Actual Biol 38 (104): 15-22, 2016 | **DOI: 10.17533/udea.acbi.v38n104a02**

Actividad antioxidante del erizo de mar *Mellita quinquiesperforata* (Leske) e identificación de sus compuestos lipídicos mayoritarios

Antioxidant activity of the sea urchin *Mellita quinquiesperforata* (Leske) and identification of its major lipids compounds

Orlando J. Pastrana-Franco[1, 2], Gílmar G. Santafé-Patiño[1, 3], Jorge A. Quirós-Rodríguez[1, 4]

Resumen

A partir del erizo de mar *Mellita quinquiesperforata* (Leske), recolectado en el Caribe colombiano fueron obtenidos sus extractos acuoso, metanólico y de diclorometano, a los cuales se les determinó el contenido de fenoles totales encontrando valores de 10,97, 9,47 y 9,22 mg EAG/g, respectivamente. Moderada actividad antioxidante fue encontrada frente al radical catiónico (**ABTS**) con valores $\mathbf{IC_{50}}$ = 85,60, 76,75 y 98,19 µg/ml para los mismos extractos, mientras que frente al radical **DPPH**, se encontró baja actividad con valores de IC_{50} superiores a 200 µg/ml, en todos los casos evaluados. En la determinación del potencial de reducción férrica, se encontraron valores moderados de reducción, los cuales fueron de 3,24, 3,37 y 3,42 mg EAA/g para los extractos metanólico, diclorometano y acuoso, respectivamente. De otra parte, del extracto de diclorometano se obtuvo la fracción lipídica, de la cual fueron identificados 38 compuestos orgánicos, 30 ácidos grasos y 8 esteroles, con variaciones estructurales. Los resultados obtenidos muestran que *M. quinquiesperforata* es capaz de producir compuestos que logran inhibir el radical ABTS, así como de reducir el Fe^{+3}, pero no son eficientes para inhibir el radical DPPH.

Palabras clave: actividad antioxidante, Caribe colombiano, compuestos lipídicos, erizo de mar, *Mellita quinquiesperforata*

Abstract

Sea urchins *Mellita quinquiesperforata* (Leske) were collected in the Colombian Caribbean and aqueous, methanolic and dicloromethane extracts were obtained and the total phenol contents were determined, yielding values of 10.97, 9.47, and 9.22 mg EAG/g, respectively. Moderate antioxidant activity against **ABTS** cationic radicals was documented, with $\mathbf{IC_{50}}$ values = 85.60, 76.75, and 98.19 µg/ml for the same extracts, while activity against **DPPH** radicals were documented as lower, with IC_{50} values exceeding 200 µg/ml in all cases evaluated. In the determination of ferric reduction potential, moderate values of reduction were documented, with 3.24, 3.37, and 3.42 mg EAA/g from the metanholic, dicloromethanol, and aqueous extracts, respectively. On the other hand, the lipid fraction of dicloromethanol was determined, from which 38 organic compounds, 30 fatty acids, and 8 sterols were identified, with structural variations. The results show that *M. quinquiesperforata* is able of to produce compounds capable of inhibiting the ABTS radical, as well as reduce Fe^{+3}, but they are not efficient in inhibiting the DPPH radical.

Key words: antioxidant activity, Colombian Caribbean, lipidics compounds, *Mellita quinquiesperforata*, sea urchin

Recibido: noviembre 2014; aceptado: agosto 2015.
[1] Grupo de Investigación Química de los Productos Naturales. Universidad de Córdoba. Montería (Córdoba), Colombia.
Correos electrónicos: [2] <orlandojosepf@gmail.com>; [3] <gsantafe@correo.unicordoba.edu.co>; [4] <alexander_quiros@hotmail.com>.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas gran número de compuestos químicos aislados de organismos marinos han venido constituyéndose, desde la perspectiva de la industria farmacéutica, en materia prima promisoria para la obtención de nuevas moléculas bioactivas (Pereira et al. 2013), a partir de estos organismos se han logrado aislar alrededor de 14.000 productos naturales con potencial farmacológico (Blunt et al. 2010, 2013).

Los equinoideos, al igual que los holoturoideos, son organismos que presentan alto contenido de compuestos con gran interés nutricional para los humanos, tales como ácidos grasos, esteroles y aminoácidos, de ahí que algunas especies de erizos y pepinos de mar se han convertido en parte fundamental de la dieta en muchos países europeos y asiáticos, siendo China, Corea, Tailandia y Japón los que presentan el mayor consumo en todo el mundo (Carboni et al. 2012, Pereira et al. 2013). Estas propiedades han incrementado notoriamente el cultivo de este tipo de equinoideo, debido principalmente al gran aprecio alimenticio de que gozan sus gónadas, las cuales son comercializadas (Purcell et al. 2012, Siikavoupio et al. 2007).

