



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**Evaluación de la fitoquímica y del carácter antioxidante de variedades de algas marinas
Chlorophyta, Phaeophyta y Rodophyta procedentes de la zona costera de Manabí - Ecuador.**

Briceño Sevilla, Josselyne Michelle

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

Mihai, Raluca Alexandra, Ph.D.

10 de agosto de 2021



Document Information

Analyzed document Tesis Joss Urkund.pdf (D111231372)
Submitted 8/13/2021 6:41:00 AM
Submitted by
Submitter email rmihai@espe.edu.ec
Similarity 1%
Analysis address rmihai.espe@analysis.orkund.com



Sources included in the report

SA	Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE / TESIS-OSMAR-ACURIO.docx Document TESIS-OSMAR-ACURIO.docx (D100577970) Submitted by: rmihai@espe.edu.ec Receiver: rmihai.espe@analysis.orkund.com	 3
SA	CIAE_2019_paper_20.pdf Document CIAE_2019_paper_20.pdf (D52295952)	 3



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, **“Evaluación de la fitoquímica y del carácter antioxidante de variedades de algas marinas Chlorophyta, Phaeophyta y Rodophyta procedentes de la zona costera de Manabí - Ecuador”** fue realizado por la señorita **Briceño Sevilla, Josselyne Michelle** el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 10 de agosto de 2021

Firma:



Plaseado electrónicamente por:

**RALUCA
ALEXANDRA**

Mihai, Raluca Alexandra, PhD

C. C. 1757487507



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, **Briceño Sevilla Josselyne Michelle**, con cédula de ciudadanía n° 1751626035, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“Evaluación de la fitoquímica y del carácter antioxidante de variedades de algas marinas Chlorophyta, Phaeophyta y Rodophyta procedentes de la zona costera de Manabí – Ecuador”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 10 de agosto de 2021

Firma

Briceño Sevilla, Josselyne Michelle

C.C.: 1751626035



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo, **Briceño Sevilla Josselyne Michelle**, con cédula de ciudadanía n° 1751626035, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **“Evaluación de la fitoquímica y del carácter antioxidante de variedades de algas marinas Chlorophyta, Phaeophyta y Rodophyta procedentes de la zona costera de Manabí – Ecuador”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

Sangolquí, 10 de agosto de 2021

Firma

Briceño Sevilla, Josselyne Michelle

C.C.: 1751626035

DEDICATORIA

A mi familia, mis padres Jorge Oswaldo Briceño y Roxanna Jackeline Sevilla, a mis hermanos Jessica Pamela Briceño y Jorge Andrés Briceño, a mis sobrinos Isabella Briceño y Leo Briceño.

Mi fortaleza e inspiración. Para ti Joss del futuro, y veas que todo es posible. Con todo el amor, estos años de perseverancia y esfuerzo resumidos en esta investigación y todos mis logros universitarios son por y para ustedes.

Josselyne Michelle Briceño Sevilla

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser mi guía y estar de mi mano en los días difíciles.

A mis padres, por su aliento, paciencia, amor, en los momentos más complicados de mi vida. Su fortaleza y empuje han formado a la persona que soy hoy en día. Gracias por enseñarme que los sueños no se abandonan, y que no todo tropiezo es caída.

A mis hermanos (Jess y Jorge) que siempre se han mantenido a mi lado, dándome los más grandes ejemplos de perseverancia y lucha. Poco a poco se van logrando grandes cosas y ustedes me han demostrado que todo es posible si lo deseas y trabajas por ello.

A mi Iza, mi sobrina querida. Gracias por darme alegría de las tardes y recordarme lo pequeños que pueden ser los problemas si estamos juntas.

A mi Leo y Burbujis, que en una vida tan efímera trajeron una nueva alegría en la casa para amar.

A mi directora de tesis, la Dra. Raluca Mihai, cuya paciencia, consejos, trabajo, y bondad ha influido para el término de este trabajo. De todo corazón le agradezco Doc, por toda la confianza depositada en mí, por las oportunidades y por ser mi amiga. Gracias por brindarme parte de sus conocimientos y enseñarme que, sin importar las adversidades, poco a poco se pueden lograr grandes cosas.

A Andre y Wen, mis mejores amigas. Wen, mi amiga indispensable. Gracias por ser parte de mi vida, por escucharme, guiarme e impulsarme. Eres de las mejores personas con las que tuve la bendición de coincidir. Andre, mi hermana de corazón. La que siempre ha estado ahí y por la que siempre estaré. Gracias por todos los momentos desde que inicié esta travesía,

hasta el punto final. Eres luz, tan brillante que iluminas a quien te rodee. No dejes que nunca nadie te apague.

A Geova, mi amigo del alma, el apoyo, mi mano derecha y mi pepe grillo. Sin ti no existiría nada de lo que hemos logrado hasta el momento. Mantén ese corazón de oro que te caracteriza.

A Alejo, el consejero. Gracias por todas esas enseñanzas, mentorías y conversas. Sin duda, eres mi hermano y parte fundamental de mi vida.

A Nico, el que siempre nos saca alegrías. Eres esa mezcla perfecta entre cerebro, bondad, responsabilidad y fiesta. Contigo crecimos y desde ese momento siempre has estado ahí y estaremos para ti. Eres muy especial Nico.

A la Aso y todos sus miembros (Ricardo, Andrés, Michelle, Nico, Fati, Kelvin, Gigi, Clau, Sofi, Alanis, Luis, Estefy y Fausto) sin ustedes nuestra organización no hubiese triunfado como lo hizo. Son tan valientes y me ensañaron tanto. Siempre serán mi equipo. Los quiero chicos.

Al consejo Jedi, (Majo, Mario, Sebas, Kathy Eli, Andre) mis grandes amigos del lab.

Y a todas las personas que fueron parte de mi trayecto en la Universidad. Sin duda fue un largo camino y aunque todo debe terminar, parte de mi corazón siempre permanecerá con ustedes.

Josselyne Michelle Briceño Sevilla

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Urkund.....	2
Certificación.....	3
Responsabilidad de autoría.....	4
Autorización de publicación.....	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimientos.....	7
Índice de contenidos.....	9
Índice de tablas.....	13
Índice de figuras.....	15
Índice de anexos.....	16
Índice de abreviaturas.....	18
Resumen.....	19
Abstract.....	20
Capítulo 1: Introducción.....	21
Formulación del problema	21
Justificación del problema.....	23
Sistema de objetivos.....	25
Objetivo general	25
Objetivo específicos.....	25

	10
Hipótesis	26
Marco teórico	26
Algas 26	
Descripción botánica	28
Clasificación	28
Phaeophyta.....	28
<i>Padina pavonica</i> (linnaeus) thivy.....	29
<i>Saccharina latissima</i> (linnaeus)	30
Chlorophyta	31
<i>Ulva latuca</i> linnaeus	31
<i>Chaetomorpha ligustica</i> (kützing) kützing.....	32
Rodophytas.....	33
<i>Hypnea spinella</i> (c.agardh) kützing	33
<i>Gelidium pusillum</i> (stackhouse) le jolis	34
Taxonomía	35
Situación en el ecuador	35
Propiedades biológicas de las algas	36
Principios activos	37
Metabolitos secundarios sintetizados por algas	38
Terpenos.....	39
Polikétidos	41
Alcaloides.....	41
Compuestos fenólicos	42

Glicósidos.....	43
Compuestos halogenados	44
Principios activos sintetizados en función del tipo de macroalga	44
Rhodophyta	44
Phaeophyta.....	45
Chlorophyta	46
Actividad antioxidante.....	46
Capítulo 2: Metodología.....	50
Responsable del proyecto	50
Localización geográfica	50
Trabajo de investigación.....	50
Periodo de investigación	50
Obtención y tratamiento de muestras	50
Extracción de principios activos	51
Determinación de capacidad antioxidante por dpph.....	51
Método abts	52
Cálculo de la capacidad antioxidante como equivalentes trolox. (teac).....	53
Método frap.....	53
Fenoles totales.....	54
Evaluación del tamizaje fitoquímico.....	54
Azúcares reductores	55

	12
Terpenos	55
Saponinas.....	55
Taninos.....	56
Alcaloides.....	56
Flavonoides.....	56
Antocianinas	56
Análisis estadístico.....	57
Análisis de extracto de principios activos de muestras.....	57
Capacidad antioxidante	57
Tamizaje fitoquímico	57
Capítulo 3: Resultados.....	58
Recolección de muestras.....	58
Método de DPPH.	58
Método ABTS.....	62
Método FRAP.....	65
Método de Folin – Ciocalteu para cuantificación de fenoles totales...68	
Correlación entre pruebas.....	71
Evaluación del tamizaje fitoquímico.....	72
Capítulo 4: Discusión.....	73
Capítulo 5: Conclusiones y recomendaciones.....	79
Bibliografía.....	81
Anexos.....	93

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Distribución taxonómica de varias especies de algas obtenidas en la Provincia de Manabí</i>	354
Tabla 2. <i>Códigos de muestra analizada</i>	58
Tabla 3. <i>Media descriptiva de la capacidad antioxidante por método DPPH.</i>	59
Tabla 4. <i>Prueba estadística de normalidad</i>	60
Tabla 5. <i>Prueba ANOVA para el método DPPH</i>	60
Tabla 6. <i>Pruebas Tukey para método DPPH</i>	61
Tabla 7. <i>Media descriptiva de la capacidad antioxidante por método ABTS</i> 63	
Tabla 8. <i>Prueba estadística de normalidad</i>	64
Tabla 9. <i>Prueba ANOVA para método ABTS</i>	64
Tabla 10. <i>Media descriptiva de la capacidad antioxidante por método FRAP.</i>	66
Tabla 11. <i>Pruebas de normalidad de parámetros estadísticos</i>	66
Tabla 12. <i>Pruebas ANOVA para método FRAP</i>	67
Tabla 13. <i>Pruebas Tukey para el método FRAP</i>	67
Tabla 14. <i>Media descriptiva de la capacidad antioxidante por método FC</i> ...69	
Tabla 15. <i>Prueba de normalidad de parámetros estadísticos</i>	69
Tabla 16. <i>Pruebas ANOVA para FC</i>	70
Tabla 17. <i>Pruebas Tukey para el método FC</i>	70

Tabla 18. <i>Pruebas de correlación de variables de Pearson</i>	72
Tabla 19. <i>Tamizaje fitoquímico de los extractos etanólicos de las diferentes muestras</i>	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagen de macroalga <i>Padina pavonica</i>	29
Figura 2. Imagen de macroalga <i>Saccharina latissima</i>	30
Figura 3. Imagen de macroalga <i>Ulva latuca</i>	31
Figura 4. Imagen de macroalga <i>Chaetomorpha linguistica</i>	32
Figura 5. Imagen de macroalga <i>Hypnea spinella</i>	33
Figura 6. Imagen de macroalga <i>Gelidium pusillum</i>	34
Figura 7. Vías biológicas de metabolitos secundarios.....	38
Figura 8. Vías biológicas de metabolitos terpenos.....	40
Figura 9. Formación de los poliketidos.....	41
Figura 10. Formación de Tocopherol, compuesto fenólico	42
Figura 11. Método de DPPH para identificar la presencia de antioxidante	47
Figura 12. Método de ABTS para identificar la presencia de antioxidante.	47
Figura 13. Método de FRAP para identificar la presencia de antioxidante.	48
Figura 14. Método de FC para identificar la presencia de antioxidante.	49
Figura 15. Gráfica comparativa del % de inhibición DPPH vs tipo de muestra vs diluciones 1/5, 1/10, 1/15.....	59
Figura 16. Comparación de medias por método DPPH.	61
Figura 17. Gráfica comparativa del % de inhibición ABTS vs tipo de muestra vs diluciones 1/5, 1/10, 1/15	62
Figura 18. Comparación de medias por método ABTS.....	65
Figura 19. Comparación de medias por método FRAP.....	68
Figura 20. Comparación de medias por método FC.....	71

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Captura de las 6 especies recolectadas con el código de identificación de cada muestra	93
Anexo 2. Curva de calibración del método de DPPH para la cuantificación de fenoles y capacidad antioxidante.....	94
Anexo 3. Curva de calibración del método de ABTS para la cuantificación de fenoles y capacidad antioxidante.....	94
Anexo 4. Curva de calibración del método de FRAP para la cuantificación de fenoles y capacidad antioxidante.....	95
Anexo 5. Curva de calibración del método de FC para la cuantificación de fenoles y capacidad antioxidante.....	95
Anexo 6. Análisis cualitativo de azúcares reductores por colorimetría de metabolitos secundarios.	96
Anexo 7. Análisis cualitativo de taninos por colorimetría de metabolitos secundarios para el tamizaje fitoquímico.	97
Anexo 8. Análisis cualitativo de Terpenos por colorimetría de metabolitos secundarios para el tamizaje fitoquímico.	97
Anexo 9. Análisis cualitativo de Antocianinas por colorimetría de metabolitos secundarios para el tamizaje fitoquímico.....	98
Anexo 10. Análisis cualitativo de Flavonoides por colorimetría de metabolitos secundarios para el tamizaje fitoquímico.....	100
Anexo 11. Análisis cualitativo de Saponinas por colorimetría de metabolitos secundarios para el tamizaje fitoquímico.....	101

Anexo 12. Análisis cualitativo de Alcaloides por colorimetría de metabolitos secundarios para el tamizaje fitoquímico.	102
--	-----

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

DPPH 2,2-difenil-1-picrilhydracilo

ABTS ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

FC Folin Ciocalteu

FRAP Poder antioxidante reductor férrico

GAE Equivalente de ácido gálico

MS muestra seca

ROS Especies reactivas de oxígeno

TEAC Capacidad antioxidante equivalente a Trolox

mM Concentración expresada en milimolar

L Litro

mL mililitro

nm nanómetros

RESUMEN

Las algas marinas son un grupo de individuos desde unicelulares hasta pluricelulares llegando a alcanzar alturas de hasta 50 metros. Pueden soportar diversos ambientes que en condiciones normales ocasionarían muerte prematura. Esto gracias a mecanismos que controlan la exposición de la oxidación provocada por radicales libres. A causa de dichas características, el interés farmacológico ha ido en aumento. Se han evidenciado las actividades antibacterianas, antifúngicas, antivíricas, antiparasitarias, anti alergénico, antitumoral, antitrombótico, inmunoestimulante, antiinflamatorias y antioxidante de sus extractos. El presente trabajo tiene como objetivo la evaluación fitoquímica y de la capacidad antioxidante de los extractos de 6 especies de macroalgas de los órdenes Rhodophyta, Chlorophyta, Pheophyta. Los mecanismos utilizados para la cuantificación de antioxidantes fueron: prueba de DPPH, prueba de ABTS, cuantificación mediante la prueba de FRAP y prueba de FOLIN CIOCALTEU. Los resultados de la investigación arrojaron que la mejor actividad antioxidante lo posee el alga *Ulva latuca*, con una media de 0.3115 de TEAC; 0.8182 de TEAC; 223.108 mg Fe/100 g muestra; 56.816 mg de ácido gálico/ 100 g muestra para las pruebas DPPH, ABTS, FRAP y FC respectivamente. Esto a causa de los metabolitos variantes de la clorofila a, b, carotenoides, polisacáridos sulfatados, lípidos, proteínas, y entre otros compuestos que han demostrado previamente actividad contra los radicales libres culpables de la oxidación. La disminución de propiedades biológicas puede atribuirse a factores tanto ambientales como la temperatura, humedad, pH, salinidad del agua, ubicación geográfica, microambientes, exposición; así como también factores genéticos que pueden causar la variación de componentes activos dentro de las mismas especies. Finalmente, el análisis fitoquímico demuestra que las 6 especies de algas poseen flavonoides, fenoles, timinas, antocianinas, alcaloides y terpenos.

Palabras Clave:

- **ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**
- **ALGAS**
- **PRINCIPIOS ACTIVOS**
- **MECANISMO DE DEFENSA**

ABSTRACT

Seaweeds are a group of individuals ranging from unicellular to multicellular, reaching heights of up to 50 meters. They can withstand various environments that under normal conditions would cause premature death. This is caused by mechanisms that control the exposure of oxidation caused by free radicals. Thanks to these characteristics, the pharmacological interest has been increasing. The antibacterial, antifungal, antiviral, antiparasitic, anti-allergenic, antitumor, antithrombotic, immunostimulating, anti-inflammatory and antioxidant activities of its extracts have been evidenced. The present work has as objective the phytochemical evaluation and the antioxidant capacity of the extracts of 6 species of macroalgae of the orders Rhodophyta, Chlorophyta, Pheophyta. The mechanisms used for the quantification of antioxidants were DPPH inhibition test, ABTS inhibition test, quantification using the FRAP test and FOLIN CIOCALTEU test. The results of the investigation showed that the best antioxidant activity is possessed by *Ulva latuca*, with an average TEAC of 0.3115; 0.8182 from TEAC; 223.108 mg Fe / 100 g sample; 56,816 mg of gallic acid / 100 g sample for the DPPH, ABTS, FRAP and FC tests respectively. This is due to the variant metabolites of chlorophyll a, b, carotenoids, sulfated polysaccharides, lipids, proteins, and among other compounds that have previously shown activity against free radicals responsible for oxidation. The worst results were obtained by the species *Pandida Pavonica (Pp)*, *Hypnea spinella (Hs)* and *Gelidium pusillum (Gp)*. The decrease in biological properties can be attributed to both environmental factors such as temperature, humidity, pH, water salinity, geographical location, microenvironments, exposure; as well as genetic factors that can cause the variation of active components within the same species. Finally, the phytochemical analysis shows that the 6 species of algae possess flavonoids, phenols, thymine, anthocyanins, alkaloids, and terpenes.

