

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE PESQUERIA**



**“DETERMINACION DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES Y  
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UN EXTRACTO DE CUSHURO  
(*Cyanophyceae*) Nostoc sp.”**

**TESIS PARA OPTAR TÍTULO DE  
INGENIERO PESQUERO**

**WENDY YASMINA ROMERO PRINCIPE**

**LIMA-PERÚ**

**2024**

---

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación  
(Art. 24 – Reglamento de Propiedad Intelectual)**

# TESIS WENDY ROMERO

---

## INFORME DE ORIGINALIDAD

---

9%

INDICE DE SIMILITUD

8%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL  
ESTUDIANTE

---

## FUENTES PRIMARIAS

---

1

[repositorio.utp.edu.co](http://repositorio.utp.edu.co)

Fuente de Internet

<1 %

2

[repositorio.unheval.edu.pe](http://repositorio.unheval.edu.pe)

Fuente de Internet

<1 %

3

[tauja.ujaen.es](http://tauja.ujaen.es)

Fuente de Internet

<1 %

4

[ri.uaq.mx](http://ri.uaq.mx)

Fuente de Internet

<1 %

5

Submitted to Universidad de San Martín de  
Porres

Trabajo del estudiante

<1 %

6

[tesis.ipn.mx](http://tesis.ipn.mx)

Fuente de Internet

<1 %

7

[www.educacion.gob.es](http://www.educacion.gob.es)

Fuente de Internet

<1 %

8

Submitted to Universidad Nacional de San  
Cristóbal de Huamanga

Trabajo del estudiante

<1 %

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

**FACULTAD DE PESQUERÍA**

**“DETERMINACION DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES Y  
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UN EXTRACTO DE CUSHURO  
(Cyanophyceae) Nostoc sp.”**

Presentada por:

Wendy Yasmina Romero Principe

Tesis para optar el título de:

**INGENIERO PESQUERO**

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

  
M. Agric. Raúl Del Carmen Porturas Olaechea  
**Presidente**

  
Mg. Sc. David Julián Roldán Acero  
**Miembro**

  
Dra. Patricia Liliana Gil Kodaka  
**Miembro**

  
Mg. Sc. Juan Rodolfo Omote Sibina  
**Asesor**

Lima-Perú

2024

## **DEDICATORIA**

*Este trabajo va dedicado a mis padres Ana y Julio  
por su apoyo contante, por su paciencia y el  
respeto para cumplir mis objetivos*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi asesor, el M.Sc. Ing. Rodolfo Omote Sibina, paciencia y apoyo constante en la realización y orientación de la presente investigación.

Al Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular (IIBBM), por facilitarme las instalaciones, los equipos y materiales de los laboratorios para el desarrollo de la primera parte del desarrollo experimental.

A los técnicos de los laboratorios de la Facultad de Industrias Alimentarias por la facilidades y apoyo brindado en las fases de la parte experimental.

A todas las personas que me apoyaron y motivaron a continuar con el proyecto.

Al Vicerrectorado de Investigación por el financiamiento de esta investigación, bajo el marco del 8° Concurso para subvención de tesis de pregrado UNALM

# INDICE GENERAL

## RESUMEN

## ABSTRACT

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>REVISION DE LITERATURA</b> .....	<b>2</b>
2.1.	Nostoc sp. ....	2
2.1.1.	Taxonomía .....	3
2.1.2.	Ciclo de vida.....	4
2.1.3.	Distribución y extracción .....	4
2.1.4.	Composición nutricional .....	6
2.1.5.	Usos del Nostoc sp .....	8
2.2.	Compuestos fenólicos.....	9
2.2.1.	clasificación de los compuestos fenólicos .....	10
2.2.2.	Métodos para la determinación de compuestos fenólicos .....	12
2.2.3.	Fuentes de fenoles .....	13
2.3.	Antioxidante .....	13
2.3.1.	Mecanismo de los antioxidantes.....	15
2.3.2.	Método para determinación de la capacidad antioxidante.....	17
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
3.1.	Lugar de ejecución .....	21
3.2.	Material prima .....	21
3.3.	Materiales, equipos y reactivos .....	21
3.4.	Tratamiento de la muestra .....	22
3.4.1.	Obtención del extracto metanólico .....	23
3.5.	Análisis proximal y de minerales .....	24

3.6.	Marcha fotoquímica.....	24
3.6.1.	Obtención de las fracciones.....	25
3.6.2.	Reacciones .....	25
3.7.	Determinación de polifenoles totales .....	28
3.8.	Determinación de actividad antioxidante por ABTS.....	29
3.9.	Determinación de actividad antioxidante por DPPH.....	29
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>31</b>
4.1.	Valor nutricional.....	31
4.2.	Marcha fitoquímica.....	32
4.3.	Determinación de polifenoles totales .....	34
4.4.	Determinación de capacidad antioxidante.....	35
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>39</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>40</b>
<b>VII.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>41</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>.....</b>	<b>49</b>

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición proximal de <i>Nostoc</i> deshidratado .....	6
Tabla 2: Comparación proximal de <i>Nostoc</i> de Chile y Perú .....	6
Tabla 3: Composición de minerales de <i>Nostoc</i> en base seca.....	7
Tabla 4: Clases de flavonoides .....	10
Tabla 5: Composición química proximal y mineral de <i>Nostoc sp</i> deshidratado .....	33
Tabla 6: Marcha fitoquímica del extracto metanólico de <i>Nostoc sp</i> .....	35
Tabla 7: Capacidad antioxidante de extracto metanólico de <i>Nostoc sp</i> por método DPPH expresado en IC <sub>50</sub> (mg/ml) .....	41

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Nostoc sp</i> .....	3
Figura 2: Estructura química del fenol .....	8
Figura 3: Estructura química general de flavonoides .....	9
Figura 4: Reacción reductora de método Folin Ciocalteu .....	12
Figura 5: Ecuación de reacción antioxidante.....	13
Figura 6: Estructura del ABTS antes y después de la reacción .....	17
Figura 7: Estructura del DPPH antes y después de la reacción .....	18
Figura 8: Reacción de transferencia de electrones por el método FRAP.....	18
Figura 9: Procedimiento de acondicionamiento de la muestra.....	23
Figura 10: Fraccionamiento del extracto metanólico del <i>Nostoc sp</i> .....	27
Figura 11: Comparación del contenido de fenoles expresados en mg EAG/g de muestra en tres tipos de relación masa/solvente de extracto metanólico.....	37
Figura 12; Comparación de la actividad expresado en $\mu\text{mol}$ de Trolox/g de muestra en tres tipos de relación masa/solvente de extracto metanólico. ....	38
Figura 12; Comparación de la actividad expresado en % de inhibición de muestra en tres tipos de relación masa/solvente de extracto metanólico. ....	40

## INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Marcha fitoquímica.....	54
Anexo 2: Curva de calibración de ácido gálico.....	55
Anexo 3: Curva de calibración de Trolox .....	56
Anexo 4: ANOVA de un factor del contenido de fenoles totales entre las concentraciones de extracto metanólico.....	57
Anexo 5: ANOVA de un factor de la capacidad antioxidante por el método ABTS entre las concentraciones de extracto metanólico.....	58
Anexo 6: ANOVA de un factor de la capacidad antioxidante por el método DPPH entre las concentraciones de extracto metanólico.....	59

## RESUMEN

El *Nostoc* sp. se caracteriza por ser una cianobacteria cosmopolita, capaz de vivir en condiciones extremas de temperatura y nutrientes, esta condición le permite desarrollar compuestos químicos como medida de protección, estos compuestos tienen propiedades bioquímicas beneficiosas para el ser humano como: propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antibacteriales, antivirales, etc.

En el presente trabajo se determinaron los principales grupos de compuestos químicos por tamizaje fitoquímico, contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, capacidad antioxidante mediante los métodos ABTS<sup>+</sup> y DPPH, de los extractos metanólicos de *Nostoc* sp.

Los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico del *Nostoc* sp. reveló la presencia de polifenoles, taninos, oxihidrilos fenólicos, hidratos de carbono, flavonoides, esteroides, triperpenos y cardenólidos, por otro lado el contenido de fenoles totales del extracto al 10 por ciento ( $3,0743 \pm 0,04$  mgEAG/g) fue estadísticamente significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) a las concentraciones al 5 por ciento ( $2,6327 \pm 0,04$  mgEAG/g) y al 20 por ciento ( $2,1127 \pm 0,06$  mgEAG/g); sin embargo, el análisis de capacidad antioxidante tanto para ABTS como DPPH se obtuvo un mejor resultado al 5 por ciento con un valor de  $2,325 \pm 0,03$   $\mu$ mol de trolox/g y un IC<sub>50</sub> de 0,581 mg/ml.

Por lo que se puede concluir que, la cianobacteria *Nostoc* sp en este estudio posee una serie de compuestos con capacidad antioxidante, propiedad que puede aprovecharse para campos como la nutrición, medicina, cosmética.

**Palabras clave:** *Nostoc* sp, marcha fitoquímica, polifenoles, capacidad antioxidante.

## ABSTRACT

Nostoc sp. is characterized by being a cosmopolitan cyanobacterium, capable of living in extreme conditions of temperature and nutrients, this condition allows it to develop chemical compounds as a protective measure, these compounds have biochemical properties beneficial to humans such as: antioxidant, anticancer, antibacterial, antiviral, etc. properties.

In the present work, the main groups of chemical compounds were determined by phytochemical screening, total phenol content by the Folin-Ciocalteu method, antioxidant capacity by the ABTS+ and DPPH methods, of the methanolic extracts of Nostoc sp.

The results obtained from the phytochemical screening of Nostoc sp. revealed the presence of polyphenols, tannins, phenolic oxyhydrils, carbohydrates, flavonoids, sterols, triperpenes and cardenolides, on the other hand, the total phenol content of the 10 percent extract ( $3.0743 \pm 0.04$  mgEAG/g) was statistically significantly higher ( $p < 0.05$ ) than the 5 percent ( $2.6327 \pm 0.04$  mgEAG/g) and 20 percent ( $2.1127 \pm 0.06$  mgEAG/g) concentrations; however, the antioxidant capacity analysis for both ABTS and DPPH obtained a better result at 5 percent with a value of  $2.325 \pm 0.03$   $\mu$ mol trolox/g and an IC<sub>50</sub> of 0.581 mg/ml.

Therefore, it can be concluded that the cyanobacterium Nostoc sp in this study possesses a series of compounds with antioxidant capacity, a property that can be used in fields such as nutrition, medicine and cosmetics.

**Key words:** Nostoc sp, phytochemical gait, polyphenols, antioxidant capacity.

## I. INTRODUCCIÓN

El *Nostoc* sp, comúnmente llamada “murmunta”, “crespito”, “llyta”, es una cianobacteria que crece en cuerpos de agua en regiones del Perú como Áncash, Amazonas, Cajamarca, Cuzco, Huancayo, Junín, Puno, Cerro de Pasco y Huánuco (Roldan, 2015). En el Perú es uno de los recursos consumidos por los pobladores de la sierra peruana de forma directa o mediante preparación de guisos, sopas, mermeladas o como ingredientes herbales INAIGEM (2016), presenta un valor nutricional alto, además que se le atribuye propiedades medicinales como inhibir la formación de colesterol, antibacteriana y regulación de la coagulación de la sangre (Gantar, 2008).

Si bien existen estudios sobre la amplia gama de beneficios de las macroalgas en los animales y seres humanos por sus propiedades bioactivas, existe muy poca información sobre las propiedades de los demás organismos fotosintéticos como el *Nostoc* (Li et al., 2007). Al ser organismos que son capaces de vivir y crecer en ambientes en condiciones extremas, tiene una alta capacidad para la producción de numerosos productos químicos protectores contra la oxidación y estrés (Tsao & Deng 2004). También se caracterizan por presentar un potencial nutricional como alimentos funcionales, además de capacidades antivirales, antimicrobianas, inmunológicas, etc. (Dufosse et al., 2005; De la Noue y De Pauw 1988; Singh et al., 2005).

Debido a sus condiciones extremas de hábitat, están condicionadas a la formación de grupos químicos que actúen como mecanismo de protección, siendo unos de los principales los compuestos fenólicos (Maravilla, 2017), que se caracterizan por su contribución al mecanismo de capacidad antioxidante, cuyas propiedades son utilizadas por el hombre en distintos campos como la medicina, alimentación, cosmética. Por ello el propósito de la presente investigación es determinar el contenido de polifenoles y evaluar la capacidad antioxidante del extracto de *Nostoc* sp.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Nostoc sp.

El Nostoc sp. es una cianobacteria filamentososa capaz de formar colonias micro y macroscópicas que son capaces de vivir en ambientes terrestres y acuáticos, esta dualidad de hábitat se debe a la capacidad que tiene de permanecer en estado latente durante meses o años, y recuperar su actividad metabólica en un corto tiempo después de una hidratación natural o asistida; la forma de actuar de estas cianobacterias cuando las condiciones de hábitat cambian son sorprendentes “ pasan de formar colonias esféricas en su estado natural que luego se aplanan asemejándose a delgados y transparentes papeles negros cuando están secas” (Chuquilín & Rosales, 2016). Esta característica muestra que el Nostoc” es capaz de soportar ciclos repetitivos de congelación y descongelación” (Dodds et al., 1995), haciendo que esta especie tenga una capacidad de supervivencia excepcional.

