



COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE MACROALGA *Gracilaria vermiculophylla* SOBRE *Vibrio parahaemolyticus*

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF DIFFERENT EXTRACTS FROM THE MA-CROALGAE *Gracilaria vermiculophylla* AGAINST *Vibrio parahaemolyticus*

Pablo Sergio Osuna Amarillas¹, Anselmo Miranda Baeza¹, Martha Elisa Rivas Vega^{1*}, Edgard Esquer Miranda¹, Daniel García Bedoya², Ramón Buitimea Valdez³

¹ Universidad Estatal de Sonora, Unidad Académica Navojoa. Carretera Navojoa-Huatabampo Km 5.0. Col. La joya, Navojoa, Sonora. C.P. 85875.

² Universidad Estatal de Sonora, Unidad Académica Hermosillo. Ley Federal del Trabajo S.N. Col. Apolo. Hermosillo, Sonora. C.P. 83100.

³ Universidad Tecnológica de Etchojoa. Carretera Etchojoa-Huatabampo Km 6.0. C.P. 85287.

RESUMEN

La búsqueda de compuestos naturales como una alternativa ante el uso de antibióticos sintéticos ha tomado mucha importancia. Se ha demostrado que las macroalgas marinas contienen compuestos capaces de inhibir el crecimiento bacteriano, incluyendo bacterias patógenas para el humano. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de dos extractos (acetona y metanol) de la macroalga *Gracilaria vermiculophylla* sobre el crecimiento de la bacteria *Vibrio parahaemolyticus*. La determinación del efecto antimicrobiano de los extractos crudos se llevó a cabo utilizando el método de difusión en disco; para lo cual se utilizaron 10, 30 y 50 µL de los extractos en los sensibilizadores. Se determinó que el volumen de 50 µL, con ambos extractos presentó los halos de inhibición más altos (3.24 mm para el extracto en metanol y 3.17 mm para el extracto en acetona).

Palabras claves: actividad antimicrobiana, *Gracilaria vermiculophylla*, *Vibrio parahaemolyticus*.

ABSTRACT

The search for natural compounds as an alternative to the use of synthetic antibiotics has become increasingly important. It has been shown that the marine macroalgae contain compounds capable of inhibiting bacterial growth, including pathogenic bacteria for humans. The aim of this study was to determine the effect of two extracts (acetone and methanol) of macroalgae *Gracilaria vermiculophylla* on the growth of *Vibrio parahaemolyticus*. Determination of antimicrobial effect of the crude extracts was performed using the agar diffusion method; for which 10, 30 and 50 µL of the extracts were loaded on sterile antibiotic discs. It was determined that the 50 µL with both extracts showed higher inhibiting zone diameter (3.24 mm for the extract in methanol and 3.17 mm for the extract in acetone).

Keywords: antimicrobial activity, *Gracilaria vermiculophylla*, *Vibrio parahaemolyticus*.

INTRODUCCIÓN

Las macroalgas son recursos naturales comestibles que se encuentran presentes en grandes cantidades en el mar (alrededor del 90 % de las plantas marinas son algas). Sin embargo, a pesar de los usos potenciales que presentan tanto en la industria (obtención de hidrocoloides, compuestos bioactivos y la elaboración de alimentos balanceados para animales) como en la agricultura, ha sido poca la explotación que se le ha dado a este recurso (Ortiz *et al.*, 2006). Actualmente su aplicación consiste en la obtención de ficocoloides como los carragenanos utilizados en la industria alimentaria como aditivos para la estabilización de suspensiones (Pereira *et al.*, 2009); y el agar el cual es utilizado como agente gelificante (Holdt y Kraan, 2011). También son utilizadas en menor escala en algunos países principalmente del suroeste asiático, donde han sido utilizadas desde hace muchos años como parte integral de su dieta (Benjama y Masniyom, 2011).

