

**EST. Q STEPHANY RAMÍREZ ARENAS**

Se extiende la presente

**CONSTANCIA**

Por su colaboración con la Exposición del Tema

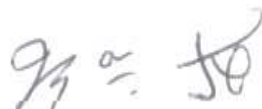
**Desarrollo de una metodología para la cuantificación de polifenoles en muestras de sargazo**

Presentado en el

**2º Seminario Estudiantil PAPIME 210820**

**Sargazo: Contribución de la Química Analítica desde la Docencia e Investigación Formativa  
(en línea, 15 Participantes Grupo de Investigación PAPIME)**

Viernes 9 de octubre del 2020, Cd. Universitaria, Coyoacán, CDMX.



---

**Dra. Ma. Teresa de Jesús Rodríguez Salazar**  
Responsable Proyecto PAPIME PE210820  
Depto. de Q. Analítica, Facultad de Química, UNAM



---

**Dra. Flora Emperatriz Mercader Trejo**  
Universidad Politécnica de Santa Rosa Jáuregui



---

**Dra. Olivia Zamora Martínez**  
Co-Responsable Proyecto PAPIME PE210820  
Depto. de Q. Analítica, F.Q./LANGEM, Inst. de Geol., UNAM



---

**Dr. Raúl Herrera Basurto**  
Universidad Tecnológica de Querétaro



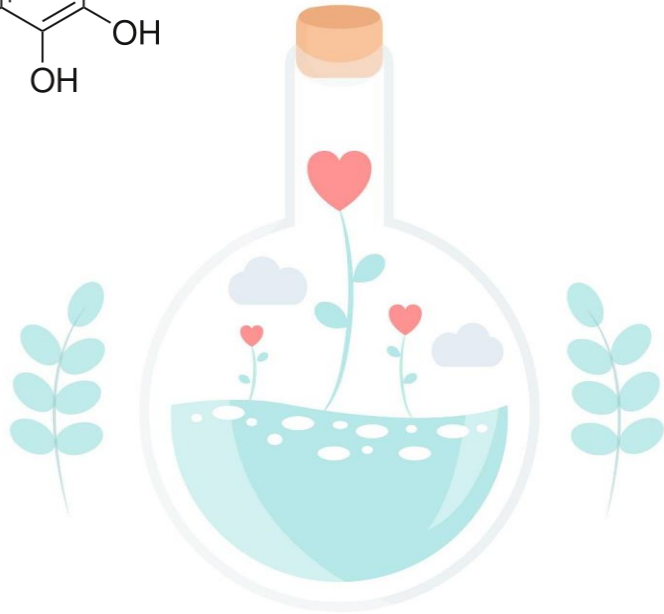
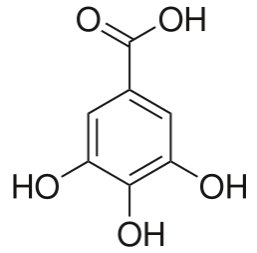
# Desarrollo de una metodología para la cuantificación de polifenoles en muestras de *Sargazo*

UNAM - Facultad de química  
Departamento de química analítica  
Proyecto: PAPIME PE210820

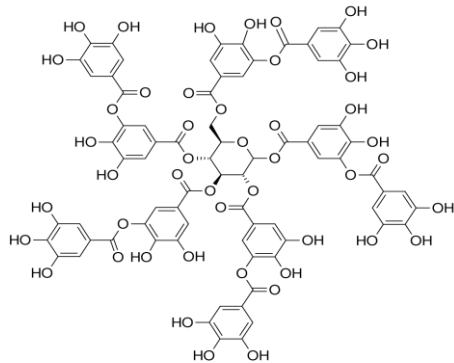
Presenta: Ramírez Arenas Stephany  
Asesora: Monroy Barreto Minerva



# Contenido



LOVE GROWS HERE



- Introducción
- Sargazo
- Polifenoles: Métodos de extracción y cuantificación
- Antecedentes
- Objetivo general
- Metodología
- Avances
- Conclusiones
- Referencias

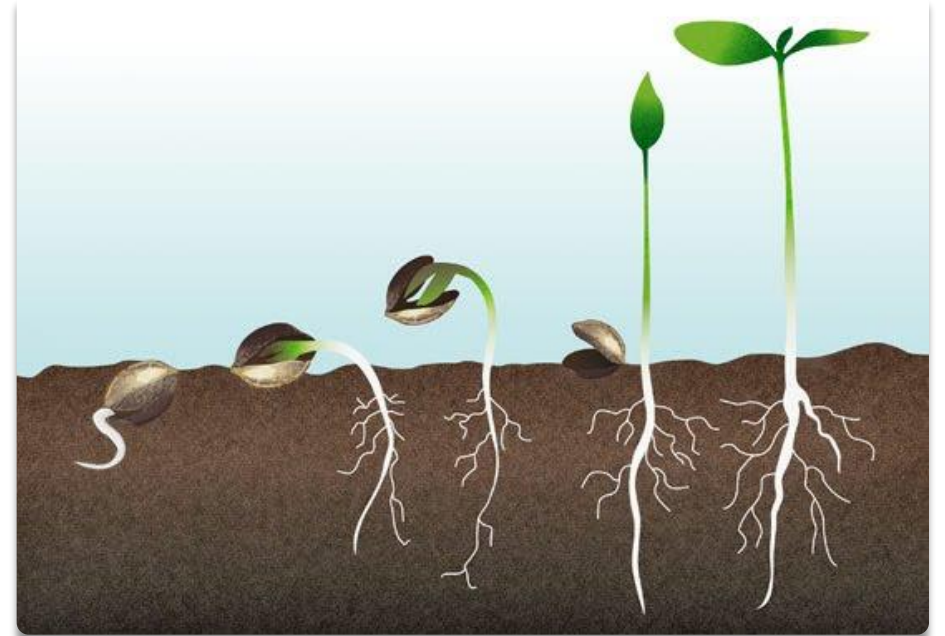
# Sargazo

- ▶ Macroalga parda
- ▶ Pertenece a la familia Sargassaceae
- ▶ Orden: Fucales
- ▶ Cuenta con más de 150 especies
- ▶ Se concentra en el océano atlántico (mar de sargazos)
- ▶ La mayor cantidad de alga corresponde a *Sargassum natans* y *Sargassum fluitan*



