

# Superficial microanalysis of marine algae for sustainable effluent treatment

Ardanza, M. del P.<sup>1,2</sup>, Piol, M. N.<sup>1</sup>, y Boeykens, S. P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University of Buenos Aires, Faculty of Engineering, IQAI – LaQuiSiHe, Argentina, laquisihe@fi.uba.ar

<sup>2</sup> National Technological University-Santa Cruz Regional Faculty, Materials Integrity and Corrosion Laboratory, Argentina, mardanza@fi.uba.ar

**Abstract**– *The recognition tests of the structural, chemical, superficial and morphological characteristics of the adsorbents is a key point to take into account when the use of these materials as filler in adsorption columns for the treatment of industrial effluents is proposed. The superficial microanalysis of the material by SEM-EDS allows to study the distribution pattern of the contaminants and to identify the possible functional groups participating in the adsorptive process. In this work, preferential adsorption zones have been found due to heterogeneities and the presence of organic groups on the surface of the material made up of marine algae with different affinities for each of the adsorbates tested (metal ions).*

**Keywords**- *Superficial microanalysis, adsorbent. effluent treatment.*

## I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, la biosorción se considera uno de los métodos más prometedores para la eliminación de iones metálicos en efluentes acuosos, debido a sus características de bajo costo y amigables con el medio ambiente [1]. Diferentes autores proponen el empleo de sustratos biológicos, por ejemplo: fibra de coco, hojas de té de desecho, algas marinas [2], levadura, mohos, lana de bacterias, caparazón de cangrejo, paja, desechos de café [3], cáscara de banana [4] macrófitas acuáticas [5] como adsorbentes para proporcionar un tratamiento eficaz y sostenible de efluentes industriales.

Para este trabajo se seleccionaron algas marinas obtenidas en la Patagonia Argentina. El uso de algas para adsorber metales es un tratamiento eficaz y respetuoso con el medio ambiente y ha atraído una amplia atención de la investigación [6]. La *Ulva lactuca* es conocida comúnmente como lechuga de mar o luche verde, crece en la zona intermareal de la mayoría de los océanos del mundo. Existen en forma de plagas en las costas de la Provincia de Santa Cruz [7].

Las pruebas de reconocimiento de las características estructurales, químicas, superficiales y morfológicas del adsorbente son un punto clave a tener en cuenta pensando en el empleo de los materiales adsorbentes, no convencionales, como relleno de reactores para tratamiento de efluentes que contienen metales.

El desarrollo del análisis de micrografías con un Espectrómetro Dispersivo en Energía (EDS) para los instrumentos de haz de electrones ha sido responsable de una gran revolución en los últimos 25 años para el microanálisis de los materiales [8]. Por esta razón, se buscó caracterizar y estudiar la superficie de las mencionadas algas a través del análisis de micrografías SEM y del microanálisis superficial multielemental, que se realiza con el detector EDS. También se realizaron análisis complementarios por TXRF (fluorescencia de rayos X de reflexión total) y FT-IR (Infrarrojo por Transformada de Fourier).

## II. METODOLOGÍA

### A. Tratamiento de los bioadsorbentes y experiencias de adsorción

Se seleccionaron algas marinas (*Ulva lactuca*) en Punta Loyola, Provincia de Santa Cruz Argentina. Se lavaron con agua destilada hasta que la solución resultante no tuviera color. Posteriormente, se secaron en estufa a 60°C durante 24 horas. Se molió y tamizó con malla número 16 y 35 (tamaño de partícula entre 1,3 y 0,5 mm). Luego, se prepararon los sistemas a estudiar realizando experiencias de adsorción en discontinuo: *Ulva lactuca*-Cu (II), *Ulva lactuca*-Cr (VI), *Ulva lactuca*-Ni (II), *Ulva lactuca*-Cu(II)-Ni(II)-Zn(II) a temperatura de ambiente controlada (25°C). Para ello, se puso en contacto el adsorbente con 50 mL de solución sintética de cada metal o multielemental en recipientes de 100 mL, agitando a 200 rpm con agitador orbital (Vicking®), durante 3 horas para que el sistema alcanzara el equilibrio. Para el sistema multicomponente se utilizó una solución multielemental equimolar de Cu(II)-Ni(II)-Zn(II).

### B. Ensayos de saturación

Para los ensayos de saturación se prepararon los siguientes sistemas a estudiar: *Ulva lactuca*-Cu (II), *Ulva lactuca*-Cr (VI), *Ulva lactuca*-Ni (II), *Ulva lactuca*-Cu(II)-Ni(II)-Zn(II) y blanco. Para identificar los grupos funcionales presentes se analizaron los sistemas con un espectrómetro Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR Nicolet 8700). Finalmente se realizó el ensayo de liberación de impurezas medido por fluorescencia de rayos X de reflexión total (TXRF).

**Digital Object Identifier:** (only for full papers, inserted by LACCEI).  
**ISSN, ISBN:** (to be inserted by LACCEI).  
**DO NOT REMOVE**

### C. Análisis de la topografía superficial

Para realizar el análisis topográfico superficial del material adsorbente se utilizó el SEM Zeiss EVO MA 10. El equipo cuenta con un detector de electrones secundarios (SE1) y un espectrómetro dispersivo en energía (EDS). La preparación de las muestras se realizó de la siguiente manera, primero se secaron a 60 °C en estufa. Se utilizó el Metalizador Sputtering Q150RES (Quorum Technologies Ltd) para recubrir las muestras con oro de manera uniforme en alto vacío.

