

Estudio químico preliminar de los polisacáridos del alga *gracilariopsis hommersandii* (rhodophyta)

Canelón Dilsia
Escuela de Bioanálisi
Universidad Central de Venezuela
dilsia.canelon@ucv.ve
Venezuela

Compagnone Reinaldo
Escuela de Química. Facultad de
Ciencias
Universidad Central de Venezuela
dilsia.canelon@ucv.ve
Venezuela

Ciancia Marina
Departamento de Biología Aplicada y Alimentos
Departamento de Química Orgánica
Universidad de Buenos Aires
dilsia.canelon@ucv.ve
Argentina- Buenos Aires

Matulewicz María
Departamento de Química Orgánica
Universidad de Buenos Aires
dilsia.canelon@ucv.ve
Argentina- Buenos Aires

Fecha de recepción: 13-04-2014 Fecha de aceptación: 12-03-2014

Resumen

Los organismos marinos son una fuente importante de sustancia de gran interés, siendo las algas marinas productoras de grandes cantidades de polisacáridos de diferentes tipos. Las algas son consideradas un recurso renovable de utilidad, dado que, entre otros componentes, los polisacáridos sulfatados poseen actividad biológica como es la actividad antiviral, antitumoral, anticoagulante, entre muchas otras, además de poseer múltiples aplicaciones industriales. Esta investigación tiene como objetivo presentar los resultados del análisis químico preliminar de los polisacáridos solubles en agua presentes en la pared celular del alga marina *Gracilariopsis hommersandii* (Gracilariales) Rhodophyta. Se sabe que

la mayoría de algas rojas producen galactanos con diferentes grados de sulfatación. Las del orden Gracilariales biosintetizan agaranos, familia de polisacáridos a los que pertenece, entre otros, el agar-agar (constituido principalmente por agarosa). El material algal seco se extrajo con metanol y el residuo de la extracción metanólica se extrajo dos veces, con agua a temperatura ambiente, y una vez, con agua caliente. Se determinó que el extracto en caliente fue el más importante, siendo éste el más interesante desde el punto de vista de posibles aplicaciones industriales de estas algas; sin embargo, el interés de los extractos obtenidos a temperatura ambiente podría provenir de una actividad biológica importante, que puede ser diferente que la del producto principal. Se realizó la deter-

minación cuantitativa de hidratos de carbono totales, mediante el método colorimétrico de fenol-ácido sulfúrico sin realizar hidrólisis previa del polisacárido y empleando galactosa como estándar a cada uno de los extractos. También, se realizó la determinación de sulfato, el cual se hizo empleando el método turbidimétrico. Los resultados mostraron que los extractos están compuestos por hidratos de carbono entre un 52-71%, el contenido de sulfato fue del 11-16%, y el de proteínas 2-5%. Se espera continuar el estudio realizando la caracterización química y espectroscópica de estos polisacáridos.

Palabras clave: Algas marinas; polisacáridos; *Gracilariopsis hommersandii*; Rhodophyta

Chemical preliminary study of the polisacáridos del alga *gracilariopsis hommersandii* (rhodophyta)

Abstract

Marine organisms are an important source of substance of great interest, with marine algae producing large amounts of polysaccharides of different types. Algae are considered a useful renewable resource, given that, among other components, sulphated polysaccharides possess biological activity such as antiviral, antitumor, anticoagulant activity, among many others, in addition to having multiple industrial applications. This research aims to present the results of the preliminary chemical analysis of the water soluble polysaccharides present in the cell wall of the seaweed *Gracilariopsis hommersandii* (Gracilariales) Rhodophyta. It is known that most red

algae produce galactans with different degrees of sulphation. Those of the order Gracilariales biosintetizan agaranos, family of polysaccharides to which it belongs, among others, agar-agar (constituted mainly by agarose). The dry algal material was extracted with methanol and the residue from the methanolic extraction was extracted twice, with water at room temperature, and once, with hot water. It was determined that the hot extract was the most important, being the most interesting from the point of view of possible industrial applications of these algae; however, the interest of the extracts obtained at room temperature could come from an important biological activity, which may be different from that of the main product. The quantitative

determination of total carbohydrates was carried out by means of the colorimetric method of phenol-sulfuric acid without prior hydrolysis of the polysaccharide and using galactose as standard for each of the extracts. Also, the determination of sulphate was carried out, which was done using the turbidimetric method. The results showed that the extracts are composed of carbohydrates between 52-71%, the sulfate content was 11-16%, and that of proteins 2-5%. The study is expected to continue with the chemical and spectroscopic characterization of these polysaccharides.