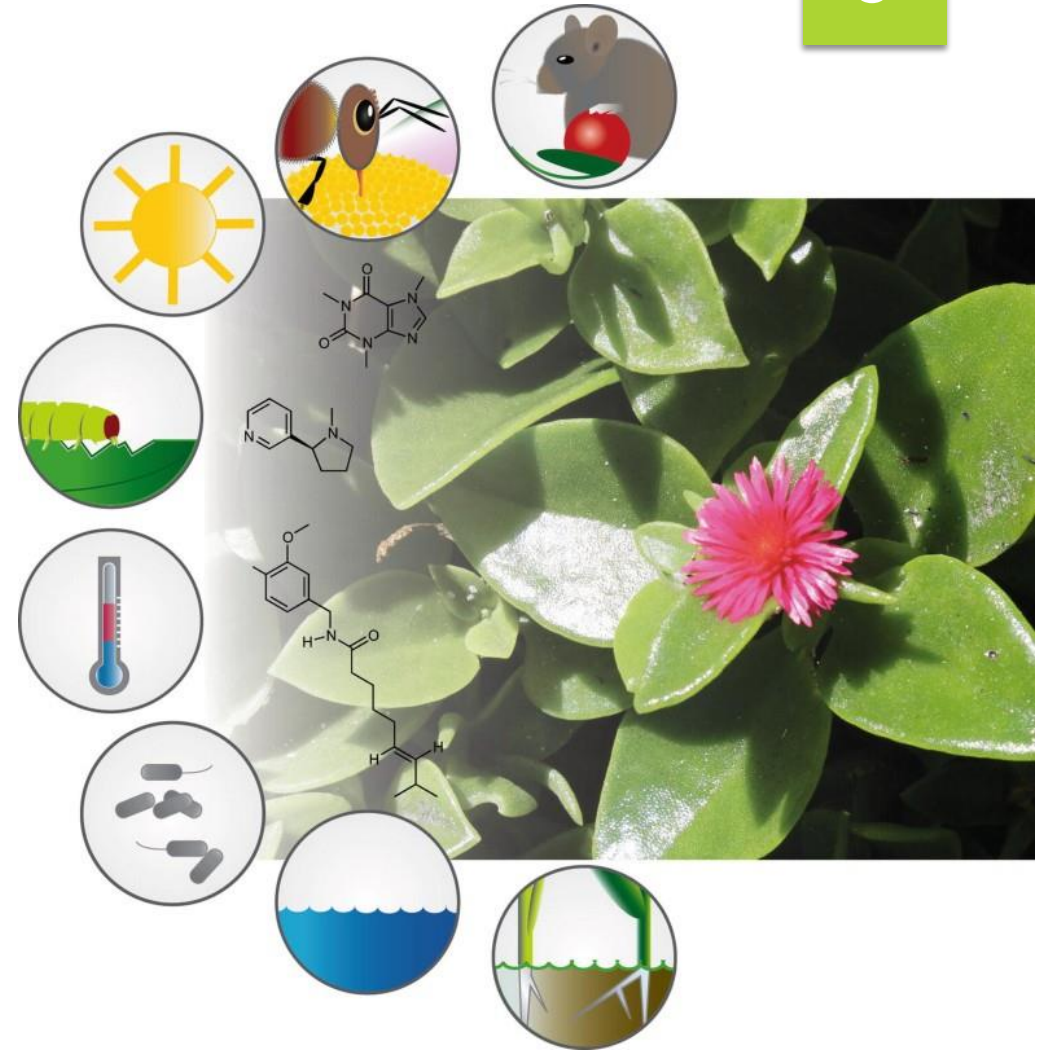
# Metabolitos

- ▶ Sustancias complejas que se secretan durante el metabolismo.
- ▶ Se clasifican en dos tipos:
- ▶ Primarios: Fundamentales para el desarrollo, crecimiento y reproducción
- ▶ Secundarios: No son fundamentales para el desarrollo, crecimiento y reproducción



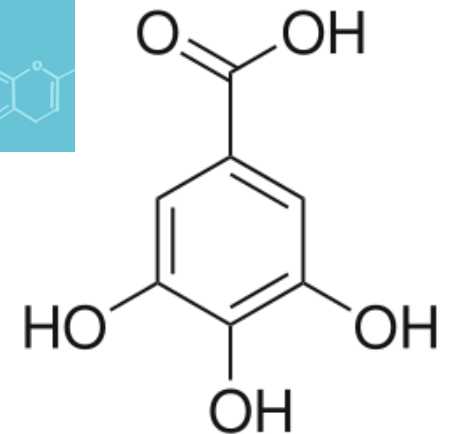
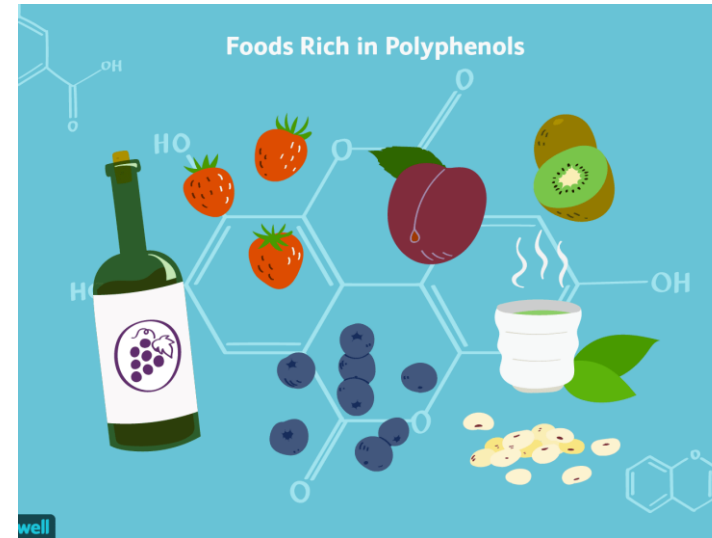
# Metabolitos secundarios