Se procesaron las micrografías con los programas ImageJ y SmartSEM®. Con el SEM-EDS se visualizaron las zonas con diferentes topografías, luego se obtuvieron micrografías a diferentes aumentos y con el programa SmartSEM® se midieron las diferentes cavidades y montículos. Con el detector EDS y el programa AZtec® se realizó un microanálisis superficial de cada uno de los sistemas y un mapa de distribución de Rayos X que permite la obtención de la distribución de un elemento dado, en una zona observada de la muestra.

## III. RESULTADOS

### A. Análisis SEM-EDS y TXRF

Se observó la heterogeneidad de la superficie con una magnificación de 126 X (Fig. 1), 901 X (Fig. 2), 2.07 KX (Fig. 3) y 864 X (Fig. 4). En la Fig. 4 se muestra, también, la medición de los montículos presentes en la superficie del adsorbente.

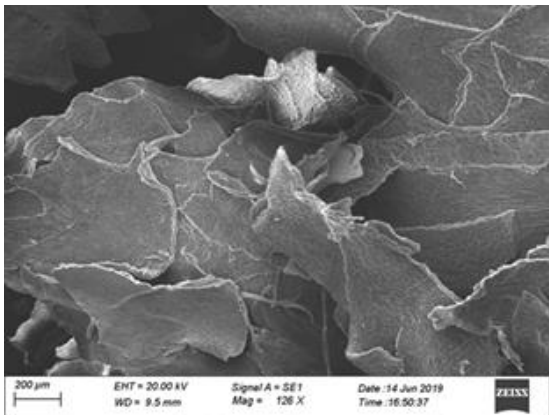


Fig. 1. Micrografía de la *Ulva lactuca* metalizada. Mag: 126 X.

Como la muestra no es conductora para realizar el microanálisis superficial multielemental por Espectrometría Dispersiva en Energía (EDS), se recurrió al detector de electrones retrodifundidos (HDBSD) (Fig. 5), de esta manera se pudo identificar las diferentes zonas del material adsorbente para seleccionar los sitios de los análisis multipunto y mapeo.

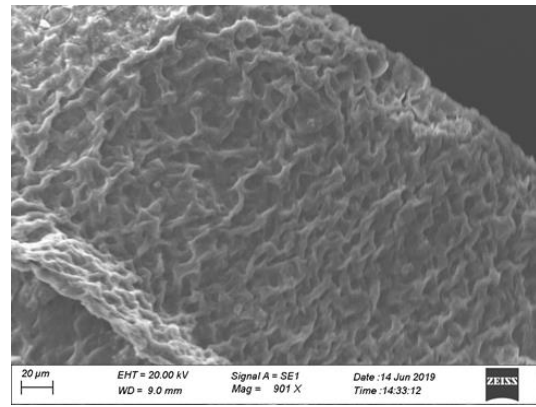


Fig. 2. Heterogeneidad de la superficie de la *Ulva lactuca*. Mag: 901 X.

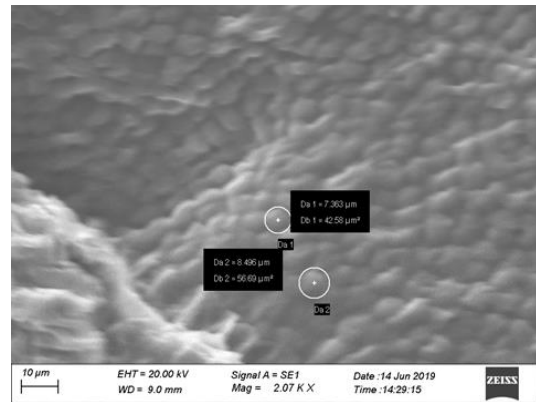


Fig. 3. Micrografía de la *Ulva lactuca* metalizada. Mag: 2.07 K X.

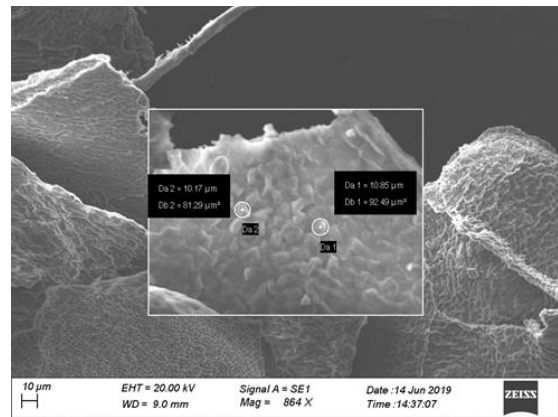


Fig. 4. Heterogeneidad de la superficie de la *Ulva lactuca*. Mag: 864 X.

En las micrografías se observaron dos zonas bien definidas: una zona que presenta un 44.257 % de cavidades irregulares (área) (Fig. 2) y otra zona formada por montículos (Fig. 3 Y 4), estos presentan un diámetro de 7,363 µm y un área de 42,58 µm<sup>2</sup> y un diámetro de 8,496 µm y un área de 56,69 µm<sup>2</sup>, respectivamente (Fig. 3). En la fig. 5, se observa que presentan un diámetro de 10,85 µm y un área de 92,49

$\mu\text{m}^2$  y un diámetro de  $10,17 \mu\text{m}$  y un área de  $81,29 \mu\text{m}^2$ , respectivamente.

