

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD
CATÓLICA DEL PERÚ**

Escuela de Posgrado



**Aislamiento y Elucidación de Metabolitos Secundarios
del Alga Marrón *Lessonia trabeculata* Recolectada en la
Caleta de Quilca**

Tesis para obtener el grado académico de Maestro en Química
que presenta:

Laurence Rommel Salmon Barrantes

Asesor:

Emma Patricia Morales Bueno

Lima, 2025

Informe de Similitud

Yo, EMMA PATRICIA MORALES BUENO, docente de la Escuela de Posgrado de la Pontificia Universidad Católica del Perú, asesor(a) de la tesis/el trabajo de investigación titulado:

AISLAMIENTO Y ELUCIDACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DEL ALGA MARRÓN *Lessonia trabeculata* RECOLECTADA EN LA CALETA DE QUILCA, del autor:


LAURENCE ROMMEL SALMON BARRANTES,

dejo constancia de lo siguiente:

- El mencionado documento tiene un índice de puntuación de similitud de 10%. Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software *Turnitin* el 24/09/2025.
- He revisado con detalle dicho reporte y la Tesis o Trabajo de Suficiencia Profesional, y no se advierte indicios de plagio.
- Las citas a otros autores y sus respectivas referencias cumplen con las pautas académicas.

Lugar y fecha:

San Miguel, 26 de septiembre de 2025

Apellidos y nombres del asesor / de la asesora: <u>Morales Bueno, Emma Patricia</u>	
DNI: 10492537	Firma 
ORCID: 0000-0002-3540-0536	

Resumen

Las algas marinas, especialmente las algas marrones (Phaeophyceae), son recursos naturales valiosos por su riqueza en metabolitos bioactivos con aplicaciones en las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética. En el Perú, *Lessonia trabeculata*, una especie endémica de la costa del Pacífico destaca por su contenido de compuestos como alginatos, fucoidanos, fucosterol, fucoxantina y floroglucinoles; pero su composición química y potencial han sido poco estudiados. La investigación tiene como objeto aislar y elucidar metabolitos secundarios de *Lessonia Trabeculata* para sentar las bases de futuros estudios y aplicaciones industriales, promoviendo su uso sostenible en un contexto regulado por medidas gubernamentales que protegen los ecosistemas marinos. Se recolectó e identificó botánicamente la especie en su hábitat natural, verificando su clasificación taxonómica mediante características morfológicas. Los metabolitos secundarios se extrajeron mediante Soxhlet con acetato de etilo, se separaron y purificaron por cromatografía en columna, cromatografía de capa fina y cristalización, y se caracterizaron utilizando espectroscopia infrarroja (IR), resonancia magnética nuclear (RMN de ^1H y ^{13}C), técnicas bidimensionales (HSQC, DEPT, APT) en dos compuestos aislados como LS01 y LS02. Se propone también las probables estructuras de los compuestos mencionados.

Palabras clave: *Lessonia trabeculata*, algas marrones, metabolitos secundarios, extracción Soxhlet, caracterización espectroscópica, aplicaciones industriales, sostenibilidad.

Abstract

Seaweeds, particularly brown algae (Phaeophyceae), are valuable resources due to their rich content of bioactive metabolites with applications in the pharmaceutical, food, and cosmetic industries. In Peru, *Lessonia trabeculata*, an endemic species of the Pacific coast, show up for its content of compounds such as alginates, fucoidans, fucosterol, fucoxanthin, and phloroglucinols; however, its chemical composition and potential remain understudied. This research aims to isolate and characterize secondary metabolites from *Lessonia trabeculata* to lay the foundation for future studies and industrial applications, promoting its sustainable use within a framework regulated by governmental measures that protect marine ecosystems. The species was collected and botanically identified in its natural habitat, with its taxonomic classification verified through morphological characteristics. Secondary metabolites were extracted using Soxhlet with ethyl acetate, separated, and purified by column chromatography, thin-layer chromatography, and crystallization, and characterized using infrared spectroscopy (IR), nuclear magnetic resonance (NMR of ^1H and ^{13}C), two-dimensional techniques (HSQC, DEPT, APT) for two isolated compounds, LS01 and LS02. The probable structures of the mentioned compounds are proposed are also proposed.

Keywords: *Lessonia trabeculata*, brown algae, secondary metabolites, Soxhlet extraction, spectroscopic characterization, industrial applications, sustainability.

Índice

	Pág.
Resumen	iii
Abstract	iv
Índice	v
Lista de Tablas	vii
Lista de Figuras	viii
PRIMERA PARTE: MARCO DE LA INVESTIGACIÓN	3
CAPÍTULO I	3
MARCO TEÓRICO	3
1.1. Las algas marinas como fuente de metabolitos bioactivos.	3
1.2. Clasificación y diversidad de las algas.	3
1.3. Macroalgas marinas.	4
1.4. Lessonia trabeculata y su relevancia.	4
1.5. Metabolitos secundarios en algas marrones.	5
1.5.1. Polisacáridos.	5
1.5.2. Polioles.	6
1.5.3. Terpenoides.	7
1.5.4. Ácidos grasos.	7
1.5.5. Compuestos fenólicos.	8
1.5.6. Compuestos halogenados y de yodo.	8
1.6. Técnicas de extracción y caracterización.	9
1.7. Estado del arte sobre Lessonia trabeculata.	9
SEGUNDA PARTE: DISEÑO METODOLÓGICO Y RESULTADOS	10
CAPÍTULO II	10
DISEÑO METODOLÓGICO	10
2.1. Reactivos, materiales y equipos.	10
2.1.1. Reactivos.	10
	v

2.1.2. Equipos.	10
2.2. Recolección y análisis taxonómico de Lessonia trabeculata.	11
2.3. Extracción y separación de compuestos.	12
2.3.1. Preparación de la muestra.	12
2.3.2. Extracción sólido-líquido.	13
2.3.3. Separación y purificación del sedimento.	13
2.3.4. Separación cromatográfica.	13
2.3.5. Cromatografía de capa fina preparativa.	14
2.3.6. Extracción de fucoxantina.	15
2.3.7. Extracción de alginato.	15
2.3.8. Determinación de yoduro.	16
2.4. Condiciones y procedimientos de análisis.	18
2.4.1. Elucidación del compuesto LS01.	18
2.4.2. Elucidación del compuesto LS02.	18
2.4.3. Elucidación del compuesto LSBD.	19
2.4.4. Identificación de otros componentes.	19
CAPÍTULO III	21
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	21
3.1. Recolección y clasificación taxonómica	21
3.2. Compuesto LS01	21
3.3. Compuesto LS02	30
3.4. Compuesto LSBD	40
Conclusiones	54
Recomendaciones	56
Referencias	57
Anexos	62

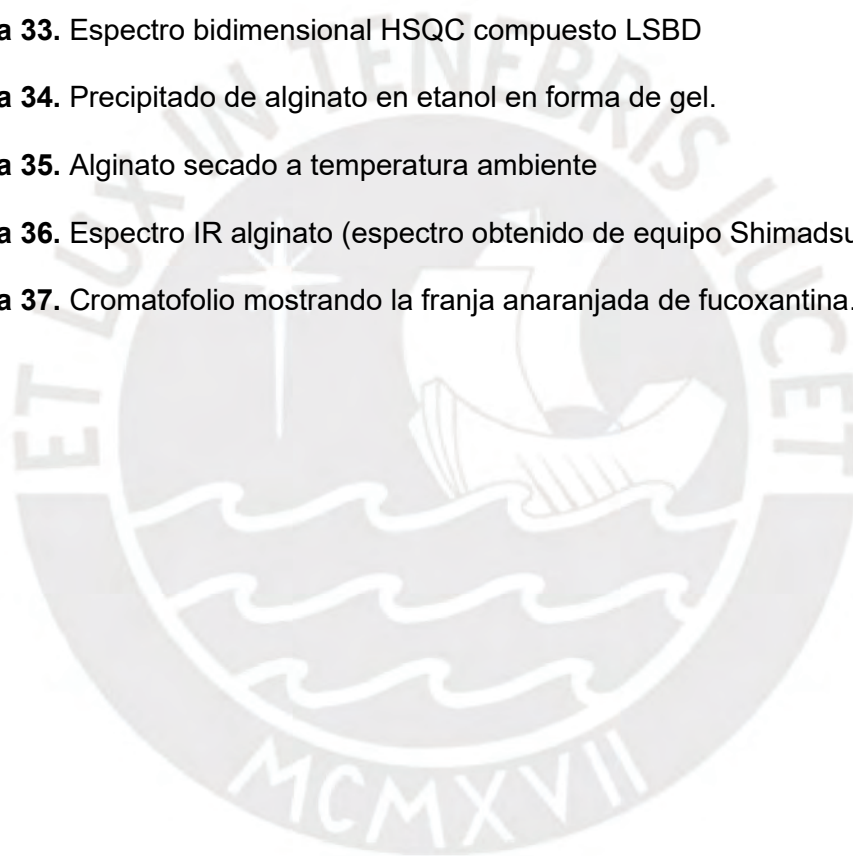
Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 01. De Señales y Asignación	21
Tabla 02. Señales vs. Valores de Asignación.	23
Tabla 03. Valores y Asignaciones de LS01 ^1H RMN en DMSO-d_6	24
Tabla 04. Valores de Constante de Acoplamiento y Asignaciones correspondientes a LS01 ^1H RMN en DMSO-d_6	24
Tabla 05. Valores y Asignaciones de ^{13}C RMN DEPT 135° en D_2O	26
Tabla 06. Valores y Asignaciones LS01 HSQC bidimensional en D_2O y DMSO-d_6	27
Tabla 07. Valores y Asignaciones de LS01 en DMSO , HSQC δ en ppm	28
Tabla 08. Valor de Masas en el Compuesto LS01	30
Tabla 09. Señales y Asignaciones de la Espectroscopía Infrarroja	31
Tabla 10. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear ^1H RMN	33
Tabla 11. Valores de Multiplicidad y Constante de Acoplamiento de ^1H RMN CDCl_3	33
Tabla 12. Señales y Asignación ^{13}C RMN LS02	35
Tabla 13. Señales y Asignaciones ^{13}C RMN DEPT 90° LS02 en CDCl_3	37
Tabla 14. Comparativa de Señales ^{13}C RMN DEPT 90° y DEPT 135° CDCl_3 Compuesto LS02	38
Tabla 15. APT CDCl_3 Compuesto LS02	39
Tabla 16. Número de Onda Asignación Compuesto LSBD	41
Tabla 17. Valores y Asignación del ^1H RMN en DMSO-d_6 del Compuesto LSBD	43
Tabla 20. Valores y Asignación ^{13}C RMN DEPT 135° en DMSO-d_6	49
Tabla 21. Señales y Asignación de HSQC δ en ppm del Compuesto LSBD	51
Tabla 22. Señales y Asignaciones sobre la Caracterización del alginato.	64

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 01. Partes del alga marrón <i>Lessonia Trabeculata</i> .	5
Figura 02. Ácidos Urónicos (1) D- manurónico, (2) L- gulurónico.	5
Figura 03. Estructura compleja del alginato en algas Pheophytas conocido como el “Modelo de la caja de huevos” (Usov, A. I. ,1999)	6
Figura 04. Fucoídiano en el género <i>Laminaria</i> .	6
Figura 05. Estructura del Manitol	7
Figura 06. Estructura de la Fucoxatina. (Extraído de Haugan, J., Aakermann, T., & Jensen, S. 1992).	7
Figura 07. Estructura del Fucosterol.	7
Figura 08. Ácido graso insaturado (ácido oleico).	8
Figura 09. Estructura del (1) floroglucinol, (2) 2,4- dibrofenol.	8
Figura 10. Alga marrón <i>Lessonia Trabeculata</i> en su hábitat natural, se observan los estípites y las láminas.	12
Figura 11. Diagrama de Proceso de Aislamiento de Compuestos.	17
Figura 12. Espectro IR del compuesto LS01	22
Figura 13. Espectro ^1H RMN compuesto LS01 en D_2O	23
Figura 14. Espectro ^1H RMN en DMSO-d_6	25
Figura 15. Espectro ^{13}C RMN DEPT 135° en D_2O LS01	26
Figura 16. Espectro HSQC en D_2O LS01	27
Figura 17. Espectro bidimensional en DMSO-d_6 , HSCQ δ en ppm.	28
Figura 18. Espectro de masas LS01	29
Figura 19. Estructura propuesta basada en los resultados espectroscópicos.	30
Figura 20. Espectro IR compuesto LS02	32
Figura 21. Espectro ^1H RMN en CDCl_3	34
Figura 22. Espectro ^{13}C RMN LS02	35
Figura 23. Espectro HSQC LS02	36

Figura 24. Espectro ^{13}C RMN DEPT 90° LS02 en CDCl_3	37
Figura 25. Espectro ^{13}C RMN DEPT 135° CDCl_3 compuesto LS02	38
Figura 26. Espectro APT CDCl_3 compuesto LS02	39
Figura 27. Estructura propuesta del compuesto LS02	40
Figura 28. Espectro IR del compuesto LSBD	42
Figura 30. Espectro ^1H RMN en Acetona- d_6 del compuesto LSBD	46
Figura 31. Espectro ^{13}C RMN DMSO-d_6 compuesto LSBD	48
Figura 32. ^{13}C RMN DEPT 135° EN DMSO-d_6 compuesto LSBD	50
Figura 33. Espectro bidimensional HSQC compuesto LSBD	52
Figura 34. Precipitado de alginato en etanol en forma de gel.	63
Figura 35. Alginato secado a temperatura ambiente	63
Figura 36. Espectro IR alginato (espectro obtenido de equipo Shimadzu (UNI))	65
Figura 37. Cromatofolio mostrando la franja anaranjada de fucoxantina.	66



Introducción

Las algas marinas han captado la atención global por su potencial en las industrias alimentaria, farmacéutica, cosmética y ambiental. Entre ellas, las algas marrones (Phaeophyceae) destacan por su riqueza en metabolitos bioactivos, como alginatos, fucoidanos, fucoesterol, fucoxantina y floroglucinoles, que tienen propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias y antitumorales (Liu et al., 2011; Mekinić et al., 2019; Wang et al., 2012). En el Perú, el alga marrón *Lessonia trabeculata*, una especie endémica de la costa del Pacífico es de particular interés debido a su abundancia y su contenido de alginatos, ampliamente demandados en mercados asiáticos como China y Japón (Usov, 1999). Sin embargo, los estudios sobre esta especie son limitados, lo que restringe el aprovechamiento de su potencial en aplicaciones industriales y de salud.

La explotación de algas marinas, si no se regula, puede provocar sobreexplotación y daños a los ecosistemas marinos. En respuesta, el gobierno peruano, a través del Ministerio de la Producción, ha implementado medidas como vedas temporales y cuotas de extracción para proteger especies como el alga marrón *Lessonia trabeculata* y garantizar su sostenibilidad (Ministerio de la Producción, 2022). Estas regulaciones buscan equilibrar el uso comercial con la conservación de los recursos marinos, promoviendo un manejo responsable de los ecosistemas costeros.

Este contexto resalta la necesidad de investigaciones que caractericen la composición química del alga marrón *Lessonia trabeculata* y evalúen sus aplicaciones, fomentando un uso sostenible. La escasez de estudios específicos sobre esta especie en el Perú representa una oportunidad para generar conocimiento que potencie su valor en la cadena productiva de algas marinas. Por ello, esta investigación tiene como objetivo aislar y elucidar los metabolitos secundarios del alga marrón *Lessonia trabeculata* proveniente de la costa peruana, contribuyendo al conocimiento científico y al desarrollo de aplicaciones en las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética, dentro de un marco sostenible.

Objetivos

a) Objetivo general.

- Aislar, identificar y caracterizar los metabolitos secundarios del alga marrón *Lessonia trabeculata* proveniente de la costa peruana para determinar sus posibles aplicaciones en las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética.

b) Objetivos específicos.

- Recolectar e identificar botánicamente el alga marrón *Lessonia trabeculata* en su hábitat natural, verificando su clasificación taxonómica mediante características morfológicas y comparación con literatura especializada.
- Extraer metabolitos secundarios del alga marrón *Lessonia trabeculata* utilizando extracción Soxhlet con acetato de etilo para obtener compuestos bioactivos.
- Separar y purificar los metabolitos extraídos mediante cromatografía en columna, cromatografía de capa fina y cristalización sucesiva.
- Caracterizar los compuestos aislados mediante espectroscopia infrarroja (IR), resonancia magnética nuclear (RMN de ^1H y ^{13}C) y técnicas bidimensionales (HSQC, DEPT, APT) para determinar su estructura química.

PRIMERA PARTE: MARCO DE LA INVESTIGACIÓN

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Las algas marinas como fuente de metabolitos bioactivos.

Las algas marinas han emergido como una potencial fuente de metabolitos bioactivos con aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética. En las últimas décadas, la investigación en productos naturales acuáticos ha identificado tres líneas principales: toxinas, bioproductos y ecología química, estimulando el descubrimiento de nuevos fármacos y el estudio de su estructura química y funciones biológicas (Cardozo et al., 2007). Desde épocas remotas, en regiones como Europa del Norte, Asia y Perú, las algas han sido parte de la dieta humana y se han explotado tradicionalmente por su riqueza en compuestos bioquímicos (Se Kwon Kim, 2012). Este interés ha llevado a un enfoque intensivo en la caracterización de biomoléculas con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antitumorales y antimicrobianas, entre otras.

1.2. Clasificación y diversidad de las algas.

Las algas son organismos fotosintéticos acuáticos, unicelulares o pluricelulares, que producen oxígeno mediante clorofilas (a, b, c1, c2,) y pigmentos accesorios específicos según su grupo taxonómico. Se caracterizan por: (a) fotosíntesis oxigénica, (b) hábitat acuático o húmedo, (c) estructura celular procariota (cianobacterias) o eucariota, (d) ausencia de estructuras reproductivas complejas, y (e) rol como productores primarios (Lee, 2008; Dawes, 1991). No forman un grupo monofilético, distribuyéndose en tres reinos según filogenia molecular basada en el ARN ribosómico (Cavalier-Smith, 2004):

- **Bacteria:** Cianobacterias, procariotas con clorofila a y ficobiliproteínas (como ficocianinas y ficoeritrinas), antes llamadas algas verdeazuladas (Wallace, 1990).
- **Plantae:** Chlorophyta (algas verdes, con clorofilas a y b y carotenoides como astaxantina) y Rhodophyta (algas rojas, con clorofila a y ficobiliproteínas), relacionadas con plantas terrestres (Se Kwon Kim, 2012).

- **Chromista:** Phaeophyta (algas marrones, con clorofilas a, c1, c2, c3 fucoxantina, un carotenoide que les da su color marrón), como la *Lessonia trabeculata*, explotada en Perú por sus alginatos (FAOLEX, 2009; Bringloe et al., 2020).

Esta diversidad refleja la complejidad del concepto de alga, definido por funciones ecológicas más que por un origen evolutivo común. En el contexto de esta investigación, el alga marrón *Lessonia trabeculata* (Phaeophyta) es relevante por su contenido de fucoxantina, un pigmento con propiedades antioxidantes y citotóxicas (Jaswir et al., 2013).

1.3. Macroalgas marinas.

- **Chlorophyta:** Algas verdes del reino Plantae, contienen clorofilas a y b y habitan tanto en aguas dulces como marinas, especialmente en zonas tropicales. Algunas especies acumulan carotenoides como la astaxantina, con aplicaciones antioxidantes (Dawes, 1991).
- **Rhodophyta:** Algas rojas con clorofila a y ficobiliproteínas, son comercialmente relevantes por producir hidrocoloides como agar y carrageninas, utilizados en la industria alimentaria y farmacéutica (Se Kwon Kim, 2012).
- **Phaeophyta:** Algas marrones caracterizadas por alginatos, fucoxantina, taninos, clorofilas a, c1 y c2, manitol y yoduros. Son una fuente clave de biopolímeros, con especies como *Lessonia trabeculata* explotadas comercialmente en Perú bajo regulación del Ministerio de la Producción (FAOLEX, 2009).

