



**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua**

**UNAN – León**

**Facultad de Ciencias Químicas**

**Farmacia**



**¡A la Libertad por la Universidad!**

**TESIS MONOGRÁFICA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO  
QUÍMICO-FARMACÉUTICO.**

**Tema:**

**Determinar la actividad antioxidante de 4 especies de algas marinas recolectadas en playa Hermosa durante el periodo de Julio a Septiembre del 2012.**

**Elaborado por:**

**Huguette Mercedes García Chiong**

**Alexander Vargas Ruiz**

**Tutor: MsC. Fernando Baca**

**León, 5 de diciembre del 2012.**



## **DEDICATORIA**

A veces parece que el tiempo pasa en un parpadeo, pues siento como si fuese ayer que decidí estudiar farmacia en la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León. El camino ha sido todo un gozo, pues me codee de excelentes profesionales, grandes amistades y adquirí conocimientos invaluable. Pero nada de esto hubiera sido posible si no existieran esas personas que me han guiado en este camino.

Señor, quiero darte las gracias por la vida prestigiada llena de bendiciones que me has regalado, por darme fuerzas, salud y felicidad y por ser la luz primordial que guía mi vida.

A mis padres, Carmen y Hugo quienes no han dudado en mí, me han apoyado en mis sueños más ambiciosos y me han cuidado, para que logre ser la persona de valores y costumbres que soy ahora. ¡Quiero darle las gracias porque ustedes son mi fuente de inspiración!

A todas las personas que apoyaron la elaboración de este estudio, profesores principalmente Lic. Baca, amigos, compañeros, no puedo mencionarlos a todos, pero quiero que sepan que aprecio y valoro cada uno de sus aportes, les agradezco de todo corazón su ayuda y espero poder retribuirles de una u otra manera su incondicional apoyo. Con especial cariño,

Huguette García Chiong



## **DEDICATORIA**

### **A Jesucristo nuestro señor:**

Por haberme dado la oportunidad de finalizar mis estudios universitarios, por darme la vida para culminar mis metas en mi carrera y la fuerza para seguir adelante en todo el periodo que luché con honor, astucia e inteligencia para culminar esta etapa. ¡Gracias! Mi Dios.....

### **A mi papá:**

**Enrique Vargas Lazo.**

**Que en paz descanse!!!!!!**

Por haberme dado todo lo que me merecía desde niño hasta donde pudiste; darme fuerza, apoyo y sobre todo el amor de padre.

Gracias papá que desde el cielo me estás viendo al igual que mi señor Jesucristo, se que cuento con tu sabiduría y fuerza para seguir adelante y triunfar en mis metas. Te quiero padre mío te agradezco mucho de corazón todo lo que hiciste por mí donde quieras que estés.

### **A mi mamá:**

**Luisa Ruiz Murillo**

Por todo su amor, dedicación y sacrificio que me ha dado para terminar esta etapa maravillosa para mí. Me siento orgulloso tener una madrecita como usted, la amo muchísimo eres todo para mí en esta vida madre mía.

### **A mi hermana:**

**Melissa Ereyda Vargas Ruiz**

Por darme su apoyo y comprensión en todo los momentos más difícil de mi vida. Ya que es la única en mi vida con la que cuento para triunfar en esta vida.

A todas mis amistades que estuvieron conmigo en momentos difíciles para poder seguir adelante, que con su cariño y consejos me apoyaron al igual que mis demás familiares que estuvieron a mi lado.

¡Gracias!

**Alexander Enrique Vargas Ruiz**



## **AGRADECIMIENTO**

**A Dios,** por darnos día a día paciencia, fuerza, sabiduría para enfrentar cada uno de los obstáculos que se nos presento durante nuestra etapa universitaria.

**A nuestros Padres y Familiares,** por todo su apoyo incondicional que nos brindaron en esta etapa de nuestra vida.

**A nuestros Maestros,**

Gracias por su tiempo, por su apoyo así como por la sabiduría que nos transmitieron en el desarrollo de nuestra formación profesional. En especial al **Lic. Fernando Baca** por su gran paciencia, Comprensión y apoyo para la culminación de nuestros estudios profesionales y la elaboración de esta tesis.

**A nuestros compañeros,**

Por apoyarnos mutuamente en nuestra formación profesional.

A la **Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León** y en especial a la **Facultad de Ciencias Químicas** por permitirme ser parte de una generación de triunfadores y personas productiva para el país.

¡Gracias!



## Índice

<b>Introducción</b> .....	<b>6</b>
<b>Planteamiento del problema</b> .....	<b>9</b>
<b>Objetivos</b> .....	<b>11</b>
<b>Marco Teórico</b> .....	<b>13</b>
<b>Hipótesis</b> .....	<b>33</b>
<b>Material y Método</b> .....	<b>35</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>42</b>
<b>Análisis de los Resultados</b> .....	<b>45</b>
<b>Conclusión</b> .....	<b>47</b>
<b>Recomendaciones</b> .....	<b>49</b>
<b>Referencias Bibliográficas</b> .....	<b>51</b>
<b>Anexos</b> .....	<b>56</b>



# INTRODUCCIÓN



## INTRODUCCIÓN

En la actualidad la mayoría de las medicinas utilizadas para controlar, contrarrestar o prevenir enfermedades que atacan al ser humano, tienen en su ingrediente activo alguna propiedad proveniente de cierta o ciertas plantas medicinales específicas.

Nicaragua es un país subdesarrollado, en el que el uso de plantas medicinales es una práctica muy común ya que constituye los diferentes elementos fitoterapéuticos disponibles a nuestro alcance para subsanar enfermedades comunes como no comunes. En nuestro país hay variedades de plantas sin estudiar las cuales poseen gran actividad antioxidante de las cuales se podrían utilizar para uso terapéutico. [1]

El mecanismo por el que los radicales libres producen sus efectos transcurre mediante una reacción con otro compuesto en la que se forman especies reactivas oxigenadas, que son los que producen los efectos nocivos. Este proceso se ve favorecido por la presencia de oxígeno y de luz ultravioleta, que inicia la formación de radicales libres. [3]

Los antioxidantes son sustancias capaces de neutralizar la acción oxidativa de los radicales libres, liberando electrones en nuestra sangre que son captados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad. [2]

Algunos autores han comprobado que extractos de algas marinas tienen actividad antioxidante explicada por disímiles mecanismos de acción, incluidos la capacidad atrapadora de radicales libres, la quelación de metales activos desde el punto de vista redox, los mecanismos de donación y aceptación de electrones, la capacidad de interrupción de la peroxidación lipídica y el incremento de la actividad de enzimas antioxidantes. [11], [12]

En Nicaragua se han realizado diversas investigaciones aplicando el ensayo de antioxidantes a aquellas especies vegetales usadas en la medicina tradicional y que no poseen muchos estudios fitoquímicos, entre estos estudios podemos mencionar la tesis



Fraccionamiento biodirigido del extracto etanólico del *Cedrella odorata* con actividad antioxidante y citotóxica elaborado por Jacqueline García Póveda, Edwin Fuentes, realizado en el Campus Médico de la UNAN – León. [1]

Todas las especies utilizadas para resolver problema de la sociedad contienen una amplia gama de compuestos con una gran variedad de propiedades, entre las que se pueden mencionar esta la propiedad antioxidante. [1]

Los antioxidantes juegan un importante rol no solo en los procesos de carcinogénesis sino también en otros procesos del cuerpo y además en aplicaciones como fitofármaco y/o suplemento dietético funcional; es por esta razón que se decidió realizar este trabajo con el fin de evaluar la actividad antioxidante de 4 especies de algas marinas recolectadas en el área del pacífico mediante el método de la captación de radicales libres (DPPH) en busca de encontrar antioxidantes que sean efectivo, natural y de bajo costo en algas no muy estudiadas.



# PROBLEMA



## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Cuál es el porcentaje de actividad antioxidante con DPPH de las especies de algas marinas recolectadas en playa Hermosa?



# OBJETIVOS



## **OBJETIVOS**

### **General:**

- Determinar la actividad antioxidante de las especies *Gracilaria* sp., *Padina pavonica*., *Ulva* sp., *Codium* sp., en ensayos realizados en el Departamento de Farmacia Industrial de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN- León durante el periodo de Julio a Septiembre del año 2012.

### **Específicos:**

- Elaborar los Extractos Etanólicos de las especies a estudiar.
- Determinar el % de inhibición de DPPH para cada uno de los extractos.