Los resultados del microanálisis superficial multipunto realizado a todos los sistemas, dan cuenta de la composición superficial teniendo al carbono y al oxígeno como elementos mayoritarios (fig. 5). Los elementos minoritarios fueron los esperados: aluminio, silicio, azufre, cloro, potasio, calcio, hierro, bromo y magnesio.

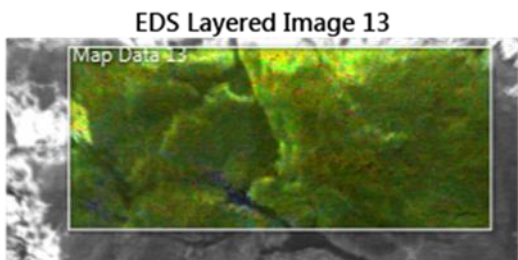


Fig. 5. Mapeo del sistema. El color verde representa el 49,9 % de oxígeno, el rojo representa al 43,3 % del carbono. Programa AZtec® (EDS).

Los resultados obtenidos por TXRF para ensayos de liberación de impurezas muestran que los principales iones liberados por la *Ulva lactuca* son: azufre  $2.642 \text{ mg g}^{-1}$  de adsorbente, magnesio  $1.485 \text{ mg g}^{-1}$  de adsorbente, calcio  $1.063 \text{ mg g}^{-1}$  de adsorbente, aluminio  $0.391 \text{ mg g}^{-1}$  de adsorbente, hierro  $0.307 \text{ mg g}^{-1}$  de adsorbente, potasio  $0.307 \text{ mg g}^{-1}$  de adsorbente. Para los adsorbatos estudiados se obtuvieron los siguientes resultados: cobre  $0.0042 \text{ mg g}^{-1}$ , níquel  $0.0012 \text{ mg g}^{-1}$  y zinc  $0.011 \text{ mg g}^{-1}$ .

### B. Análisis de los sistemas monocomponentes

#### 1) Sistema *Ulva lactuca*-cobre (II)

Se seleccionaron diferentes puntos del sistema, teniendo en cuenta su topografía, la tabla I muestra los resultados del microanálisis superficial multielemental por EDS.

TABLA I  
RESULTADOS DE LOS ESPECTROS DEL SISTEMA *ULVA LACTUCA*-COBRE.

N° de espectro	<i>Ulva lactuca</i> -Cu (II)	
	Ubicación del análisis	% de Adsorbato
1	Fuera de la cavidad	2.8
2	Dentro de la cavidad	1.2
3	Fuera de la cavidad	1.1
4	Fuera de la cavidad	1.7
5	Dentro de la cavidad	6.4
6	Dentro de la cavidad	3.5
7	Dentro de la cavidad	26.1
8	Fuera de la cavidad	1.5
9	Dentro de la cavidad	0.6
10	Fuera de la cavidad	0.0

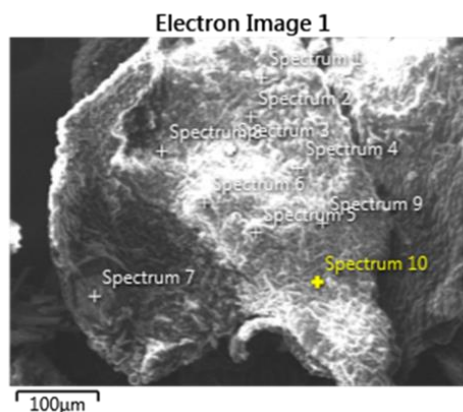


Fig. 6. Imagen del sistema *Ulva lactuca*-Cu con el detector de electrones secundarios (SE1). Programa AZtec® (EDS).

#### 2) Sistema *Ulva lactuca*-níquel (II)

Se seleccionaron diferentes puntos del sistema, teniendo en cuenta su topografía, la tabla II muestra los resultados del microanálisis superficial multielemental por EDS.

TABLA II  
RESULTADOS DE LOS ESPECTROS DEL SISTEMA *ULVA LACTUCA*-NÍQUEL

N° de espectro	<i>Ulva lactuca</i> -Ni (II)	
	Ubicación del análisis	% de Adsorbato
19	Fuera de la cavidad	0.8
20	Dentro de la cavidad	3.2
3	Fuera de la cavidad	0.8
4	Dentro de la cavidad	1.4
5	Fuera de la cavidad	1.0
6	Dentro de la cavidad	0

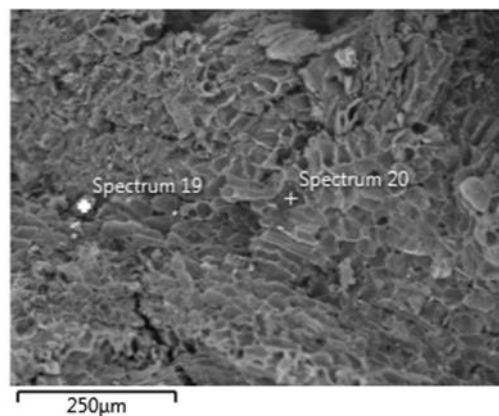


Fig. 7. Imagen del sistema *Ulva lactuca*-Ni con el detector de electrones secundarios (SE1). Programa AZtec® (EDS).