En su composición química se encuentran pigmentos fotosintéticos los cuales utilizan la luz solar para producir alimento y oxígeno a partir del dióxido de carbono y agua. Además, numerosos estudios señalan que las macroalgas contienen una gran cantidad de compuestos bioactivos (Hay, 1996; Holdt y Kraan, 2011; Gupta y Abu-Ghannam, 2011; Tutor-Ale *et al.*, 2011). Se ha demostrado que los extractos de algunas especies de macroalgas marinas presentan capacidad antioxidante y contienen compuestos bioactivos que presentan actividad antiviral, antiinflamatoria, antiparasitarias y antimicrobiana (Robledo *et al.*, 2008; Chew y Lim, 2008, Pallela *et al.*, 2010). También se ha demostrado que los extractos obtenidos de distintas especies de macroalgas (*Halimeda incrassata* y *Sargassum polycystum*) presentan propiedades neuroprotectoras y hepatoprotectoras (Linares *et al.*, 2004; Raghavendran *et al.*, 2005).

La capacidad antimicrobiana de los extractos de macroalgas es una característica que actualmente se está estudiando para el control de enfermedades en el cultivo de camarón, debido a que se han aislado de sus larvas cepas de *Vibrio harveyi*, *Vibrio splendidus* y *Vibrio parahaemolyticus* que presentan resistencia a los antibióticos (Nas *et al.*, 1992; Im-

*Autor para correspondencia: Martha Elisa Rivas Vega
Correo electrónico: martha.rivas@ues.mx

Recibido: 02 de febrero de 2016

Aceptado: 30 de abril de 2016

manuel *et al.*, 2004). Por otro lado, también se ha reportado que los extractos de macroalgas contienen ciertos compuestos bioactivos que estimulan el sistema inmune del camarón los cuales le ayudan a combatir y prevenir enfermedades (Immanuel *et al.*, 2012). Los componentes de las macroalgas que les confieren estas características específicas son muy variados, entre ellos podemos mencionar ciertos compuestos termolábiles, como el ascorbato y el glutatión entre otros, los cuales son encontrados en las macroalgas cuando están frescas (Burrit *et al.*, 2002). Por otro lado, también podemos encontrar compuestos resistentes a las altas temperaturas, como los carotenoides, aminoácidos tipo micospirinas, y una gran variedad de compuestos polifenólicos (Yoshie *et al.*, 2000).

Gracilaria vermiculophylla es una de las macroalgas de mayor valor económico, además de estar ampliamente distribuida a nivel mundial, la cual se encuentra presente en la mayoría de los costas del mundo. En nuestro país se encuentra ampliamente distribuida en las costas del pacífico y del golfo de California (Rueness Jan, 2005; Abreu *et al.*, 2011;). El objetivo del presente estudio fue determinar la capacidad de dos extractos de la macroalga roja *Gracilaria vermiculophylla* de inhibir el crecimiento de la bacteria *Vibrio parahaemolyticus* en condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolecta de macroalgas

Las muestras de la macroalga *Gracilaria vermiculophylla* fueron recolectadas en la Bahía de Agiabampo (26°22'31" Norte y 109°13'37" Oeste) en el mes de marzo de 2016. Una vez recolectadas las muestras, se lavaron con agua de mar y fueron colocadas en bolsas de plástico transparente. Posteriormente, se mantuvieron en hielo para evitar su degradación durante su traslado al laboratorio de investigación de la Universidad Estatal de Sonora (UES) en donde se lavaron con agua dulce, hasta eliminar lodos, se retiró toda materia extraña y se dejaron en charolas para que saliera el exceso de agua.

Obtención de las muestras para análisis

Una vez limpiadas las muestras, fueron colocadas en charolas para su secado, el cual se llevó a cabo en una estufa de convección marca VWR modelo 1500e a 45 °C por 48 h. Después de obtener la muestra seca se molió en un molino marca Cyclotec. Una vez obtenida la harina, fue cernida en una zaranda con un tamaño de poro de 500 micras para obtener una harina con un tamaño de partícula menor o igual a ese tamaño.

Análisis químico proximal de la macroalga

Se determinó la composición química proximal en base seca de la muestra obtenida de acuerdo a la metodología propuesta por la AOAC (1997). Proteína 928.08, humedad 925.10, lípidos 991.36 y ceniza 920.153.