# MARCO TEÓRICO

## MARCO TEÓRICO



## **Radicales libres**

Son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado por lo que son muy reactivos ya que tienden a robar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. [2]

Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas y a membranas celulares. [2]

Los radicales libres contribuyen al proceso del envejecimiento cuando toman el electrón que les hace falta de las células del tejido colágeno de la piel, dando como consecuencia, que la piel pierda su elasticidad al dañarse las fibras elásticas y la aparición precoz de arrugas y sequedad. [5]

Los radicales libres también pueden contribuir al crecimiento anormal de las células, al perder éstas la capacidad de “reconocer” las células vecinas. Esa proliferación sin control se produce en los tumores benignos o malignos (cáncer). [5]

Los radicales libres son moléculas que se derivan del oxígeno, están en continua formación en las células del organismo, y en pequeñas cantidades no producen efectos tóxicos. En situación normal la producción de radicales libres es constante en una concentración determinada, y son neutralizados por las defensas antioxidantes, estas pueden ser sustancias propias del organismo (las enzimas antioxidantes), o pueden ser sustancias que vienen con los alimentos (la vitamina C, la E y el Beta caroteno, flavonoides, etc.).[5]

Los radicales oxidantes mejor conocidos como radicales libres son moléculas inestables de alta energía con electrones desapareados en sus órbitas exteriores, que tienden a reaccionar con otros compuestos, en especial con los ácidos grasos poliinsaturados esto debido a que las moléculas estables tienen electrones en parejas. Sin embargo si un electrón no se encuentra en pareja con otro se vuelve muy reactivo e inestable, por lo que buscará a otro electrón para emparejarse con él; lo que ocurre con los radicales libres. Cuando los



radicales especialmente  $(OH)^{\cdot}$  y  $O_2^{\cdot}$  producen radicales alquil peróxido, facilitan la perpetuación de la cadena de reacciones de oxidación de los lípidos, con daños similares sobre las proteínas y los ácidos nucleicos. La consecuencia de estas reacciones genera una desorganización en las membranas celulares de nuestro organismo. [3]

Al conocer los efectos negativos que provocan los radicales libres, podemos entender mejor la función y efecto que tienen los antioxidantes en la salud, que como su nombre lo indica, es evitar la oxidación de sustancias que puedan provocar alteraciones fisiológicas, facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno; formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales libres y por consiguiente desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades derivadas del estrés oxidativo. [3]

### **Existen dos tipos de radicales libres:**

#### **Los internos:**

Las principales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes son:

- Radical hidroxilo  $(HO)^{\cdot}$
- Peróxido de hidrógeno  $(H_2O_2)$
- Anión superóxido  $(O_2^{\cdot})$
- Oxígeno singlete  $(^1O_2)$
- Oxígeno nítrico  $(NO)$
- Peróxido  $(ROO)$
- Semiquinona  $(Q)$
- el ejercicio muy intenso
- el estrés [2]

#### **Los externos:**

- Una mala dieta (mala alimentación)
- El consumo de tabaco.
- El consumo de alcohol.
- Los medicamentos.



- La contaminación, el exceso de exposición solar.
- Ozono [2]

**Los radicales libres del oxígeno se clasifican de la forma siguiente:**

### **1. Radicales libres inorgánicos o primarios.**

Se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan por tanto distintos estados en la reducción de este y se caracterizan por tener una vida media muy corta; estos son el anión superóxido, el radical hidróxilo y el óxido nítrico. [2]

### **2. Radicales libres orgánicos o secundarios.**

Se pueden originar por la transferencia de un electrón de un radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales primarios entre sí, poseen una vida media un tanto más larga que los primarios; los principales átomos de las biomoléculas son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre.[2]

### **3. Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno.**

Aquí se incluye un grupo de especies químicas que sin ser radicales libres, son generadoras de estas sustancias o resultan de la reducción o metabolismo de ellas, entre las que están el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito, el hidroperóxidos orgánicos.[2]

## **Fuentes de radicales libres**

### **1. Metabolismo Celular del Oxígeno**

### **2. Reacciones de Óxido-Reducción**

- Fagocitosis
- Autooxidación de Catecolaminas

## **Sustratos endógenos celulares**

- Síntesis de Prostaglandinas
- Oxidación de Hipoxantina y Xantina



### 3. Otras Fuentes [2]

#### **Peroxidación lipídica**

Todas las células están rodeadas por una membrana celular que las separa del medio extracelular. La membrana celular contiene enzimas, canales, receptores y antígenos que juegan papeles vitales en la interacción de la célula con otras células, hormonas y otros agentes reguladores del líquido extracelular. La estructura básica de todas las membranas biológicas es la bicapa lipídica, la que funciona como una barrera de permeabilidad selectiva. Éstas son ricas en ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) y por lo tanto vulnerables al ataque de radicales libres. De particular importancia son las reacciones mediadas por radicales libres que traen como consecuencia la peroxidación lipídica. Esta es generalmente inducida por un radical hidroxilo ( $\text{HO}\cdot$ ) que sustrae un hidrógeno a la cadena lateral de un ácido graso formando un radical carbonado ( $\text{R}\cdot$ ). Este último reacciona con oxígeno para formar peróxidos cíclicos y radicales hidroperóxidos ( $\text{ROO}\cdot$ ) que propagan esta reacción en cadena. Se forman igualmente radicales alcoxiclipofílicos ( $\text{RO}\cdot$ ). La peroxidación lipídica puede seguir propagándose en presencia de metales de transición ( $\text{Men}^+$ ) existentes en el plasma, los que son catalizadores oxidativos. [2]

Los antioxidantes pueden formar complejos estables impidiendo su acción catabólica. Además, dependiendo de su coeficiente de partición y potencial redox, los antioxidantes pueden actuar libremente en la interfase celular comportándose como potentes protectores de células y lipoproteínas o estabilizando antioxidantes lipofílicos que previenen la peroxidación lipídica. [2]

1. Fase de iniciación de la peroxidación lipídica provocada por el radical ( $\text{R}\cdot$ ), el que reacciona con un grupo metileno de un PUFA; (2) etapa de propagación; el oxígeno molecular reacciona con el radical carbonilo y forma rápidamente el radical lipoperóxido ( $\text{LOO}\cdot$ ). Éste puede sustraer un hidrógeno de otro ácido graso poliinsaturado (PUFA), análogo a (1); (3) reacción que termina la propagación formándose el producto estable de la peroxidación, el hidroperóxido lipídico ( $\text{LOOH}$ ), pero implica la posible conversión de numerosos PUFAs en hidroperóxidos; en presencia de metales de transición el hidroperóxido lipídico ( $\text{LOOH}$ ) puede generar radicales capaces de reiniciar la lipoperoxidación lipídica por el ciclo redox de estos iones metálicos. [2]



2. Los mecanismos homeostáticos con que el organismo enfrenta el daño oxidativo que habitualmente causan estas especies son numerosos y diversos, reflejando la multiplicidad de formas de radicales libres y especies reactivas, como también los numerosos compartimientos donde actúan en el organismo y la propiedades físicas de estos. [2]

### **Antioxidante**

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar o inhibir la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en nuestra sangre que son captados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad. Nuestro organismo está constantemente luchando contra los radicales libres. El problema para nuestra salud se produce cuando nuestro organismo tiene que soportar un exceso de radicales libres durante años, producidos mayormente por contaminantes externos que penetran en nuestro organismo como consecuencia de la contaminación atmosférica, el humo de cigarrillos que contiene hidrocarburos aromáticos polinucleares así como aldehídos que producen distintos tipos de radicales libres en nuestro organismo. [2]

Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres, que comienzan reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones en cadena mediante la eliminación de radicales libres intermedios, e inhiben otras reacciones de oxidación al oxidarse ellos mismos. [4]

En los últimos años, los antioxidantes naturales provenientes de plantas han sido frecuentemente usados en diferentes campos de la industria como preservantes en alimentos y en medicinas, muchos de estos compuestos como la quercetina, tocoferol y el caroteno, entre otros, son antioxidantes naturales que poseen gran actividad. [10]

Lo primero que viene a la cabeza de las personas cuando les hablan acerca de antioxidantes, es el pensar en sustancias que atacan la oxidación, pero muy pocas de las personas saben a qué tipo de oxidación se refieren y la acción de estos, dicha oxidación es referida a las reacciones que suceden en el interior de nuestro cuerpo que provocan que se oxiden las células y así causan enfermedades. Los antioxidantes son sustancias que retardan o inhiben la oxidación de sustratos susceptibles a las especies reactivas del



oxígeno ya que donan sus hidrógenos a estas de manera que protegen las células contra el daño de los radicales libres. [10]