#### 3) Sistema *Ulva lactuca*-zinc (II)

Se seleccionaron diferentes puntos del sistema, teniendo en cuenta su topografía, la tabla III muestra los resultados del microanálisis superficial multielemental por EDS.

TABLA III

RESULTADOS DE LOS ESPECTROS DEL SISTEMA *ULVA LACTUCA*-ZINC.

N° de espectro	<i>Ulva lactuca</i> -Ni (II)	
	Ubicación del análisis	% de Adsorbato
1	Fuera de la cavidad	0.0
2	Fuerade la cavidad	2.8
3	Dentro de la cavidad	11.2
4	Dentro de la cavidad	14.1
5	Fuera de la cavidad	2.5
6	Dentro de la cavidad	6.0

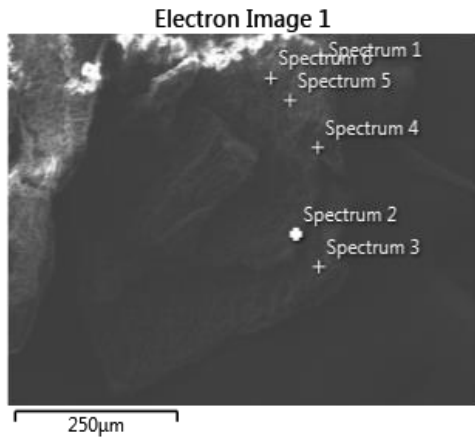


Fig. 8. Imagen del sistema *Ulva lactuca*-Zn con el detector de electrones secundarios (SE1). Programa AZtec® (EDS).

C. Análisis del sistema multicomponente

Se seleccionaron diferentes puntos del sistema, teniendo en cuenta su topografía, la tabla IV muestra los resultados del microanálisis superficial multielemental por EDS.

TABLA IV

RESULTADOS DE LOS ESPECTROS DEL SISTEMA *ULVA LACTUCA*-COBRE-NÍQUEL-ZINC.

N° de espectro	<i>Ulva lactuca</i> - Cu(II)-Ni(II)-Zn(II)			
	Ubicación del análisis	Zn %	Ni %	Cu %
1	Fuera de la cavidad	17.2	0.3	0.0
2	Fuera de la cavidad	22.5	0.5	0
3	Dentro de la cavidad	25.2	0.5	0
4	Dentro de la cavidad	27.0	0.5	0
22	Fuera de la cavidad	37.7	21.6	30.6
23	Dentro de la cavidad	38.6	21.9	32.4
24	Dentro de la cavidad	30.0	20.6	26.1
25	Dentro de la cavidad	33.1	23.1	29.5
26	Fuera de la cavidad	26.9	19.5	24.3
27	Fuera de la cavidad	36.6	22.9	30.9
28	Dentro de la cavidad	23.1	19.5	24.3

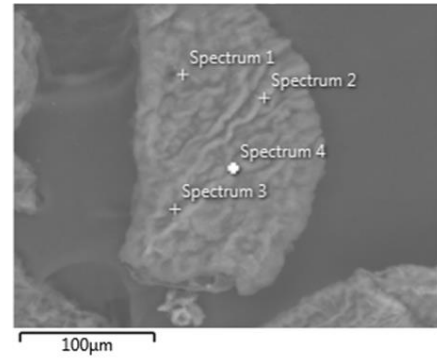


Fig. 9. Imagen del sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn con el detector de electrones retrodifundidos (HDBSD). Programa AZtec® (EDS).

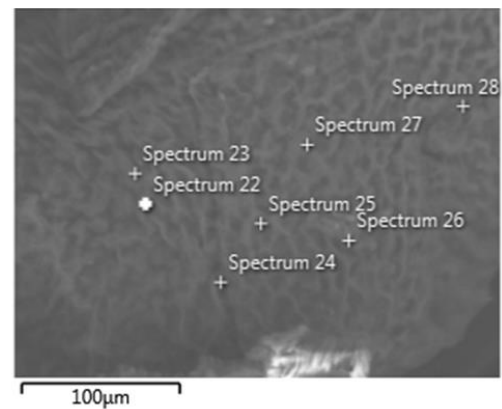


Fig. 10. Imagen del sistema alga-cobre-níquel-zinc con el detector de electrones retrodifundidos (HDBSD). Programa AZtec® (EDS)

Se realizó un mapeo del sistema *Ulva lactuca*-Cu(II)-Ni(II)-Zn(II), la fig. 17 muestra los resultados del microanálisis superficial multielemental por EDS. En la figura 11 se observa la micrografía del sistema donde se realizó el mapeo.

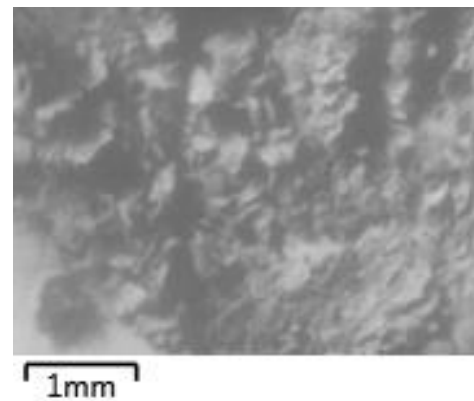


Fig. 11. Imagen del sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn con el detector de electrones secundarios (SE1). Programa AZtec® (EDS).