Key words: Marine algae; polysaccharides; *gracilariopsis hommersandii*; rhodophyta

Introducción

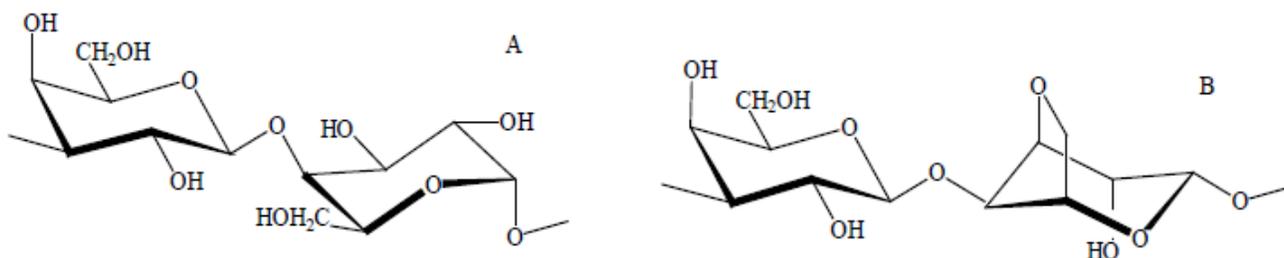
Las algas marinas son organismos autótrofos, de hábitat acuático, tanto de agua dulce como ambientes marinos, incluso pueden desarrollarse en terrenos húmedos o sobre cortezas de árboles. Las algas, a pesar de no disponer de un sistema vascular ni desarrollan embrión, poseen clorofila, por lo que son fotosintéticas y están clasificadas taxonómicamente dentro del reino protista (Lindorf, 2006). Son organismos sésiles con una exitosa adaptación evolutiva que involucran estrategias de sobrevivencia y comportamiento físico y químico. Las algas se clasifican en: Cyanobacteria, Phaeophyta, Chlorophyta y Rhodophyta (Amsler, 2008). La clase Rhodophyta, cuyos organismos se conocen comúnmente como algas rojas comprende especies eucarióticas las cuales surgieron como resultado de un proceso

endosimbiótico primario. Actualmente, existen aproximadamente unas 6000 especies de estas algas, las cuales se agrupan únicamente en esta clase (Graham, 2000). Estas algas se encuentran abundantemente distribuidas en todos los mares del mundo y tienen gran interés comercial y ecológico; por consiguiente, se han desarrollado diversos métodos de cultivo para su explotación y se han realizado investigaciones para su aplicación en áreas tan diferentes como alimentación, medicina, ficológica, entre muchas otras.

Las algas rojas difieren de otras algas y de las plantas superiores, en cuanto a la organización y composición de las paredes celulares, las cuales constituyen un 30 a 50% del peso seco del alga, muchas veces aún más. La pared celular está formada principalmente por polisacáridos, además presenta proteoglicanos, lípidos,

proteínas y elementos inorgánicos asociados (Craigie, 1990). Estos polisacáridos pueden separarse en dos grupos principales: a) aquellos que constituyen la matriz fibrilar, principalmente celulosa, y b) los que constituyen una fase amorfa, que en este tipo de algas son los principales en cuanto a su rendimiento. Este segundo grupo está formado principalmente por galactanos, posiblemente en el caso de *Gracilariopsis* del grupo de los agaranos. Estos polisacáridos forman cadenas lineales de unidades alternantes de b-D-galactopiranososa enlazada por la posición 3 y (3,6-anhidro-)a-L-galactosa enlazada por C-4, los diferentes hidroxilos de estas unidades pueden estar sulfatados (Figura 1). Estos últimos son los polisacáridos que se espera encontrar en los extractos acuosos de *G. hommersandii*, en base a su clasificación taxonómica, aunque se desconocen los posibles detalles de su estructura.

