



Universidad Nacional  
**SAN LUIS GONZAGA**



## **Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional**

Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales Creative Commons, permitiendo a otras solo descargar sus obras y compartirlas con otras siempre y cuando den crédito, pero no pueden cambiarlas de forma alguna ni usarlas de forma comercial.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>



EVALUACION DE ORIGINALIDAD

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **tesis** es:

**"Determinación de compuestos fenólicos y de la actividad antioxidante del alga Caulerpa filiformis que habita en la reserva nacional de paracas 2020"**

Presentado por:

**SARAVIA BORDA, JENNIFER**


**Bachiller** del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **6%** por el cual se otorga el calificativo de:

**APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.**

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Observaciones:

Ica, 25 de Enero de 2022

  
.....  
LUZ JOSEFINA CHACALTANA RAMOS  
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CHRLJ/osad

**UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”**

**VICERRECTORADO DE INVESTIGACION**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



**Título:**

**“Determinación de compuestos fenólicos y de la actividad antioxidante del alga *Caulerpa filiformis* que habita en la reserva nacional de paracas 2020”**

Salud pública y Conservación del Medio Ambiente.

**INFORME FINAL DE TESIS**

**AUTOR:**

**BACH. SARA VIA BORDA JENNIFER**

Ica – Perú

2021

## **DEDICATORIA**

Dedico con todo mi corazón a dios , por sobre todas las cosas que durante todo este largo camino recorrido me fortaleció llena de esperanza y fe , a mis padres , a mis Padrinos y Hermanos por su apoyo incondicional ,por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente gracias a dios por permitirme concluir una de las meta más importantes en el desarrollo de mi carrera profesional .

Gracias a la universidad nacional san Luis Gonzaga de Ica ,ala facultad de Farmacia y Bioquímica por permitirme formarme durante los cinco años de estudio y a todos los que fueron participes de mi formación.

Gracias al laboratorio de análisis instrumental , la biblioteca de la facultad de farmacia y bioquímica por brindarme los recursos necesarios para el desarrollo de todo el trabajo realizado.

Y un agradecimiento especial a mi asesor de esta tesis, Dr. Felipe surco Laos por la dedicación, orientación y apoyo que me ha brindado durante todo el desarrollo de mi proyecto del que siempre estaré en deuda.

Gracias por todo, Infinitas gracias .

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

Portada	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice	iv
- Índice de contenidos	iv
- Índice de tablas	v
- Índice de gráficos	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
I. Introducción	1
II. Estrategia metodológica	9
III. Resultados	15
IV. Discusión	22
V. Conclusiones	24
VI. Recomendaciones	25
VII. Referencias bibliográficas	26
VIII. Anexos	29

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Determinación de metabolitos secundarios en las fracciones del screening	15
Tabla N° 2: Lectura de absorbancia de las soluciones del patrón Ácido Gálico	16
Tabla N° 3: Lectura de absorbancia y su equivalente de ácido gálico de las soluciones del extracto de alga	17
Tabla N° 4: Lectura de absorbancia de las diluciones del patrón trolox	18
Tabla N° 5: Lectura de absorbancia y su equivalente de mM de trolox de las soluciones del extracto de alga por el método FRAP	19
Tabla N° 6: Lecturas de absorbancia de las diluciones del patrón trolox	20
Tabla N  7: Lectura de absorbancia de extracto de alga y su correspondiente % de inhibición y TEAC por DPPH	21

Gráfico N° 1: Curva de correlación entre la concentración de ácido gálico y la Absorbancia	16
Gráfico N° 2: Correlación entre la concentración del extracto y su equivalente en ácido gálico	17
Gráfico N° 3: Curva de correlación entre la concentración de trolox y la absorbancia	18
Gráfico N° 4: Correlación entre la concentración del extracto y su equivalente en mg de trolox (TEAC 17,8 mg de extracto es equivalente a 1 mM de trolox)	19
Gráfico N° 5: Curva de calibración de mM de trolox vs porcentaje de inhibición	20
Gráfico N° 6: Correlación entre la concentración del extracto el porcentaje de inhibición	21

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

### RESUMEN

La Reserva Nacional de Paracas es un área natural protegida que contiene una alta concentración de biodiversidad que ofrece diversos recursos marinos de alto valor, en la cual han ingresado especies invasoras modificándola estructura y funcionamiento de los hábitats de las especies autóctonas. Una de esas especies invasoras es la *Caulerpa filiformis* que se observa en las playas de la reserva durante el año. El objetivo del presente estudio fue determinar el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante del extracto etanólico del alga *Caulerpa filiformis* que se encuentra vara en las playas de la reserva. Para lo cual tomo muestra de algas en los meses de verano y se obtuvo un extracto etanolico por maceración en etanol de 96° que se llevó a sequedad, en el que se determinó la presencia de grupos de metabolitos secundarios, el contenido de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu y la actividad antioxidante por los métodos del radical libre DPPH y el método FRAP. Los resultados muestran la presencia de metabolitos secundarios tales como taninos, flavonoides, compuestos pólifenoles y triterpenos y/o esteroides; con un contenido de polifenoles de 0,022 mg AGE/mg de extracto; con respecto a la actividad antioxidante por el método de FRAP presenta un teac igual a 17,8 mg de extracto y por DPPH presenta un IC50 = 26,89 mg de extracto, concluyendo que el alga *C. filiformis* que se encuentra vara en las playas de la reserva presenta metabolitos secundarios, bajo contenido de compuestos polifenoles totales y una pobre actividad antioxidante por los métodos estudiados.

**Palabras claves:** Algas verdes, compuestos fenólicos y actividad antioxidante.

## ABSTRACT

The Paracas National Reserve is a protected natural area that contains a high concentration of biodiversity that offers diverse marine resources of high value, in which invasive species have entered, modifying the structure and functioning of native species habitats. One of these invasive species is the *Caulerpa filiformis* that is observed on the beaches of the reserve during the year. The objective of this study was to determine the content of total polyphenols and the antioxidant activity of the ethanolic extract of the alga *Caulerpa filiformis* found on the beaches of the reserve. For which I take a sample of algae in the summer months and an ethanol extract was obtained by maceration in 96 ° ethanol, that was brought to dryness, in which the presence of groups of secondary metabolites was determined, the content of total polyphenols per the Folin Ciocalteu method and the antioxidant activity by the DPPH free radical methods and the FRAP method. The results show the presence of secondary metabolites such as tannins, flavonoids, polyphenol compounds and triterpenes and / or steroids; with a polyphenol content of 0.022 mg AGE / mg of extract; Regarding the antioxidant activity by the FRAP method, it presents a teac equal to 17.8 mg of extract and by DPPH it presents an IC50 = 26.89 mg of extract, concluding that the alga *C. filiformis* that is found on the beaches of the reserve presents secondary metabolites, low content of total polyphenol compounds and a poor antioxidant activity by the studied methods.

**Keywords:** Green algae, phenolic compounds and antioxidant activity.

## I. INTRODUCCIÓN

Dentro de la política de desarrollo de la Organización Mundial de la Salud se han establecido una serie de objetivos para promoción del bienestar de los países y protección del planeta llamados Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), por lo tanto, toda política, plan y programa de desarrollo del país debería estar enmarcado en este contexto<sup>1</sup>.