1.4. *Lessonia trabeculata* y su relevancia.

El hábitat del género *Lessonia* es exclusivo de las costas del océano del Pacífico del sur. Su morfología se caracteriza por tener un disco de fijación (holdfast), estípites y láminas (Fig. 01). El género *Lessonia* presenta dos especies en las costas del sur del Perú, *Lessonia trabeculata* y *Lessonia nigrescens*. Por lo que su explotación está hoy en día, regulada por resoluciones ministeriales debido a su importancia ecológica y comercial (FAOLEX, 2009). Actualmente, estas especies se encuentran bajo veda para proteger su sostenibilidad, lo que resalta la necesidad de estudios que optimicen su uso mediante la elucidación de sus metabolitos.

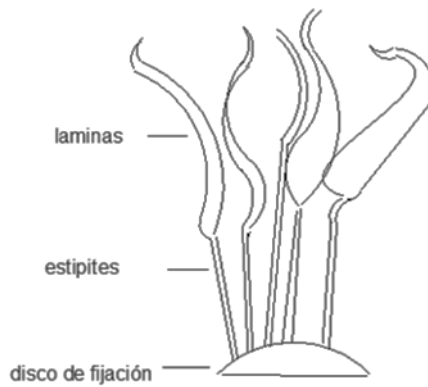


Figura 01. Partes del alga marrón Lessonia Trabeculata.

1.5. Metabolitos secundarios en algas marrones.

Las algas marrones, incluyendo Lessonia trabeculata, son ricas en metabolitos secundarios con diversas aplicaciones. A continuación, se describen los principales grupos, acompañados de sus estructuras químicas representativas.

1.5.1. Polisacáridos.

- **Alginatos:** Son polímeros formados por ácidos urónicos (manurónico y gulurónico) (Fig. 02) con propiedades gelificantes, ampliamente utilizados en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos principalmente en algas marrones en géneros Sargassum, Macrocystis, Laminaria, Lessonia, Ascophyllum, y Ecklonia .(Usov, 1999; Fertah et al., 2017).

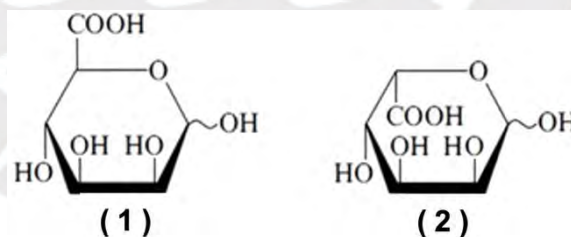


Figura 02. Ácidos Urónicos (1) D- manurónico, (2) L- gulurónico.

Los alginatos se encuentran formando complejos con iones calcio mediante la interacción de pares de electrones de los grupos hidroxilos y de los grupos carboxilatos y iones hidrogeno formando un complejo con restos de ácidos gulurónico. Se conoce este complejo como el “modelo de la caja de huevos” mostrado e la figura 03.

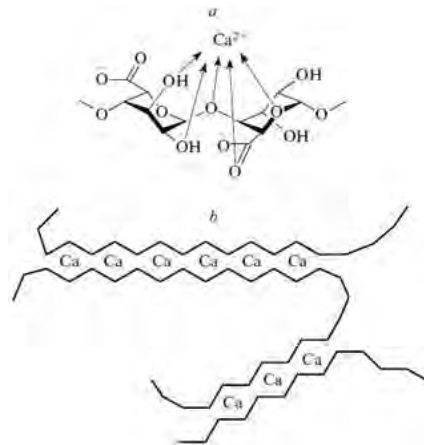


Figura 03. Estructura compleja del alginato en algas Pheophytas conocido como el “Modelo de la caja de huevos” (Usov, A. I. ,1999)

- **Fucoidanos:** Son polisacáridos sulfatados compuestos por fucosa, xilosa, galactosa, manosa y ácido glucurónico (Fig. 04), con actividades antioxidantes, antivirales y antitumorales (Ale & Meyer, 2013).

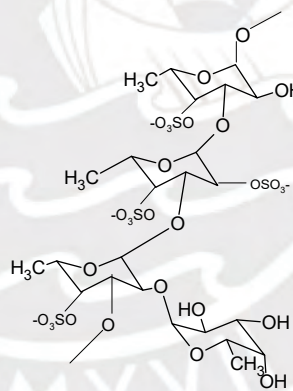


Figura 04. Fucoidiano en el género Laminaria.

1.5.2. Polioles.

- **Manitol:** Corresponde a un derivado de la D-manosa (Fig. 05), presente en Fucus y Sargassum, se usa en productos para diabéticos y como agente cicatrizante (Premarathna et al., 2023).

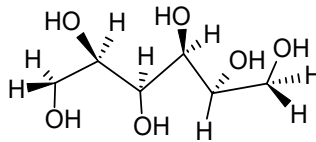


Figura 05. Estructura del Manitol

1.5.3. Terpenoides.

- **Fucoxantina:** Carotenoide poliénico responsable de la coloración marrón (Fig. 06), con propiedades antioxidantes y citotóxicas.

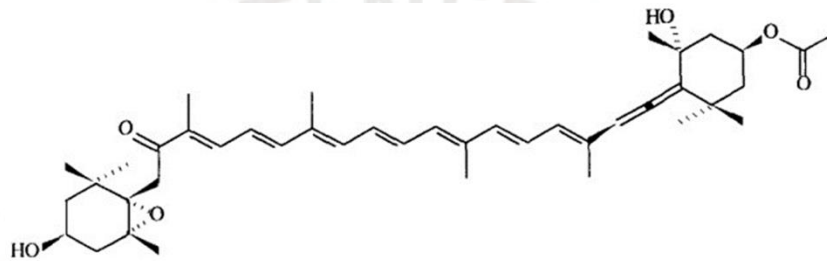


Figura 06. Estructura de la Fucoxantina. (Extraído de Haugan, J., Aakermann, T., & Jensen, S. 1992).

- **Esteroles:** Triterpenoides lipídicos como el fucosterol (Fig. 07), con actividades biológicas diversas, incluyendo efectos citotóxicos Sheu et al., (1999).

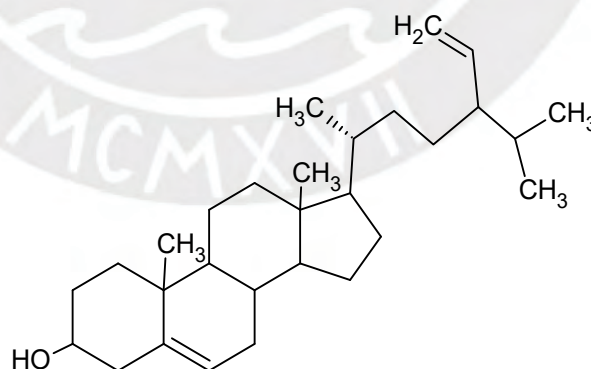


Figura 07. Estructura del Fucosterol.

1.5.4. Ácidos grasos.

Se han identificado ácidos grasos saturados e insaturados (ω -3, ω -6, ω -9) (Fig. 08) en especies como Sargassum, con propiedades antiinflamatorias (Rocha et al., 2021); (Gerasimenko & Logvinov, 2016).

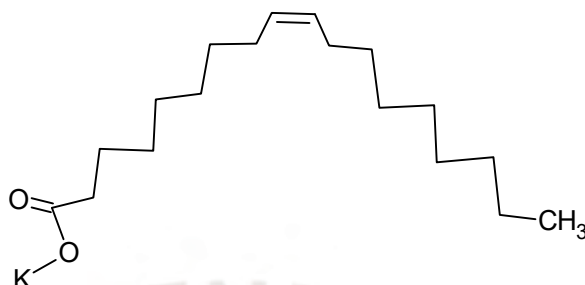


Figura 08. Ácido graso insaturado (ácido oleico).

1.5.5. Compuestos fenólicos.

Incluyen floroglucinol, bromofenoles, fucoles, eckoles, floretoles, toluquinoles y polifenoles halogenados, con actividades antioxidantes y antitumorales (Mekinić et al., 2019); (Liu et al., 2011); (Wang et al., 2012); (Cheng et al., 2019). En la Figura 09, se muestran las estructuras del floroglucinol y el 2,4-dibromofenol.

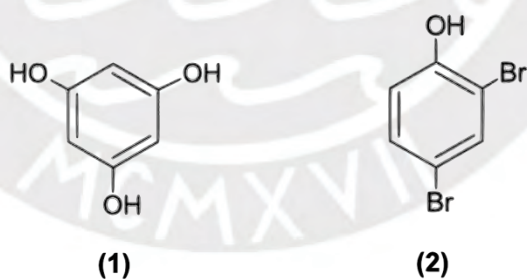


Figura 09. Estructura del (1) floroglucinol, (2) 2,4- dibromofenol.

1.5.6. Compuestos halogenados y de yodo.

Las algas marrones acumulan yoduros que actúan como antioxidantes, neutralizando especies reactivas de oxígeno y contribuyen al ciclo geoquímico del

yodo mediante la formación de halocarbonos (Küpper et al., 2008); (La Barre et al., 2010); (Küpper & Carrano, 2019).

1.6. Técnicas de extracción y caracterización.

Para la obtención de metabolitos secundarios se usaron técnicas como la extracción Soxhlet con solvente orgánico (acetato de etilo) y purificación mediante cromatografía en columna, cromatografía de capa fina y cristalización (Harborne, 1998); (Lenis et al., 2007). La caracterización estructural se realiza con espectroscopia infrarroja (IR), resonancia magnética nuclear (RMN de ^1H y ^{13}C) y técnicas bidimensionales como HSQC, DEPT y APT (Hesse et al., 2005); (Nakanishi, 1964). Además, la espectroscopia FTIR-ATR es útil para identificar polisacáridos en algas marinas (Gómez-Ordóñez & Rupérez, 2011).

1.7. Estado del arte sobre *Lessonia trabeculata*.

A pesar del interés global por los metabolitos bioactivos marinos, los estudios sobre *Lessonia trabeculata* son limitados, sin embargo comercialmente es una fuente de alginatos, (Se Kwon Kim, 2012). Las investigaciones de alginatos en géneros de algas marrones correspondieron a géneros del hemisferio norte como *Laminaria*, por su demanda industrial (Fertah et al., 2017). No obstante, trabajos recientes sugieren la presencia de manitol, fucoxantina, fucosterol y compuestos fenólicos, (Mekinić et al., 2019) pero generalmente referidos a algas marrones de otras latitudes, lo que indica un potencial subexplorado, a pesar de la escasez de datos respecto a la especie *Lessonia trabeculata*, destaca la necesidad de investigaciones que caractericen exhaustivamente su composición química. El presente estudio busca abordar este vacío mediante extracción, purificación y caracterización de metabolitos secundarios de *Lessonia trabeculata*, con el objetivo de generar conocimiento para aplicaciones industriales y farmacológicas.

SEGUNDA PARTE: DISEÑO METODOLÓGICO Y RESULTADOS

CAPÍTULO II

DISEÑO METODOLÓGICO

2.1. Reactivos, materiales y equipos.

2.1.1. Reactivos.

Los solventes fueron de grado reactivo de la marca Merck, J .T. Baker, agua destilada del laboratorio de química de la PUCP.

- Metanol.
- Acetona.
- Acetato de Etilo grado reactivo.
- Cloroformo grado reactivo.
- Hexano grado reactivo.
- Etanol grado reactivo.
- Vainillina grado reactivo.
- Ácido sulfúrico concentrado Merck.
- Peróxido de hidrogeno 30%.
- Permanganato de potasio grado reactivo.
- Tiosulfato de sodio.
- Almidón grado reactivo.
- Cromatofolios Merck sílica gel 254nm.
- Sílica gel 254 300 mesh Merck.
- Placas de vidrio.
- D₂O
- DMSO_{d6}
- Acetona-d₆
- CDCl₃

2.1.2. Equipos.

- Espectrofotómetro Perkin Elmer IR, Laboratorio de Instrumentación, Sección Química, PUCP.
- Aparato de Punto de Fusión FISHER, Laboratorio de Instrumentación, Sección Química, PUCP.
- Rotavapor Büchi r1100, Laboratorio de Instrumentación, Sección Química, PUCP.
- Lámpara UV 254 366nm, Laboratorio de Instrumentación, Sección Química, PUCP.
- Espectrómetro de resonancia Magnética Nuclear 300MHZ Brücker 300, Laboratorio de Instrumentación, Sección Química, PUCP.
- Polarímetro Schmidt-Haensch Kleines Kreis Polarimeter Halogenlampe, Laboratorio de Instrumentación, Sección Química, PUCP.
- Equipos de extracción Soxhlet, Laboratorio de Instrumentación, Sección Química, PUCP.
- Columna cromatografía de diámetro 2,4 cm y largo 60 cm, Laboratorio de Instrumentación, Sección Química, PUCP.
- Plancha/agitador magnético Fischer, Laboratorio de Instrumentación, Sección Química, PUCP.
- ATR FTIR modelo Prestige Shimadzu Facultad de Ciencias Universidad Nacional de Ingeniería UNI.

2.2. Recolección y análisis taxonómico de *Lessonia trabeculata*.

La recolección de las algas marrones *Lessonia trabeculata* se realizó en la Caleta de Quilca, distrito de Quilca, provincia de Camaná, Arequipa, Perú, ubicada a 16°47'45" de latitud sur y 72°26'56,99" de longitud oeste. Las algas frescas se recolectaron manualmente desde su hábitat natural en la zona intermareal (Fig. 10).



Figura 10. Alga marrón *Lessonia Trabeculata* en su hábitat natural, se observan los estípites y las láminas.

La clasificación taxonómica fue realizada por el Dr. César Acleto O. y certificada por la jefa del herbario del museo de Historia Natural de la Universidad Mayor de San Marcos UNMSM. Mg. Joaquina Albán Castillo.

Reino Vegetal (actualmente reino Cromista).

Tipo Cryptogamas

Phylum Euthallophyta

Division Phaeophyta

Clase Phaeophyceae

Orden Laminariales

Familia Lessoniaceae

Genero *Lessonia*

Especie *Lessonia trabeculata*

Nombres Comunes

Perú: Aracáto palo, palo blanco, alga

Chile: Huiro palo, Huiro varilla

2.3. Extracción y separación de compuestos.

2.3.1. Preparación de la muestra.

Se recolectaron 35 kg de algas frescas de la especie *Lessonia trabeculata* en la Caleta de Quilca, región Arequipa. Las algas fueron extendidas sobre papeles absorbentes y secados al sol durante una semana, alcanzando un peso seco de

2,2 kg. Luego, se procedió a separar y picar finamente las láminas de alga, los cuales fueron utilizados en el presente estudio.

2.3.2. Extracción sólido-líquido.

Se tomó 100 g de la muestra y se sometió a extracción sólido-líquido, empleando como solvente acetato de etilo en un extractor Soxhlet durante 6 horas por un periodo de 5 días quedando en el extractor por dos días en reposo. El equipo extractor Soxhlet se cubrió con papel aluminio así como el balón para minimizar alguna reacción fotoquímica. Al finalizar los días de reposo, se encontró en el balón del equipo Soxhlet un sedimento de color crema.

Luego de separar el sedimento, la solución de acetato de etilo de la extracción se concentró en un equipo rotavapor a presión reducida y a baño maría de 50°C por 30 minutos. Transcurrido ese tiempo se obtuvo un líquido de aspecto siruposo de color marrón el cual llamaremos el extracto de acetato de etilo.

2.3.3. Separación y purificación del sedimento.

El sedimento de color crema que fue separado mediante decantación y filtración al vacío, se recristalizó por cuatro veces hasta obtener un sólido cristalino de la misma coloración. La purificación se efectuó utilizando disolventes como metanol, etanol y acetona, seleccionados según la solubilidad diferencial de los compuestos, con temperaturas controladas entre 4 °C y 25 °C y proporciones que se lograron experimentalmente (por ejemplo, metanol: agua 1:1) para maximizar la pureza del material. El sólido obtenido se protegió de la luz cubriendo los viales con papel aluminio y se conservó en refrigeración aproximadamente a 4 °C para análisis posteriores.

2.3.4. Separación cromatográfica.

El extracto de acetato de etilo concentrado se separó por cromatografía en columna de manera manual. Se tomó 8,6 g de muestra del extracto de acetato de etilo y se empleó una columna de vidrio de 80 cm de largo y 2,4 cm de diámetro. La preparación incluyó una capa basal de algodón, seguida por una capa de arena fina

y limpia de aproximadamente 0,4 cm de espesor, una capa de vidrio molido limpio de 0,4 cm, y luego sílice gel 254 nm (mesh 3), compactada al máximo con suaves golpes para liberar aire hasta alcanzar una altura de 45 cm. Sobre esta se añadió una capa de arena de 0,4 cm, una capa de vidrio molido de 0,4 cm y un papel de filtro. La muestra del extracto de acetato de etilo se vertió sobre el papel de filtro y se dejó adsorber completamente. La elución comenzó con aproximadamente 50 mL de hexano como fase móvil más apolar, tomando 24 horas en descender debido al proceso manual, seguida de un gradiente hacia acetato de etilo (30:1, 15:1, 7:1, 5:1, 3:1). En un periodo de 20 días se obtuvieron 37 fracciones de eluatos que se recolectaron en 279 viales, con un contenido promedio de 30 ml cada uno. Al ser fotosensibles, se protegieron de la luz cubriéndolos con papel aluminio para prevenir la posible acción de la luz sobre los compuestos. Los diez primeros frascos, eluidos con hexano: acetato de etilo 30:1 y diluidos con el mismo eluyente en proporción 15:1, no mostraron compuestos detectables mediante cromatografía de capa fina (TLC). Los compuestos detectados significativamente a partir de eluyentes más polares con proporciones de hexano: acetato de etilo 7:1, 5:1 y 3:1; fueron concentrados por evaporación en 9 frascos no excediendo los 30°C.

2.3.5. Cromatografía de capa fina preparativa.

Las fracciones concentradas de los eluatos con hexano: acetato de etilo en proporciones 7:1, 5:1 y 3:1 fueron sometidas a cromatografía de capa fina preparativa para la separación de compuestos. Se emplearon placas de sílica gel preparadas manualmente con un grosor de 1 mm, y las muestras (obtenidas en la sección 2.3.4) se sembraron utilizando capilares, aunque no fue posible medir los volúmenes exactos de las aplicaciones debido a las limitaciones del método. Como fase móvil se utilizaron mezclas de hexano: acetato de etilo ajustado experimentalmente (7:1, 5:1 y 3:1) según la polaridad de los compuestos. La detección se realizó con una lámpara UV y tras identificar la presencia de compuestos como manchas coloreadas, se procedió a raspar la superficie donde

habría presencia de un compuesto. Luego se diluyó el raspado de sílica gel con el mismo eluyente (hexano: acetato de etilo) empleado en la cromatografía de capa fina y se filtró. Este proceso permitió aislar tres compuestos, denominados LS01, LS02 y LSBD, que fueron posteriormente purificados por cristalización en metanol y acetona a 4 °C, protegiéndolos de la luz con papel aluminio durante todo el procedimiento.

2.3.6. Extracción de fucoxantina.

Se tomó una muestra de 5 g de algas y se sometió a maceración durante 72 horas en refrigeración a 4 °C, utilizando una mezcla de n-hexano y diclorometano (1:1) como solvente. Posteriormente, se separaron los sólidos por decantación, y el extracto resultante fue analizado mediante cromatografía de capa fina analítica para la identificación preliminar de fucoxantina, siguiendo el procedimiento general descrito por Restrepo (2015). Se utilizaron placas de sílica gel 60 F254, con una fase móvil de n-hexano: acetona (7:3) y la detección se realizó bajo luz UV a 254 nm y visible (aproximadamente 450 nm, típico para carotenoides). No se empleó un estándar de fucoxantina debido a limitaciones de recursos, por lo que la identificación se basó en la comparación con los valores de R_f reportados en la literatura. Este análisis fue realizado como un ensayo exploratorio y no se integró con los compuestos LS01, LS02 y LSBD aislados previamente.

