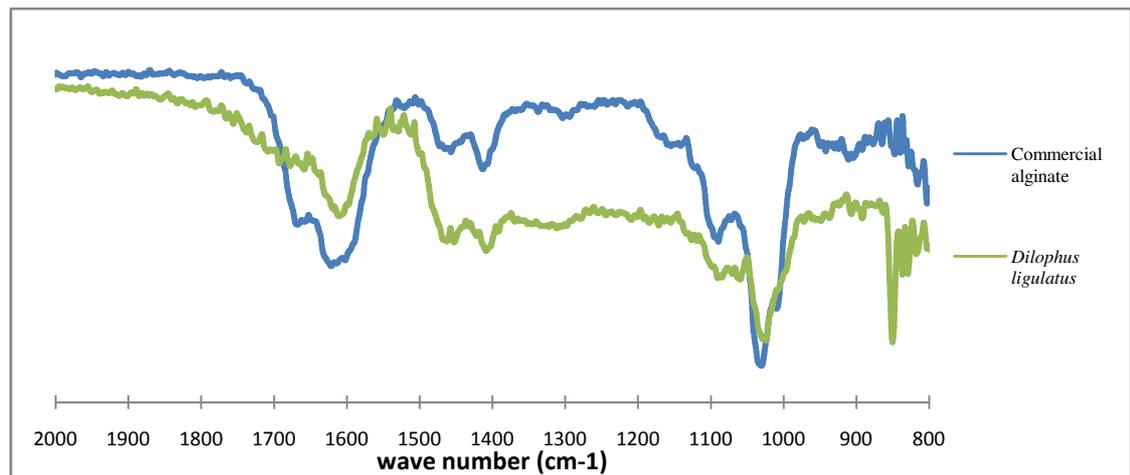


Figure 4: Spectres FTIR - ATR d'alginate de sodium de *Dilophus ligulatus* et de l'échantillon commercial.

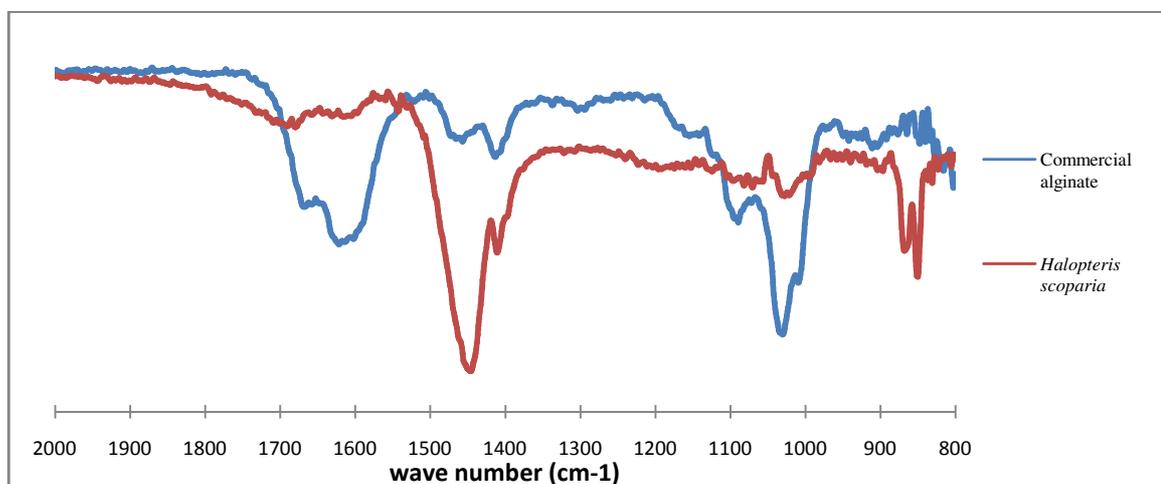


Figure 5: Spectres FTIR - ATR d'alginate de sodium de *Halopteris scoparia* et de l'échantillon commercial.

Les spectres IR de *Dictyopteris polypodioides* et *Dilophus ligulatus* ainsi que celui de l'alginate commercial mettent en évidence la présence d'une bande très intense à 1600 cm^{-1} relative à l'élongation asymétrique du carboxylate (COO^-) ce qui confirme la haute teneur en acide uronique de ces biopolymères [14,15]. La bande à 1415 cm^{-1} est attribuée à une vibration de déformation C–OH et à une vibration d'élongation symétrique du groupe (COO^-) [16,17]. Les deux espèces *Dictyopteris polypodioides* et *Dilophus ligulatus* présentent aussi, à 1030 cm^{-1} , la bande la plus intense correspondant au groupement CO [16].