Los lípidos como biomarcadores o quimiotrazadores son una herramienta útil para el estudio de la ecología trófica determinando las conexiones alimenticias. Los organismos pueden tener una única composición de esteroles y ácidos grasos, estos perfiles pueden ser trazables, y muchos de los compuestos son transferidos de la presa al depredador sin modificación (Drazen et al. 2008). Por ejemplo, se conoce que la mayoría de los animales no pueden sintetizar ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga tal como los ácidos eicosapentaenoico (20:5ω3), araquidónico (20:4ω6) y docosahexaenoico (22:6ω3) (Saito y Aono 2014), sin embargo, se ha logrado establecer en muchos equinodermos altos contenidos de este tipo de compuestos. Estos compuestos son comúnmente producidos por algas, fitoplancton y algunas bacterias, y son transferidos a estos organismos a través de la red alimenticia, por lo tanto, altos niveles de estos ácidos grasos son indicativos de organismos primordialmente herbívoros (Drazen et al. 2008, Guzmán et al. 2012).

La presencia de este tipo de ácidos grasos en los equinoideos es la principal causa de la inclusión de estos organismos en la dieta humana, ya que se ha determinado que estos compuestos contribuyen en gran medida a fortalecer el sistema inmune de las personas, así, el ácido eicosapentaenoico **(EPA)** está descrito como como agente antiinflamatorio utilizado en el tratamiento de la ateroeslerosis (Cawood et al. 2012). Por su parte, el ácido araquidónico **(ARA)** es considerado como el principal precursor de eicosenoides antiinflamatorios utilizados en el tratamiento de la artritis reúmatica (Miles y Calder 2012).

Los equinoideos se encuentran por debajo de los asteroideos y holoturoideos en lo que respecta a estudios de bioprospección, sin embargo, su análisis se ha ido incrementando paulatinamente, debido principalmente a que se ha logrado determinar que los equinoideos son organismos con capacidad de producir gran variedad de compuestos químicos, los cuales han exhibido amplio espectro de actividad biológica por lo que han sido utilizados como precursores en la industria farmaceútica (Blunt et al. 2012, 2013, 2014), destacándose las actividades citotóxica frente a varias líneas de células cancerígenas; antibacteriana frente a varias cepas bacterias Gram positivas y Gram negativas; antifúngica principalmente frente a hongos patógenos; *antifouling* y antioxidante, en la que se ha demostrado que los extractos y compuestos aislados de estos organismos son capaces de evitar la peroxidación lipídica, de actuar como especies quelantes del Fe^{2+}, de mostrar potencial reductor del Fe^{3+} y de estabilizar especies radicalarias como el radical DPPH (Zhou et al. 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico. Los especímenes del erizo de mar *Mellita quinquiesperforata* (Leske, 1778), fueron recolectados en la bahía de Cispatá (Córdoba), Colombia, por personal de los departamentos de Química y Biología de la Universidad de Córdoba. El material fue sometido a congelación hasta el posterior tratamiento. Los especímenes recolectados fueron ubicados taxonómicamente en el departamento de Biología de la Universidad de Córdoba. Un espécimen de colección se encuentra en el laboratorio de Química de los Productos Naturales de la Universidad de Córdoba con el código de PNM 025.

Equipos. Para la obtención de los extractos por destilación a presión reducida se empleó un rotoevaporador Büchi R-114. Para liofilizar la fase acuosa se utilizó un liofilizador Labconco Freezone 2,5 l y bomba de vacío Labconco modelo117. Para la obtención de la fracción lipídica se utilizaron columnas cromatográficas soportadas sobre gel de Silica Merck de 40-63 µm y solventes grado analítico marca Merck. Para la obtención del cromatograma y

los espectros masas de la fracción lipídica se empleó un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 6890, con columna capilar Modelo Agilent 122-1032, DB-1 de 0,25 mm de diámetro externo 30,6 m de largo y 0,25µm de diámetro interno, acoplado a un espectrómetro de masas Hewlett Packard 6890, con detector selectivo de masas y fuente de ionización de 70 eV. Para los ensayos de actividad antioxidante se empleó un espectrofotómetro GENESYS 20 thermo spectronic modelo 4001/4.