Keywords:

- **ANTIOXIDANT ACTIVITY**
- **ALGAE**
- **ACTIVE PRINCIPLES**
- **DEFENSE MECHANISM**

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Formulación del problema

Las enfermedades causadas por estrés oxidativo se han mantenido en auge durante los últimos años. Una de las formas de atacar las enfermedades ocasionadas es en base al consumo de medicamentos que aumenten o regulen la función biológica. Pero como inconveniente a este proceso, Sangucho, (2017) y Tenorio, (2018) mencionan que el uso prolongado de fármacos llega a causar estrés en la célula provocando daños adicionales, por lo que la investigación para la aplicación de sustancias alternativas a los medicamentos convencionales ha ido en aumento, de manera especial es el empleo de metabolitos secundarios (Corrales MSc & Muñoz Ariza, 2012; Siddharth & Rai V, 2019).

Los metabolitos secundarios (MS) son considerados como moléculas producidas en circunstancias de estrés. Estas moléculas presentan cualidades biológicas como respuestas antivirales, antitumorales, anticonvulsivantes, antioxidantes, inclusive como importancia medicinal, cosmética, alimentaria, entre otras (Tenorio, 2018). Entre los organismos capaces de producir estos MS se tienen un sin número de plantas y una gran variedad de algas marinas, siendo este último un área poco estudiada (Manivasagan et al., 2014).

Las algas son conocidas como principales productores del medio acuático, son de nutrición autótrofa por su capacidad fotosintética y un ciclo similar a los organismos vegetales. Se pueden encontrar desde organismos unicelulares hasta individuos que sobrepasan los 50 metros de altura (Salinas & Simarra, 2019). Muchas de las algas son usadas como alimento, abonos, componentes para la industria cosmética, farmacéutica,

capacidad de formación de geles, tegumentos, fibras, lo que genera una utilidad y ventaja en el mercado gracias a su demanda como fuente de tecnologías innovadoras y nuevas herramientas de producción (Leflaive & Ten-Hage, 2007).

En el hábitat donde se desarrollan suelen estar expuestos a altas concentraciones de oxígeno y variable presencia de luz (Batista González et al., 2009). Bajo estas condiciones de vida, se podría suponer que el exceso de radicales libres desestabilizarían la pared celular causando la muerte del organismo. Sin embargo, las algas pueden desarrollarse normalmente, lo que sugiere que estas presentan mecanismos de protección frente a la oxidación (Batista González et al., 2009). Garcia, (2015) menciona, en el caso de las algas marinas, los MS pueden ser considerados como mecanismo de defensa frente a condiciones de pH, luz, temperatura, estrés oxidativo, etc.

Gómez, (2013) indica que los extractos de algas marinas presentan capacidad de atracción de radicales libres, con mecanismos de oxido reducción y da cabida para inhibir la peroxidación lipídica. La capacidad antioxidante de las algas puede ser explicada por la presencia de carotenos, micosporinas, terpenoides, glúcidos sulfatados, ácidos fenólicos, ácidos cinámicos, florotaninos, bromofenoles, etc. según lo mencionado por (Gómez-Ordóñez, 2013; Greque De Morais et al., 2015).

El estudio de algas como una herramienta natural contra el daño celular ha originado el interés por descubrir su aporte antioxidante, cualidad que ha proporcionado utilidad en los últimos años tanto para producción de aditivos alimenticias como en la industria cosmética (Greque De Morais et al., 2015).

Gracias al alcance del proyecto “Valoración de recursos marinos (algas) para el fortalecimiento de la cadena productiva y mejoramiento de la calidad de vida en zona costera ecuatoriana.”, en la provincia de Manabí se ha podido identificar y obtener un gran número de biomasa de las antes mencionadas. Por lo tanto, este trabajo tiene como fin la evaluación de la fitoquímica y de propiedades biológicas representadas por el carácter antioxidante de las algas provenientes de la Provincia de Manabí.

1.2 Justificación del problema

Las enfermedades causadas por el estrés oxidativo del ser humano se encuentran en aumento, indicando una relación directa entre las patologías y los radicales libres generados por reacciones metabólicas que terminan por afectar el organismo (Tenorio, 2018). Los radicales libres o también llamadas especies reactivas del oxígeno (ROS) son moléculas o átomos con uno o más electrones desapareados en su último nivel de energía, provocando gran reactividad. Esta característica causa su intervención eficaz en un elevado número de procesos biológicos a nivel celular generando toxicidad (Hernandez, 2004).

Los ROS se producen naturalmente como resultado de las reacciones metabólicas; pero, en ciertas ocasiones, a causa de un disfuncionamiento de los controladores o afección del ser humano a causa de su entorno, se puede llevar a cabo una sobreproducción rompiendo el equilibrio del cuerpo (Castañeda C. et al., 2008). El cuerpo humano tiene un mecanismo que prevé este problema gracias a moléculas que remueven los ROS; sin embargo, cuando esta defensa no es totalmente eficiente, la producción de radicales libres aumenta causando el daño celular llegando a causar inclusive la muerte de la célula (Gómez-Ordóñez, 2013).

En varios países principalmente aquellos ubicados en medio oriente utilizan las algas como fuente alimenticia o como producto con funciones alternas (Tenorio, 2018). La mega diversidad del Ecuador ha permitido tener variedad de tipos de algas. Su investigación se centra en la producción de espirulina, toxicología acuática y composición nutricional de macroalgas, evidenciando que estos individuos poseen alta concentración de proteínas, fibra, minerales y vitaminas (García, 2015). Pero, pese a tener gran abundancia de costas, no ha enfocado su investigación en el descubrimiento y estudio de moléculas bioactivas que confieran propiedades biológicas con un largo espectro de aplicaciones industriales.

Singh et al., (2017) señalan que en estudios recientes se ha demostrado que las algas poseen compuestos bioactivos con actividades antivirales antifúngicas, antibacterianas, antioxidantes, etc... Estos procesos se dan por la existencia de metabolitos secundarios, moléculas biológicas sin una función esencial específica generada como mecanismo de defensa, atracción de animales, repulsión de patógenos, entre otros. En este grupo podemos encontrar los terpenos, fenoles, alcaloides, carbohidratos, flavonoides, pigmentos, saponinas, esteroides y vitaminas, cada uno con sus características que confieren actividad biológica (Tenorio, 2018).

Los antioxidantes son moléculas con propiedades biológicas que inhiben o eliminan la reactividad de los ROS, cuyo beneficio se da bajo adquisición por ingesta voluntaria; los carotenoides no sólo son componentes estructurales esenciales de los sistemas fotosintéticos, sino que también son protectores del daño causado por la foto-oxidación. La capacidad de atrapar radicales libres ha permitido que varios estudios reporten que su uso tiene la propiedad de reducir y prevenir tumores o enfermedades. Inclusive el bloque

estructural de los terpenos ha demostrado ser un excelente protector de daños causados por el ozono (Corrales MSc & Muñoz Ariza, 2012).

Debido al sin número de propiedades, beneficios y aplicación en las diferentes industrias, esta investigación se centra en la evaluación de la fitoquímica y capacidad antioxidante de diferentes algas de la provincia de Manabí, bajo los métodos para determinar la actividad antioxidante, basados principalmente en la capacidad de captación de radicales libres. Entre ellos se pueden mencionar el uso del 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH); ácido 2,2', azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6- sulfónico (ABTS, test del estatus antioxidante total), poder antioxidante reductor férrico (Ferric Reducing/antioxidant Power: FRAP) (López, 2019), con el objetivo de estimular la valoración de las propiedades biológicas y recursos marinos, impulsando el uso de estos organismos como forma de promover la economía y mejorar la calidad de vida de las zonas locales de Manabí.

1.3 Sistema de objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar la fitoquímica y el carácter antioxidante de variedades de algas marinas Chlorophyta, Phaeophyta y Rodophyta procedentes de la zona costera de Manabí - Ecuador

1.3.2 Objetivo Específicos

- Realizar el muestreo de varias especies de algas de la provincia de Manabí – Ecuador.
- Identificar mediante tamizaje fitoquímico la presencia o ausencia de diversos tipos de metabolitos secundarios en los extractos polares de algas.

- Determinar el contenido de fenoles mediante el método de Folin - Ciocalteu.
- Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos aislados, mediante el método DPPH, ABTS y FRAP.

1.3.3 Hipótesis

- Ho: Las algas Chlorophyta, Phaeophyta y Rodophyta procedentes la zona costera de Manabí no presentan metabolitos secundarios fenólicos ni capacidad antioxidante.
- Ha: Las algas Chlorophyta, Phaeophyta y Rodophyta procedentes la zona costera de Manabí presentan metabolitos secundarios y actividad antioxidante.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Algas

Las algas son un grupo de individuos eucariotas con capacidad fotosintética, ausencia de un embrión verdadero y escasa diferenciación de tejidos. Podemos encontrar individuos unicelulares como pluricelulares; pese a la simplicidad de muchos de ellos, poseen flagelos de locomoción, filamentos, sifones, láminas, pseudoparénquimas como estructuras básicas. Su ciclo reproductivo se alterna entre asexual y sexual, dependiendo de su fase se denominan monofásicos, difásicos, trifásicos que dependen de la carga cromosómica en su genoma. (Haydelba et al., 2020).

En general son organismos de ambientes húmedos/acuáticos cuya coloración depende de los pigmentos encontrados en los plastos de sus células. Su función principal es la producción de nutrientes, por lo que son conocidos como productores primarios; base de las cadenas tróficas de la materia orgánica tanto en agua dulce como salada (García, 2015).

En agua dulce suelen formarse estructuras pequeñas denominadas microalgas que gracias a su agregación suelen considerarse como fitoplancton (Gómez-Ordóñez, 2013). Este tipo de organismos suelen generar relaciones simbióticas beneficiándose mutuamente junto con otros individuos, como por ejemplo la asociación con corales o helechos acuáticos; sin embargo, existen algunos casos de parasitismo causando principalmente lesiones irreversibles en tejidos (Leflaive & Ten-Hage, 2007).

Su uso a nivel industrial se ha centrado la producción de compuestos químicos como la agarosa, espesantes naturales, generación de biopolímeros, composición de biodiesel, entre otros (Haydelba et al., 2020). En el caso de macroalgas, García-Galaz et al., (2014) menciona que son reservorios nutricionales de gran importancia con baja cantidad de grasas, calorías y lípidos con alta concentración de proteínas, polisacáridos y metabolitos secundarios de potencial terapéutico.

En muchos lugares suelen utilizarse como indicadores de contaminación de ecosistemas marinos y, bajo la propiedad de poder atrapar metales pesados son empleados como restauradores de sistemas acuáticos (Gómez-Ordóñez, 2013).

1.4.2 Descripción botánica

Las macroalgas son organismos de gran tamaño que contienen un conjunto de tejidos llamados talo. Se distingue en rizoides, que es una estructura equivalente a la raíz, y se encuentra en la base de las algas con función de fijarse al sustrato; la estirpe, el equivalente al tallo de las plantas vasculares, pueden ser cortas o de grandes estructuras dependiendo la especie; las láminas son las partes equivalentes a las hojas de las plantas; muchas poseen vesículas llenas de gas lo que les proporciona flotabilidad (Salinas & Simarra, 2019).

Al hablar de agrupación de especies, en zonas tropicales las macroalgas suelen agruparse para formar bosques acuáticos, pero de menor tamaño comparados con zonas de agua dulce que adquieren una altura de varios metros de largo (Basurto & Alcívar, 2019).

1.4.3 Clasificación

Según Perez & Verde, (2000) las algas se clasifican en dos grupos principales: macroalgas (multicelulares) y microalgas (unicelulares).

A nivel multicelular encontramos: Chlorophyta, Ochrophyta (Phaeophyta) y Rodophyta (Tenorio, 2018).

1.4.3.1 Phaeophyta

Son conocidas como algas pardas cuyos hábitats suelen ser principalmente las costas rocosas de zonas templadas, formando bosques submarinos que pueden alcanzar hasta 60 metros de longitud (Gómez-Ordóñez, 2013). Sus pigmentos fotosintéticos son clorofilas (A y C) y xantofilos (fucoxantina y flavoxantina) responsables del color de amarillo pardo a pardo oscuro (*obsérvese la Fig.1.*). Como sustancias de reserva poseen polisacáridos como la laminaria con producción excesiva de mucus para proteger sus tejidos (Quitral et al., 2012).

Entre ellas encontramos a las algas conocidas como: *Padina durvillei*, *Dictyopteris prolifera*, *Sargassum spp.*, *Hydroclathrus clathratus*.

1.4.3.1.1 *Padina pavonica* (Linnaeus) Thivy

Figura 1.

Imagen de macroalga *Padina pavonica* (Linnaeus) Thivy



Fuente: (Rubal, 2020)

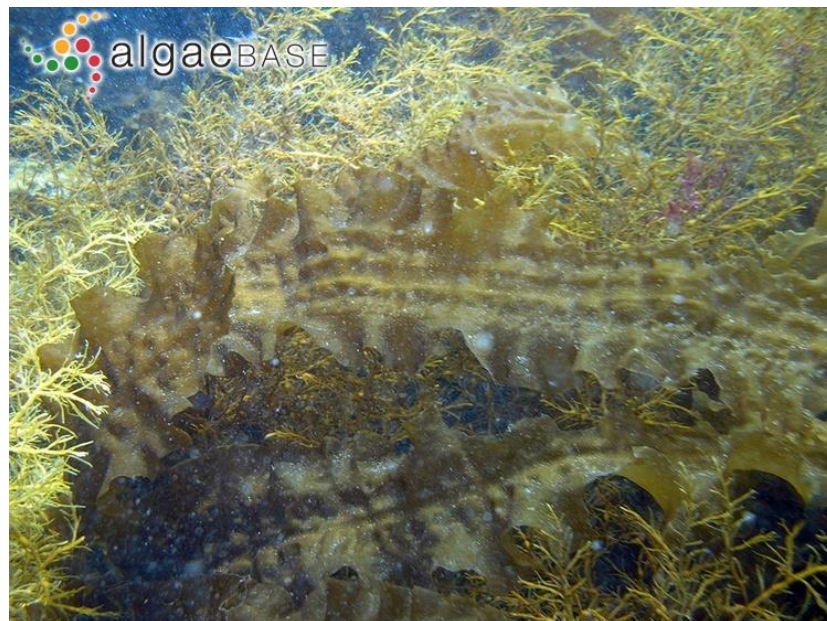
Es una de las especies más comunes de las zonas costeras. Esta alga tiene una estructura en forma de embudo. De color pardo, posee líneas blancas paralelas alrededor de sus frondas aplanadas, causadas por el carbonato de calcio almacenado. Se encuentran particularmente en zonas litorales, con buena luminiscencia ((Crespo, 2021)). Su disponibilidad la convierte en una interesante opción para investigación, debido a que se ha reportado a las algas pardas como fuentes ricas de compuestos con diferentes actividades farmacéuticas (Čagalj et al., 2021) e inclusive como fuente de alimento de algunas civilizaciones costeras (Hlila et al., 2017).

1.4.3.1.2 *Saccharina latissima* (Linnaeus)

Son un tipo de algas comestibles conocidas por su excelente fuente de fibra y compuestos asociados. Posee una gran cantidad de polisacáridos sulfatados, principalmente el alginato, lo que le ha conferido una buena capacidad antioxidante según los estudios de (Gómez-Ordóñez, 2013). Posee también una elevada capacidad de retención de agua al igual que de proteína, lo que ha ayudado a su comportamiento durante el trayecto gastrointestinal. Por tal se ha estudiado esta alga por su alto potencial probiótico que puede promover beneficios a la salud (Gómez-Ordóñez, 2013).

Figura 2.

Imagen de macroalga *Saccharina latissima* (Linnaeus)



Fuente: (M.D. Guiry in Guiry, M.D. & Guiry, 2021)

1.4.3.2 Chlorophyta

Son los individuos más relacionados con las plantas. Presentan pigmentos fotosintéticos como carotenos, xantofilas y clorofila (A y B) responsables de su coloración verde oscuro a amarillo verdosa (*obsérvese la Fig.2.*). Su sustancia de reserva se denomina almidón (Quitral et al., 2012).

Disponen de celulosa y pectina. Son el grupo más diverso de algas abarcando una variedad de hábitats, pero tan solo el 10% de estas son marinas. Su tendencia de reproducción es sexual, pero existen rasgos de reproducción asexual (Tenorio, 2018).

Entre ellas encontramos algas conocidas como: *Cladophora prolifera*, *Ulva latuca*, *Chaetomorpha ligustica*, entre otras.

1.4.3.2.1 *Ulva latuca* Linnaeus

Figura 3.

Imagen de macroalga *Ulva latuca* Linnaeus



Fuente: (Guiry, 2021).

También conocida como lechuga de mar, es una de las algas de mayor provecho distribuidas por todo el mundo. De frondas lobuladas y anchas, de grosor de una o dos celdas causando debilidad de tejido, por lo que de manera común se encuentran agujeros perforados. Necesita gran cantidad de luz para su desarrollo, sin embargo puede habitar profundidades de hasta 75 m. Se utiliza como fuente de alimento gracias a la cantidad de carbohidratos que posee. En el ámbito farmacológico ha generado interés por su acción bactericida, fungicida, anti protozoaria, y para tratar diversas enfermedades humanas como el asma, arterioesclerosis, hipertensión, entre otros (Bakken, 2021).

1.4.3.2.2 *Chaetomorpha ligustica* (Kützing) Kützing

Este grupo de individuos se caracteriza por los filamentos que componen su estructura. Es un alga con abundancia de talos en forma de malla, no ramificados y rizados. Se encuentra comúnmente rodeando otras especies de algas, en rocas, piedras o moluscos (Sjøtun, 2011). Se conoce que este género posee abundancia de compuestos bioactivos para complemento dietético y de terapia natural, dado que varias especies han registrado actividad citotóxica de algunas líneas celulares (Hyder Haq et al., 2019).

