



Adrián Pitalúa Calleja Número de cuenta: 315302666

Tel: 5573697823, e-mail: adrianpitaluac@gmail.com

Semestre 2021-2

## Determinación de polifenoles en Sargazo. Metodología

Minerva Monroy Barreto Facultad de Química, UNAM, Departamento de Química Analítica Edificio A, Lab 3D

e-mail: monroy17@unam.mx

#### **Antecedentes**

En México el alga parda *Sargassum spp.* es muy abundante en todas sus costas, se ha estimado que tiene una biomasa disponible de 183,000 t en la península de Baja California.¹ Desde 2014, en Quintana Roo se han presentado arribazones de estas algas que provocan afectaciones en diferentes áreas además del turismo² ya que daña a los ecosistemas tanto marinos como terrestres, arrecifes, manglares, dunas costeras, selvas, tierras agropecuarias y acuíferos. A partir de diversos estudios realizados respecto al tema se ha encontrado que durante el proceso de descomposición las bacterias asociadas al sargazo producen sulfatos, que no son tóxicos en condiciones aerobias. Sin embargo, en condiciones anaeróbicas se produce ácido sulfhídrico y amonio, que sí son tóxicos.³

Las masas flotantes de sargazo pueden biosorber metales como arsénico, plomo, molibdeno y zinc debido a la presencia de alginatos, también pueden acumularse en el alga plásticos, microplásticos y estos elementos que al llegar a la playa pueden provocar daños a los ecosistemas si se incorporaran a la red trófica, lo que es peligroso para las personas que los consuman a través de la respectiva cadena alimenticia. Generalmente, las playas donde se encuentra el sargazo, por ejemplo, las playas de Quintana Roo, centran sus esfuerzos para enfrentar los arribazones de sargazo mediante acciones de limpieza incorrectas, que sólo consisten en recogerlo y llevarlo a otro lugar como parte común de la basura. Manejar el sargazo de esta manera y no como una biomasa que tiene un posible potencial de uso para obtener diferentes productos es un desperdicio de energía y recursos. Para "barrer" adecuadamente el sargazo es necesario la ciencia, de lo contrario se "limpia" de manera errónea y se generan más daños que beneficios.

La presencia de sargazo en playas y costas de México merece atención integral para su gestión, ya que en lugar de ser sólo una afectación negativa para otras especies y un problema para el turismo se podría aprovechar. Se han realizado estudios de la composición química del sargazo los cuales señalan la presencia de diferentes minerales, carbohidratos, ácidos grasos, vitaminas, bioestimulantes.<sup>4-6</sup> También contienen polisacáridos como alginatos, fucoidan y carrageninas, poliaminas y florotaninos, lo que puede ser una materia prima excelente para el desarrollo de diferentes productos como alternativas terapéuticas, farmacéuticas, alimentos para ganado, fertilizantes, energía y material bioabsorbente.<sup>7</sup>

El desarrollo de metodología analítica para la caracterización cualitativa y cuantitativa de la composición química podrá permitir evaluar los efectos de la presencia del sargazo en los ecosistemas, impacto en la salud humana y posibles beneficios económicos. El resultado obtenido de estos análisis debe ser confiable y consistente para lo cual se realizan validaciones y verificaciones de los métodos analíticos.

El objetivo de la validación de un método analítico es asegurar que todas las mediciones posteriores estarán lo suficientemente cerca del contenido real del analito de interés en la muestra. La validación incluye numerosos aspectos, desde la selección de las características de desempeño que se evaluarán; es decir, identificar la categoría de la





determinación que implica reconocer si el método es para cuantificar el componente principal, componentes a nivel de trazas o sólo para determinar su presencia o ausencia; hasta el análisis estadístico y evaluación de los resultados.

Un buen protocolo de validación se realiza después de contar con un procedimiento experimental del método analítico que cumpla con las buenas prácticas de laboratorio<sup>9</sup> y que se tenga experiencia en su uso. El protocolo de validación debe incluir título, descripción y alcance del método, objetivos, reactivos, instrumentos, características operacionales importantes, criterios de desempeño asociados, instrucciones específicas, tales como pruebas de verificación, preparación de las muestras, disoluciones, blancos y estándares de referencia que deben tomarse en cuenta, número de mediciones a realizar en cada material y la secuencia de análisis, además de cálculos requeridos para obtener un resultado, pruebas estadísticas y referencias.