- ▶ Buscan la supervivencia de la especie mediante mecanismos de defensa.
- ▶ Proviene de metabolitos primarios.
- ▶ Metabolitos en algas:  
Sesquiterpenos, diterpenos, meroterpenoides, acetogeninas, polifenoles



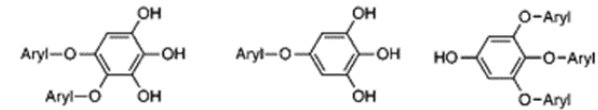
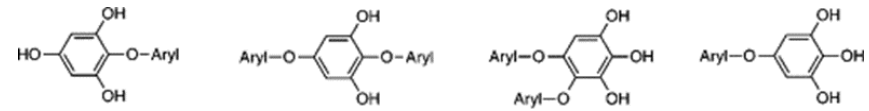
# POLIFENOLES

- ▶ Compuestos orgánicos que constan de un anillo aromático unido directamente a dos o más grupos hidroxilo.
- ▶ Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza
- ▶ La unidad base en plantas es el ácido gálico

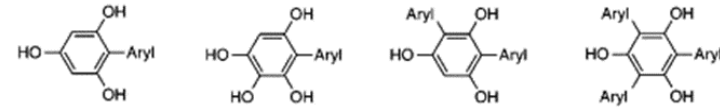


# Florotaninos

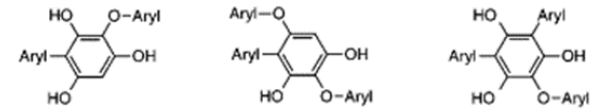
- Polímeros
- Presentes en algas pardas
- Presentes en un porcentaje del 2% al 20% del peso seco
- Estructurados por unidades de floroglucinol
- Se clasifican en 6 clases



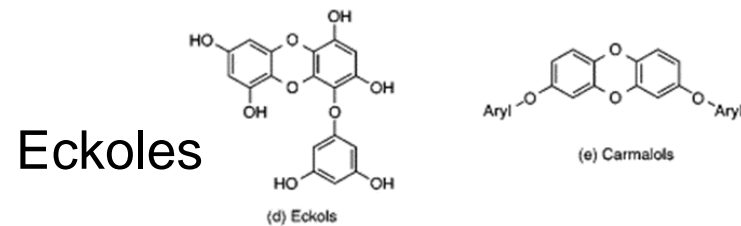
(a) Phloretols



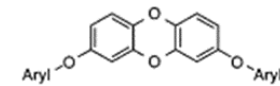
(b) Fucols



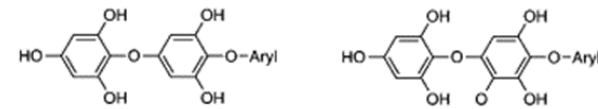
(c) Fucophloretols



(d) Eckols



(e) Carmalols



(f) Fuhalols

Floretoles

Fucoles

Fucophloretoles

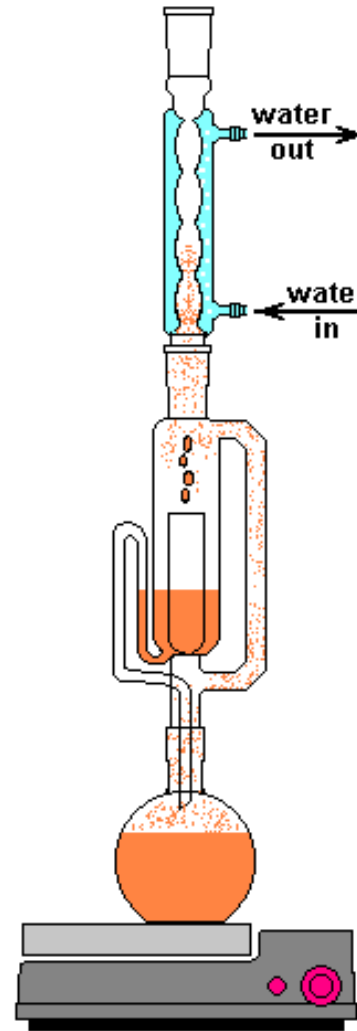
Carmaloles

Fuhaloles



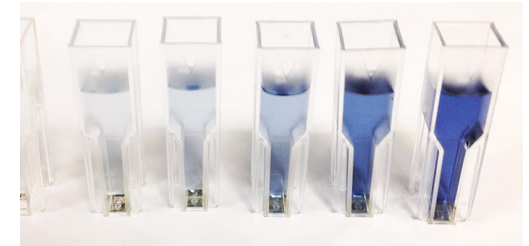
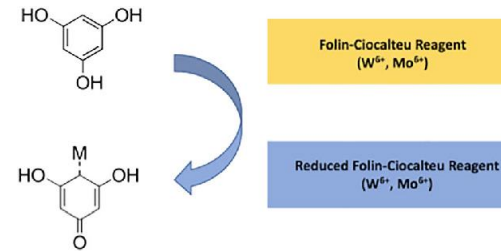
# Métodos de extracción