Figura 4.

Imagen de macroalga *Chaetomorpha ligustica* (Kützing) Kützing



Fuente: (M.D. Guiry in Guiry, 2021)

1.4.3.3 Rodophytas

Son el segundo grupo más amplio de algas. Se pueden encontrar en todo tipo de mares desde zonas intermareales hasta aguas profundas (Gómez-Ordóñez, 2013). Se incluyen las macroalgas más notables, entre ellas las algas coralinas responsables de la formación de arrecifes de coral (Frikha et al., 2011). Estas algas fotosintéticas que contienen clorofila A y D, contienen pigmentos accesorios como ficobiliproteínas (ficoeritrina y ficobilina) y carotenoides responsables de la coloración rojiza (*obsérvese la Fig.3.*). No poseen células flageladas. Su material de reserva es el almidón (García, 2015).

Entre ellas encontramos algas conocidas como: *Hypnea*, *Centroceras*, *Acanthophora*, *Gelidium*, entre otras.

1.4.3.3.1 *Hypnea spinella* (C.Agardh) Kützing

Figura 5.

Imagen de macroalga *Hypnea spinella* (C.Agardh) Kützing



Fuente: (Guiry in Guiry & Guiry. G.M., 2021)

Este tipo de individuos crece en rocas, piedras, conchas e inclusive otras algas, pues sirven como sustrato adecuado para el asentamiento de esporas como su desarrollo. Suele ubicarse en zonas litorales. Su morfología muestra a una especie con ramificaciones laterales y estrechas en la punta (Waghmode & Deshmukh, 2018). Este genero de algas rojas es rico en polímeros como el carragenano con un elevado interés comercial debido a la facilidad de formación de geles. En la industria alimentaria este compuesto es muy cotizado por sus propiedades gelificantes y estabilizantes, a más de las notables propiedades farmacéuticas informadas (Rafiquzzaman et al., 2016).

1.4.3.3.2 *Gelidium pusillum* (Stackhouse) Le Jolis

Es un alga roja que se encuentra a lo largo de las zonas pacíficas y atlánticas. De colores negros – rojizos, por sus formas rizoides tienen a formar películas de césped, de frondas erectas en forma de hojas. De actividad farmacéutica notable por sus propiedades bactericidas (Agarwal et al., 2021).

Figura 6.

Imagen de macroalga *Gelidium pusillum* (Stackhouse) Le Jolis



Fuente: (Guiry in Guiry & Guiry. G.M., 2021)

1.4.4 Taxonomía

En la Tabla 1. se indica la taxonomía de diversas especies de algas rojas, pardas y verdes.

Tabla 1.

Distribución taxonómica de varias especies de algas obtenidas en la Provincia de Manabí

	Algas rojas	Algas pardas	Algas verdes
Dominio	Eukaria	Eukaria	Eukaria
Reino	Plantae	Chromista	Plantae
Phylum	Rodophyta	Ochrophyta	Chlorophyta
Subphylum	Eurhodophytina	Phaesita	Chlorophytina
Clase	Florideophyceae	Phaeophyceae	Ulvophyceae
Orden	1. Gigartinales 2. Gelidiales	1. <u>Dictyotales</u> 2. Laminariales	1. Cladophorales 2. Ulvales
Familia	1. <u>Cystocloniaceae</u> (* 2. <u>Gelidiaceae</u> (**)	1. <u>Dictyotaceae</u> (*) 2. <u>Laminariaceae</u> (**)	1. <u>Cladophoraceae</u> (*) 2. <u>Ulvaceae</u> (**)
Género	<u>Hypnea</u> (*) <u>Gelidium</u> (**)	<u>Padina</u> (*) <u>Saccharina</u> (**)	<u>Chaetomorpha</u> (*) <u>Ulva</u> (**)
Especie	<u>spinella</u> (*) <u>pusillum</u> (**)	<u>pavonica</u> (*) <u>latissima</u> (**)	<u>lingustica</u> (*) <u>latuca</u> (**)

La distribución de taxonomía se identifica con código numérico y sibólico “*”. 1.1.*.* (Gigartinales, Cystocloniaceae, *Hypnea spinella*) ó 2.2.**.** (Laminales, Laminariaceae, *Saccharina latissima*)

(Guiry in Guiry & Guiry. G.M., 2021)

1.4.5 Situación en el Ecuador

Ecuador encontrándose en la zona equinoccial, es uno de los países de mayor diversidad.

Las zonas costeras de la nación son ricas en flora y fauna, lo cual indica que posee varias especies de algas (Pesantes, 2019). Sin embargo, existe poca información sobre los

metabolitos secundarios, propiedades biológicas, los posibles usos y aplicaciones tecnológicas de las algas provenientes de la zona costera ecuatoriana. La provincia de Manabí es conocida por la cantidad de playas y penínsulas que se extiende a lo largo de su territorio. A la vez que se considera como una de las zonas que contienen la mayor diversidad de especies acuáticas (Intriago, 2020; Sosa et al., 2013).

1.4.6 Propiedades biológicas de las algas

Desde el punto de vista nutricional, las algas constan de baja cantidad de calorías, una elevada fuente de proteínas, fibra, vitaminas y minerales, por lo cual se considera como una fuente alimenticia importante. La cantidad de proteínas encontradas puede variar desde un 5% a un 47% dependiendo de la especie (Haydelba et al., 2020). Entre estas encontramos a las ficobiliproteínas encontradas en algas rojas y pardas que pueden ser usadas contra enfermedades neurodegenerativas. Como fuente de carbohidratos, suelen usar una molécula llamada manitol, que en el organismo humano tiene función depurativa sin aumentar el nivel de glucosa en sangre. A más, este tipo de individuos presentan una fuente rica en vitaminas A, B, C, E (García, 2015).

Desde épocas ancestrales se han utilizado algas como fármacos para diferentes patologías. Actualmente marca una importancia motivada por el contenido de metabolitos secundarios (Gómez-Ordóñez, 2013). Se informa que su uso puede ayudar a limpiar la sangre, en la digestión, en mucosas, desintoxicantes hepáticos, contra la obesidad, poseen también propiedades espesantes, y reforzantes del sistema inmunológico (Riolobos, 2016).

Las diversas actividades de los bioactivos pueden ser explicadas por su disposición como mecanismos de defensa contra circunstancias del medio ambiente debido a su fuerte exposición a la luz, pH, temperatura e inclusive animales (Díaz Gutierrez et al., 2015).

1.4.7 Principios activos

Los principios activos son moléculas obtenidas producto del metabolismo de las plantas y algas. Suelen tener actividad farmacológica y susceptible al uso terapéutico e inclusive en el mundo cosmético (Perez & Verde, 2000; Siddharth & Rai V, 2019). En general estos principios activos no suelen distribuirse de manera uniforme por todo el individuo. Pueden destacar componentes con efecto analgésico, antiinflamatorio, depurativo, drenante, nutritivo, etc... (J. Márquez-Rocha et al., 2020).

Como cualquier organismo, las algas pueden sintetizar moléculas llamados metabolitos primarios esenciales para la vida, como: aminoácidos, proteínas, lípidos, carbohidratos, ácidos nucleicos y ácidos carboxílicos (Greque De Moraes et al., 2015). Sin embargo, han desarrollado la capacidad de sintetizar biomoléculas no esenciales para la vida como lo son los llamados metabolitos secundarios (MS) o productos naturales, siendo moléculas que suelen utilizar vías biosintéticas similares a los primarios, pero cuyas características son particular y terapéuticamente diferentes por lo cual son denominadas principios activos (Haydelba et al., 2020).

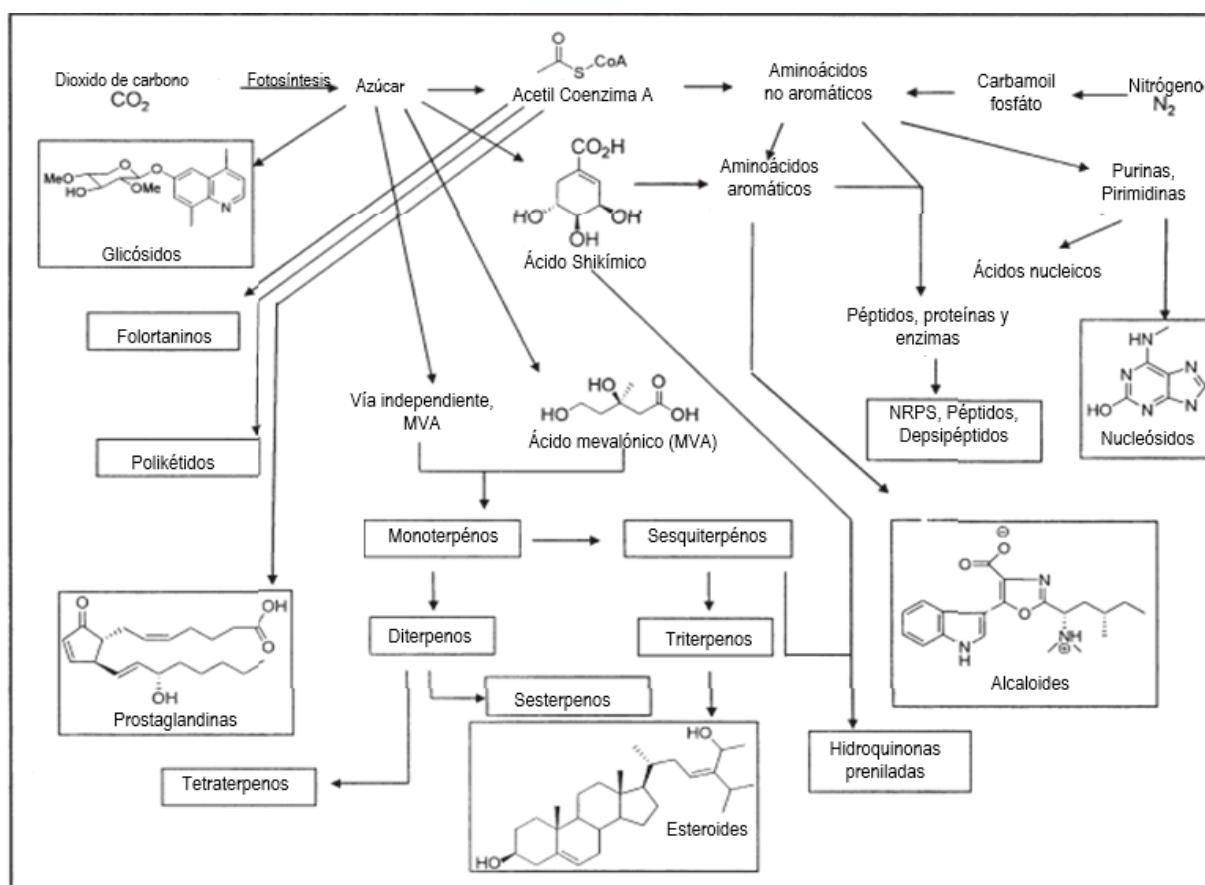
Las algas presentan una química única y diversa, en donde incluye la mayoría de las clases y características funcionales de MS hasta ahora conocidos y que no se encuentran en ninguna otra fuente orgánica (J. Márquez-Rocha et al., 2020).

1.4.8 Metabolitos secundarios sintetizados por algas

Son compuestos químicos sintetizados por las algas que no intervienen en el su metabolismo primario. Suelen estar relacionadas a estados específicos de desarrollo y a periodos de estrés (J. Márquez-Rocha et al., 2020).

Figura 7.

Vías biológicas de metabolitos secundarios



Fuente: (Sangucho, 2017).

Tienen un rol ecológico, la cual en su mayoría responden a diversas propiedades biomédicas como respuestas antivirales, antitumorales, anticonvulsivantes, antioxidantes, inclusive como importancia medicinal, cosmética, alimentaria, entre otros (Haydelba et al.,

2020; Singh et al., 2017a). Varían según la familia, género e inclusive especies a lo que se les atribuye el olor, color hasta sabores específicos de las plantas y algas (Maschek et al., 2008).

Se dividen en grupos principales: Terpenos, Compuestos fenólicos, Glicósidos, Carotenos, Xantófilos, Tocolos, polifenoles, acetogeninas, florotaninos, Poliketidos, alcaloides y NRPS (Perez & Verde, 2000).

Muchas de estas vías son comunes para diversos tipos de MS, por lo que se los puede conectar mediante las interacciones y relaciones que estas tienen, como se observa en la *Fig.4* (Tenorio, 2018).

1.4.8.1 Terpenos

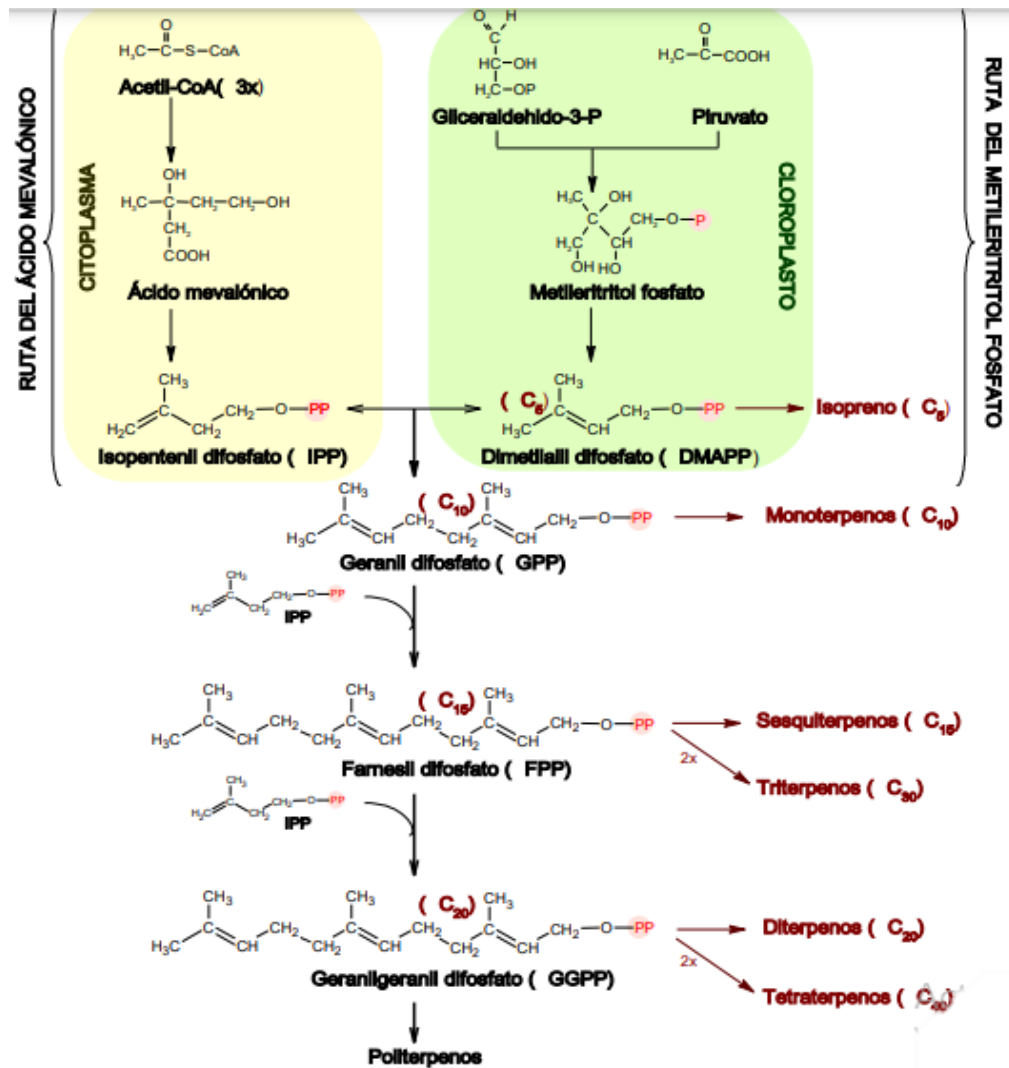
Constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios. Suelen ser insolubles en agua y se derivan de unidades de isopreno (Frikha et al., 2011). Se clasifican en hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y politerpenos (*obsérvese la Fig.5.*). Su ruta metabólica es a partir del ácido mevalónico o la del metileritrol fosfato. Durante su formación, las unidades de isopreno son ligadas en una distribución cabeza - cola para formar moléculas de distinto tamaño y forma (Frikha et al., 2011).

Usados muy comúnmente por sus aromas, por su utilidad agrícola y medicinal como: anticarcinagénicas, antiulcerosas, antimicrobianas, entre otros (Sangucho, 2017). Por tal razón su uso se ha amplificado en productos farmacológicos, cosméticos, aromáticos y especias.

En este grupo se encuentran los esteroides, carotenoides, quininas preniladas, hidroquinonas aceites esenciales, látex, esteroides, carotenoides, hormonas, etc.

Figura 8.

Vías biológicas de metabolitos terpenos



Fuente: (Sangucho, 2017).

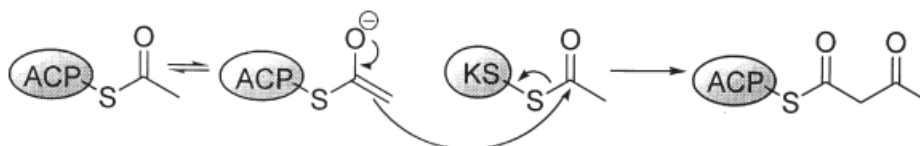
Los carotenoides son pigmentos accesorios de la fotosíntesis formados de cadenas hidrocarbonadas. Cuando este grupo presenta funciones oxo, hidroxilo o epoxi toman el nombre de xantofilas. Entre las formas existentes del caroteno encontramos el B-caroteno y la equinenona como las más importantes, a más de la astaxantina, zeaxantina, cantaxantina que desarrollan roles de coloración, pigmentos visuales y actividad antioxidante. Suelen ser precursores de la vitamina A lo que promueve su valor nutricional. (Singh et al., 2017a). Se

ha registrado la actividad antioxidante de la astaxantina al registrar su efectividad contra enfermedades como, diabetes, cáncer, nefropatías, síndromes neurodegenerativos (Gómez-Ordóñez, 2013).