Los polifenoles son compuestos orgánicos que constan de un anillo aromático unido directamente a dos o más grupos hidroxilo. Estos compuestos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Los florotaninos es un polifenol polimérico que está presente en algas pardas, los cuales presentan un porcentaje de 2-20% de peso seco respecto al peso original. Existen 6 tipos de florotaninos: fuhaloles, floretoles, fucoles, fucofloretoles, ecoles y carmaloles. Este tipo de compuestos tienen una gran importancia en el organismo, pues su consumo ayuda a purificar el organismo de metales actuando como un agente secuestrante, al igual que provee propiedades a la piel que actúan en protección de la radiación UV.<sup>10</sup>

Para medir los compuestos fenólicos generalmente se utiliza la espectrofotometría, siendo el método Folin-Ciocalteu el más utilizado. Está basado en la medida de la absorbancia a una longitud de onda de 740 nm de los complejo fosfomolibdato y fosfotunsgtato reducido por agentes reductores. Estos agentes son relacionados con los polifenoles cuando se analizan muestras ricas en ellos. Sin embargo, este método no es específico, ya que pueden existir otras sustancias diferentes con suficiente poder reductor en la muestra, siendo frecuente la sobreestimación del contenido de polifenoles.

Como alternativa a los métodos espectrofotométricos descritos, se pueden utilizar técnicas electroquímicas como la voltamperometría cíclica y la voltamperometría diferencial de pulsos. Este tipo de métodos son usados con más frecuencia debido a la relevancia en la información que aportan, su sencillez y su capacidad para analizar muestras coloreadas o turbias. Son el equivalente electroquímico del ensayo espectrofotométrico y las señales voltamperométricas anódicas obtenidas en intervalos de potencial característicos están relacionadas con la oxidación electroquímica de diferentes compuestos fenólicos. De esta manera, la presencia de señales voltamperométricas a potenciales bajos está relacionada con la presencia en la muestra de compuestos fenólicos de alta actividad antioxidante, mientras la baja actividad antioxidante se refleja en una actividad electroquímica a potenciales altos. La intensidad de corriente o la carga medida a un potencial específico se emplean para estimar la capacidad antioxidante y/o la cuantificación de los polifenoles totales.<sup>11</sup>

A partir de la bibliografía existente sobre estudios químico cualitativo y cuantitativo de la composición química y aplicaciones del sargazo nos enfocaremos en la elaboración de un proceso de extracción de polifenoles en Sargazo y se desarrollará una propuesta analítica para la determinación experimental que incluya preparación de muestra, conocimiento de la técnica analítica a emplear y procedimiento experimental, a partir de una metodología que se desarrollará para cuantificar las muestras de polifenoles en Sargazo a través de voltamperometría. Después de este análisis profundo se realizará el diseño de un protocolo de validación de la cuantificación por voltamperometría de tal manera que se encuentren las condiciones óptimas para realizar la extracción y cuantificación de los polifenoles en muestras de Sargazo.





## **Objetivos**

- Desarrollar una metodología para cuantificar polifenoles en muestras de Sargazo por voltamperometría.
- Diseñar el protocolo de validación de cuantificación de polifenoles por voltamperometría.

## **Método**

## Estudio de electrodo de trabajo

Para la realización del voltamperograma cíclico para polifenoles contenidos en Sargazo se debe hacer una evaluación del electrodo de trabajo que se empleará, eligiendo aquél que dé mejores resultados en los picos de intensidad de corriente y que su corriente capacitiva sea la menor posible.

La metodología que se utilizará está basada en la medida de una corriente que fluye por un electrodo, inducida por una reacción electroquímica en la interfase electrodo/disolución al imponer un potencial en el medio. El electrodo de trabajo debe actuar como un buen transmisor de electrones en el circuito externo y en la disolución, además de dar respuestas estables y/o reproducibles. Generalmente, los electrodos que se utilizan están hechos de metales como Au, Hg o Pt, así como diversas formas de carbono.

Se propone determinar qué electrodo de trabajo es el mejor, de entre estos metales y los electrodos de carbono, pues los electrodos metálicos suelen ser eficaces en intervalos de potenciales limitados, y su funcionamiento está definido por la formación de óxidos en su superficie. Los electrodos de carbono, tales como carbono vítreo, grafito o diamante, tienen excelentes propiedades electroquímicas, gran versatilidad y son económicos. Su rango de potenciales es bastante amplio en todo el rango de pH, además permiten la formación de electrodos en diferentes formas y dimensiones, y se pueden modificar física y químicamente en la superficie, pudiendo incorporar catalizadores en ellos o material biológico.