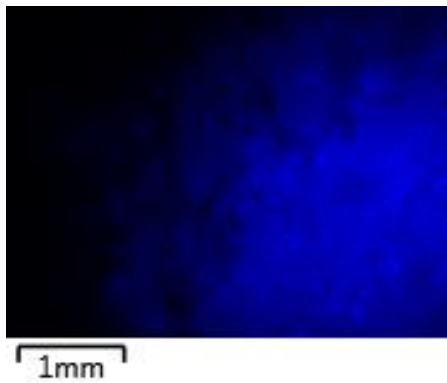


Fig. 12. Mapeo de la distribución superficial del Cu en el sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn con el detector de EDS. Programa AZtec® (EDS).

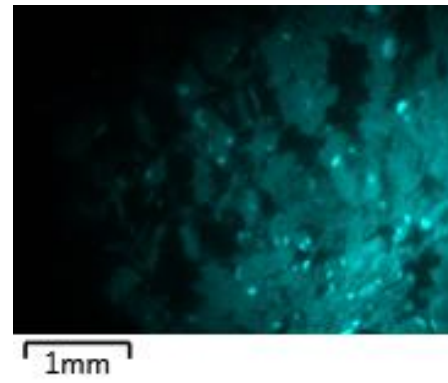


Fig. 15. Mapeo de la distribución superficial del S en el sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn con el detector de EDS. Programa AZtec® (EDS).

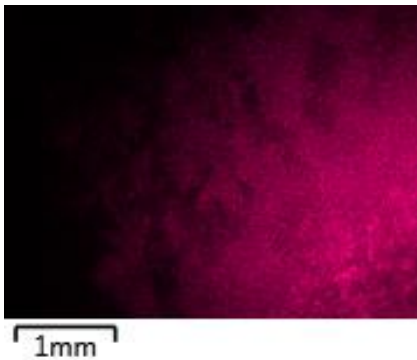


Fig. 13. Mapeo de la distribución superficial del Ni en el sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn con el detector de EDS. Programa AZtec® (EDS).

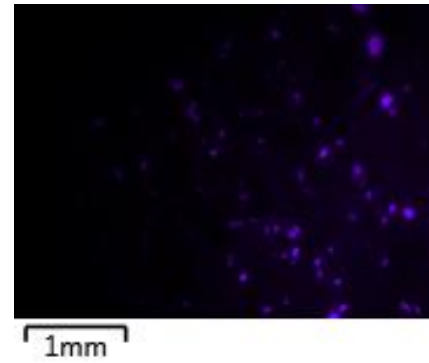


Fig. 16. Mapeo de la distribución superficial del Ca en el sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn con el detector de EDS. Programa AZtec® (EDS).

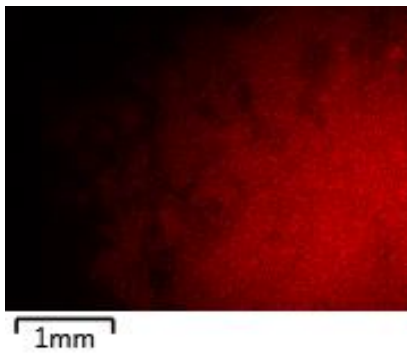


Fig. 14. Mapeo de la distribución superficial del Zn en el sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn con el detector de EDS. Programa AZtec® (EDS).

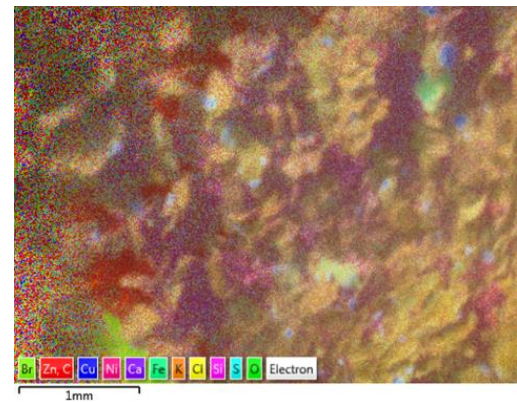


Fig. 17. Imagen del sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn. El color azul representa al Cu, el rojo representa al Zn y el fucsia al Ni en la superficie. Programa AZtec® (EDS).

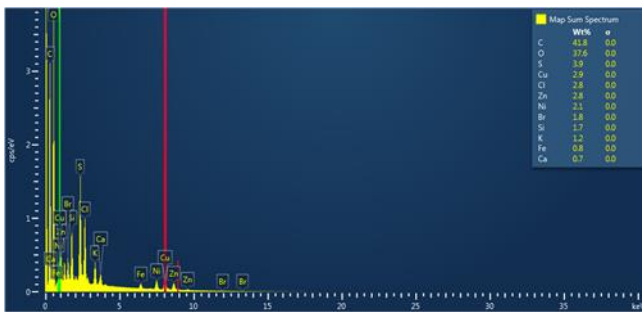


Fig. 18. Espectro unificado del sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn. Se encontró: 2.9 % de cobre, 2.8 % de zinc y 2.1 % de níquel.