- ▶ Extracción sólido-líquido
- ▶ Extracción con solvente presurizado
- ▶ Extracción con fluidos supercríticos
- ▶ Extracción asistida por microondas



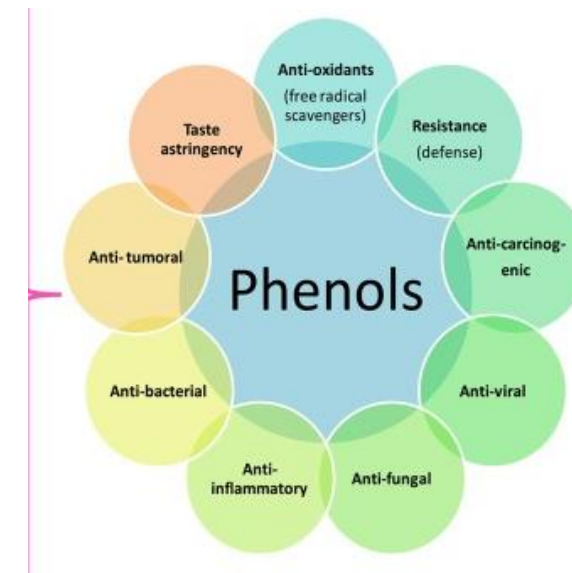
# DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES

- ▶ Contenido total (TCP)
- ▶ Colorimétricos (Folin-Ciocalteu)
- ▶ Cromatografía líquida de alta resolución,
- ▶ Microscopía
- ▶ Electroforesis capilar



# Impacto del *Sargazo*

- ▶ Invasión de las playas del caribe mexicano
- ▶ Perdidas económicas en las zona
- ▶ Efectos adversos contra el ecosistema
- ▶ Aplicación farmacéutica y alimentaria

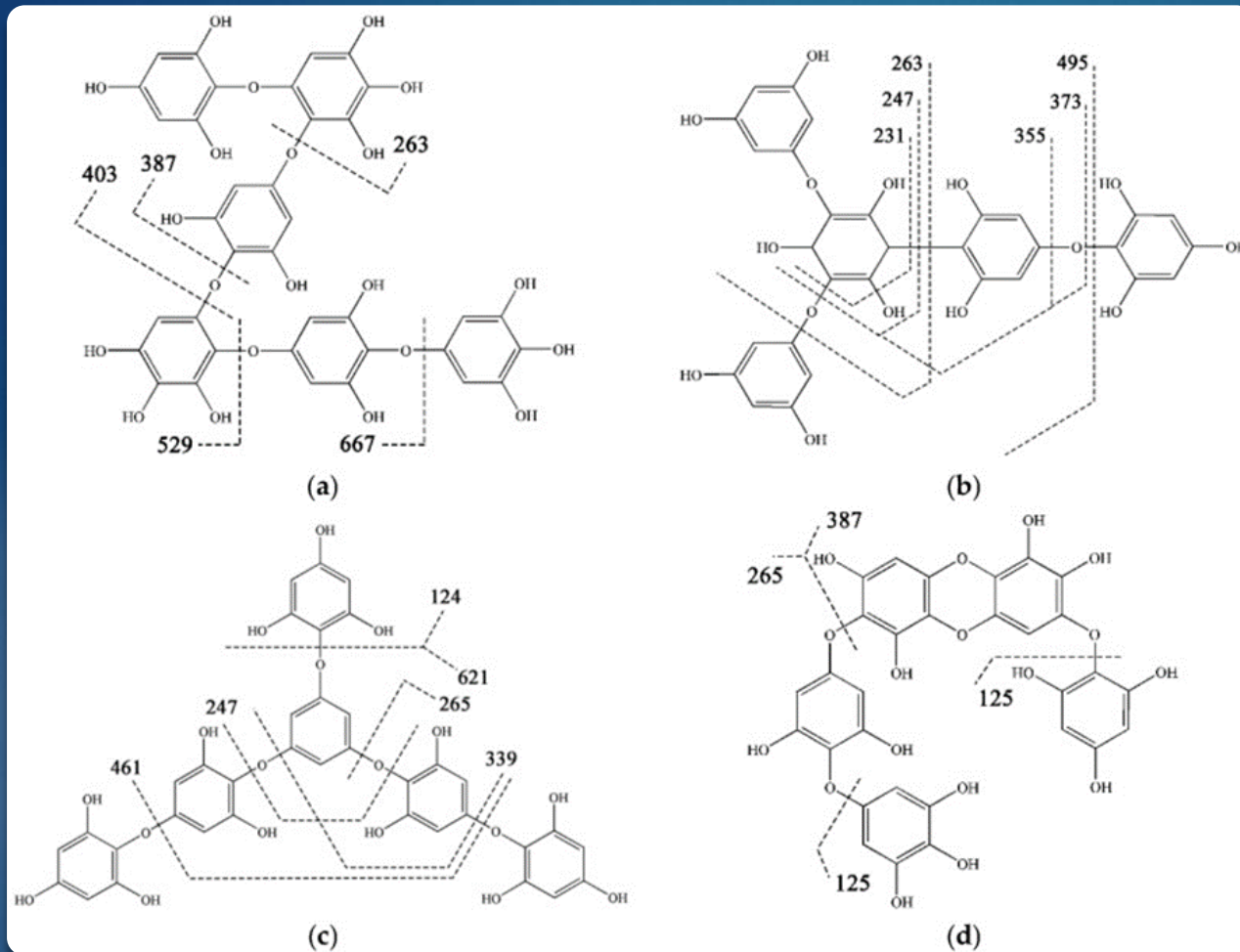


# Antecedentes

- ▶ No existe un método universal de extracción de metabolitos en algas
- ▶ Múltiples factores que afectan el proceso de proceso de extracción (temperatura, especie, temporada, secado, etc)
- ▶ Contradicciones en análisis experimentales
- ▶ Pocas investigaciones de elucidación estructuras