Para determinar qué electrodo se debe utilizar se deben tomar en cuenta las intensidades en los picos anódicos y catódicos del ciclo de la reacción, debido a la oxidación y reducción del analito. Un pico más intenso puede dar una señal más precisa de la intensidad de corriente que se puede presentar dentro de la reacción, por ende, mejor información de la concentración del analito. Por ello, se propone:

- Realizar un voltamperograma cíclico con una muestra del analito, que contenga polifenoles para determinar la calidad de las mediciones en los diferentes electrodos de trabajo.
- Realizar un estudio de estabilidad de la respuesta amperométrica en presencia de la muestra de polifenoles, tomando el tiempo como variable independiente. Una respuesta más rápida de la intensidad de corriente al agregar el analito, encontrando al electrodo ideal como aquél que no tenga variaciones importantes conforme pasa el tiempo, pues esto significa una mayor estabilidad frente a la disolución, lo que se traduce a una vida útil más larga.

## **Electrolito soporte**

#### pH óptimo

La determinación de polifenoles en este trabajo se cuantificará a través de procesos electródicos, en donde se ven involucrados protones que participan en un equilibrio +acido-base o hidrólisis. Debido a ello, es necesario estudiar la



influencia del pH en el proceso electroquímico en los polifenoles. Estos compuestos se oxidan por un proceso muy similar a la reacción electroquímica de la hidroquinona, liberando dos protones y dos electrones:

Figura 1. Oxidación de la hidroquinona.

Para evaluar la influencia del pH en la señal electroquímica en los polifenoles, se propone:

Realizar estudios voltamperométricos del analito en concentraciones donde éstos entren en el intervalo lineal de medición a pH muy acido, ácido, neutro y básico. Para esto, se deben electrolitos soporte para cada condición:

- Ácido sulfúrico, 0,050 M, pH 1,00
- Disolución reguladora de acetato 0,050 M, pH 4,50
- Disolución reguladora de fosfato 0,050 M, pH 7,30
- Disolución reguladora de borato 0,050 M, pH 9,20

El pH ideal será aquél donde las intensidades de los picos sean más notorios en los procesos de oxidación. La disminución de intensidades se relaciona con la dificultad en la oxidación de los polifenoles.

## Concentración del electrolito soporte

Una vez que se determina el pH óptimo, se sugiere hacer un estudio sobre la concentración más favorable de la disolución buffer para que los voltamperogramas generen mejores resultados.

La influencia de la variación de la fuerza iónica del medio en la respuesta fisicoquímica de los analitos es grande, pues dependiendo de esta es como el perfil voltamperométrico se ve afectado, pudiendo disminuir los potenciales de oxidación o reducción, aumentando la intensidad de los picos y reduciéndose la diferencia entre los potenciales de los picos catódicos y anódicos. Esto se debe a la disminución en la resistencia interna de la celda que se está trabajando. Si la resistencia es menor es sobrepotencial adicional para que la reacción se lleve a cabo será menor.

#### Estudio del potencial de trabajo

Para el estudio del potencial de trabajo, se propone realizar un voltamperograma hidrodinámico. La voltamperometría hidrodinámica utiliza un sistema de electrodo de disco giratorio, el cual puede controlar la velocidad de transferencia de masa para los procesos entre el sustrato y la superficie del electrodo y difundir de mejor manera el producto desde el





electrodo, de modo que la actividad del electrodo en la transferencia de electrones en la superficie de este se puede analizar cuantitativamente con suficiente reproducibilidad.

Para elaborar este voltamperograma se registra la señal de la intensidad de corriente con cada potencial de oxidación en un intervalo de trabajo determinado. Se debe elegir el potencial en el que todos los compuestos polifenólicos que contenga la muestra de Sargazo presenten una variación en la intensidad de corriente, de manera que se puedan cuantificar los picos de intensidad de corriente.

Con la información de un voltamperograma hidrodinámico podemos obtener información de qué rango de potencial es el óptimo para realizar el estudio voltamperométrico en la muestra de polifenoles de Sargazo.

## Condiciones iniciales del sistema previo a la determinación de la muestra

## • Electrodo de trabajo

El análisis se realizó con un sistema de 3 electrodos, carbono vítreo, plata y grafito, correspondientes al electrodo de trabajo, electrodo de referencia y contraelectrodo respectivamente.