Ponce (2014) señala que el Nostoc está formado por colonias de cianobacterias verde azuladas, verde oliva o marrón, esta coloración se da por la presencia de pigmentos como clorofila, ficocianina y ficoeritrina, responsable del color marrón en algunos organismos; las colonias formadas tienen aspecto de uvas, con características de esferas de diámetros que varía de 10 a 15 mm, gelatinosas y traslucidas (Figura 1), se caracterizan por formar colonias laminares de geometría regular; tiene una nutrición foto-autotrófica, que hace uso de diferentes fuentes de nitrógeno para su alimentación las cuales incluyen: nitrógeno inorgánico ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ), aminoácidos y nitrógeno molecular, además que poseen la cualidad de atrapar el nitrógeno del aire y fijarlos en sus células.

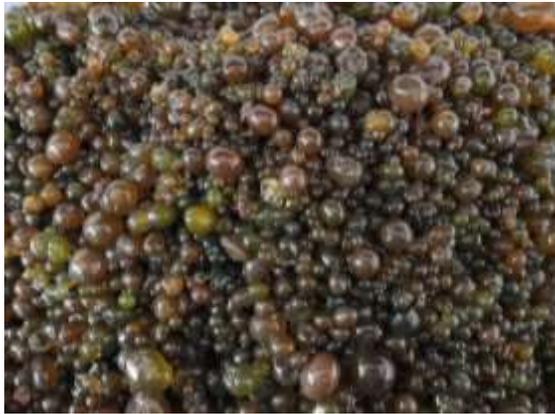


Figura 1: *Nostoc sp.*

### 2.1.1. Taxonomía

De acuerdo a la NCBI (2018) la clasificación taxonómica de este organismo está definido de la siguiente forma.

Reino:	Eucariota
Phyllum:	Cianobacteria
Clase:	Cyanophyceae
Subclase:	Nostocophycidae
Orden:	Nostocales
Familia:	Nostocaceae
Género:	Nostoc

Especie: *N. commune*, *N. desertorum*, *N. edaphicum*, *N. ellipsosporum*, *N. entophytum*, *N. flagelliforme*, *N. indistinguenda*, *N. linckia*, *N. muscorum*, *N. paludosum*, *N. piscinale*, *N. punctiforme*, *N. sphaericum*, *N. trichormus*. *N. calcicola*, *N. cycadae*, *N. lichenoides*

### **2.1.2. Ciclo de vida**

Dodds & Castenholz (1987) mencionan que el ciclo de vida del género *Nostoc* es compleja y en su mayoría desconocida y de poco estudio y que su reproducción se puede dar de cuatro maneras distintas:

- a) Una célula de *Nostoc* fragmentada en filamentos puede formar nuevas colonias.
- b) Los Akinetes (Acinetos), células resistentes, pueden dispersarse y desarrollarse, formando nuevas colonias.
- c) Los hormogonios, filamentos móviles formados durante la reproducción asexual, se dispersan y forman nuevas colonias.
- d) De colonias grandes se pueden formar colonias más pequeñas mediante proliferación, estas se dispersan y se convierten en colonias separadas.

Cadena et al. (2013) describen que la formación de hormogonios es el principal método de reproducción para el género *Nostoc*, que en presencia de una adecuada cantidad de luz se observa una gran formación de hormogonios que se liberan desde el filamento que presenta heterocistos en sus extremos, los hormogonios formados se desarrollan dentro de una vaina protectora, esta vaina es una estructura celular que juega un rol importante en la protección de las células del estrés ambiental, producido por los cambios ambientales cuanto más gruesa es la vaina, mayor es la probabilidad de supervivencia.

### **2.1.3. Distribución y extracción**

Dodds et al., (1995) mencionan que, debido a las diferentes características morfológicas y genéticas del *Nostoc* sp. la hacen una de las cianobacterias más cosmopolitas que existen, su distribución es tan amplia que estos organismos habitan distintos sistemas ecológicos, existen presencia de colonias desde los hábitats extremadamente fríos y secos de los valles Antárticos y Árticos, hasta suelos desérticos y calientes en todo el mundo. El *Nostoc* también es capaz de formar asociaciones simbióticas con hongos y con ascomicetes (formación de líquenes), ayudando a formar alrededor del 10 por ciento de las especies de líquenes conocidos (Bonnet & Castenholz, 2001).

El crecimiento del Nostoc en Latinoamérica se da en su mayoría en las zonas andinas entre los 3000 y 5000 msnm, en climas extremos ya sea por sus bajas temperaturas o ser pobres en oxígeno. Se desarrollan especialmente en las zonas donde hay acumulación de agua y con suficiente nutriente para facilitar su crecimiento, sitios como los bofedales y vegas andinas son adecuados para su crecimiento y desarrollo (Galetovic et al., 2017). El Nostoc es conocido como: Cushuro (Perú), murmunta (Perú y Bolivia), crespito, uvas de los ríos, llullucha en las zonas andinas de Ecuador y Chile

En Sudamérica existen pocos estudios sobre el cultivo controlado del Nostoc, solo se conoce que es una operación extractiva. De acuerdo con el informe presentado por el INAIGEM (2016) en la región de Ancash-Perú la operación extractiva del Nostoc se da por concesiones temporales a familias que colidan en los lagos donde crece el Nostoc que son propiedad de la Comunidad Campesina de Catac, en la laguna de Ñahuimpuquio, provincia de Huancayo (Chuquilín & Rosales, 2016), también hay presencia en la laguna Conococha en Chiquián (Huaraz) a 3400 msnm en el departamento de Ancash (Inocente et al.,2019), en la actualidad no existe estadísticas de extracción de este recurso en el Perú, solo se conoce en que departamentos crece y se extrae como Junín, Ancash, Huánuco, Cajamarca, Puno y Pasco (Roldan, 2015).

#### **2.1.4. Composición nutricional**

Gantar (2008) menciona que el Nostoc es una cianobacteria con alto contenido de humedad (97%), sin embargo, señala que la calidad alimenticia está en su contenido proteico de fácil digestión, así también por su contenido vitamínico y su contenido de carbohidratos que puede ser hasta en un 50 por ciento. En la Tabla 1 se muestra el contenido nutritivo del Nostoc deshidratado según el Centro Nacional de Alimentación y Nutricio (CENAN, 2017).

Tabla 1: Composición nutritiva del Nostoc deshidratado

Componente	Cantidad
Agua (g)	15,1
Proteína (g)	29
Grasa total (g)	0,5
Carbohidratos (g)	46,9
Cenizas (g)	8,5
Calcio (mg)	147
Fosforo (mg)	64
Hierro (mg)	83,6
Tiamina (mg)	0,2
Riboflamina (mg)	0,41

Fuente: CENAN (2017)

Roldan (2015) menciona que existe variabilidad en el contenido de proteínas debido a las condiciones en que estas crecen, cuyos factores de temperaturas y disponibilidad de nutrientes afectan al crecimiento de estas; en la Tabla 2 se muestra el análisis proximal comparativo entre del Nostoc de Chile y Perú.

Tabla 2: Comparación proximal de Chile y Perú

Análisis químico proximal	Chile 1	Perú 2
Proteína	25,4 g	29 g
Carbohidratos	62,4 g	46,9 g
Agua	6,3 g	15,1 g
Lípidos	0,8 g	0,5 g
Cenizas	5,1 g	8,5 g
Fosforo	258 mg	64 mg
Calcio	1,076 mg	147 mg
Hierro	19,6 mg	83,6 mg

Fuente: 1. Gandar (2008), 2. CENAN (2017)

El Nostoc como lo señalan Villavicencio et al. (2016) es un alimento nutritivo y esencial, por su composición proximal, pero también por su composición de minerales (Tabla 3).

Tabla 3: Composición de minerales de Nostoc en base seca

Minerales	Contenido en %
Calcio	1,24
Magnesio	0,78
Sodio	0,12
Potasio	0,02
Yodo	0,87
Cloruros	0,15
Fosforo	0,18

Fuente: Villavicencio et al. (2016)

Además de sus cualidades nutricionales, se han desarrollado estudios para determinar sus propiedades curativas, como la capacidad de inhibir la formación de colesterol, que se da por la presencia de su activo el nostocarbolina (Beacher et al.,2005), el calcio presente en el recurso fortalece el sistema óseo previniendo la osteoporosis, estabiliza el sistema nervioso (Palomino, 2016). La familia Nostocaceae según Jones et al. (2010) son extremadamente activos en términos de producción general de metabolitos secundarios, son responsables de la producción del 26 por ciento del total de metabolitos conocidos producidos por la cianobacteria.

### 2.1.5. Usos del Nostoc

Danxiang et al. (2004) mencionan que el Nostoc es una fuente de alimento que se conoce desde hace 2000 años por poblaciones de Asia, además de tratar malestares como diarrea, hipertensión y hepatitis. En el Perú el consumo de Nostoc o Cushuro se da principalmente en las regiones andinas, su forma de consumo es directa o mediante preparación de guiso, sopas o mermeladas o como ingredientes herbales (INAIGEM, 2016).

Por su importancia en la fijación de nitrógeno es usado como biofertilizante en el cultivo de campos de arroz (Dodds et al., 1995). También utilizado como fuente de compuestos bioactivos los cuales incluyen agentes bioactivos, antifúngicos, antibacterianos, antivirales e inhibidores de enzimas (Fidor et al., 2019).

## 2.2. Compuestos fenólicos

Maravilla (2017) define a los compuestos fenólicos como moléculas presentes en alimentos de origen vegetal que desempeñan diferentes funciones: actúan como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción celular y como agentes protectores frente a la acción de patógenos, siendo secretados por las células vegetales como mecanismos de defensa.

Los compuestos fenólicos tienen como estructura básica el fenol (Figura 2), está compuesto por un anillo aromático unido a un grupo hidroxilo (Peñarrieta et al., 2014), es un grupo muy diverso y presenta estructuras simples como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos condensados y la lignina debido que en su estructura molecular se pueden incluir grupos funcionales como ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc. (Martin, 2018).

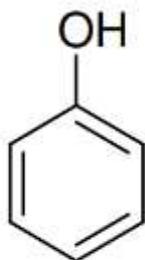


Figura 2: Estructura química del fenol

Fuente: Peñarrieta et al., 2014

Los compuestos fenólicos son fundamentales en la interacción de las plantas y su medio ambiente (Boudet, 2007), participan como mecanismo de defensa contra la radiación ultravioleta o daños fisiológicos por patógenos (Danny & Buttriss, 2007); también participan en diversas funciones como la asimilación de nutrientes, las síntesis de proteína, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales (Paladino, 2008). Los estudios realizados han demostrado que los compuestos fenólicos son potentes antioxidantes con efectos antimutagénicos y anticarcinógenos (Middleton & Kandaswami, 1994).

Los compuestos fenólicos como uno de los metabolitos secundarios más importantes, además de sus propiedades biológicas en plantas se les atribuyen, propiedades farmacológicas y medicinales las que se basan en la prevención o mejora del estado de salud como

vasodilatadores, anticarcinogénicas, antiinflamatorio y bactericidas (Martínez-Valverde et al., 2000).

### 2.2.1. Clasificación de los Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos se clasifican en:

#### a. Flavonoides

Los flavonoides son los compuestos fenólicos más abundante entre las especies vegetales, su estructura química está compuesta por 2 anillos benceno unidos por un anillo pireno que contiene oxígeno (Figura 3)

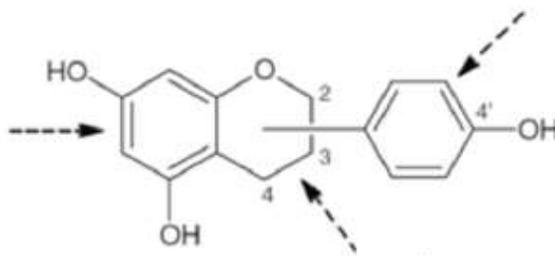


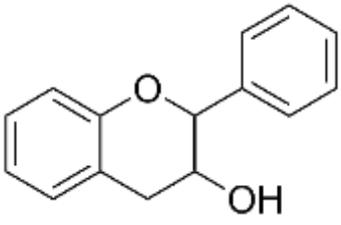
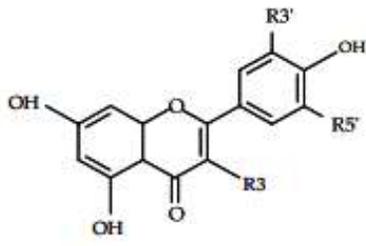
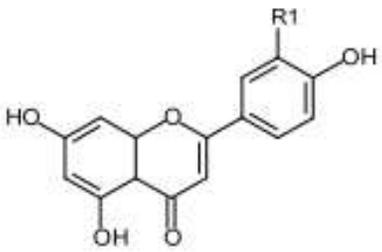
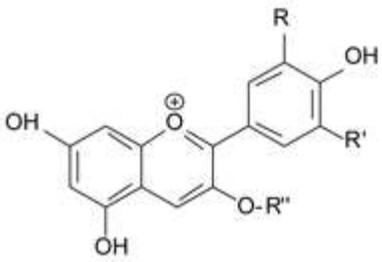
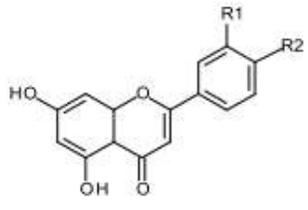
Figura 3: Estructura química general de flavonoides

Fuente: Limón et al. (2010)

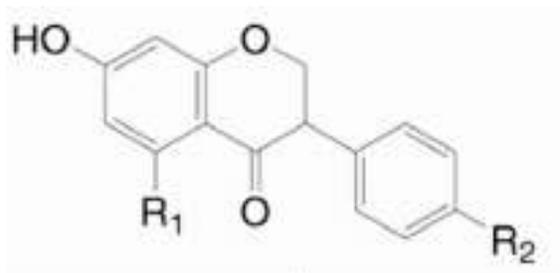
Limón et al. (2010) mencionan que la estructura química de los flavonoides contiene un número variable de grupos hidro fenólicos, que actúan como quelantes de hierro y otros metales de transición e incluso presentan una gran capacidad antioxidante que depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenolicos.