2.3.7. Extracción de alginato.

Se tomó una muestra de 10 g de algas, que fue tratada con formaldehído, según el procedimiento adaptado de Fertah et al. (2017), para estabilizar la matriz algal. Luego, la muestra fue filtrada y lavada con agua destilada para eliminar impurezas, y posteriormente tratada con ácido clorhídrico 0,2 M para la desmineralización y liberación del alginato por 24 horas. Tras este tratamiento ácido, se procedió a una neutralización progresiva con soluciones de carbonato de sodio al 2 %, 3 % y 4 % p/v, a una temperatura de 50 °C, hasta formar un gel, siguiendo la metodología descrita por los mismos autores. Este gel se trató con

etanol al 96 % para precipitar el alginato y, finalmente, decolorado mediante solución de hipoclorito durante 24 horas. El gel incoloro fue decantado y secado en estufa a 50 °C para reducir su humedad, adaptando las condiciones de Fertah et al. (2017) a las disponibles en el laboratorio.

2.3.8. Determinación de yoduro.

Se tomó 2 g de muestra de algas, que fue sometida a carbonización, seguida de calcinación en una mufla a 600 °C durante 4 horas para obtener cenizas. Debido a la falta de equipos avanzados como ICP -MS, se optó inicialmente por este método clásico para confirmar la presencia de yodo de manera cualitativa. Las cenizas obtenidas se disolvieron en 10 mL de agua destilada, se acidularon con 2 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 1 M y se trataron con una solución de permanganato de potasio ($KMnO_4$) al 0,01 M como oxidante. Posteriormente, se añadió 5 mL de hexano, y la aparición de un color rojizo en la fase orgánica indicó la presencia de yodo elemental (I_2), confirmando cualitativamente su existencia en la muestra. Adicionalmente, se intentó un análisis cuantitativo mediante titulaciones volumétricas con tiosulfato de sodio; sin embargo, los resultados fueron inconsistentes, probablemente debido a la interferencia de cloruros presentes en las cenizas, que reaccionan con el reactivo y afectan la cuantificación del yodo. Se recomendó el uso de ICP-MS para análisis más precisos en matrices complejas, pero su acceso no fue posible, limitando el estudio a esta detección cualitativa preliminar.

En la figura 11 se muestra un diagrama del proceso seguido para el aislamiento de los compuestos.

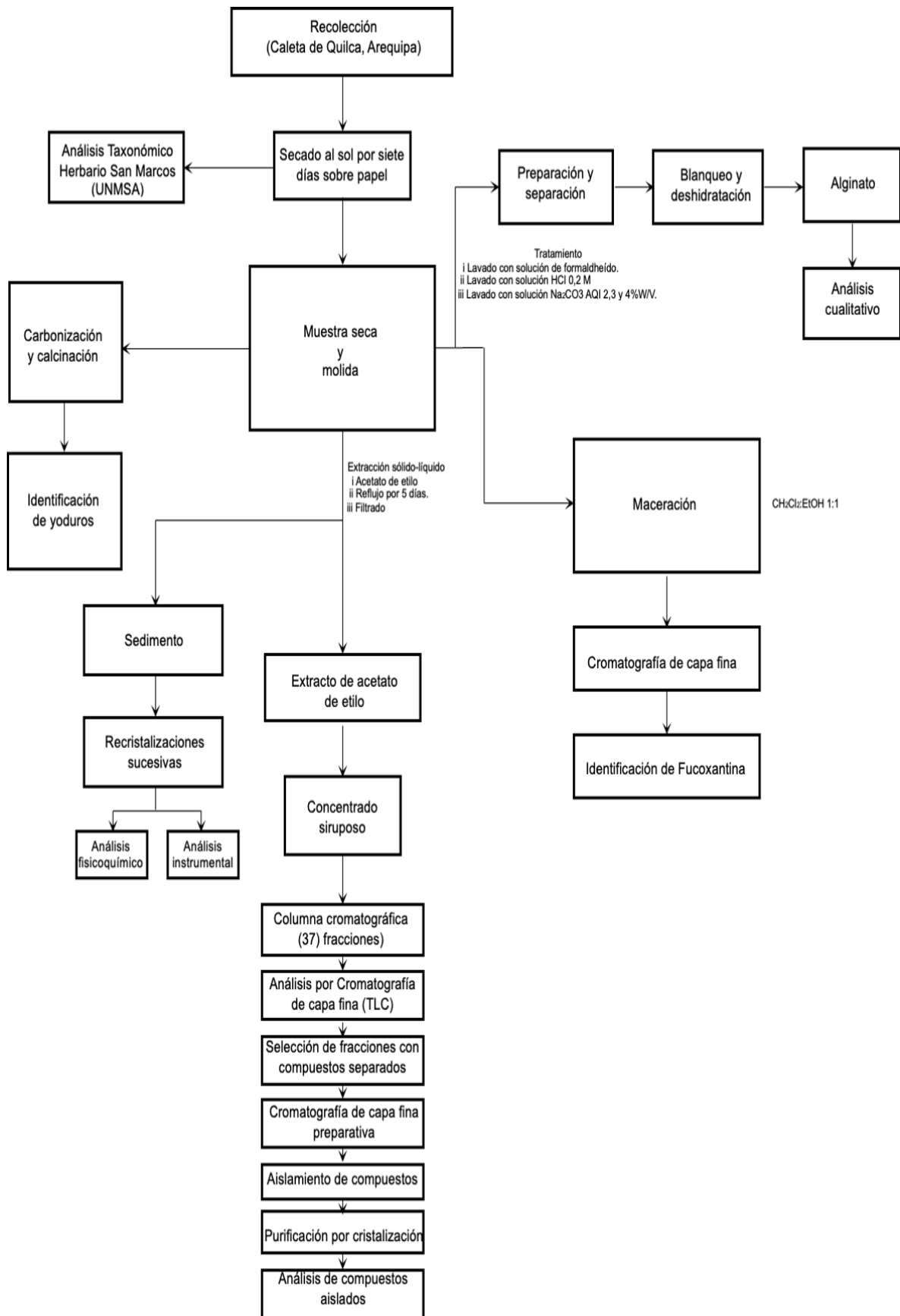


Figura 11. Diagrama de Proceso de Aislamiento de Compuestos.

2.4. Condiciones y procedimientos de análisis.

2.4.1. Elucidación del compuesto LS01.

Al compuesto LS01 se le realizaron determinaciones básicas de propiedades físico-químicas, como punto de fusión, solubilidad en distintos disolventes y características organolépticas, como paso inicial para su elucidación.

Para su caracterización estructural, se emplearon las siguientes técnicas:

- Espectroscopía infrarroja (IR): Utilizando pastilla de cloruro de potasio (KCl).
- Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) :
 - ✓ ^1H RMN en agua deuterada (D_2O) y DMSO-d_6 .
 - ✓ ^{13}C RMN en DMSO-d_6 .
 - ✓ ^{13}C RMN DEPT 135 en D_2O .
 - ✓ HSQC bidimensional en D_2O y DMSO-d_6 .
- Espectrometría de masas (MS): por técnica de ionización Electrospray (ESI), empleando metanol como disolvente y un voltaje de 4500 V.

2.4.2. Elucidación del compuesto LS02.

Al compuesto LS02, aislado de las fracciones 125 a 140, se le determinaron propiedades fisicoquímicas básicas, como solubilidad en distintos disolventes y punto de fusión, como parte de su proceso de elucidación. Para su caracterización estructural, se realizaron las siguientes técnicas:

- Espectroscopía infrarroja (IR): Usando pastilla de cloruro de potasio (KCl) para identificar los principales grupos funcionales presentes en la molécula.
- Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN):
 - ✓ ^1H RMN en CDCl_3 .
 - ✓ ^{13}C RMN en CDCl_3 a 75 MHz.
 - ✓ DEPT 90° y DEPT 135° en CDCl_3 (75 MHz) para distinguir carbonos primarios, secundarios y terciarios.

- ✓ APT (Attached Proton Test) en CDCl_3 a 75 MHz como técnica complementaria para la clasificación de carbonos.
- ✓ HSQC bidimensional en CDCl_3 para correlacionar directamente protones con sus carbonos adyacentes.
- Espectrometría de masas: Realizada en un espectrómetro de cuadrupolo-tiempo de vuelo (Q-TOF) modelo Applied Biosystem QSTARXL, mediante técnica de ionización electrospray (ESI), disolviendo la muestra en metanol y aplicando un voltaje de 4500 V.

2.4.3. Elucidación del compuesto LSBD.

El compuesto LSBD, aislado de las fracciones 141 a 148, fue sometido a pruebas físico-químicas básicas, como solubilidad en distintos disolventes y punto de fusión, como parte inicial de su elucidación. Para su caracterización estructural, se aplicaron las siguientes técnicas:

- Espectroscopía infrarroja (IR): Realizada mediante pastilla de cloruro de potasio (KCl) para la identificación de grupos funcionales característicos.
- Espectroscopía de resonancia magnética nuclear ^1H RMN:
 - ✓ ^1H RMN en DMSO-d_6 y acetona- d_6 para evaluar la estabilidad y distribución de señales en diferentes medios.
 - ✓ ^{13}C RMN en DMSO-d_6 .
 - ✓ DEPT 135° en DMSO-d_6 para distinguir entre tipos de carbonos (CH , CH_2 , CH_3).
 - ✓ HSQC bidimensional en DMSO-d_6 para establecer correlaciones entre protones y sus carbonos adyacentes.

2.4.4. Identificación de otros componentes.

Fucoxantina: De manera explorativa, se presume la presencia de fucoxantina citado en la sección 2.3.6.

Alginato: Con ese solido pulverizado se determinó el alginato por espectroscopía IR según lo citado en la sección 2.3.7.

Yoduro: Se reconoció la presencia de yoduros. Citado en la sección 2.3.8.



CAPÍTULO III

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

3.1. Recolección y clasificación taxonómica

La recolección y taxonomía fue mencionada en la sección 2.2.

3.2. Compuesto LS01

- Datos fisicoquímicos obtenidos en el compuesto LS01:

Aspecto físico: cristales blancos.

Solubilidad: muy soluble en agua, poco soluble en acetona y etanol.

Punto de fusión: 160°C.

Índice de refracción: 1,3368

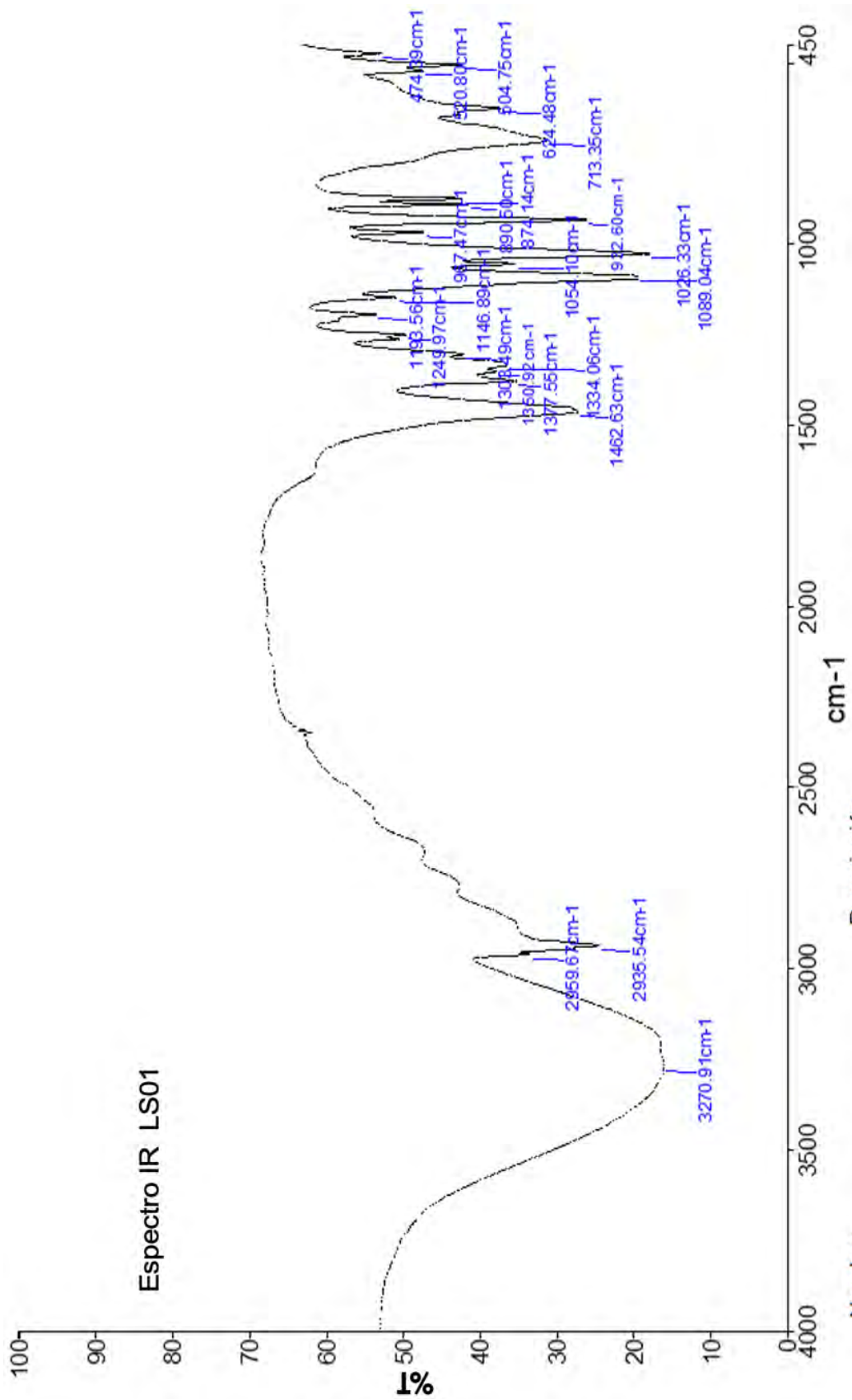
Rotación óptica $[\alpha]_{23} = -54,36^\circ$ y $-133,84^\circ$

- Elucidación estructural:

✓ Espectroscopía infrarroja (IR):

Tabla 01. De Señales y Asignación

Número de Onda cm ⁻¹	Asignación
3270,23	-OH estiramiento
2959,61	-CH- estiramiento C-H
2935,50	
1462,90	-CH ₂ - flexión -C-H
1378,14	
1351,25	-OH flexión C-O
1054,25	-CH ₂ -OH tensión OH
1025,78	
713,78	-C-OH deformación fuera del plano



Nombre Descripción
 LS1AM Sample 004 By Administrator Date Wednesday, August 25 2010

Figura 12. Espectro IR del compuesto LS01

✓ Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN):

* ^1H RMN en agua deuterada (D_2O) y DMSO-d_6 .

Tabla 02. Señales vs. Valores de Asignación.

Señal ppm	Asignación
3,6	$-\text{CH}_2-\text{OH}$
3,64	
3,7	$\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{O}-\text{H} \end{array}$
4,7	D_2O

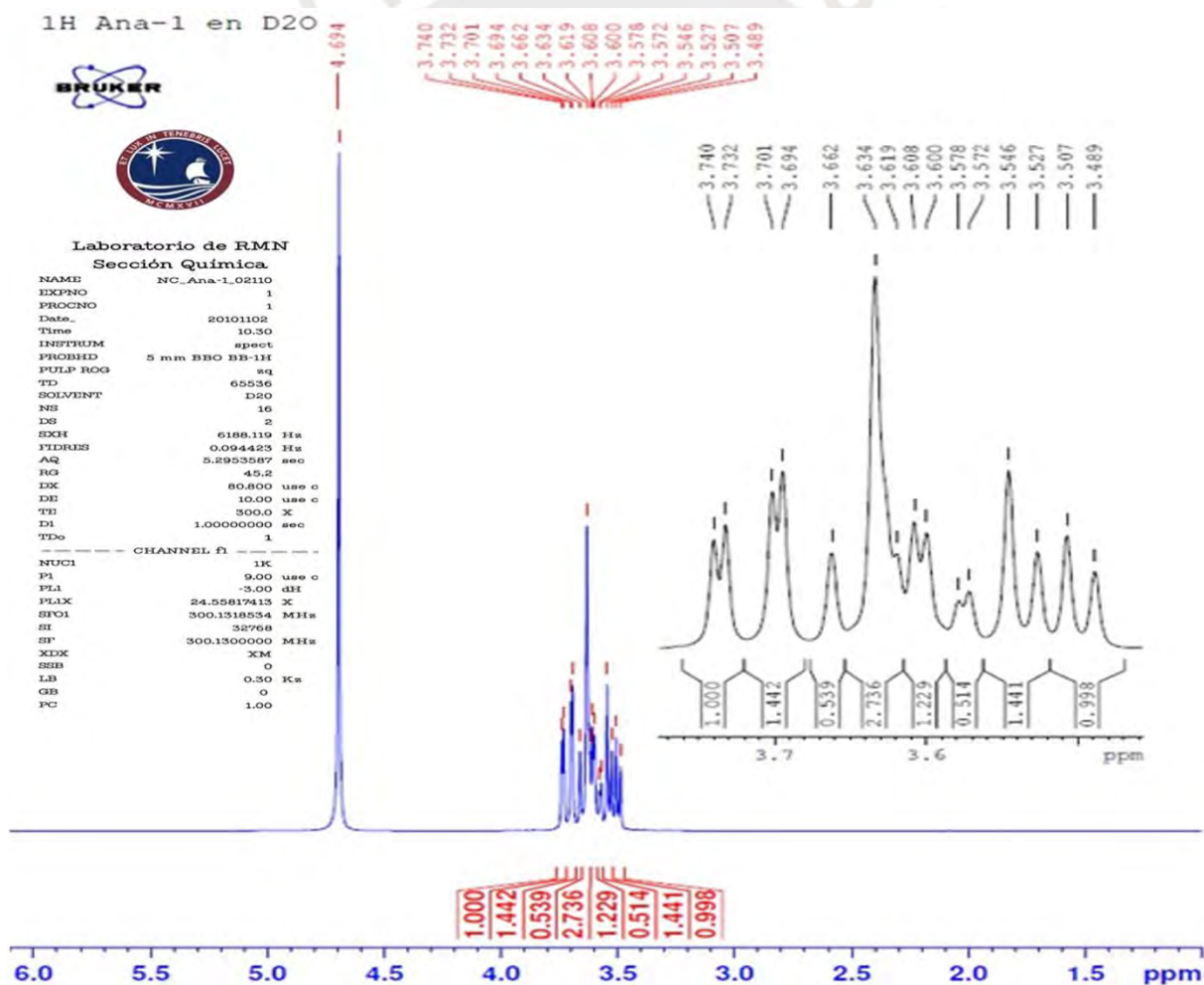


Figura 13. Espectro ^1H RMN compuesto LS01 en D_2O

Tabla 03. Valores y Asignaciones de LS01 ¹H RMN en DMSO-d₆

Señal ppm	Tipo de Señal	Asignación
2,5	s	DMSO-d ₆
4,43	d	-CH ₂ -
4,41		
4,35	t	CH ₂
4,33		
4,32		
4,15	d	-CH-
4,13		

Tabla 04. Valores de Constante de Acoplamiento y Asignaciones correspondientes a LS01 ¹H RMN en DMSO-d₆

J (Hz)	Hidrógenos	Tipo de Interacción	Comentario
2,736	H ₂ -H ₃ , H ₃ -H ₄	³ J vecinal (gauche)	Ángulo diedro ~60°.
1,442	H ₁ -H ₂ , H ₅ -H ₆	³ J vecinal	Cerca de CH ₂ OH.
1,441	H ₁ -H ₂ , H ₅ -H ₆	³ J vecinal	Simétrico al anterior.
1,229	H ₂ -H ₃ o H-C ₂ -OH	³ J vecinal o H-C-OH	Posible acoplamiento con OH.
1,00	H-C ₃ -OH, H-C ₄ -OH	³ J H-C-OH	Típico en DMSO-d ₆ .
0,998	H-C ₃ -OH, H-C ₄ -OH	³ J H-C-OH	Simétrico al anterior.
0,539	H-C ₁ -OH o H ₂ -H ₄	³ J H-C-OH o ⁴ J	CH ₂ OH o a larga distancia.
0,514	H-C ₁ -OH o H ₂ -H ₄	³ J H-C-OH o ⁴ J	Similar al anterior.