Figura 1. Unidades disacáridicas repetitivas presentes en las cadenas de agaranos.
A. Agarano no ciclado. B. Agarosa.



Anualmente, entre 7,5 a 8 millones de toneladas de algas marinas secas son utilizadas en las diversas industrias, que sirven de sustento en el consumo de productos comestibles para los humanos, en especial en países de oriente como Japón, Corea y China, que son los mayores consumidores y grandes productores de algas y productos derivados de las mismas (McHugh, 2003). Los polisacáridos, entre ellos, los galactanos sulfatados, son de gran utilidad, ya que son utilizados como agentes viscosantes, gelificantes, y estabilizantes. En la industria de alimentos, se utilizan en productos lácteos, mermeladas, helados, comidas dietéticas, entre otros. En la industria cosmética como espesantes de champús, cremas corporales, texturizante de pastas dentales y en la industria farmacéutica como agentes antivirales, microbicida, antioxidante y muchas otras [Bixler y Porse (2011); Ngo y Kim (2013); Stengel et al., (2011)]. En esta investigación, se realizó un análisis químico preliminar de los polisacáridos presentes en la pared celular del alga marina *Gracilariopsis hommersandii* (Gracilariales) Rhodophyta colectada en Venezuela.

Las especies de *Gracilariopsis* están caracterizadas por presentar frondas delgadas, elongadas y cilíndricas con grados diversos de ramificación. Actualmente, se conocen dieciséis especies a nivel mundial, de las cuales sólo pocas han sido descritas para el Océano Atlántico y el Mar

Caribe, en Venezuela la especie *G. hommersandii* se encuentra en el estado Falcón y en el Archipiélago Los Roques [Gurgel *et al.*, (2003)].

Materiales y Métodos

El material algal fue colectado en el estado Falcón, de manera manual a 1m de profundidad, luego de la colección, ésta fue congelada, liofilizada, molida y sometida a 3 extracciones sucesivas, con metanol por 72 horas, a temperatura ambiente. El residuo de la extracción metanólica fue secado, hasta peso constante, y se extrajo dos veces con agua a temperatura ambiente, 20 g/100 mL por 48 horas; y una vez con agua caliente, 20 g/100 mL por 36 horas. Se centrifugó, se separó el sobrenadante y los productos se recuperaron por diálisis y liofilización, obteniéndose los polisacáridos. A cada uno de los extractos obtenidos a temperatura ambiente y en caliente, se realizó la determinación cuantitativa del contenido de hidratos de carbono totales, mediante el método colorimétrico de fenol-ácido sulfúrico propuesto por [Dubois *et al.*, (1956)], sin realizar hidrólisis previa del polisacárido y empleando galactosa como estándar. También, se realizó la determinación de sulfato, el cual se hizo empleando el método turbidimétrico (Dodgson y Prince, 1962). La determinación cuantitativa de proteínas totales se realizó a través de la técnica de [Lowry *et al.*, (1951)].

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se muestra el rendimiento, así como el análisis preliminar de los extractos del alga marina *Gracilariopsis hommersandii*. GhA1, GhA2 y GhC1, representa los extractos obtenidos en una primera extracción a temperatura ambiente, la segunda extracción a temperatura ambiente y una vez con agua caliente, respectivamente. El producto principal fue GhC1, cuya obtención se vio sumamente complicada por su comportamiento reológico, ya que en cuanto la solución comienza a enfriarse da lugar a la formación de un gel. Este hecho es de gran interés, ya que indica su potencial aplicación como aditivo en diversas industrias.