Los flavonoides son de suma importancia por sus propiedades y sus efectos benéficos como antialérgicos, anticancerígenos, antioxidantes, antiinflamatorios y antivirales (Santayana, 2018). Se pueden dividir en antocianinas, flavonas, flavonoles, flavanonas, chalconas, flavononas, isoflavonas, flavanoles y proantocianidinas (Tabla 4) (Kabera et al., 2014).

Tabla 4. Clases de flavonoides

FLAVONOIDES	DESCRIPCION	ESTRUCTURA MOLECULAR
Flavanol	Presenta un grupo -OH en la posición 3 del anillo C	
Flavonoles	Presentan un grupo carbonilo en la posición 4 u un grupo -OH en la posición 3 del anillo C	
Flavonas	Poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C, tiene ausencia del grupo hidroxilo en posición 3 en el anillo C)	
Antocianidinas	Tiene unido el grupo -OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.	
Flavanonas	Poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C, tiene ausencia del grupo hidroxilo en posición 3 en el anillo C). No presentan grupo -OH en la posición 4' del anillo B.	

Isoflavonas  
Tiene dos grupos -OH  
unidos en la posición 1 y 3  
del anillo C



---

Fuente: Limón et al. (2010)

## b. Ácidos fenólicos

Según Peñarrieta et al. (2014) son fenoles que presentan más de un grupo hidroxilo en su estructura química, se clasifica en dos grupos:

1. Los ácidos benzoicos: cuya característica principal es tener una estructura de siete átomos de carbono (C6-C1), son los compuestos fenólicos más simples que se encuentran en la naturaleza.
2. Los ácidos cinámicos, tiene en su estructura nueve átomos de carbono (C6-C3), este grupo se encuentran al ácido cafeico, ácido ferúlico, p-ácido cumárico y sinápico

## c. Los taninos

Son polímeros polifenólicos producidos por las plantas como metabolitos secundarios, tienen la capacidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, etc. Rodríguez (2010).

### 2.2.2. Métodos para la determinación de compuestos fenólicos

- Método de Folin Ciocalteu: es la metodología más usada para la determinación de compuestos fenólicos (Singleton et al., 1999), se fundamenta en su carácter reductor, se emplea el reactivo Folin-Ciocalteu, que es una mezcla de ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico, la reacción se da en un medio básico, estos compuestos se reducen al

oxidar los compuestos fenólicos presentes, originado un complejo azul de Mo(V) (Figura 4).

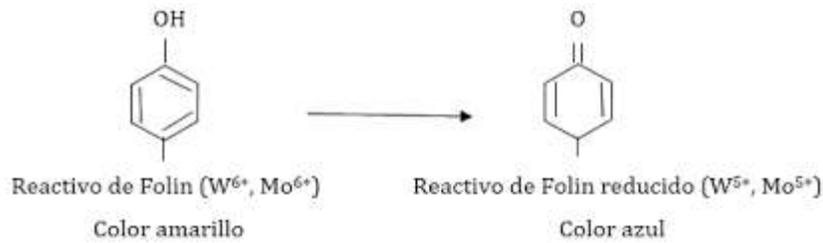


Figura 4: Reacción reductora método Folin Ciocalteu

Fuente: Diez (2018)

- Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC): Es una técnica que ha permitido la separación, aislamiento, purificación e identificación de compuestos fenólicos, así como el estudio de la interacción entre los polifenoles y otros componentes de los alimentos (Martínez-Valverde et al., 2000)

### 2.2.3. Fuentes de fenoles

La principal fuente de los compuestos fenólicos son las frutas, verduras, cereales integrales, vino tinto, etc. Los compuestos fenólicos se encuentran en las plantas de forma asociada o conjugada a otros elementos como uno o más residuos de azúcar (glucosa, galactosa, arabinosa, xilosa) unidos por grupos hidroxilo, pero también se encuentra unido de forma directa con los azúcares y un carbono aromático, el sistema de adhesión es tan complejo que se puede encontrar unido a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos (Naczki & Shahidi, 2004).

Los alimentos que contienen mayor cantidad de compuestos fenólicos son aquellos alimentos que presentan pigmentación roja o morada, diversos estudios realizados a frutos rojos como la fresa, arándanos y el maíz morado, han encontrado que tienen de 2 a 11 veces más antioxidantes que frutos como la manzana o el kiwi (Coronado et al., 2015).

### 2.3. Antioxidante

Halliwell et al. (1989) definen a un antioxidante como cualquier sustancia que se encuentran en bajas concentraciones en comparación con el sustrato oxidable, que retrasa de forma considerable o inhibe la oxidación de ese sustrato (generalmente los radicales libres).

Huang et al. (2005) la definen desde su forma biológica y bioquímica como “sustancias sintéticas o naturales agregadas a los productos para prevenir o retrasar su deterioro por la acción del oxígeno en el aire”, y su forma medicinal como “enzimas u otras sustancias orgánicas, como la vitamina E o el  $\beta$ -caroteno, que son capaces de contrarrestar los efectos dañinos de la oxidación en los tejidos animales”.

Patthamakanokporn et al., (2008) la definen como una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que ayuda a prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos.

Martínez (2007) y Coronado et al. (2015) mencionan que existen dos vías por los cuales los antioxidantes actúan para evitar el daño celular producida por el exceso de los radicales libres producidos por las reacciones químicas oxidativas, estas son:

- a) Enzimático o endógenos: Son mecanismos antioxidantes donde intervienen las enzimas reductasas como: Superóxido dismutasa (SOD) (1), catalasa (2), Glutación peroxidasa (GSH-Px), Glutación reductasa (GSH-Rx) y sus cofactores. Estas enzimas controlan la concentración de radicales libres en las células, evitando de esa manera la oxidación excesiva, daño o probable inhibición de las enzimas oxidasa, en la siguiente ecuación se describe el mecanismo de reacción de las enzimas antioxidantes (Figura 5).

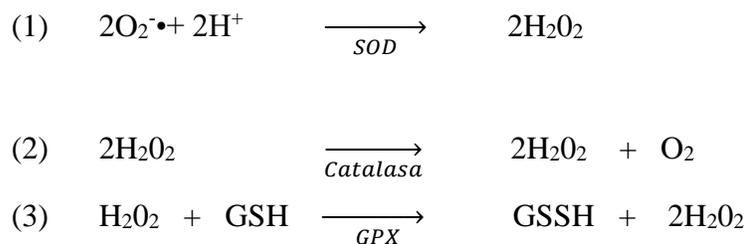


Figura 5: Ecuación de reacción antioxidante

- b) No enzimáticos o exógena: Son compuestos que no producen las células, pero actúan como complemento a los mecanismos enzimáticos, la fuente de antioxidante se encuentra en los alimentos, por lo tanto, forman parte de la dieta diaria, los compuestos más importantes: son las vitaminas como la E y C,  $\beta$ -caroteno, selenio, glutatión reducido, cisteínas, etc.

### 2.3.1. Capacidad antioxidante

Belsare et al (2010) menciona que la capacidad antioxidante es la acción de los antioxidantes de prevenir e incluso contrarrestar los daños causados en el tejido humano por el efecto normal del proceso de óxido- reducción fisiológica que se da por la presencia de radicales libres que puede llegar a hacer altamente reactiva y clave para formar otros radicales libres en cadena, este proceso ocurre en microsegundos afectando a moléculas aledañas y causando mayor daño; estos compuestos se denominan especies reactivas del oxígeno (ROS por sus siglas en inglés).

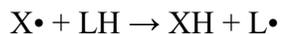
Según Magallanes et al. (2008). la capacidad antioxidante depende de muchos factores comenzando por la propiedad de los sustratos, la etapa de oxidación y la localización de los antioxidantes (hidrofílicas o lipofílicas). Es por ese motivo que no existe un ensayo universal para determinar la capacidad antioxidante, ni tampoco una sola solución para obtener un extracto, existiendo de esa manera muchas adaptaciones de las metodologías investigadas y validadas.

### 2.3.2. Métodos para la determinación de la capacidad antioxidante

Huang et al (2005) señalan que existen dos mecanismos de reacción que permiten determinar qué métodos utilizar para cuantificar la capacidad antioxidante

- a. **Métodos basados en la transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT):** se da en un sistema competitivo en el cual el antioxidante y el sustrato compiten por estabilizar a los radicales libres a través de una donación de un átomo de hidrógeno.

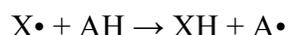
Reacción 1: Formación de nuevos radicales libres



Donde:

- X• : Radical libre
- LH : Sustrato oxidable
- XH : Especie no radicable
- L• : Nuevo radical formado

Reacción 2: Transferencia de un átomo de hidrogeno



Donde:

- X• : Radical libre
- AH : Antioxidante
- XH : Especie no radicable
- A• : Nuevo compuesto formado

En este grupo se encuentran los métodos TRAP y ORAC

- **Método TRAP**

Determinación del potencial antioxidante total (TRAP) propuesto por Ghiselli (1995), es usada para determinar la capacidad antioxidante de un fluido. Es un método basado en el mecanismo de transferencia de hidrógeno (HAT), determina la captación de radicales peroxilo generados mediante la descomposición térmica de un compuesto hidrosoluble ABAP (2,2'. azo bisCloridrato de (2-amidinopropano)). Es un método que se puede calcular directamente mediante el HPLC (TRAPm) o calcularse (TRAPc) mediante una fórmula matemática.

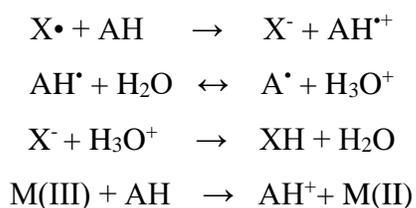
- **Método ORAC**

El método Capacidad atrapadora del radical oxigeno (ORAC) se fundamenta en la medición de la capacidad de un compuesto de inhibir la capacidad oxidante de los radicales peróxilos, mediante un mecanismo de transferencia de hidrogeno (HAT). El ensayo consiste en someter a

los radicales peróxido a una onda fluorescente para producir un producto no fluorescente (Prior et al., 2005).

**b. Métodos basados en la transferencia de electrones (SET):** Métodos que miden la capacidad de un antioxidante en la reducción de un oxidante mediante la transferencia de un electrón para reducir el radical, la reacción producida se basa en la desprotonación y el potencial de ionización del grupo funcional reactivo, estas reacciones dependen de factores como el pH y la sensibilidad a la contaminación por trazas; son métodos colorimétricos que se basan en un cambio de color cuando existe una reacción.

Reacción 3: Reacción de desprotonación



Donde:

X• : Radical libre

AH : Antioxidante

En este grupo se encuentran los métodos ABTS, DPPH y FRAP

- **Método ABTS**

Esta metodología fue desarrollada por Rice-Evans & Miller (1994), para luego ser modificada por Re et al. (1999), siendo este último el método más utilizado en la actualidad. Se fundamenta en la cuantificación de la decoloración producida por la oxidación del ABTS con el persulfato de potasio y que forma al radical mono catión ABTS•+ (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico), esta reacción toma una coloración azul/verde (Figura 6).



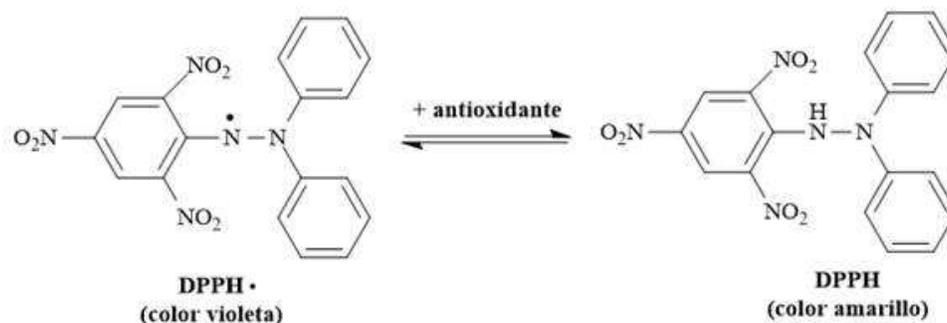


Figura 7: Estructura del DPPH antes y después de la reacción

Fuente: Vázquez et al. (2022)

- **Método FRAP**

Es un método basado en la transferencia de electrones (SET), se determina por el análisis del poder reductor del complejo Tripiridiltiazina ferrica al complejo ferroso por antioxidante en medio ácido, mide la capacidad antioxidante total y se basa en la capacidad de los polifenoles para reducir  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  formando un complejo azul (Figura 8) Una absorción alta a una longitud de onda de 700nm indica un poder reductor alto de fitoquímico, es decir una actividad antioxidante alta (Roginsky y Lissi 2005). Los resultados se expresan en equivalente Trolox ( $\mu\text{mol Trolox/g}$  o  $\mu\text{mol Trolox/L}$ ).