### **Acciones biológicas de los radicales libres de oxígeno**

Las especies reactivas del oxígeno, muy especialmente el radical hidroxilo, son altamente reactivas, y pueden dar lugar a reacciones secundarias útiles o nocivas con muchas sustancias presentes en el organismo o extraorgánicas (fagocitosis de organismos invasores). Son los productos finales de estas reacciones secundarias los que producirán los mayores efectos de citotoxicidad. [13]

Los radicales libres ejercerán sus efectos en función de su concentración, localización y del estado de su sistema neutralizador. [13]

### **Acciones sobre los glúcidos**

Los monosacáridos y disacáridos resisten la acción de los radicales libres de oxígeno. La glucosa constituye un captador del radical superóxido, al retenerlo e impedir su acción sobre otras moléculas. La manosa y el manitol son eliminadores del radical hidroxilo. El ácido hialurónico es atacado y fragmentado por el radical superóxido. Los polisacáridos son despolimerizados por los radicales libres. [13]

En la diabetes, enfermedad que puede aparecer con el paso de los años, se produce un aumento de la concentración de glucosa en la sangre, que puede ocasionar que esta sufra una autooxidación o que se entrecruce con las proteínas presentes en el suero (glicosilación de proteínas) para dar lugar a una serie de estructuras altamente reactivas (compuestos de Amadori), así como también a especies reactivas del oxígeno, las cuales desempeñan un papel importante en el desencadenamiento de la enfermedad y en el desarrollo de los diversos estados fisiopatológicos que la acompañan. [13]

### **Acciones sobre los lípidos**



La acción de los radicales libres de oxígeno sobre los lípidos tiene lugar fundamentalmente sobre los ácidos grasos poliinsaturados, lo que provoca su peroxidación que deriva en consecuencias como: pérdida de la flexibilidad y de las funciones secretoras, ruptura de los gradientes iónicos transmembrana. [13]

La reacción de peroxidación puede iniciarla el radical hidroxilo, el radical hidroperoxil y quizás el oxígeno singlete, pero no el radical superóxido o peróxido de hidrógeno (menos reactivos). El radical libre extrae un átomo de hidrógeno de uno de los carbono metileno de la cadena del ácido graso y deja un electrón no apareado, con lo cual se genera un radical lipídico. Este radical lipídico rápidamente sufre un reordenamiento molecular para producir un dieno conjugado, que reacciona con el oxígeno molecular y produce un radical hidroperoxil. Este radical puede a su vez extraer un átomo de hidrógeno de un carbono metileno de otro ácido graso poliinsaturado para formar un nuevo radical lipídico y un hidroperóxido lipídico. El radical lipídico entonces se combina con otra molécula de oxígeno y continúa la reacción en cadena. El hidroperóxido lipídico es un componente estable hasta que se pone en contacto con iones metálicos de transición, entonces se producen más radicales, que a su vez posteriormente inician y propagan otra cadena de reacciones. [13]

Los productos finales de este proceso de peroxidación lipídica son aldehídos, gases hidrocarbonados y varios residuos químicos, incluido el malondialdehído. Estos productos de degradación pueden difundir lejos del sitio de las reacciones y producir edema celular, además de influir sobre la permeabilidad vascular, inflamación y quimiotaxis. Así mismo, pueden alterar la actividad de fosfolipasas e inducir la liberación de ácido araquidónico, con la subsiguiente formación de prostaglandinas y endoperóxidos. [13]

El malondialdehído, a su vez, puede reaccionar con lípidos y proteínas durante la peroxidación lipídica para formar bases de schiff conjugadas, productos fluorescentes insolubles que se acumulan en el interior de los lisosomas y forman el pigmento de envejecimiento conocido con el nombre de lipofucsina (reconocido marcador morfológico de envejecimiento porque se acumula en los tejidos con la edad). [13]

### **Acciones sobre las proteínas**



La acción de los radicales libres de oxígeno sobre las proteínas se ejerce sobre los enlaces insaturados, los anillos aromáticos y los grupos tiol. De esta forma, proteínas ricas en determinados aminoácidos (triptófano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína) pueden sufrir modificaciones estructurales y funcionales. Los grupos sulfhidrilo pueden ser transformados en puentes disulfuro, lo que produce la inactivación enzimática. En otros casos, como el colágeno, las fibrillas se pueden romper por el radical superóxido e hidroperóxido, proceso que puede constituir el punto de partida para la acción de proteasas y facilitar la pérdida de la estructura de la triple hélice de colágeno. [13]

En el caso de las hemoproteínas, como la oxihemoglobina, el radical superóxido o el peróxido de hidrógeno pueden reaccionar con el hierro para formar metahemoglobina y otros productos de oxidación. Otra importante hemoproteína, la catalasa, es inhibida por el radical superóxido; y el peróxido de hidrógeno producto de la dismutación del radical superóxido puede inhibir la superóxido dismutasa citosólica (cobre-zinc dependiente). [13]

En presencia de ciertas peroxidasas (con grupo hemo) el peróxido de hidrogeno es capaz de oxidar halogenuros como el ion cloruro, dando ácido hipocloroso, compuesto extremadamente tóxico para bacterias, virus y células. El ácido hipocloroso puede reaccionar con aminas, y dar lugar a las cloraminas, más lipofílicas y las probables responsables directas de la toxicidad celular. Un mecanismo semejante lo produce el peróxido de hidrogeno con el ion tiocianato que da lugar a oxitiocianato, potentísimo bactericida. [13]

El efecto de los radicales libres de oxígeno sobre una determinada proteína depende de su composición en aminoácidos, de la importancia y localización de los aminoácidos que median la conformación y actividad de la proteína, así como de la posibilidad de reparación de la lesión. La localización celular de las proteínas y la naturaleza de la amenaza de los radicales libres también influye sobre la extensión del daño proteico. [13]



### **Acciones sobre los ácidos nucleicos**

Los efectos observados en los ácidos nucleicos por los radicales libres de oxígeno son por causa de fenómenos de hidroxilación de bases nitrogenadas, escisión de hebras de ADN y formación de uniones cruzadas. Esto ocasiona alteraciones en la duplicación y transcripción, que explican la asociación de la generación de radicales libres de oxígeno con la carcinogénesis y el envejecimiento. [13]

Se ha propuesto además que la ruptura que causan las EROs sobre el ácido desoxirribonucleico (ADN) activa a las poli (ADP-ribosa) sintetasa, las que eliminan el NAD<sup>+</sup> celular, cofactor necesario para la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa en la ruta glucolítica, de manera que se produce la inhibición de la glicólisis y de los componentes de la cadena transportadora de electrones al nivel mitocondrial; por lo tanto disminuye el ATP intracelular. [13]

### **Importancia de los antioxidantes**

La importancia que tienen los "antioxidantes" es que nos ayudan a defendernos de procesos patológicos y nos protegen de procesos de desgaste naturales, y también sobre lo que conocemos como envejecimiento prematuro. [12]

### **Características**

Los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias principalmente de los ácidos grasos cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano, en el cual puede provocar alteraciones fisiológicas importantes desencadenantes de diversas enfermedades. Otra de las funciones de los antioxidantes es facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias celulares, ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno, formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales oxidantes también conocidos como radicales libres (moléculas inestables de alta energía con electrones desapareados en sus órbitas exteriores, que tienden a reaccionar con otros compuestos) y por consiguiente desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades crónicas no trasmisibles.[9]



Las principales características de un compuesto o sistema antioxidante son la prevención o detección de una cadena de propagación oxidativa mediante la estabilización del radical generado y la regeneración del antioxidante radicalario ayudando así a reducir el daño oxidativo en el cuerpo humano. Hay dos tipos principales de antioxidantes, el "primario" (ruptura de la reacción en cadena, secuestradores de radicales libres) y el "secundario" o "preventivo". Los mecanismos antioxidantes "secundarios" pueden incluir la desactivación de metales, inhibición de los hidroperóxidos lipídicos interrumpiendo la producción de volátiles indeseables, la regeneración de antioxidantes "primarios", eliminar el oxígeno singlete, etc. [9]