Tabla 05. Valores y Asignaciones de ^{13}C RMN DEPT 135° en D_2O

Señal ppm	Asignación
70,648	-CH ₂ -
69,083	
63,102	-CH

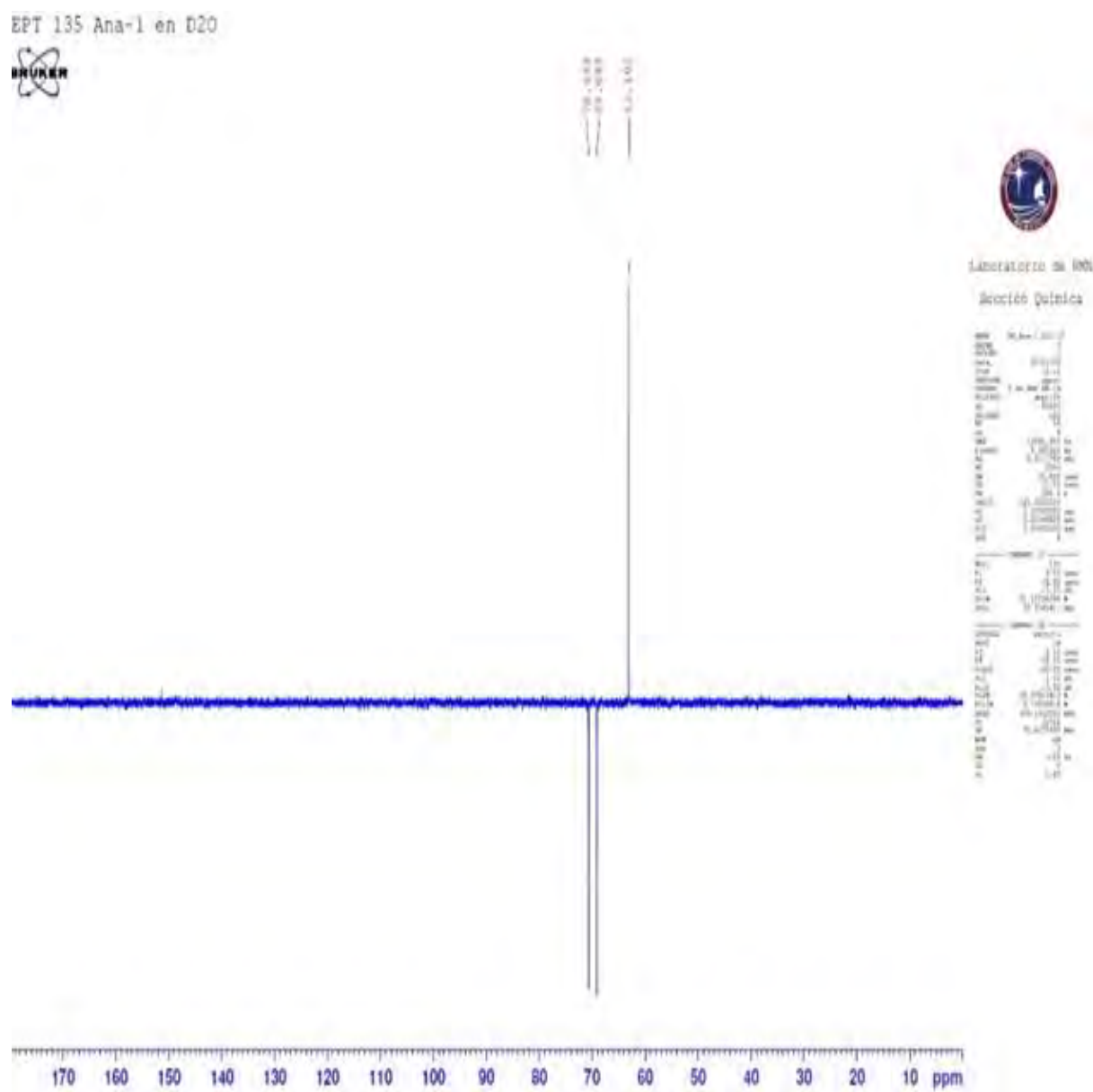


Figura 15. Espectro ^{13}C RMN DEPT 135° en D_2O LS01

Tabla 07. Valores y Asignaciones de LS01 en DMSO, HSQC δ en ppm

Señal δ_H	Señal δ_C	Asignación
4,13;4,15;4,33;4,41;4,43 (t), (d), (d)	71.74, 70,09	-CH ₂ -OH
3,57, 3,54,3,41 (m)	64.32	-C-H O-H
3,57, 3,54,3,41(m)	64.32	-C-H O-H
3,57, 3,54,3,41(m)	64.32	-C-H O-H
3,57, 3,54,3,41(m)	64.32	-C-H O-H
4,13;4,15;4,33;4,41;4,43 (m)	71,74, 70,09	-CH ₂ -OH

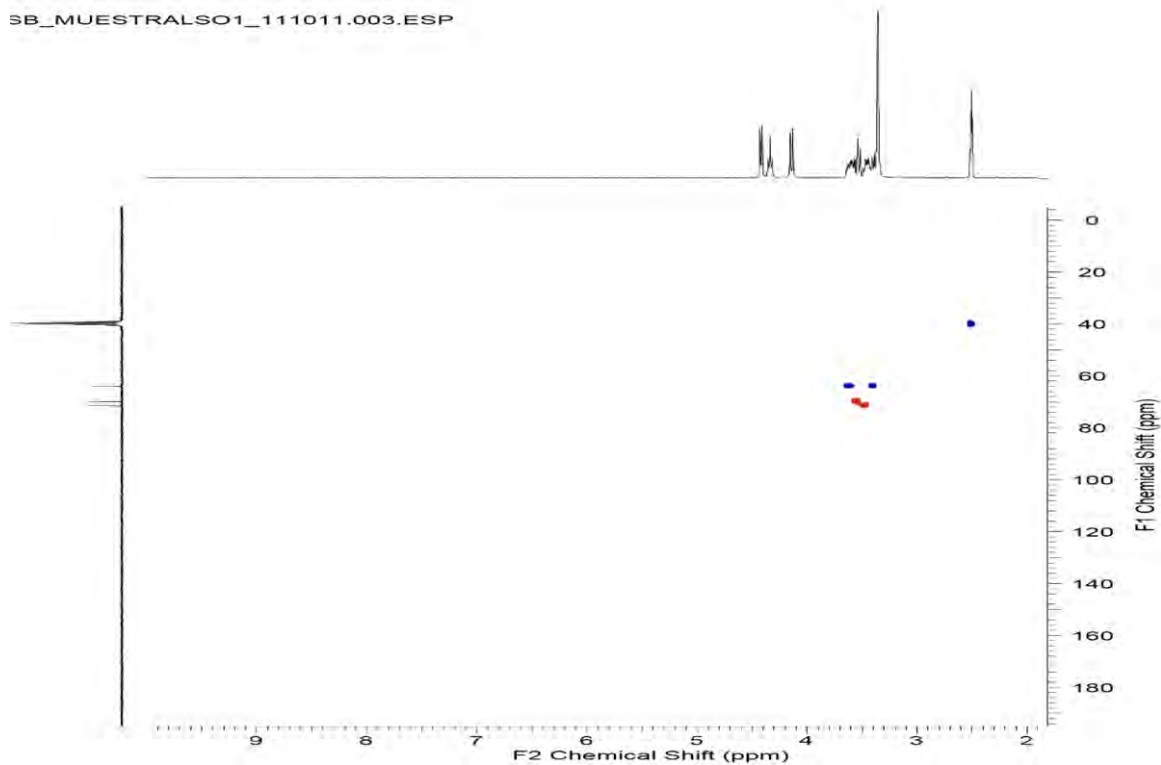


Figura 17. Espectro bidimensional en DMSO-d₆, HSCQ δ en ppm.

- ✓ Espectrometría de masas (MS): Por técnica de ionización Electrospray (ESI), empleando metanol como disolvente y un voltaje de 4500 V.

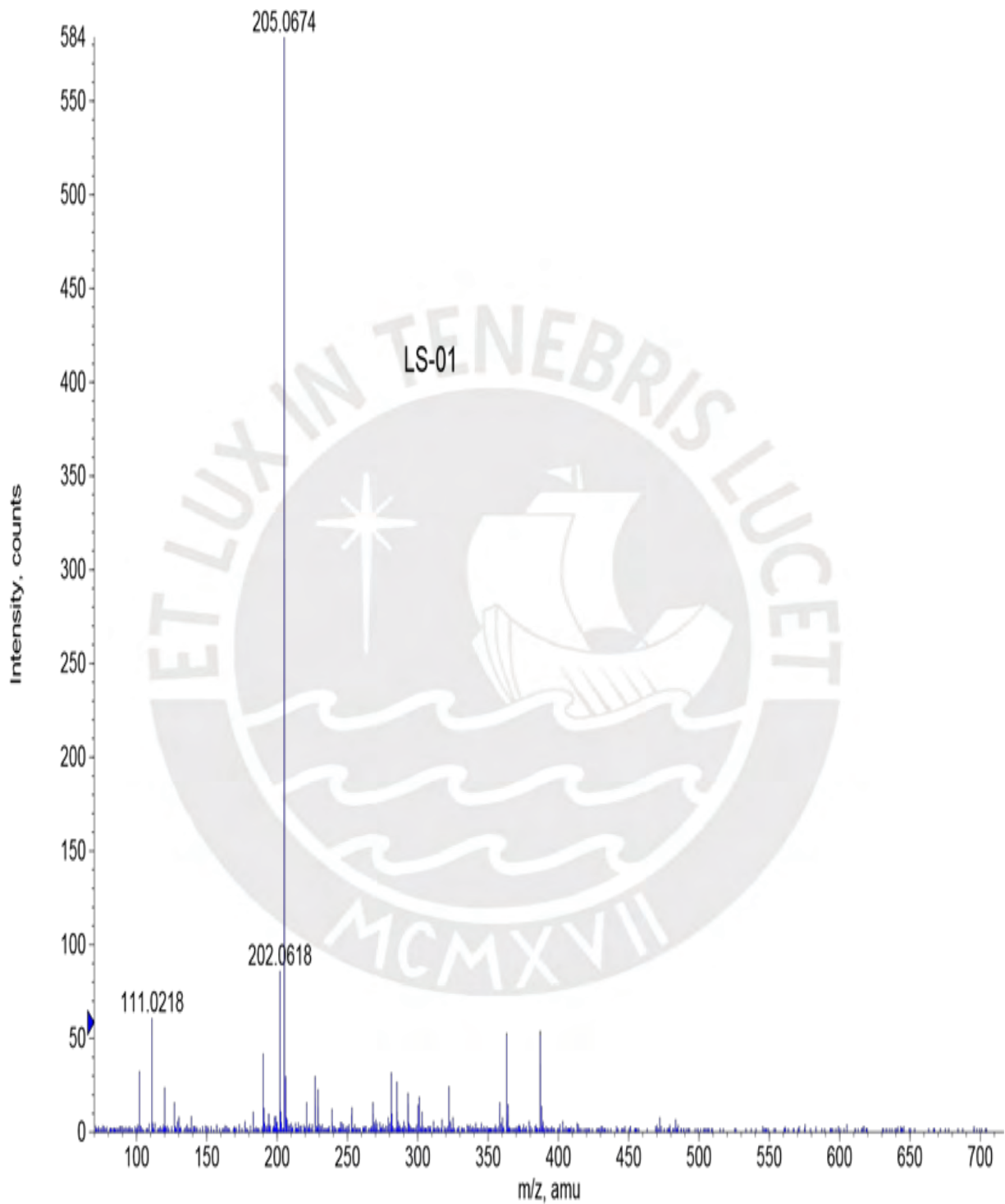


Figura 18. Espectro de masas LS01

- ✓ Equipo Espectrómetro de cuadrupolo-tiempo de vuelo Applied Biosystem QSTARXL. Se realizó por la técnica de ionización Electrospray, las muestras fueron tratadas disolviendo en metanol a un voltaje de 4500V.

Tabla 08. Valor de Masas en el Compuesto LS01

Señal m/z [[M + Na] fragmento	Asignación	m/z
205,067	C6H14O6	182

Con base en la información presentada, se propone la siguiente estructura para la sustancia LS01

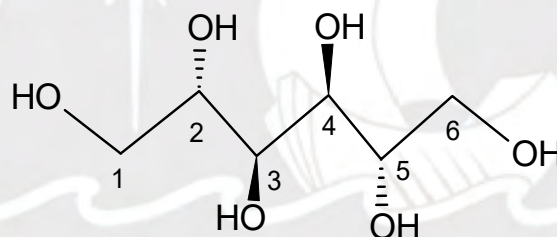


Figura 19. Estructura propuesta basada en los resultados espectroscópicos.

Resultado: Basado en todo lo expuesto, el compuesto LS01 correspondería al manitol.

3.3. Compuesto LS02

- Datos fisicoquímicos de LS02:

Aspecto: Cristales de color de crema a pardo transparente asemejan escamas.

Solubilidad: Soluble agua, parcialmente soluble en etanol, poco soluble en acetona, acetato de etilo.

Punto de fusión: 70-71°C.

- Elucidación estructural:

Tabla 09. Señales y Asignaciones de la Espectroscopía Infrarroja

Numero de onda cm⁻¹	Asignación
3181	Tensión C-H aromático, amida primaria
2961	Vibración simétrica de -CH ₃
1666,70	Tensión de enlace C=O, amida primaria
1464	Deformación antisimétrica CH ₃
1453	
1430	Flexión del plano del OH
1372	
1266	Tensión de enlace C-O
1200	Tensión de enlace - C-O- éter
1029	Correspondiente a cadena de carbonos cíclica

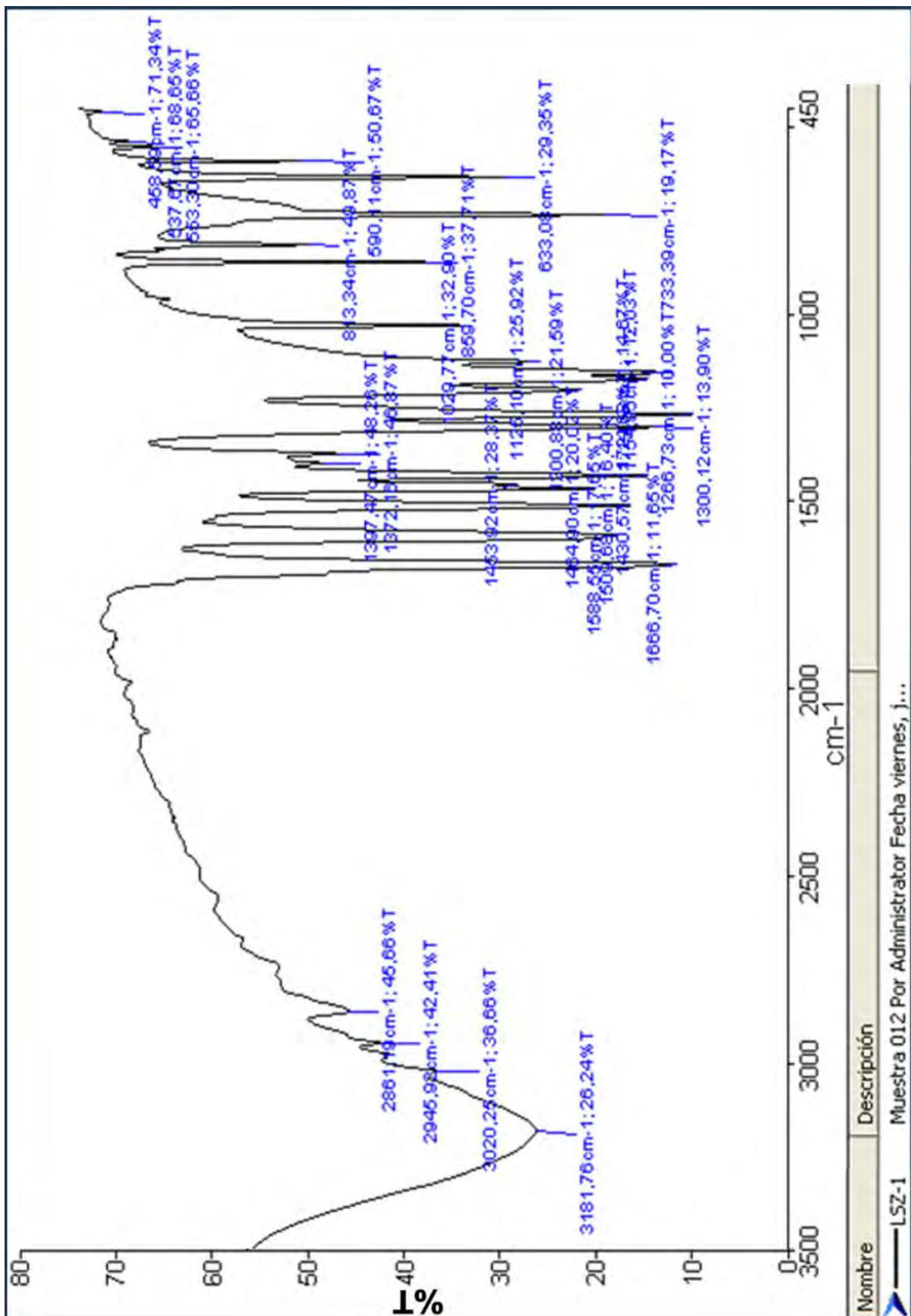


Figura 20. Espectro IR compuesto LS02

✓ Espectroscopía de resonancia magnética nuclear ^1H RMN:

Tabla 10. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear ^1H RMN

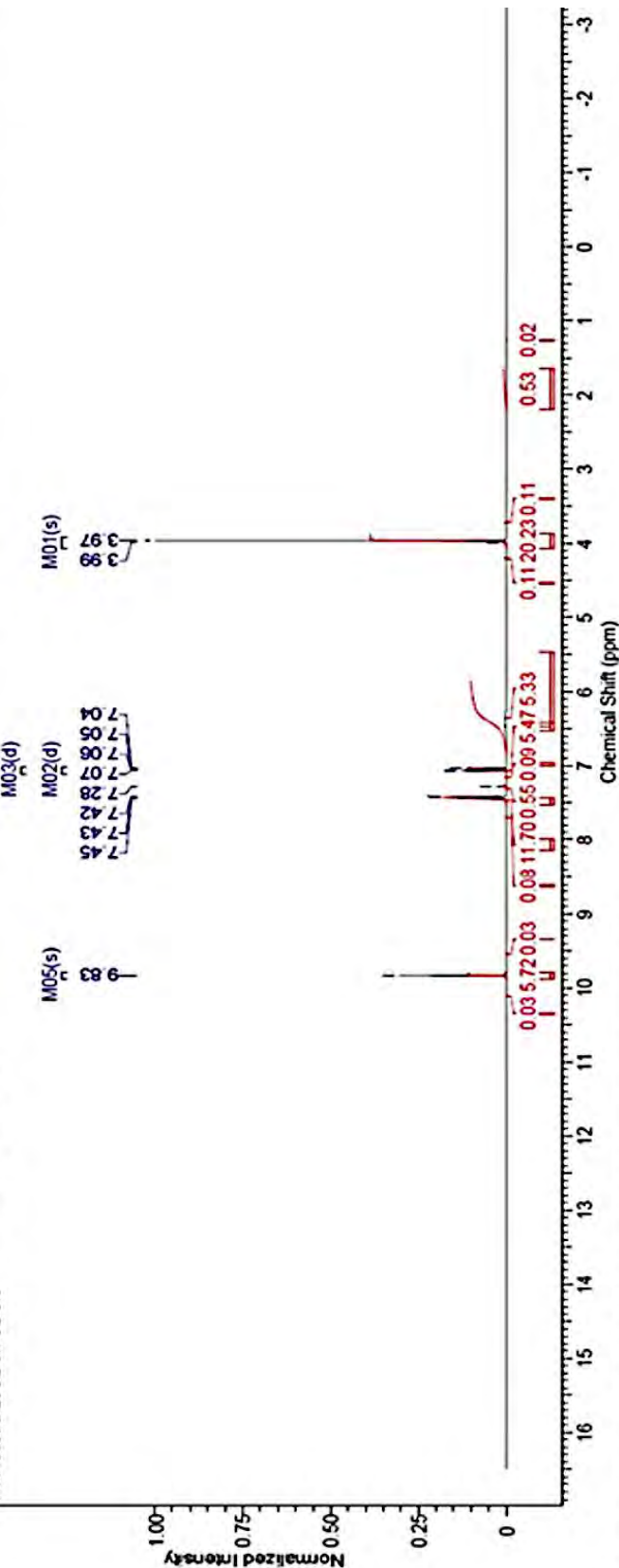
Señal ppm	Tipo de Señal	Constantes de Acoplamiento	Asignación
3,97	s	-	H de O-CH ₃
7,05-7,05	d	3,02 8,57	H de anillo aromático
7,43; 7,45	m	-	H de anillo aromático
9,83	s	-	H de función aldehído