Le spectre infrarouge de l'alginate extrait de *Halopteris scoparia* se montre atypique par rapport au spectre de l'alginate commercial et de celui des deux autres espèces étudiées avec notamment l'absence de la bande d'absorption à 1600 cm^{-1} et la forte réduction des absorptions à 1415 cm^{-1} et 1030 cm^{-1} .

Les propriétés physico-chimiques des solutions et des gels d'alginate en milieux aqueux dépendent de leur structure, c'est-à-dire de la proportion des résidus mannuroniques par rapport à ceux guluroniques (rapport noté M/G) ainsi que du nombre et de la longueur des blocs MM, GG et MG. La technique la plus utilisée pour calculer ce rapport est la RMN du proton (RMN ^1H). Plusieurs auteurs tentent également l'estimation de ce rapport moyennant la spectroscopie infrarouge. Par exemple, Filippov et al. [18] ont établi le calcul en utilisant le rapport entre l'absorbance du pic 1125 et le pic 1030 cm^{-1} . En attendant les résultats de la RMN ^1H , nous avons tenté d'estimer le rapport M/G en adoptant cette technique. Ce dernier est de 0.99, 0.99 et 1.0 pour *Dictyopteris polypodioides*, *Dilophus ligulatus* et *Halopteris scoparia*, respectivement. En comparaison avec les données de la littérature (Tableau 2), les trois espèces semblent présenter des rapports M/G supérieurs à ceux de certaines alginophytes telles que *Lessonia trabeculata* (M/G = 0.43) et *Laminaria hyperborea* (M/G = 0.41) et restent tout de même inférieurs à ceux de *Duroillaea antarctica* (M/G = 3) et *Laminaria digitata* (M/G = 1.5).

A la lumière de ces résultats, nous pouvons avancer que nos échantillons d'alginate sont aptes à former des gels souples et élastiques. Penman et Sanderson [19] rapportent, en effet, que des gels cassants sont obtenus à partir d'alginate à faible rapport M/G tandis que des gels élastiques sont formés à partir d'alginate avec un rapport M/G élevé. Ce rapport varie également selon le procédé d'extraction et aussi en fonction de la position géographique à partir de laquelle les algues sont recueillies [20]. D'autres études suggèrent, en outre, que les valeurs de ce rapport varient localement chez la même espèce d'algue en fonction du cycle annuel [21,22].

Tableau 2: Comparaison du rapport M/G des espèces étudiées avec celui d'autres Phaeophyceae.

Alginophyte	Origine	M/G	Références
<i>Durvillaea antarctica</i>	Nouvelle Zélande	3	[11]
<i>Lessonia trabeculata</i> (lame)	Chili	0.43	[12]
<i>Laminaria digitata</i>	Norvège	1.5	[23]
<i>Laminaria hyperborea</i> (stipe)	Norvège	0.41	[24]
<i>Laminaria hyperborea</i> (lame)	Norvège	0.96	[24]
<i>Sargassum filipendula</i>	Brésil	0.67-0.78	[25]
<i>Sargassum vulgare</i>	Brésil	1.27-1.56	[10]
<i>Dictyopteris polypodioides</i>		0.99	
<i>Dilophys ligulatus</i>	Maroc	0.99	<i>Cette étude</i>
<i>Halopteris scoparia</i>		1.0	

3.3. Analyse rhéologique

Les résultats des tests rhéologiques réalisés sont présentés dans les figures 6, 7 et 8. Excepté chez le gel formé par l'alginate à 1.5% de l'espèce *Dilophus ligulatus*, nous observons une dépendance linéaire de la contrainte de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement. Selon Nielloud et al. [26], lorsque la contrainte de cisaillement (τ) est une fonction linéaire de la vitesse de cisaillement ($\dot{\gamma}$), le gel est dit newtonien. Le facteur de proportionnalité est appelé viscosité (η), il est constant et indépendant de la vitesse de déformation, d'où :