Para el sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn, se preparó una muestra en pastilla, para realizar nuevamente el microanálisis multipunto. Se utilizó el detector de electrones retrodifundidos (HDBSD), fig. 19.

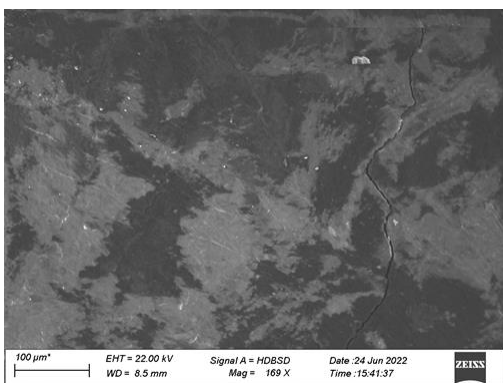


Fig. 19. Imagen del sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn en pastilla. Detector de electrones retrodifundidos (HDBSD). Heterogeneidad de la superficie.

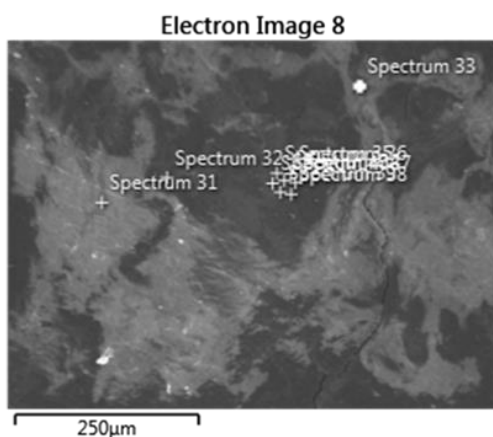


Fig. 20. Imagen del sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn en pastilla. Detector de electrones retrodifundidos (HDBSD). Programa AZtec<sup>®</sup> (EDS).

Con el detector de Backscattered Electrons (HDBSD) se seleccionaron zonas de la imagen brillante y zonas oscuras. Se encontró que la zona brillante (Fig. 22 y 21) se detecta la

presencia de cobre, níquel y zinc. En cambio en la zona oscura (Fig. 20 y 22) no se detectan estos tres metales.

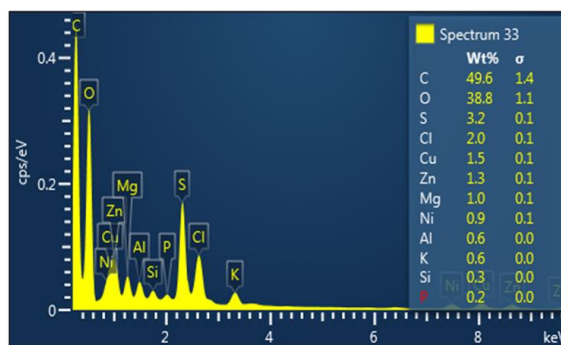


Fig. 21. Espectro 33 sistema pastilla *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn. Se encontró 1.5 % de cobre, 1.3 % de zinc y 0.9 % de níquel. Programa AZtec<sup>®</sup> (EDS)

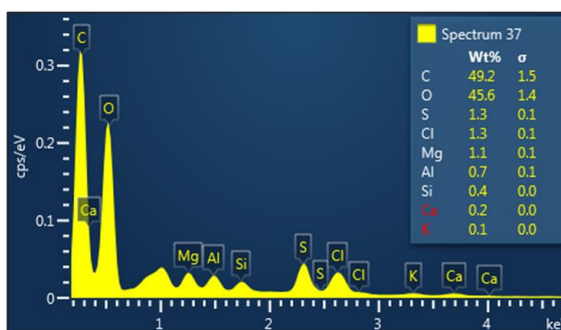


Fig. 22. Espectro 37 sistema pastilla *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn. Se encontró elementos con menor número atómico. Programa AZtec<sup>®</sup> (EDS).

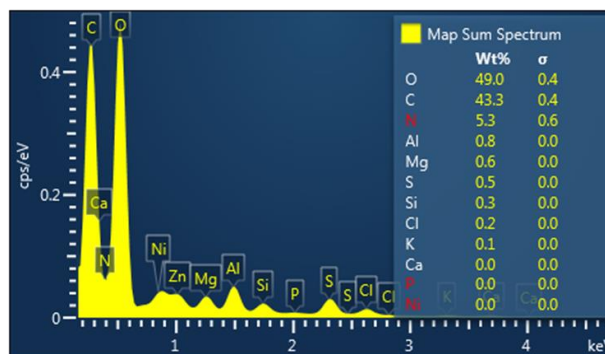


Fig. 23. Espectro unificado imagen 13 del sistema pastilla *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn. Se encontró 49,0 % de oxígeno, 43,3 % de carbono, se detectó Cu, Ni y Zn en el mapeo pero no se logró cuantificar.

### C. Análisis por FT-IR

El análisis de los espectros de FT-IR permite determinar cuáles son los grupos funcionales presentes. Se observa una gran cantidad de picos que reflejan la naturaleza compleja del material (Fig. 24, 25, 26 y 27).

