

Artículo Original

Evaluación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Eisenia cokeri* m.a. howeEvaluation of polyphenol content and antioxidant activity of the hydroalcoholic extract of *Eisenia cokeri* m.a. howe

José E. Rodríguez, Américo Castro

Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima, Perú.

Resumen

Se tuvo como finalidad evaluar el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante de los extractos rizoide, estípide y fronda del alga *Eisenia cokeri* M.A. Howe, mediante métodos de referencia espectrofotométricos. El resultado de polifenoles de las algas se determinó por el método de Folin-Ciocalteu a partir del estándar de referencia Ácido gálico y la actividad antioxidante es referida a los radicales libres fue determinado por los métodos de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) y el ácido 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) ABTS^{•+}. La conclusión fue que el contenido de polifenoles totales es de 3,11346 mg para el estípide; 0,4625 mg para la fronda y 2,31665 mg para el rizoide de ácido gálico/1 gramo de muestra. Para la actividad antioxidante los extractos mostraron actividad antioxidante en los métodos de DPPH para el rizoide (IC₅₀= 659,74 µg/mL): para la fronda (IC₅₀= 280,00 µg/mL) y para el estípide (IC₅₀= 248,50 µg/mL) y por el método de ABTS^{•+} los extractos mostraron para el rizoide (IC₅₀= 20,3 µg/mL): para la fronda (IC₅₀= 39,2 µg/mL) y para el estípide (IC₅₀= 24,7 µg/mL). Estos resultados se correlacionan con los de la actividad antioxidante mostrada por las muestras estudiadas.

Palabras clave: *Eisenia cokeri* M.A. Howe "alga parda"; polifenoles; actividad antioxidante.

Abstract

Was aimed to evaluate the content of total polyphenols and the antioxidant activity of the rhizoid, thallid and phyloid extracts of the *Eisenia cokeri* M.A. Howe. Using spectrophotometric reference methods. The content of total polyphenols was determined by the Folin-Ciocalteu method from the reference material Gallic acid and the antioxidant activity is referred to 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radicals and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) ABTS^{•+}. The results obtained showed that the content of total polyphenols is 3.111346 mg for the estípide; 0.4625 mg for the fronda and 2.31665 mg for the gallic acid rhizoid / 1 gram sample. For the antioxidant activity the extracts showed antioxidant activity in the DPPH methods for the rhizoid (IC₅₀ = 659.74 µg / mL): for the fronda (IC₅₀ = 280.00 µg / mL) and for the estípide (IC₅₀ = 248, (IC₅₀ = 20.3 µg / mL), and for the fronda (IC₅₀ = 39.2 µg / mL) and for the estípide (IC₅₀ = 50 µg / mL) 24.7 µg / mL). The obtained results show that the content of polyphenols is related very well to the antioxidant activity shown by the samples studied.

Keywords: *Eisenia cokeri* M.A. Howe "alga parda"; polifenoles; actividad antioxidante.

Correspondencia:

Nombre: José Edwin Adalberto Rodríguez Lichtenheldt

Dirección: Av. Sucre 879-N. Pueblo Libre.

Teléfono: 989667678

Correo: qferodriguezl@gmail.com

Recibido: 27/02/2017

Aceptado: 14/11/2017

Citar como:Rodríguez, J., Castro, A. Evaluación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Eisenia cokeri* m.a. howe. Ciencia e Investigación 2018 21(1):11-17.

© Los autores. Este artículo es publicado por la Ciencia e Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución - No Comercia. Compartir Igual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.

INTRODUCCIÓN

En el litoral peruano, existen una serie de especies de “algas pardas” entre ellas se encuentra *Eisenia cokeri* M.A. Howe. Esta especie es una macroalga tiene escasos estudios y la mayoría de ellos están enfocados la clasificación taxonómica ¹.

Estas son un grupo de especies vegetales que poseen compuestos orgánicos polifenoles con actividad antioxidante. Esta capacidad le corresponde a un conjunto muy heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos, sustituidos por funciones hidroxílicas ².