Obtención de extractos de la macroalga

Se obtuvieron dos extractos utilizando dos solventes: acetona y metanol. Para llevar a cabo la obtención de los extractos crudos se pusieron en agitación en relación 1:10 p/v (100 g de harina con 1 L de solvente) de acuerdo a la metodología propuesta por Silva y colaboradores (2013). La extracción se realizó a temperatura ambiente por 1 h, con agitación constante (100 rpm). Una vez que se obtuvo el extracto, se concentró hasta obtener un volumen final de 100 mL utilizando un rotaevaporador marca Yamato modelo RE301 (Khan *et al.*, 2008). Los extractos obtenidos se almacenaron en refrigeración en recipientes color ámbar hasta su utilización.

Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos contra *Vibrio parahaemolyticus*.

Condiciones de crecimiento y cepa bacteriana

Se utilizó una cepa de *Vibrio parahaemolyticus* proporcionada por el laboratorio de microbiología del CIBNOR La Paz, la cual fue mantenida en agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS) con glicerol (20%) y almacenada a -40 °C hasta su uso. Un inóculo de bacteria fue transferida a 10 mL de TCBS e incubada a 37 °C durante toda la noche. Una vez terminado el periodo de incubación, se volvió a transferir a TCSB y se dejó hasta que el cultivo alcanzó 1×10^8 unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL).

Ensayos de inhibición con sensidiscos

Se determinó la inhibición *in vitro* de la bacteria Gram negativa *V. parahaemolyticus* utilizando los extractos crudos obtenidos con acetona y metanol. Para llevar a cabo los ensayos de inhibición se utilizó el medio de cultivo TCBS, el cual es selectivo para las distintas especies de *Vibrio*. Las cajas Petri con el medio TCBS se inocularon con 100 μ L del caldo conteniendo 1×10^8 UFC/mL de *V. parahaemolyticus* utilizando la técnica de barrido (Coma *et al.*, 2002). Posteriormente se colocaron los discos estériles de papel filtro \varnothing 10mm en las cajas y se impregnaron con tres volúmenes (10, 30 y 50 μ L) por triplicado con los extractos de algas con sus respectivos blancos (solo con solvente). Posteriormente las cajas Petri se incubaron a 37 °C durante 24 h. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se midió el halo de inhibición de los sensidiscos utilizando un Vernier con precisión de 0.1 mm. Esta determinación se llevó a cabo por triplicado para cada extracto crudo. La inhibición por efecto de los extractos de algas se calculó obteniendo la diferencia entre el halo de inhibición de cada extracto y el halo de inhibición de los blancos respectivos.

Análisis estadístico.

Para determinar el efecto de los extractos de las algas sobre el crecimiento de la bacteria *V. parahemolyticus* se utilizó un diseño de dos vías completamente al azar, siendo los factores el solvente usado y el volumen de extracto utilizado. Cuando se encontraron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos se llevó a cabo una comparación

de medias por la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95 % utilizando el Software JMP 10 (SAS company).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los valores obtenidos del análisis proximal de la harina de macroalga *Gracilaria vermiculophylla*. El contenido de lípidos de manera general para los tres grupos de algas (rojas, verdes y cafés) es menor al 5 % de acuerdo a Holdt y Kraan (2011). Los valores de proteína, encontrados en nuestro estudio (34.08 %) para *Gracilaria vermiculophylla* son similares a los mencionados por Burtin (2003); en su estudio menciona que el contenido de proteína en las algas rojas tiene un amplio rango de valores, los cuales pueden ir desde el 10 al 30 % para la mayoría, pero en algunas especies como *Palmaria palmata* (dulce) y *Porphyra tenera* (nori) este valor puede representar entre el 35 y 47 % en peso seco.

Tabla 1. Contenido de proteína, cenizas, lípidos, humedad y fibra de la macroalga *Gracilaria vermiculophylla*.

Table 1. Protein, ash, lipids, moisture and fiber content of the macroalgae *Gracilaria vermiculophylla*.

| COMPOSICIÓN | VALOR PROMEDIO (%) |
|-------------|--------------------|
| Proteína | 34.08 ± 0.97 |
| Cenizas | 24.02 ± 0.08 |
| Lípidos | 0.49 ± 0.06 |
| Humedad | 9.95 ± 0.11 |
| Fibra | 28.92 ± 1.46 |

Cada valor es el resultados de tres repeticiones ± DE.