Tabla 11. Valores de Multiplicidad y Constante de Acoplamiento de ^1H RMN CDCl_3

Señal ppm	H	J (Hz)	Multiplete	ppm
3.97	2 s	-	MO1	(3.91, 4.07)
7.05	5 d	8.50	MO2	(7.01, 7.11)
7.05	6 d	3.02	MO3	(7.01, 7.11)
7.43	12 m	-	MO4	(7.39, 7.55)
9.83	6 s	-	MO5	(9.79, 9.88)

Acquisition Time (sec)	5.2953	Comment	1H Muestra LsO2 en CDCl3
Date Stamp	02 May 2011 15:26:40		
File Name	C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\ACER\ESCRITORIO\DATA_RMN\LSB_MUESTRALS02_020511\1\FID		
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H
Original Points Count	32768	Owner	Administrator
Receiver Gain	64.00	SW(cyclical) (Hz)	6188.12
Spectrum Type	STANDARD	Sweep Width (Hz)	6187.93
		Solvent	CHLOROFORM-d
		Temperature (degree C)	27.000
		Points Count	32768
		Origin	zg
		Pulse Sequence	zg
		Spectrum Offset (Hz)	1853.4000

¹H NMR (300 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 3.97 (s, 21 H) 7.05 (d, J=3.02 Hz, 6 H) 7.05 (d, J=8.50 Hz, 5 H) 7.39 - 7.55 (m, 12 H) 9.83 (s, 6 H)
 LSB_MUESTRALS02_020511\FID ScaleFactor = 1
¹H Muestra LsO2 en CDCl3



No.	Shift1 (ppm)	H's	Type	J (Hz)	Multiplet1	(ppm)
1	3.97	21	s	-	M01	{3.91...4.07}
2	7.05	5	d	8.50	M02	{7.01...7.11}
3	7.05	6	d	3.02	M03	{7.01...7.11}
4	7.43	12	m	-	M04	{7.39...7.55}
5	9.83	6	s	-	M05	{9.79...9.88}

Figura 21. Espectro ¹H RMN en CDCl₃

Tabla 12. Señales y Asignación ¹³C RMN LS02

Señal ppm	Asignación
55	O-CH3
109	C-H estructura aromática
114	C-H estructura aromática
118	-C-C- (aromático) vecino a grupo -OH
128	-C-C-(aromático)
130	$ \begin{array}{c} \text{-C-C=O} \\ \\ \text{H} \\ \\ \text{C=O} \\ \\ \text{C} \end{array} $
148	C=C
153	C-O
191	C=O

28/04/2011 06:34:50 p.m.

Acquisition Time (sec)	1.8088	Comment	13C Muestra Ls02 en CDCl3	Date	11 Apr 2011 16:56:16
Date Stamp	11 Apr 2011 16:56:16				
File Name	C:\Documents and Settings\ACER\Escritorio\ESCRITORIO\DATA_RMNL\LSB_MuestraLs02_060411\1.fid			Frequency (MHz)	75.48
Nucleus	13C	Number of Transients	256	Origin	spect
Owner	Administrator	Points Count	32768	Pulse Sequence	zgpg
SW(cyclical) (Hz)	18115.94	Solvent	CHLOROFORM-d	Receiver Gain	2050.00
Spectrum Type	STANDARD	Sweep Width (Hz)	18115.39	Temperature (degree C)	27.000

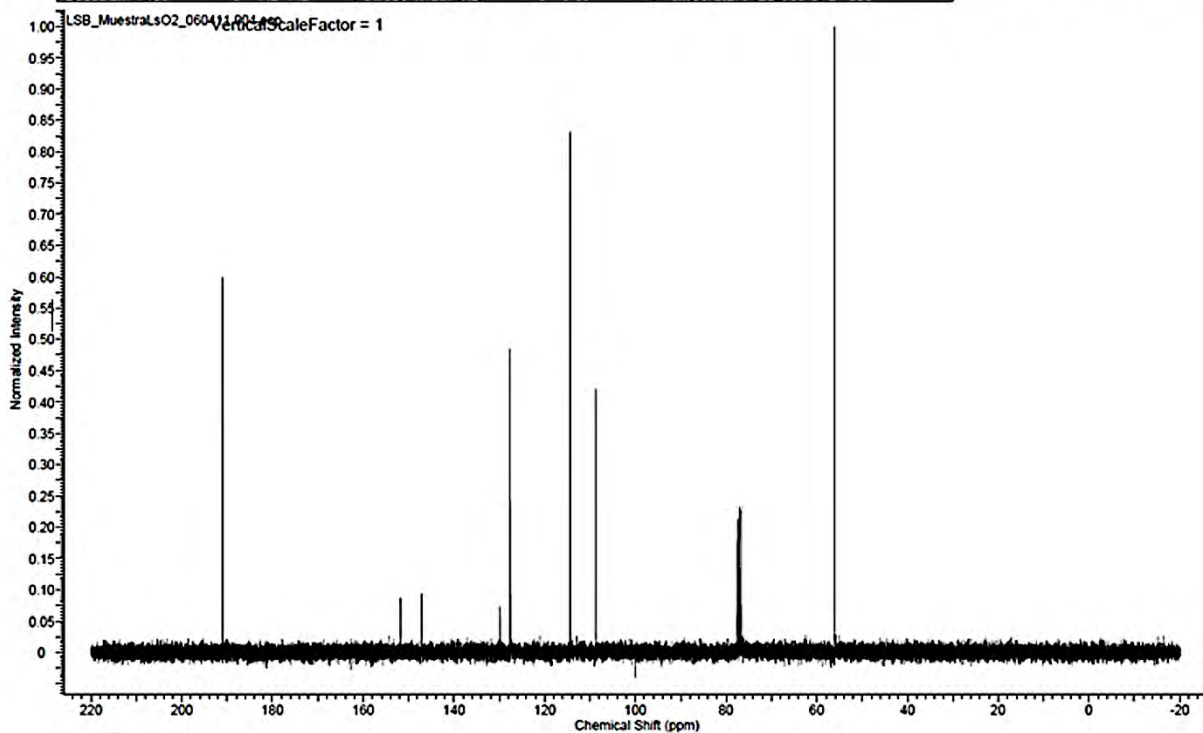


Figura 22. Espectro ¹³C RMN LS02

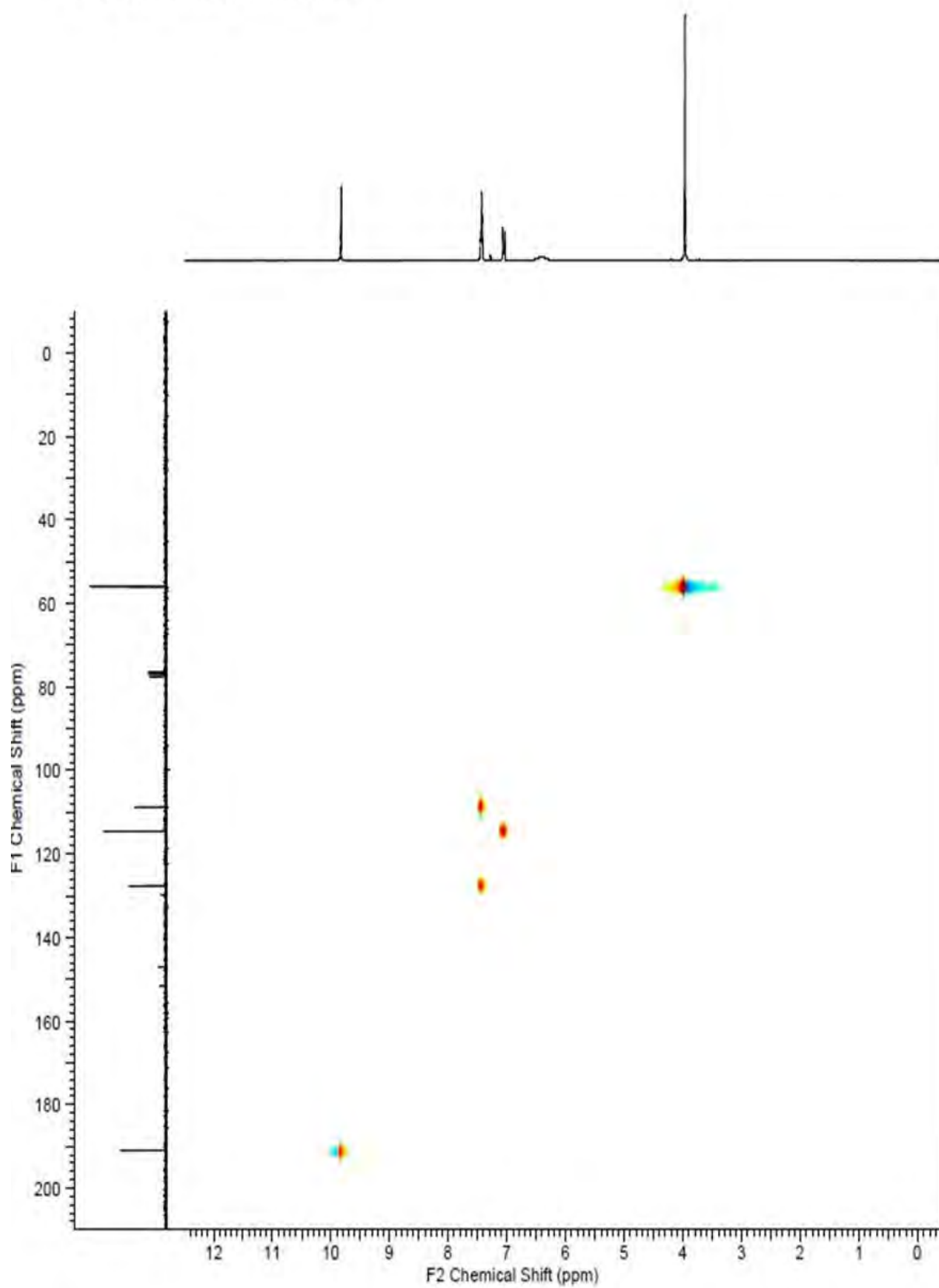


Figura 23. Espectro HSQC LS02

Tabla 13. Señales y Asignaciones ^{13}C RMN DEPT 90° LS02 en CDCl_3

Señal ppm	Asignación
118	-C-C- (aromático)
128	-C-C- (aromático)
191	C=O grupo carbonilo

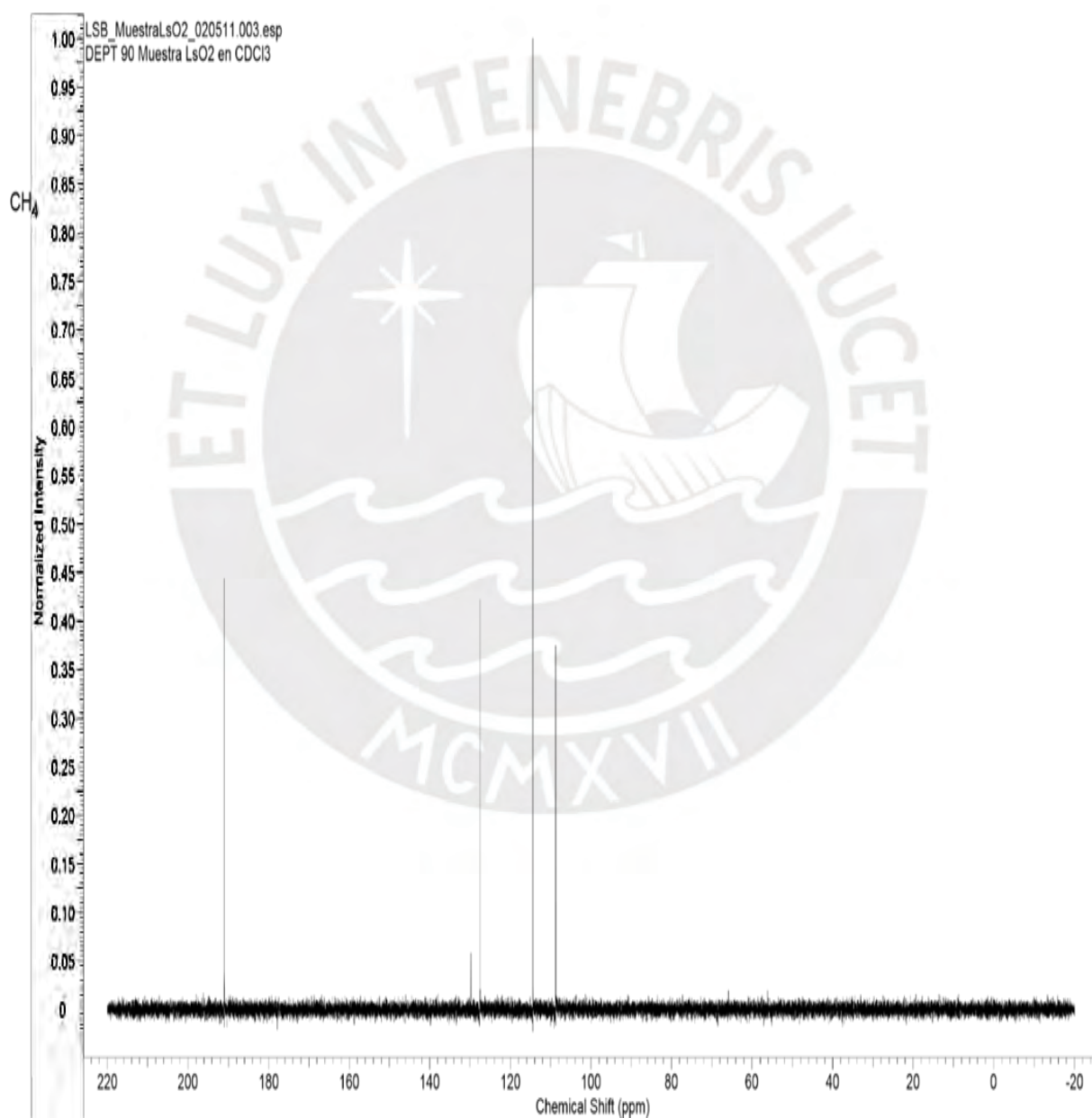


Figura 24. Espectro ^{13}C RMN DEPT 90° LS02 en CDCl_3

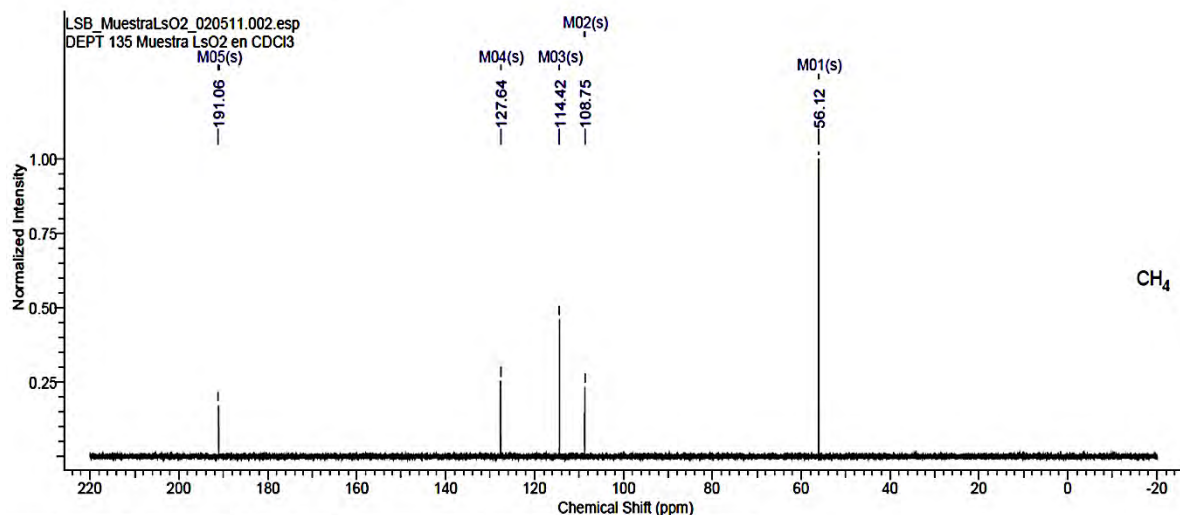
Tabla 14. Comparativa de Señales ^{13}C RMN DEPT 90° y DEPT 135° CDCl_3
Compuesto LS02

Señal ppm	^{13}C	^{13}C DEPT 90°	^{13}C DEPT 135°
56,12	-	-	-CH ₃
108,75	CH	-CH	-CH
114,42	CH	-CH	-CH
127,62	CH	-CH	-CH
129,81	CH	-CH	-CH
147,17	CH	-	-
151,28	CH	-	-
191,03	CH	-CH	-CH

24/05/2011 08:51:26 p.m.