Las algas sintetizan como producto de su metabolismo secundario a los polifenoles, los cuales pertenecen a un grupo heterogéneo de moléculas químicas caracterizadas por tener uno o más anillos fenólicos sustituidos por funciones hidroxílicas; y se localizan en todas las partes de las plantas siendo su concentración variable a lo largo del ciclo vegetativo.

Además son indispensables para las funciones fisiológicas principales de los vegetales; y también pueden participar en funciones de defensa frente a situaciones de estrés o estímulos diversos (hídrico, luminoso, etc.) ³. También poseen actividad biológica inherente que afecta la expresión de genes y existe un enorme interés científico por las propiedades de los polifenoles en la prevención de patologías relacionadas con el envejecimiento, males cardiovasculares y cáncer. Las algas pardas son de las especies que contienen concentraciones más altas de polifenoles que algas rojas y verdes ⁴.

Los compuestos antioxidantes son sustancias que hallándose presente en bajas concentraciones respecto a las de una molécula oxidable, retarda o previene la oxidación de esta sustancia. Las radiaciones ultravioleta perjudican los componentes del estrato epidérmico ⁵.

Una serie de investigaciones indican que los compuestos polifenólicos pueden tener capacidad antioxidante con beneficios para la salud. Se investiga la reducción del riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares y cáncer. Estas algas se utilizan a menudo como tratamientos corporales principalmente para reforzar temporalmente la flacidez de la piel ⁵.

La piel tiene como principales funciones la protección, intercambio acuoso y térmico con el medio externo y síntesis de la vitamina D, es por ello que su cuidado es importante para el organismo, debido a que sufre el proceso de envejecimiento, intrínseca y extrínseca, y es sensible al daño por radiación ultravioleta ⁶.

El fin del trabajo fue demostrar que el extracto de *Eisenia cokeri* M.A. Howe posee polifenoles y capacidad antioxidante.

MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación es Analítica y transversal.

Preparación de la muestra

El alga fue colectada en el zócalo continental de la Isla Lobos de Tierra de la Región Piura y su taxonomía fue realizada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, según el sistema de clasificación de Guiry reportado en 2017.

Obtención del extracto

Las especie vegetal fue lavada en agua de mar; agua potable y destilada; dividiéndose en sus partes (rizoide, estípita y fronda) y procediéndose después al secado, molienda y tamizado. El extracto hidroalcohólico se obtuvo por maceración tratando separadamente cada una de las tres partes de la alga; rizoide, estípita y fronda ⁷.

Evaluación del contenido de polifenoles

Se determinó la cantidad de los polifenoles del extracto hidroalcohólico de *Eisenia cokeri* M.A. Howe; por el método de Folin-Ciocalteu fundamentado en que los fenoles reaccionan con este reactivo; dando un color azul propio de la reacción con fenoles; midiendo la absorbancia a 700 nm del color azul formado máximo en torno a esa longitud de onda; cuyo valor final se da en mg de ácido gálico en relación con un peso de extracto ⁸.

Se pesó aproximadamente 0.20 gr de cada una de las partes del alga (estípita, fronda y rizoide) y se analizaron por separado dando el resultado de mg de compuestos fenólicos totales.

Determinación de la Capacidad Antioxidante total empleando el método del radical DPPH

Método del 2,2, difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH); en la cual se fundamenta en la disminución de la absorbancia por reducción del DPPH.

Determinación de la Capacidad Antioxidante total empleando el método del radical catiónico ABTS⁺

Método de captación del radical libre catiónico ABTS⁺; el cual se fundamenta en la disminución del color del radical en el espectro de absorción en el UV-visible.