### **Función fisiológica de los antioxidantes**

Para entender mejor la función fisiológica de los antioxidantes en el organismo es necesario recordar que el oxígeno actúa como carburante en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas; liberándose dióxido de carbono, agua, energía calórica y diversos catabolitos; sin embargo el incremento de los procesos metabólicos se acompaña de la producción de radicales libre. [3]

Al conocer los efectos negativos que provocan los radicales libres, podemos entender mejor la función y efecto que tienen los antioxidantes en la salud, que como su nombre lo indica, es evitar la oxidación de sustancias que puedan provocar alteraciones fisiológicas, facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno; formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales libres y por consiguiente desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades derivadas del estrés oxidativo. [3]

### **Clasificación de los antioxidantes**

Las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas, el sistema enzimático y el sistema no enzimático; también conocidos como endógenos y exógenos respectivamente, los cuales pueden actuar tanto en el espacio intracelular como en el extracelular. El sistema no enzimático está integrado principalmente por sustancias como las vitaminas E, C, Carotenoides y los minerales selenio y zinc. [2]



## **1. Enzimáticos**

- ❖ Superóxido Dismutasa (SOD)
- ❖ Glutación Peroxidasa (GP)
- ❖ Glutación Transferasa (GT)
- ❖ Catalasa (CAT)

## **2. No Enzimáticos**

- ❖  $\alpha$ -tocoferol (Vitamina E)
- ❖ Acido ascórbico (Vitamina C)
- ❖  $\beta$ -caroteno o Provitamina A
- ❖ Proteínas Transportadoras de Metales de Transición
- ❖ Captadores de Radicales Libres (Polifenoles) [2]

### **Otra manera de clasificarlos:**

#### **Podemos clasificar los antioxidantes en 4 grande grupos:**

- ❖ Enzimas antioxidantes (SOD, CAT...)
- ❖ Antioxidantes de alto peso molecular (Albúmina, Ferritina...)
- ❖ Antioxidantes de bajo peso molecular (Carotenoides, Ascórbico...)
- ❖ Algunas hormonas (Angiotensina...)

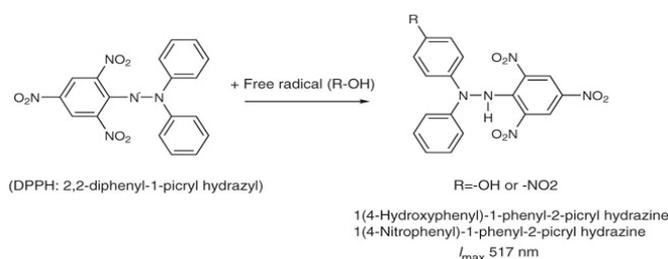
### **Determinación de la capacidad antioxidante**

Para determinar el potencial antioxidante se ha aplicado el método. El más común en la generación de un radical y en el estudio de inhibición de esta reacción debido a la introducción del compuesto de ensayo, y el resultado depende del radical empleado, y por lo tanto mide biológicamente más significativa se obtienen con los radicales peroxilo, que son los más comunes en el organismo humano.[11]

Una técnica utilizada frecuentemente espera que genere un catión estable cromófororadical como el DPPH (difenilpicrilidrazile), y luego para evaluar la capacidad del antioxidante de acuerdo con la disminución de la absorbancia que se observa después de la captura del



radical; la reacción que se produce es del antioxidante la donación de un átomo de hidrógeno (HR) de DPPH:



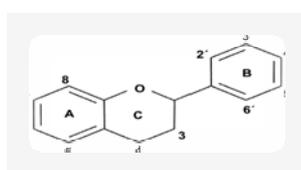
El radical R que se genera a continuación, se somete a otras reacciones, que determinan el número de moléculas de DPPH reducidos por cada molécula de antioxidante. Este tipo de análisis es rápido y fácil, y proporciona resultados fiables. Sin embargo, hay también algunas desventajas: por ejemplo, muchos antioxidantes que reaccionan rápidamente con radicales peroxilo son muy reactivos, o incluso inerte hacia el DPPH.

Para la detección de esa actividad se utiliza como reactivo el radical 2,2 difenilpicrilhidrazilo (DPPH). Se trata de un radical libre de color violeta que en presencia de un agente antioxidante se reduce cambiando su color a amarillo. Todos los extractos se sometieron a espectrofotometría uv-vis. Mediante esta se detecto que el % de inhibición de DPPH de cada uno de los extractos. [11]

### **Las características estructurales que influyen en la capacidad antioxidante**

Las medidas de la capacidad antioxidante, nos han permitido identificar las tres características estructurales que corresponden a los de mayor capacidad de capturar los radicales por los flavonoides.

La presencia de dos grupos hidroxilo en las posiciones 3' y 4' del anillo B, de la que deriva una alta estabilidad del radical, especialmente si se forma en la posición 3'; un enlace doble entre la posiciones 2 y 3 del anillo C, que se combina con los dobles enlaces otros y con la función del oxígeno de la posición 4; dos grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 5, que se combinan con la función de oxígeno en 4. [11]



**Estructura flavonoide**



Los flavonoides que cumplen parcialmente con estos criterios, el único compuesto que satisfaga a todos es un flavonoles, la quercetina, que de hecho se le ha asignado el valor más alto de actividad antioxidante entre todos los polifenoles. Se obtienen mejores resultados sólo por medio de la acción sinérgica de ácido gálico y trans-resveratrol. [11]

## **Flavonoides**

Dentro de los polifenoles existen los flavonoides que son compuestos que han sido compañeros de grandes momentos en nuestra vida, sin saberlo ellos han hecho que cada momento sea especial y nosotros ni siquiera sabíamos que estaban ahí, esto ha sido gracias a que los flavonoides comprenden varias clases de sustancias naturales, entre las cuales están muchas de las que les confieren colores amarillo, naranja, rojo, violeta y azul, a muchas flores, hojas y frutos. Gracias a ellos es que las flores poseen un color atractivo o las frutas cuentan con coloraciones llamativas a la vista del ser humano, sin saberlo ellos han formado parte de toda la vida humana porque habría que imaginar que sería una fresa sin su color rojo o un girasol sin su color amarillo, entonces no sería ni fresa ni girasol por esto se debe tener presente que estas sustancias aunque no brindan energía al consumirlas son parte importante en la vida además de que son sustancias antioxidantes. Fueron descubiertos por el premio Nobel Szent-György, quien en 1930 aisló de la cáscara del limón una sustancia, la citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares.

Para su estudio sistemático lo más de 4000 flavonoides naturales se han clasificado en varias clases de acuerdo con las variantes que existen en su estructura química, las cuales son chalconas, flavonas, flavonoles, flavononas, flavanonoles, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas, isoflavonoides, pterocarpanos, rotenoides. [10]

Los flavonoides poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antitrombóticas, antimicrobianas, antialérgicas, antitumorales, antiasmáticas e inhibidoras de enzimas como la transcriptasa reversa, proteína quinasa C, tirosina quinasa C, calmodulina, ornitindecarboxilasa, hexoquinasa, aldosa reductasa, fosfolipasa C y topoisomerasa II, además de los beneficios a la salud los flavonoides se emplean en diferentes industrias como la cosmética y alimenticia en la cual se utilizan como saborizantes, colorantes y conservadores y edulcorantes debido a los colores que presentan y a los sabores que se



pueden crear con ellos, como es el caso de una mezcla de varios flavonoides de cebolla, manzana y té utilizados como sustituto de la sal en la industria alimenticia que además de ser saborizante, antioxidante y gracias a este último retardan el deterioro de alimentos, otro ejemplo, son estudios recientes en estabilización de la carne molida con tejidos de cereza, los flavonoides no sólo suprimen la peroxidación lipídica sino que inhiben la formación de aminas aromáticas heterocíclicas y la oxidación del colesterol durante el proceso de fritura. Uno de los representantes principales de los flavonoides son las antocianinas que en formas particulares estas y los extractos de plantas ricos en antocianinas pueden proveer diversos beneficios a la salud, incluyendo protección de DNA, actividad anti-inflamatoria, actividad anticancerígena, actividad antioxidante, actividad antidiabética y prevención de enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas. [10]