## • Electrolito soporte, pH óptimo y concentración del electrolito soporte

Se agregan 10.0 mL de disolución reguladora de acetato 0,050 M, pH 4,50. Se realizará un barrido para establecer el dominio de electroactividad.

## Potencial de trabajo

Las condiciones establecidas en el sistema fueron de E<sub>inicio</sub> = -0.5 V, E<sub>final</sub> = 1.2 V, Rapidez de barrido = 0.05.

## • Curva de calibración ácido gálico

Después del barrido para obtener el dominio de electroactividad, se fueron adicionando alícuotas de 20  $\mu$ L de una disolución de ácido gálico (2.52 x  $10^{-4}$  g/ml), entre cada adición el sistema se sometió a agitación, para asegurar la distribución homogénea de la alícuota.



## Protocolo de medición de la muestra

## Preparación de disolución reguladora de acetatos (250 mL)

- 1. Pesar 1.0360 g de acetato de sodio 99% y disolverlos en agua en un vaso de precipitados de 50 mL.
- 2. Agregar la disolución anterior a un matraz volumétrico de 250.0 mL, agregar HCl 1 mol/L hasta obtener pH=4 para obtener el buffer y agregar agua desionizada c.b.p. 250.0 mL.

## Preparación de solución de ácido gálico 5.32x10<sup>-3</sup> mol/L

- 1. Pesar 2.3100 g de ácido gálico 98% y disolver en un vaso de precipitados de 25 mL con metanol.
- 2. Agregar la disolución a un matraz volumétrico de 50.0 mL y agregar agua desionizada c.b.p. 50.0 mL.
- 3. Tomar 1.0 mL de la disolución anterior y verter en un matraz volumétrico de 50.0 mL. Agregar agua desionizada c.b.p. 50.0 mL. Ésta será la disolución patrón de ácido gálico.

## Preparación de muestra de sargazo

- 1. Secar alga por 48 horas a temperatura ambiente.
- 2. Tomar 1.7250 g de alga seca y realizar la extracción disolviendo en 10 mL de solución etanol:agua 50:50.

## Determinación del dominio de electroactividad

- 1. Agregar 10.0 mL de disolución reguladora de acetato 0.050 M, pH 4.50.
- 2. Dejar en agitación media por al menos un minuto y realizar un barrido para establecer el dominio de electroactividad.

## Determinación de polifenoles en la muestra de sargazo por adición estándar por voltamperometría

- 1. Tomar 20.0 mL de solución de acetatos pH=4.5 como solución electrolítica y realizar medición voltamperométrica. Esta medición será el blanco.
- 2. Tomar una alícuota de 250 µL e inyectar la muestra.
- 2. Tomar una alícuota de 0.05 mL de nuestra solución de ácido gálico de referencia con concentración 5.32x10<sup>-3</sup> mol/L e inyectar al sistema. Esta inyección determinará la forma y el pico característico del ácido gálico en el voltamperograma y ayudará a determinar si las mediciones con la muestra de sargazo se realizan correctamente conforme avanza el proceso, así como a trazar la curva de calibración de este.
- 3. Repetir el paso anterior inyectando alícuotas consecutivas de 20 µL al equipo. Se realiza seis veces.





4. Realizar una curva de calibración y determinar la concentración real de ácido gálico en la muestra de sargazo extrapolando la concentración de la muestra a un valor de y=0:

# Resultados de medición de la muestra

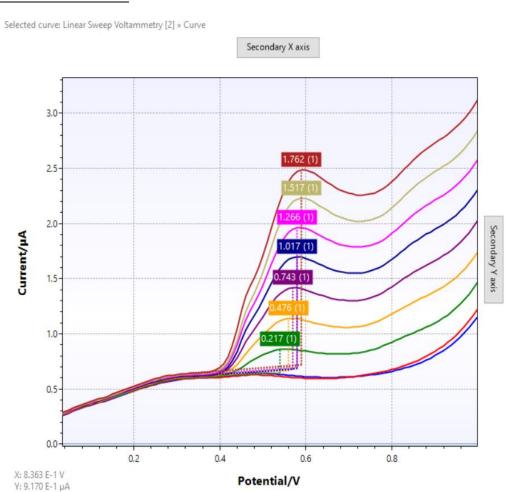


Figura 2. Voltamperograma de muestra de sargazo y ácido gálico de referencia en medio de acetatos.