Con el porcentaje de captación de los radicales libres, se halla la inhibición mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Abs. ABTS} - \text{Abs. muestra}}{\text{Abs. ABTS}} \times 100$$

Tabla 1. Método de obtención del IC 50 de la muestra y en el trolax

	TUBO BLANCO	TUBO CONTROL ABTS	TUBO MUESTRA PROBLEMA
AGUA BIDESTILADA	980 µL	-	-
SOLVENTE M.P.	20 µL	20 µL	-
MUESTRA PROBLEMA	-	-	20 µL
ABTS	-	980 µL	980 µL

Reposar por 7 minutos alejado de la luz. Leer a 734 nm

IC₅₀: concentración mínima necesaria para inhibir al 50% el ABTS⁺.

RESULTADOS

El contenido de los compuestos polifenólicos se establece en la Tabla 1; con la respectiva curva de calibración del ácido gálico en la figura 3.

Tabla 2. Contenido de polifenoles totales de cada partes de *Eisenia cokeri* M.A. Howe

MUESTRA	POLIFENOLES (mg ácido gálico/1 g de muestra)
ESTÍPITE	3,11
FRONDA	0,46
RIZOIDE	2,32

La actividad antioxidante con relación a la prueba de DPPH de las muestras de rizoide, estípite y fronda respectivamente se demuestra con las Tablas 2 que indican los resultados de las absorbancias del rizoide, estípite y fronda respectivamente; y el IC₅₀ de cada una de las muestras.

Las curvas de correlación del extracto hidroalcohólico *Eisenia cokeri* M.A. Howe obtenidas de las muestras de rizoide, estípite y fronda respectivamente se demuestran en las Figuras 4, 5 y 6.

Tabla 3. Absorbancia según concentraciones del extracto hidroalcohólico del rizoide, estípite y fronda respectivamente de *Eisenia cokeri* M.A. Howe según el método de DPPH

Concentración mg/mL	Absorbancia	% Inhibición	IC50 (ug/ml)
Rizoide			
0,00	0,425	-	
0,25	0,300	29,373	
0,50	0,236	44,494	
0,75	0,178	58,235	
1,00	0,144	66,212	
1,32	0,031	92,706	659,74
Estípite			
0,00	0,475	-	
0,05	0,220	11,055	
0,10	0,355	25,144	
0,25	0,217	54,291	
0,35	0,146	66,240	
0,50	0,094	80,131	248,00
Fronda			
0,00	0,475	-	
0,05	0,422	11,055	
0,10	0,355	25,144	
0,25	0,217	54,291	
0,50	0,094	80,131	
0,55	0,036	92,415	280,00

De los resultados de la prueba de ABTS tenemos la Tabla N° 3 con relación a las muestras del extracto hidroalcohólico de rizoide, estípite, y fronda de *Eisenia cokeri* M.A. Howe y figuras N° 5, 6 y 7; con los resultados según el Método de ABTS⁺

Tabla 4. Absorbancia según concentraciones del extracto hidroalcohólico del rizoide, estípite y fronda de *Eisenia cokeri* M.A. Howe. según el método de ABTS⁺

Concentración mg/mL	Absorbancia	% Inhibición	IC50 (ug/ml)
Rizoide			
0,00	0,687	-	
0,010	0,603	29,506	
0,015	0,528	36,518	
0,020	0,415	48,268	
0,030	0,27215	73,058	20,30
0,040	0,13724	96,616	
Estípite			
0,00	0,687	-	
0,005	0,603	12,160	
0,01	0,528	23,092	
0,02	0,415	39,505	
0,03	0,27215	60,367	24,70
0,04	0,13724	80,014	
Fronda			
0,00	0,687	-	
0,006	0,623	7,330	
0,010	0,581	13,563	
0,017	0,524	21,999	
0,040	0,329	51,035	39,20
0,060	0,158	76,526	

DISCUSIÓN

En el resultado obtenido en nuestro estudio, la parte correspondiente al estípite de *Eisenia cokeri* M.A. Howe posee la mayor proporción de polifenoles totales siendo esta en 3,11 mg ác. Gálico/1 g de muestra, luego del rizoide con 2,32 mg mg ác. Gálico/1 g de muestra; y por último la de menor cantidad la parte fronda con 0,46 mg ác. Gálico/1 g de muestra; otros especímenes de las algas *Halimeda opuntia* y *Halimeda monile* poseen 74,25 mg/1 g de alga seca; y 66,72 mg/1g alga seca, respectivamente⁹.