### **Polifenoles**

En los alimentos existen diferentes compuestos que funcionan como nutrientes para el cuerpo humano como son los carbohidratos ya que de estos es de donde obtenemos la energía para llevar a cabo todas nuestras actividades y mantener vivo nuestro cuerpo, además contamos con proteínas y grasas que contribuyen a que nuestro organismo se encuentre en un equilibrio para que pueda funcionar correctamente, estos son llamados metabolitos primarios debido a que son la base del metabolismo humano, también existen metabolitos secundarios en los que se encuentran los polifenoles que son necesarios pero no son primordiales para la vida, estos se encuentran en plantas y frutos y son un claro ejemplo de antioxidantes. Poseen actividad antioxidante así como su acción in vivo e in vitro teniendo como resultado que estos poseen actividad antiinflamatoria, anti oxidativa, quimio protectora, neuroprotectora, reguladora de la glucosa, moderadora del metabolismo de lípidos, los polifenoles se encuentran relacionados con la diabetes ya que ayudan a controlarla, esto se debe a posibles mecanismos que tienen en el cuerpo humano como: inhibición de la digestión de carbohidratos y de la glucosa en el intestino, estimulación de la secreción de insulina de las células  $\beta$ , modulación de la liberación de glucosa por el hígado, activación de los receptores de insulina y de recaptura de glucosa en los tejidos sensibles a la hormona, modulación de las vías de señalización intracelular y de la expresión genética.[10]



Dentro de los antioxidantes los flavonoides y los taninos son los que se han estudiado con mayor interés debido a que los flavonoides se encuentran en una gran cantidad de alimentos y los taninos principalmente por su importancia en la industria vinícola.[10]

### **Contras de los polifenoles**

Los polifenoles son buenos mientras se tenga un control en su ingesta, como todo no se debe de abusar en su consumo solo por el hecho de obtener un mayor beneficio, estos deben ser consumidos con un balance específico para no tener consecuencias perjudiciales al organismo. Tradicionalmente los polifenoles han sido considerados como anti nutrientes por los nutricionistas de animales, debido al efecto adverso de los taninos sobre la digestibilidad de las proteínas que provoca un menor crecimiento del ganado y una menor puesta de huevos por parte de las aves de corral, una ingestión muy elevada y crónica de estos compuestos puede interferir en la absorción del hierro de la dieta y provocar anemia, sin embargo, en general, la toxicidad de los fenoles en una ingestión moderada es muy poca debido a su baja absorción, rápido metabolismo y a la presencia de un sistema muy eficaz de detoxificación. Algunos de los mecanismos a través de los cuales los flavonoides ejercen sus acciones prooxidantes incluyen la reducción temporal de Cu (II) a Cu (I), la generación de ERO, así como la afectación de las funciones de los componentes del sistema de defensa antioxidante nuclear: glutatión y glutatión-S transferasa. [10]

### **Taninos**

Existe otro tipo de polifenoles muy importantes los cuales son llamados taninos o polifenoles vegetales los cuales se clasifican en: Taninos hidrolizables o proantocianidinas, florotaninos y taninos condensados dependiendo de la vía biosintética en que se producen, son antidiarreicos, antioxidantes, antitumorales, antibacteriales y agentes hepatoprotectores, y estos se encuentran en plantas de las familias leguminosae, rosaceae, polygonaceae, fagaceae, ryzophoraceae, myrtaceae y melastomaceae. [10]



## Taxonomía de las algas

### *Gracilaria sp*



Reino:	Protista
Filo / División:	Rhodophyta
Clase:	Rhodophyceae
Orden:	Gracilariales
Familia:	Gracilariaceae
Género:	<i>Gracilaria</i>
Nombre común:	Pelillo
Especie	<i>Gracilaria chilensis</i>

## Descripción

La *Gracilaria chilensis* es conocida como pelillo, esta alga roja posee talo cilíndrico filamentoso de 1-2 mm de diámetro y de hasta 2 m de largo, formado por uno o varios ejes alargados ramificados en forma alternada, opuesta o irregular, de color rojo violáceo.

Los talos pueden estar fijos a sustratos sólidos por un disco de adhesión, sin embargo con mayor frecuencia se encuentran enterrados en la arena. Las estructuras reproductivas se encuentran en la capa cortical del talo. Para el caso de las estructura cistocarpicas estas son visibles, sin embargo los tetrasporangios y las estructuras reproductivas masculinas solo son visibles en un corte al microscopio.

Este género, se encuentra principalmente en las costas del pacífico en Norteamérica, Sudamérica y China. Esta especie, habita bahías protegidas con fondos arenosos. Tiene gran tolerancia a cambios de temperatura y salinidad, razón por la que vive y crece en diferentes ambientes, salinos y estuarinos, intermareales y submareales.

La *Gracilaria sp.* se usa en la alimentación y en la preparación de productos alimenticios, también es una materia prima importante en la producción del agar-agar. [15]



*Ulva sp.*



Reino:	Plantae
Filo / División:	Chlorophyta
Clase:	Ulvophyceae
Orden:	Ulvales
Familia:	Ulvaceae
Género:	Ulva Linnaeus

**Descripción**

El género *Ulva linnaeus* es cosmopolita, se encuentra en aguas dulces, salobres, saladas y muchos hábitats subaéreos húmedos, entre ellos la nieve.

Los especímenes de *Ulva* aparecen con relativa frecuencia en ambientes muy enriquecidos con nutrientes procedentes de los ríos o en zonas donde existen contaminantes albañales. La disponibilidad de nutrientes en estos lugares es aprovechada por estas macroalgas para su proliferación y al mismo tiempo para acumular en su talo cantidades considerables de macro y micronutrientes. Estos componentes varían su concentración dependiendo del lugar y la época del año. De tal forma, que el contenido de proteínas y de carbohidratos en el talo se modificará estacionalmente, en correspondencia con la disponibilidad de nitrógeno en el medio.

Estos atributos le permiten al hombre utilizarlas tanto con fines alimentarios como materia prima en la industria de los cosméticos y a partir del análisis de la variación de estos componentes también a modo de indicadores del tipo y grado de la contaminación, como monitores de la calidad ambiental. [16]



***Padina Pavonica.***



Reino:	Protoctista
Filo / División:	<u>Heterokontophyta</u>
Clase:	<u>Phaeophyceae</u>
Orden:	<u>Dictyotales</u>
Familia:	<u>Dictyoptaceae</u>
Género:	Padina
Especie:	P. pavonica

**Descripción**

Es una alga que en la base tiene forma de cono invertido mientras que en la parte superior se asemeja a un abanico replegado. Normalmente es de color verde terroso con unas líneas blancas circulares muy características. Los filoides (estructuras de las algas equivalentes a las hojas de las plantas) tienen alternancia de zonas concéntricas claras y oscuras. Las zonas oscuras están provistas de pelos mientras que en las zonas claras encontramos los órganos reproductores agrupados en unas masas llamadas soros. Esta alga se agarra al sustrato gracias a sus fuertes rizoides (estructuras de las algas equivalentes a las raíces de las plantas).

Vive sobre rocas y piedras grandes, en lugares soleados y algo protegidos, cerca de la superficie y hasta unos 20 metros de profundidad donde es muy frecuente y relativamente escasa a profundidades superiores. Se sitúa en superficies horizontales y verticales, en las horizontales compite por el espacio con *Acetabularia acetabulum*. Se encuentra ampliamente distribuida por todo el Mar Mediterráneo y por el Mar Negro.<sup>[17]</sup>



*Codium sp.*



Orden:	Caurlerpales.
Familia:	Codiaceae.
Especie:	Codiumfragile

**Descripción**

Plantas robustas, de color verde intenso, de hasta 30 cm de largo. Sus ramas son cilíndricas, ramificadas dicotómicamente. El talo está formado por numerosos filamentos sin tabicar, con una médula interna incolora y una empalizada externa de vesículas, provistas de numerosos cloroplastos aislados. Se reproducen alternadamente en forma vegetativa por fragmentación y división celular, asexual por esporas y zoosporas y sexual por conjugación. [18]



# HIPÓTESIS



## **HIPÓTESIS**

Las especies *Gracilaria sp.*, *Padina pavonica.*, *Ulva sp.*, *Codium sp.*, recolectadas en playa Hermosa poseen Actividad Antioxidante



# MATERIAL Y MÉTODO



## MATERIAL Y MÉTODO

### **Tipo de Estudio:**

Experimental.

### **Área de Estudio:**

Productos Naturales. Departamento de Farmacia Industrial. Escuela de Farmacia Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN-León.

### **Universo:**

Todas las Especies de algas marinas del área del pacífico.