Por otro lado los valores encontrados de cenizas y lípidos en el presente estudio son similares a los encontrados por Wong y Cheung, (2000); para especies de algas rojas *Hypnea charoides* e *Hypnea japónica*. En su estudio estos investigadores encontraron valores de ceniza de 22.1 y 22.8 %, mientras la concentración de lípidos fueron de 1.42 y 1.48% para las mismas algas.

En la Tabla 2 se muestran los valores promedios obtenidos de la determinación del efecto inhibitorio de los distintos volúmenes utilizados (10, 30 y 50 µL) de los extractos obtenidos con acetona y metanol de la macroalga *Gracilaria vermiculophylla* sobre el crecimiento de la bacteria *Vibrio parahaemolyticus*. En la Tabla 1 se puede observar que la concentración de 50 µL de los dos extractos en el sensidisco presentaron los valores más altos de inhibición, sin embargo, el extracto metanólico mostró un halo de inhibición mayor comparado con el extracto de acetona. También se puede observar que al utilizar una concentración de 10 µL de los dos extractos no se observaron halos de inhibición. Muchos autores han reportado la presenica de metabolitos secundarios en las algas que funcionan como antioxidantes y tiene un efecto antimicrobiano (Gonzales del Val *et al.*, 2001; Ganesan *et al.*, 2008; Plaza *et al.*, 2009).

Tabla 2. Efecto antimicrobiano de los extractos crudos con acetona y metanol de la macroalga *Gracilaria vermiculophylla* sobre el crecimiento de la bacteria *Vibrio parahaemolyticus*.

Table 2. Antimicrobial effect from acetone and methanol crude extracts of the macroalgae *Gracilaria vermiculophylla* against growth of bacteria *Vibrio parahaemolyticus*.

| Volumen (µL) | Halo de inhibición (mm) | |
|--------------|---------------------------|--------------------------|
| | METANOL | ACETONA |
| Control | 10.00 ± 0.02 | 10.00 ± 0.03 |
| 10 | 0.00 ^c ± 0.00 | 0.00 ^c ± 0.00 |
| 30 | 1.56 ^{ab} ± 0.02 | 1.80 ^b ± 0.17 |
| 50 | 3.24 ^a ± 1.23 | 3.17 ^a ± 0.55 |

Los valores son el promedio de tres repeticiones ± DE. Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (P ≤ 0.05).

En el estudio llevado a cabo por Algaser *et al.* (2013) se analizó el efecto antimicrobiano de extractos metanólicos de distintas especies de algas pertenecientes a los tres grupos: 6 especies de algas verdes (Chlorophyta), 8 especies de algas café (Phaeophyta) y 5 especies de algas rojas (Rhodophyta) sobre bacterias Gram positivas y negativas. En su estudio estos investigadores encontraron que en el caso de las algas rojas, los halos de inhibición observados en las bacterias Gram negativas fueron mayores que los observados en las bacterias Gram positivas.

En el trabajo realizado por Ríos *et al.* (2009) se evaluó el efecto de extractos de metanol, hexano y diclorometano obtenidos del alga *Gracilaria* sp. sobre el desarrollo de bacterias Gram positivas y Gram negativas utilizando la técnica de sensidisco. En su estudio encontraron que los extractos obtenidos con etanol y hexano inhibieron fuertemente a la bacteria *Klebsiella pneumoniae* la cual es una bacteria Gram negativa y no mostró inhibición contra la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus*. Manilal *et al.* (2011), evaluaron el efecto antimicrobiano de un extracto metanólico del alga roja *Laurencia brandenii* contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, encontrando que la fracción con mayor actividad antimicrobiana contenía altos niveles de ácidos grasos, principalmente el ácido 9,12-octadecadienoico, seguido por el ácido hexadecanoico.

De acuerdo a lo mencionado por Maximiliem *et al.*, (1998); Kandhasamy y Arunachalam, (2008); y Nylund *et al.*, (2008); el efecto antimicrobiano de los extractos de algas puede atribuirse a el contenido de compuestos fenolicos (eg. taninos, flavonoides, terpenos futranona y algunos ácidos grasos) presentes en los mismos. Estos compuestos ejercen su acción antimicrobiana de distintas formas: 1) dañado las paredes celulares de la bacterias con lo que los organelos de la misma son liberados al exterior, 2) interrumpiendo las funciones normales de como el transpote de electrones y el transporte de nutrientes al interior de la célula, 3) Impidiendo la síntesis de ácidos nucleicos y 4) afectando la actividad enzimatica en el interior de la célula (Bajpai *et al.*, 2007).