Se ha encontrado estudios de algas como la *Lessonia nigrescens* Bory, la cantidad bajo este mismo método es de 0,629 mg/g para el rizoide; 0,454 mg/g para el estípite y 0,604 mg/g de alga seca para la fronda³.

Existe una ventaja del método del ABTS sobre el DPPH es que este ensayo procesa muestras hidrosolubles como liposolubles, eligiendo el disolvente apropiado en cada caso, que proporcionan una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo*¹².

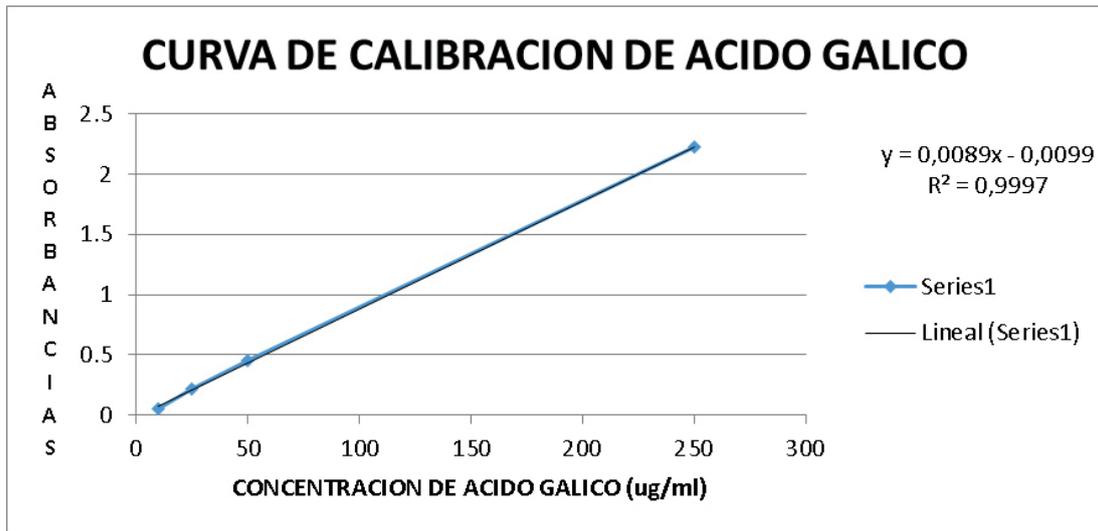


Figura 1. Curva de calibración del ácido gálico en la determinación de polifenoles totales.