Considerando que algunas de las iniciativas de los ODS están enfocados en abordar necesidades sociales como la salud y teniendo en cuenta que muchos estudios consideran las algas verdes como fuentes promisorias de compuestos bioactivos que podrían curar o aliviar muchas dolencias que padecen la población a nivel mundial, y que la composición y cantidad de los metabolitos en los recursos naturales varían en el tiempo y espacio, nace la inquietud de estudiar el alga *Caulerpa filiformis* de la reserva de Paracas desde la perspectiva de los posibles compuestos bioactivos que pueda poseer para un posterior aprovechamiento racional y sostenible<sup>1,2</sup>.

### Descripción de la realidad problemática

Los organismos marinos, especialmente las algas están captando la curiosidad de muchos investigadores como fuente promisoría de compuestos bioactivos debido a sus propiedades, la variedad de sus moléculas que día a día se descubre en la amplia biodiversidad de estas especies<sup>3</sup>. Los compuestos bioquímicos de muchas algas se usan actualmente como ingredientes con propiedades bioactivas en productos terapéuticos y cosmecéuticos. Estos últimos, productos cosméticos se diferencian de los productos cosméticos tradicionales porque presentan propiedades farmacológicas o terapéuticas<sup>4</sup>. Últimamente, existe un gran interés en los compuestos activos naturales como alternativa a las sustancias sintéticas. Aunque estos compuestos, a menudo, muestran una menor actividad, no son tóxicos ni generan residuos. Muchas enfermedades degenerativas están estrechamente relacionadas con el desequilibrio oxidativo. Las propiedades antioxidantes de los compuestos naturales de las algas pueden ayudar a combatir o contrarrestar muchas de estas enfermedades

## Objetivos de la investigación

### Objetivo General:

- El objetivo es determinar el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante del extracto de algas marinas de la especie *Caulerpa filiformis* que habita en la reserva nacional de Paracas.

### Objetivos Específicos:

- Identificar los compuestos bioactivos que presentan el extracto de algas marinas de la especie *Caulerpa filiformis* que habita en la reserva nacional de Paracas.
- Determinar el contenido de compuestos fenólicos del extracto de algas marinas de la especie *Caulerpa filiformis* que habita en la reserva nacional de Paracas.
- Determinar la actividad antioxidante que presenta el extracto de algas marinas de la especie *Caulerpa filiformis* que habita en la reserva nacional de Paracas.

## ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Alvarez-Gómez, F. et al. 2016 en Analysis of antioxidant capacity and bioactive compounds in marine macroalgal and lichenic extracts using different solvents and evaluation methods, utilizaron diferentes solventes para los extractos en los cuales determinaron la actividad antioxidante; siendo los de mayor ventaja H<sub>2</sub>O y MeOH 20% (v/v). encontrándose la mayor actividad usando el método de DPPH en las macroalgas rojas *Gracilaria longissima*, *Hydropuntia cornea*, *Halopithys incurva* y *Porphyra umbilicalis* y la menor actividad en el alga verde *Ulva rotundata*. Sin embargo, ellos recomiendan el método de ABTS para la determinación de la actividad antioxidante por lo que valora los compuestos en tanto en la parte lipofílica como hidrofílica del extracto, relacionado por último los compuestos bioactivos hallados con su actividad antioxidante (Alvarez-Gómez 2016)<sup>8</sup>

Turmo A. 2016. En su trabajo determino la cantidad de polifenoles, la actividad antioxidante y el nivel de retrainimiento de la digestión enzimática del almidón de extractos de las algas Espagueti de mar (*Himanthaliaelongata*), Kombu (*Laminaria ochroleuca*), Spirulina (*Spirulina máxima*) y Wakame (*Undariapinnatifida*), realizando una comparación cuantitativa entre ellas antes y después de la digestión. Se determinó que los extractos antes de la digestión liberaron mayor contenido de polifenoles y su correspondiente mayor actividad antioxidante. Resultando el alga Wakame con mayores propiedades funcionales (Turmo 2016)<sup>9</sup>.

Díaz D, et al. 2015 en su trabajo lograron evaluar y comparar las propiedades antioxidantes mediante ensayos *in vitro* de extractos acuosos de las algas roja *Bryothamniontriquetrum* y verde *Halimeda opuntia* y su correlación con el contenido de polifenoles. Empleando las técnicas *in vitro* para medir la capacidad reductora por el método de DPPH, así como la hemólisis inducida por AAPH y la peroxidación lipídica. Siendo la más activa la *B. triquetrum* una concentración de 128 mg/mL con una capacidad reductora de DPPH equivalente a  $CI_{50}=1,15 \pm 0,06$ ; inhibición de la peroxidación lipídica; equivalente  $CI_{50} = 5,09 \pm 0,25$  e inhibición de la hemólisis de 35 % con una concentración de 12 mg/mL. 35 %; sin embargo, en la *H. Opuntia* resulto mucho más eficiente en la inhibición lipídica e inhibición de la hemólisis con valores de  $CI_{50}=1,25 \pm 0,31$  mg/mL; 82% respectivamente también se hace referencia algunos posibles mecanismos de acción (Díaz et al 215)<sup>10</sup>.

Vidal A et al. 2009. Determinaron la actividad antioxidante de dos especies de algas marinas (*H. opuntia* y *H. monile*) mediante el método del radical DPPH• y el sistema  $\beta$ -Caroteno-ácido linoleico. Se halló el contenido en fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu a las porciones de ácidos fenólicos libres, ésteres solubles y ésteres insolubles de ácidos fenólicos y luego se identificaron y cuantificaron 8 ácidos fenólicos y cinámicos, siendo el ácido mayoritario el ácido salicílico. Las diferentes fracciones dieron valores altos de la actividad antioxidante. Se consideró que la actividad antioxidante en los extractos polares podría deberse a la presencia de los ácidos fenólicos y cinámicos. Para el alga *Halimeda monile*, se considera el primer reporte de la actividad antioxidante (Vidal A et al. 2009)<sup>11</sup>.

Echevarria B, et al. 2009, analizaron cinco macroalgas Colombianas: *Caulerpa mexicana*, *Laurencia sp.*, *Sargassumsp.*, *Dictyotasp.* y *Sargassumcymosum* de las cuales obtuvieron extractos metanólico y hexánico. determinaron el contenido de compuestos fenólicos totales mediante el método de Folin-Ciocalteau, y su actividad antiradicalaria por el método DPPH de los respectivos extractos. Todas las especies de macroalgas Colombianas presentaron actividad antioxidante, probablemente relacionada con los fenoles totales determinados. La especie *S.cymosum* resulto más activa en cuanto al contenido de compuestos fenólicos, actividad captadora de radicales libres, y es la segunda en el contenido de compuestos solubles en el extracto metanólico; considerando que estas algas Colombianas podrían tener una gran aplicación en el sector farmacéutico y alimentario (Echevarria B, et al. 2009)<sup>12</sup>.

Concepción A. et al 2001. Se estudió la actividad antifotoenvejecimiento de 5 extractos de algas marinas de las costas cubanas, mediante técnicas bioquímicas e histopatológicas. Se evaluó la actividad superóxido dismutasa *in vitro* de los extractos, demostrando uno de ellos poseer buena actividad enzimática, prediciendo que actúa como protector celular, frente a los radicales libres o sustancias capaces de formarlos, como el radical superóxido. Siendo la mejor actividad equivalente: SOD IC<sub>50</sub>=1,71 mg/mL. Con el objetivo de desorganizar las fibras colágenas, elásticas y otros constituyentes de la piel, responsables del envejecimiento de este órgano, este estudio se realizó en ratones irradiados con luz UvC (Concepción A. et al 2001)<sup>13</sup>.