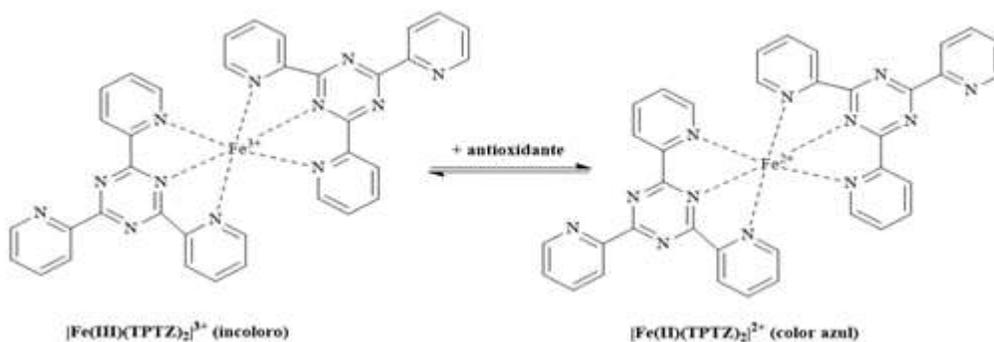


Figura 8: Reacción de transferencia de electrones por el método FRAP

Fuente: Vázquez et al. (2022)

- **Método DMPD**

Método del N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD) desarrollado por Fogliano et al. 1999, se fundamenta en la capacidad de un compuesto antioxidante de transferir un átomo de hidrogeno para dar forma al catión  $\text{DMPD}^{\bullet+}$  mostrándose una decoloración que se traduce a un descenso de la absorbancia.

Se trata de un mecanismo HAT donde el radical libre se produce a partir de DMPD (N, N'-dimetil-p-fenilendiamina) que al encontrarse presente a una solución oxidante de cloruro férrico, y a pH ácido se convierte a un radical catiónico coloreado y estable, que expresa una absorbancia a 505nm Guerreiro y Pico (2020).

## **III. METODOLOGÍA**

### **3.1. Lugar de ejecución**

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios Ingeniería Química de Recursos Hidrobiológicos de la Facultad de Pesquería y en el Instituto de Investigación Bioquímica y Biología Molecular (IIBBM), en la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM).

### **3.2. Materia prima**

Se utilizó Cushuro (*Nostoc sp*) adquirido en el Terminal Pesquero de Villa María del Triunfo, para su traslado al laboratorio fue colocado en una caja isotérmica con agua refrigerada para mantener una temperatura de 0-4°C.

### **3.3. Materiales, equipos y reactivos**

#### a. Materiales

- Fiolas de 100ml, 50ml y 10ml
- Beakers de 100ml
- Micropipetas de 10-50µl, 20-200µl, 100-1000µl y 1-5ml
- Erlenmeyer de 100ml y 250ml
- Cubetas para medición espectrofotómetro
- Tubos de ensayo de 10ml
- Tubos de centrifuga de 15ml y 50ml
- Balón de vidrio Soxlet
- Cámara extractora Soxlet
- Sistema refrigerante Soxlet

b. Reactivos

- 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) ABTS™ Chromophore, Diammonium (Salt Calbiochem®- Germany)
- Acido gálico (compañía Merck KGaA Darmstadt- Alemania)
- Agua destilada
- Carbonato de sodio 7.5 % (Millipore-Alemania)
- Etanol de grado analítico (EMSURE® ACS, ISO. Reag. Ph Eur)
- Metanol de grado analítico (EMSURE® ACS, ISO. Reag. Ph Eur procedente de Alemania)
- Persulfato de potasio (EMSURE®)
- Radical libre DPPH (Calbiochem®- Germany)
- Reactivo de Folin- Ciocalteu 1N (Merck KGaA Darmstadt- Alemania)
- Trolox (Merck KGaA Darmstadt- Alemania)

c. Equipos

- Balanza analítica (Marca Sartorius, Modelo TE214S-Alemania)
- Centrifuga (Marca Centurion, Modelo C2006 Small Dual- Alemania)
- Espectrofotómetro (Marca Thermo Spectronic, Modelo Genesys 20 4001/4- EE.UU)
- Vortex (Marca Velp Scientifica, Modelo Classic 100-240V/50-60Hz-Italia)
- Potenciómetro (Marca HANNA, Modelo HI 2213)
- Refrigeradora (Marca Miray, Modelo RM-435)
- Estufa (Marca Mermmert, Modelo W854- Alemania)
- Molinillo de manivela

### 3.4. Acondicionamiento de la muestra

El acondicionamiento de la muestra se realizó según la metodología propuesta por Sánchez (2018). Se procedió a realizar una limpieza manual de la muestra para retirar las partículas extrañas como piedras, pajas y las cianobacterias maltratadas y descompuestas. Luego se procedió a realizar un lavado con agua potable a flujo constante, de manera que se eliminara la suciedad.

La muestra fue escurrida y se dejó orear a temperatura ambiente. Finalmente, la muestra fue secada en una estufa a una temperatura de 40 °C y posteriormente fue molida con un molino de manivela para obtener una muestra con partículas homogéneas. Las muestras fueron almacenadas a temperatura de refrigeración hasta su uso (Figura 9).

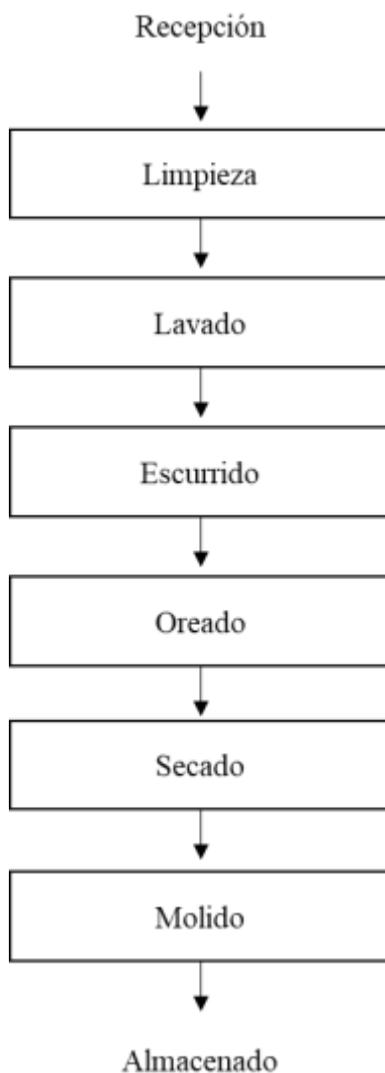


Figura 9: Procedimiento de acondicionamiento de la muestra

#### **3.4.1. Obtención del extracto metanólico**

Para la obtención del extracto se empleó la metodología empleada por Sánchez (2018) con modificaciones, se reemplazó etanol por metanol como medio diluyente. Se prepararon tres

concentraciones de extracto al 5, 10 y 20 % (p/v); las muestras se pesaron y se colocaron en envases ámbar, se adicionaron 100 ml de metanol y, se agitó para homogenizar la mezcla. La mezcla se dejó macerar por 7 días a temperatura ambiente y en condiciones de oscuridad, se agitó una vez por día para ayudar a la extracción. Una vez transcurrido el tiempo de macerado, se procedió a filtrar y recuperar el sobrenadante, este último se guardó en frasco ámbar a -20 °C hasta su uso. El extracto metanólico obtenido fue utilizado para realizar la marcha fotoquímico, la determinación de contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante.

### **3.5. Análisis proximal y de minerales**

El análisis proximal y de minerales se realizaron en los laboratorios del Instituto Tecnológico de la Producción (ITP), utilizando las siguientes metodologías.

- Determinación de contenido de humedad

Se determinó el contenido de humedad por el método FAO, Food and Nutrition Paper 205 T14/7 (1986). Los resultados se expresaron en porcentaje.

- Determinación del contenido de proteína total

Se determinó el contenido de proteína mediante el método LABS-ITP-FQ-001-2009. Los resultados se expresaron en porcentaje.

- Determinación de grasa

Se determinó el contenido de grasa mediante el método LABS-ITP-FQ-001-2009. Los resultados se expresaron en porcentaje.

- Determinación de ceniza

Se determinó el contenido de ceniza según el método propuesto por la FAO, Food and Nutrition Paper pp 228 T 14/7 (1986). Los resultados se expresaron en porcentaje.

- Determinación de minerales

Para la determinación de Sodio, Potasio, Calcio, Magnesio y Hierro se empleó el método de espectroscopia de absorción atómica de Elmer (1996), un procedimiento automático que

consiste en la medición de las especies atómicas generadas luego de la nebulización de la muestra con una llama de alta intensidad calórica y producida por la mezcla aire-acetileno. Los resultados se comparan con un patrón para cada tipo de elemento analizado y son expresados en mg/g.

Para la determinación de Fosforo de empleo la metodología fotométrica propuesta por la AOAC 965. 17. (1996). Los resultados se expresaron en mg/100g.

### **3.6.Marcha fitoquímica**

#### **3.6.1. Obtención de las fracciones**

El extracto metanólico de Nostoc sp. fue fraccionado siguiendo la metodología propuesta por Rondina y Coussio (1969), que consisten en obtener fracciones con solventes de distinta polaridad, estas fracciones se someten a ensayos cualitativos colorimétricos o precipitación para la identificación de determinados grupos de sustancias.

En el presenta trabajo se obtuvo cinco fracciones: A, B, C, D y E (Figura 10) a partir 50ml de extracto metanólico de Nosctoc sp. A continuacion se describen la obtencion de las fracciones:

Fraccion A: Se separó una alícuota de 5ml del extracto metanólico de Nostoc sp.

Fracción B:

1. El resto del extracto se llevo a sequedad mediante una estufa al vacio a 50 °C.
2. Posteriormente se añadió 15ml de HCl al 1 por ciento, luego se llevó a estufa durante 15 minutos a 50 °C, se filtró en caliente. Este proceso se repitió por tres veces. Se obtuvo una parte soluble (la solución ácida) y una parte insolubles (la que quedó adherida en las paredes del vaso precipitado)
3. La parte insoluble se recuperó con cloroformo, a este recuperado se le conoce como fraccion B.
4. La parte soluble se reserva para la obtencion de la fraccion C.

Fracción C:

1. La solucion soluble es alcalinizada gota a gota con amoniaco hasta un pH 9 , como recomendación Medir el pH cada 5 gotas.

2. La solución alcanina se colocó en una pera de decantación, se añadió 25 ml de cloroformo, se agitó vigorosamente y se dejó reposar hasta que se forme 2 fases (fase acuosa y fase clorofórmica), luego se decantó para recuperar y reservar la fase clorofórmica. A la solución acuosa se realizó una segunda extracción.
3. A la fase clorofórmica obtenida se le denomina fracción C.
4. La solución acuosa se reserva para obtención de la fracción D.

#### Fracción D

1. La fase acuosa anterior es saturada con sulfato de sodio anhidro y luego se filtra. El filtrado es colocado en una pera de decantación, se añadió una solución de cloroformo: etanol (3:2), se agitó vigorosamente y se dejó reposar hasta que se forme dos fases, después se procedió a decantar y recuperar las fases, a la fase acuosa se le realizó una segunda extracción.
2. La fase clorofórmica de este procedimiento se le denomina fracción D.

#### Fracción E

Es la fase acuosa del procedimiento anterior.

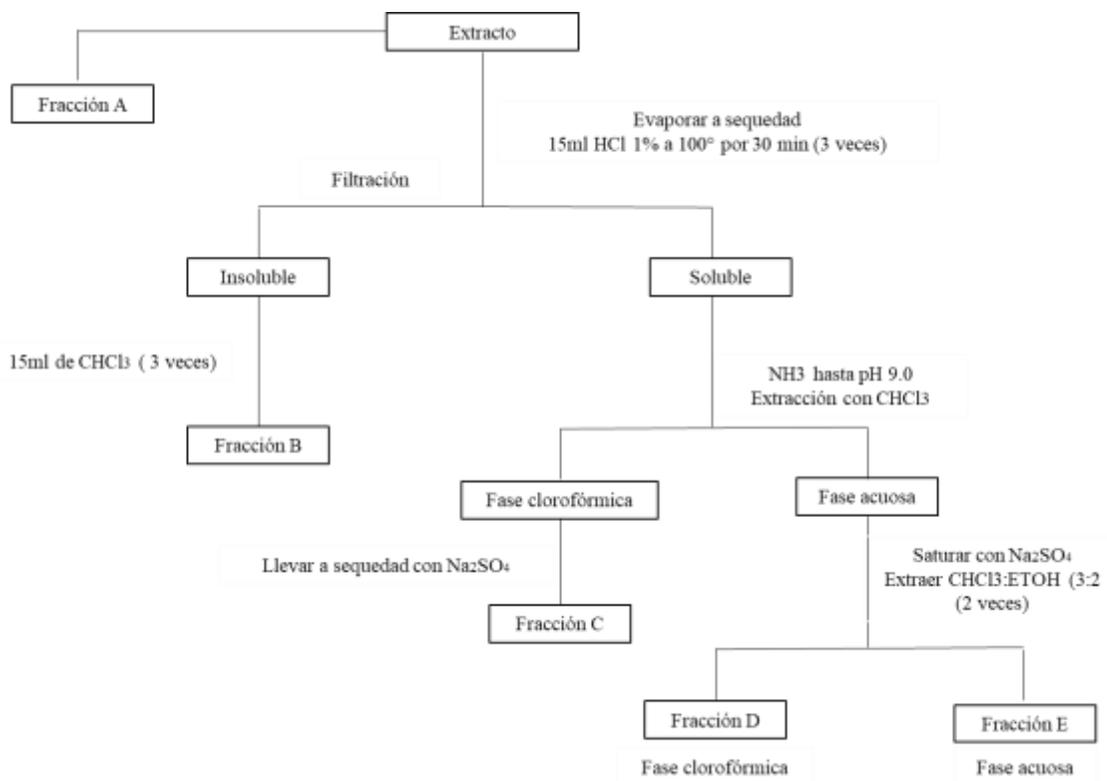


Figura 10: Fraccionamiento del extracto metanólico de *Nostoc* sp.