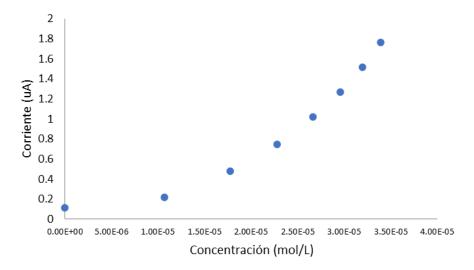


Figura 3. Comportamiento de la corriente en función de la concentración basado en los resultados de la Figura 1.

En la figura 3 se logra apreciar el comportamiento de la corriente en función de la concentración. La relación que siguen estos datos no es lineal, parece exponencial. Por lo tanto, se deberían cortar los datos que aparecen debajo de 20 μmol/L a manera de hacer eficiente la linealidad de trabajo en la validación del método, y cortar el intervalo hasta los 35 μmol/L.

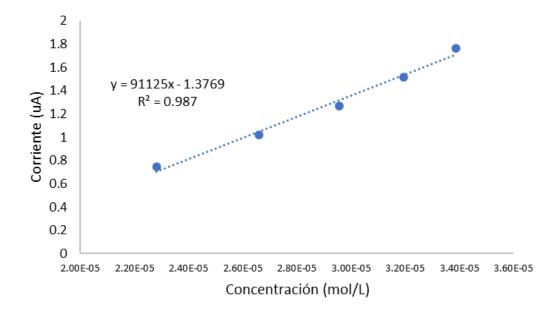


Figura 4. Ejemplo de comportamiento lineal de la corriente en función de la concentración en el intervalo propuesto.





A continuación, se propone el método que se utilizaría en el caso que la relación entre los puntos fuera lineal. Obtenemos la ecuación de la recta:

$$y = 91125x - 1.3769$$
;  $y$ :  $corriente(\mu A), x$ :  $Concentración(\frac{mol}{L})$ 

Despejando x, considerando la corriente como cero:

$$x = \frac{1.3769}{91125}$$

La concentración de ácido gálico presente en la muestra de sargazo es el absoluto del valor de x, considerando la concentración de polifenol en la muestra sin reaccionar (sin corriente en el medio):

$$[polifenol] = \frac{1.3769}{91125} = 1.51x10^{-5} \ mol/L$$





## Protocolo de validación del método

#### 1. Selectividad

Capacidad de un método analítico para medir solamente lo qué se pretende que se mida.

Los florotaninos se clasifican en fuhaloles, floretoles, fucoles, fucofloretoles, ecoles y carmaloles. Cada uno posee una estructura similar al ácido gálico, comprendiendo una oxidación o reducción en el estudio voltamperométrico que podrían comprometer la medición del proceso redox del ácido. Se propone

- 1. Evaluar una voltamperometría cíclica introduciendo una muestra de sargazo, incluyendo una muestra de misma proporción al ácido de cada florotanino.
- 2. Se evaluará la respuesta voltamperométrica, determinando si las respuestas en los picos amperométricos son parecidos o iguales al del ácido gálico.
- 3. Si la detección o cuantificación es inhibida o interferida por las muestras interferentes, será necesario seguir haciendo un estudio de las condiciones óptimas para que el método no presente interferencias.
- 4. Especificar el nivel de selectividad del analito.
- 5. Realizar este procedimiento por triplicado.





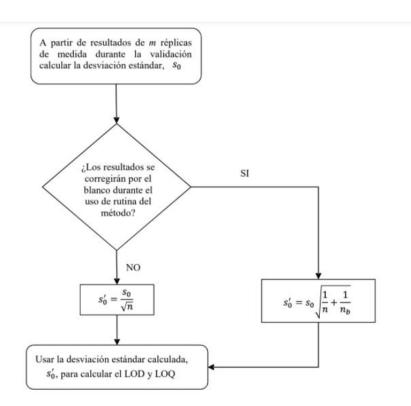
## 2. Límite de detección y límite de cuantificación

Típicamente se consideran necesarias de 6 a 15 réplicas; se recomiendan 10 réplicas en este procedimiento de validación.

Se realizará el estudio voltamperométrico a las condiciones estipuladas por el método, estudiando el blanco, o en su defecto, el blanco con una cantidad mínima de muestra si acaso no se puede aislar el compuesto del blanco. Obtener los valores amperométricos de cada medición.