### **Muestra:**

4 Especies de algas marinas del pacífico.

<b>Especies de algas</b>	<b>Parte utilizada</b>
<i>Gracilaria sp</i>	Talos
<i>Padina pavonica.</i>	Talos
<i>Ulva sp</i>	Talos
<i>Codium sp.,</i>	Talos

### **Criterios de inclusión y exclusión**

**Inclusión:** Algas marinas del área del pacífico.

**Exclusión:** Algas marinas que no sean del área del pacífico.

### **Variables:**

Variables independientes: extractos

Variables dependientes: actividad antioxidante.



<b>Variable</b>	<b>Concepto</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Medición</b>
<b>Extracto</b>	Es una solución que está compuesta por un solvente orgánico el cual tiene la función de extraer sustancias químicas de la planta	Color Olor	Características organolépticas
<b>Actividad Antioxidante</b>	Capacidad de detener o retardar procesos oxidativos.	Color	Porcentaje (%) inhibición

### **Método e Instrumento de recolección de datos.**

Se procedió a la recolección de las muestras en playa Hermosa en compañía de Msc. Mauricio Prado, Msc. Fernando Baca y autores de la presente tesis. La recolección del material vegetal fue manual utilizando una espátula o cuchillo para poderlas despegar de las piedras, luego se trasladaron a una bolsa ziploc con agua salina y posteriormente adicionadas a un termo con hielo para que los principios activos de las algas no se degradaran.

### **Materia y Equipos complementario**

#### **Materiales**

Crayones, bolsas plásticas, espátulas y guantes.

#### **Reactivos**

- ✓ Etanol (etOH) para la obtención de extractos crudos.
- ✓ DMSO (Dimetilsulfoxido).
- ✓ Reactivo para la prueba de actividad antioxidante DPPH (1,1Diphenyl -2-picrylhydrazyl).
- ✓ Ácido ascórbico.

#### **Material de Laboratorio**

1. Micropipeta.
2. Balón.
3. Probeta.
4. Becker.



5. Espátula.
6. papel filtro.
7. Embudo.
8. Celda cuarzo.
9. Soporte de madera.
10. Capsulas de porcelana.
11. Licuadora.
12. Fiola con tapón.
13. Agitador.
14. Envase color ámbar.
15. Cubetas
16. Puntas de micropipetas

### **Equipos**

- Espectrofotómetro uv-vis marca: HP modelo: 8453
- Balanza analítica marca: sartorius modelo: TE 214.

### **Metodología**

#### **1. Recolección de muestra**

Las 4 especies de algas marinas se recolectaron manualmente antes que algunos compuestos se degradaran por causa de agentes externos entre las 7-8 a.m en la fechas establecida en el cronograma de actividades.

#### **2. Lavado**

Las 4 especies de algas marinas pasaron por un proceso de lavado con agua del grifo para eliminar suciedad y polvo, y evitar cualquier tipo de interferencia.

#### **3. Pesado**

Se pesaron aproximadamente de 3 g- 36g de algas marinas de cada especie. Entre estas fueron:



<b>Algas Marinas</b>	<b>Peso(g) / Etanol</b>
<i>Padina pavonica.</i>	4.3055g:50
<i>Ulva sp.</i>	8.3996g:40
<i>Codium sp</i>	3.8437g:30
<i>Gracilaria sp.</i>	35.3095g:40

#### **4. Preparación de los extractos:**

##### **Método de Extracción**

El método de extracción que se utilizó fue maceración.

En la preparación de los extractos, la cantidad de algas pesadas se transfirieron a una licuadora, añadiéndole 30 -50 ml de etanol 95<sup>0</sup>, se licuo hasta obtener homogeneidad, luego se procedió a filtrar y el líquido obtenido se agregó a envases color ámbar, depositando paralelamente 200 mcl en capsula de porcelana pre-pesada dejándose evaporar a temperatura ambiente por un periodo de 24 horas el resto del extracto se almacenaron en sus respectivos recipientes bajo refrigeración para evitar degradación.

##### **Ensayo de la Actividad Antioxidante**

###### **Preparación del Reactivo de DPPH**

Se pesó aproximadamente 0.014234 g del reactivo DPPH, se colocó en un balón de 100 ml y se aforó con Etanol (EtoH), como diluyente.

###### **Preparación del Ácido Ascórbico (Vitamina C)**

Se peso 0.1 g de Ácido Ascórbico se llevo a un balón de 100 ml y luego se aforo con etanol.

###### **Preparación de la muestra**

Se lavo y se limpio las capsulas con alcohol para evitar cualquier contaminación de la muestra luego se procedió a secar las capsulas a temperatura ambiente; una vez secas se espero 30 minutos a temperatura ambiente para luego proceder a pesar y anotar su peso. Una vez pesadas se le adicionaron 200 mcl de extractos, estos se dejaron 24 horas para el



secado del extracto, una vez secos se pesaron las capsulas con el extracto seco se procedió a realizar la diferencia de la capsula llena y capsula vacía para saber cuánto es la cantidad de extracto seco que se obtuvo.

Se realizaron cálculos para saber cuánto se le añadió de DMSO 142.34% para diluir el extracto seco, igual se realizaron los cálculos para saber la cantidad de extracto que se añadió a cada celda para contener una concentración de 142.34 mg del activo y luego completar con el reactivo de DPPH para llegar a 3500 mcl.

### **Preparación del patrón positivo**

En celdas desechables con una capacidad de 4000 mcl se adicionaron 175 mcl de ácido ascórbico (Vit. C) disuelto en etanol preparado anteriormente. Seguidamente se adiciono 175 mcl de dimetilsulfóxido (DMSO) completando a 3500 mcl de DPPH.

### **Preparación del patrón negativo**

Se adiciono a la celda 175 mcl de dimetilsulfoxido (DMSO) seguidamente se le agregaron 3325mcl de DPPH.

### **Preparación del Blanco**

Se agrego en una celda 175 mcl de Dimetilsulfoxido (DMSO) + 3325mcl de Etanol

### **Medidas de absorbancias**

A los extractos obtenidos se les realizo el bioensayo de captura de radicales libres DPPH (1,1Diphenyl -2- picrylhydrazyl) se leyeron las muestras a una Absorbancia a 515 nm (luz visible) utilizando el espectrofotómetro.

El reactivo obtuvo un color violeta, la actividad atrapadora de radicales libre se hizo evidente cuando la solución se decoloro presentando un color amarillento.



**El % inhibición se calculo por la siguiente fórmula:**

$$\%Inhibicion \left( - \left( \frac{abs. Muetsra}{abs. patron} \right) \right) + 1 * 100$$

Todos los cálculos se realizaron en la hoja de cálculo de Excel utilizando la formula anterior.