## MARCO TEÓRICO

**Las algas marinas.** -En algunas regiones del mundo forman parte de la dieta tradicional, sobre todo en Asia, muchas contienen alto valor nutricional como fuentes de los principales macronutrientes: como proteínas y fibras dietarias entre otros (ONU 2019)<sup>1</sup>, muchas de ellas han sido utilizadas como fitofármacos desde épocas ancestrales contra diferentes patologías (Valdes y col. 2008)<sup>2</sup>. En los últimos años, se ha incrementado las investigaciones sobre las posibles propiedades terapéuticas de las algas marinas motivado principalmente por la presencia de metabolitos secundarios bioactivos hallados (Huerta 1960)<sup>3</sup>.

Diversas investigaciones *vitro e in vivo* en modelos animales, así como estudios epidemiológicos, han demostrado una correspondencia directa e inversa entre la ingesta de algas en algunas poblaciones y la incidencia de algunas patologías en estas (Noriega 2016, Díaz 2015)<sup>4,10</sup>.

**Alimento nutracéutico o funcional.**- En general se considera aquel alimento que por sus constituyentes orgánicos activos, suministran beneficios más de la simple nutrición y puede prevenir alguna dolencia o enfermedad o promover la salud (Vinson ,1999). Según la academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos, es aquel alimento en el cual la concentración de uno o más ingredientes o constituyentes que se le atribuye una propiedad ha sido manipulada para aumentar su contribución a una dieta saludable (De Alva y Luna-Pabello 2016)<sup>14</sup>.

**Metabolitos secundarios.**-Son sustancias no nutritivas que median en el metabolismo secundario de los vegetales estas pueden ser: colorantes (pigmentos), compuestos aromáticas, sustancias reguladoras del crecimiento, y otros, que no poseen una función nutricional clásicamente determinada, o no son clasificados como esenciales para la salud humana, aunque que pueden tener un beneficio específico en la prevención o tratamiento de alguna enfermedad, son los llamados fitoquímicos o sustancias bioactivas. Las sustancias bioactivas o fitoquímicos que se encuentran en frutas y verduras, y en productos lácteos derivados de los procesos de fermentación ácido láctica como el yoghurt, leche cortada, y verduras fermentadas (Palencia 2019)<sup>15</sup>.

**Compuestos bioactivos.**- sustancia química que se encuentra en pequeñas cantidades en los vegetales (como frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales) y ciertos alimentos fermentados. Los compuestos bioactivos se les atribuyen que pueden promover la salud humana. Actualmente se estudian en la prevención del cáncer, las enfermedades del corazón y otras enfermedades. Los ejemplos de compuestos bioactivos incluyen el licopeno, el resveratrol, los lignanos, los taninos, losíndoles entre otros (Instituto Nacional del cáncer 2019)<sup>16</sup>.

**Actividad antioxidante.** - Es la propiedad o capacidad de un compuesto a muy baja concentración de inhibir la degradación oxidativa (por ejemplo, la peroxidación lipídica), de modo que actúa principalmente, gracias a su propiedad de interaccionar con los radicales libres

y, por lo que, recibe la denominación de antioxidante terminador de cadena. Sin embargo, se debe diferenciar entre actividad estabilizadora de radicales libres o antiradicalaria (scavenger) y actividad antioxidante. La primera está definida por la reactividad de un antioxidante frente a los radicales libres, que es caracterizado por la velocidad de dicha reacción. La segunda regula la capacidad para retrasar la degradación oxidativa (Berradre et al 2013)<sup>17</sup>.

## **MARCO CONCEPTUAL**

**Compuestos fenólicos.** -Son sustancias de naturaleza orgánica en cuyas estructuras moleculares poseen al menos un grupo fenol, un anillo aromático o bencénico unido a un grupo hidroxilo. Muchos son sintetizados por las plantas y se les conoce como metabolitos secundarios, poseen la característica biológica de ser productos secundarios de su metabolismo. En general son sintetizados por una de las dos vías biosintéticas: la ruta del ácido shikímico o la vía del ácido malónico como los flavonoides (Lincoln y Zeiger 2006)<sup>18</sup>.

**Antioxidante:** Cualquier sustancia o molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas (sustratos biológicos como lípidos, proteínas ó ácidos nucleicos). El proceso de oxidación de un sustrato puede ser iniciado por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres, y aquellas especies que son suficientemente reactivas para provocar la oxidación de sustratos (Berradre et al 2013)<sup>17</sup>.

**Radical libre.**- cualquier especie que en su estructura posean su orbital más externo a lo menos un electrón desapareado, pero a su vez capaz de existir en forma independiente. Los radicales libres son sustancias químicas (átomo, molécula o ion) muy reactivas que enclava oxígeno en las células blanco, produciendo la oxidación de sus partes, y que provocan cambios que aceleran el envejecimiento celular(Lincoln y Zeiger 2006)<sup>18</sup>.

**Flavonoides.**- (del latín *flavus*, "amarillo") Son compuestos fenólicos elaborados por las plantas (metabolitos secundarios). Son sintetizados a partir la fenilalanina y la malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuya estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa. La estructura base es un esqueleto de C6-C3-C6, a partir del cual puede

sufrir muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, dar origen a una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua (enciclopedia de salud Medypsi 2019)<sup>19</sup>.

En la revisión bibliográfica realizada no se han encontrado reportes sobre los compuestos fenólicos presente en el alga *Caulerpa filiformis* que es un habitante natural de la reserva nacional de Paracas y sobre la actividad antioxidante es muy limitados los estudios hallados por lo que nace el problema de investigación.

### **PROBLEMA GENERAL**

¿Cuál es el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante presente en el alga *Caulerpa filiformis* que habita en la Reserva Nacional de Paracas?

### **JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA**

Las algas al igual que muchas plantas, son bien conocidas debido a la diversidad de sus sustancias bioactivas que poseen denominados metabolitos secundarios. Actualmente se está mostrando un gran interés en los compuestos activos naturales como sustitutos a las sustancias sintéticas. Aunque los compuestos naturales por lo general, muestran una menor actividad, son de menor toxicidad y no generan residuos. Muchos de los antioxidantes presentes en extractos de algas presentan especial interés para su uso en cosméticos y productos nutracéuticos por sus posibles propiedades curativas de muchas enfermedades (tuberculosis, artritis, resfriados e influenza, infestaciones de lombrices y tumores).

En este sentido creemos que la importancia de este estudio está basada en la determinación de los posibles compuestos activos de esta especie y su relación con la actividad antioxidante que posean (Barufi et al 2011, Batista-Gonzales et al. 2009)<sup>5-7</sup>.

Por todo lo mencionado anteriormente se planteó como objetivo para el presente trabajo de investigación:

- Determinar el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante del extracto de algas marinas de la especie *Caulerpa filiformis* que habita en la reserva nacional de Paracas.

Para esto se desarrollaron los siguientes capítulos:

- Capítulo I: Introducción, donde podemos evidenciar la realidad problemática del objeto de estudio del presente trabajo, la importancia de realizarlo, los antecedentes previos de trabajos similares y las bases teóricas relacionadas al tema de estudio.
- Capítulo II: Estrategia Metodológica, donde se explicara de forma breve y concisa los métodos usados para el desarrollo del presente trabajo incluyendo la población y muestra a estudiar, además de los cálculos en los programas estadísticos respectivos.
- Capítulo III: Resultados, donde evidenciaremos los resultados de todos los procesos analíticos que se usaron para obtener nuestro objetivo
- Capítulo IV: Discusión, donde entraremos a detallar y comparar el resultado obtenido con los resultados de los antecedentes investigados y la relación que guardan.
- Capítulo V: Conclusiones, se explicara de forma concreta las conclusiones obtenidas al realizar el estudio.
- Capítulo VI: Recomendaciones, donde se brindara las sugerencias para la mejora del problema teniendo en cuenta los resultados y conclusiones.