Estos metabolitos secundarios presentan una mayor solubilidad en solventes orgánicos polares, por lo que los sistemas más utilizados para la obtención de estos extractos de algas utilizan mezclas acuosas de metanol, acetona y etanol. Con estos sistemas de solventes polares es posible extraer dichos compuestos, los cuales se encuentran unidos a proteínas, azúcares, ácidos orgánicos y sales (Gonzales del Val et al., 2001; Cox et al., 2010).

CONCLUSIONES

Los resultados encontrados en el presente estudio mostraron que los extractos obtenidos con metanol y acetona de la macroalga *Gracilaria vermiculophylla* contiene compuestos fenólicos (taninos y flavonoides) y/o terpenos capaces de inhibir el crecimiento de la bacteria *Vibrio parahaemolyticus* utilizando la técnica del sensidisco.

REFERENCIAS

- Abreu, M.H., Pereira, R., Yarish, C., Buschmann, A.H. y Sousa-Pinto, I. 2011. IMTA with *Gracilaria vermiculophylla*: Productivity and nutrient removal performance of the seaweed in a land-based pilot scale system. *Aquaculture*, 312: 77-87.
- AOAC. 2002. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- Algaser, R., Whida, F., Abduelrhman, E., Gammoudi, F. y Azawai, S. 2013. Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya. *Natural Science*, 5(1): 7-14.
- Bajpai, V.K., Rahman, A., Choi, U.K., Youn, S.J., y Kang, S.C. 2007. Inhibitory parameters of the essential oil and various extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu to reduce food spoilage and food-borne pathogens. *Food Chemistry*, (105), 1061-1066.
- Benjama, O. y Masniyom, P. 2011. Nutritional composition and physicochemical properties of two green seaweeds (*Ulva pertusa* and *U. intestinalis*) from the Pattani Bay in Southern Thailand. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 35(5): 575-583.
- Burritt, D.J., Larkindale, J. y Hurd, C.L. 2002. Antioxidant metabolism in the intertidal red seaweed *Stictosiphonia arbuscula* following desiccation. *Planta*, 215: 829-838.
- Burtin, P. 2003. Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2(4).
- Coma, V., Martial-Gros, A., Garreaus, S., Copinet, A., Salin, F. y Deschamps, S. 2002. Edible antimicrobial films base on chitosan matrix. *Journal of Food Science*, 67(3), 1162-1169.
- Cox, S., Abu-Ghannam, N. y Gupta, S. 2010. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *International Food Research Journal*, 17: 205-220.
- Chew, Y.L. y Lim, Y.Y. 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT-Food Science Technology*, 41(6): 1067-1072.
- Ganesan, P., Kumar, C.S. y Bhaskar, N. 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology*, 99: 2717-2723.
- Gonzalez del Val, A., Platas, G., Basilo, A., Cabello, A., Gorrochategui, J., Suay, I., Vicente, F., Portillo, E., Jimenez del Rico, M., Garcia Reina, G. y Pelez, F. 2001. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *International Journal of Microbiology* 4: 35-40.
- Gupta, S. y Abu-Ghannam, N. 2011. Bioactive potential and possible health effects of edible brown seeds. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6): 315-326.
- Hay, M. 1996. Marine chemical ecology: what's known and what's next. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 200: 103-134.
- Holdt, S.L. y Kraan, S. 2011. Bioactives compounds in seaweeds: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23(3): 543-597.
- Immanuel, G., Vincibai, V.C., Sivaram, V., Palavesam, A. y Marian, M.P. 2004. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. *Aquaculture*, 236 (1-4): 53-65.
- Immanuel, G., Sivagnanavelmurugan, M., Marudhupandi, T., Radhakrishnan, S. y Palavesam, A. 2012. The effect of fucoidan from brown seaweed *Sargassum wightii* on WSSV resistance and immune activity in shrimp *Penaeus monodon* (Fab). *Fish and Shellfish Immunology*, 32, 551-564.
- Kandhasamy, M. y Arunachalam, K.D. 2008. Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African Journal of Biotechnology*, 7(12): 1958-1961.
- Linares, A.F., Loikkanen, J., Jorge, M.F., Soria, R.B. y Novoa. A.V. 2004. Antioxidant and neuroprotective activity of the extract from the seaweed, *Halimeda incrassata* (Ellis) Lamouroux, against in vitro and in vivo toxicity induced by methylmercury. *Veterinary and Human Toxicology*, 46(1): 1-5.
- Manilal, E. Sugathan, S., Balu, S., Kiram, G., Selvin, J., Shakir, C. y Lipton A. 2011. Biological activity of the red alga *Laurencia brandenii*. *Acta Bot. Croat.* 70: 81-90.
- Maximilien, R., De Nys, R., Holmstrom, C., Gram, L., Givskov, M., Crass, K., Kjelleberg, S. y Steinberg, P.D. 1998. Chemical mediation of bacterial surface colonisation by secondary metabolites from the red alga *Delisea pulchra*. *Aquatic Microbial Ecology* 15(3): 233-246.
- Mohamed, S., Hashim, S.N. y Rahman, H.A. 2012. Seaweeds: a sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends in Food Science and Technology*, 23(2), 83-96.
- Nash, G., Nithimathahoke, C., Tungmandi, C., Arkarjamon, A. y Rumathaversub, P. 1992. Vibriosis and its control in pond reared *P. monodon* in Thailand. M. Shariff, R.P. Subasinghe, J.R. Arthur (Eds.), Diseases in Asian Aquaculture: I. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines (1992), pp. 143-155.
- Nylund, G.M., Cervin, G., Persson, F., Hermansson, M., Steinberg, P.D. y Pavia, H. 2008. Seaweed defence against bacteria: a poly-brominated 2-heptanone from the red alga *Bonnemaisonia hamifera* inhibits bacterial colonisation. *Marine Ecology Progress Series*, 369: 39-50.
- Plaza, M., Santoyo, S. Jaime, L., García-Blairsy Reina, G., Herrero, M., Senoráns, F.J. e Ibáñez, E. 2009. Screening for bioactive compounds from algae. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2): 450-455.
- Ríos, N., Medina, G., Jiménez, J., Yáñez, C., García, M.Y., Di-Bernardo, M. y Gualtieri, M. 2009. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de algas marinas venezolanas.

- Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM, *Revista Peruana de Biología*, 16(1): 97- 100.
- Rueness, J. 2005. Life history and molecular sequences of *Gracilaria vermiculophylla* (Gracilariales, Rhodophyta), a new introduction to European waters. *Phycologia*, 44(1): 120-128
- Ortiz, J., Romero, N., Robert, P., Araya, J., López-Hernández, J., Bozzo, C., Navarrete, E., Osoio, A. y Rios, A. 2006. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea* Antarctica. *Food Chemistry*, 99: 98-104.
- Pallela, R., Na-young, Y. y Kim, S.K. 2010. Anti-phatoaging and photoprotective compounds derived from marine organisms. *Marine Drugs*, 8: 1189-1202.
- Pereira, L., Amado, A.M., Critchley, A.T., van de Velde, F. y Riveiro-Claro, P.J.A. 2009. Identification of selected seaweed polysaccharides (phycolloids) by vibrational spectroscopy (FTIR-ATR and FT-Raman), *Food Hydrocolloids*, 23: 1903-1909.
- Raghavendran, H.R., Sathivek, A. y Devakli, T. 2005. Protective effect of *Sargassum polycystum* (Brown alga) against acetaminophen-induced lipid poroxidation in rats. *Phytotherapy Research*, 19(2): 113-115.
- Tutor-Ale, M., Mikkelsen, J.D. y Meyer, A.S. 2011. Important determination for fucoidan bioactivity: a critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Marine Drugs*, 9(10): 2106-2130.
- Wong, K.H. y Cheung, P.C.K. 2000. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds: Part I- proximate composition, aminoacid profiles and some physic-chemical properties. *Food Chemistry*, 71(4): 475-482.
- Yoshie, Y., Wang, W., Petillo, D. y Suzuki, T. 2000. Distribution of catechins in Japanese seaweeds. *Fisheries Science*, 66: 998-1000.