Acquisition Time (sec)	1.8088	Comment	DEPT 135 Muestra Ls02 en CDCl ₃	Date	02 May 2011 15:45:52
Date Stamp	02 May 2011 15:45:52				
File Name	C:\Documents and Settings\ACER\Escritorio\ESCRITORIODATA	RMN\depth Ls02\LSB	MuestraLs02_020511\2fid	Frequency (MHz)	75.48
Nucleus	^{13}C	Number of Transients	128	Origin	spect
Owner	Administrator	Points Count	32768	Original Points Count	32768
SW(cyclical) (Hz)	18115.94	Pulse Sequence	dept135	Receiver Gain	2050.00
Sweep Width (Hz)	18115.39	Solvent	CHLOROFORM-d	Spectrum Offset (Hz)	7546.7749
		Temperature (degree C)	27.000	Spectrum Type	DEPT135

^{13}C NMR (75 MHz, CHLOROFORM-d) δ ppm 56.12 (s, 1 C) 108.75 (s, 1 C) 114.42 (s, 1 C) 127.64 (s, 1 C) 191.06 (s, 1 C)
VerticalScaleFactor = 1



No.	Shift1 (ppm)	C's	Type	Multiplet1	(ppm)	No.	(ppm)	(Hz)	Height
1	56.12	1	s	M01	[56.08 .. 56.16]	1	56.12	4235.5	1.0000
2	108.75	1	s	M02	[108.71 .. 108.79]	2	108.75	8207.7	0.2339
3	114.42	1	s	M03	[114.38 .. 114.46]	3	114.42	8635.6	0.4607
4	127.64	1	s	M04	[127.60 .. 127.68]	4	127.64	9633.5	0.2549
5	191.06	1	s	M05	[191.02 .. 191.10]	5	191.06	14420.1	0.1717

Figura 25. Espectro ^{13}C RMN DEPT 135° CDCl_3 compuesto LS02

Tabla 15. APT CDCl_3 Compuesto LS02

Señal ppm	Asignación
56,12	C-O—CH ₃ C-4'
108	C-OH (hidroxilo en carbonos aromáticos C-2',3',5',6')
114,41	C-OH hidroxilos en carbonos aromáticos C-2,3,4,5,6,
122,91	C-O-H grupos hidroxilos C-
127,05	-C-C- (aromático) C-1 Y C -1'
191,05	Grupo carbonilo aldehído C-2

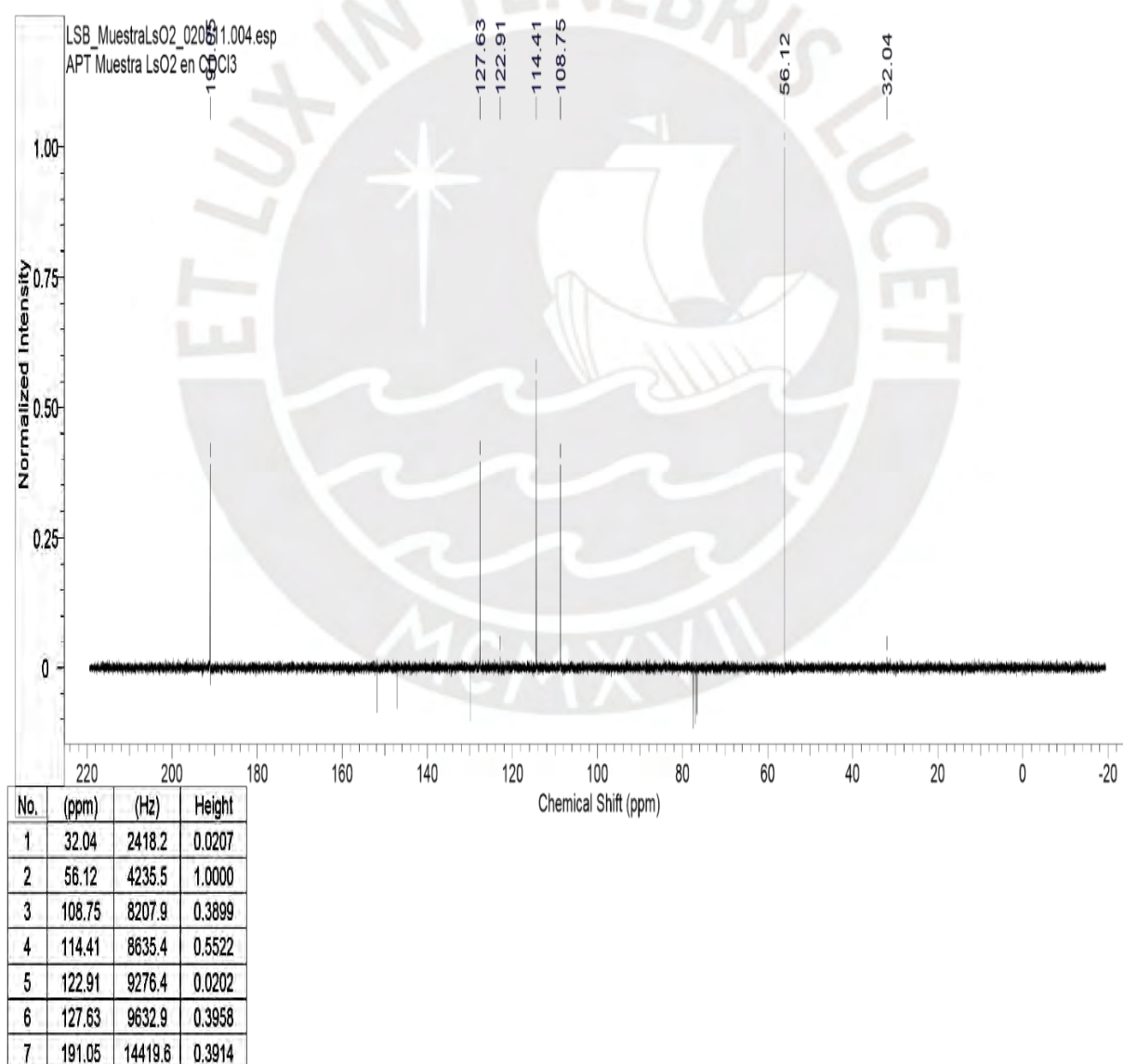
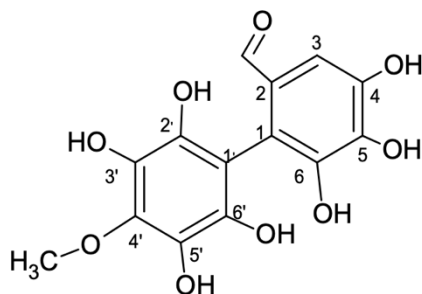


Figura 26. Espectro APT CDCl_3 compuesto LS02

Con base en los datos obtenidos es posible proponer la siguiente estructura probable de LS02.



2',3',4,5,5',6,6'-heptahydroxy-4'-methoxy[1,1'-biphenyl]-2-carbaldehyde

Figura 27. Estructura propuesta del compuesto LS02

3.4. Compuesto LSBD

- Datos fisicoquímicos en el compuesto LSBD:

Aspecto: Sólido blanco, blando en forma de esferas.

Punto de fusión: 25°C.

Solubilidad: Es soluble en acetato de etilo, cloroformo, poco soluble en acetona, poco soluble en etanol, insoluble en agua.

- Elucidación estructural:

- ✓ Espectroscopía infrarroja (IR):

- * Se presentan señales en 2954,44 cm^{-1} , 2918 cm^{-1} por la tensión asimétrica de $-\text{CH}_3$; a 2850,18 cm^{-1} ; correspondiente a la tensión simétrica de $-\text{CH}_2$.
- * La señal a 1704,74 cm^{-1} corresponde a una tensión de enlace $\text{C}=\text{O}$ perteneciente a la función carbonilo α -cetoéster.
- * Aparecen también varias señales, como en 1411,18 cm^{-1} , 1432,28 cm^{-1} y 1464,32 cm^{-1} , correspondientes a la deformación flexión $-\text{CH}_2$.
- * También hay señales en 1377,77 cm^{-1} relacionadas con la deformación de enlace $\text{C}-\text{O}$. Las señales a 1250 cm^{-1} y 1207 cm^{-1} corresponden al grupo $-\text{CO}-\text{CH}_3$.
- * La señal a 720 cm^{-1} corresponde al meneo de $-(\text{CH}_2)_n$ - $n > 4$.

Tabla 16. Número de Onda Asignación Compuesto LSBD

Número de onda cm^{-1}	Asignación
2954,44	$-\text{CH}_3$ terminal
2918	$-\text{CH}_3 / -\text{CH}_2-$
2850,18	$-\text{CH}_2-$
1704,74	Grupo carbonilo
1464,32	$-\text{CH}_2-$
1432,28	$-\text{CH}_2-$
1411,18	$-\text{CH}_2-$
1377,77	$-\text{CH}_3$ o éster
1250	$-\text{COO}-\text{R}$ (grupo éster)
1207	$-\text{COO}-\text{R}$ (grupo éster)
720	$-(\text{CH}_2)_n-$, $n \geq 4$

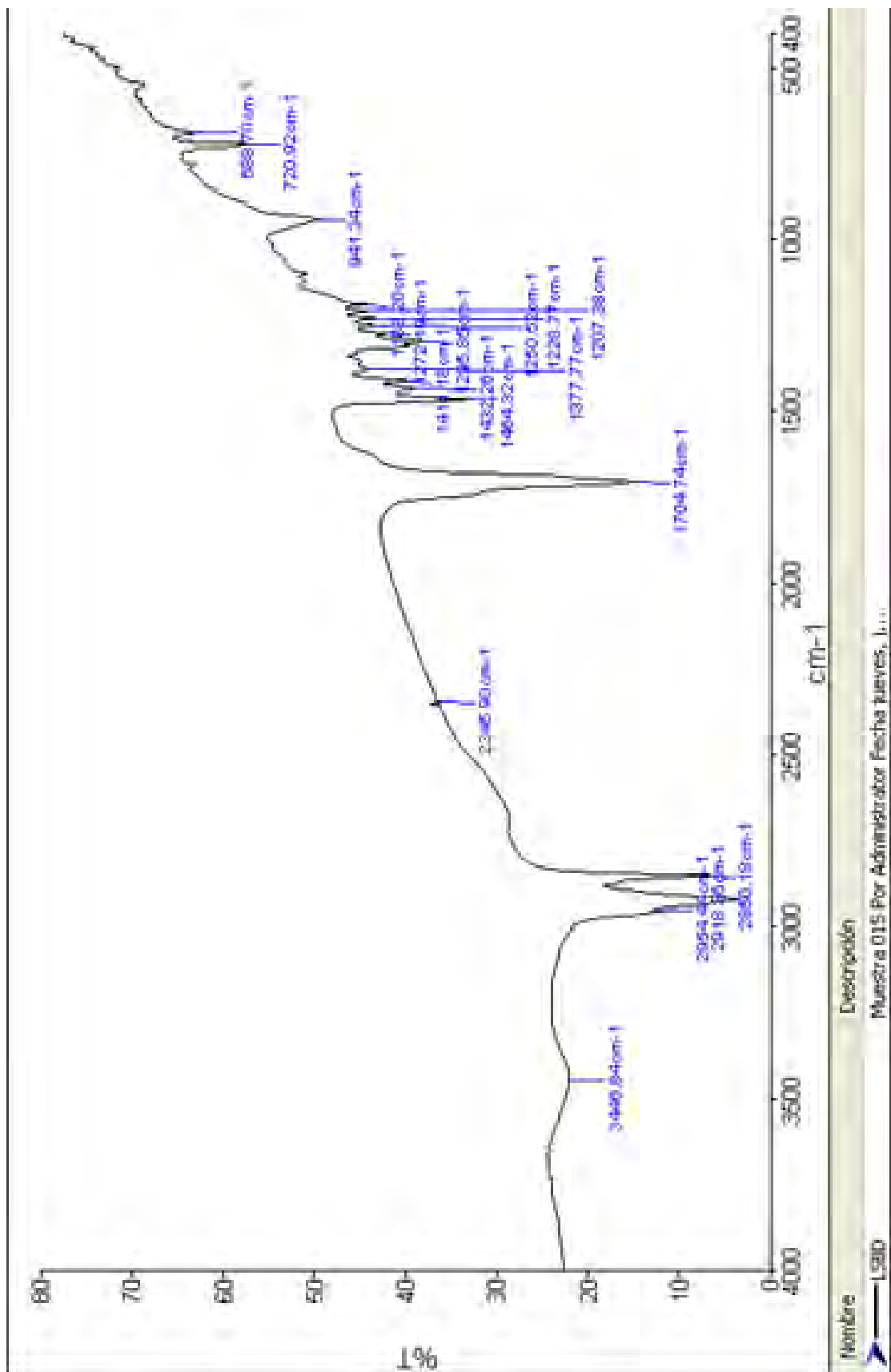


Figura 28. Espectro IR del compuesto LSD

- ✓ El espectro ^1H -RMN en DMSO-d_6 del compuesto LSB D presenta:
- * Una señal triplete a 0,88 ppm; que estaría representando protones de un metileno.
 - * Señal multiplete aguda de 1,24 a 1,30 ppm representaría protones de metilos.
 - * Un multiplete cuyas señales se presentan desde 1,45 a 1,50 ppm correspondientes a protones de metilenos de cadena alifática gem vecinales.
 - * Un triplete de 2,18 y 2,20 ppm que indicarían metileno alifático cercanos a un grupo carbonilo.

Tabla 17. Valores y Asignación del ^1H RMN en DMSO-d_6 del Compuesto LSB D

Señal ppm	Tipo de Señal	Asignación
2,20		
2,18	t	-CH ₂ -
2,15		
1,50		
1,47	t	-CH ₂ -
1,45		
1,30		
1,28	s	-CH ₃
1,24		
0,87		
0,85	t	-CH ₂ -
0,83		

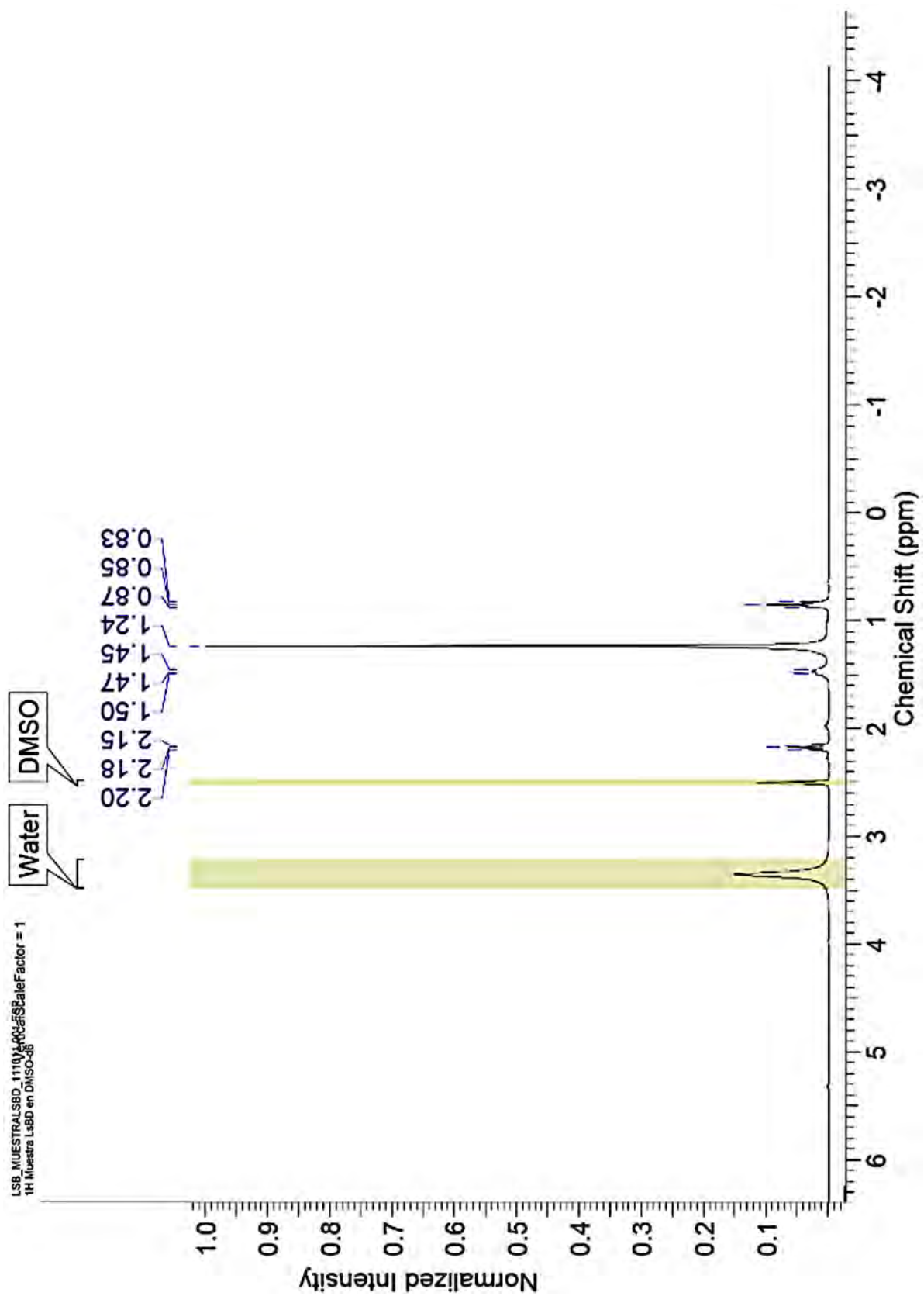
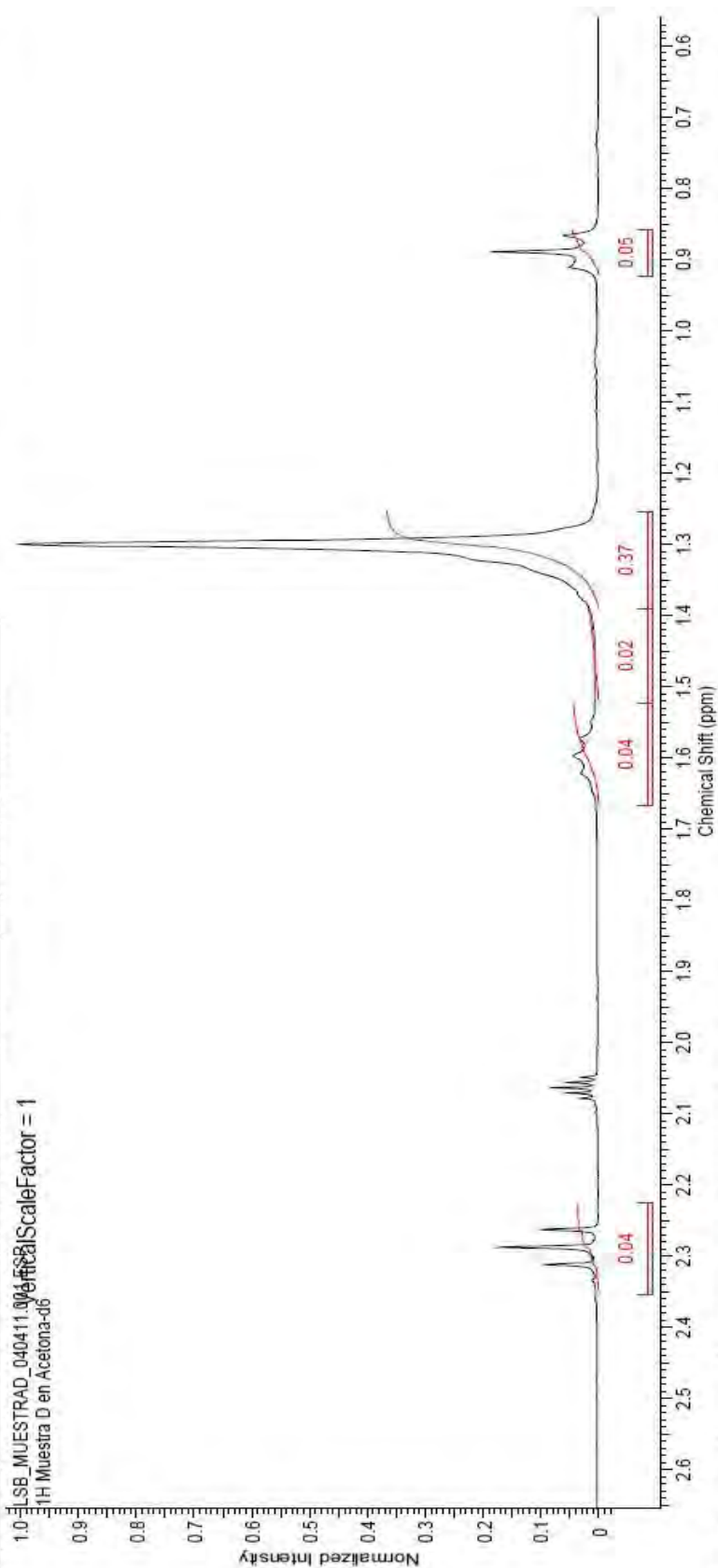


Figura 29. Espectro ^1H RMN en DMSO-d_6 del compuesto LSB

Tabla 18. Desplazamiento Químico - Multiplicidad y Valores de Integral H Normalizada y la Asignación del ^1H RMN en Acetona- d_6

Señal ppm	Multiplicidad	Integral (H normalizada)	Asignación
2.3	Triplete	2	$-\text{CH}_2-$ adyacente a un grupo electronegativo (p. ej., $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$) con dos hidrógenos vecinos
1.6	Cuadruplete	2	$-\text{CH}_2-$ alifático con tres hidrógenos vecinos (p. ej., $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$)
1.43	Singulete (leve)	1	$-\text{OH}$ (intercambiable en $\text{DMSO}-\text{d}_6$) o $-\text{CH}-$ en un entorno específico
1.3	Singulete	18	Grupo metileno alifáticos

Acquisition Time (sec)	5.2953	Comment	1H Muestra D en Acetona-d6	Date	05 Apr 2011 15:48:00
Date Stamp	05 Apr 2011 15:48:00	File Name	C:\Documents and Settings\ACER\Escritorio\DATA_RM\LSB_MuestraD_0404111.fid	Origin	spect
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Pulse Sequence	zg
Original Points Count	32768	Owner	Administrator	Spectrum Offset (Hz)	1853.4000
Receiver Gain	40.30	SW(cyclical) (Hz)	6188.12	Solvent	Acetone
Spectrum Type	STANDARD	Sweep Width (Hz)	6187.93	Temperature (degree C)	27.000



No.	(ppm)	Value	Absolute Value	Non-Negative Value
10	1.588 .. 1.920	0.04637874	5.34192998e+9	0.04637874
21	1.539 .. 1.390	0.36638853	4.22006422e+10	0.36638853
31	1.918 .. 1.520	0.1788490	2.05999322e+9	0.01788490
41	1.629 .. 1.680	0.04407413	5.07648307e+9	0.04407413
52	1.261 .. 2.330	0.03652603	4.20708941e+9	0.03652603

Figura 29. Espectro ^1H RMN en Acetona- d_6 del compuesto LSB

- ✓ En el análisis del espectro ^{13}C RMN del compuesto LSBD se observaron:
- * Una señal a 14,43 ppm, que estaría relacionada a un carbono secundario.
 - * dos señales a 22,57 y 24,96 ppm correspondientes a carbonos tales como metilos o metilenos respectivamente.
 - * Las señales de 29,18; 29,3 y 29,51 ppm respectivamente y la señal a 31,76 ppm estarían representando carbonos de metilos y metilenos vecinales de un compuesto saturado.
 - * A 174 ppm aparece una señal que estaría representando al carbono de un grupo carbonilo.