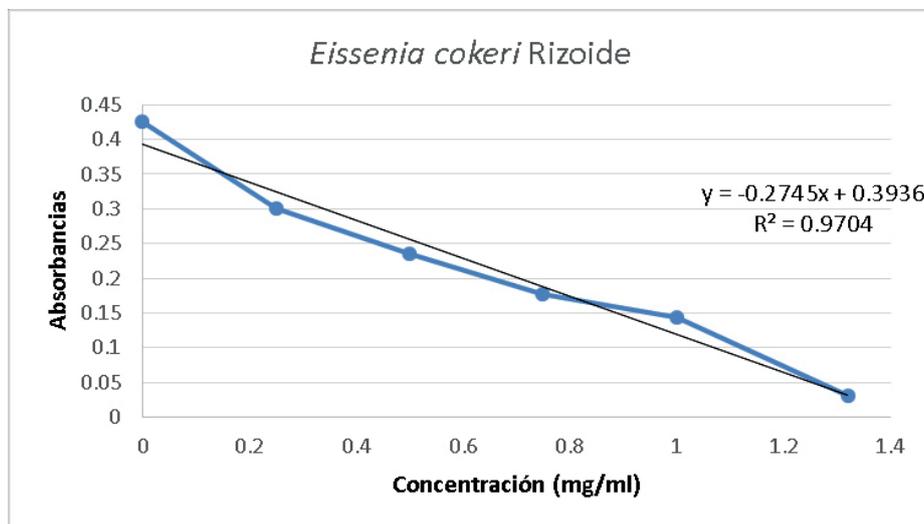


Figura 2. Curva de correlación del extracto hidroalcohólico de rizoide de *Eissenia cokeri* M.A. Howe. según el método de DPPH.

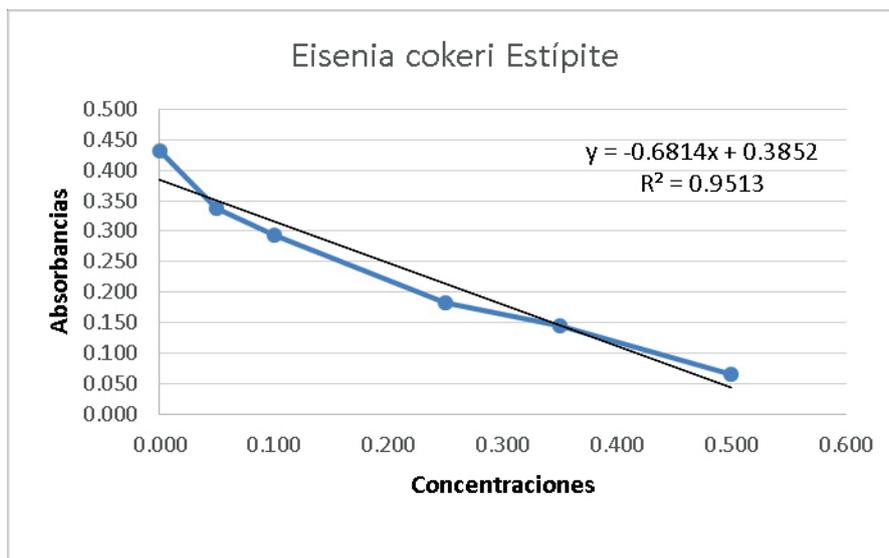


Figura 3. Curva de correlación del extracto hidroalcohólico de estípite de *Eissenia cokeri* M.A. Howe según el método de DPPH

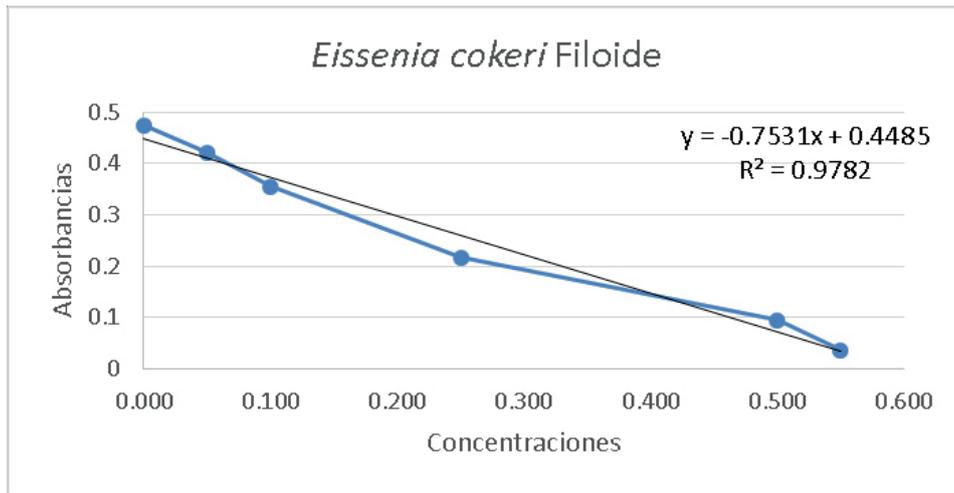


Figura 4. Curva de correlación del extracto hidroalcohólico de fronda de *Eisenia cokeri* M.A. Howe según el método de DPPH.

