

USO DE LA IRRADIACIÓN GAMMA EN LA EXTRACCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS PRESENTES EN ALGAS ROJAS.

Luis Rojo del Olmo ⁽¹⁾, María José Pablo ⁽²⁾, Emilia Croce ⁽³⁾, Mónica Pérez ⁽²⁾, Elisa Parodi ⁽³⁾, Noemí Andreucetti ⁽²⁾

(1) Instituto de Ciencia y Tecnología de Polimeros, CSIC, y CIBER-BBN, C/Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid, ESPAÑA.

(2) Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, ARGENTINA.

(3) Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur y CONICET-BBca-IADO, Lab. Ficología Aplicada. Bahía Blanca, ARGENTINA.

(*) E-mail: mperez@criba.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Además de las difundidas aplicaciones de las algas marinas como fuente de hidrocoloides (agar, carragenanos y alginatos), en los últimos años estos organismos han recibido mucha atención como fuentes potenciales de sustancias biológicamente activas y compuestos esenciales para la nutrición humana. El amplio campo de aplicación de estos compuestos naturales en la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos ha estimulado el estudio de diversas especies de algas. Desde este punto de vista, las poblaciones de algas que se desarrollan en zonas costeras cercanas a Bahía Blanca son un potencial recurso natural, que aún no ha sido explorado.

Los compuestos bioactivos de algas marinas incluyen polifenoles, péptidos, polisacáridos, entre otros. El procedimiento básico (a gran escala) para liberar estos compuestos de la matriz algal es la extracción con agua o solventes orgánicos. Sin embargo, la eficiencia de extracción se encuentra fuertemente reducida por la presencia de grandes cantidades de polisacáridos en la pared celular y el hecho que muchos de estos compuestos se encuentran unidos a dicha pared. Diversos trabajos científicos demuestran la existencia de técnicas de extracción de productos naturales asistidas por enzimas, microondas, ultrasonido o irradiación (Wijngaarde y col., 2012) (Pérez y col., 2007). La ventaja básica de la irradiación sobre las otras técnicas está basada principalmente en la capacidad de la radiación para promover cambios de forma reproducible y cuantitativa, sin la introducción de reactivos químicos o enzimas. Por lo tanto, esta tecnología es simple, rápida y más amigable con el medio ambiente que otros métodos convencionales.

El presente trabajo forma parte de investigaciones realizadas sobre el alga roja *Polysiphonia abscissa*, con el fin de evaluar el efecto de irradiación gamma sobre compuestos bioactivos tales como compuestos fenólicos y polisacáridos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Polysiphonia abscissa fue colectada en invierno (junio de 2010) en la zona de Bahía Anegada (40°25' S; 62°25' O), en las costas nor-patagónicas del mar Atlántico. La especie fue identificada por el Grupo Investigación en Biología y Ecología Acuática (IADO).

El alga lavada, liofilizada y molida fue irradiada con una dosis de 20 kGy de rayos gamma (Co-60) en el Centro Atómico Ezeiza (CNEA). La velocidad de dosis fue de 5.5 Gy/seg.

Los compuestos bioactivos del alga seca fueron extraídos a 40°C con agua (2 hs en baño ultrasónico). La mezcla fue centrifugada (2000 rpm, 10 min) y el sobrenadante (extracto acuoso) fue inmediatamente empleado para los análisis.

Los compuestos fenólicos, usualmente correlacionados con la actividad antioxidante (AA) de extractos de algas rojas, fueron cuantificados mediante Folin-Denis (AOAC, 2000). La AA de los extractos fue evaluada usando el método del atrapamiento del radical DPPH (Brand-Williams y col., 1995) y el test del poder reductor (Oyaizu, 1986).

Los carbohidratos totales, incluyendo polisacáridos, fueron cuantificados por el método de Dubois y col. (1956), sin hidrólisis previa. Los polisacáridos, precipitados con isopropanol frío, fueron analizados por RMN-¹³C y FTIR-ATR (Perkin Elmer). Los espectros RMN se realizaron usando un espectrómetro Varian System 500 (45°C, D₂O como disolvente, trimetilsilano como estándar interno).

RESULTADOS

El contenido de antioxidantes fenólicos en extractos acuosos de *P. abscissa* sin irradiar fue 3.94 mg/g alga seca. Dicho contenido no varió por efecto de la irradiación. Sin embargo, la AA de los extractos incrementó significativamente luego del tratamiento (Figura 1).