Tabla 19. Valores y Asignación ^{13}C RMN en DMSO- d_6 del Compuesto LSBD

Señal ppm	Asignación
174	RCOOR (grupo carboxilo)
31,76	-CH ₂ -
29,51	-CH ₂ -
29,37	-CH ₂ -
29,18	-CH ₂ -
24,96	-CH ₂ -
22,57	-CH ₂ -
14,43	-CH ₃

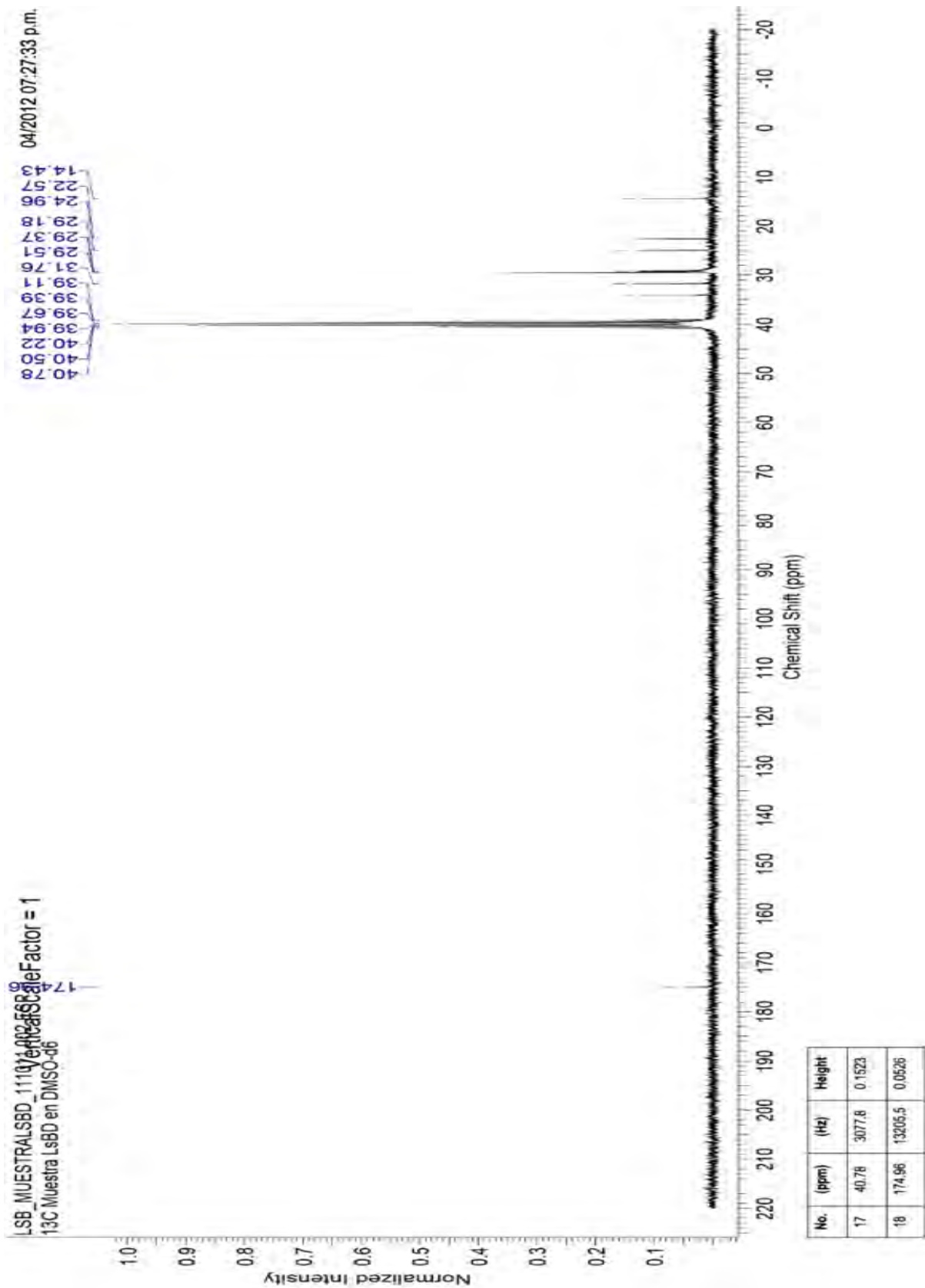


Figura 30. Espectro ¹³C RMN DMSO-d₆ compuesto LSB

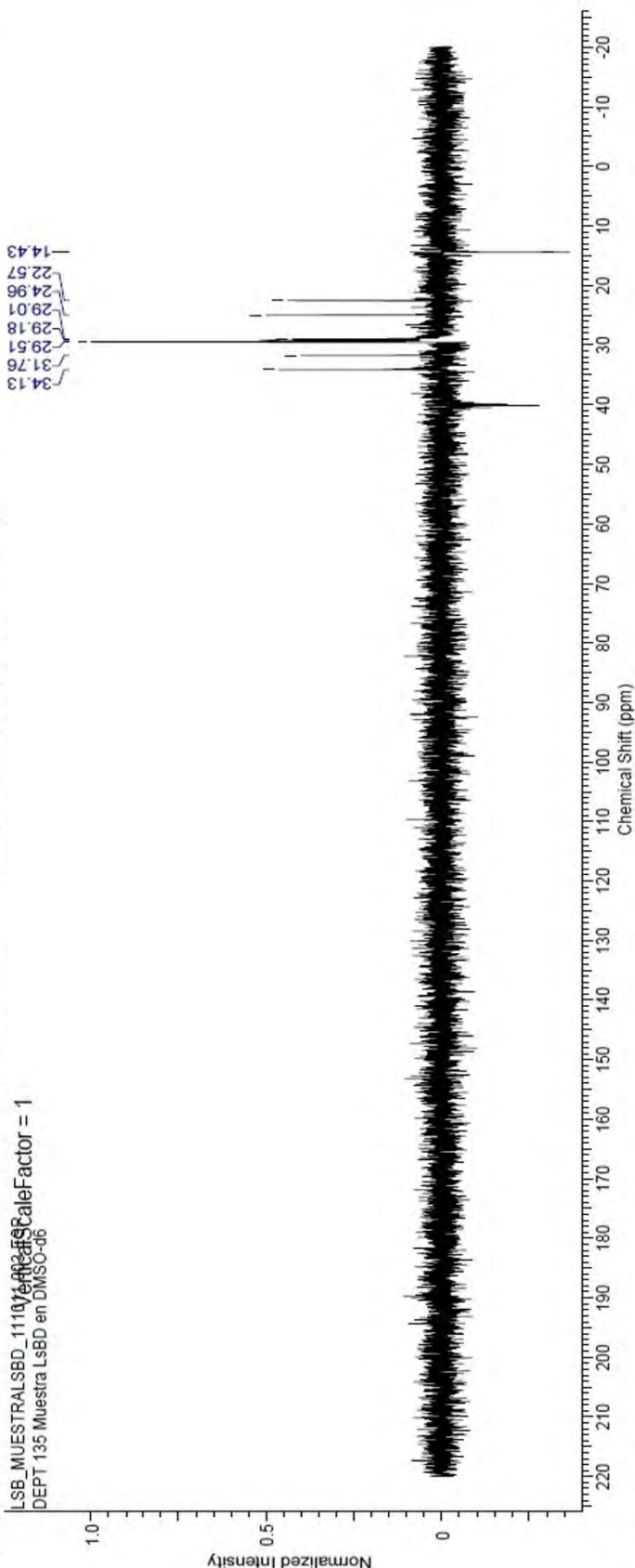
- ✓ El espectro ^{13}C RMN DEPT 135° obtenido para el compuesto LSBDD mostró:
- * La señal a 14,43 ppm con un valor negativo asociado a un carbono metileno alifático.
 - * Las señales como 22,25; 24,96; 29,01; 29,18; 29,51; 31,76 y 34,13 ppm corresponden a señales positivas que estarían representando carbonos de metilos o de metilenos alifáticos.

Tabla 18. Valores y Asignación ^{13}C RMN DEPT 135° en DMSO- d_6

Señal ppm	Asignación
34,13	-CH ₂ -
31,76	-CH ₂ -
29,51	-CH ₂ -
29,18	-CH ₂ -
29,01	-CH ₂ -
24,96	-CH ₂ -
22,57	-CH ₂ -
14,43	-CH ₃

Acquisition Time (sec)	1.8088	Comment	DEPT 135 Muestra LsBD en DMSO-d6	Date	11 Oct 2011 18:19:28
Date Stamp	11 Oct 2011 18:19:28	Nucleus	13C	Origin	spect
File Name	C:\Documents and Settings\ACER\Escritorio\ESCRITORIO\DATA_RMNL\LSB_MuestraLSBD_11101110113fid	Number of Transients	256	Pulse Sequence	dept135
Frequency (MHz)	75.48	Points Count	32768	Solvent	DMSO-d6
Original Points Count	32768	SW(cyclical) (Hz)	18115.94	Temperature (degree C)	27.000
Receiver Gain	2050.00	Sweep Width (Hz)	18115.39		
Spectrum Type	DEPT135				

LSB_MUESTRALSBD_11101110113fid
DEPT 135 Muestra LsBD en DMSO-d6
ScaleFactor = 1



No.	(ppm)	(Hz)	Height
1	14.43	1089.2	-0.2757
2	22.57	1703.4	0.4393
3	24.96	1883.6	0.5001
4	29.01	2189.9	0.4272
5	29.18	2202.6	0.4509
6	29.21	2204.8	0.3908
7	29.51	2226.9	1.0000
8	31.76	2397.2	0.4031
9	34.13	2575.8	0.4654

Figura 31. ¹³C RMN DEPT 135° EN DMSO-d₆ compuesto LSBD

Tabla 19. Señales y Asignación de HSQC δ en ppm del Compuesto LSBD

Señal δ_H	Señal δ_C	Asignación
-	174	-COO- Grupo carboxilo de ácido o éster
2,20; 2,18 ppm (t)	34,13 31,76	-CH ₂ -
1,50;1,47 y 1,45ppm (m)	29,51; 29,37; 29,21; 29,18; 29,01	-CH ₂ -
1,30 (m)	22,57; 24,96	-CH ₂ -
0,88(m)	14,43	-CH ₃

LSB_MUESTRALSBD_111011.004.ESP

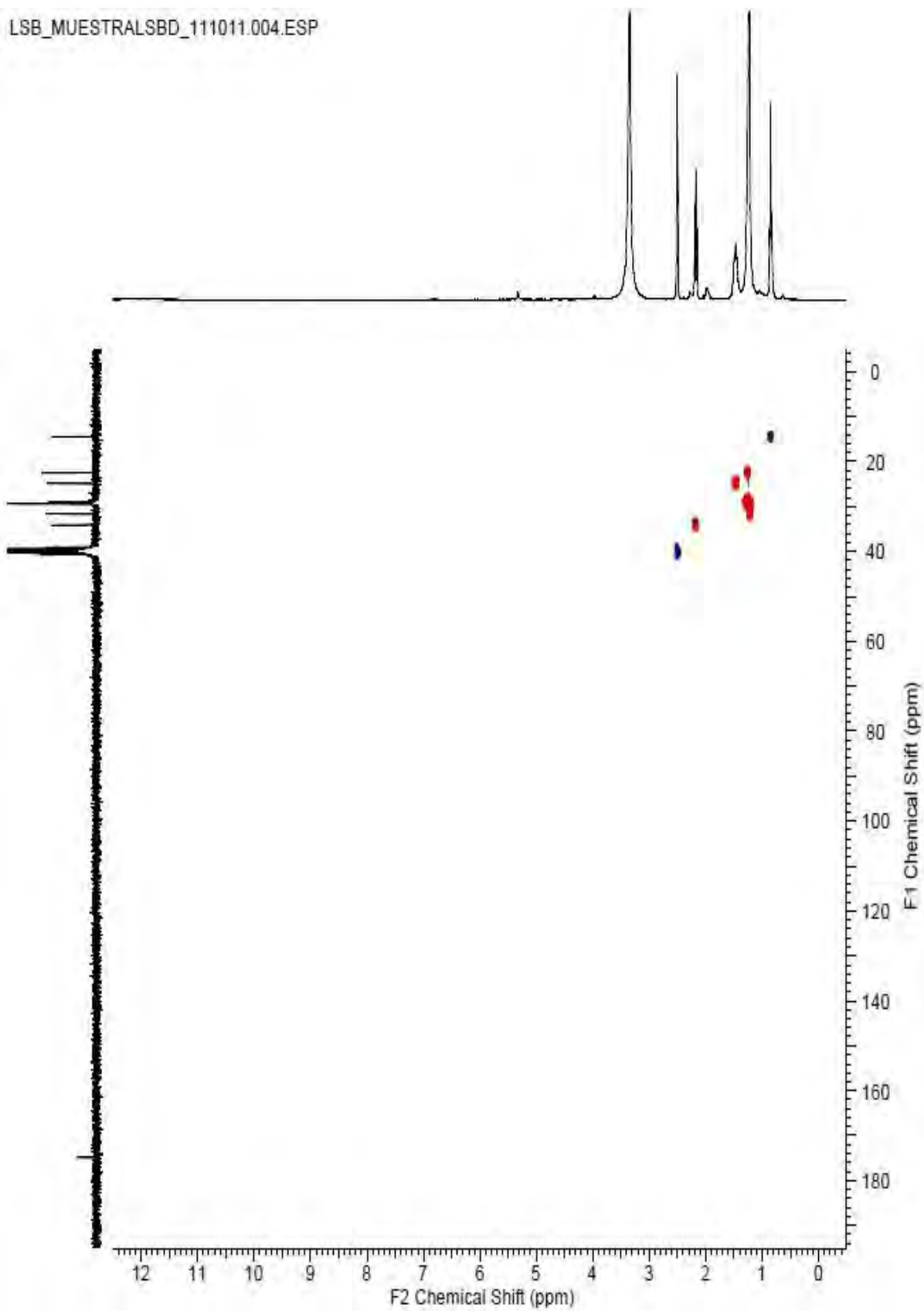


Figura 32. Espectro bidimensional HSQC compuesto LSB

Según los análisis espectroscópicos del compuesto LSBD, se evidenció la presencia de una cadena alifática saturada compuesta por grupos metilenos, metilo y carbonilo.



Conclusiones

- i. Cumplimiento de objetivos. Se lograron con éxito los objetivos establecidos de aislar, identificar y elucidar metabolitos secundarios del alga marrón *Lessonia trabeculata* recolectada en la Caleta de Quilca. Este resultado valida la metodología empleada y resalta la viabilidad de esta especie como fuente de compuestos bioactivos de interés.
- ii. Confirmación taxonómica. La identificación taxonómica de la especie, realizada y validada en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), aseguró la correcta clasificación de *Lessonia trabeculata*, proporcionando una base sólida para los análisis químicos y biotecnológicos posteriores.
- iii. Aislamiento de compuestos propuestos. Mediante extracciones sucesivas, cromatografía de columna, cromatografía de capa fina preparativa y recristalizaciones, se aislaron con éxito tres compuestos (LS01, LS02, LSBD) y alginato. Este proceso demostró la eficiencia de las técnicas empleadas para la obtención de metabolitos de distinta naturaleza química.
- iv. Caracterización de compuestos propuestos. La caracterización fisicoquímica exhaustiva, que incluyó espectroscopia de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN ^1H , ^{13}C , HSQC, DEPT), análisis de masas (solo en LS01), pruebas de solubilidad y determinación de puntos de fusión, permitió proponer:
 - LS01 como manitol, un poliol con aplicaciones conocidas en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética debido a sus propiedades edulcorantes y estabilizantes.
 - LS02 como un difenilo polihidroxilado con un grupo aldehído, cuya estructura sugiere estudios adicionales para confirmar su masa y funcionalidad biológica.
 - LSBD correspondería a un compuesto lipídico saturado que basado en los resultados espectroscópicos, orientarían a que el compuesto presenta de una cadena alifática con presencia de un grupo carbonilo.
- v. Detección de compuestos adicionales. La identificación exploratoria de alginato, ion yoduro y tentativamente, fucoxantina mediante cromatografía de capa fina resalta la

riqueza de compuestos químicos que podría tener el alga marrón *Lessonia trabeculata*.

El alginato es un polisacárido ampliamente utilizado en la industria alimentaria, farmacéutica y biotecnológica, lo que confirma su valor comercial.

vi. Potencial biotecnológico. Los resultados obtenidos destacan el significativo potencial biotecnológico de *Lessonia trabeculata* como fuente de compuestos de alto valor para aplicaciones industriales entre las que destacarían sería el alginato.

vii. Limitaciones del estudio. Entre las principales limitaciones se encuentra:

- La cuantificación del yoduro en esta especie de alga marrón por medio ICP.
- Con respecto a la fucoxantina fue no tener un estándar para su verificación.



Recomendaciones

- a) Evaluación de bioactividad. Es fundamental realizar ensayos de bioactividad (antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria, entre otros) para los compuestos aislados, como LS02. Estos ensayos podrían incluir pruebas in vitro e in vivo para validar su eficacia y seguridad.
- b) Con respecto al compuesto LSBD requiere más evidencias aplicando métodos cromatográficos, instrumentales y espectroscopia de masas. Para la elucidación estructural será necesario más análisis. Lo que quedaría pendiente para nuevas investigaciones y otros lípidos que aún están por aislar usando métodos cromatográficos instrumentales que permitan conocer más biomoléculas con potenciales hasta hoy desconocidos.
- c) Limitaciones del estudio: Entre las principales limitaciones se encuentra la cuantificación del yoduro en esta especie de alga marrón por medio ICP para conocer el contenido de yodo y La otra limitación respecto a la fucoxantina fue no tener un estándar para su verificación.
- d) Confirmación de fucoxantina. Se recomienda realizar estudios complementarios utilizando un estándar y técnicas analíticas avanzadas (HPLC-MS, RMN bidimensional) para confirmar la presencia de fucoxantina y determinar su concentración, lo que permitiría evaluar sus aplicaciones comerciales.
- e) Sostenibilidad de la recolección. Se sugiere realizar estudios ecológicos y de manejo de recursos para evaluar los cambios poblacionales de *Lessonia trabeculata* en la Caleta de Quilca y el resto de la costa sur del Perú. Esto permitirá establecer estrategias de recolección sostenible y la disponibilidad a largo plazo de esta especie como recurso biotecnológico.