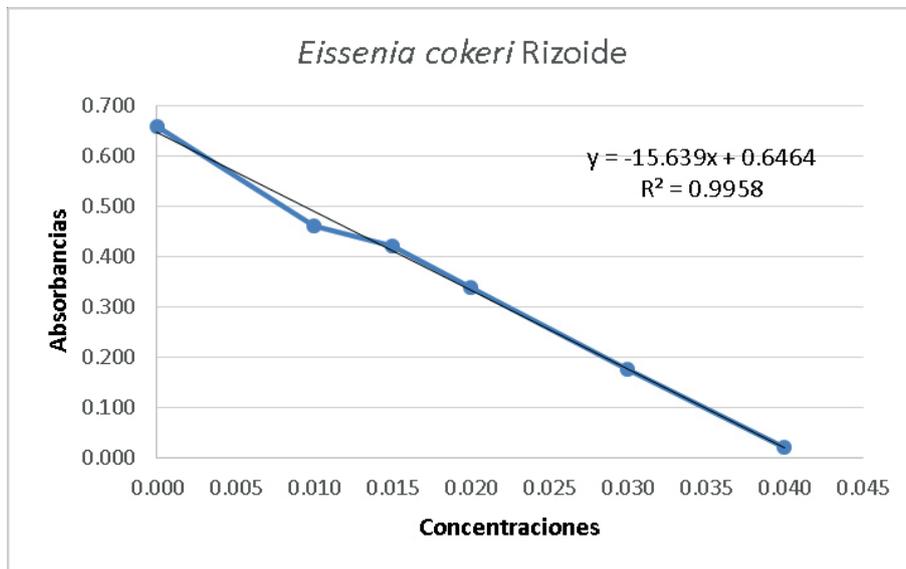


Figura 5. Curva de correlación del extracto hidroalcohólico del rizoide de *Eisenia cokeri* M.A. Howe según el método de ABTS.

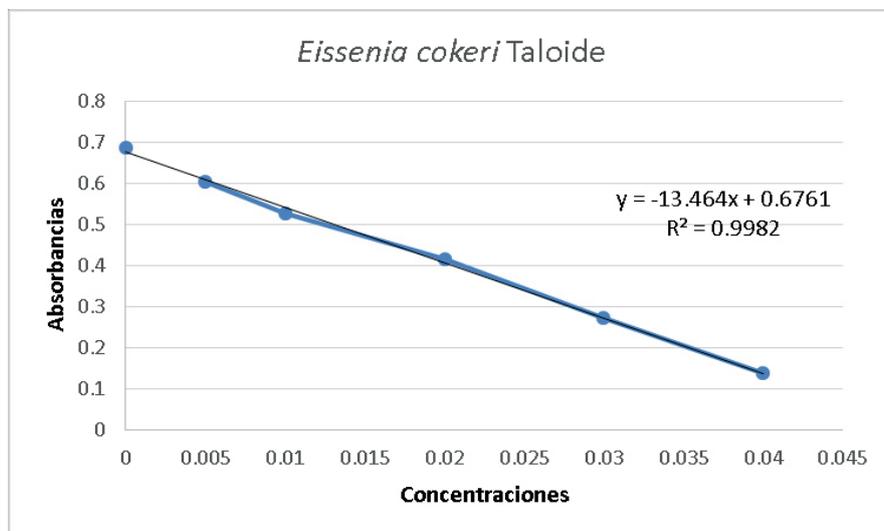


Figura N° 6. Curva de correlación del extracto hidroalcohólico del estípide de *Eisenia cokeri* M.A. Howe según el método de ABTS.