Fuente: Rondina & Cousson (1969)

### 3.6.2. Reacciones

De acuerdo con la metodología de Rondina & Cousson (1969) se determinaron diferentes análisis a las fracciones obtenidas

#### Fracción A

Se realizó una dilución de extracto 1:2 en metanol y se determinaron los siguientes análisis:

- Reacción de Molisch (Hidratos de carbono): A 1ml de extracto se agregaron 3 gotas de reactivo de Molisch ( $\alpha$ -naftol en etanol al 10 por ciento p/v), luego se agregó cuidadosamente por las paredes 0,5 ml de Ácido sulfúrico concentrado. La reacción positiva se evidencia por la aparición de un anillo de color púrpura violáceo en la interfase.

- Shinoda (Flavonoides): Se llevó a sequedad 1 ml de extracto y se resuspendió con igual volumen de agua destilada, luego se le agregó una limadura de magnesio y 5 gotas de HCl concentrado. La reacción positiva se da por la coloración de color salmón a rosa.
- Raccion de dicromato de potasio (Polifenoles/taninos): A 1 ml de fracción se agregó una solución acuosa de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) al 0,5 por ciento. La reacción es positiva si hay un cambio de coloración al anaranjado o amarillo.
- Gelatina (Taninos): A 1ml de extracto de le agregó 5 gotas de gelatina al 5 por ciento. La reacción es positiva si se hay presencia de turbidez o precipitación.
- $FeCl_3$  (Oxhidrilos fenólicos): A 1ml de extracto se le agregó de 2-3 gotas de  $FeCl_3$  al 1 por ciento. La reacción es positiva cuando hay un cambio de coloración de amarillo, verde grisáceo o azul negro.

Amarillo: 1 grupo hidroxilo adyacente

Verde grisáceo: 2 grupos hidroxilo adyacente

Azul negro: 3 grupos hidroxilo adyacente

- Ninhidrina (aminoácidos libres): A 1ml de extracto se le agregó 3 gotas de ninhidrina, se llevó a baño maría por 15 minutos. La reacción es positiva si existe en cambio de color a azul intenso.

### **Fracción B**

- Bornträger (antroquinonas): a 3 ml de la fracción se le agregó 5 ml de una solución de NaOH al 5 por ciento (p/v) y se agitó. El resultado es positivo si se evidencia una coloración rojiza o anaranjada en la fase acuosa.
- Liebermann-Burchard (esteroides y/o triterpenos): El reactivo de Liebermann-Burchard preparó una mezcla 1,5 ml de anhídrido acético y 1,5 ml de cloroformo en baño de hielo. A 2 ml de la fracción se le agregó 2 ml del reactivo y por la pared del tubo se agregó 1 ml de

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado frío. Todo este procedimiento se realiza en condiciones de baño con hielo.

La reacción es positiva para esteroides si se torna de color azul o verde petróleo.

La reacción es positiva para triterpenos si se colorea de marrón o pardo.

### **Fracción C**

- Kedde (Cardenólicos): A un 1ml de fracción se le adiciono 5 gotas del reactivo Kedde I (ácido 3,5 dinitrobenzoico al 2 por ciento en metanol) y 5 gotas del reactivo Kedde II (KOH al 5,7 por ciento en agua destilada). La reacción es positiva si se observa coloración rosa, púrpura o violeta.
- Wagner (Alcaloides): A 1ml de la fracción se le agrego 5 gotas del reactivo Wagner. La reacción es positiva si hay aparición de precipitado.
- Liebermann-Burchard (esteroides y/o triterpenos): Como se indicó previamente para la fracción B.

### **Fracción D**

- Rosenheim (leucoantocianidinas): 2 ml de la fracción se llevaron a sequedad y se resuspendieron con igual volumen de HCl al 1 por ciento. Luego se le agregó 1 ml de HCl concentrado, se mezcló y se llevó a baño maría a 100 °C por 10 minutos, se dejó enfriar, posteriormente se agregó igual volumen de alcohol amílico. es reacción positiva si hay una coloración rosa suave hasta carmesí en la fase orgánica.
- Se analizaron también las reacciones de Kedde, Liebermann-Burchard, Wagner y Shinoda de acuerdo al procedimiento descrito líneas arriba.

## **Fracción E**

Para esta fracción se realizaron las pruebas de Shinoda y Rosenheim con la metodología descrita anteriormente.

### **3.7. Determinación de polifenoles totales**

Se empleó el método espectrofotométrico propuesta por Singleton & Rossi (1965), basada en un mecanismo redox (óxido-reducción)

La metodología consistió en preparar una solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 7,5 por ciento y una solución 1N de reactivo de Folin (la solución se prepara el mismo día).

Luego se procedió a realizar el ensayo que consistió en colocar 500  $\mu\text{l}$  de extracto metanólico en un tubo de ensayo acondicionada para que no entre la luz, se agregó 250  $\mu\text{l}$  de reactivo Folin 1 N y 1250  $\mu\text{l}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7,5 por ciento. Se dejó reposar a temperatura ambiente por 30 minutos luego se hizo la lectura a 755 nm.

El contenido de fenoles totales se determinó a partir de una curva patrón de Ácido Gálico (Anexo 2). Los resultados se expresaron como mg de Ácido Gálico Equivalente (AGE) por cada gramo (g) de muestra.

### **3.8. Determinación de la actividad antioxidante por ABTS**

Se empleó el método espectrofotométrico basado en la decoloración del radical ABTS propuesto por Armao & Acosta (2001).

Se preparó una solución de ABTS a una concentración de 7,84 mg/ml con agua destilada (reactivo A) y otra solución de persulfato de potasio a una concentración de 1,32 mg/ml en agua destilada (reactivo B). Ambas soluciones de almacenaron en condiciones de oscuridad y a temperatura ambiente.

Se preparó una solución madre del radical ( $\text{ABTS}^+$ ) los reactivos A y B en una relación de 1:1. La mezcla se dejó reaccionar por 12 horas en condiciones de oscuridad y a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, se tomó un 1ml de la solución madre y se diluyó en metanol al 80 por ciento, la solución fue sometida a una longitud de onda de 734

nm hasta obtener una absorbancia de  $1.1 \pm 0,02$ , tomar en cuenta que esta solución es estable durante 4 horas.

Para los ensayos en los tubos de ensayo se agregó 150  $\mu\text{l}$  de extracto o del estándar del trolox y 2850  $\mu\text{l}$  del radical  $\text{ABTS}^+$  diluido, se agitó para homogenizar la mezcla y luego se dejó reposar durante 30 minutos en condiciones de oscuridad a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia a 734 nm, se utilizó como blanco metanol al 80 por ciento en vez de la muestra.

Se realizó una curva estándar de trolox con concentraciones de 100 a 500  $\mu\text{mol/L}$  (Anexo 3). Los resultados se expresaron como  $\mu\text{mol}$  de Trolox equivalente (TE) por gramo (g) de muestra seca.

### **3.9. Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH**

Se preparó una solución de DPPH a una concentración de 0,118 mg/ml con etanol y se guardó en un franco ámbar. Esta solución es estable durante 24 horas en condiciones de oscuridad y refrigeración.

Para el ensayo, se colocó en los tubos de ensayo 2 ml de extracto o del estándar y 800  $\mu\text{l}$  de la solución de DPPH, enseguida se agitó para homogeneizar la mezcla, se incubó por 30 minutos en oscuridad y se leyó la absorbancia a 517 nm.

El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{Ac - (Am - Abm)}{Ac} * 100$$

Donde:

Ac: Es la absorbancia del blanco reactivo

Am: Es la absorbancia de la muestra

Abm: Es la absorbancia del blanco de muestra

### **Determinación de la concentración inhibidora media (IC50)**

Para determinar el IC50, se graficó una recta entre el porcentaje de inhibición y la concentración de cada una de las diluciones del extracto metanólico de *Nosotoc* sp. expresada en mg/ml.

El IC50 de cálculo con la siguiente formula:

$$IC50 = \frac{50 - b}{m}$$

Donde:

IC50: Cantidad necesaria de la muestra para reducir en un 50 % la concentración inicial del radical DPPH

b: Intercepto de línea de regresión lineal

m: Pendiente de la línea de regresión línea

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Composición química proximal y contenido de minerales

En la tabla 5, se muestran los resultados obtenidos de la composición química proximal y contenido de minerales del *Nostoc sp.* deshidratado.

Tabla 5: Composición química proximal y minerales del *Nostoc sp.* deshidratado

Parámetro	Contenido
Humedad*	1,68
Proteína cruda*	33,38
Grasa cruda*	1,00
Ceniza*	13,68
Carbohidratos	50,26
Calcio**	2147
Fosforo**	31,62
Hierro**	46
Magnesio**	176
Potasio**	161
Sodio**	849

\*Resultados expresados en porcentaje (%) en base seca, \*\* resultado expresado en mg/100g de muestra en base seca

La proteína tuvo un valor de 33,38 %, ligeramente alto a los 32,36 % reportado por Chávez (2014), pero menor a los 47,71 % y 44,48 % reportados por Roldan (2015) y Fernández & Suyon (2018), respectivamente. Al comparar el porcentaje de proteína con granos andinos, considerados alimentos super food, se observa que el valor obtenido es mayor a los valores de proteína de la Cañinua (15.5 %  $\pm$ 0.4), Quinoa (15,7 %), y Kiwicha (16.50 %) reportado por Huamaní (2018), Wright et al. (2002) y Álvarez et al. (2010) respectivamente. El contenido de

carbohidratos tuvo un valor de 50,26 %, un valor menor a los 60,8 % reportado por Galetovic et al (2017) y 66.27 % reportado por Morales et al. (2017)

Los valores de grasa y ceniza (1,00 % y 13,68 %) obtenidos se encontraron dentro de los valores reportados por los autores mencionados anteriormente (1,4 % - 1,26 % y 10,05 % - 15,85 %).

En cuanto al contenido de hierro y calcio, los valores obtenidos fueron superiores a los reportados por Alegre et al. (2020) de 15,72 mg/100g y calcio 1224,4 mg/100g para el *Nostoc sphaericum*, el valor obtenido de hierro también superior a los 7.50 mg/100g para quinua (MINSA, 2009). Por otro lado, Gantar (2008) reportó valores inferiores en hierro (19,6 mg/100g) y superiores en fósforo (258 mg/100g) a los obtenidos en la presente investigación para la misma especie. Alegre et al. (2020) mencionan que el Cushuro es una buena alternativa para la alimentación como fuente de proteína, calcio, hierro y otros nutrientes.

La existencia de variaciones en los valores de composición proximal y minerales para un mismo grupo taxonómico o especie se debe a que la presencia y concentración de estos compuestos son afectados por las condiciones ambientales en las que se desarrolla, sobre todo por las condiciones fisicoquímicas de los suelos y agua. (Fernández & Suyón, 2018); Mabeau & Fleurence (1993) mencionan que la cantidad y calidad de los compuestos nutricionales son afectados por condiciones externas como variaciones geográficas, estacionales y fisiológicas.

#### **4.2. Marcha fitoquímica**

La marcha fitoquímica, prueba cualitativa que avalúa la presencia de compuestos químicos o metabolitos secundarios, se realizó al extracto metanólico *Nostoc sp* cuyos resultados obtenidos se presenta en la Tabla 6. Estos resultados son similares a los reportado por Sanchez (2018) que trabajo con extractos etanólicos.

Se obtuvo resultados positivos para polifenoles, taninos, flavonoides, odrixilos fenólicos, hidratos de carbono, triperpenos, cardenólicos y un positivo marcado para esteroides, evidenciando que esta especie tiene la capacidad de sintetizar estos metabolitos secundarios que en su mayoría actúan como mecanismo de defensa Kurmayer (2011). Y como resultados negativos se obtuvo los grupos químicos: aminoácidos libres, antroquinonas alcaloides y leucoantocianidina.

Tabla 6: Marcha fitoquímica del extracto metanólico de *Nostoc sp.*

Fracciones	Reacciones	Grupo químico	Resultado cualitativo
A	Dicromato de potasio	Polifenoles/taninos	++
	FeCl <sub>3</sub>	Oxhidrilos fenólicos	++
	Gelatina	Taninos	+
	Molisch	Hidratos de carbón	++
	Shinoda	Flavonoides	+
	Ninhidrina	aminoácidos libres	-
	Bornträger	Antroquinonas	-
B	Liebermann-Burchard	Esteroides	+++
	Liebermann-Burchard	Triterpenos	+
	Kedde	Cardenólidos	-
C	Liebermann-Burchard	esteroides y/o triterpenos	-
	Wagner	Alcaloides	-
	Kedde	Cardenólidos	++
	Liebermann-Burchard	esteroides y/o triterpenos	-
D	Wagner	Alcaloides	-
	Shinoda	Flavonoides	-
	Rosenheim	Leucoantocianidinas	-
E	Shinoda	Flavonoides	-
	Rosenheim	Leucoantocianidinas	-

Notas: (-) Negativo; (+) Positivo leve; (++) Positivo moderado; (+++) Positivo marcado

De los resultados positivos registrados la mayoría pertenecen al grupo de compuestos fenólicos, no es raro observar este comportamiento, debido a que estos representan uno de los grupos más numerosos de metabolitos secundarios presentes en plantas y algas (Shahidi & Ambigaipalan, 2015). Los compuestos fenólicos forman parte de los mecanismos de defensa de las microalgas contra la radiación UV (Gómez et al., 2016), se conoce tienen amplios beneficios en la salud humana como antioxidantes y en la prevención de la inflamación crónica, enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes (Acosta-Estrada et al., 2014)

La presencia de triterpenos, esteroides y cardenolidos, da un indicio respecto a que la especie *Nostoc*, puede emplearse en otros campos distintos a la alimentación, debido a que estos grupos químicos se caracterizan por tener un gran potencial en la industria farmacéutica, al tener muchas aplicaciones terapéuticas en enfermedades como el cáncer y como supresor del crecimiento de células cancerígenas (Zamora, 2021). Pero su mayor potencial es el antibacteriano, en investigaciones anteriores se ha encontrado que la presencia de terpenos en algas verdes, rojas y pardas, mostraron gran capacidad antibacteriana (Muñoz et al., 2020).