1.4.8.2 Poliketidos

Figura 9.

Formación de los poliketidos



Fuente: (Sangucho, 2017).

Formados a partir de la polimerización de acetato son similares a las grasas a partir de su vía biosintética. Durante su formación la intervención del acetil coenzima A proporciona el ligamiento de los bloques estructurales (*obsérvese la Fig.6.*). Comprenden una cuarta parte de los compuestos de algas. En este grupo encontramos a las llamadas acetogeninas cuya función es el bloqueo de energía celular en células neoplásicas (Singh et al., 2017a).

1.4.8.3 Alcaloides

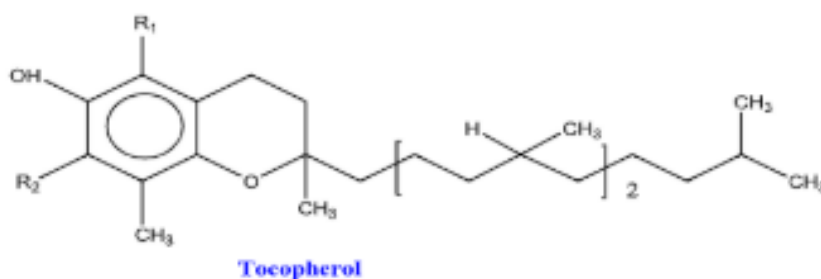
Moléculas derivadas de aminoácidos, a menudo de sabor amargo y estructura aromática. Son un grupo de compuestos con diferentes vías metabólicas relacionadas. Este tipo de compuestos es de los más importantes como bioactivos, pues siendo solubles en agua, poseen átomos de nitrógeno y actividad biológica. Su capacidad para interactuar con neurotransmisores del ser humano, han otorgado el medio para generar respuestas

fisiológicas y psicológicas. En altas dosis resultan ser tóxicas, sin embargo, a bajas dosis tienen una elevada utilidad terapéutica. Su síntesis se basa principalmente en la ruta de los aminoácidos como la lisina, tirosina y triptófano (Peña et al., 2007).

1.4.8.4 Compuestos fenólicos

Figura 10.

Formación de Tocopherol, compuesto fenólico



Fuente: (Hurtado & Pérez, 2014).

Son composiciones orgánicas derivadas del fenol (anillo aromático con grupo hidroxilo anclado (*obsérvese la Fig.7.*), fenilalanina, triptófano, tirosina y derivados. Son un grupo diverso de compuestos que involucra desde moléculas sencillas hasta complejos como ácidos fenólicos, flavonoles, chalconas, flavonoides, taninos, saponinas, hidroquinonas triterpenos y derivados antracénicos (Miño, 2007; Peña et al., 2007). Su ruta metabólica involucra la ruta del ácido malónico y ácido shiquímico, siendo el último el principal precursor de compuestos fenólicos (Sangucho, 2017). Muchos de estos compuestos se presentan en las algas en forma de polifenoles como el florotanino (Gómez-Ordóñez, 2013).

Los taninos son compuestos generalmente tóxicos encontrados en la piel de frutos inmaduros. Esta función es debido a que suelen unirse a proteínas causando su

desnaturalización. Se ha demostrado la actividad antiinflamatoria, bactericida y algicida del florotanino (Robalino, 2017).

Las antocianinas son moléculas responsables de la coloración. Su función se da gracias al número de grupos hidroxilo y metoxilo presentes, a más del pH de las vacuolas que las contienen. Su interés se da gracias a la capacidad de pigmentación como por propiedades antioxidantes, por lo tanto generan un papel anticancerígeno, antiinflamatorio, antitrombótico, antibacterial, antialérgico y preventivo (Hurtado & Pérez, 2014; Quiñones & Coy-Barrera, 2015). Las antocianinas monoméricas son un grupo de pigmentos de color rojo, ampliamente distribuido en el reino Plantae. Constituidas por una molécula de antocianidina que se la denomina aglicona, unida a un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico con una elevada actividad antioxidante (Limaymanta Solano & Ramos Ibañez, 2016).

1.4.8.5 Glicósidos

Son metabolitos de gran importancia, llamados así por el enlace glucosídico que las une. Encontramos de cuatro tipos: Saponinas, glicósidos cardiacos, glucosinolatos y glicósidos cianogénicos (Siddharth & Rai V, 2019).

Las saponinas son moléculas formadas a partir de triterpenos o esteroides con una o más moléculas de azúcar. Esta característica provee de propiedades surfactantes a la molécula. Los glicósidos cardiacos, similares a las saponinas, se diferencian por presentar una molécula de lactona. Ha sido utilizada para combatir la insuficiencia cardiaca congestiva. Los glicósidos cianogénicos son compuestos nitrogenados tienen un papel

protector de las algas frente a algunos herbívoros. Los glicósidos generados por las algas pardas contienen arsénico (Batista González et al., 2009).

Los ficoloides son un tipo de polisacárido sintetizado por algas marinas, importantes debido a sus múltiples funciones como antioxidantes, antivirales, antitumorales, anticoagulantes. El carragenano es conocido por su propiedad viscosa usada en múltiples productos industriales. Se extraen principalmente de algas rojas. El alginato encontrado principalmente en algas pardas tiene su uso en farmacéutica y cosmética (Gómez-Ordóñez, 2013).

1.4.8.6 Compuestos halogenados

Los compuestos halogenados aislados principalmente de algas rojas y pardas han sido calificados a partir de la halogenación de terpenos, fenoles, indoles, ácidos grasos, compuestos volátiles como bromoformo y/o cloroformo. Su visión a nivel médico es de gran importancia debido a actividades antivirales, antiinflamatorias, citotóxicas, insecticidas, entre otras (Pérez & Saura, 2007).

1.4.9 Principios activos sintetizados en función del tipo de macroalga

1.4.9.1 Rhodophyta

Este tipo de macroalgas presenta la mayor diversidad de MS respecto a otras especies, es decir, todas las clases principales de productos naturales de las algas a excepción de los florotaninos. De manera predominante elaboran acetogeninas e isoprenoides distinguidas sustancialmente por poseer derivados halogenados que contienen cloro y bromo (Maschek

et al., 2008). El poco interés de estos principios activos es a causa de la halogenación de las moléculas, lo que causa escasez de actividad biológica (Batista González et al., 2009).

Varios géneros de Rhodomelaceae expresan MS terpénicos que son típicamente ciclados, ej. Laurenol, pacifenol, entre ellos encontramos moléculas de naturaleza poliéter como el callicladol. Se observa también la producción de acetogeninas C generalmente halogenadas y halomon que es un anticancerígeno altamente estudiado. Otros géneros elaboran fenoles bromados, esteroides no halogenados, pequeñas cetonas halogenadas y furanonas halogenadas. Estas últimas tienen acción antibacteriana al funcionar como antagonista de su señal intracelular (García-Galaz et al., 2014).

Compuestos fenólicos como la catequina, galato de epigallocatequina, catecol, rutina, morina, ácido cafeico y hesperidina, identificados en algas rojas, exhiben actividad antioxidante (Singh et al., 2017a).

1.4.9.2 Phaeophyta

Los compuestos secundarios comunes de este tipo de algas son los diterpenos, florotaninos y acetogeninas C, todos estos poco halogenados. Los florotaninos son las moléculas representativas de las algas pardas presentándose en una elevada cantidad con destacada actividad antioxidante (Pesantes, 2019). Se clasifican en: fucos, floretos, fucofloretos, fuhalos, isofuhalos, almacenados dentro de células de vasos llamados fisodos. Formados principalmente como quinonas hidroquinonas preniladas. Se conoce que desempeñan funciones ecológicas en la cicatrización de heridas, alejamiento de herbívoros, infecciones fúngicas como bacterianas, protección UV (Singh et al., 2017a)

La mayor cantidad de productos naturales de este orden proviene de un solo género Dictyota, donde dominan los diterpenos como el dictyol E, amijiol, dictyoxetano. Se ha evidenciado a su vez la presencia de acetogeninas C en el género de Dictyopteris, entre ellos incluyen los hidrocarburos dictyopterene A y D con actividad de feromonas. Estas moléculas han demostrado actuar como una defensa química (Basurto & Alcívar, 2019; Pesantes, 2019).

1.4.9.3 Chlorophyta

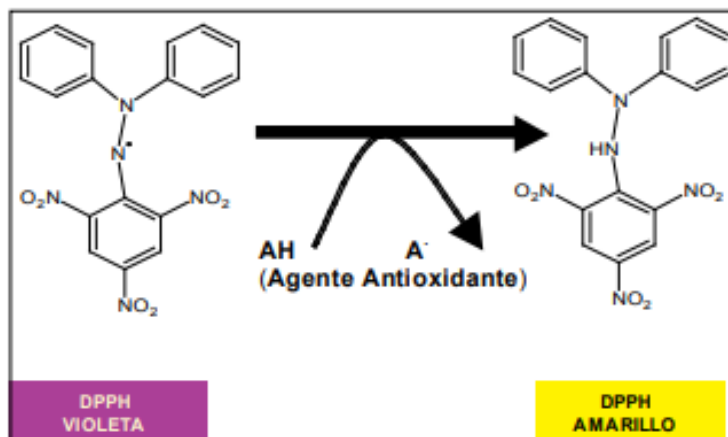
Este tipo de macroalga produce la menor cantidad de productos naturales. Se ha investigado que los compuestos generados por las algas verdes son similares a los de las algas rojas, haciendo énfasis en los sesquiterpenos (Quitral et al., 2012). La mayor cantidad de MS reportados de este phylum son terpenos, proviniendo del orden Bryopsidales. Los Kahalalides son compuestos inusuales encontrados en las algas verdes. Tenemos también quinonas preniladas halogenadas con bromo conocidas como cymopols.

1.4.10 Actividad antioxidante

Varios estudios de nutrición humana asocian la patogénesis de enfermedades al estrés oxidativo y la correlación del consumo de frutas y verduras con la baja incidencia de enfermedades (Batista González et al., 2009). Por tal razón, se genera el estudio de antioxidantes de manera intensa para prevenir el daño orgánico a causa de contaminantes ambientales, radiación o desechos tóxicos del cuerpo (especies reactivas del oxígeno "ROS"), considerando que aproximadamente del 1 – 3% del oxígeno consumido se convierte en superóxido (Gómez-Ordóñez, 2013).

Figura 11.

Método de DPPH para identificar la presencia de antioxidante

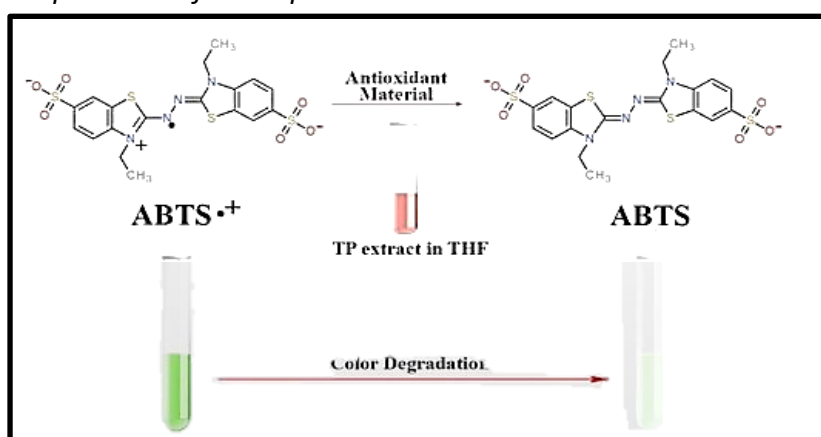


Fuente: (Sangucho, 2017).

Los llamados antioxidantes tienen la función de reducir o prevenir la oxidación de la célula como mecanismo de protección (Hernandez, 2004). Estas moléculas se encuentran en prácticamente todas las plantas y algas.

Figura 12.

Método de ABTS para identificar la presencia de antioxidante



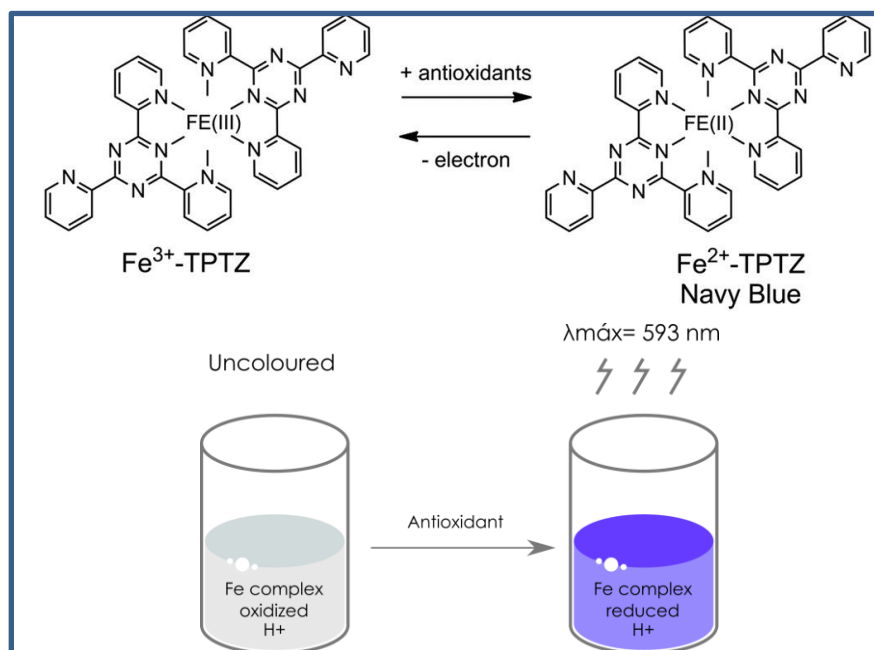
Fuente: (Gómez-Ordóñez, 2013).

Las propiedades antioxidantes en algas pueden ser explicadas por la presencia de carotenoides, micosporinas, terpenos, polisacáridos sulfatados, ácidos fenólicos, ácidos cinámicos, florotaninos, bromofelones, como principales de esta actividad pues protegen al tejido del estrés oxidativo (Gómez-Ordóñez, 2013).

Los aminoácidos similares a la micosporina (MAAS) y la escitomenina presentan propiedades fotoprotectoras evitando la producción de radicales libres gracias al potencial dispensador de exceso de energía. Se ha informado que los MAAS no solo proporcionan protección a los productores, también a los consumidores primarios y secundarios si los ingieren (Singh et al., 2017a).

Figura 13.

Método de FRAP para identificar la presencia de antioxidante.

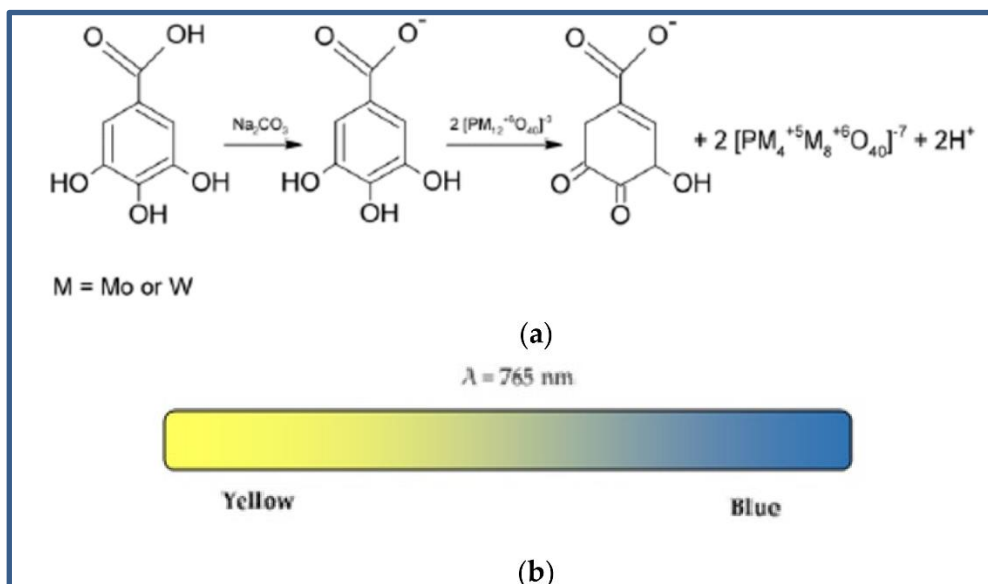


Fuente: (Gómez-Ordóñez, 2013).

Entre los diversos métodos que se utiliza para determinar la actividad antioxidante, usan como fundamento la captación de radicales libres (*obsérvese la Fig.8.*), ejemplo: DPPH (2,2 – difenil – 1 – piril hidrazilo”) (Quitral et al., 2012; Romero, 2017), ABTS (“azino-bis (3- etilbenzotiazolin) -6-sulfónico”) y FRAP (“poder antioxidante reductor férrico”) (Lopez, 2019), entre otros.

Figura 14.

Método de FC para identificar la presencia de antioxidante.



Fuente: (Lopez, 2019).

CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA

2.1. Responsable del proyecto

La responsable del proyecto es la Srta. Josselyne Michelle Briceño Sevilla, estudiante de la carrera de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

2.2. Localización geográfica

2.2.1. Trabajo de investigación

La investigación se realizó en los laboratorios de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE que se encuentran ubicados en la provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui, Av. General Rumiñahui S/N, sector La Colina, sede Sangolquí. Latitud: 0°18'53.61237" S (m), Longitud: 78°26'46.76473" W (m). Altura elipsoidal: 2523.067 (msnm).

2.3. Periodo de investigación

El proyecto contempló los meses, desde ABRIL del 2021 hasta JULIO del 2021, con una duración de cuatro meses.

2.4. Obtención y tratamiento de muestras

Las muestras de algas fueron recolectadas en la zona costera de Manabí, almacenadas en agua y temperatura de -4°C hasta su análisis, con el fin de mantener la muestra fresca, y transportadas al laboratorio de la Universidad de las Fuerzas Armadas.

Posteriormente las muestras se lavaron con agua y dejaron secar a temperatura ambiente durante 5 días. Una vez secas, las muestras se pulverizaron en un mortero de cerámica almacenando su contenido hasta su uso.

2.5. Extracción de principios activos

Se utilizó el método modificado de (González Giro et al., 2015).

Se colocó 1 gramo de muestra seca en 10 mililitros de metanol puro y se dejó reposar durante 72 horas en oscuridad. La determinación de capacidad antioxidante se llevó a cabo en la fracción: líquida (sobrenadantes de la extracción). Posteriormente se realizaron diluciones 1:5, 1:10 y 1:20 para efectuar las pruebas correspondientes.

2.5.1. Determinación de capacidad antioxidante por DPPH

Se utilizó la técnica mencionada por (Bohorquez, 2016).

Inicialmente se preparó 100 ml de una solución de DPPH (2,2- difenil-1-picril hidrazilo) en metanol absoluto a una concentración de 0.15mM. La solución madre obtenida se diluyó en metanol hasta obtener una absorbancia de 0.7 a 0.8 ± 0.05 medidos a 517nm de longitud. Se realizó la curva de calibración utilizando Trolox en un gradiente de concentración de 0 a 1.5mM disuelto en metanol. Se determinó la capacidad inhibitoria de la absorbancia del blanco después de hacer reaccionar 2.9 mL de solución DPPH con 0.1mL de muestra Trolox durante 30 minutos a temperatura ambiente y oscuridad. Para las mediciones de la muestra seca se utilizaron las diluciones preparadas previamente de 1:5, 1:10, 1:20, usando como blanco metanol absoluto siguiendo el mismo proceso previamente descrito.

Las absorbancias se midieron a una longitud de onda de 517nm y el % de inhibición se calculó utilizando la fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{Abs_b - Abs_{ms}}{Abs_b} * 100\%$$

Donde:

Abs_b = Absorbancia del blanco de la muestra

Abs_{ms} = Absorbancia de la muestra

2.5.2. Método ABTS

Se utilizará la técnica mencionada por (Bohorquez, 2016).

Inicialmente se prepararon las soluciones madre de ABTS y Persulfato de potasio en agua destilada a una concentración de 7 mM y 2.45 mM respectivamente en 100mL. Se dejó reaccionar de 12 a 24 horas para posteriormente diluir la solución en metanol absoluto hasta llegar a una absorbancia de 0.7 a 0.8 ± 0.05 medida a 734nm de longitud. Se realizó la curva de calibración utilizando Trolox en un gradiente de concentración de 0 a 1.5mM disuelto en metanol. Se determinó la capacidad inhibitoria de la absorbancia del blanco después de hacer reaccionar 2 mL de solución ABTS con 20uL de muestra Trolox durante 7 minutos a temperatura ambiente y oscuridad. Para las mediciones de la muestra seca se utilizaron las diluciones preparadas previamente de 1:5, 1:10, 1:20, usando como blanco metanol absoluto siguiendo el mismo proceso previamente descrito.

Las absorbancias se midieron a una longitud de onda de 734nm y el % de inhibición se calculó utilizando la fórmula:

$$\% \text{inhibición: } \frac{Abs_b - Abs_{ms}}{Abs_b} * 100\%$$

Donde:

Abs_b = Absorbancia del blanco de la muestra

Abs_{ms} = Absorbancia de la muestra

2.5.3. Cálculo de la capacidad antioxidante como equivalentes Trolox. (TEAC)

Se utilizó la ecuación de (Shikamura et al, 2014) el cual calcula la concentración inhibitoria de Trolox. Para determinar el valor, se utilizó la ecuación de la curva trolox reemplazando Y por 50% para obtener el IC_{50_trolox} . Posteriormente se hizo el mismo cálculo para obtener el IC_{50_ms} .

$$TEAC \left(\frac{mg \text{ Trolox}}{g \text{ muestra}} \right) = \frac{IC_{50} \text{ de Trolox} \left(\frac{mg}{L} \right)}{IC_{50} \text{ de muestra} \left(\frac{g}{L} \right)}$$

Dónde IC_{50} : Concentración inhibitoria del 50%.

2.5.4. Método FRAP

Se utilizó el método mencionado por (Rioja et al., 2017).

Se preparó reactivo FRAP colocando 100mL de tampón acetato 0.3M a pH 3.6 con 10mL de solución madre TPTZ 10mM y cloruro férrico disuelto en agua a 20mM.

La reacción se llevó a cabo colocando 3 mL de solución FRAP con 0.1mL de muestra y 0.3mL de agua destilada durante 4 minutos a temperatura ambiente y oscuridad (Pulido et al., 2000).

La curva de calibración se realizó utilizando una solución de sulfato ferroso disuelto en agua destilada en un gradiente de concentración de 0mM a 1000mM expresando los resultados en mg de Fe^{+2} por g de muestra. Las absorbancias fueron medidas a 593 nm de longitud de onda.

2.5.5. Fenoles totales

Se siguió el método llevado a cabo por (García et al., 2010).

Para la determinación de fenoles totales se realizó la reacción de 2mL de agua destilada a la cual se le adicionó 0.4 mL de muestra y 0.4 mL del Reactivo de Folin - Ciocalteu, dejando reaccionar por 5min. Pasado este tiempo se agrega 0.4 mL de Na_2CO_3 junto a 0.8 mL de agua destilada. Finalmente se mantuvo en reposo durante 1 hora a temperatura ambiente y oscuridad.

La curva de calibración se utilizó una solución estándar de ácido gálico disuelto en metanol absoluto a un gradiente de concentración de 0 a 500mg/L. Se utilizaron los extractos diluidos para el análisis de las muestras secas tomando metanol absoluto como blanco de análisis.

La absorbancia se midió a 765 nm de longitud de onda.

Para la determinación de fenoles se reemplazó la absorbancia de la muestra seca en la ecuación de la curva de calibración multiplicado por el factor de dilución para expresar como mg de ácido gálico por 100 gramos de muestra (%p/p).

2.5.6. Evaluación del tamizaje fitoquímico

El análisis fitoquímico fue una secuencia de aislamientos y purificaciones de los compuestos presentes en la muestra con determinados reactivos donde se observaron reacciones como cambio de color, fluorescencia, diversas reacciones, afirmando o descartando su presencia (Basurto & Alcívar, 2019; Gómez-Ordóñez, 2013; González Giro et al., 2015; Pesantes, 2019; Puebla, 2019).

Se utiliza la metodología citada por (Basurto & Alcívar, 2019).

La valoración se designa según la concentración del principio activo mediante colorimetría regido por la FDA, siendo (-) negativo, (+) poco, (++) regular, (+++) positivo.

2.5.6.1. Azúcares reductores

Se utilizó la metodología citada por (Basurto & Alcívar, 2019).

Del extracto metanólico se tomó una pequeña alícuota de 1 ml. Se calentó en baño maría y se le agregó la solución de Fehling A y B, hasta punto de ebullición.

La formación de un precipitado rojo indicaría la presencia de azúcares reductores.

2.5.6.2. Terpenos

Se utilizó la metodología citada por (Basurto & Alcívar, 2019).

Se realizó la mezcla de 2.5 ml de los extractos junto a 1 ml de cloroformo y posteriormente se agrega 1.5 ml de ácido sulfúrico concentrado de manera cuidadosa. Si existe presencia de terpenos se formaría en la interface una coloración marrón rojiza lo cual indica la reacción positiva.

2.5.6.3. Saponinas

Se utilizó la metodología citada por (Basurto & Alcívar, 2019).

Se añadieron 2.5 ml de agua destilada a 1.5 ml del extracto de la muestra en un tubo de ensayo.

Se agitó vigorosamente hasta formar espuma. La formación de espuma sería una señal positiva de saponinas.

2.5.6.4. Taninos

Se utilizó la metodología citada por (Basurto & Alcívar, 2019).

En un tubo de ensayo se colocó 1 ml del extracto en 5 ml de agua destilada en calentamiento. Se añadió gotas de cloruro férrico al 0.1% siendo la prueba positiva si aparece una coloración verde pardusca o una coloración azul negra.

2.5.6.5. Alcaloides

Se utilizó la metodología citada por (Basurto & Alcívar, 2019).

En 1 ml del extracto se agregó una o dos gotas del reactivo de Maeyer al costado del tubo. La presencia de un precipitado blanco o cremoso indicaría que la prueba es positiva.

2.5.6.6. Flavonoides

Se utilizó la metodología citada por (Basurto & Alcívar, 2019).

En un tubo de ensayo se mezclaron 1 mm del filtrado junto 2 gotas de cloruro férrico en metanol. La prueba positiva resultaría al formarse un color verde negruzco.

2.5.6.7. Antocianinas

Se utilizó la metodología citada por (Colima, 2016)

En un tubo de ensayo se mezclaron 1 mL del filtrado junto 1 mL de HCl 1N. La prueba positiva resultaría al formarse un color rojizo.

2.6. Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS ver. 25.0.

2.6.1. Análisis de extracto de principios activos de muestras

No se aplicó análisis estadístico descriptivo.

2.6.1.1. Capacidad antioxidante

Se realizó la identificación de la capacidad antioxidante por medio del método DPPH, ABTS y FRAP mediante un análisis de varianza de 8x3x3, donde son 8 muestras y 3 repeticiones por los 3 métodos aplicados.

Si existe diferencia de varianzas, se aplica la prueba Tukey, considerando estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar de tres experimentos independientes.

2.6.1.2. Tamizaje fitoquímico

Se realizó el análisis de 8 muestras por 3 repeticiones para verificar la presencia o ausencia de los diversos tipos de compuestos fitoquímicos.

No se realizó análisis cuantitativo.

CAPÍTULO 3: RESULTADOS

3.1 Recolección de muestras

Se recolectaron 6 especímenes de algas a las que se las denominó bajo el siguiente código (*Obsérvese la Tabla 2.*).

Tabla 2.

Códigos de muestra analizada

Tipo	Nombre	Código
Muestra 1	<i>Padina pavonica</i>	Pp
Muestra 2	<i>Hypnea spinella</i>	Hs
Muestra 3	<i>Gelidium pusillum</i>	Gp
Muestra 4	<i>Chaetomorpha ligustica</i>	Cl
Muestra 5	<i>Ulva latuca</i>	Ul
Muestra 6	<i>Saccharina latissima</i>	Sl

3.2 Determinación de capacidad antioxidante

3.2.1 Método de DPPH.

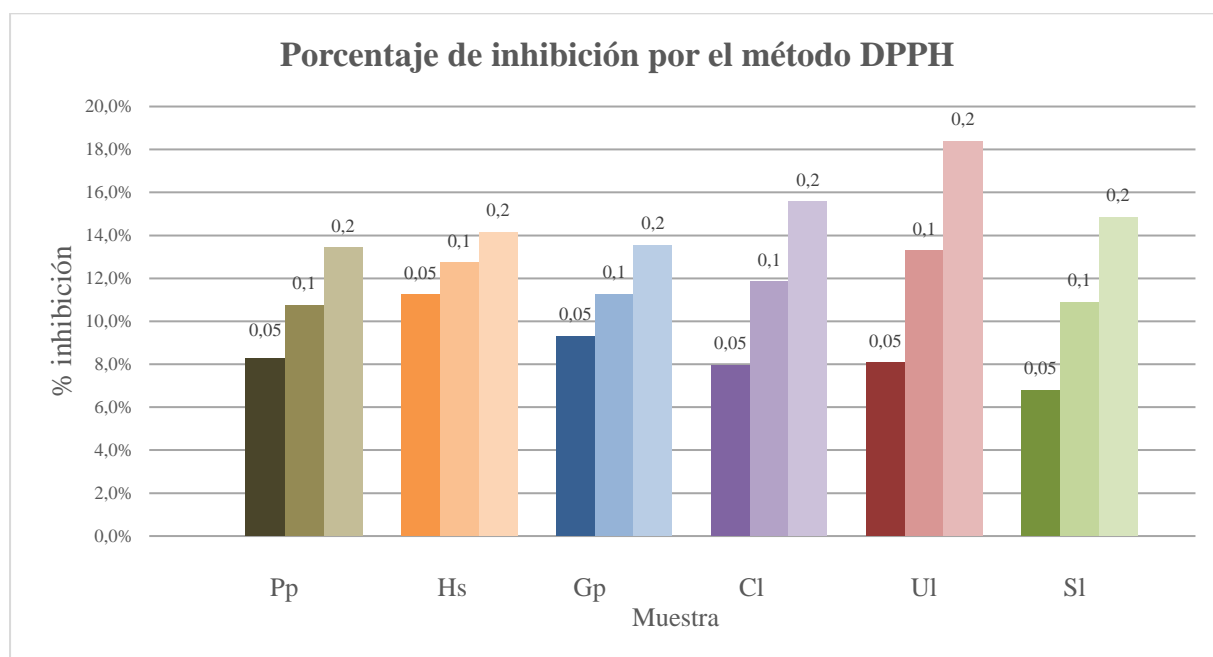
Se puede observar a en la Figura 15. los porcentajes de inhibición obtenidos de las diferentes muestras de algas analizadas bajo sus respectivas diluciones, siendo la de mejor capacidad inhibitoria la muestra **UI** con 18% de inhibición y la de menor capacidad la muestra **Pp** con 11%.

El porcentaje de inhibición se lo cuantificó a la escala respectiva utilizando la curva de calibración de Trolox encontrada en el ANEXO 2, expresando los resultados en mg de Trolox/ g de muestra seca como se muestra en la Tabla 3., indicando que mientras mayor sea el valor de TEAC posea la muestra, mayor actividad antioxidante es, siendo la muestra **UI**

que mejores resultados arroja con una media de 0.3115 y la muestra Hs la que más bajos resultados arroja con una media de 0.0984.

Figura 15.

Gráfica comparativa del % de inhibición DPPH vs tipo de muestra vs diluciones 1/5, 1/10, 1/15



Fuente: (Briceño, 2021).

Tabla 3.

Media descriptiva de la capacidad antioxidante por método DPPH.

	Media	Desviación estándar	Error estándar
Pp	0,1633	0,0370	0,0214
Hs	0,0984	0,0222	0,0128
Gp	0,1377	0,0119	0,0069
Cl	0,2326	0,0294	0,0170
Ul	0,3115	0,0355	0,0205
Si	0,2393	0,0090	0,0052
Total	0,1971	0,0767	0,0181

* Los valores expresados son el producto de las 3 repeticiones experimentales realizadas.

Previo al análisis estadístico de los resultados se analizó la distribución de los datos utilizando la prueba de normalidad de Shapiro – Wilk, resultado un $p_{valor} \geq 0.05$ positivo para normalidad como se observa en la Tabla 4., con lo que se procede a la realización de pruebas paramétricas.

Tabla 4.

Prueba estadística de normalidad.

Pruebas de normalidad Shapiro-Wilk				
		Estadístico	gl	p
Test_DPPH	Pp	0,880	3	0,324
	Hs	0,988	3	0,793
	Gp	0,984	3	0,755
	Cl	0,951	3	0,574
	Ul	0,881	3	0,327
	Si	0,875	3	0,310

a. Corrección de significación de Lilliefors
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

Mediante la prueba de ANOVA se puede observar que existe una diferencia significativa entre los valores de la capacidad inhibitoria de las muestras con un $p_{valor} < 0.05$. *Obsérvese la Tabla.5.*

Tabla 5.

Prueba ANOVA para el método DPPH.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Test_DPPH	0,293	5,000	0,059	7,873	0,000

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.
a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

Utilizando el método estadístico Tukey se verifica la diferencia y homogeneidad entre las muestras de algas. Se observa que las muestras Hs, Gp y Pp tienen un comportamiento

antioxidante similar, al igual que las muestras Cl y Si, en comparación a la muestra Ul cuyo comportamiento es significativamente diferente a las demás.

Tabla 6.

Pruebas Tukey para método DPPH.

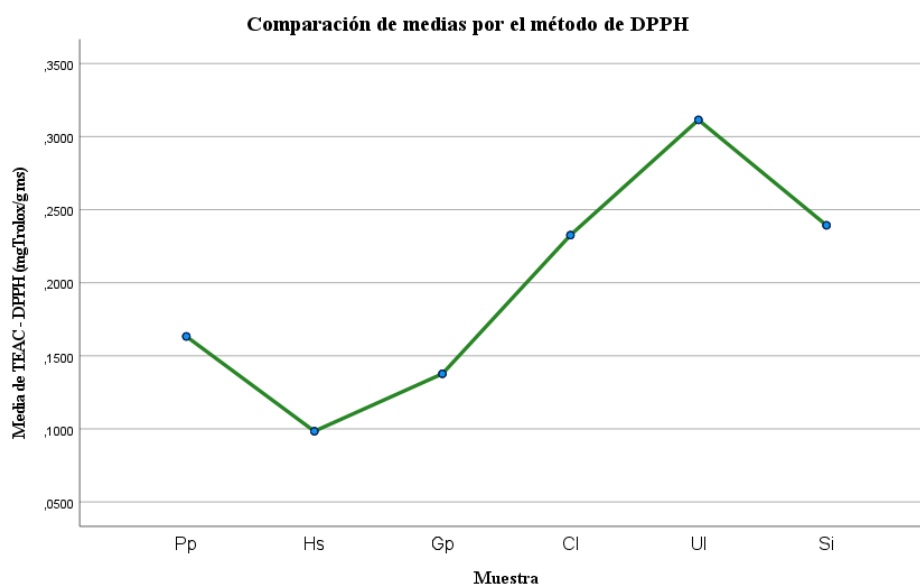
Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Tukey B ^a	Hs	3	0,0984		A
	Gp	3	0,1377		A
	Pp	3	0,1633		A
	Cl	3		0,2326	B
	Si	3		0,2393	B
	Ul	3		0,3115	C

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Letra común no son significativamente diferentes

Figura 16.