Las especies de macroalgas verdes (Chlorophyta) del género *Ulva* contiene ulvan que es un polisacárido de la pared celular compuesto principalmente por ramnosa sulfatada, ácidos urónicos (ácido glucurónico y ácido idurónico) y xilosa. También presenta otros tres polisacáridos en su pared celular, la celulosa, xiloglucano y glucuronano [9]. Los polisacáridos pueden coexistir tanto en la pared celular como formar parte de las sustancias intercelulares y tienen una gran afinidad por los cationes divalentes [10].

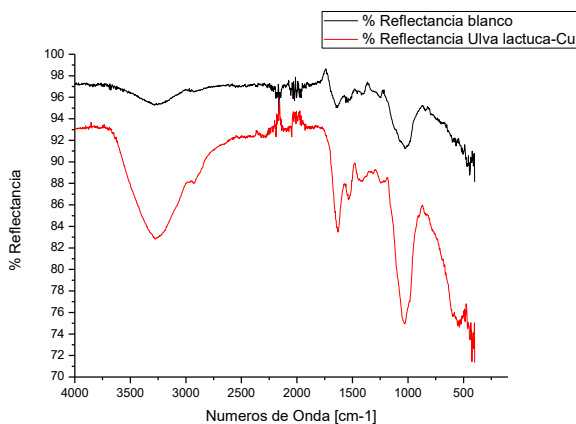


Fig. 24. Espectros FT-IR, sistemas: *Ulva lactuca* (blanco) y *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn.

Con la técnica FT-IR se identificaron los posibles grupos funcionales responsables del proceso adsorptivo debido a los cambios de intensidad antes y después de la adsorción, se cree que esto se debe al cambio del entorno del grupo funcional por la interacción con los iones metálicos. El pico alrededor de  $1050\text{ cm}^{-1}$  se atribuye al alargamiento del enlace CO de carboxilos y alcoholes. El pico encontrado alrededor de  $1440\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a un solapamiento de los picos correspondientes al alargamiento de los grupos N-H (de aminas) y O-H (de alcoholes). La presencia de grupos amida se refleja en los picos encontrados alrededor de  $1530\text{ cm}^{-1}$  (CO de amidas). Los grupos sulfonatos presentes en el material dan lugar a dos picos entre  $1300$  y  $1240\text{ cm}^{-1}$ . La señal entre  $3200\text{ cm}^{-1}$  se puede atribuir a los puentes intramoleculares con carbonilos.

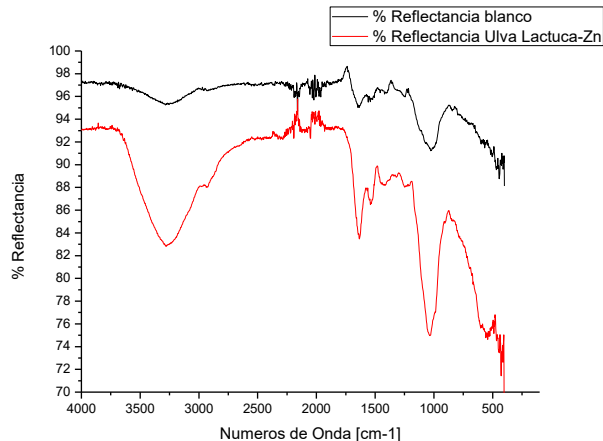


Fig. 25. Espectros FT-IR, sistemas: *Ulva lactuca* (blanco) y *Ulva lactuca*-Zn.

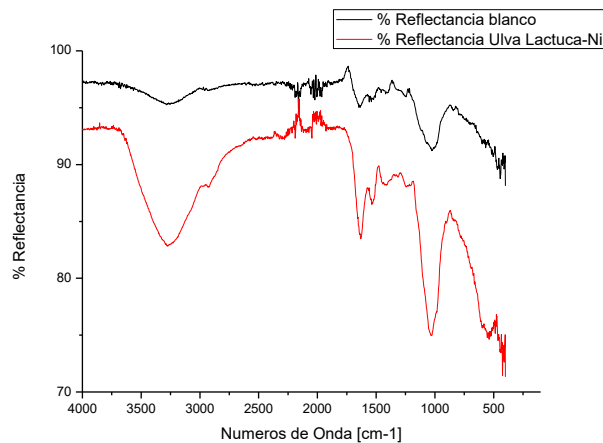


Fig. 26. Espectros FT-IR, sistemas: *Ulva lactuca* (blanco) y *Ulva lactuca*-Ni.

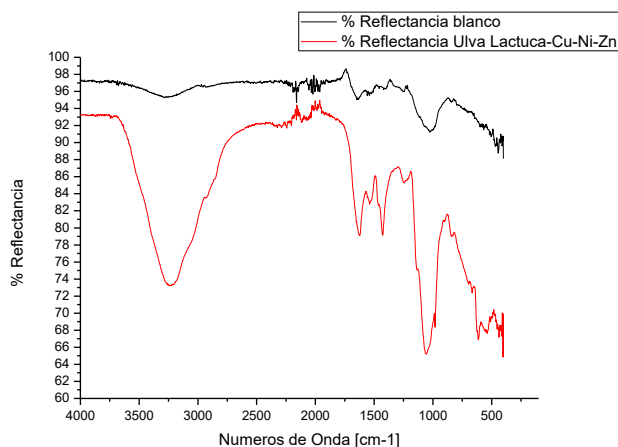


Fig. 27. Espectros FT-IR, sistemas: *Ulva lactuca* (blanco) y *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn.