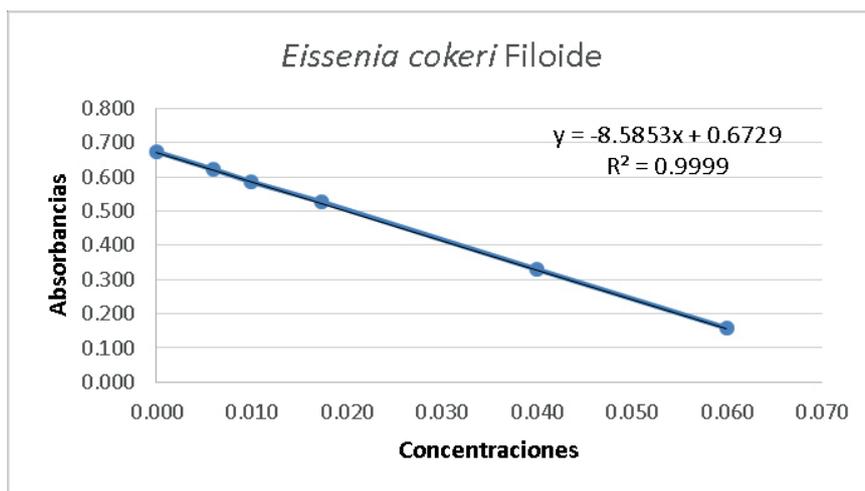


Figura 7. Curva de correlación del extracto hidroalcohólico del rizoide de *Eissenia cokeri* M.A. Howe según el método de ABTS⁺

Según el método de DPPH el IC₅₀ (µg/mL) fue de 659,74 para el rizoide; 280 para el fronda y 248 µg/mL para el estípite respectivamente. El ensayo de DPPH presento un IC₅₀ (µg/mL) de 5.04 µg/mL para el patrón Trolox[®] como estándar de referencia. Otras especies como *Lessonia nigrescens* Bory bajo este mismo método DPPH se obtuvo un IC₅₀ = 12,3 mg/ml para el extracto de estípite; IC₅₀ = 11,3 mg/ml y 11mg/ml para los extractos de fronda y rizoide respectivamente.

Según el método de ABTS⁺ el IC₅₀ (µg/mL) es de 20,3 para el rizoide; 39,2 para la fronda y 24,7 µg/mL para el estípite respectivamente. El ensayo de ABTS⁺ presento un IC₅₀ de 17,04 µg/mL para el patrón Trolox[®] como estándar de referencia. Otros estudios indicaron que para el método de ABTS los resultados de esta misma alga fueron IC₅₀ = 93,7 mg/ml para el extracto de estípite y IC₅₀= 102,2 mg/ml y 90,9 mg/ml para los extractos de fronda y rizoide, respectivamente³.

En las tablas 2 y 3 se puede observar que el extracto hidroalcohólico de *Eissenia cokeri*

Howe posee buena actividad antioxidante en los ensayos de DPPH y ABTS⁺, siendo comparado con el control positivo.

Existen diferencias entre los resultados aquí obtenidos con otros estudios. Esto podría deberse a diversos factores que influyen en la producción y productividad, ya que se ha descrito que la capacidad antioxidante de una alga no sólo proviene de la suma de las capacidades antioxidantes de sus componentes, sino que el microambiente en el que se haya, influiría sobre dichos componentes para que interactúen entre sí produciendo efectos sinérgicos¹³. Sin embargo hay que considerar presencia de metabolitos antioxidantes, como fenoles y flavonoides, cuyo contenido puede ser influenciado por la altitud y la radiación de la región de origen¹⁴.

La capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Eissenia cokeri* M. A. Howe in vitro DPPH y ABTS; podría ser aplicable en formulaciones dermocosméticas¹⁵.

CONCLUSIONES

- El contenido de polifenoles totales determinado por el método expuesto; demostró mayor cantidad en el estípite de *Eissenia cokeri* M.A. Howe.
- La determinación de la actividad antioxidante por los métodos de DPPH y ABTS⁺, demostraron que los extractos hidroalcohólicos poseen buena actividad antioxidante siendo menor que el estándar de referencia Trolox[®].