# Antecedentes

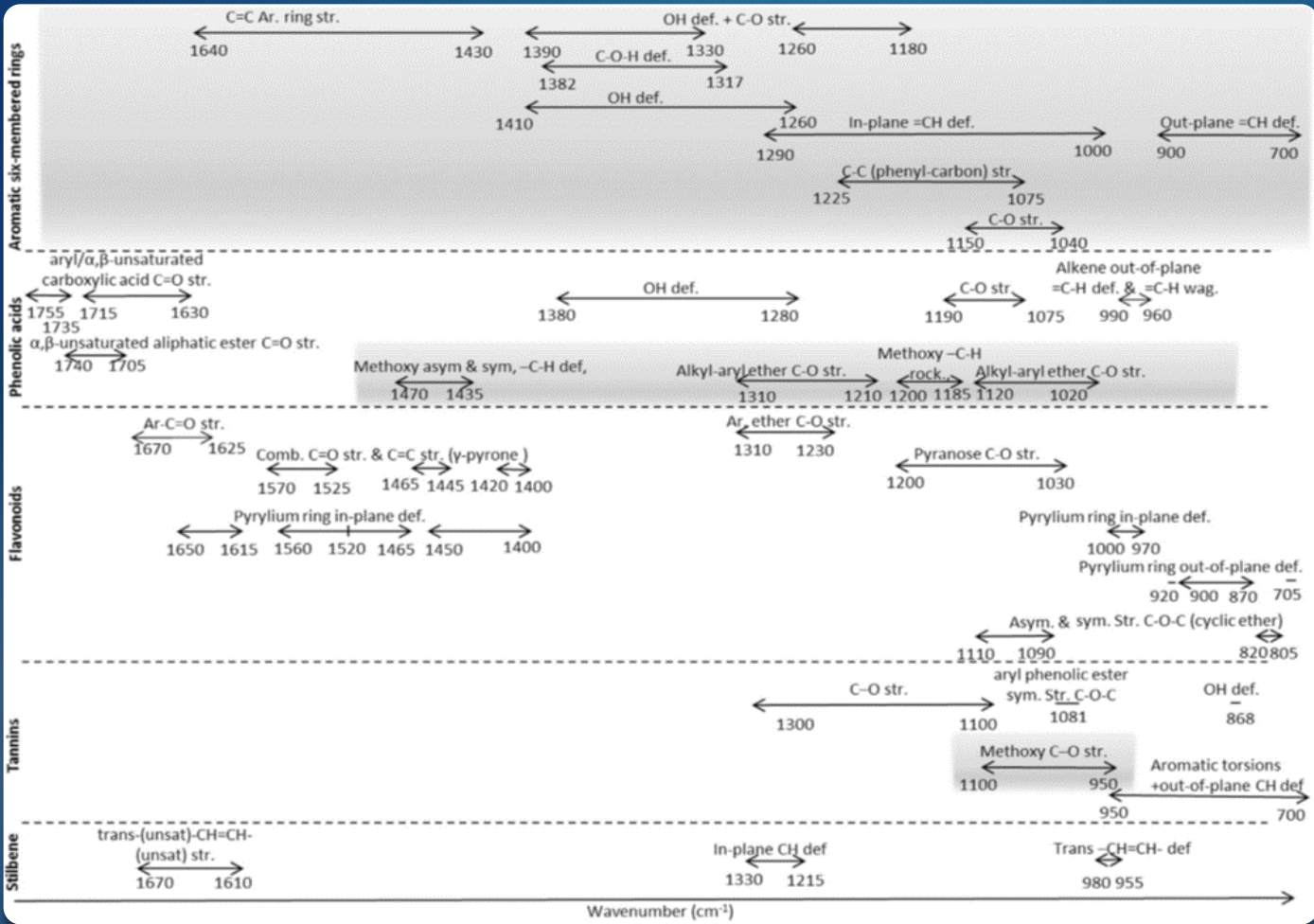
- ▶ Concentración encontrada en muestras de Sargazo (0.0- 383.0) mg de florotaninos /g de muestra seca
- ▶ Se han realizado experimentaciones exitosas en muestras de vino y té verde, en las que se logró cuantificar la concentración de polifenoles por voltamperometría



# Estructuras elucidadas de polifenoles en muestras de *Sargazo*

Yajing Li Setchell (2017). Extraction and Identification of Phlorotannins from the Brown Alga, *Sargassum fusiforme* (Harvey) Setchell

# Bandas vibratorias identificadas en sistemas fenólicos



Ouissam A (2017). Phenolic compound explorer: A mid-infrared spectroscopy database

# Objetivos

Optimizar el proceso de extracción de polifenoles en Sargazo

Desarrollar una metodología para la cuantificación de polifenoles en muestras de Sargazo por voltamperometría



# Metodología

## Preparación de la muestra:

- Limpieza de la muestra con agua destilada
- Secado de la muestra al aire libre y en estufa
- Molienda de la muestra



# Metodología

Extracción sólido- líquido con una mezcla hidroalcohólica etanol-agua mediante el método de maceración.