Es importante tener en cuenta, que si bien se obtuvieron resultados negativos para algunos grupos químicos; no necesariamente significa que estos grupos no sean sintetizados por la especie, pues la ausencia o presencia de compuestos puede estar relacionada por el método de extracción, o que la concentración de metabolitos presente es tan baja que impide su detección (Neyra 2011). Esto es consecuente con los reportes obtenidos por Chuquilín & Rosales (2016) que trabajaron con *Nosctoc sphaericum* y obtuvieron resultados negativos para flavonoides, polifenoles, triperpenos, esteroles, contrariamente a lo reportado en este trabajo

### 4.3. Determinación de compuestos fenólicos totales

El análisis de ANOVA determinó que existe diferencia significativa entre los valores de fenoles totales obtenidos en cada uno de los tratamientos ( $p < 0.05$ )

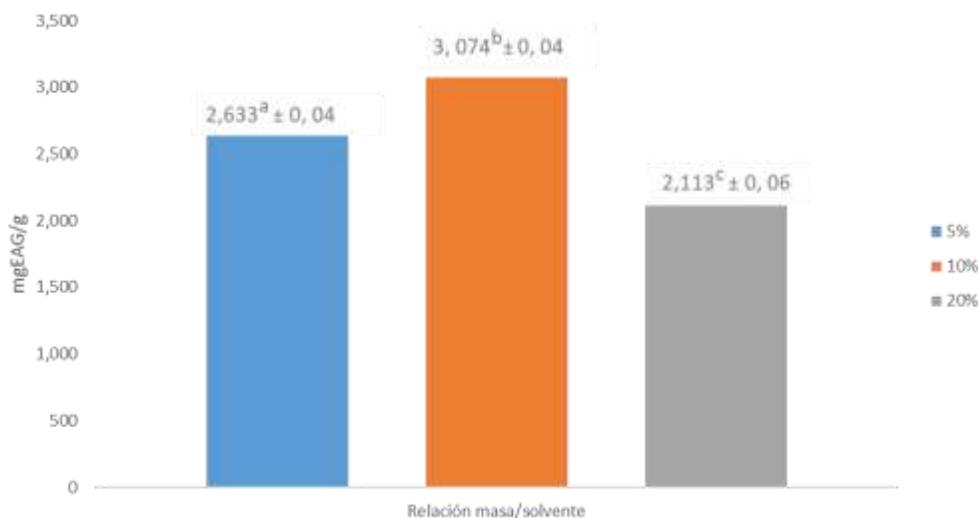


Figura 11: Comparación del contenido de fenoles expresado en mgEAG/g de muestra en tres tipos de relación masa/solvente de extracto metanólico

En la figura 11, se observa que el extracto metanólico al 10 % (p/v), presenta la mayor cantidad de contenido de fenoles (3,0743 mgEAG/g), estas diferencias pudieron deberse a la relación masa:solvente tal como indican Pinelo et al. (2005) que trabajaron con relaciones 1:1 y 5:1 y Nepote et al. (2005) que trabajaron con concentraciones de 20 a 60 mg/g de relación masa:solvente; ambas investigaciones demostraron que las diferentes relaciones de masa:solvente afectan la extracción de los compuestos fenólicos y que no existe una relación ideal para lograr las mejores condiciones de extracción salvo que se realice una optimización en el proceso de extracción.

Los valores obtenidos son similares a los reportados por otras investigaciones de *Nostoc sp*, así tenemos por ejemplo a: Chávez (2014) que reportó 2,98 mgEAG/de *Nostoc* liofilizado, Sánchez (2018) que trabajó con un extracto etanólico en similares condiciones de tiempo y temperatura de extracción al de este trabajo, obtuvo 2,562 mgEAG/g, comparando otras algas se obtuvo un valor menor para algas rojas como *Rhododymenia howeana* que registro un valor de 980,2 mg EAG/100 g (Rojas et al., 2018), sin embargo, se obtuvo un valor mayor si lo comparamos con

una de las algas de mayor consumo, el yuyo, *Chondracanthus chamissoi* que registro un valor 2,61 mg AG/100g de contenido de fenoles (Córdova, 2018).

#### 4.4. Determinación de actividad antioxidante por ABTS

En la figura 12 se muestran los resultados de la actividad antioxidante empleando el método ABTS, el análisis de ANOVA determinó que existe diferencias significativas entre los valores de actividad antioxidante obtenidos en cada uno de los tratamientos ( $p < 0.05$ ).

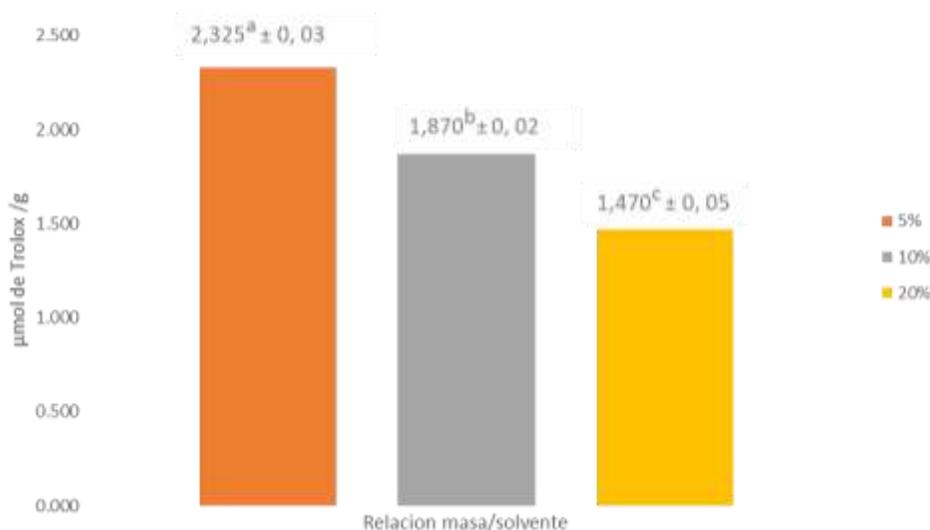


Figura 12: Comparación de la actividad antioxidante expresado en µmol de Trolox/g de muestra en tres tipos de relación masa/solvente de extracto metanólico

Los resultados fueron de  $2,325 \pm 0,03$  µmol de Trolox /g,  $1,870 \pm 0,02$  µmol de Trolox /g y  $1,470 \pm 0,05$  µmol de Trolox /g, para las concentraciones al 5, 10 y 20 % (p/v) respectivamente, siendo la concentración 5 % (p/v) la que tuvo la mayor capacidad antioxidante.

Se observa una relación inversa entre la concentración de extracto y el valor de actividad antioxidante, mostrando que a medida que la concentración de extracto aumenta la actividad antioxidante disminuye, este efecto como lo mencionan Mehmood et al.(2018) se debe a un cambio de polaridad del solvente, debido a que a medida que aumenta la relación masa:solvente, la tendencia a la lixiviación de los compuestos bioactivos disminuye, teniendo como resultado una disminución de la capacidad antioxidante.

Los valores obtenidos en la presente investigación son mayores a los reportados por otras investigaciones de Nostoc, así tenemos por ejemplo a Li et al (2007) que reportó 1,80  $\mu\text{mol}$  de Trolox /g y 2,39  $\mu\text{mol}$  de Trolox /g para *Nostoc ellipsosporum* 1453/19 y *Nostoc ellipsosporum* 1453/11 respectivamente, Cepoi et al (2009) que trabajaron con diferentes concentraciones de etanol para la extracción, reportaron valores que varían de 1,532-3,220  $\mu\text{mol}$  de Trolox /g para *Nostoc linckia* y Hajimahmoodi et al. (2010) reportaron 3,72  $\mu\text{mol}$  de Trolox /g (*Nostoc muscorum*) y 1,38  $\mu\text{mol}$  de Trolox /g (*Nostoc piscinale*).

Comparando con otras algas se obtuvo mayores resultados que los 1,16  $\mu\text{mol}$  de Trolox /g de *Gracilaria sp*, pero menores a los 3,70  $\mu\text{mol}$  de Trolox /g de *Ulva rigina* (Monteiro et al., 2020), los valores hallados también se encuentran dentro del rango 1,288-2,819  $\mu\text{mol}$  de Trolox /g reportado para *Spirulina platensis* reportado por Cepoi et al (2009) que trabajaron con diferentes concentraciones de etanol para la extracción.

#### **4.5. Determinación de capacidad antioxidante por DPPH**

En la figura 13, se reportan los resultados de la actividad antioxidante por el método DPPH, estos están expresados en porcentaje (%) de inhibición, se determinó mediante análisis ANOVA que existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos, obteniéndose un valor alto en el porcentaje de inhibición en la concentración al 20% (p/v) ( $94,99 \% \pm 0,09$ ) respecto a la concentración al 5 % (p/v) ( $44,36 \% \pm 0,01$ ).

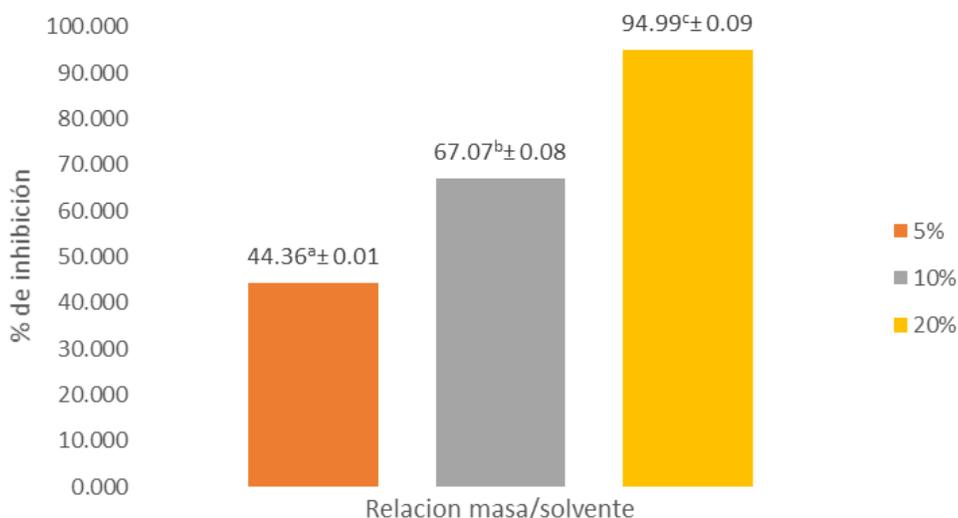


Figura 13: Comparación de la actividad antioxidante expresado en % de inhibición de muestra en tres tipos de relación masa/solvente de extracto metanólico

Dos de los tres tratamientos realizados obtuvieron valores de porcentaje de inhibición que se encuentran dentro del rango reportado por Sánchez (2018) y Vílchez (2017), cuyos valores oscilan entre 33,57 - 76,6 por ciento, por otra parte, Ali et al. (2014) reportaron una capacidad antioxidante para *N. muscorum* de 31,49 %, *N. piscinale* 48,0 % y para *Nostoc sp.* 52,2 %, valores cercanos a los reportados en la presente investigación.

Comparando con otras algas se tuvo mayor capacidad antioxidante respecto de *Ahnfeltia sp* (22,09 %) y *Gracilariopsis sp.* (46,42 %) cuyos extractos fueron trabajados al 10 % (p/v) en solvente etanol (Melo, 2019), Mamani (2019) que trabajo con *C. filiformis*, al 5 % (p/v) en metanol reporto 72,53 % y 84,65 % de capacidad antioxidante y para *Arthrospira máxima* se reportó 60,01 % Corte et al. (2020).

**Tabla 7: Capacidad antioxidante de extracto metanólico de *Nostoc* sp. por método DPPH expresado en IC<sub>50</sub> (mg/ml)**

Concentración de extracto (%)	% de Inhibición	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
5 %	44,36 % ± 0,01	0,581
10 %	67,07 % ± 0,08	0,706
20 %	94,99 % ± 0,09	0,942

La determinación de la concentración inhibidora media (IC<sub>50</sub>), se refiere a la cantidad de muestra necesaria para reducir en un 50 por ciento la concentración inicial del radical DPPH, se demostró que el tratamiento al 5 por ciento de concentración de extracto metanólico presentó mejor capacidad antioxidante con una IC<sub>50</sub> de 0,581 mg/ml, mientras que la muestra al 20 por ciento de extracto mostró la más baja capacidad de atrapar al radical DPPH con un valor IC<sub>50</sub> de 0,942 mg/ml, demostrando que se necesita mayor cantidad de muestra para inhibir la misma cantidad de radical DPPH

De acuerdo a Pinelo et al. (2005) mencionan que cuanto mayor es la ratio de disolvente: masa, es decir, mientras mayor sea el volumen de disolvente en relación a la masa, mayor es la cantidad de antioxidantes obtenidos, por lo tanto, de los tratamientos realizados el extracto al 5 por ciento es el que muestra una mayor eficiencia respecto a las otras concentraciones por necesitar menos cantidad de muestra para realizar la reacción.