$$\tau = \eta \dot{\gamma}$$

Avec : τ (Pa) : la contrainte de cisaillement

$\dot{\gamma}$ ($1/S$) : la vitesse de cisaillement

η (Pa.s) : la viscosité

Chez *Dilophus ligulatus*, une légère déviation est néanmoins observée dans les gels formés à 0.5 et 1% et s'accroît visiblement à 1.5% (Figure 7). L'hydrocolloïde formé peut être considéré comme non-newtonien puisque sa contrainte de cisaillement n'est pas une fonction linéaire de la vitesse de déformation. Autrement dit, sa viscosité (appelée viscosité apparente) dépend elle aussi de la vitesse de cisaillement [26]. Des résultats [27] similaires ont été obtenus avec des concentrations d'alginate de 0,5 à 2,5%.

En utilisant l'équation $\tau = \eta \dot{\gamma}$, la viscosité des alginates de sodium à différentes concentrations a été calculée pour les deux espèces *Dictyopterus polypodioides* et *Halopteris scoparia* (Tableau 3). Dans le cas de *Dilophus ligulatus*, pour laquelle les solutions d'alginates avaient présenté un comportement non-newtonien (dit aussi rhéofluidifiant ou pseudoplastique), le calcul de la viscosité a été effectué en utilisant l'équation $[\tau (pa) = 9,00075 + \eta (Pa.s) \cdot \dot{\gamma} (1/S)]$ après avoir établi une courbe dite d'écoulement (non présentée).

D'après les résultats obtenus, les alginates des trois espèces présentent presque la même viscosité à faible concentration (0.5%). A 1.0 et 1.5%, des différences significatives ont été observées avec notamment une viscosité beaucoup plus élevée dans le cas de *Dictyopterus polypodioides* par rapport à *Dilophus ligulatus* et à *Halopteris scoparia*. Cette disparité peut être expliquée par des différences probables au niveau du rapport M/G, du nombre et de la longueur des blocs MM, GG et MG ainsi qu'au niveau du poids moléculaire des alginates qui varie d'une espèce à une autre [13]. D'une manière générale, la viscosité augmente proportionnellement avec la concentration d'alginate de sodium. Une telle constatation a été également soulevée par Lapsin et al. [28] qui ont considéré que ce comportement est probablement dû au fait qu'à de faibles concentrations, les interactions entre les macromolécules sont assez réduites et conséquemment la viscosité est proportionnelle au volume hydrodynamique alors que la probabilité des interactions intermoléculaires est amplifiée quand la concentration est rehaussée graduellement.

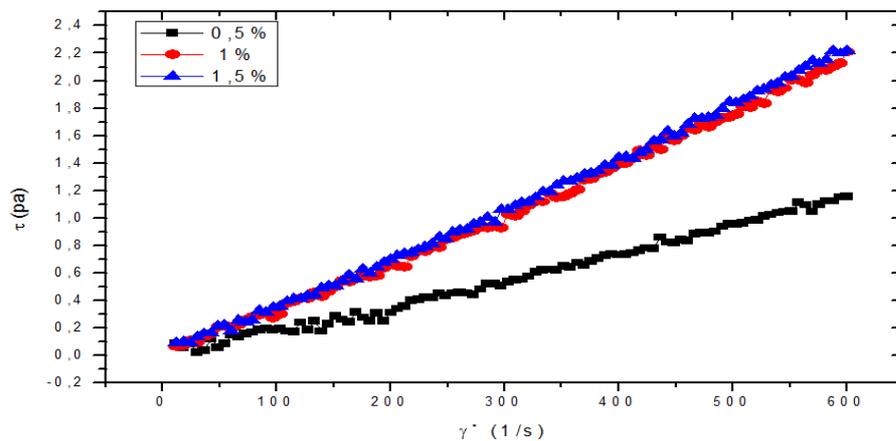


Figure 6: Contrainte de cisaillement $[\tau (pa)]$ en fonction de la vitesse de cisaillement $[\dot{\gamma} (1/S)]$ à différentes concentrations d'alginate de sodium chez *Dictyopterus polypodioides*.

