

## INFORME 2

### CUANTIFICACION DE POLIFENOLES EN ALGAS ANTARTICAS

#### I. Metodología

La identificación y cuantificación de polifenoles se realizó utilizando un método de cromatografía líquida de alta resolución, basado en el descrito por Celis-Plá *et al.* (2018) al que se realizaron modificaciones.

Se trabajo sobre un extracto de algas metanol/agua, almacenado a -80°C antes de su análisis, que fue centrifugado a 4000 rpm por 5 min y filtrado por 0,22µm previo a su inyección en el cromatógrafo.

Se utilizó un cromatógrafo líquido de alta resolución con autosampler modelo SIL20AC, horno de columna modelo CTO-20AC, desgasificador modelo DGU-20A5, bomba modelo LC-20AD y detector de arreglo de diodo SPD M20A, Shimadzu.

La identificación de los polifenoles se realizó por comparación de los tiempos de retención y espectros de absorción de estándares (190- 800 nm) de floroglucinol, ácido gálico, ácido cafeico, rutina, ácido cinámico, quercetina y camferol con las señales cromatográficas detectadas en las muestras. Los tiempos de retención de los estándares fueron 4,49; 4,98;18,91; 25,42; 25,74; 35,00 y 42,12 min.

La separación cromatográfica se realizó sobre un volumen de muestra de 100 µL, en una columna RP18 InertSustain (4,6 x250mm, 5µm), protegida por una precolumna Nucleodur C18 Gravity, en un horno a 30°C, detectándose los analitos a una longitud de onda de trabajo de 280nm. La fase móvil consistió en acetonitrilo (A) y ácido fosfórico al 1% en agua HPLC (B). La elución de los analitos se realizó en gradiente, como indica en la siguiente tabla.

Tiempo (min)	Fase móvil	
	A	B
0	10	90
12,0	12	88
16,0	12	88
16,01	15	85
18,00	15	85
18,01	30	70
30,0	30	70
30,01	35	65
36,0	35	65
36,01	10	90
45,0	10	90
45,01	0	100
54,0	0	100

## II. Resultados

Tabla N°1: Composición de polifenoles en muestras de algas (µg/mL)

Muestra	Floroglucinol µg/mL	Ac Gálico µg/mL	Ac. Cafeico µg/mL	Rutina µg/mL	Ac, Cinámico µg/mL	Quercetina µg/mL	Camferol µg/mL
1	0,93	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	ND	1,42	ND	ND	ND	ND	ND
3	177,38	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	11,64	0,75	ND	ND	ND	ND	ND
8	9,41	0,24	ND	ND	ND	ND	ND
9	ND	1,22	ND	ND	ND	ND	ND
10	ND	1,19	ND	ND	ND	ND	ND
11	0,35	0,36	ND	ND	ND	ND	ND
12	9,27	1,05	ND	ND	ND	ND	ND
13	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3,88
14	28,18	ND	ND	ND	ND	ND	3,03
15	20,59	ND	ND	ND	ND	ND	2,60
16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18	3,88	ND	ND	ND	ND	ND	ND
19	18,89	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
24	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
26	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28 AZUL	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
29	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
31 AZUL	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
32 AZUL	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
33	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
34	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
35	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
36	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
37	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

38	ND	ND	ND	1,41	ND	ND	ND
39	ND	ND	ND	1,43	ND	ND	ND

L.D. Floroglucinol: 0,002 µg/mL; L.D. Ac. Gálico: 0,001 µg/mL; L.D. Ac. Cafeico: 0,001 µg/mL;

L.D. Rutina: 0,001 µg/mL; L.D. Ac. Cinámico: 0,001 µg/mL; L.D. Quercetina: 0,001 µg/mL;

L.D. Camferol: 0,001 µg/mL

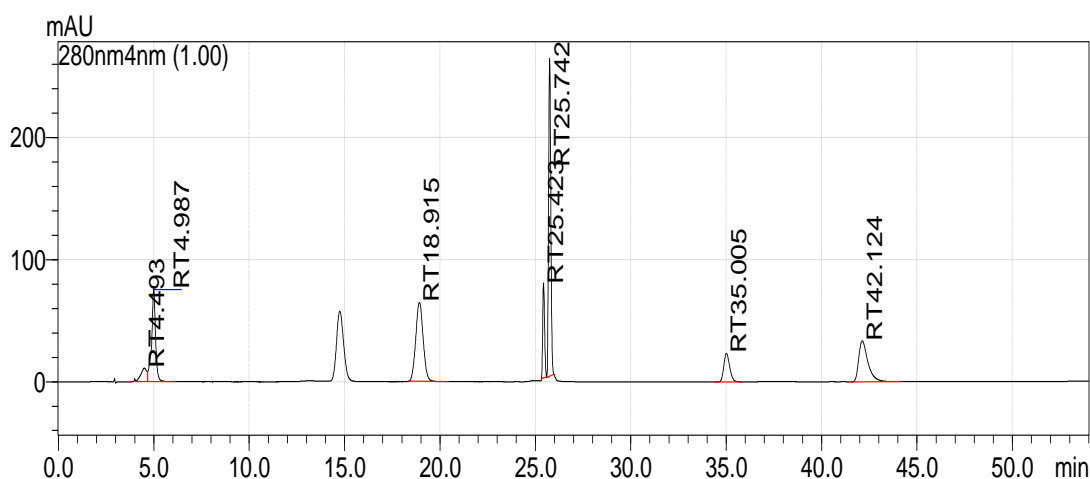
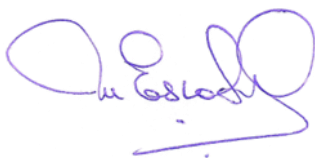


Figura N°1: Cromatograma de estándares utilizados en el ensayo y por orden de elución aparecen floroglucinol, ácido gálico, ácido cafeico, rutina, ácido cinámico, quercetina y camferol.

La señal cromatográfica que se muestra sin tiempo de retención corresponde a la elución conjunta de ácido clorogénico y el ácido 3,4 hidroxibenzoico.

### III. Bibliografía

Celis-Plá, P., Brown, M., Santillán-Sarmiento, A., Korbee, N., Sáez, C., Figueroa, F., 2018. Ecophysiological and metabolic responses to interactive exposure to nutrients and copper excess in the brown macroalga *Cystoseira tamariscifolia*. Marine Pollution Bulletin 128 (2018) 214–222



Realizado por: Marcela Escobar P.,

24 de abril 2022