En general los valores de IC<sub>50</sub> obtenidos tuvieron menos eficiencia respecto a los 0,102 mg/ml y 0,476 mg/ml reportados por Babic et al. (2016) y Sánchez (2018) respectivamente, pero fueron más eficientes a los 1,262 mg/ml reportados por Fernández & Suyón (2018), demostrando que, al emplear el metanol como solución extractiva, se obtuvo una buena capacidad de inhibir el radical. Respecto a otras algas se han reportado valores diversos como, por ejemplo: 0,649 mg/ml de *Padina australis* y 0,611 mg/ml de *Sargassum polycystum* (Gany et al. 2014), también se reportó 0,261 mg/ml para *Sargassum cymosum*, 0,361 mg/ml para *Sargassum* sp y 1,110 mg/ml para *Caulerpa mexicana* (Echavarría et al.,2009).

En la actualidad no existe un método definido respecto al procedimiento de la obtención de extractos, investigaciones hechas a cianobacterias, algas y otros alimentos, dan cuenta de la cantidad de variables a estudiar, como el empleo de diferentes solventes, tiempos de extracción, métodos de extracción y relación soluto/solvente. Respecto a este último se ha observado que la relación con la capacidad antioxidante en los métodos ABTS y DPPH tienen una estrecha relación, Gracia (2016) menciona que esta relación tiene un efecto significativo en la extracción de fenoles, cantidad de fenoles y capacidad antioxidante. Además, la existencia de diversidad de resultados para una misma familia de cianobacterias o de especie se ve afectado por factores como la propiedad de los sustratos, la etapa de la oxidación, la localización de los antioxidantes, métodos que se emplea para su extracción, el tipo de solvente empleado y las condiciones específicas aplicadas en ese ensayo (Magallanes et al., 2008; Huang et al., 2005).

## V. CONCLUSIONES

- La composición química proximal y el contenido de minerales encontrado fue de 33,38 % de proteína, 1 % de grasa, 13,68 % de ceniza, 50.26% de carbohidratos, 21,47 mg/g de calcio, 31,62 mg/100g de fósforo, 0,46 mg/g hierro, 1,76 mg/g de magnesio, 1,61 mg/g de potasio y 8,49 mg/g de sodio.
- La marcha fitoquímica realizada a la muestra de *Nostoc* sp. determinó la presencia de polifenoles, taninos, flavonoides, odrixilos fenólicos, hidratos de carbono, triptenos, cardenólicos y esteroides.
- El mayor contenido de fenoles se logró a la concentración del 10 % (p/v) de extracto metanólico teniendo un valor de  $3,0743 \pm 0,04$  mgEAG/g.
- La mayor capacidad antioxidante en los métodos ABTS y DPPH se logró a la concentración de 5 % (p/v) con  $2,325 \pm 0,03$   $\mu$ mol de Trolox /g y un IC<sub>50</sub> de 0,582 mg/ml.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Realizar un estudio de identificación de compuestos fenólicos y cuantificarlos
- Realizar un estudio de optimización para evaluar solventes, tiempos, relación solvente/sustrato y métodos de extracción.
- Realizar pruebas de toxicidad in-vitro e in-vivo de los compuestos químicos, a fin de aprovechar las propiedades antioxidantes, antimicrobianas, etc.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-Estrada, B. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food chemistry*, 152, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.093>
- Alegre, R., Ojeda, M., Acuña, A. (2020). Analisis proximal y contenido de hierro y calcio de *Nostoc sphaericum* “cushuro” deshidratado procedente de la laguna de Conococha, Catac - Huaraz. UCV-Scientia, 12(2): 137-149. [doi: 10.18050/revucv-scientia.v12i2.913](https://doi.org/10.18050/revucv-scientia.v12i2.913).
- Ali, H. E. A., Shanab, S. M. M., Abo-State, M. A. M., Shalaby, E. A. A., Eldmerdash, U., & Abdullah, M. A. (2014). Screening of Microalgae for Antioxidant Activities, Carotenoids and Phenolic Contents. *Applied Mechanics and Materials*, 625, 156–159. [doi: 10.4028/www.scientific.net/amm.625.156](https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amm.625.156).
- Babić, O., Kovač, D., Raseta, M., Šibul, F., Svirčev, Z., Simeunović, J. (2016). Evaluation of antioxidant activity and phenolic profile of filamentous terrestrial cyanobacterial strains isolated from forest ecosystem. *Journal of Applied Phycology*, 28(4): 2333-2342. [doi: 10.1007/s10811-015-0773-4](https://doi.org/10.1007/s10811-015-0773-4).
- Brand, W., Cuvelier, M., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28: 25-30. [doi: 10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Cadena, M., Molina, D., Carvajal, A., Ontaneda, D., Morales, E. (2013). Bioprospección de macrocolonias de *Nostoc sp.* en los andes ecuatorianos. *Acta Botánica Venezolana*, 36(2): 287-307. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86238659013>
- Camones, M. A. I., Teixeira, B. J., Llica, E. R., Chávez, B. A., Ruitón, C. F., Montoya, L. C., & Castillo, B. R. (2019). Actividad hipoglucemiante in vitro de los polisacáridos digeridos de *nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault (cushuro). *Horizonte Médico*, 19(1), 26-31. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2019.v19n1.05>

- Cepoi, L.; Rudi, L.; Miscu, V.; Cojocari, A.; Chiriac, T. and Sadovnic D (2009). Antioxidative activity of ethanol extracts from *Spirulina platensis* and *Nostoc linckia* by various methods. In: *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie*. nr. 2(16), pp. 43-48.
- Chávez, L. P. (2014). Composición química y actividad antioxidante in vitro del extracto acuoso de *Nostoc sphaericum* (Cushuro), laguna Cushurococha – Junín. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos] <https://hdl.handle.net/20.500.12672/3897>
- Chuquilín, R., & Rosales, D. (2016). Estudio de la biosorción de Cd (II) Y Pb (II) usando como adsorbente *Nostoc sphaericum* Vaucher. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 82(1): 49-60. Recuperado de: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2016000100006&lng=es&tlng=pt](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2016000100006&lng=es&tlng=pt).
- Córdova, D. C. (2018) Contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante in vitro en extractos hidroalcohólicos de *Chondracanthus chamissoi*. [Tesis de pregrado, Universidad César Vallejo] <https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25574/cordova%20id.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Coronado H., M., Vega y León, S., Vásquez F., M., & Radilla V., C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de nutrición*, 42(2): 206-212. doi: [10.4067/S0717-75182015000200014](https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014)
- Coronado, W., Valerio-González, L., & D'Armas, H. (2015). Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana preliminar de los extractos de la macroalga *Laurencia dendroidea*, J. Agardh, 1841 (RHODOMELACEAE: RHODOPHYTA). *Saber*, 27(1), 61-66. Recuperada de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-01622015000100008&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-01622015000100008&lng=es&tlng=es)
- Díaz, D., Méndez, W., Oliveira e Silva, A.; Zaldívar, C., Mancini-Filho, J., & Vidal, A. (2015). Comparación de las propiedades antioxidantes y contenido de polifenoles de extractos acuosos de las algas marinas *Bryothamnion triquetrum* y *Halimeda opuntia*. *Ars Pharmaceutica*. 56(2), 89-99. <https://dx.doi.org/10.4321/S2340-98942015000200003>
- Dodds, W., Gudder, D., Mollenhauer, D. (1995). The ecology of *Nostoc*. *Journal of Phycology*, 31(1): 2-18. doi: [10.1111/j.0022-3646.1995.00002.x](https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1995.00002.x).

- Duan, X. J., Zhang, W. W., Li, X. M., Wang, B. G. (2006). Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chemistry*, 95(1): 37-43. [doi: 10.1016/j.foodchem.2004.12.015](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.015).
- Echavarría Z, B., Franco S, A., & Martínez M, A. (2009). Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del caribe colombiano. *Vitae*, 16 (1),126-131. ISSN: 0121-4004. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S012140042009000100015&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012140042009000100015&lng=en&nrm=iso). ISSN 0121-4004
- Fernández, W. & Suyón, S. R. (2018). Efecto del secado convectivo en el valor nutricional, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante *in vitro* del *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault “cushuro” procedente de Recuay. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/9833>
- Fidor, A., Konkel, R., Mazur, H. (2019). Bioactive Peptides Produced by Cyanobacteria of the Genus *Nostoc*: A Review. *Marine Drugs*, 17(10), 561. [doi: 10.3390/md17100561](https://doi.org/10.3390/md17100561).
- Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G., Ritieni, A. (1999). Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3): 1035-1040. [doi: 10.1021/jf980496s](https://doi.org/10.1021/jf980496s).
- Galetovic, A., Araya, J., Gómez, B. (2017). Composición bioquímica y toxicidad de colonias comestibles de la cianobacteria andina *Nostoc* sp. Llayta. *Revista Chilena de Nutrición*, 44(4): 360-370. [doi: 10.4067/s0717-75182017000400360](https://doi.org/10.4067/s0717-75182017000400360).
- Gantar, M., Svirčev, Z. (2008). Microalgae and cyanobacteria: food for thought. *Journal of phycology*, 44(2): 260–268. [doi: 10.1111/j.1529-8817.2008.00469.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00469.x).
- García, N. (2007). Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma De Querétaro. Recuperado: [http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56\\_1UAQGarciaNava.pdf](http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf)

- Ghiselli, A., Serafini, M., Maiani, G., Azzini, E., Ferro-Luzzi, A. (1995). A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free radical biology and medicine*, 18(1): 29–36. doi: [10.1016/0891-5849\(94\)00102-p](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)00102-p).
- Gómez, Ana L.; J. López, José A.; Rodríguez, Armida; Fortiz, Judith; Martínez, Luis R.; Apolinar, Alejandro y Enríquez, Luis F. 2016. Producción de compuestos fenólicos por cuatro especies de microalgas marinas sometidas a diferentes condiciones de iluminación. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 44(1):137-143. <http://dx.doi.org/10.3856/vol44-issue1-fulltext-14>
- Gordo, D. A. M. (2018). Los compuestos fenólicos, un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1), 81-104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>
- Guerrero, M. M & Pico, A. K. (2020) Polifenoles totales y actividad antioxidante en extracto acuoso y etanólico de la raíz del churco *Arthrostemma ciliatum*. [Tesis químicas y farmacéuticas-Universidad de Guayaquil] <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/49262/1/BCIEQ-T-0505%20Guerrero%20Acosta%20Maritza%20Magaly%3b%20Pico%20Badillo%20Katherine%20Johanna.pdf>
- Hajimahmoodi, M., Faramarzi, M., Mohammadi, N., Soltani, N., Oveisi, M., Nafissi, N. (2010). Evaluation of antioxidant properties and total phenolic contents of some strains of microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 22: 43-50. doi: [10.1007/s10811-009-9424-y](https://doi.org/10.1007/s10811-009-9424-y).
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856. doi: [10.1021/jf030723c](https://doi.org/10.1021/jf030723c).
- Kurmayer R. (2011), The toxic cyanobacterium *nostoc* sp. strain 152 produces highest amounts of microcystin and nostophycin under stress conditions. *Journal of Phycology*, 47: 200-207. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00931.x>
- Li, H., Cheng, K., Wong, C., Fan, K., Chen, F., Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102: 771-776. doi: [10.1016/j.foodchem.2006.06.022](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.022).

- Li, H., Xu, J., Liu, Y., Ai, S., Qin, F., Li, Z., Zhang, H., Huang, Z. (2011). Antioxidant and moisture-retention activities of the polysaccharide from *Nostoc commune*. Carbohydrate Polymers, 83: 1821-1827. doi: [10.1016/j.carbpol.2010.10.046](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.10.046).
- Limón, D., Díaz, A., Mendieta, L., Luna, F., Zenteno, E., Guevara, J. (2010). Los flavonoides: mecanismo de acción, neuroprotección y efectos farmacológicos. Mensaje bioquímico, 34: 143-154. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/publication/259344548>
- López, A., Rico, M., Rivera, A., & Suárez de Tangil, M. (2011) The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts, Food Chemistry, Volume 125, Issue 3, Pages 1104-1109, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.101>.
- Mabeau, S., & Fleurence, J. (1993). Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. Trends in Food Science and Technology, 4(4), 103-107. MacArtain, P., Gill, C. I. R., Brooks, M., Campbell, R., & Rowland, I. R. (2007). Nutritional value of edible seaweeds. Nutrition reviews, 65(12), 535-543
- Mamani, J. E. (2019). Uso potencial del alga *Caulerpa filiformis* (Chlorophyta), procedente de las bahías de Paracas y Sechura, como fuente de principios activos. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria La Molina] <https://hdl.handle.net/20.500.12996/3926>
- Martinez- Valverde, I.; Periago, MJ., & Ros, G (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 2000, vol.50, n.1, pp. 5-18. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222000000100001](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000100001)
- Martínez, J. B. (2007). Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus*. [Tesis de pregrado, Universidad Tecnológica de la Mixteca]. [http://jupiter.utm.mx/~tesis\\_dig/10150.pdf](http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10150.pdf)
- Mehmood, A., Zhao, L., Ishaq, M., Safdar, B., Wang, C., & Nadeem, M. (2018). Optimización del contenido fenólico total, antioxidante y actividad inhibidora de la xantina oxidasa *in vitro* de la cabeza de girasol, CyTA - Journal of Food, 16:1, 957-964, DOI: [10.1080/19476337.2018.1504121](https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1504121)