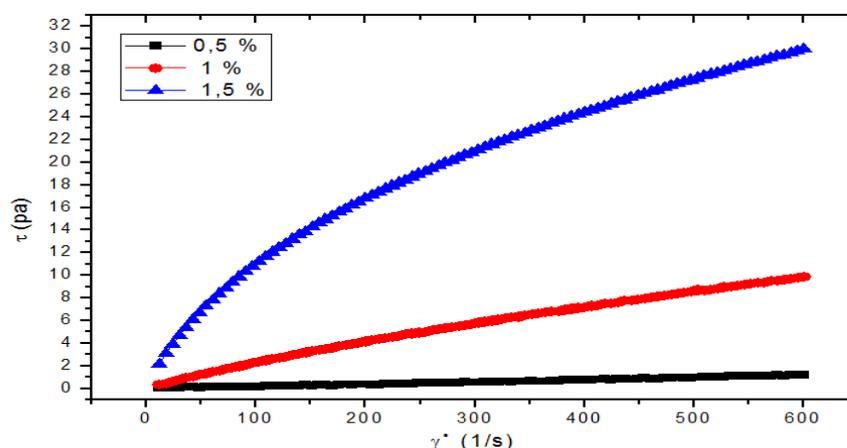


Figure 7: Contrainte de cisaillement $[\tau (pa)]$ en fonction de la vitesse de cisaillement $[\dot{\gamma} (1/S)]$ à différentes concentrations d'alginate de sodium chez *Dilophus ligulatus*.

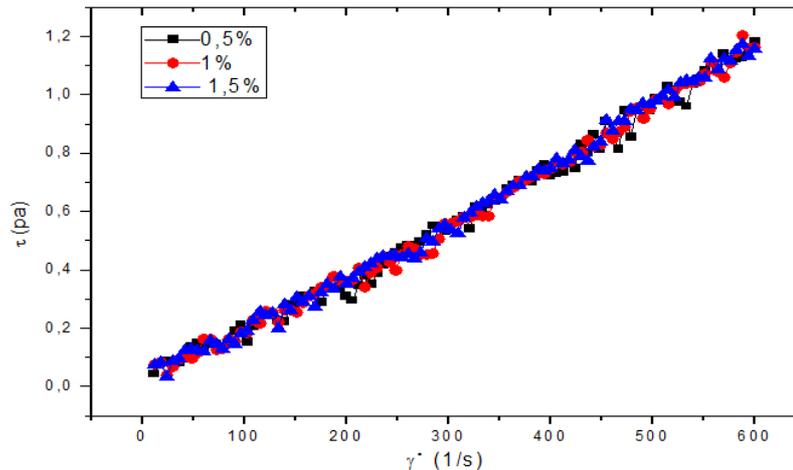


Figure 8: Contrainte de cisaillement [τ (pa)] en fonction de la vitesse de cisaillement [$\dot{\gamma}$ (1/S)] à différentes concentrations d'alginate de sodium chez *Halopteris scoparia*.

Tableau 3: La viscosité (mPa.s) à différentes concentrations d'alginate de sodium extraits de *Dictyopteris polypodioides*, *Dilophus ligulatus* et *Halopteris scoparia*.

Na Alginate (%)	<i>Halopteris scoparia</i>	<i>Dictyopteris polypodioides</i>	<i>Dilophus ligulatus</i>
0.5 %	1.91	1.92	1.97
1 %	1.92	3.59	15.75
1.5 %	1.93	3.69	42.18

Conclusion

Les alginates des algues brunes des côtes marocaines sont assez mal connus. En particulier, les données sur ces phycocolloïdes chez les espèces *Halopteris scoparia*, *Dictyopteris polypodioides* et *Dilophus ligulatus* sont indisponibles à l'échelle nationale et aucun rapport scientifique à ce sujet n'a été rencontré dans la littérature scientifique. L'objectif de cette publication est donc la présentation, pour la première fois au Maroc si ce n'est au monde, des rendements et des caractéristiques spectroscopiques et rhéologiques des alginates de sodium chez les trois espèces précitées. Les rendements en ces biopolymères sont respectivement de l'ordre de 21.92, 8.8 et 4.16%. L'analyse des alginates par spectroscopie infrarouge, moyennant un spectromètre FT-IR ATR, montre que les spectres d'alginate extraits à partir de *Dictyopteris polypodioides* et *Dilophus ligulatus* présentent une forte similarité avec l'alginate commercial testé et avec les données de la littérature scientifique alors que le spectre infrarouge de l'alginate d'*Halopteris scoparia* est différent et présente des bandes qui ne répondent pas aux caractéristiques spectroscopiques déterminantes requises. Les tests rhéologiques effectués à différentes concentrations d'alginate de sodium (0.5, 1 et 1.5%) indiquent que les gels obtenus présentent généralement un comportement Newtonien avec une dépendance linéaire de la contrainte de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement excepté pour l'espèce *Dilophus ligulatus* pour laquelle un comportement non-newtonien a été observé notamment à forte concentration. En définitive et vue la caractérisation quantitative et qualitative réalisée, seule l'espèce *Dictyopteris polypodioides* pourrait être considérée comme une alginophyte candidate à l'exploitation industrielle.