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvitaz-Izquierdo E, Rodríguez-Rodríguez E. Diversidad, Taxonomía y Ecología de las Phaeophyceae del litoral Peruano. *Rebol.*2005; 25 (1-2): 15-30
2. Ortiz J. Composición Nutricional y Funcional de Algas Pardas Chilenas: *Macrocystis pyrifira* y *Durvillaea antarctica*. Monografía de la Revista de Laboratorio de Química y Análisis de Alimentos, Departamento de Ciencias de los Alimentos y Tecnología Médica. 2011. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. 2011. [http: repositorio.uchile.cl/ Monografias. Algas Pardas Chilenas.](http://repositorio.uchile.cl/Monografias.AlgasPardasChilenas)
3. Giurfa G, Oblitas J, Polifenoles, actividad antioxidante, antielastasa, anticlagenasa, efecto fotoprotector de *Lessonia nigrescens* Bory y desarrollo de una forma dermocosmética. [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Lima. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017. p. 06.
4. Quitral V, Morales C, Sepúlveda M, Schwartz M. Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional. 2012. 39(4) 196-202. Doi. [org/10.4067/S0717-75182012000400014](http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182012000400014)

5. Garcia BL , Vicente GG , Rojo DD , Sanchez GE. Plantas con propiedades antioxidantes. Rev Cub Invest Biomed. 2001; 20(3): 231-35
6. Rojas R, Doroteo V, Díaz C, Vaisberg A., Neira M., Terry C. Actividad antioxidante, antielastasa, anticlagenasa, protectora contra rayos UV-B, promotora de síntesis de colágeno in vitro y estudios de seguridad/eficacia de extractos de *Bixa orellana* ("ACHIOTE") Y *Oenothera rosea* ("CHUPASANGRE") Lima, Perú 2013. Boletín apqc, Proyecto 148-FINCYT- FIDE-COM-PIPEI-2010, 1,2.
7. Castro A, Juárez J, Suárez S. Efecto antioxidante y antioenvejecimiento de los extractos de la macroalga del litoral peruano de *Macrocystis integrifolia* Bory y elaboración de una forma dermocosmética. Ciencia e Investigación 2014; 17(2): p.80-87.
8. Suárez S, Actividad captadora de radicales libres y efecto antioxidante de metabolitos secundarios del extracto acuoso del *Allium sativum* var. Huaralino (ajo) en modelos in vitro. 2014 [Tesis Doctoral] Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2014. 29-30.
9. Vidal A, Silva de Andrade-Wartha ER, de Oliveira e Silva AM, Pavan R, Lima A, . Actividad antioxidante y polifenoles de las algas marinas *Halimeda opuntia* y *Halimeda monile*... Ars Pharm, 2009, Vol.50 n°1; 24-31.
10. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en pulpa de frutos. Cienc Tec Alim. 2005; 25 (4): 726-32
11. Nuñez W, Quispe R. Evaluación antioxidante y antienzimática in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcohólico de la *Caesalpinia spinosa* "tara" [Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico] Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica; Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2015; p 83.
12. Castañeda C, Ramos LI, Ibañez V. Evaluación de la Capacidad Antioxidante de siete plantas medicinales Peruanas. Rev Horiz Med. 2008; 8 (1): 56-72.
13. Muñoz J, Ramos E, Ortiz U, Castañeda C. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. Rev Soc Quim Per. 2007; 73, (3): 142-149.
14. Fukumoto L, Mazza G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. J Agric. Food Chem. 2000; 48, (1): 3597-3604
15. Bravo R, Pérez S. Factibilidad de desarrollar un producto cosmético empleando como principio activo el aceite extraído de una semilla vegetal. [Trabajo Especial de Grado no publicado] Carabobo: Escuela de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Universidad de Carabobo. 2005; pp. 45-91.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: Autofinanciado