## **II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA**

### **2.1. Tipo y diseño de Investigación**

### 2.1.1. Tipo de investigación

- **Básica:** Se caracteriza por el interés en la adquisición de conocimientos básicos o fundamentales con el fin de acrecentar el conocimiento de los principios esenciales de la naturaleza o de la realidad misma. Es el caso de la presente investigación donde estableceremos los conocimientos básicos sobre la posible presencia de metabolitos secundarios.

### 2.1.2. Nivel de Investigación

- **Descriptivo:** Consiste en llegar a conocer las situaciones, costumbres y actitudes predominantes a través de la descripción exacta de las actividades, vamos a Examinar características del problema escogido en la cual describimos los métodos y técnicas analíticas aplicadas para la adquisición de los conocimientos básicos sobre la composición de metabolitos secundarios y la actividad antioxidante por los métodos aplicados.
- **Explicativo:** Se encarga de buscar el porqué de los hechos mediante el establecimiento de relaciones causa-efecto. En donde pretendemos encontrar la relación entre la presencia de los metabolitos secundarios y la posible actividad antioxidante presentada por el extracto del alga *C. filiformis*

### 2.1.3. Diseño de Investigación

- Diseño experimental.

### 2.1.4. Población y muestra

- La Población de estudio esta constituidas por la producción de algas marina *Caulerpa filiformis* que habita en la reserva nacional de Paracas.
  - La muestra está constituida por la selección al azar de 5 kg de algas recorridas en las playas de la Reserva Nacional de Paracas.

### 2.1.5. Variables

- **Variable Dependiente:**

Compuestos fenólicos

- **Variable Independiente:**

Extracto del alga *Caulerpa filiformis*

## 2.2. Técnicas y procedimientos de recolección de datos.

### 2.2.1. Tratamiento de la muestra

**Sólidos totales. - AOAC 925.03B Solids (Total) and Moisture.**

Determinación: Se pesó aproximadamente 2 g con exactitud de la muestra molida y tamizada en una placa Petri, previamente secada a 130° por una hora, enfriada en un desecador y pesada cuando alcanzo la temperatura ambiente.

Se destapo la placa con muestra y se puso a secar a  $130 \pm 3^\circ$  por una hora (desde cuando la estufa alcanzo los 130°), se cubrió la placa con su tapa dentro de la estufa ,se transferió al desecador y se pesó cuando alcanzo la temperatura ambiente. Se reportó la pérdida de peso como humedad (AOAC 2012)<sup>20</sup>.

**Sólidos solubles: AOAC 932.12.**

Se determinó por el método refractométrico, en el cual se preparó una suspensión al 10 % y luego de calibrar el equipo se realizó la medición directamente (AOAC 2012)<sup>20</sup>.

**pH. - AOAC 981.12 pH**

Se determinó por el método electrométrico, en el cual se preparó una suspensión al 10 % y luego de calibrar el equipo se realizó la medición directamente (AOAC 2012)<sup>20</sup>.

### 2.2.2. Determinación de compuestos bioactivos

Del extracto de la harina del alga *Caulerpa filiformis* se procedió a realizar reacciones de coloración o precipitación para identificar grupos funcionales y grupos de metabolitos presentes.

### **Detección de taninos**

Reacción de gelatina-Sal.- Se tomaron tres tubos de ensayo a los que se le adicionaron 0,5 mL de extracto al 1° tubo, 1 mL de NaCl 5 %; al 2° tubo gelatina al 1 % y al tubo 3° la solución gelatina – sal, la aparición de un precipitado con este último reactivo o con ambos 1° y 2° tubo indica la presencia de taninos, por el contrario si únicamente ocurre con el 1° reactivo, podría ser un falso positivo (Lock 1994)<sup>21</sup>.

Reacción de Cloruro Férrico.- Se Adicionó en un tubo de ensayo 0,5 mL de la fracción A y se añadió una gota de una disolución acuosa de FeCl<sub>3</sub> al 1 %. La aparición de colores azul-negro, verde o azul verdoso indica una reacción positiva (Lock 1994)<sup>21</sup>.

### **Detección de flavonoides**

Reacción de Shinoda.- Se Colocó 20 gotas del extracto en un tubo de ensayo, agregando limaduras de Mg y 3 gotas de HCl concentrado.

Se observó el cambio de color.

La reacción es positiva cuando aparecen tonos de color rojo, anaranjado y violeta.

### **Detección de aminoácidos**

Reacción de Ninhidrina.- En papel filtro en tiras se colocó con una pipeta capilar:

- Una gota de extracto + una gota de reactivo Ninhidrina al 2%.
- Blanco: una gota de solución etanólica de Ninhidrina al 2%.

Luego se secó a temperatura ambiente las tiras de papel y se procedió a colocar en una plancha calefactora hasta la aparición de un color en el blanco. Si el papel de la muestra presenta un color azul violáceo la reacción es positiva (Lock 1994)<sup>21</sup>.

### **Detección de alcaloides**

Se usaron 4 tubos de ensayo y a cada uno se colocaron 4 mL de extracto y 1 mL de HCl 1% y se procedió con la reacción de precipitación:

- Dragendorff: Se añadió de 2-4 gotas y se observara un precipitado anaranjado.
- Mayer: Se añadió 2 - 4 gotas y se observara un precipitado blanco.
- Hager: Se añadió 2 - 4 gotas y se observara un precipitado amarillo.

### **Detección de saponinas**

Prueba de espuma. - En dos tubos de ensayo se agito 2,5 mL del extracto por un minuto. Se dejo reposar 15 minutos y observando la formación de espuma. Se considera negativa si la altura de la espuma es menor de 5 mm<sup>31</sup>.

#### **2.2.3. Determinación de compuestos fenólicos totales**

La determinación se efectuó por el método de Folin-Ciocalteu. Se preparó con el patrón ácido gálico, una curva de calibración en el rango de concentración de 1-5 mg/L. Los extractos de la muestra fueron evaluados a una concentración de 0,1 mg/mL.

A 100 µL del extracto de la muestra se añadió 250 µL de la solución de Folin-Ciocalteu (diluido 1 en 2 con agua milli-Q), se sónico por 5 min, posteriormente se añadió 1250 µL la solución de carbonato de sodio al 20% y 400 µL de agua ultra pura, agitando vigorosamente, se cubrió de la luz directa y se dejo reposar por 90 minutos a temperatura ambiente.

Se midió las absorbancias respectivas a 760 nm en un espectrofotómetro. Las determinaciones fueron por triplicado y el contenido de compuestos fenólicos totales se expresa en mg de ácido gálico/g de extracto (Berradre et al 2013)<sup>17</sup>

#### **2.2.4. Métodos para determinar la actividad antioxidante**

**Determinación de actividad antioxidante por método DPPH:** Se evaluó la capacidad antioxidante por método del radical 2,2- difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). El cual fue modificado por Brand-Williams et. al (1995), que es el método empleado actualmente.