Comparación de medias por método DPPH.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.



Fuente: (Briceño, 2021)

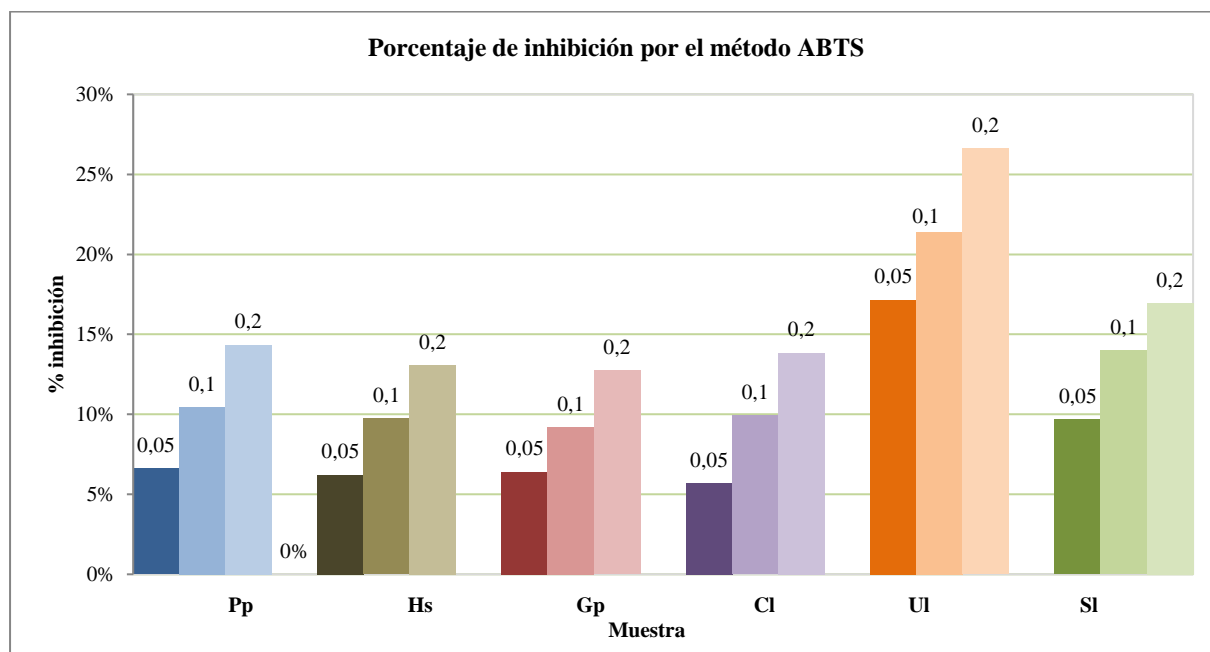
Se observa además en la Tabla 6. que el mejor resultado de actividad lo posee la muestra UI y el menor valor obtenido por la muestra Hs, comprobado en la Figura 16. de comparación de medias.

3.2.2 Método ABTS

Se puede observar a en la Figura 17. los porcentajes de inhibición obtenidos de las diferentes muestras de algas analizadas bajo sus respectivas diluciones, siendo la de mejor capacidad inhibitoria la muestra **UI** con 27% de inhibición y la de menor capacidad la muestra **Hs y Gp** con 13%.

Figura 17.

Gráfica comparativa del % de inhibición ABTS vs tipo de muestra vs diluciones 1/5, 1/10, 1/15



Fuente: (Briceño, 2021).

El porcentaje de inhibición se lo cuantificó a la escala respectiva utilizando la curva de calibración de Trolox encontrada en el ANEXO 3, expresando los resultados en mg de Trolox/ g de muestra seca como se muestra en la Tabla 7., indicando que mientras mayor sea el valor de TEAC que posea la muestra, mayor actividad antioxidante posee, siendo la muestra **UI** que mejores resultados arroja con una media de 0.8182 y las muestras **Hs** y **Gp** las que más bajos resultados obtienen con una media de 0.4400 y 0.4580 respectivamente.

Tabla 7.

Media descriptiva de la capacidad antioxidante por método ABTS

muestra	Media	Desv. Desviación	Error estándar de la media
Pp	0,4937	0,0277	0,0160
Hs	0,4400	0,0869	0,0501
Gp	0,4580	0,0142	0,0082
Cl	0,5245	0,0865	0,0500
UI	0,8182	0,1107	0,0639
Si	0,5052	0,1282	0,0740
Total	0,5399	0,1500	0,0354

* Los valores expresados son el producto de las 3 repeticiones experimentales realizadas.

Previo al análisis estadístico de los resultados se analizó la distribución de los datos utilizando la prueba de normalidad de Shapiro – Wilk, resultado un $p_{valor} \geq 0.05$ positivo para normalidad como se observa en la Tabla 8., con lo que se procede a la realización de pruebas paramétricas. Mediante la prueba de ANOVA de la Tabla 9. se puede observar que existe una diferencia significativa entre los valores de la capacidad inhibitoria de las muestras con un $p_{valor} < 0.05$.

Tabla 8.*Prueba estadística de normalidad*

Pruebas de normalidad Shapiro-Wilk				
		Estadístico	gl	p
Test_ABTS	Pp	0,931	3	0,493
	Hs	0,976	3	0,706
	Gp	0,918	3	0,444
	Cl	0,920	3	0,453
	Ul	1,000	3	0,994
	Si	0,933	3	0,501
	a. Corrección de significación de Lilliefors			
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.				

Utilizando el método estadístico Tukey se verifica la diferencia y homogeneidad entre las muestras de algas. Se observa que las muestras **Hs**, **Gp**, **Pp**, **Si** y **Cl** tienen un comportamiento antioxidante similar, en comparación a la muestra **Ul** cuyo comportamiento es significativamente diferente a las demás.

Tabla 9.*Prueba ANOVA para método ABTS.*

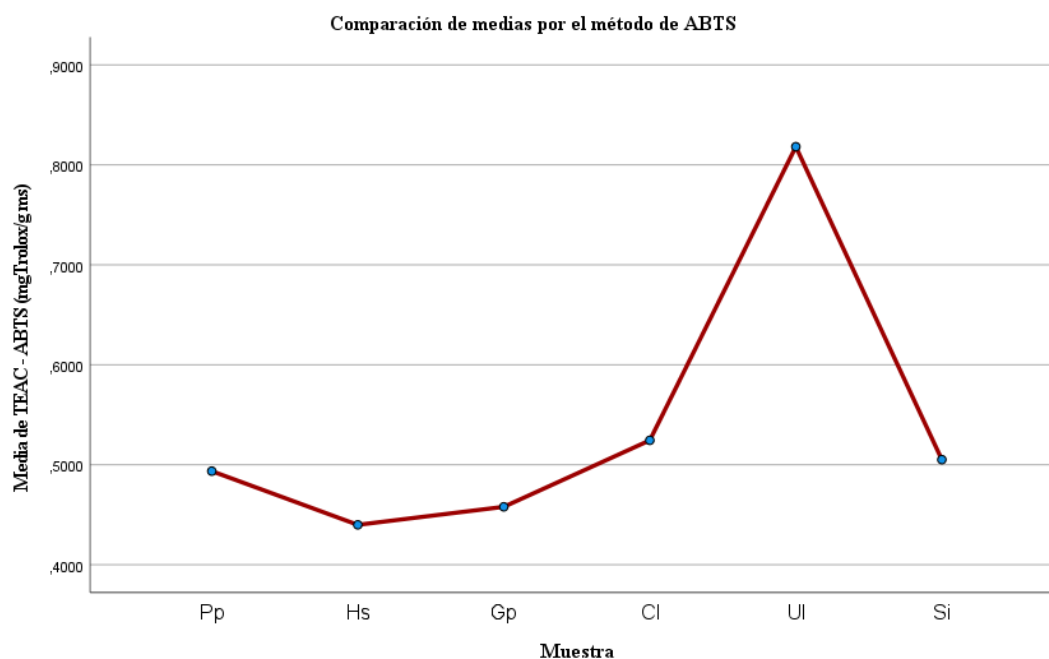
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Test_ABTS	0,092	5,000	0,018	26,131	0,002
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.					
a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.					

Se observa además en la Tabla 10. que el mejor resultado de actividad lo posee la muestra **Ul** con una media de 0.8182 y el menor valor obtenido por la muestra **Hs** 0.4400, verificado en la Figura 18. de comparación de medias.

Tabla 10.*Prueba Tuckey para método ABTS*

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Tukey B ^a				
Alga2	3	0,4400		A
Alga3	3	0,4580		A
Alga1	3	0,4937		A
Alga6	3	0,5052		A
Alga4	3	0,5245		A
Alga5	3		0,8182	B

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Letra común no son significativamente diferentes

Figura 18.*Comparación de medias por método ABTS.***Fuente:** (Briceño, 2021)

3.2.3. Método FRAP

Los valores de actividad obtenidos por el método FRAP se los cuantificó a la escala respectiva utilizando la curva de calibración de Sulfato de Potasio encontrada en el ANEXO 4, expresando los resultados en mg de Sulfato/ 100 g de muestra seca como se muestra en

la Tabla.11., indicando que mientras mayor sea el valor obtenido, mayor actividad antioxidante posee, siendo la muestra **UI** que mejores resultados alcanza con una media de 223.108 y la muestra Hs la que menor valor obtiene con una media de 88.757.

Tabla 11.

Media descriptiva de la capacidad antioxidante por método FRAP.

muestra	Media	Desv. Desviación	Error estándar de la media
Pp	135,423	36,270	20,940
Hs	88,757	50,991	29,440
Gp	105,681	49,240	28,429
Cl	150,390	40,093	23,148
UI	223,108	45,311	26,160
Si	157,665	44,973	25,965
Total	143,504196	58,0469450	13,6817961

* Los valores expresados son el producto de las 3 repeticiones experimentales realizadas.

Previo al análisis estadístico de los resultados se analizó la distribución de los datos utilizando la prueba de normalidad de Shapiro – Wilk, resultado un $p_{valor} \geq 0.05$ positivo para normalidad como se observa en la Tabla.12, con lo que se procede a la realización de pruebas paramétricas.

Tabla 12.

Pruebas de normalidad de parámetros estadísticos

Pruebas de normalidad Shapiro-Wilk				
Test_FRAP		Estadístico	gl	p
	Pp	0,854	3	0,250
	Hs	0,998	3	0,911
	Gp	0,965	3	0,639
	Cl	0,965	3	0,640
	UI	0,984	3	0,755
	Si	0,944	3	0,545

a. Corrección de significación de Lilliefors

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

Mediante la prueba de ANOVA se puede observar que existe una diferencia significativa entre los valores de la capacidad inhibitoria de las muestras con un $p_{valor} < 0.05$. Obsérvese la Tabla.13.

Tabla 13.

Pruebas ANOVA para método FRAP

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Test_FRAP	33233,897	5,000	6646,779	3,317	0,041
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.					
a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.					

Utilizando el método estadístico Tukey se verifica la diferencia y homogeneidad entre las muestras de algas. Se observa que las muestras **Hs, Gp, Pp, Si** y **Cl** tienen un comportamiento antioxidante similar, en comparación a la muestra **UI** cuyo comportamiento es significativamente diferente a las demás.

Tabla 14.

Pruebas Tukey para el método FRAP

Muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Tukey B ^a	Hs	3	88,7567	A
	Gp	3	105,6812	A
	Pp	3	135,4233	A
	Si	3	150,3902	A
	Cl	3	157,6653	A
	UI	3	223,1085	B

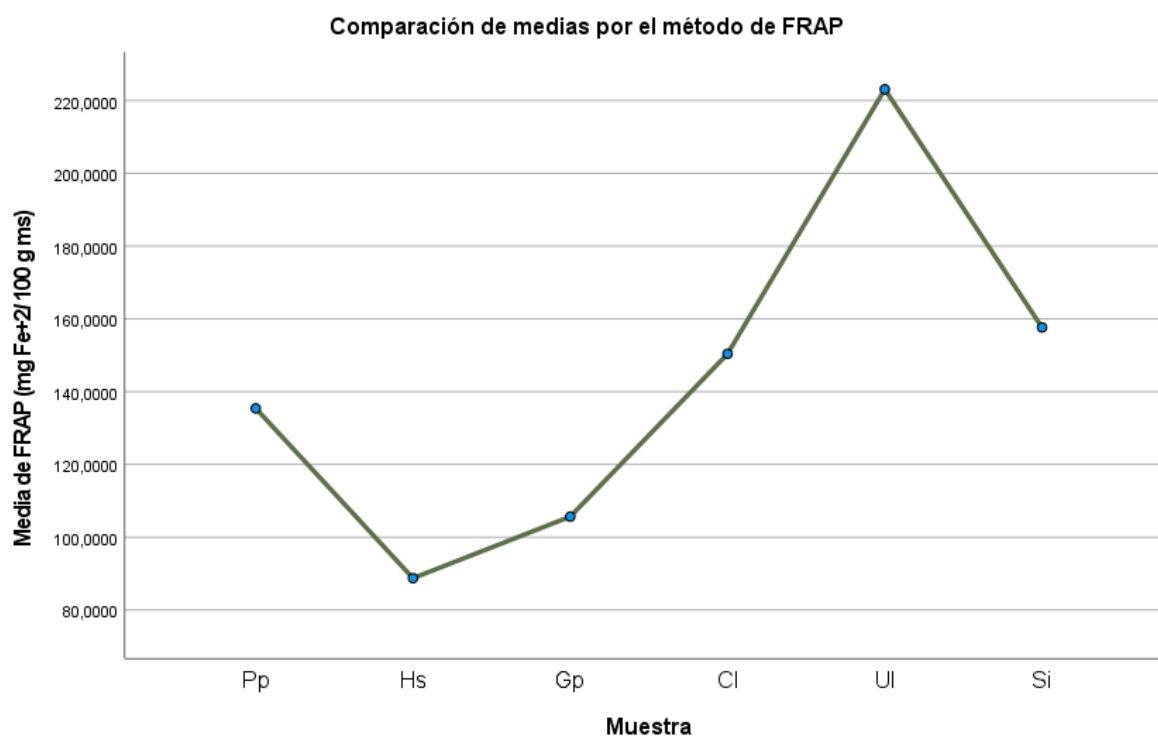
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Letra común no son significativamente diferentes

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Se observa además en la Tabla 14. que el mejor resultado de actividad lo posee la muestra **UI** con una media de 223.1085 y el menor valor obtenido por la muestra **Hs** 88.757, verificado en la Figura.19. de comparación de medias.

Figura 19.

Comparación de medias por método FRAP



Fuente: (Briceño, 2021)

3.2.4. Método de Folin – Ciocalteu para cuantificación de fenoles totales

Los valores de actividad obtenidos por el método de Folin Ciocalteu se los cuantificó a la escala respectiva utilizando la curva de calibración de ácido gálico encontrada en el ANEXO 5, expresando los resultados en mg de ácido gálico/ 100 g de muestra seca como se muestra en la Tabla 15. Se indica a su vez que mientras mayor sea el valor obtenido, mayor cantidad de compuestos fenólicos posee, siendo la muestra **UI** que mejores resultados alcanza con

una media de 56.816 y las muestras **Hs** y **Gp** las que menores valores obtienen con una media de 22.952 y 23.530 respectivamente.

Tabla 15.

Media descriptiva de la capacidad antioxidante por método FC.

muestra	Media	Desv. Desviación	Error estándar de la media
Pp	30,065	4,769	2,753
Hs	22,952	6,931	4,002
Gp	23,530	8,162	4,712
Cl	32,200	11,846	6,839
Ul	56,816	9,957	5,749
Si	38,805	2,761	1,594
Total	34,061	13,615	3,209

* Los valores expresados son el producto de las 3 repeticiones experimentales realizadas.

Previo al análisis estadístico de los resultados se analizó la distribución de los datos utilizando la prueba de normalidad de Shapiro – Wilk, resultado un $p_{valor} \geq 0.05$ positivo para normalidad como se observa en la Tabla 16., con lo que se procede a la realización de pruebas paramétricas.

Tabla 16.

Prueba de normalidad de parámetros estadísticos

Pruebas de normalidad Shapiro-Wilk				
		Estadístico	gl	p
Test_FOLIN	Pp	0,800	3	0,113
	Hs	0,821	3	0,166
	Gp	0,821	3	0,166
	Cl	0,998	3	0,923
	Ul	0,966	3	0,643
	Si	0,828	3	0,184

a. Corrección de significación de Lilliefors
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

Mediante la prueba de ANOVA se puede observar que existe una diferencia significativa entre los valores de la capacidad inhibitoria de las muestras con un $p_{valor} < 0.05$. *Obsérvese*

Tabla.17.

Tabla 17.

Pruebas ANOVA para FC

Pruebas ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Test_FOLIN	2382,146	5,000	476,429	7,434	0,002
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.					
a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.					