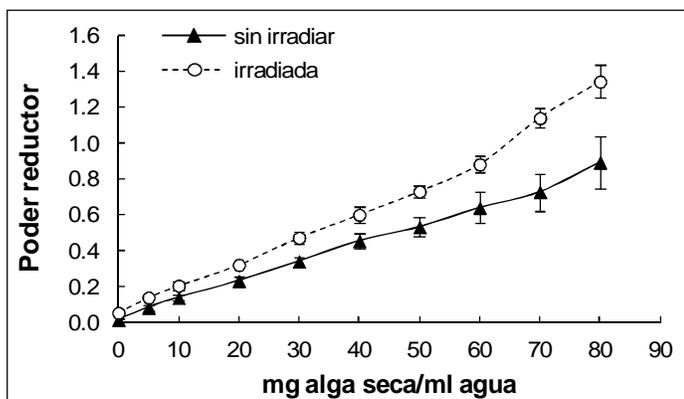
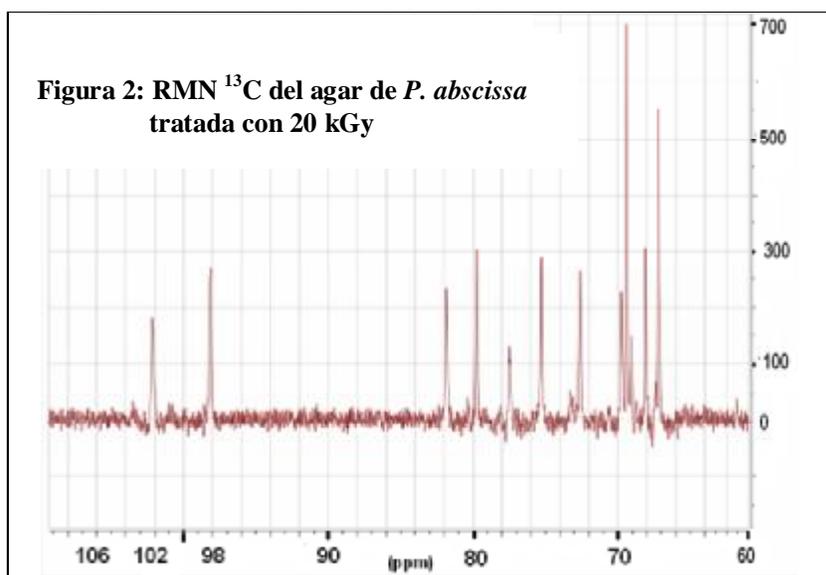


Figura 1. Actividad antioxidante de extractos acuosos de *P. abscissa* evaluada mediante el test del poder reductor.

El porcentaje de carbohidratos totales extraídos aumentó significativamente de 6.92 ± 0.3 en el alga sin irradiar, a 14.35 ± 0.4 en el alga irradiada.

Si bien la asignación de señales en los espectros de RMN-¹³C de los polisacáridos del alga sin irradiar resultó muy compleja, en los obtenidos a partir del alga irradiada se observan claramente los carbonos anoméricos en 102.2 ppm y 98.2 ppm, característicos de unidades β-D-galactosa (G) unidas a 3,6-anhidro-α-L-galactopiranososa (LA). Esto, junto con la señal del C6 de la LA a 69.4 ppm son indicativas de estructuras tipo agar (Lahaye y col., 1989) (Figura 2). También se observan dos pequeñas señales en 103.7 ppm y 101.3 ppm, que junto con la señal en 67.9 ppm del C6 de la unidad α-L-galactopiranososa-6-sulfato (L6S), indican la presencia de unidades sulfatadas consideradas precursores biológicos de las unidades (LA) del agar. Esta estructura fue confirmada mediante la derivada segunda de los espectros FTIR-ATR, observándose bandas a 792 cm⁻¹ y 716 cm⁻¹ características del agar y bandas a 824 y 870 cm⁻¹ de los grupos sulfato en la unidad L6S.



CONCLUSIONES

La irradiación de *P. abscissa* con una dosis de 20 kGy de rayos gamma resultó una herramienta útil para mejorar la extracción e identificación de compuestos bioactivos. El tratamiento del alga permite obtener extractos acuosos con una mayor AA. Este incremento podría estar asociado con el aumento de carbohidratos en los extractos del alga irradiada. La irradiación también resultó útil para identificar la estructura de polisacáridos tipo agar y de su precursor, sin tediosas técnicas de separación y purificación de los extractos. Este hecho podría deberse a que la irradiación produce la depolimerización del agar, facilitando su caracterización en solución.

REFERENCIAS

- AOAC (2000), Official Methods of Analysis (17th Edition).
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Lebensm.-Wiss. u.-Technol., Vol. 28, pp. 25-30.
- Dubois, M. K., A. Gilles, L. K. Hamilton, Rebersand, P. A., Smith, F. (1956). Anal. Chem. 28, pp. 350-356.
- Lahaye, M., Yaphe, W., Viet, M., Rochas, C. (1989). Carbohydrate Research 190, pp 249-265.
- Oyaizu, M. (1986). Japanese Journal of Nutrition, Vol. 44, pp. 307-315.
- Pérez, M.B., Calderón, N.L., Croci, C.A. (2007). Food Chemistry 104, pp. 585-592.
- Wijngaarde, H., Hossain, M.B., Rai, D.K., Brunton, N. (2012). Food Research International 46, 505-513.