- Melo, M. J. (2019). Marcha fitoquímica, contenido de fenoles totales y propiedades antioxidante, anti-elastasa y anti-colagenasa de extractos etanólicos de macroalgas del litoral peruano. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria La Molina]. <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4305>
- Monteiro, M. P., Santos, R., Iglesias, P., Couto, A., Serra, C. R., Gouvinhas, I., Barros, A., Oliva-Teles, A., Enes, P., & Díaz-Rosales, P. (2019). 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>
- Muñoz, R. A., Santome, S., & León, J. Q. (2020). Actividad antibacteriana de extractos hexánico y etanólico de macroalgas marinas de la bahía de Ancón, Lima – Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(2), e17829. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i2.17829>
- Nepote, V., R Grosso, N. & Guzmán, C. (2004). Optimization of extraction of phenolic antioxidants from peanut skins. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85:33-38. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1933>
- Neyra M. 2011. Evaluación química, posible letalidad y citotoxicidad del alga invasora *Kappaphycus alvarezii*. Cumaná: Universidad de Oriente, Escuela de Ciencias, Departamento de Química [Disertación Grado Licenciado en Química], pp. 112.
- Núñez S., A. (2011). Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Revista Cubana de Salud Pública*, 37(Supl. 5), 644-660. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-34662011000500013&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662011000500013&lng=es&tlng=es)
- Peñarrieta, JM, Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, JL, & Bravo, JA (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31 (2),68-81.ISSN: 0250-5460. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=426339682006>
- Pinelo, M; Rubilar, M; Jerez, M. Sneiro, J. and Núñez. JM (.2005). Efecto del solvente, la temperatura y la relación solvente a sólido sobre el contenido fenólico total y la actividad

- antirradicalaria de los extractos de diferentes componentes del orujo de uva. *Revista de química agrícola y alimentaria* 53 (6), 2111-2117 [DOI: 10.1021/jf0488110](https://doi.org/10.1021/jf0488110)
- Ponce, E. (2014). Nostoc: un alimento diferente y su presencia en la precordillera de Arica. *Idesia (Arica)*, 32(2): 119-121. [doi: 10.4067/S0718-34292014000200015](https://doi.org/10.4067/S0718-34292014000200015).
- Prior, R., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10): 4290–4302. [doi: 10.1021/jf0502698](https://doi.org/10.1021/jf0502698).
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237. [doi: 10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
- Rojas V, N., Valdivieso I, R., & Arnao S, I. (2018). Composición nutricional del alga roja *Rodhymenia howeana* de la Bahía de Ancón, Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 84 (4), 488-498. Recuperada de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2018000400009&lng=es&tlng=en](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2018000400009&lng=es&tlng=en).
- Rojas, D. & Narváez, C. E. (2009). Determinación de Vitamina C, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de frutas de guayaba (*Psidium guajava* L.) cultivadas en Colombia. *Quimica Nova*, 32(9): 2336-2340. [doi: 10.1590/S0100-40422009000900019](https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000900019)
- Roldan, W. V. (2015). Caracterización y cuantificación del comportamiento reológico del hidrocoloide proveniente del Nostoc (*Nostoc sphaericum* V.). [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina] <https://hdl.handle.net/20.500.12996/1823>
- Rondina, R. (1969). Estudio fitoquímico de plantas medicinales argentinas. Argentina: Revista de investigaciones agropecuarias.
- Sánchez, L. A. (2018). Evaluación fitoquímica y capacidad antioxidante in vitro del extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro). [Tesis de pregrado, Universidad César Vallejo] <https://hdl.handle.net/20.500.12692/25533>

- Santayana, M. L. (2018). Efecto del estrés abiótico post-cosecha en la síntesis de metabolitos secundarios y capacidad antioxidante de mashua morada (*Tropaeolum tuberosum*). [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina] <https://hdl.handle.net/20.500.12996/3775>
- Shahidi, F.; Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects-A review. *Journal of Functional Foods* 18:820-897.
- Singleton, V., Orthofer, R., Lamuela, R. (1999). Analysis of Total Phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178. [doi: 10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- Spigno, G.; Tramelli, L.; De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering* 81(1):200-208.
- Valdés, G. (2016). Influencia de las condiciones de operación en la extracción de polifenoles a partir de hojas de Moringa oleifera Lam. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 46, 135-145. <https://www.redalyc.org/pdf/1816/181643224032.pdf>
- Vázquez-Ovando, A., Mejía-Reyes, JD, García-Cabrera, KE, & Velázquez-Ovalle, G. (2022). Capacidad antioxidante: conceptos, métodos de cuantificación y uso para la caracterización de frutas tropicales y productos derivados. *Revista Colombiana De Investigaciones Agroindustriales* , 9 (1), 9–33. <https://doi.org/10.23850/24220582.4023>
- Vilchez, H. (2017). Efecto de la temperatura sobre la capacidad antioxidante del cushuro (*Nostoc commune vaucher*). [Tesis de pregrado, Universidad Alas Peruanas] <https://hdl.handle.net/20.500.12990/2279>
- Villavicencio, M., Alvarez, L., Fonseca, A., Ibazeta, A., Alvarado, E. (2016). Efectos nutritivos del Nostoc (cushuro) en los niños desnutridos de 1 a 3 años del distrito de Amarilis-2007. *Investigación Valdizana*, 3(1): 1–4. Recuperado de: <https://revistas.unheval.edu.pe/index.php/riv/article/view/649>.

Wu, X., Gu, L., Holden, J., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., Beecher, G., Prior, R. L. (2004). Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminar study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17: 407-422. [doi: 10.1016/j.jfca.2004.03.001](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.03.001)

## ANEXOS

### ANEXO 1: Marcha fitoquímica



Figura 12: Reacciones de la fracción A

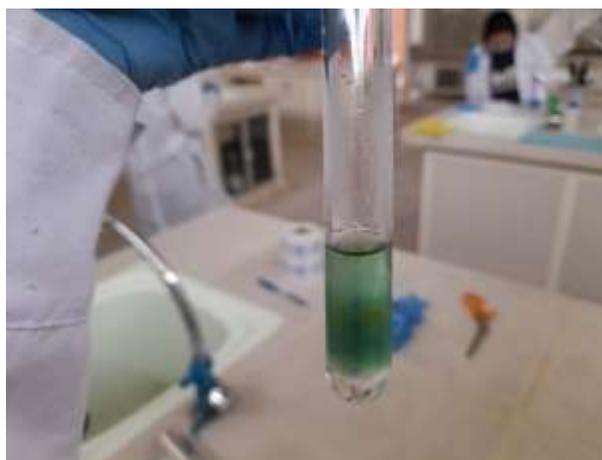


Figura 13: Reacción de la fracción B

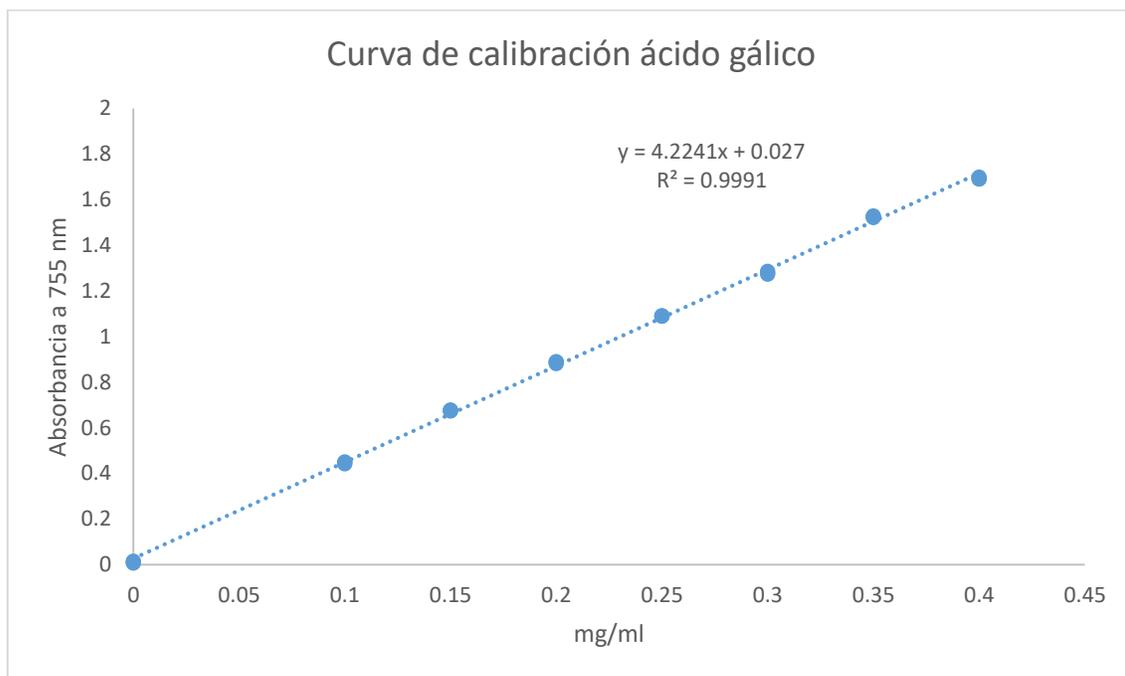


Figura 14: Reacciones para la fracción C

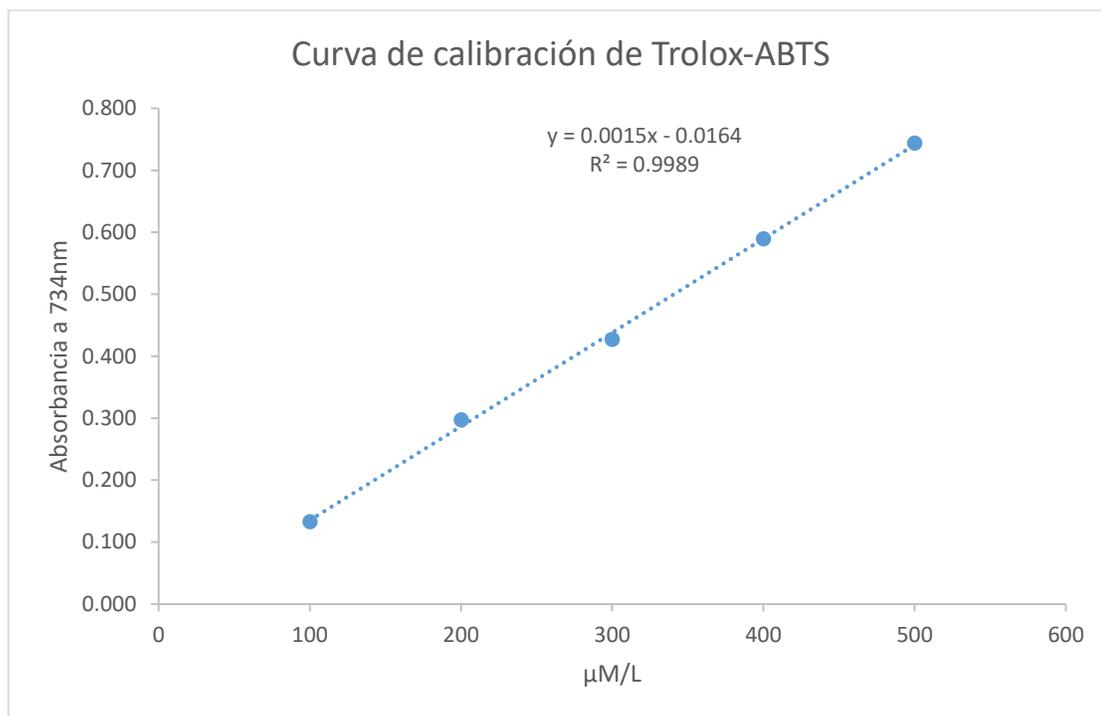


Figura 15: Reacciones para la fracción D

## ANEXO 2: Curva de calibración de ácido gálico



### ANEXO 3: Curva de calibración de Trolox- ABTS



ANEXO 4: ANOVA de un factor del contenido de fenoles totales entre las concentraciones de extracto metanólico

Fuente	SC	G	CM	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.390218721	2	0.69510936	255.035682	1.57154E-06
Intra grupos	0.016353226	6	0.00272554		
Total (Corr.)	1.406571947	8			

\*Existe una diferente estadísticamente significativa

Prueba de comparación de pares de Tukey entre las concentraciones de extracto metanólico

Concentración	Casos	Medía
5%	3	2.6327
10%	3	3.0743
20%	3	2.1127

Contraste	p-valor	Significancia
5%-10%	0.441612 <sup>a</sup>	*
5%-20%	0.520033 <sup>b</sup>	*
10%-20%	0.961646 <sup>c</sup>	*

\*Significativo

ANEXO 5: ANOVA de un factor de la capacidad antioxidante por el método ABTS entre las concentraciones de extracto metanólico

Fuente	SC	G	CM	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.096361962	2	0.54818098	452.272444	2.86121E-07
Intra grupos	0.007272355	6	0.00121206		
Total (Corr.)	1.103634317	8			

Prueba de comparación de pares de Tukey entre las concentraciones de extracto metanólico

Concentración	Casos	Medía
5%	3	2.3249
10%	3	1.8674
20%	3	1.4707

Contraste	p-valor	Significancia
5%-10%	0.457443 <sup>a</sup>	*
5%-20%	0.854213 <sup>b</sup>	*
10%-20%	0.396771 <sup>c</sup>	*

\*Significativo

ANEXO 6: ANOVA de un factor de la capacidad antioxidante por el método DPPH entre las concentraciones de extracto metanólico

Fuente	SC	G	CM	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3858.803388	2	1929.40169	22440.7821	2.38823E-12
Intra grupos	0.515864828	6	0.08597747		
Total (Corr.)	3859.319252	8			

Prueba de comparación de pares de Tukey entre las concentraciones de extracto metanólico

Concentración	Casos	Medía
5%	3	44.3559
10%	3	67.0651
20%	3	94.9867

Contraste	p-valor	Significancia
5%-10%	22.709163 <sup>a</sup>	*
5%-20%	50.630810 <sup>b</sup>	*
10%-20%	27.921646 <sup>c</sup>	*

\*Significativo