- Blanco utilizado: Solución de acetatos.
- Número de réplicas: 10.
- Determinar la s<sub>o</sub> (desviación estándar) para las 10 réplicas blanco.
- Calcular s'<sub>0</sub> (desviación estándar corregida).

El cálculo de la desviación estándar se regirá por el siguiente esquema:



Límite de detección (LOD):  $LOD = 3 * s'_{o}$ 

Límite de cuantificación (LOQ): LOQ =  $k_a * s'_o$ ;  $k_c$ =10 (definido por la IUPAC)



## 3. Intervalo de trabajo

Es el intervalo de concentraciones del analito o los valores de la propiedad relacionada, sobre los cuales el método puede aplicarse. Note que esto se refiere al intervalo de concentraciones o a los valores de la propiedad relacionada, de las disoluciones medidas realmente más que de las muestras originales. En el extremo inferior del intervalo de concentración, los factores limitantes son los valores del límite de detección y/o cuantificación.

Dentro del intervalo de trabajo puede existir un intervalo de respuesta lineal. Dentro del intervalo lineal la señal de respuesta tendrá una relación lineal con la concentración del analito o del valor de la propiedad relacionada. Se propone:

- 1. Preparar 6 disoluciones de muestras de polifenoles de concentraciones que se encuentren dentro del intervalo aclarado anteriormente donde se presenta linealidad (20  $\mu$ mol/L y 35  $\mu$ mol/L) y adicionalmente, preparar el blanco.
- 2. Llevar a cabo un análisis de las 7 disoluciones mediante voltamperometría cíclica y realizar el voltamperograma correspondiente.
- 3. Mediante inspección, determinar el intervalo de respuesta lineal con respecto a la concentración del analito.
- 4. Calcular la desviación estándar de los valores del analito a cada concentración.

#### 4. Sensibilidad Analítica

Es efectivamente la pendiente de la curva de respuesta, es decir, el cambio en la respuesta del instrumento que corresponde a un cambio en la concentración del analito.

Cuando se ha establecido que la respuesta es lineal con respecto a la concentración (dentro del intervalo lineal del método) y se ha determinado la intercepción de la curva de respuesta, la sensibilidad es un parámetro útil para calcular y usar en fórmulas de cuantificación. Se propone:

Una vez determinado el intervalo de trabajo, obtener la ecuación que describa el comportamiento lineal y determinar la pendiente de ésta.

## 5. Veracidad

Es la proximidad de concordancia entre el valor promedio obtenido de una serie grande de resultados de prueba y un valor de referencia aceptado. Se evalúa a través del sesgo:

- 1. Llevar a cabo el análisis por voltamperometría cíclica del blanco reactivo (disolución de acetatos) y del material de referencia (disolución de ácido gálico) 10 veces cada uno.
- 2. Calcular el porcentaje de sesgo.





#### 6. Precisión

Es una medida de cuán cerca están los resultados entre sí, basándose en la desviación estándar de cada medición. Se propone:

- a. Primer método: Mismo analista, equipo y laboratorio, en un período de tiempo corto:
  - 1. Llevar a cabo el análisis por voltamperometría de pulso del blanco reactivo y del material de referencia 10 veces cada uno. Este proceso debe ser realizado por la misma persona.
  - 2. Determinar la desviación estándar de repetibilidad a cada concentración.
- b. <u>Segundo método:</u> Diferente analista, mismo laboratorio y equipo, período de tiempo prolongado:
  - 1. Llevar a cabo el análisis por voltamperometría de pulso del blanco reactivo y del material de referencia 10 veces cada uno, en este caso cada análisis debe ser hecho por diferentes personas, mismo laboratorio y equipo, se debe tomar en cuenta dejar pasar un día aproximadamente.
  - 2. Determinar la desviación estándar de reproducibilidad dentro del laboratorio a cada concentración





#### 7. Robustez

Es una medida de su capacidad para permanecer no afectado por pequeñas variaciones premeditadas de los parámetros del método. Es una medida de la efectividad de un método analítico que se basa en qué tan buen desempeño mantiene aún sin una implementación perfecta. Se propone:

- 1. Preparar 10 disoluciones de ácido gálico de concentración 5.32x10<sup>-3</sup> mol/L y someterlas a los siguientes cambios en sus condiciones:
- **Temperatura:** Preparar baños de temperatura en 5 distintas temperaturas y registrar la intensidad de corriente al llevar a cabo la voltamperometría. Determinar su desviación estándar.
- **Fuerza Iónica:** Con las concentraciones de ácido gálico 5.32x10<sup>-3</sup> mol/L registrar la intensidad de corriente obtenida del punto más alto de la lectura al llevar a cabo la voltamperometría variando la concentración del electrolito soporte en el medio. Determinar la desviación estándar.