Se utilizó 10 mg del reactivo DPPH analítico que se diluyó en 10 ml de metanol analítico y se midió su absorbancia en un espectrofotómetro la cual debió estar entre 0,9 – 1,1 a una longitud de onda de 517 nm, en donde el radical tiene su máximo pico de absorción y por ende un comportamiento lineal de las absorbancias al mezclarse con el extracto. Luego en un vial se colocó 2,9 mL de reactivo preparado, 100 µL de los extractos respectivos se agitó y se dejó reposar en la oscuridad por 30 minutos, luego se dio lectura a la absorbancia a 517nm, las muestras se determinaron por triplicado (Molyneux 2004)<sup>22</sup>.

#### **Determinación de actividad antioxidante por método FRAP.-**

Primero se preparó el reactivo de trabajo, que consiste en una mezcla de la solución tampón acetato 300 mM (pH = 3,6), el reactivo TPTZ 10 mM en HCl 40 mM y la solución de tricloruro férrico (FeCl<sub>3</sub>. 6H<sub>2</sub>O) 20 mM en una proporción 10:1:1 (v:v:v).

Se adicionó 3 mL de este reactivo preparado en una cubeta, y se midió la absorbancia a 593 nm. Posteriormente, se agregó 100 µL de una de las soluciones de los extractos a diferentes concentraciones preparadas y se agitó en un vórtex durante 30 segundos. Se dejó incubar por 6 minutos a temperatura ambiente, se realizó la medición de la

absorbancia nuevamente a 593 nm, a la que se resta el valor de la absorbancia inicial. De igual forma se trató el patrón (trolox en una concentración de 0.0625 – 0,5 M) para realizar la curva de calibración.

Las muestras se ensayaron por triplicado y se expresó como miliequivalentes de trolox (García et al. 24)<sup>23</sup>.

### **2.3. Técnicas de procesamiento de la información**

#### **Recolección de datos analíticos.**

Se realizaron en los cuadernos de trabajos o hoja de ensayo donde se registró los resultados de las técnicas analíticas aplicadas en cada caso.

#### **Procesamientos de datos.**

Estos fueron tratados por métodos estadísticos paramétricos y no paramétricos y a través de las hojas de cálculos del programa Excel, lo que permitirá obtener una información más confiable y su respectivo tratamiento adecuado.

### **2.4. Aspectos éticos**

Los datos obtenidos por el instrumento de recolección fueron usados de forma confidencial y con fines exclusivos para esta investigación.

## **III. RESULTADOS**

### **Tabla1. Determinación de metabolitos secundarios en las fracciones del screening.**

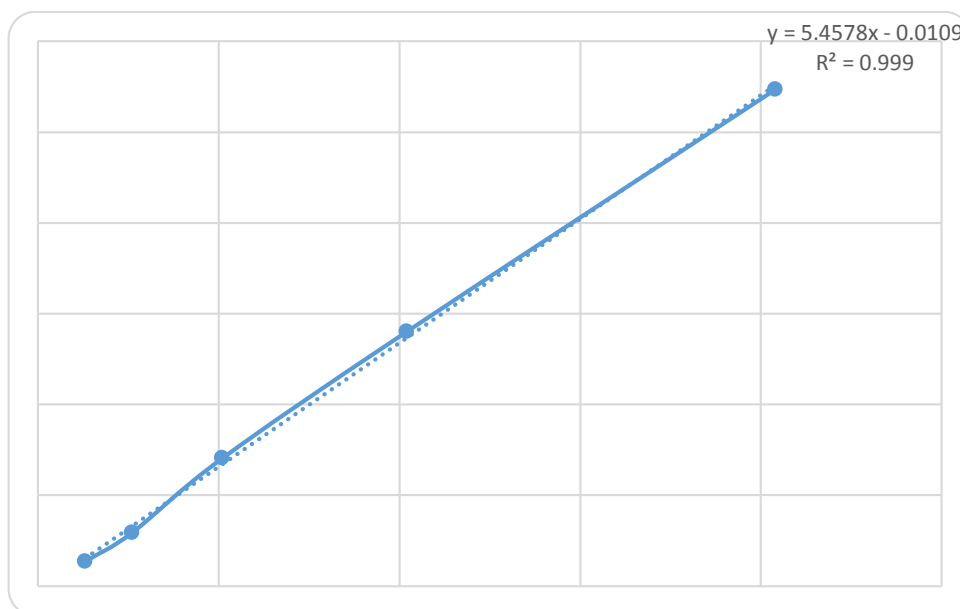
<b>Fracción</b>	<b>Reacción</b>	<b>Metabolito</b>	<b>Resultado</b>
A	Shinoda FeCl <sub>3</sub> Gelatina Ninhidrina	Flavonoide Comp. fenólicos Taninos A.a. Libres	+ + - -
B	Liebermann- Burchard Borntragen	Triterpenos y/o esteroides Antraquinonas	+ -
C	Dragendorff, Mayer y Wagner Liebermann- Burchard	Alcaloides  Triterpenos y/o esteroides	-  +
D	Dragendorff, Mayer y Wagner Shinoda Liebermann- Burchard Rosenheim	Alcaloides  Flavonoides Triterpenos y/o esteroides Leucoantocianidinas	-  - + -
E	Shinoda Rosenheim	Flavonoides Leucoantocianidinas	+ -
F	Espuma	Saponinas	-

### Determinación De Polifenoles

**Tabla 2. Lectura de absorbancia de las soluciones del patrón Acido Gálico**

Concentración de AG ( mg/mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Promedio de absorbancia
0,013	0.051	0,057	0,054
0.026	0,115	0,118	0,117
0,51	0,280	0,284	0,282
0,102	0,555	0,565	0,560
0.204	1,083	1,105	1,094

Nota: AG = ácido gálico

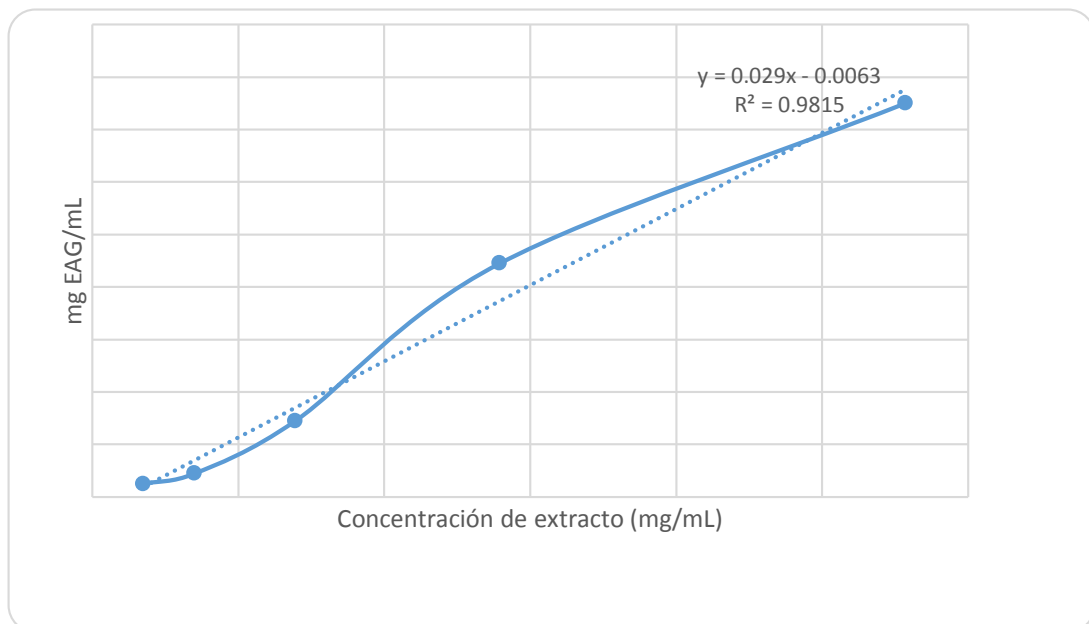


**Figura 1. Curva de correlación entre la concentración de ácido gálico y la absorbancia**

**Tabla 3. Lectura de absorbancia y su equivalente de ácido gálico de las soluciones del extracto de alga**

Extracto (mg/mL)	Absorbancia	absorbancia	Promedio de absorbancia	mg EAG/mL
0,35	0,016	0,012	0,014	0,005
0,70	0,042	0,038	0,040	0,008
1,39	0,155	0,145	0,150	0,029
2,79	0,479	0,470	0,475	0,089
5,57	0,804	0,815	0,810	0,150