A cada uno de los extractos se le realizó la determinación cuantitativa de hidratos de carbono totales (HDC), mediante el método colorimétrico de fenol-ácido sulfúrico. La determinación de sulfato, se hizo empleando el método turbidimétrico, que implica una hidrólisis y la formación de una suspensión de cloruro de bario en el medio de reacción, y la determinación cuantitativa de proteínas totales se realizó a través de la técnica de Lowry *et al.*, (1951). Los resultados mostraron que los extractos están compuestos por hidratos de carbono entre un 52-71%, el contenido de sulfato fue del 11-16% y el de proteínas del 2-5%.

Tabla 1. Rendimiento y análisis de los extractos obtenidos de *Gracilariopsis hommersandii*

Extracto	Rend ¹ %	HDC %	Sulfato SO ₃ Na %	Proteínas %
Gh A1	1.9	71.3	11.5	3.6
Gh A2	0.6	52.7	12.5	2.5
Gh C1	>45	51.0	16.0	4.6

¹ Los porcentajes se expresan por 100 g del residuo del extracto metanólico

Conclusiones

Con el método de extracción empleado se logró la obtención de tres extractos, de ellos, el obtenido con agua caliente fue el principal en cuanto a rendimiento. Todos ellos están constituidos principalmente por polisacáridos con cantidades significativas de sulfato, aunque parecen presentar una mínima contaminación con proteínas. Llama la atención que el extracto en caliente, que en principio debería estar compuesto principalmente por agarosa, polisacárido neutro, muestre un grado de sulfatación tan elevado, que implica aproximadamente que cada 100 unidades de azúcar hay 70 grupos sulfato. Se espera continuar el estudio químico de los polisacáridos del alga *Gracilariopsis hommersandii* en cuanto a la composición de los monosacáridos y posterior análisis enantiomérico de galactosa y 3,6-anhidrogalactosa. Además, del estudio estructural por análisis por metilación y de resonancia magnética nuclear de ¹H y de ¹³C, así como por técnicas bidimensionales. Así será posible confirmar si estos productos son agaranos y se determinarán los detalles de su estructura.

Agradecimiento

Los autores agradecen al FONACIT ente adscrito al Ministerio del Poder Popular para Ciencia, Tecnología e Innovación por el financiamiento del Proyecto 2012000830.

Referencias Bibliográficas

- Amsler, C. D. (2008). *Algal Chemical Ecology*. Springer, Birmingham.
- Bixler, H. J.; Porse, H. (2011). A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *J. Appl Phycol.* 23 (3): 321- 335.
- Craigie, J. S. (1990). *Biology of red algae*. Cambridge University Press, New York.
- Dodgson, K. S.; Price, R.G. (1962). A note on the determination of the ester sulphate content of sulphate polysaccharides. *Biochem J.* 84: 106- 110.
- Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; P.A. Rebers, P.A; Smith, F. (1956). Colorimetric method of

determination of sugars and related substance. *Anal. Chem.* 28: 350-356.

Graham, L.; Wilcox, L.W. (2000). *Algae*. Prentice Hall, New Jersey.

Gurgel, C.D.F.; Fredericq, S.; Norris, J.N. (2003). *Gracilariopsis silvana* sp. nov., *G. hommersandii* sp. nov., and *G. cata-luziana* sp. nov., three new species of Gracilariaceae (Gracilariales, Rhodophyta) from the western Atlantic. *Hidrobiológica.* 13 (1): 57-68.

Lindorf, H. (2006). *Botánica*. 2da edición. Ediciones de la Universidad Central de Venezuela. Caracas.

Lowry, H.O.; Rosenbrought, A.; Farr, L.; Randall, R.J. (1951). Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.

McHugh, D. J. (2003). *A guide to the seaweed industry*. FAO, Roma.

Ngo, D-H.; Kim, S-K. (2013). Sulfated polysaccharides as bioactive

agens from marine algae. *Int. J. Biol. Macromol.* 62:70-75.

Stengel, D.B.; Connan, S.; Popper, Z.A. (2011). Algal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnol. Adv.* 29 (5): 483-501.