# RESULTADOS



## RESULTADOS

**Tabla N° 1: ABSORBANCIAS DE LAS MUESTRAS Y PATRÓN.**

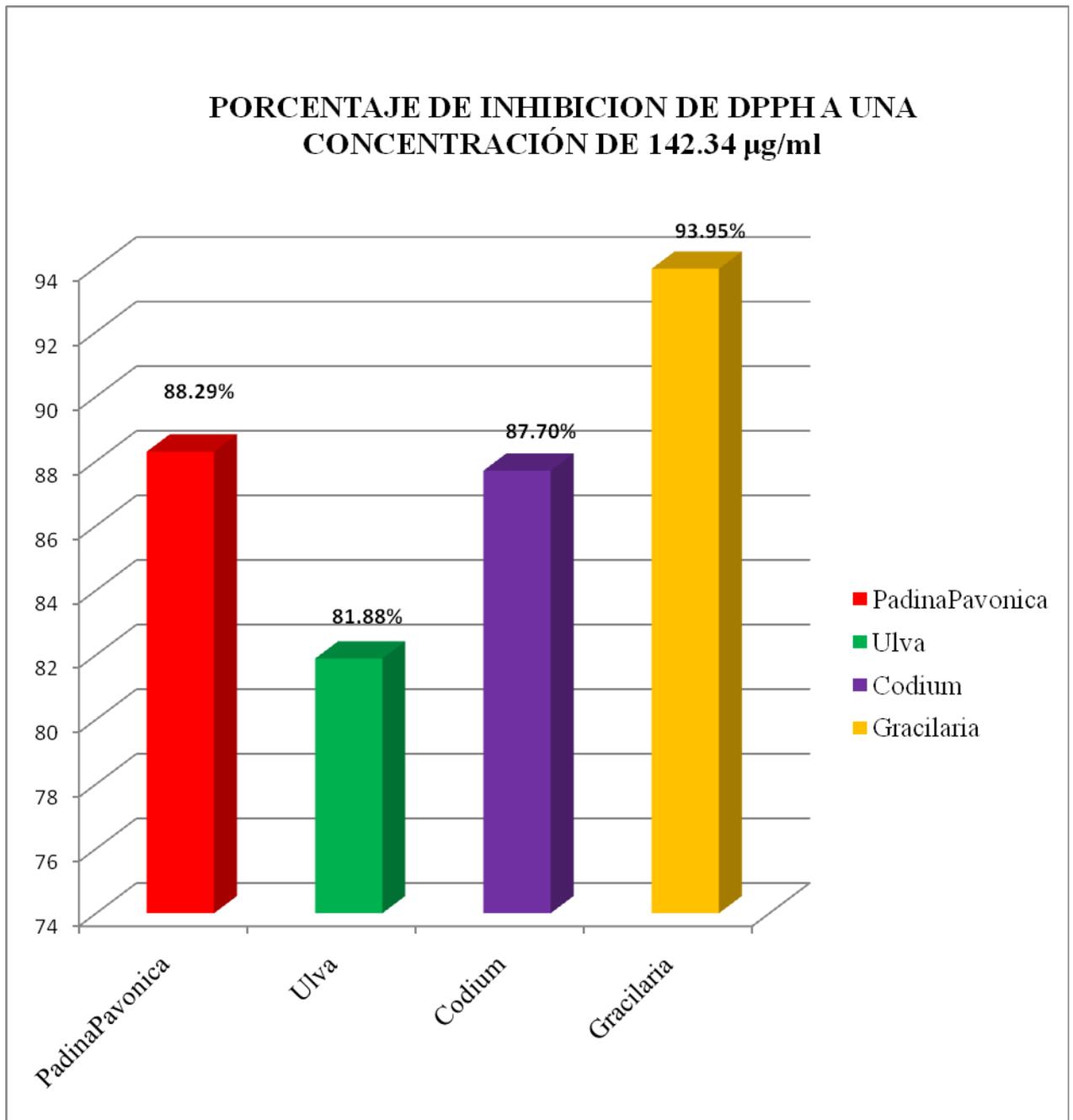
N°	Name Dilut	Factor	Abs<515nm>
1	Muestra 1 ( <i>Padina pavonica.</i> )	1.00000	0.3093
2	Muestra 2 ( <i>Ulva sp.</i> )	1.00000	0.4786
3	Muestra 3 ( <i>Codium sp.</i> )	1.00000	0.3249
4	Muestra 4 ( <i>Gracilaria sp.</i> )	1.00000	0.1597
5	Patrón (Ácido Ascórbico)	1.00000	0.16509

**Tabla N° 2: ABSORBANCIAS DEL DPPH.**

N°	Standard Name	DPPH(mcg/mL)	Abs<515nm>	%Error
1	DPPH	142.34	2.6418	0.00

**Tabla N° 3: PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE DPPH DE LAS MUESTRAS A UNA CONCENTRACIÓN DE 142.34 µg/ml**

Algas Marinas	% inhibición
<i>Padina pavonica.</i>	88.2920736
<i>Ulva sp.</i>	81.8835642
<i>Codium sp.</i>	87.7015671
<i>Gracilaria sp.</i>	93.9548792





# ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS



## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Después de realizar la práctica, evaluamos la actividad antioxidantes de cada especies de algas marinas que estudiamos; usando el método captadora de radicales libres (DPPH) a una concentración de 142.34  $\mu\text{g/ml}$  y a una longitud de onda de 515 nm, dando como resultado lo presente datos de la Tabla N° 3.

Observamos que el extracto etanólico de las especies de algas marinas *Gracilaria sp.* posee un 93.95% de mayor actividad de DPPH inhibido a una concentración de 142.34  $\mu\text{g/ml}$ ; el método de DPPH se considera un compuesto modelo de un radical lipofílico. Este inicia una reacción de autooxidación en cadena en el radical lipofílico. Los efectos de barrido de los metabolitos activos de las especies *Padina pavonica*, *Ulva sp.*, *Codium sp.* en el radical DPPH que se muestran en la Tabla del Porcentaje de Inhibición mostraron menor efecto de barrido de acción atrapadora con un 88.29% *Padina pavonica*, 81.88% *Ulva sp* y 87.70% *Codium sp* con respecto a la *Gracilaria sp.* que tiene un 93.95%.



# CONCLUSIÓN



## CONCLUSIÓN

Con el presente estudio logramos concluir:

- Los resultados obtenidos la Tabla N° 1 demuestra claramente que los extractos etanólicos de las cuatros especies de algas presentaron menor absorbancia que el ácido ascórbico utilizado como referencia.
  
- Comprobamos que las especies de algas marinas: *Padina pavonica.*, *Ulva sp.*, *Codium sp* y *Gracilaria sp.* presenta gran actividad atrapadora de radicales libres DPPH.
  
- El extracto de la alga marina *Gracilaria sp.* presentó la mejor actividad inhibitoria del radical DPPH a un 93.95 %.



# RECOLECTADAS



## **RECOMENDACIONES**

En base a los estudios realizados recomendamos para nuevos estudios:

- Tener presente, cubrir el balón de la solución de ácido ascórbico con papel aluminio para que no penetre la luz solar, ya que un factor determinante porque puede degradar la solución.
- Efectuar un ensayo biodirigido para comprobar que compuestos químicos de la especie de alga posee mayor actividad biológica.
- Efectuar un fraccionamiento para conocer que parte de la especie de alga marina contiene mayor actividad antioxidante.
- Efectuar los mismos estudios realizados pero con otras especies de algas marinas para indagar nuevos compuestos con alto potencial biológico.
- Hacer un seguimiento con el fin de aislar compuestos con potencial uso medicinal y farmacológico, además de valorar su uso como alimento funcional.



# BIBLIOGRAFÍA



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. GARCIA J., UNDERWOOD E.1999. fraccionamiento biodirigido del extracto etánolico del *Cedrellaodorata* con actividad antioxidantes y citotóxica. Disponible en : Tesis ficha 40028/bib 1 w42, G216f .pag 1-2
2. AVELLO M., SUWALSKY M., Radicales Libres, Estrés Oxidativo y Defensa Antioxidante Celular Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, 2Departamento de Polímeros, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción. Disponible en: [https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:U0j3QcR1YJ:www.cienciaahora.cl/Revista17/03RadicalesLibres.pdf+especies+reactivas+de+oxigeno+pdf&hl=es&gl=ni&pid=bl&srcid=ADGEESi4bxmFXdiZbZD4VE1xEg5M\\_dQGQBkY2MQib6cB35Ov9V9Sa3kHS3BIVHpvEJiXKli8s6S3NsJNnXUXmN14iDZvxboDWitEoGVwF4MKox905fFbvCyIn8Vucis5KuctvHwxoE&sig=AHIEtbRIBUKSQkZ4\\_vxgrdWeoVPdkBTJlw](https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:U0j3QcR1YJ:www.cienciaahora.cl/Revista17/03RadicalesLibres.pdf+especies+reactivas+de+oxigeno+pdf&hl=es&gl=ni&pid=bl&srcid=ADGEESi4bxmFXdiZbZD4VE1xEg5M_dQGQBkY2MQib6cB35Ov9V9Sa3kHS3BIVHpvEJiXKli8s6S3NsJNnXUXmN14iDZvxboDWitEoGVwF4MKox905fFbvCyIn8Vucis5KuctvHwxoE&sig=AHIEtbRIBUKSQkZ4_vxgrdWeoVPdkBTJlw).
3. ZAMORA S., Juan Diego. ANTIOXIDANTES: MICRONUTRIENTES EN LUCHA POR LA SALUD. *Rev. chil. nutr.* [online]. 2007, vol.34, n.1 [cited 2012-04-16], pp. 17-26. disponible en: <[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182007000100002&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000100002&lng=en&nrm=iso)>. ISSN 0717-7518. doi: 10.4067/S0717-75182007000100002.
4. NEWSMEDICAL Este artículo está licenciado bajo Creative Commons Attribution-ShareAlike License. Se utiliza contenidos del artículo de Wikipedia sobre "Antioxidantes" Todo el material utilizado adaptado de la Wikipedia está disponible bajo los términos de la Creative Commons Attribution-ShareAlike License. Wikipedia ® es en sí una marca registrada de la Wikimedia Foundation, Inc. Disponible en: [www.news-medical.net/health/What-are-Antioxidants-\(Spanish\).aspx](http://www.news-medical.net/health/What-are-Antioxidants-(Spanish).aspx)