Nota: EAG = equivalente de ácido gálico



**Figura 2. Correlación entre la concentración del extracto y su equivalente en ácido gálico**

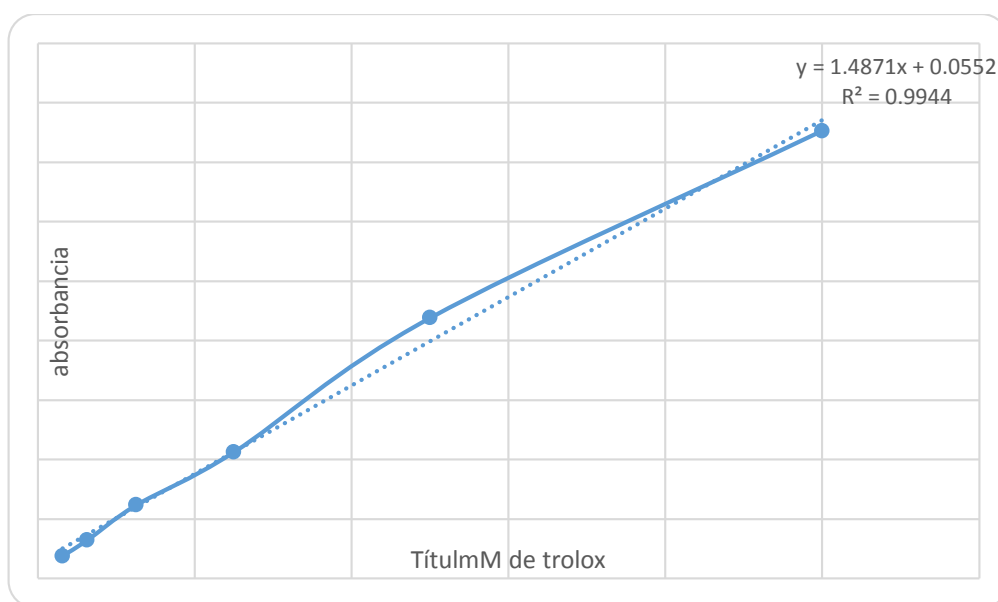
1mg del extracto de alga contiene 0,022mg de compuestos polifenólicos

### Determinación de Actividad Antioxidante

#### METODO FRAP

**Tabla 4. Lecturas de absorbancia de las diluciones del patrón trolox**

Concentración de trolox (mM)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Promedio de absorbancia
0,0312	0.073	0,079	0,054
0,0625	0,125	0,133	0,129
0,125	0,247	0,246	0,247
0,250	0,424	0,426	0,425
0.50	0,870	0,884	0,877
1,00	1,500	1,510	1,505

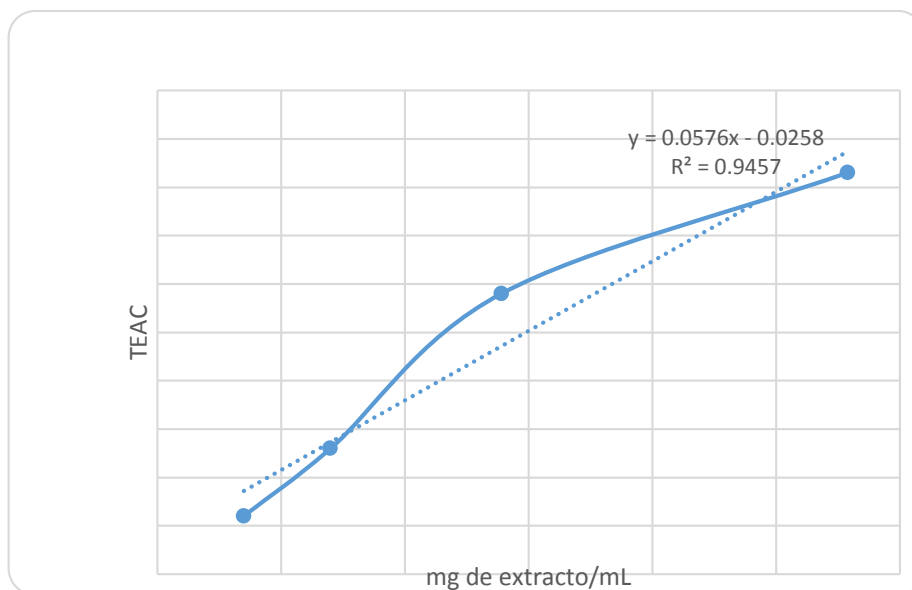


**Figura 3. Curva de correlación entre la concentración de trolox y la absorbancia**

**Tabla 5. Lectura de absorbancia y su equivalente de mM de trolox de las soluciones del extracto de alga por el método FRAP.**

Extracto (mg/mL)	Absorbancia	absorbancia	Promedio de absorbancia	TEAC
0,35	0,033	0,028	0,031	-0,016
0,70	0,076	0,069	0,073	0,012
1,39	0,166	0,170	0,168	0,076
2,79	0,243	0,240	0,242	0,126
5,57*				

\*Los valores para esta concentración no fueron reproducibles

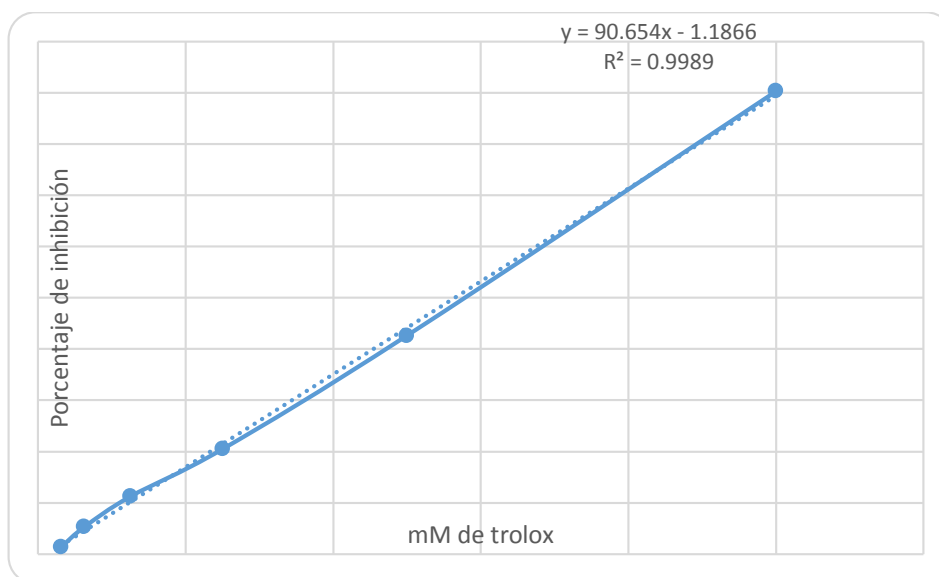


**Figura 4. Correlación entre la concentración del extracto y su equivalente en mg de trolox (TEAC 17,8 mg de extracto es equivalente a 1mM de trolox)**