Proporción muestra/disolvente 1:30

Temperatura: 25°C, 60 °C y 80 °C

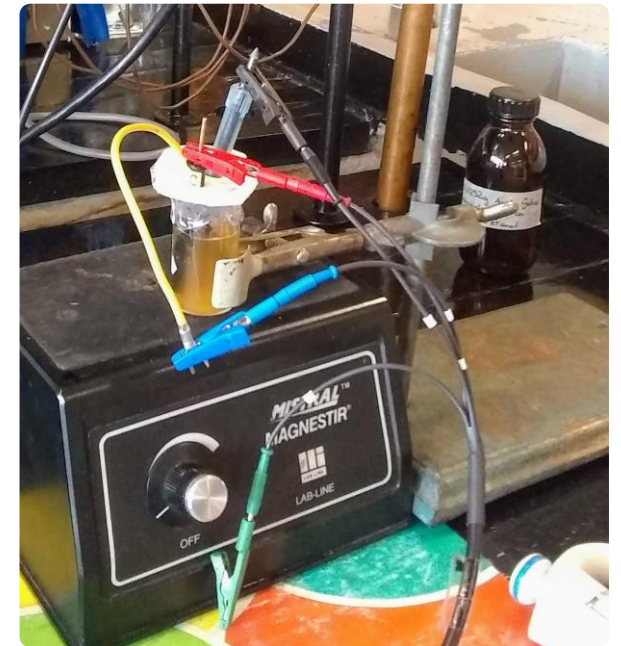
Tiempo: 2 horas

Proporción etanol- agua: 50:50 y 20:80

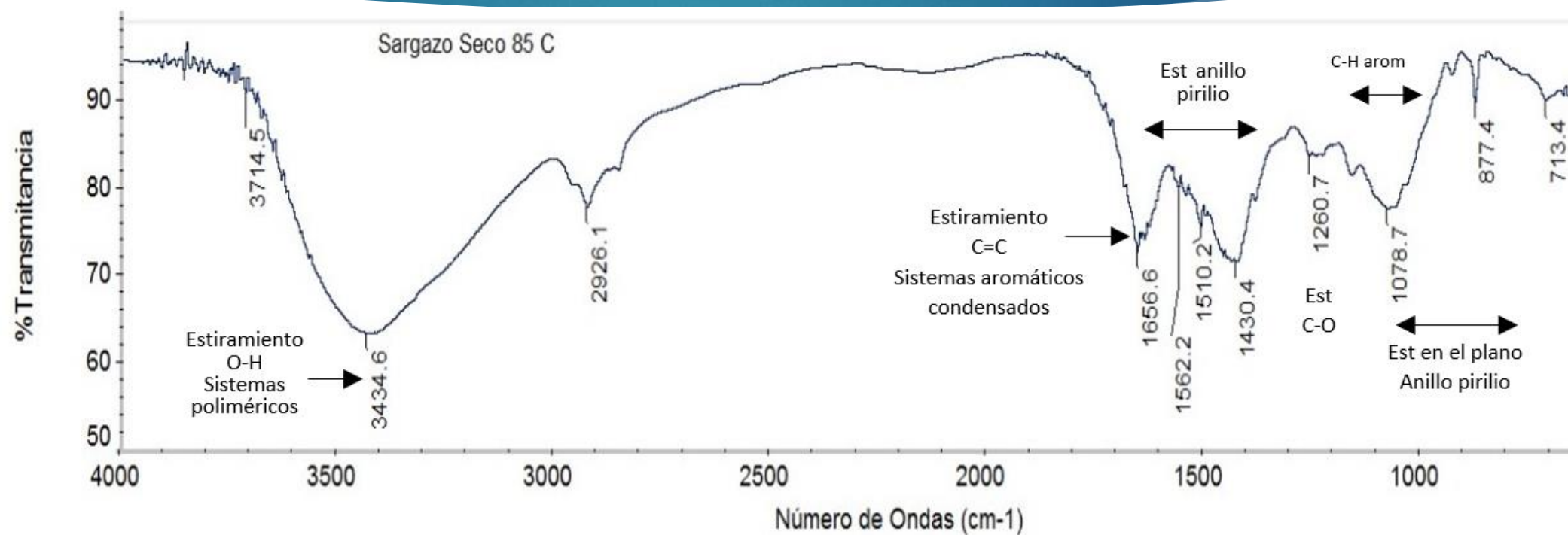


# Mediciones

- ▶ Análisis por IR de la muestra sólida
  - ▶ Análisis por voltamperometría del extracto hidroalcohólico en un sistema de 3 electrodos (carbono vítreo, plata y grafito).
  - ▶ Volumen 10.0 mL de electrolito soporte (buffer de acetatos, pH=3.6)
- Einicio = -0.5 v, EFINAL = 1.2 V,  
Rapidez de barrido = 0.05