Referencias

- Ale, T., & Meyer, A. (2013). Fucoidans from brown seaweeds. *RSC Advances*, 3(22), 8131–8141. <https://doi.org/10.1039/c3ra23373a>
- Bringloe, T., Starco, S., Wade, R., Vieira, C., Kawai, H., De Clerck, O., Cock, J. M., C Coelho, S., Destombe, C., Valero, M., Neiva, J., Pearson, G., Faugeron, S., Serrão, E., & Verbruggen, H. (2020). Phylogeny and evolution of brown algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 39(5), 406–426. <https://doi.org/10.1080/07352689.2020.1787679>
- Cardozo, K., Guaratini, T., Barros, M., Falcão, V., Tonon, A., Lopes, N., Campos, S., Torres, M., Souza, A., Colepickolo, P., & Pinto, E. (2007). Metabolites from algae with economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 146(1–2), 60–78. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.05.007>
- Cavalier-Smith, T. (2004). Only six kingdoms of life. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271(1545), 1251–1262. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2705>
- Cheng, I., Torres, J., Martínez, B., Guerrero, G., Ángel, M., Sarabia, F., & Quesada, A. (2019). Synthesis and antitumor activity evaluation of compounds based on toluquinol. *Marine Drugs*, 17(8), Article 492. <https://doi.org/10.3390/md17080492>
- Dawes, C. (1991). *Botánica marina*. Editorial Limusa.
- FAOLEX. (2009). Resolución ministerial sobre *Lessonia trabeculata*. <https://faolex.fao.org/docs/pdf/per98278.pdf>
- Farvardin, A., González, A., Llorens, G., Scalchi, L., & Vicedo, B. (2020). The apoplast: A key player in plant survival. *Antioxidants*, 9(7), Article 604. <https://doi.org/10.3390/antiox9070604>
- Fertah, M., Belfkira, A., Dahmane, B., Taourite, M., & Brouillette, F. (2017). Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(Supplement 2), S3707–S3714.

<https://doi.org/10.1016/j.arabic.2014.05.003>

Gerasimenko, N., & Logvinov, S. (2016). Seasonal composition of lipids, fatty acids, and pigments in the brown alga *Sargassum pallidum*: The potential for health. *Open Journal of Marine Science*, 6(4), 498–523. <https://doi.org/10.4236/ojms.2016.64041>

Gómez-Ordóñez, E., & Rupérez, P. (2011). FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1514–1520. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.009>

Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Chapman & Hall.

Haugan, J., Aakermann, T., & Jensen, S. (1992). Isolation of fucoxanthin and peridinin. *Methods in Enzymology*, 213, 236–238. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(92\)13124-G](https://doi.org/10.1016/0076-6879(92)13124-G)

Hesse, M., Meier, H., & Zeeh, B. (2005). *Métodos espectroscópicos en química orgánica*. Editorial Síntesis.

Hosokawa, M., Wanezaki, S., Miyauchi, K., Kurihara, H., Kohno, H., Kawabata, J., Odashima, S., & Takahashi, K. (1999). Antioxidant activity of seaweed extracts. *Food Science and Technology Research*, 5(3), 243–246. <https://doi.org/10.3136/fstr.5.243>

IUPAC. (s.f.) Nomenclature. <https://goldbook.iupac.org/terms/view/T06278>

Jaswir I., Noviendri, D., Salleh, H., Taher, M., Miyashita, K., & Ramli, N. (2013). Analysis of fucoxanthin content and purification of all-trans fucoxanthin from *Turbinaria turbinata* and *Sargassum plagiophyllum* by SiO₂ open column chromatography and reversed phase HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 36(10), 1340–1354. <https://doi.org/10.1080/10826076.2012.691144>

Küpper, F. C., & Carrano, C. (2019). Key aspects of the iodine metabolism in brown algae. *Metallomics*, 11(1), 29–36. <https://doi.org/10.1039/c8mt00227k>

Küpper, F. C., Carpenter, L. J., McFiggans, G., Palmer, C. J., Waite, T. J., Boneberg, E.-M., Woitsch, S., Weiler, M., Abela, R., Grolimund, D., Potin, P., Butler, A., Luther, G. W., III, Kroneck, P. M. H., Meyer-Klaucke, W., & Feiters, M. C. (2008). Iodide accumulation provides kelp with an inorganic antioxidant impacting atmospheric chemistry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(19), 6954–6958. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709959105>

La Barre, S., Potin, P., Le Blanc, C., & Delage, L. (2010). The halogen metabolism of brown algae (Phaeophyta): Its biological importance and its environmental significance. *Marine Drugs*, 8(4), 988–1010. <https://doi.org/10.3390/md8040988>

Laird, D., & van Altena, I. (2006). Tetraprenyl toluquinols from brown alga *Cystophora fibrosa*. *Phytochemistry*, 67(9), 944–955. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.01.022>

Lee, R. E. (2008). *Phycology* (4th ed.). Cambridge University Press.

Lenis, L., Benites, R., Salamanca, E., & Trujillo, D. (2007). Extracción, separación y elucidación estructural de dos metabolitos secundarios del alga marina *Bostrychia calliptera*. *Scientia et Technica*, 13(33), 157–162.

<https://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/view/6929>

Liu, M., Hansen, P. E., & Lin, X. (2011). Bromophenols in marine algae and their bioactivities. *Marine Drugs*, 9(7), 1273–1292. <https://doi.org/10.3390/md9071273>

Mekinić I., Skroza, D., Šimat, V., Hamed, D., Čagalj, M., & Popović Perković, Z. (2019). Phenolic content of brown algae (Phaeophyceae) species: Extraction, identification, and quantification. *Biomolecules*, 9(6), Article 240. <https://doi.org/10.3390/biom9060240>

Ministerio de la Producción. (2022). Regulación de la explotación de recursos marinos (Resolución Ministerial N° 219-2022-PRODUCE).

<https://www.gob.pe/institucion/produce/normas-legales/3147308-219-2022-produce>

Nakanishi, K. (1964). Infrared absorption spectroscopy: Practical (2nd ed.). Nankodo Company Limited.

Pavia D., Lampman G. Kriz G., Vyvyan J. (2013) Introduction to Spectroscopy, Fifth edition Cengage USA

Peng, Y., Yang, X., Huang, R., Ren, B., Chen, B., Liu, Y., & Zhang, H. (2024). Diversified chemical bioactivities of chemical constituents found in the brown algae family Sargassaceae. *Marine Drugs*, 22(2), Article 59. <https://doi.org/10.3390/md22020059>

Premarathna, A., Tubikene, R., Somasiri, M., De Silva, M., Adikhari, R., Ranahewa, W., Wijesekera, D., Wangchuk, R., & Rajapakse, R. (2023). A novel therapeutic effect of mannitol-rich extract from the brown seaweed *Sargassum ilicifolium* using in vitro and in vivo models. *BMC Complementary Medicines and Therapies*, 23(1), Article 26. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-03847-8>

Restrepo Garzón, N. (2015). Extracción, purificación y análisis del contenido de fucoxantina en algas pardas del Caribe colombiano [Tesis de grado, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano]. <http://hdl.handle.net/20.500.12010/1234>

Rocha, C., Pacheco, D., Cotas, J., Marquez, J., Pereira, L., & Gonçalves, A. (2021). Seaweeds as valuable sources of essential fatty acids for human nutrition. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(9), Article 4968. <https://doi.org/10.3390/ijerph18094968>

Se Kwon Kim. (2012). Handbook of marine macroalgae. Wiley-Blackwell.

Senik, J. (1977). The determination of iodine in seaweed. *Journal of Chemical Education*, 54(8), 511–513. <https://doi.org/10.1021/ed054p511>

Sheu, J. H., Wang, G. H., Sung, P. J., & Duh, C. Y. (1999). New cytotoxic oxygenated fucosterols from the brown alga *Turbinaria conoides*. *Journal of Natural Products*, 62(2), 224–227. <https://doi.org/10.1021/np9803927>

SIGRID. (s.f.). Sistema de información para la gestión de riesgos y desastres.
<https://sigrid.cenepred.gob.pe/sigridv3/>

Usov, A. I. (1999). Alginic acids and alginates: Analytical methods used for their estimation and characterization of composition and primary structure. *Russian Chemical Reviews*, 68(11), 957–966. <https://doi.org/10.1070/RC1999v068n11ABEH000544>

Wallace, R. (1990). *The world of life* (5th ed.). Scott Foresman & Company.

Wang, T., Jonsdottir, R., Liu, H., Gu, L., Kristinsson, H. G., Raghavan, S., & Olafsdottir, G. (2012). Antioxidant capacities of phlorotannins extracted from the brown algae *Fucus vesiculosus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(23), 5874–5883.
<https://doi.org/10.1021/jf300365b>

Zheng, H., Zhao, Y., & Guo, L. (2022). A bioactive substance derived from brown seaweeds: Phlorotannins. *Marine Drugs*, 20(12), Article 742. <https://doi.org/10.3390/md20120742>

Zheng Cong Wang Jin hua Gao Feng Fu Guan Lian Feng Qian Determination of Iodine Content in Edible Algae by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry *FOOD SCIENCE* » 2011, Vol. 32 » Issue (8): 202-205.

<https://www.spkx.net.cn/EN/10.7506/spkx1002-6630-201108046>

<https://www.spkx.net.cn/EN/Y2011/V32/I8/202>

Anexos

Constancia de la clasificación taxonómica del alga marrón.

 UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
 MUSEO DE HISTORIA NATURAL

CONSTANCIA Nº 054 - USM-2009

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (alga), recibida del Sr. LAURENCE SALMÓN BARRANTES, ha sido estudiada y clasificada como: *Lessonia trabeculata* Villareta et Santelices y tiene la siguiente posición taxonómica, según el ordenamiento sistemático de Santelices (1989):

DIVISION: PHAEOPHYTA

CLASE: PHAEOPHYCEAE

ORDEN: LAMINARIALES

FAMILIA: LESSONIACEAE

GENERO: *Lessonia*

ESPECIE: *Lessonia trabeculata* Villareta et Santelices

Nombre vulgar: "Alga"
Determinada por: Dr. César Acleto O.

Se extiende la presente constancia a solicitud del interesado, para fines de investigación.

Lima, 01 de Setiembre de 2009

 
MG. JOAQUINA ALBAN CASTILLO
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS

DD8

v. Arenales 1256, Jesús María
pdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Tel/f.: (511) 471-0117, 470-4471,
470-7918, 629-7000 anexo 5703
Fax: (511) 265-6819

e-mail: museohn@unmsm.edu.pe
<http://museohn.unmsm.edu.pe>

Separación del alginato



Figura 33. Precipitado de alginato en etanol en forma de gel.

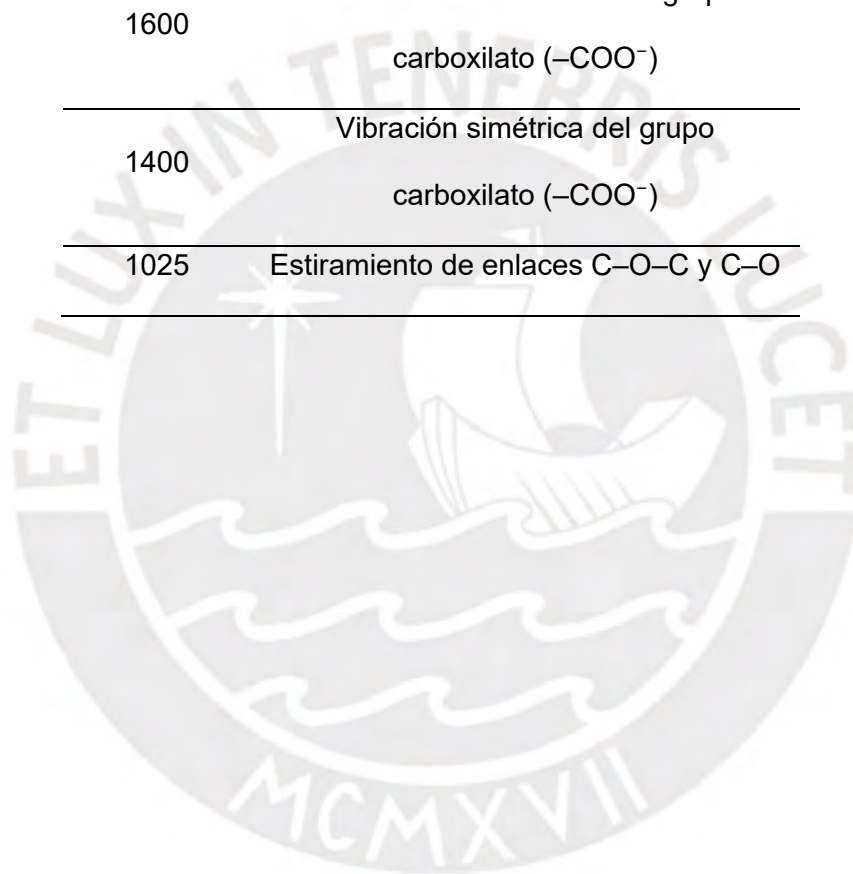


Figura 34. Alginato secado a temperatura ambiente

Señales y asignaciones del espectro IR para la caracterización del alginato.

Tabla 20. Señales y Asignaciones sobre la Caracterización del alginato.

Señal cm⁻¹	Asignación
3350	Estiramiento O–H (hidroxilo)
1600	Vibración antisimétrica del grupo carboxilato (–COO ⁻)
1400	Vibración simétrica del grupo carboxilato (–COO ⁻)
1025	Estiramiento de enlaces C–O–C y C–O



Espectro IR de alginato

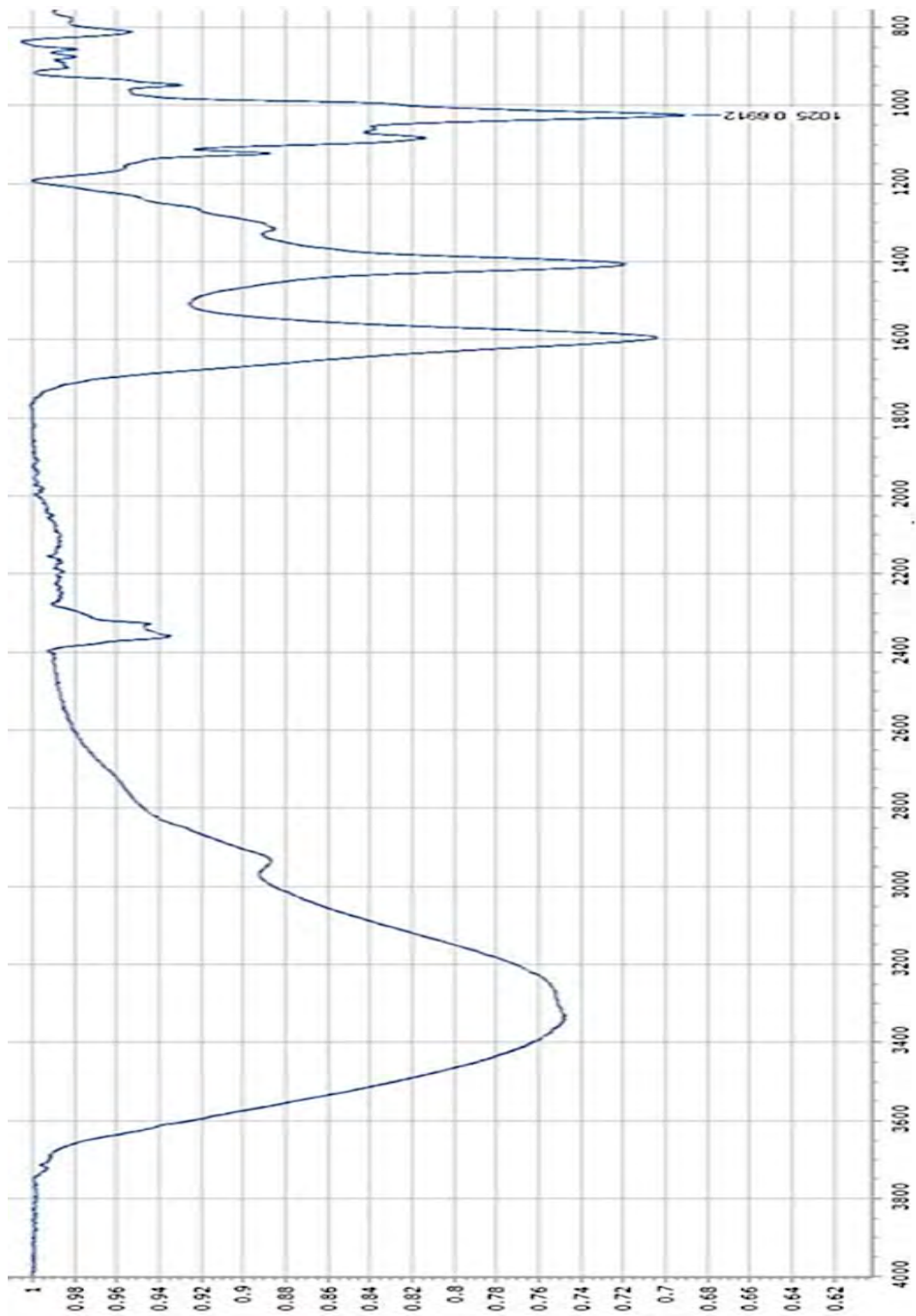


Figura 35. Espectro IR alginato (espectro obtenido de equipo Shimadzu (UNI))

Imagen del cromatofolio realizado en la prueba explorativa de fucoxantina.

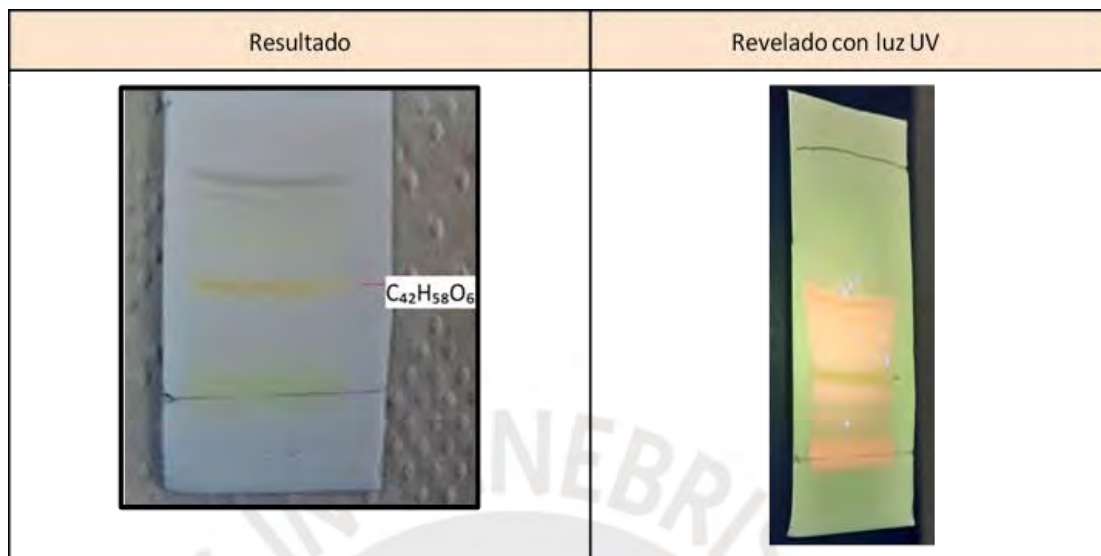


Figura 36. Cromatofolio mostrando la franja anaranjada de fucoxantina.