#### METODO DPPH

**Tabla 6. Lecturas de absorbancia de las diluciones del patrón trolox**

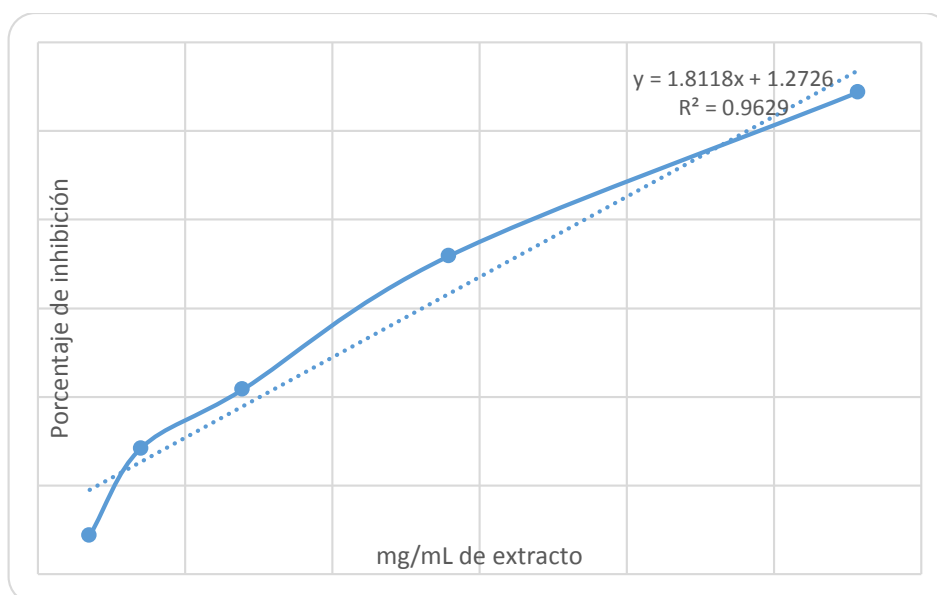
Concentración de trolox (mM)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Promedio de absorbancia	Porcentaje de inhibición
0,0312	1,015	1,017	1,016	1,36
0,0625	0,970	0,980	0,975	5,33
0,125	0,914	0,913	0,914	11,26
0,250	0,815	0,824	0,819	20,49
0.50	0,588	0,594	0,591	42,62
1,00	0,103	0,097	0,100	90,29
Lectura blanco	1,030			



**Figura 5. curva de calibración de mM de trolox vs porcentaje de inhibición**

**Tabla 7. Lectura de absorbancia de extracto de alga y su correspondiente % de inhibición y TEAC por DPPH**

Extracto (mg/mL)	Abs 1	Abs 2	PromAbs	% Inhibición	TEAC
0,35	1,021	1,020	1,021	0,87	0,023
0,70	1,002	0,999	1,001	2,80	0,044
1,39	0,985	0,989	0,987	4,17	0,069
2,79	0,956	0,956	0,956	7,18	0,092
5,57*	0,919	0,917	0,918	10,87	0,133
Lectura blanco	1,030				



**Figura 6. Correlación entre la concentración del extracto el porcentaje de inhibición.**

$$IC_{50} = 26.89 \pm 0,24 \text{ mg/mL de extracto}$$

#### IV. DISCUSION

El género *Caulerpa* está constituido por unas 75 especies, originarias de las costas de Australia y Japón desde donde se ha expandido a otras regiones (Moreira-reyes et al, 2006)<sup>24</sup> y se les

considera invasora en otras regiones. En el presente estudio que tuvo como objetivo la determinación de metabolitos secundarios, compuestos polifenólicos totales y actividad antioxidante del extracto etanólico del alga *Caulerpa filiformis*, la muestra fue tomada de las algas varadas en las playas de la reserva de Paracas en los meses de febrero- marzo, de la revisión bibliográfica solo pudimos encontrar un trabajo realizado con la misma especie, la misma zona realizado por Mamani 2019<sup>25</sup>, en la Universidad Nacional Agraria La Molina; sin embargo, en este trabajo las algas se obtuvieron de las rocas submarinas mediante el empleo de buzos y en los meses de agosto setiembre; así mismo, se trabajó con extractos metanólicos lo que podrían explicar la diferencias encontradas en la determinación de grupos de metabolitos secundarios. Mientras que Mamani reporta presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenos y/o esteroides, alcaloides y taninos en nuestro caso solo se determinaron solo se detectó flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenos y/o esteroides como se muestra en la tabla 1. En otras especies de algas verdes como la *Caulerpa mexicana* reporta una mayor diversidad de metabolitos secundarios (Echevarria y col 2009), el contenido de estos metabolitos es muy inferior también si se compara con los que se reporta para algas pardas y rojas (Alvarez-Gómez et al. 2016; Concepción et al. 2001; Vidal et al. 2015).

La determinación de compuestos fenólicos totales se realizó por el método de Folin Ciocalteu para lo cual primero realizamos una curva de calibración con el ácido gálico como patrón como se muestra en la tabla 2 y la figura 1 respectivamente, posteriormente se realizó varias diluciones del extracto etanólico a cual se determinó el contenido de polifenoles según se puede apreciar en la tabla 3 y la figura 2 , de lo cual se puede deducir que un miligramo de extracto de alga contiene un equivalente de 0,022mg equivalentes de ácido gálico, este es un valor bastante bajo en comparación con los reportes para algas rojas y pardas, y sin bien es cierto las algas verdes presenta valores inferiores, nuestro valor 0,022 mg AGE/mg de extracto (22 mg de AGE/g) se asemejan a lo reportado por Mamani 2019<sup>25</sup>, (18,78±0,31 mg de AGE/g extracto) a pesar de las razones ante dicha, y la pequeña diferencia podrían ser explicados por la diferencias de parámetros en la obtención de las muestras y su tratamiento explicados anteriormente ((Alvarez-Gómez et al. 2016; Vidal et al. 2015; Echevarria et al 2009).

En lo referente a la actividad antioxidante se determinó en una primera instancia por el método FRAP, debemos tener en consideración que este método está basado en el mecanismo de transferencia de electrones simples (SET), en el cual se obtuvo un TEAC de 17,8 mg de extracto (tabla 5, y figura 4), lamentablemente en la búsqueda realizada no se encontró reportes de la actividad antioxidante de esta especie, ni su género por este método, por lo que nos vemos imposibilitados de hacer una comparación directa; sin embargo, podemos asumir que es un valor bajo comparado con los valores reportados para algas pardas comestibles (Echevarria et al 2009). En cuanto a la actividad antioxidante por el método del radical libre DPPH tabla y que obtuvo un valor de  $IC_{50}$  de  $26,89 \pm 0,24$  mg de extracto, siendo esto un valor discordante con lo reportado por Mamani, que fue de  $IC_{50}$   $2,42 \pm 0,04$  mg/ mL de extracto; debemos recordar que cuando menor sea el valor  $IC_{50}$  significa que es más activo, a pesar de presentar contenido de compuestos fenólicos muy parecido se debe tener en cuenta que Mamani reporto otros metabolitos, no detectados en nuestro estudio y muchos de ellos también se relacionan con actividad antioxidante como: alcaloides y flavonoides en algunas de fracciones que nuestro estudio dio negativo. Asimismo tener en cuenta que el método del radical libre emplean los mecanismos de transferencia de átomos de hidrógenos (HAT) y transferencia de electrones simples (SET) por lo que se esperaría un valor menor.