Utilizando el método estadístico Tukey se verifica la diferencia y homogeneidad entre las muestras de algas. Se observa que las muestras **Hs, Gp, Pp, Si** y **Cl** tienen un comportamiento antioxidante similar, en comparación a la muestra **UI** cuyo comportamiento es significativamente diferente a las demás.

Tabla 18.

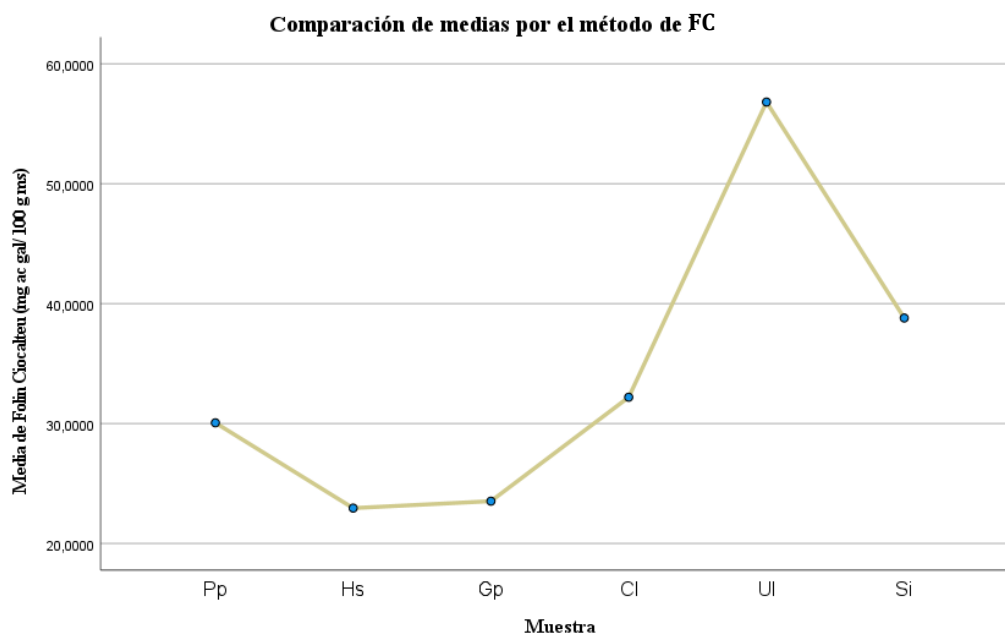
Pruebas Tukey para el método FC.

muestra	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Tukey B ^a	Hs	3	22,9523	A
	Gp	3	23,5303	A
	Pp	3	30,0649	A
	Si	3	32,1998	A
	Cl	3		38,8051 AB
	UI	3		56,8165 B
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Letra común no son significativamente diferentes				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.				

Se observa además en la Tabla 18. que el mejor resultado de actividad lo posee la muestra **UI** con una media de 223.1085 y el menor valor obtenido por la muestra **Hs** 88.7567, verificado en la Figura 20. de comparación de medias.

Figura 20.

Comparación de medias por método FC.



Fuente: (Briceño, 2021)

3.2.5. Correlación entre pruebas

Se evidenció la correlación de los métodos aplicados para determinar la correspondencia de los resultados, siendo el valor más cercano a 1 el que tendrá mejor derivación. En la Tabla 19. se muestra que la mayor correlación lineal la poseen las pruebas de ABTS con FOLIN y las DPPH con FRAP con valores de 0.782 y 0.759 respectivamente mostrando una relación positiva significativamente considerable. La menor correlación posee la comparación de ABTS con DPPH y ABTS con FRAP con valores de 0.670 y 0.671 respectivamente, mostrando una relación positiva moderada y concluyendo que todas las pruebas se correlacionan.

Tabla 19.*Pruebas de correlación de variables de Pearson*

		Test_DPPH	Test_ABTS	Test_FRAP	Test_FOLIN
Test_DPPH	Correlación de Pearson	1	,670**	,759**	,682**
Test_ABTS	Correlación de Pearson	,670**	1	,671**	,782**
Test_FRAP	Correlación de Pearson	,759**	,671**	1	,724**
Test_FOLIN	Correlación de Pearson	,682**	,782**	,724**	1

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* . La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

c. A menos que se indique lo contrario, los resultados de la simulación de muestreo se basan en 1000 muestras de simulación de muestreo

3.2.6. Evaluación del tamizaje fitoquímico

A partir de los extractos obtenidos se realizaron las pruebas correspondientes para determinar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios en forma de azúcares reductores, terpenos, flavonoides, saponinas, taninos, antocianinas y alcaloides. Los resultados se evidencian en la Tabla 20. Las diferentes pruebas colorimétricas se adjuntan en el Anexo 6.

Tabla 20.*Tamizaje fitoquímico de los extractos etanólicos de las diferentes muestras.*

Prueba Muestra	Azúcares reductores	Terpenos	Antocianinas	Flavonoides	Saponinas	Taninos	Alcaloides
Pp	-	++	++	+	-	+	+++
Hs	-	++	++	+	-	+	+++
Gp	-	-/+	++	-/+	-	-/+	+++
Cl	-	+	++	-/+	+	-/+	+++
Ul	-	++	++	+	++	+	+++
Si	-	+	++	-/+	++	+	+++

La valoración se designa según la concentración del principio activo mediante colorimetría regido por la FDA, siendo (-) negativo, (-/+) mínimo, (+) poco, (++) regular, (+++) positivo.

CAPÍTULO 4:

DISCUSIÓN

Las condiciones estacionales y ambientales del medio marítimo ha provocado que varios organismos como las algas desarrollen mecanismos de defensa físicos, químicos y biológicos que les permita sobrevivir a situaciones que puedan incitar la muerte prematura del individuo (Maschek et al., 2008). Entre estos mecanismos se encuentra la producción de componentes naturales conocidos como metabolitos secundarios. Algunos de ellos presentan como objetivo la capacidad inhibitoria de oxidación causada por los radicales libres producidos en situaciones de estrés.

Cuando la defensa antioxidativa es insuficiente puede conducir a la generación de diferentes patologías llegando a ser fatales, lo cual radica en la importancia de este tipo de compuestos en el metabolismo de los individuos (Hernández et al., 2015). En Ecuador el estudio de la actividad antioxidante de algas marítimas no ha sido explorado totalmente, por lo que es importante generar los estudios pertinentes que permitan entender los beneficios naturales que poseen estos especímenes. Para esto se ha utilizado las pruebas DPPH, FRAP, ABTS y FC.

La correlación entre las variables de prueba expone que mientras mayor sea la concentración del extracto, la actividad antioxidante aumenta para todas las muestras, dado que el fundamento se centra en la reducción de un compuesto oxidante provocando un cambio de coloración (Batista González et al., 2009). Como la evidencia lo señala, se da por a la presencia de compuestos fenólicos, lipofílicos e hidrofílicos responsables de la actividad

antioxidante característica de los productos naturales, que han podido ser identificados por ABTS - FC, DPPH – FRAP recíprocos significativamente como se observa en la Tabla.19.

Gracias a esta correlación positiva, se elige las muestras cuyos valores sean los más altos y más bajos obtenidos en la investigación (Lopez, 2019).

El screening fitoquímico se centra en la realización de pruebas de identificación de metabolitos secundarios. Es el primer paso para determinar los grupos químicos de los objetos de estudio, por lo que a partir de ellos se puede orientar a la extracción de compuestos.

Meenakshi et al., (2009); Silva Marinho et al., (2018); Singh et al., (2017) mencionan sobre la variedad de compuestos fenólicos encontrados en diferentes especies de algas, entre ellos flavonoides, terpenos, taninos, etc.

Dichas moléculas presentan actividad con potencial antimicrobiano, antiviral, anticancerígeno, anti-VIH, anti alergénico, antitumoral, antitrombótico, inmunoestimulante, antiinflamatorio y antioxidante causada por la capacidad inhibitoria de enzimas involucradas en la generación de radicales libres y su característica de atracción de compuestos oxidativos, lo que provee un fuerte interés en el área productiva y farmacéutica (Naja et al., 2012).

En la Tabla.20 se observa que todas las muestras ostentan presencia de terpenos, antocianinas, taninos, flavonoides, saponinas y alcaloides, *obsérvese el Anexo 6*, lo que corresponde con lo mencionado por Kumar et al., (2021) en donde indica que las macroalgas de los órdenes Ochophyta, Chlorophyta y Rhodophyta contienen fucocantina - xantofila, clorofila a - b y ficocianina - ficoeritrina respectivamente, incluyendo sus variantes,

siendo pues los terpenos responsables principalmente de la coloración y actividad captadora de luz.

Alvarez-Gomez, (2016) menciona que, de forma ideal los niveles de agua comparados con los niveles de materia orgánica deben ser mínimos para registrar una buena producción de componentes bioactivos.

El alga con mejor capacidad antioxidante fue la llamada *Ulva latuca (Uv)* para todas las pruebas realizadas con una media de 0.3115 de TEAC; 0.8182 de TEAC; 223.108 mg Fe/100 g muestra; 56.816 mg de ácido gálico/ 100 g muestra para las pruebas DPPH, ABTS, FRAP y FC respectivamente. Estos resultados corresponden con lo mencionado por Kumar et al., (2021), el cual menciona que la actividad de las llamadas lechugas de mar se puede atribuir a componentes como la clorofila a, b y derivados, betacarotenos, licopeno, ácido alpha linoléico y compuestos altamente sulfatados a los que se les atribuye una fuerte condición donadora de hidrógenos (Freile-Pelegrín et al., 2020).

Abd El-Baky et al., (2008) menciona que componentes como la astrazanteína, violaxantina, zeaxantina y criptoxantina son compuestos característicos de los pigmentos fotosintéticos del *UI*, encargados en gran parte de la protección del estrés oxidativo; esto exhibe una fuerte eficacia antioxidante en comparación de compuestos sintéticos como BHT (hidroxianisol butilado) y BHA (hidroxiltolueno butilado).

No obstante, se menciona a su vez que el potencial de compuestos activos está relacionado con su naturaleza lipofílica y fenólica, entre ellos los ácidos grasos insaturados, terpenos, glicolípidos, esteroides y fenoles, lo cual explicaría los mejores resultados obtenidos en la prueba de ABTS en comparación al DPPH, ya que esta prueba se caracteriza

por el reconocimiento de moléculas lipofílicas como hidrofílicas, al contrario del DPPH cuyo centro de análisis se da en el reconocimiento hidrofílico de sus componentes (Alvarez-Gomez, 2016).

De manera general, las algas verdes por su coloración y capacidad de captación lumínica poseen ácidos grasos saturados, polisacáridos sulfatados (agar, carragenina, fucoidan, laminarian, ulvan) y celulosa cristalina, que demuestra su elevada acción frente a otras objetos de estudio como se puede observar en los resultados para **UI** y **Ch** (Freile-Peigrín et al., 2020).

Es importante mencionar que la síntesis de metabolitos secundarios de las algas no solo depende de las condiciones metabólicas sino también de las condiciones ambientales. Como, por ejemplo: la ubicación geográfica, el estadio de crecimiento, la humedad ambiental, temperatura, presión; inclusive, su detección depende del solvente utilizado, estadio del individuo al momento de la extracción, volatilidad, estabilidad de los componentes, pH, salinidad del agua, factores genéticos, entre otros. Esto pudo afectar a los ensayos realizados, siendo un ambiente de recolección no controlado. Por lo tanto es entendible la variación de resultados del alga **Ch** frente a **UI** siendo ambas especímenes del orden Chlorophyta (Farasat et al., 2013).

Independientemente del método de extracción y de secado, el cambio de estacionalidad puede provocar la disminución de actividad entre 5 y 10 veces. Los componentes pueden sufrir fluctuaciones masivas generando un efecto significativo no solo entre especies, sino entre los mismos individuos a causa de diferencias morfológicas. La edad, el ambiente de crecimiento también pueden llegar a influir en las propiedades funcionales y bioactivas de las algas (Sappati et al., 2019; Freile-Peigrín et al., 2020).

Pandida Pavonica (Pp), *Hypnea spinella (Hs)* y *Gelidium pusillum (Gp)* son las muestras que más bajos resultados obtuvieron en las pruebas realizadas, con valores muy cercanos. Esto puede deberse a que, siendo poco apetecibles frente a depredadores, no necesitan de una gran producción fenólica (Čagalj et al., 2021).

El solvente utilizado, aparte de la extracción, es un factor delimitante pues es influenciado por la polaridad del compuesto de interés, lo cual explica la actividad moderada obtenida. Esto es evidenciable dada la variación presentada por Čagalj et al., (2021) para *Pp*, cuyo solvente acetato de etilo presenta una actividad del 2% al 63% en comparación con los resultados obtenidos en esta investigación, los cuales rodean el 14% de actividad inhibitoria por DPPH, registrada como una depuración templada pues pocas evidencias se presentan de que esta especie sea rica en flavonoides (Hlila et al., 2017). La cantidad de fenoles registrado para *Gp* fue de 23.43 mg/100g de muestra seca, levemente inferior a lo registrado según Alvarez-Gomez, (2016) que indica la posesión de una gran cantidad de flavonoides y elevada captación de radicales libres a causa de la presencia de componentes como la palitina, palitinol, shironina, porpira y asterina, estos resultados pudieron ser afectados por alguna de las variables previamente descritas Naja et al., (2012).

En el caso de *Hs*, Nauer et al., (2021) menciona que su actividad depende principalmente de las ficobiliproteínas, pigmentos responsables de la coloración rojiza de estos individuos; entre estos compuestos pueden encontrarse los polisacáridos sulfatados como los galactanos. La presencia de componentes inhibitorios de radicales libres varía entre un 15 a 42 % según Rafiquzzaman et al., (2016), lo que está de acuerdo con los resultados obtenidos en la experimentación en donde se presenta una actividad del 15% por DPPH para captación de radicales. Esto gracias diferentes compuestos orgánicos como el

carragenano, ácido oléico, ácido hexadecanoico, ácido octadecanoico, colestano di ona, heneicosano, nonacosano, hexacosano, grupos sulfatados, entre otros (Selvam, 2014).

Saccharina latissima (SI), es un alga parda laminar que posee entre muchos de los compuestos la fucoxantina como predominante. Esta es responsable del color marrón amarillento que enmascara la coloración de la clorofila. Incluyen adicionalmente compuestos fenólicos como ácido clorogénico, floroglucinol, ácido cafeico, kaempferol, ácido 2,5-dihidroxibenzoico, ácido cumárico, cirsimaritina, ácido ferulico, ácido gálico y ácido siríngico. Estos compuestos son sensibles a la temperatura y a la humedad, dando como resultado sustancias volátiles indeseables y una importante disminución de su actividad biológica, resultando en una capacidad antioxidante ligeramente menor a las otras muestras como se ha observado en los resultados de este ensayo (Al-Enazi et al., 2018).

Por tal, con esta investigación se comprueba que los metabolitos secundarios no son exclusivos de individuos terrestres, pues las algas como fuentes de compuestos bioactivos, proveen, entre muchas actividades, la capacidad antioxidante con posibles aplicaciones para la mejora de productos y procesos. Sin embargo, la potencialidad de estos compuestos puede resultar afectados por diferentes variables tanto estacionales, climáticas como metodológicas.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las algas de este ensayo fueron recolectadas en la zona costera de la provincia de Manabí – Ecuador. La recolección de las muestras se dio en la temporada estacional de invierno.

Esta investigación muestra, bajo sus resultados, que todas las algas analizadas poseen actividad antioxidante. Sin embargo, las actividades biológicas de las algas son dependientes de la especie, método de extracción, solvente utilizado, como también de factores estacionales, temperatura, humedad, pH, factor genético, ubicación geográfica. Con lo cual se puede atribuir que las variaciones de nuestros resultados comparados con otras investigaciones en literatura pudieron ser causados por estos factores.

La especie *Ulva latuca* fue el alga que mejor capacidad antioxidante demostró para todas las pruebas, lo que pudo deberse a las propiedades de la especie como es la facilidad de crecimiento y supervivencia en diferentes ambientes a causa de los componentes bioactivos variantes de la clorofila a, b, carotenoides, lípidos, polisacáridos sulfatados que le proveen una actividad biológica sobre las demás.

La técnica metodológica de extracción y el solvente utilizado tienen un efecto crítico en los extractos y su rendimiento, pues depende de la polaridad de los compuestos y la naturaleza del individuo. Los extractos de metanol obtenidos mostraron actividad biológica significativa, lo que significa que estas especies son posiblemente una fuente de compuestos bioactivos de interés comercial.

Se observó a su vez que todas las especies de algas analizadas poseen flavonoides, antocianinas, taninos, terpenos, alcaloides, saponinas bajo una detección cualitativa colorimétrica. El siguiente paso recomendado es la cuantificación de flavonoides los cuales han mostrado en varias ocasiones ser de las fuentes principales de la capacidad antioxidativa en estos individuos.

El ambiente marino está sufriendo constantes cambios con los cuales los individuos evolucionan desarrollando mecanismos de adaptación. Esto genera un enorme interés en las algas marinas para el estudio de biomoléculas que les proporcione su capacidad de supervivencia, pues incluso dentro de las mismas especies se genera una variación ocasionada por los microambientes.

Por todo lo mencionado previamente, se recomienda:

- Analizar la capacidad antioxidante de los extractos que se obtengan utilizando solventes no polares como éter de petróleo o acetato de etilo.
- Aplicar el método de quimioluminiscencia, HPLC, H-NMR para la identificación de la mayor variedad de metabolitos secundarios. Esto permitirá tener una idea más clara de los tipos de compuestos que generan la actividad biológica en estas especies.
- Hacer un análisis de compuestos polares en ausencia de clorofila pues se ha visto que este componente influye en la actividad antioxidante.
- Hacer una cuantificación de fenoles tratando de reducir lo más posible las interferencias con otros compuestos.
- La comparación de los extractos como fuente antimicrobiana permitirá el análisis de diversas aplicaciones defensivas de este tipo de algas.