Références

1. FAO. La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. FAO, Rome. (2012).
2. FAO. La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. FAO, Rome. (2014).
3. Vauchel P., Optimisation de procédés innovants pour l'obtention de phycocolloïdes. Thèse de Doctorat, Université de Nantes, France. (2007).
4. Person J., Lando D., Mathieu D., Livre turquoise : Algues, filières du futur, AdebioTech. (2010).
5. Primates G., *Ind. Aliment.* 16 (1977) 102.
6. Pérez R. Ces algues qui nous entourent : Conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture. IFREMER. (1997) 272.
7. Kloareg B., Quatrano R.S., *Oceanogr. Mar. Biol.* 26 (1988) 259.

8. Benhissoune, S., Contribution à l'étude de la flore des macroalgues marines du Maroc (Méditerranée et Atlantique). Thèse Doctorat, Université Mohammed V Rabat. (2002).
9. Calumpong P. H., Maypa P. A., Magbanua M., *Hydrobiol.* 398 (1999) 211.
10. Torres M. R., Sousa A. P. A., Silva Filho E. A. T., Melo D. F., Feitosa J. P. A., de Paulab R. C. M., Lima M. G. S., *Carbohydr. Res.* 342 (2007) 2067.
11. Miller I. J., *Phytochem.* 41 (1996) 1315.
12. Chandía N. P., Matsuhira B., Vásquez A. E., *Carbohydr. Polym.* 46 (2001) 81.
13. Rioux L. E., Caractérisation rhéologique des alginates polysaccharides extraits des algues brunes. Thèse de Doctorat, Université Laval. (2005).
14. Bi F., Mahmood S. J., Arman M., Taj N., Iqbal S., *Phys. Chem. Liq.* 45 (2007) 453.
15. Mathlouthi M., Koenig J. L. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 44 (1986) 7.
16. Fenoradoso T. A., Ali G., Delattre C., Laroche C., Petit E., Wadouachi A., Michaud P., *J. App. Phycol.* 22 (2010) 131.
17. Papageorgiou S. K., Kouvelos E. P., Favvas E.P., Sapalidis A. A., Romanos G. E., Katsaros F. K., *Carbohydr. Res.* 345 (2010) 469.
18. Filippov M. P., Kohn R., *Chem. Zvesti.* 28 (1974) 817.
19. Penman A., Sanderson G. R., *Carbohydr. Res.* 25 (1972) 273.
20. Nichide E., Anzai H., Uchida N., *Nip. Suis. Gak.* 53 (1987) 1215.
21. Craigie, J. S., Morris E. R., Rees D. A., Thom D., *Carbohydr. Polym.* 4 (1984) 237.
22. Indergaard M., Skjak-Braek G., *Hydrobiol.* 152 (1987) 541.
23. Stokke B. T., Smidsrod O., Bruheim P., Skjak-Braek G. *Macromolecules.* 24 (1991) 4637.
24. Grasdalen H., *Carbohydr. Res.* 118 (1983) 255.
25. Bertagnolli C., Espindola A. P., Kleinübing S. J., Tasic L., Carlos da Silva M.G. *Carbohydr. Polym.* 111 (2014) 619.
26. Nielloud F. G., Marti-Mestres M., Pharmaceutical emulsions and suspensions, Taylor et Francis. (2000).
27. Carturan G., Campostrini R., Tognana L., Boninsegna S., Dal Toso R., Dal Monte R., *J. Sol-Gel Sci. Tech.* 37 (2006) 69.
28. Lapsin R., Pricl S., Rheology of industrial polysaccharides: Theory and applications. Blackie Academic and Professional (1995) 620 pages.

(2015) ; <http://www.jmaterenvironsci.com>