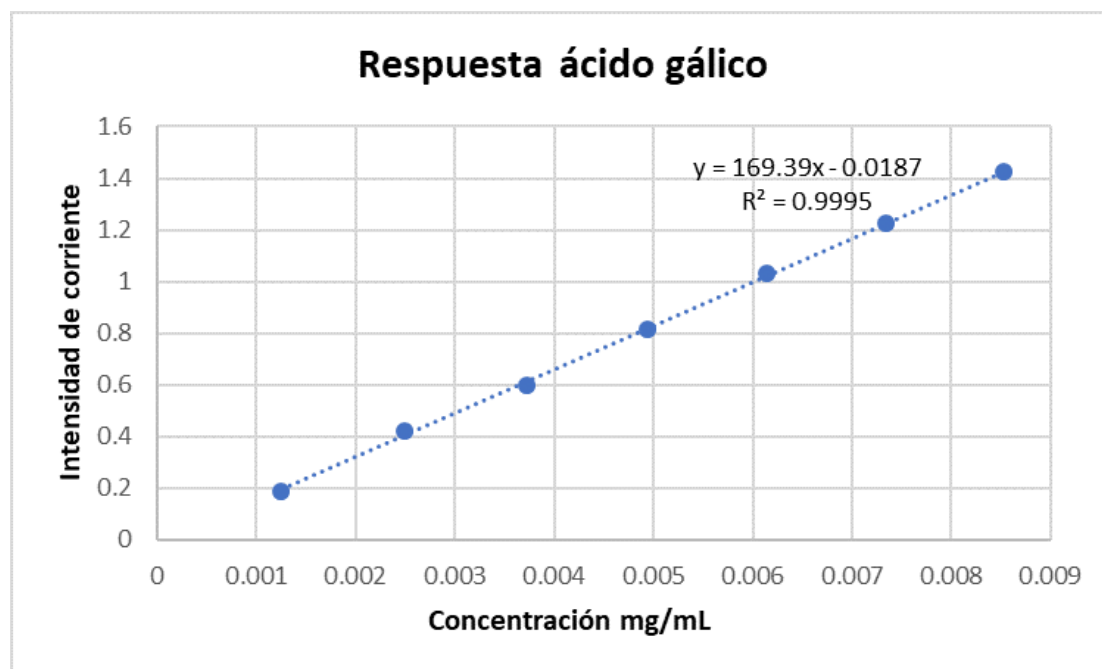


# Avances

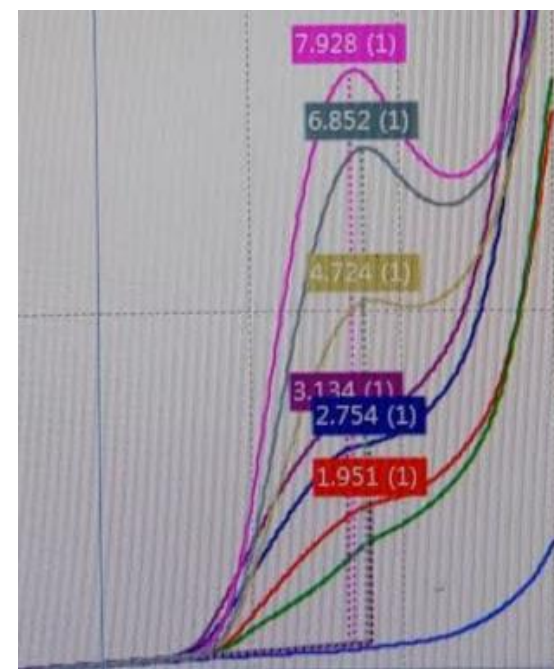


Espectro infrarrojo obtenido de la muestra de *Sargazo*

# Avances



Curva de calibración del estándar de ácido gálico



Perfil respuesta de extracto hidroalcohólico de té verde

# Conclusiones

- ▶ Es necesario la limpieza de los electrodos entre cada medición
- ▶ La metodología establecida permitió la extracción de polifenoles en muestras de té verde
- ▶ Es necesario la evaluación de más parámetros para poder encontrar las condiciones optimas para realizar la extracción y cuantificación de los polifenoles en muestras de *Sargazo* por voltamperometría

# Recomendaciones

- ▶ Realizar la identificación de la especie
- ▶ Un lote de análisis más grande

# Agradecimientos

- Al proyecto PAPIME PE210820
- Al jefe de departamento : Dr. José de Jesús García Valdez
- Al responsable del proyecto: Dra. María Teresa de J. Rodríguez S

## Académicos

- Dra. Olivia Martínez Z.
- Dra. Flora Mercader T. (UPSRJ)
- Dr. Julio C. Aguilar C.
- Dr. Raúl Herrera B. (UTEQ)
- Maestra Iliana Zaldívar C.
- Ing. J. Adolfo Martínez O.

## Estudiantes

- Analaura Skadal M.
- Caterin Gutiérrez S.
- Alan A. Abán E.
- Ariana J. Morales V.
- Ilse P. Bernal E.
- Esperanza E. Mendoza S.



# Referencias

- ▶ [1]. Abbas, O., Compère, G., Larondelle, Y., Pompeu, D., Rogez, H., & Baeten, V. (2017). Phenolic compound explorer: A mid-infrared spectroscopy database. *Vibrational Spectroscopy*, 92, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2017.05.008>
- ▶ [2]. Acton, L., Campbell, L. M., Cleary, J., Gray, N. J., & Halpin, P. N. (2019). What is the Sargasso Sea? The problem of fixing space in a fluid ocean. *Political Geography*, 68(November 2018), 86–100. <https://doi.org/10.1016/j.polgeo.2018.11.004>
- ▶ [3]. Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–333. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>
- ▶ [4]. Dang, T. T., Bowyer, M. C., Van Altena, I. A., & Scarlett, C. J. (2018). Optimum conditions of microwave-assisted extraction for phenolic compounds and antioxidant capacity of the brown alga *Sargassum vestitum*. *Separation Science and Technology (Philadelphia)*, 53(11), 1711–1723. <https://doi.org/10.1080/01496395.2017.1414845>
- ▶ [5]. Filik, H., Çetintaş, G., Avan, A. A., Aydar, S., Koç, S. N., & Boz, I. (2013). Square-wave stripping voltammetric determination of caffeic acid on electrochemically reduced graphene oxide-Nafion composite film. *Talanta*, 116, 245–250. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.05.031>
- ▶ [6]. Gutiérrez, R., Núñez, R., Quintana, L., Valdés, O., González, K., Rodríguez, M., Hernández, Y., & Ortiz, E. (2017). Optimization of the extraction process of phenolic compounds from the brown algae *Sargassum fluitans* Børgesen (Børgesen). *Biotecnología Aplicada*, 34(3), 3301–3304.
- ▶ [7]. Hu, J., Yang, B., Lin, X., Zhou, X. F., Yang, X. W., & Liu, Y. (2011). Bioactive Metabolites from Seaweeds. *Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology*, 262–284. <https://doi.org/10.1002/9781119977087.ch12>