BIBLIOGRAFÍA

- Abd El-Baky, H. H., El Baz, F. K., & El-Baroty, G. S. (2008). Evaluation of marine alga *Ulva Lactuca* L. as a source of natural preservative ingredient. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7(11), 3353–3367.
- Agarwal, P., Kayala, P., Chandrasekaran, N., Mukherjee, A., Shah, S., & Thomas, J. (2021). Antioxidant and antibacterial activity of *Gelidium pusillum* (Stackhouse) against *Aeromonas caviae* and its applications in aquaculture. *Aquaculture International*, 29, 845–858. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00661-1>
- Al-Enazi, N. M., Awaad, A. S., Zain, M. E., & Alqasoumi, S. I. (2018). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Laurencia catarinensis*, *Laurencia majuscula* and *Padina pavonica* extracts. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(1), 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.11.001>
- Alvarez-Gomez, F. (2016). Analysis of antioxidant capacity and bioactive compounds in marine macroalgal and lichenic extracts using different solvents and evaluation methods. *Ciencias Marinas*, 42(4), 271–288. <https://doi.org/10.7773/cm.v42i4.2677>
- Bakken, P. (2021). *Sea Lettuce | Ulva Lactuca | Seaweed Solutions*. <https://seaweedsolutions.com/sea-lettuce-ulva-lactuca>
- Basurto, B., & Alcívar, K. (2019). *Determinación de las características fisicoquímicas del alga parda Sargassum ecuadorenum en la zona intermareal, ubicada en Santa Elena* [Universidad de Guayaquil]. <http://www.ug.edu.ec/SitePages/historia.aspx>
- Batista González, A. E., Charles, M., Mancini-Filho, J., & Vidal Novoa, A. (2009). Las algas

marinas como fuentes de fitofármacos antioxidantes. *Rev. cuba. plantas med*, 14(2), 0–0.

Bohorquez, R. (2016). *Determinación de actividad antioxidante de los extractos de hojas de Diplostegium phylloides (Kunth) Wedd.* Universidad de Ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A.

Čagalj, M., Skroza, D., Tabanelli, G., Özogul, F., & Šimat, V. (2021). Maximizing the antioxidant capacity of *Padina pavonica* by Choosing the Right drying and extraction methods. *Processes*, 9(4), 1–15. <https://doi.org/10.3390/pr9040587>

Castañeda C., B., Ramos Ll., E., & Ibáñez V., L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Horizonte Médico*, 8(1), 56–72.

Corrales MSc, L. C., & Muñoz Ariza, M. M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*, 10(18), 213. <https://doi.org/10.22490/24629448.1010>

Crespo, M. B. (2021). *Padina pavonica*. *Herbario Virtual de la Universidad de Alicante*. *Padina pavonica* (L.) Thivy. https://herbariovirtual.ua.es/hoja_padina_pavonica.htm

Díaz Gutierrez, D., Méndez Ortega, W., Mara de Oliveira, A., Zaldívar, C., Mancini-Filho, J., & Vidal Novoa, A. (2015). Comparación de las propiedades antioxidantes y contenido de polifenoles de extractos acuosos de las algas marinas *Bryothamnion triquetrum* y *Halimeda opuntia*. En *Nature: Vol. 56(2)* (pp. 89–99). Grupo de Farmacología y Toxicología.

Farasat, M., Khavari-Nejad, R.-A., Mohammad, S., Nabavi, B., & Namjooyan, F. (2013).

Brazilian archives of biology and technology Antioxidant Properties of Some Filamentous Green Algae (Chaetomorpha Genus). *Arch. Biol. Technol.* v, 56(6), 921–927.

Freile-Pelegrín, Y., Chávez-Quintal, C., Caamal-Fuentes, E., Vázquez-Delfín, E., Madera-Santana, T., & Robledo, D. (2020). Valorization of the filamentous seaweed *Chaetomorpha gracilis* (Cladophoraceae, Chlorophyta) from an IMTA system. *Journal of Applied Phycology*, 32(4), 2295–2306. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02066-8>

Frikha, F., Kammoun, M., Hammami, N., Mchirgui, R. A., Belbahri, L., Gargouri, Y., Miled, N., & Ben-Rebah, F. (2011). Composición química y algunas actividades biológicas de algas marinas recolectadas en túnez. *Ciencias Marinas*, 37(2), 113–124. <https://doi.org/10.7773/cm.v37i2.1712>

García-Galaz, A., Gutiérrez-Millán, L. E., Acedo-Félix, E., Burgos-Hernández, A., LópezTorres, M., Valdés-Covarrubias, M., & Burboa-Zazueta, M. G. (2014). Las Algas Y Otros Organismos Marinos Como Fuente De Moléculas Bioactivas. *BIOtecnia*, 15(1), 25. <https://doi.org/10.18633/bt.v15i1.132>

García, E., Fuentes, A., & Fernández, I. (2010). *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu Apellidos, nombre.*

García, L. (2015). *Caracterización Bromatológica de Macroalgas "Rodofitas, Clorofitas y Feofitas Marinas en la Zona Intermareal Rocosa del puerto de Manta (Vol. 9)* [Universidad Laica "Ioy Alfaro" de Manabí]. <http://weekly.cnbnews.com/news/article.html?no=124000>

Gómez-Ordóñez, E. (2013). Evaluación nutricional y propiedades biológicas de algas marinas comestibles. Estudios in vitro e in vivo. *Tesis Doctoral*, 238.

<http://eprints.ucm.es/20162/>

González Giro, Z., Fuentes Reyes, M., Batista Corbal, P., Campos Castro, A., & Vera Pérez, Y. (2015). Análisis fitoquímico preliminar de dos extractos del alga padina gymnospora.

BIOtecnia, 17(2), 26. <https://doi.org/10.18633/bt.v17i2.176>

Greque De Morais, M., Vaz, B. D. S., De Morais, E. G., & Costa, J. A. V. (2015). Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae. *BioMed Research International*, 2015.

<https://doi.org/10.1155/2015/835761>

Guiry in Guiry, M. D., & Guiry. G.M. (2021). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway.

https://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus_id=38118&session=abv4:AC1F06400792d03295XJA4D24C6A

Guiry, M. D. & G. (2021). *Ulva lactuca Linnaeus - Algaebase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway.

https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=yfa62220e754b97d3

Haydelba, D., Marylin, N., Isabel, S. M., Leonor, B., & Jorge, B. (2020). Composición química y biotoxicidad del alga roja *Kappaphycus alvarezii* Doty (Solieriaceae). *AquaTechnica*, 2(1), 31–40.

Hernandez, L. B. L. (2004). Estres Oxidativo Y Antioxidantes. En *Medicina*.

Hernández, T., García-Bores, A. M., Serrano, R., Ávila, G., Dávila, P., Cervantes, H., Peñalosa,

- I., Flores-Ortiz, C. M., & Lira, R. (2015). Fitoquímica Y Actividades Biológicas De Plantas De Importancia En La Medicina Tradicional Del Valle De Tehuacán-Cuicatlán. *Tip*, 18(2), 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2015.09.003>
- Hlila, M. B., Hichri, A. O., Mahjoub, M. A., Mighri, Z., & Mastouri, M. (2017). Antioxidant and antimicrobial activities of *Padina pavonica* and *Enteromorpha* sp. from the Tunisian Mediterranean coast. *Journal of Coastal Life Medicine*, 5(8), 336–342. <https://doi.org/10.12980/jclm.5.2017j7-107>
- Hurtado, N. H., & Pérez, M. (2014). Identificación, estabilidad y actividad antioxidante de las antocianinas aisladas de la cáscara del fruto de Capulí (*Prunus serotina* spp capuli (Cav) Mc. Vaug Cav). *Informacion Tecnologica*, 25(4), 131–140. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000400015>
- Hyder Haq, S., Al-Ruwaished, G., Abdullah Al-Mutlaq, M., Ali naji, S., Al-Mogren, M., Al-Rashed, S., tul Ain, Q., Abdullah Al-Amro, A., & Al-Mussallam, A. (2019). Antioxidant, Anticancer Activity and phytochemical Analysis of Green Algae, *Chaetomorpha* collected from the Arabian Gulf. *Nature - Scientific reports*, 9, 18906. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55309-1>
- Intriago, J. R. (2020). Acerca de Manabí . *Revista de Manabí*. <https://revistademanabi.com/acerca-de-manabi/>
- J. Márquez-Rocha, F., Palma-Ramírez, D., García-Alamilla, P., F. López-Hernández, J., S. Santiago-Morales, I., & I. Flores-Vela, A. (2020). Microalgae Cultivation for Secondary Metabolite Production. *Microalgae - From Physiology to Application*, 1–17. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88531>

- Kumar, Y., Tarafdar, A., & Badgujar, P. C. (2021). *Seaweed as a Source of Natural Antioxidants : Therapeutic Activity and Food Applications*. 2021.
- Leflaive, J., & Ten-Hage, L. (2007). Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters: A comparison of allelopathic compounds and toxins. *Freshwater Biology*, 52(2), 199–214. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2006.01689.x>
- Limaymanta Solano, M. L., & Ramos Ibañez, I. A. (2016). *Extracción y cuantificación de antocianinas monoméricas totales del cultivo Macha Macha sp.* 152. [http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/4743/Limaymanta Solano-Ramos Ibañez.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/4743/Limaymanta%20Solano-Ramos%20Iba%C3%B1ez.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Lopez, N. (2019). *Elaboración de una bebida fermentada de mora (Rubus glaucus Benth) enriquecida con plantas medicinales de alto contenido fenólico y capacidad antioxidante*. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- M.D. Guiry in Guiry, M.D. & Guiry, G. M. (2021). *Saccharina latissima (Linnaeus) Algaebase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=129132&sk=10
- M.D. Guiry in Guiry, M. D. & G. (2021). *Chaetomorpha ligustica (Kützting) Algaebase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=p6b0ac15556df5fc0
- Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K., & Kim, S. K. (2014). Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. *Microbiological Research*, 169(4), 262–278. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.014>

- Maschek, J. A., Baker, B. J., & Amsler, C. D. (2008). The Chemistry of Algal Secondary Metabolism Algal Chemical Ecology. En Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2008 (Ed.), *Algal Chemical Ecology*. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-74181-7_1
- Meenakshi, S., Gnanambigai, D. M., Mozhi, S. T., Arumugam, M., & Balasubramanian, T. (2009). Total flavanoid and in vitro antioxidant activity of two seaweeds of Rameshwaram Coast. *Global J Pharmacol*, 3(2), 59–62.
- Miño, G. (2007). *Investigación fitoquímica e identificación de principios activos en seis especies del género Baccharis*. 174. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/1226>
- Naja, K., Mawlawi, H., & Chbani, A. (2012). Antioxidant and antifungal activities of *Padina pavonica* and *Sargassum vulgare* from the Lebanese Mediterranean coast. *Advances in Environmental Biology*, 6(1), 42–48.
- Nauer, F., Borburema, H. D. S., Nair, , Yokoya, S., Mutue, , & Fujii, T. (2021). Effects of ocean acidification on growth, pigment contents and antioxidant potential of the subtropical Atlantic red alga *Hypnea pseudomusciformis* Nauer, Cassano & M.C. Oliveira (Gigartinales) in laboratory. *Brazilian Journal of Botany*, 44, 69–77. <https://doi.org/10.1007/s40415-020-00693-6>
- Peña, E., Lenis, L., Benitez, R., & Chito, D. (2007). Extracción, separación y elucidación estructural de dos metabolitos secundarios del alga marina *Bostrychia calliptera*. *Scientia Et Technica*, XIII(33), 97–102. <https://doi.org/10.22517/23447214.5873>
- Perez, B., & Verde, J. (2000). *Estudio fitoquímico de algas marinas con actividad biológica en larvas de Aedes aegypti (Linnaeus)*.

Pérez, J., & Saura, F. (2007). *Methodology for the Evaluation of Antioxidant Capacity in Fruits and Vegetables*. 2007.

Pesantes, O. (2019). *Estudio Farmacognóstico Fitoquímico, Preliminar de las Algas Pardas Sargassum ecuadoreanum en Santa Elena: Elaboración de Detergente líquido de uso tópico*. Universidad de Guayaquil.

Puebla, D. (2019). *Análisis de los principios activos en la especie Hydrangea macrophylla (Thunb.) Ser. de explantes in vivo e in vitro*. c, 49.

Quiñones, R., & Coy-Barrera, E. (2015). Composición de antocianinas monoméricas de cinco fenotipos de maíz coloreado (zea mays) de la región central colombiana. *Revista de la Facultad de Ciencias*, 4(1), 38–51. <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v4n1.49822>

Quitral, V., Morales, C., Sepúlveda, M., & Schwartz, M. (2012). Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencial como ingrediente funcional. En *Annals of Coloproctology* (Vol. 39, Número 5, pp. 241–247). Departamento de nutrición. Universidad de Chile.

Rafiqzaman, S. M., Ahmed, R., Lee, J. M., Noh, G., Jo, G. a., & Kong, I. S. (2016). Improved methods for isolation of carrageenan from *Hypnea musciformis* and its antioxidant activity. *Journal of Applied Phycology*, 28(2), 1265–1274. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0605-6>

Rioja, A., Vizalque, B., Rossel, E., Tejeda, L., Book, O., Mollinedo, P., & Peñarrieta, M. (2017). Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de *Chenopodium quinoa*. . *Journal*

- of Food Processing and Preservation*, 41(1). <https://doi.org/10.1111/jfpp.12944>
- Riolobos, S. (2016, junio 27). *Tipos de algas, propiedades y cómo aprovechar sus beneficios*. CONASI. <https://www.conasi.eu/blog/consejos-de-salud/que-son-las-algas/>
- Robalino, M. (2017). *Extracción y caracterización de alginatos derivados de algas pardas, para la producción de ácido láctico*. Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE.
- Romero, D. (2017). *Establecimiento de un protocolo de calogénesis in vitro a partir de explantes de Hoja de Dulcamara (Kalanchoe gastonis bonnieri Raym.-Hamet & H. Perrier) para posterior determinación de contenido de fenoles y carácter antioxidante*. Univesidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Rubal, J. J. (2020). *Padina pavonica (Linnaeus) Thivy - 8260 - Biodiversidad Virtual / Peces*. Padina pavonica (Linnaeus) Thivy. [https://www.biodiversidadvirtual.org/peces/Padina-pavonica-\(Linnaeus\)-Thivy-img8260.html](https://www.biodiversidadvirtual.org/peces/Padina-pavonica-(Linnaeus)-Thivy-img8260.html)
- Salinas, E., & Simarra, J. (2019). *Evaluación Del Grado De Contaminación Bacteriana (Aerobios, Coliformes Totales Y Fecales) En La Zona Supralitoral De 3 Tipos De Algas, Parroquia Ballenita*.
- Sangucho, A. (2017). *Identificación y acarcterización de los metabolitos secundarios específicos de Ocotea quixos, con acción antifúngica*. En *Tesis*. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Sappati, P. K., Nayak, B., VanWalsum, G. P., & Mulrey, O. T. (2019). Combined effects of seasonal variation and drying methods on the physicochemical properties and antioxidant activity of sugar kelp (*Saccharina latissima*). *Journal of Applied Phycology*,

31(2), 1311–1332. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1596-x>

Selvam, G. G. (2014). *Bala and VGS. March.*

<https://doi.org/10.5829/idosi.ajejr.2013.8.3.12071>

Siddharth, S., & Rai V, R. (2019). Isolation and characterization of bioactive compounds with antibacterial, antioxidant and enzyme inhibitory activities from marine-derived rare actinobacteria, *Nocardiopsis* sp. SCA21. *Microbial Pathogenesis*, 137, 103775.

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103775>

Silva Marinho, G., Moltke Sørensen, A.-D., Safafar, H., Pedersen, A. H., & Holdt, S. L. (2018).

Antioxidant content and activity of the seaweed *Saccharina latissima*: a seasonal perspective. *Journal of Applied Phycology*, 2019, 31:1343–1354.

<https://doi.org/10.1007/s10811-018-1650-8>

Singh, R., Parihar, P., Singh, M., Bajguz, A., Kumar, J., Singh, S., Singh, V. P., & Prasad, S. M.

(2017a). Uncovering potential applications of cyanobacteria and algal metabolites in biology, agriculture and medicine: Current status and future prospects. *Frontiers in Microbiology*, 8(APR), 1–37. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00515>

Singh, R., Parihar, P., Singh, M., Bajguz, A., Kumar, J., Singh, S., Singh, V. P., & Prasad, S. M.

(2017b). Uncovering potential applications of cyanobacteria and algal metabolites in biology, agriculture and medicine: Current status and future prospects. En *Frontiers in Microbiology* (Vol. 8, Número APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00515>

Sjøtun, K. (2011). *Chaetomorpha ligustica* - . Red noruega de algas marinas .

<https://seaweeds.uib.no/?art=487>

Sosa, F. C., Armando, J., Castellanos, H., María, J., Barba Chávez, A., Dreckmann, K. M., & Luisa Núñez, M. (2013). *Biología de Algas*.

Tenorio, P. aol. (2018). *Compuestos polifenólicos de macroalgas marinas : actividad antioxidante , antiinflamatoria y antibacteriana*. 47–49.

https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/949/1/tenorio_p.pdf

Waghmode, A. V., & Deshmukh, B. S. (2018). A new record of hypnea spinella (C.agardh), kutzing from sindhudurg district of Maharashtra, India. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 47(11), 2321–2323.