5. Radicales libres y antioxidantes: [https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:-Qt5sNm-wHoJ:www.federacioncafe.com/Documentos/CafeYSalud/CafeYAntioxidantes/Radicales%2520libres.pdf+radicales+libres+y+antioxidantes+pdf&hl=es&gl=ni&pid=bl&srcid=ADGEEShbcvdb\\_Qnuft6qAilOkm4iwwkGKek\\_jBNxjz32uEm-QDTHtrRjfxjiH9Tb3fpdQxOtptLgaaiQpmfcMyLY1cPBEcgO8TX2NxaFxfEGRMiZvhEDvj5SN0KuAy19Q5tSn6uP1mz&sig=AHIEtbT8Xw3MIocQ5lcma7CuyPbaXeEaZw](https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:-Qt5sNm-wHoJ:www.federacioncafe.com/Documentos/CafeYSalud/CafeYAntioxidantes/Radicales%2520libres.pdf+radicales+libres+y+antioxidantes+pdf&hl=es&gl=ni&pid=bl&srcid=ADGEEShbcvdb_Qnuft6qAilOkm4iwwkGKek_jBNxjz32uEm-QDTHtrRjfxjiH9Tb3fpdQxOtptLgaaiQpmfcMyLY1cPBEcgO8TX2NxaFxfEGRMiZvhEDvj5SN0KuAy19Q5tSn6uP1mz&sig=AHIEtbT8Xw3MIocQ5lcma7CuyPbaXeEaZw)
6. REYES MUNGUÍA ABIGAIL (CV)ABIGAIL.REYES@UASLP.MX  
GALICIA CARDOSO MAYRA T., CARRILLO INUNGARAY MARÍA LUISA  
Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México. ANTIOXIDANTES: LA MAGIA DE LO NATURAL disponible en: <http://www.eumed.net/rev/tlatemoani/08/rgc.html>
7. Lic. ADONIS E. ZORRILLA GARCIA: centro nacional coordinador de ensayos clínicos. El envejecimiento y el estrés oxidativo. Revista cubana investBiomed 2002:21(3):178- Disponible en:  
[https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:E2fe-qdIH8J:www.sld.cu/revistas/ibi/vol21\\_3\\_02/ibi06302.pdf+El+envejecimiento+y+el+estr%C3%A9s+oxidativo&hl=es&gl=ni&pid=bl&srcid=ADGEESi6JM\\_do0d6HbpMZVfqxFiW4IYYDB1Fa8VKex4\\_efh7xjSJ\\_APJ\\_nIp-lbNPKeUSEKt2swpAYFg3tiwUlJD5AoacV3ytMNDtkIrQ9wnfXpNiGSPEwrtdMXOWySmC5CyfvNges5J&sig=AHIEtbSRNlwCPz6i8qY9gMYyaPU0J4OOUw](https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:E2fe-qdIH8J:www.sld.cu/revistas/ibi/vol21_3_02/ibi06302.pdf+El+envejecimiento+y+el+estr%C3%A9s+oxidativo&hl=es&gl=ni&pid=bl&srcid=ADGEESi6JM_do0d6HbpMZVfqxFiW4IYYDB1Fa8VKex4_efh7xjSJ_APJ_nIp-lbNPKeUSEKt2swpAYFg3tiwUlJD5AoacV3ytMNDtkIrQ9wnfXpNiGSPEwrtdMXOWySmC5CyfvNges5J&sig=AHIEtbSRNlwCPz6i8qY9gMYyaPU0J4OOUw)
8. SUPERNATURAL.CL.disponibleen:<http://www.supernatural.cl/antioxidantes.asp>
9. Dr. MARIA ANDREA TREJOS MARQUEZ, I.A. SELENE PASCUAL BUSTAMANTE. Taller multidisciplinario de procesos tecnológicos de frutos y hortalizas: Evaluación de la capacidad antioxidante y determinación de fenoles totales para frutos disponible en:[https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:ChHSzMs\\_i4gJ:www.actiweb.es/postcosecha/archivo9.pdf+Las+principales+caracter%C3%ADsticas+de+un+compuesto+o+sistema+antioxidante&hl=es&gl=ni&pid=bl&srcid=ADGEESiAIgHI7fNL1LBvdhUK9gy3YT7PfQhGdJb0HnQabsMrs4Ui6imafqMXhxO9KuhgG6Lsc1oX](https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:ChHSzMs_i4gJ:www.actiweb.es/postcosecha/archivo9.pdf+Las+principales+caracter%C3%ADsticas+de+un+compuesto+o+sistema+antioxidante&hl=es&gl=ni&pid=bl&srcid=ADGEESiAIgHI7fNL1LBvdhUK9gy3YT7PfQhGdJb0HnQabsMrs4Ui6imafqMXhxO9KuhgG6Lsc1oX)



gUhZhgndpmDKdDAJq46joT22dgl-\_mvt1GaQy4cWiGDcN1Y-YtFo-OI0qMwtU\_Dm&sig=AHIEtbT338iFmtHBvv0wG5uWekOW\_XyIEg

10. Proprietaantiossidantideipolifenoli,disponible  
en:[http://lem.ch.unito.it/didattica/infochimica/2007\\_Polifenoli\\_Vino/antiox.html](http://lem.ch.unito.it/didattica/infochimica/2007_Polifenoli_Vino/antiox.html)
11. Alexis Vidall, AdyaryFallarero, Elma Regina Silva de Andrade-Wartha, Ana Mara de Oliveira e Silva, Alessandro de Lima2, RosângelaPavan Torres, PiaVuorela, Jorge Mancini-Filho. Revista Brasileira de CiênciasFarmacêuticas, BrazilianJournal of PharmaceuticalSciencesvol. 42, n. 4, out./dez., 2006.
12. ARECES, A. *Biotecnología de agarofitas del géneroBryothamnionkützing*. Habana, 1995. p.30-64. [TesisDoctorado en Ciencias Biológicas. Instituto deOceanología. Universidad de La Habana, Cuba].
13. Saura Calixto, Fulgencio Diego y JimenezEscrig, Antonio. Folleto de OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS Consejo Superior de Investigaciones Científicas C/ Serrano, 117, 28006 Madrid, ES. Fibra dietética antioxidante y concentrada de antioxidantes naturales de alga Fucus y sus procedimientos de obtención. Fecha de presentación: 19.10.2000, Fecha de publicación de la solicitud: 01.06.2002, Fecha de publicación del folleto de la solicitud: 01.06.2002.
14. JIM\_ENEZ-ESCRIG, A. et al. "Evaluación nutricional y efectos fisiológicos de macroalgas marinas comestibles". Arch. Latinoam. Nutr., 1999, Vol. 49, n\_ 2, paginas 114-120.
15. ASPECTOS BIOLOGICOS DEL ALGA "GRACILARIA CHILENSIS"*Atlantic Pearl Chile Ltda. 2008*  
([http://liceorayenmapu.cl/documentos/060\\_guia%20acuicultura.pdf](http://liceorayenmapu.cl/documentos/060_guia%20acuicultura.pdf)).



16. BASES BIOLÓGICAS DE *Ulva fasciata* Delile, (Chlorophyta) PARA SU POSIBLE EXPLOTACIÓN, AL OESTE DE LA HABANA, CUBA. *Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Biológicas. Autor: MSc. Mercedes de la C. Cano Mallo. LA HABANA 2008.* (<http://www.oceandocs.org/bitstream/1834/3404/1/Tesis%20Doctorado%20Mercedes%20Cano%2008.pdf>).
17. *Revista club D'IMMERSIÓ BIOLOGIA. Faculta de biología* ([http://www.cibsub.com/bioespecie\\_es-padina\\_pavonica-32235](http://www.cibsub.com/bioespecie_es-padina_pavonica-32235)).
18. *Monografía Composición Nutricional y Funcional de las Algas Clorofíceas Chilenas: Codium fragile y Ulva lactuca Prof. Jaime Ortiz V. Laboratorio de Química y Análisis de Alimentos, Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología* *Química.* 2011 (<http://www.captura.uchile.cl/jspui/bitstream/2250/14729/1/Monograf%C3%ADa%201%20-%20Algas%20Verdes.pdf>).



# HERMOSA