### III. CONCLUSIONES

Para el caso de los tres sistemas monocomponentes los espectros obtenidos en los puntos dentro y fuera de las cavidades revelan una interesante diferencia en la distribución, mostrando una preferencia por el interior de las cavidades. Se cree que esto se debe a que las zonas más irregulares y heterogéneas son los sitios donde se favorece la adsorción de los iones metálicos.

En el sistema multielemental se encontró una tendencia a una distribución heterogénea de los tres elementos. Para el caso de la muestra en pastilla del sistema *Ulva lactuca*-Cu-Ni-Zn, si se utiliza el detector de Backscattered Electrons (HDBSD) para el microanálisis multipunto, se pueden observar en las imágenes diferentes niveles de grises, que dan cuenta de la diversidad de los elementos que la forman, mostrando la heterogeneidad de la superficie. Esto se debe a que las zonas que contienen elementos con un mayor número atómico son más eficientes en la emisión de Backscattered Electrons (HDBSD) y aparecen por lo tanto más brillantes en la imagen. El mapeo del sistema multielemental también revela una distribución heterogénea de los tres iones presentes y una preferencia en la adsorción cobre > zinc > níquel. La capacidad de adsorción ha sido atribuida principalmente a las propiedades de la pared celular del adsorbente, es por esto que las diferencias en la adsorción de los iones metálicos podrían ser asignadas a los polisacáridos presentes en las paredes celulares del alga, probablemente porque estos compuestos orgánicos presenten distintas afinidades por cada uno de los adsorbatos.

En los espectros FT-IR, la diversidad de bandas que se presentan reflejan un gran número de posibles sitios activos que podrían participar en el proceso de adsorción. Para los sistemas estudiados se cree que los posibles compuestos responsables de la adsorción son sulfonatos, carbonilos, oxidrilos, aminas y amidas.

La investigación que se desarrolló abre nuevos interrogantes y los resultados resaltan la utilidad de la técnica SEM-EDS e incentivan a continuar con otros estudios complementarios para emplear la *Ulva lactuca* como relleno de reactores para tratamiento de efluentes que contienen metales.

### AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Santa Cruz (UTN-FRSC) y a la Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ingeniería (UBA-FI) (proyecto UBACyT: 20020190100323BA) por el financiamiento.

### REFERENCIAS

- [1] S. Bădescu, D. Bulgariub, I. Ahmadd and Bulgariua L., Review "Valorisation possibilities of exhausted biosorbents loaded with metal ions", *Journal of Environmental Management*, Oct. 2018. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479718308247>
- [2] Plaza Cazón J. "Removal of heavy metals using seaweed" PhD. Thesis. Chemistry Department, Faculty of Exact Sciences. U.N.L.P. La Plata., Bs. As. Argentina. [Online]. Available: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2770/Documento\\_completo.pdf?sequence=17](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2770/Documento_completo.pdf?sequence=17)
- [3] M. Piol, C. Dickerman, M. P. Ardanza, A. Saralegui and S. P. Boeykens, "Simultaneous removal of chromate and phosphate using different operational combinations for their adsorption on dolomite and banana peel", *Journal of Environmental Management*, Jun. 2021. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479721005259>
- [4] A. B. Saralegui, V. Willson, N. Caracciolo, N. M. Piol and S. P. Boeykens, "Macrophyte biomass productivity for heavy metal adsorption", *Journal of Environmental Management*, Jul. 2021. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479721004606>
- [5] Zeyu L., Jing L., Yaning L. and Wei D., "Application of algae for heavy metal adsorption: A 20-year meta-analysis", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 190, pp. 110089, Mar. 2020. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651319314204>
- [6] A. L. Boraso, "El género *Ulva* (Algae, Chlorophyta) en Argentina I. *Ulva* en Puerto Deseado Provincia de Santa Cruz", *Darwiniana*, vol. 21 pp. 162-171, Jan. 1997. [Online]. Available: [https://www.researchgate.net/publication/283788684\\_El\\_genero\\_Ulva\\_Algae\\_Chlorophyta\\_I\\_Ulva\\_en\\_Puerto\\_Deseado\\_provincia\\_de\\_Santa\\_Cruz](https://www.researchgate.net/publication/283788684_El_genero_Ulva_Algae_Chlorophyta_I_Ulva_en_Puerto_Deseado_provincia_de_Santa_Cruz)
- [7] P. J. Goodhew, J. Humphreys and J. Humphreys "Electron Microscopy and Analysis" in *Electron Microscopy and Analysis*. Ed. CRC Press. LDN, 2001, pp. 168-213.
- [8] J. T. Kidgell, M. Magnusson, R. de Nys and C. R.K. Glasson, "Ulvan: A systematic review of extraction, composition and function", *Algal Research*, May. 2019. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926418308373>
- [9] E. Fourest and B. Volesky, "Alginate Properties and Heavy Metal Biosorption by Marine Algae. Applied Biochemistry and Biotechnology", *Enzyme Engineering and Biotechnology*, Sep. 1997. [Online]. Available: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02788799>