# Referencias

- ▶ [8]. Imbs, T. I., & Zvyagintseva, T. N. (2018). Phlorotannins are Polyphenolic Metabolites of Brown Algae. *Russian Journal of Marine Biology*, 44(4), 263–273. <https://doi.org/10.1134/S106307401804003X>
- ▶ [9]. JOHNSON, D., KO, D., & FRANKS, J. (2012). The Sargassum Invasion of the Eastern Caribbean and Dynamics of the Equatorial North Atlantic Invasión de Sargazo en el Caribe Oriental y la Dinámica en la. *Usm.Edu*, (April 2018), 2012–2013. Retrieved from <http://www.usm.edu/gcrl/sargassum/docs/Johnson.et.al.Sargassum.event.in.Caribbean.2011.65th.GCFI.Abstract.pdf>
- ▶ [10]. Keyrouz, R., Abasq, M. L., Bourvellec, C. Le, Blanc, N., Audibert, L., Argall, E., & Hauchard, D. (2011). Total phenolic contents, radical scavenging and cyclic voltammetry of seaweeds from Brittany. *Food Chemistry*, 126(3), 831–836. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.061>
- ▶ [11]. Khanbabaee, K., & van Ree, T. (2001). Tannins: Classification and definition. *Natural Product Reports*, 18(6), 641–649. <https://doi.org/10.1039/b101061l>
- ▶ [12]. Kumar, A., AbdElgawad, H., Castellano, I., Selim, S., Beemster, G. T. S., Asard, H., Buia, M. C., & Palumbo, A. (2018). Effects of ocean acidification on the levels of primary and secondary metabolites in the brown macroalga *Sargassum vulgare* at different time scales. *Science of the Total Environment*, 643, 946–956. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.176>
- ▶ [13]. Liu, N., Fu, X., Duan, D., Xu, J., Gao, X., & Zhao, L. (2018). Evaluation of bioactivity of phenolic compounds from the brown seaweed of *Sargassum fusiforme* and development of their stable emulsion. *Journal of Applied Phycology*, 30(3), 1955–1970. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1383-0>
- ▶ [14]. Manrique, W. E. E., Salcedo, L. C. A. G., & Vargas, O. J. M. (2016). Validación de una metodología analítica para la cuantificación de polifenoles totales , en procesos de extracción asistida por microondas sobre frutos de la especie colombiana *Vaccinium meridionale*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*, 45(1), 109–126.

# Referencias

- ▶ [15]. Monteiro, M., Santos, R. A., Iglesias, P., Couto, A., Serra, C. R., Gouvinhas, I., Barros, A., Oliva-Teles
- ▶ 16, A., Enes, P., & Díaz-Rosales, P. (2020). Effect of extraction method and solvent system on the phenolic content and antioxidant activity of selected macro- and microalgae extracts. *Journal of Applied Phycology*, 32(1), 349–362. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01927-1>
- ▶ [17]. Nakai, M., Kageyama, N., Nakahara, K., & Miki, W. (2006). Phlorotannins as radical scavengers from the extract of *Sargassum ringgoldianum*. *Marine Biotechnology*, 8(4), 409–414. <https://doi.org/10.1007/s10126-005-6168-9>
- ▶ [18]. Obluchinskaya, E., & Daurtseva, A. (2020). Effects of air drying and freezing and long-term storage on phytochemical composition of brown seaweeds. *Journal of Applied Phycology*. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02225-x>
- ▶ [19]. Patonay, K., Szalontai, H., Csugány, J., Szabó-Hudák, O., Kónya, E. P., & Németh, É. Z. (2019). Comparison of extraction methods for the assessment of total polyphenol content and in vitro antioxidant capacity of horsemint (*Mentha longifolia* (L.) L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 15(August), 100220. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2019.100220>
- ▶ [19]. Šeruga, M., Novak, I., & Jakobek, L. (2011). Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, 124(3), 1208–1216. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.047>
- ▶ [20]. TANNINS AND POLYPHENOLS. (2003), 5729–5733. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/01178-0>
- ▶ [21]. Tanniou, A., Vandanjon, L., Incera, M., Serrano Leon, E., Husa, V., Le Grand, J., Nicolas, J. L., Poupart, N., Kervarec, N., Engelen, A., Walsh, R., Guerard, F., Bourgougnon, N., & Stiger-Pouvreau, V. (2014). Assessment of the spatial variability of phenolic contents and associated bioactivities in the invasive alga *Sargassum muticum* sampled along its European range from Norway to Portugal. *Journal of Applied Phycology*, 26(2), 1215–1230. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0198-x>
- ▶ [22]. Tussenbroek, B. I. Van. (2018). *Sargassum pelágico en las costas del Caribe Sargassum pelágico. Taller Sobre El Conocimiento de La Arribazón de Sargazo a La Costa Del Caribe Mexicano: Investigación, Manejo y Colaboración Multisectorial*, 5–6.
- ▶ [23]. Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, 23(4), 1–26. <https://doi.org/10.3390/molecules23040762>