Una observación obtenida en el presente trabajo es que, si no se realiza un adecuado lavado de las algas, para eliminar el alto contenido de sal que poseen por el medio natural en que se encuentran, nos puede conducir a error en los resultados, ya que se pudo apreciar que un alto contenido de sal interfiere con los reactivos de Folin Ciocalteu para la determinación de polifenoles; así como, del radical libre DPPH, formando precipitado

## V. CONCLUSIONES

- En el screening fitoquímico, el extracto etanólico de *C. filiformis* proveniente de la reserva de Paracas se evidenciaron presencia de grupos de metabolitos secundarios como: taninos, compuestos fenólicos, flavonoides y triterpenos y/o esteroides.

- El extracto etanólico de *C. filiformis* de la reserva de Paracas contiene compuestos fenólicos en baja concentraciones.
- El extracto etanolico de *C. filiformis* proveniente de la reserva de Paracas presenta una baja actividad antioxidante por el método del radical libre DPPH y por el método FRAP.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda profundizar los estudios de ésta especie vista la diferencia obtenida con el estudio de Mamani, considerando las épocas de cosecha y las condiciones de extracción de la misma.

- Realizar estudios de la actividad antioxidante por otros métodos como ABTS y CUPRAC.
- Realizar la identificación de los metabolitos secundarios para su posterior aprovechamiento, ya sea en el campo agronómico y/o medicinal.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ONU                    objetivos                    de                    desarrollo                    sostenible  
<https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/> Visualizado el 8/11/2019

2. Alfonso Valdés, Yalile; Blanco Soto, Mayla F. Algas, aliadas en el pasado y sustento para el futuro Tecnología Química, vol. XXVIII, núm. 3, septiembre-diciembre, 2008, pp. 46-50 Universidad de Oriente Santiago de Cuba. Cuba. ISSN: 0041-8420
3. Huerta M. Laura aprovechamiento de las algas marinas Boletín de la sociedad botánica de México N° 25 62 – 67 1960.
4. Noriega Cardó Cristobal Algas marinas para la alimentación de los peruanos Revista Turismo y Patrimonio N° 10 Universidad de San Martín de Porres Perú Julio 2016
5. Barufi JB, Korbee N, Oliveira MC, Figueroa FL. Effects of N supply on the accumulation of photosynthetic pigments and photoprotectors in *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta) cultured under UV radiation. J. Appl. Phycol. 2011. 23: 457-166.
6. Batista-González AE, Charles MB, Mancini-Filho J, Vidal Novoa A. 2009. Las algas marinas como fuentes de fitofármacos antioxidantes. Rev. Cuba. Plantas Med. 14: 1-18.
7. Borowitzka MA. High-value products from microalgae-their development and commercialisation. J. Appl. Phycol. 2013. 25: 743-756
8. Alvarez-Gomez F, Korbee, N y [Figueroa, Félix L.](#) Análisis de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos en extractos macroalgales y liquénicos mediante la aplicación de diferentes solventes y métodos de evaluación. *Cienc. mar* [online]. 2016, vol.42, n.4, pp.271-288
9. Turmo I, A. Capacidad antioxidante y cuantificación de polifenoles extractables in vitro en algas de consumo alimentario. FACULTAD DE MEDICINA Universidad de Lleida 2016
10. Díaz D, Méndez W, Mara de Oliveira A, Zaldívar C, Mancini-Filho J y Vidal A. Comparación de las propiedades antioxidantes y contenido de polifenoles de extractos acuosos de las algas marinas *Bryothamnion triquetrum* y *Halimeda opuntia*. *ArsPharm.* 2015. vol.56 no.2 Granada

11. Vidal A, Silva de Andrade-Wartha R, de Oliveira e Silva M, Pavan R, Lima A, Fallarero A, Batista AE, Mancini-Filho J. Actividad antioxidante y polifenoles de las algas marinas *Halimeda opuntia* y *Halimedamonile*. *ArsPharm*,2009, Vol.50 n°1;24-31
12. Echavarría B, Franco A, Martínez A. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del caribe colombiano. *vitae*, revista de la facultad de química farmacéutica volumen 16 número 1, año 2009.universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. págs. 126-131
13. *Concepción A, Fernández M, Fernández A, Mata A y del Vallín T.* Evaluación de extractos de algas marinas, con actividad antioxidante y reorganizadora de la fibra colágena. *RevCubanaInvestBioméd* 2001 v.20 n.1 Ciudad de la Habana ene.-mar.
14. De Alva M y Luna-Pabello V. Determinación del contenido de proteína y nutraceuticos en la biomasa de *Paramecium Aurelia*. Departamento de Biología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México 2016
15. Palencia MY. Sustancia Bioactivas en alimentos (consultado marzo 2019). Disponible en:  
[http://www.unizar.es/med\\_naturista/bioactivos%20en%20alimentos.pdf](http://www.unizar.es/med_naturista/bioactivos%20en%20alimentos.pdf)
16. Instituto Nacional del Cáncer. Diccionario. Departamento de salud y servicios humanitarios de EEUU. (consultado 21 de febrero 2019) Disponible en:  
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/compuesto-bioactivo>
17. Berradre M, González C, Sulbarán B y Fernández V. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de extractos de semilla de uva (*Vitisvinifera*) variedad Malvasia y Tempranillo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 2013, 30: 619-631
18. Taiz, Lincoln y Eduardo Zeiger. Secondary Metabolites and Plant Defense". *PlantPhysiology, FourthEdition*. SinauerAssociates, Inc. 2006. Capítulo 13.
19. Enciclopedia de salud de Medypsi. (consultado febrero 2019). Disponible en:  
<https://www.encyclopediasalud.com/definiciones/radical-libre/>

(Consultado febrero 2019) Disponible en:

<https://www.botanicalonline.com/medicinalesflavonoides.htm>

20. AOAC. Official Methods of Analysis 19th Edition. Rockville, Maryland, AOAC International Editorial. USA 2Ma012
  21. Lock de Ugaz, O. Investigación Fitoquímica. Métodos de Estudios de Productos Naturales. Fondo Editorial, PUCP. Lima-Perú, 1994. p. 7.
  22. Molyneux P. The use of the stable free radical DPPH for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 2004; 26 (2): 211-219.
  23. García A, de Pascual T, Santos C. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food chemistry* 2004; 84: 13-18.
  24. Moreira-Reyes A, Soler Onis E y Gil-Rodríguez M. Análisis del género *Caulerpa* v. Lamouroux en los herbarios TFC, BCM y A. Santos. *Rev. Acad. Canar. Cienc*, 2005. XVII (Num. 4), 43-55
- Mamani J. Uso potencial del alga *Caulerpa filiformis* (CHLOROPHYTA), procedente de las Bahías de Paracas y Sechura, como fuente de principios activos. Tesis de grado. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2019 <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3926>