#### **Conclusiones**

Los polifenoles son compuestos poliméricos que se encuentran en abundancia en la naturaleza y son de gran interés por las propiedades que puede atribuirle al cuerpo humano, contenidos en gran cantidad en el sargazo en forma de fuhaloles, floretoles, fucoles, fucofloretoles, ecoles y carmaloles. El protocolo de validación realizado permitirá asegurar la confiabilidad de los resultados analíticos de muestras que contengan polifenoles a través de voltamperometría, valorado como un método de bajo costo, de fácil aplicación y cuantificación de la muestra, sin utilizar espectrofotometría, y poder hacer un seguimiento para su posterior extracción y obtener algún beneficio para la sociedad, aprovechando el sargazo como un beneficio y no una amenaza a nuestros ecosistemas. Este trabajo logra desarrollar una metodología que nos deja más cerca de la utilización de los polifenoles en la industria química y de salud.

Se logró desarrollar una metodología para cuantificar polifenoles en muestras de sargazo por voltamperometría, y se realizó la voltamperometría correspondiente, identificando polifenoles presentes en una muestra de *Sargassum sp.* Además, se logró desarrollar un protocolo de validación de cuantificación de este tipo de polifenoles por este mismo método. Se pretende validar el método de manera experimental.

#### **Agradecimientos**

Especial agradecimiento al Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza PAPIME PE210820 en el proyecto "Sargazo: Contribución a la Química Analítica desde la Docencia e Investigación Formativa" llevado a cabo en la Facultad de Química, UNAM.



#### Referencias

- 1. Casas, V.M. 2009. El alga marina Sargassum (Sargassaceae). En: Recursos marinos y servicios ambientales en el desarrollo regional. Eds. G.J. Urciaga, M.L.F. Beltrán & D. Lluch. La Paz, Baja California, México. p. 139
- 2. Nava J. I.A., Sánchez, H. H. (2020) El sargazo del mar Caribe mexicano; *Ciencia: Revista de la Academia Mexicana de Ciencias*, 71 [4] 58-61.
- 3. Paredes Rangel, B; (diciembre 2020); México ante el sargazo; Ciencia: Revista de la Academia Mexicana de Ciencias; 71 [4] 8-13.
- 4. Matanjun, P., Mohamed, S., Mustapha, N. M., Muhammad, K. (2009) Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii, Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. J Appl Phycol. 21, 75–80.
- 5. Wu, X., Jiang, W., Lu, J., Yu, Y., Wu, B. (2014) Analysis of the monosaccharide composition of water-soluble polysaccharides from Sargassum fusiforme by high performance liquid chromatography/electrospray ionisation mass spectrometry. Food Chemistry 145. 976–983.
- 6. Zhang, R., Zhang, X., Tang, Y., Mao, J. (2020) Composition, isolation, purification and biological activities of Sargassum fusiforme polysaccharides: A review. Carbohydrate Polymers. 228, 115381.
- 7. Gutiérrez Sánchez, C; (junio 2020); *Sargazo: de Especie invasiva a Alternativa nutracéutica*; Seminario estudiantil Proyecto PAPIME PE210820; consultado el 27 de febrero de 2021; https://amyd.quimica.unam.mx/pluginfile.php/9407/mod resource/content/2/seminario1.pdf
- 8. González, G. A., Ángeles, H. M.(2007) A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. Trends in Analytical Chemistry, 26, [3] 227-238.
- 9. Buenas Prácticas para Laboratorios Nacionales de Control Farmacéutico; (2002); *Validación de métodos analíticos;* World Health Organization; Anexo 3 informe 36; https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2008/13 Modulo VALIDACION de Metodos Fisicoqcos.pdf
- 10. Influence of light and nitrogen on the phlorotannin content of the brown seaweeds Ascophyllum nodosum and Fucus vesiculosus. Henrik Pavia and Gunilla B. Toth, Hydrobiologia, Volume 440, Numbers 1-3, pp. 299-305.
- 11. "B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0

Vo. Bo

Dra. Minerva Monroy Barreto Técnico Académico Titular B de T. C