Obtención de los extractos. El material recolectado de *Mellita quinquiesperforata* (2.381 g) fue cortado en pedazos y sometido a percolación en metanol **(MeOH)** durante 5 días (3 repeticiones), luego fueron filtrados y concentrados a presión obteniendo el extracto metanólico. Éste fue sometido a fraccionamiento por reparto empleando diclorometano (DCM), la fase orgánica fue separada y concentrada a presión reducida hasta obtener el extracto de diclorometano, la fase acuosa fue sometida a liofilización obteniendo el extracto acuoso (Santafé 2009, 2014).

Obtención de la fracción lipídica. El extracto de diclorometano fue sometido a cromatografía en columna **(CC)** usando sistemas de elución desde bencina: AcOEt (7:1) hasta MeOH, las subfracciones obtenidas fueron monitoreadas por cromatografía de capa delgada **(CCD)**. Como reveladores fueron utilizados luz ultravioleta, vapores de yodo, ácido fosfomolíbdico y vainillina. Las subfracciones con Rf similares al ácido oleico y al colesterol fueron reunidas y concentradas a presión reducida para su estudio por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (Santafé 2009).

Ensayos de actividad antioxidante. *Determinación del contenido de fenoles totales.* El contenido de fenoles totales se determinó mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, usando ácido gálico como material de referencia. Se preparó una disolución patrón de ácido gálico de 100 µg/ml (5 mg de ácido gálico en 50 ml agua grado HPLC), enseguida se preparó una dilución 1:10 con agua grado HPLC y una disolución de carbonato de sodio al 20%. Por otro lado se preparó una disolución 1N del reactivo de Folin-Ciocalteau, por medio de una dilución 1:2 del reactivo comercial (2N) en agua grado HPLC; el reactivo se protegió de la luz y se colocó en refrigeración hasta su uso.

A partir de la disolución patrón de ácido gálico, en viales protegidos de la luz se hicieron las diluciones necesarias con agua destilada para obtener concentraciones de 1, 2, 3, 4 y 5 µg/ml para la preparación de la curva de calibración. Esto se realizó tomando respectivamente 20, 40, 60, 80 y 100 µl de la disolución patrón de ácido gálico de 100 µg/ml, luego se adicionó a cada uno 250 µl de reactivo de Folin-Ciocalteau 1N, se agitó durante 5 min, posteriormente se adicionaron 1.250 µl de la disolución de carbonato de sodio al 20%, luego se llevó a 2.000 µl de volumen final con agua grado HPLC y se dejó reposar por 90 min. También se preparó un blanco con todos los componentes excepto el reactivo de Folin-Ciocalteau (García et al. 2011), finalmente se leyó la absorbancia a 760 nm. El contenido de fenoles de cada extracto se determinó de forma similar al procedimiento utilizada para el ácido gálico y su valor es expresado como mg de ácido gálico/g de peso seco de muestra.

Método de radical DPPH•. Se preparó una solución madre de DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (150 mg DPPH•/7 ml MeOH y fueron guardados en la oscuridad por 24 h). Luego se tomaron 2 ml y se diluyeron con MeOH hasta obtener una absorbancia ajustada de 0,300 ± 0,05 a λ = 517 nm, ajustando con un blanco de MeOH. Para la evaluación de la actividad antioxidante, se mezcló 40 µl del patrón de muestra disuelto en dimetilsulfóxido **(DMSO)** con 1.960 µl radical DPPH• previamente preparado, la mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 30 min en la oscuridad y posteriormente se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 517 nm. Para el blanco de muestra se mezclaron 40 µl del patrón de muestra con 1.960 µl de MeOH y para la referencia se mezclaron 40 µl de DMSO con 1.960 µl radical DPPH• (Guzmán et al. 2013). Todas las mediciones fueron realizadas por triplicado y el porcentaje de inhibición a esa concentración fue calculado utilizando la ecuación 1. Luego se graficó el%Inh versus la concentración para determinar el porcentaje de inhibición media **(IC_{50})** por interpolación lineal.

$$\%\ Inhibición = \left[1-\left(\frac{A_{muestra}-A_{blanco}}{A_{e\ ferencia}}\right)\right]*100$$

Método catión radical ABTS+•. Se preparó una solución madre de radical ABTS+• (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)) (17,5 mg de ABTS+• en 9,9 ml de H_2O estéril). Luego se tomaron 34 mg de persulfato de potasio ($S_2O_8K_2$) diluidos en 1 ml de H_2O. De estas soluciones preparadas se tomaron 9,9 ml de solución de ABTS+• (3,5 mM) y 0,1 ml de solución de persulfato de potasio (125 mM) y se mezclaron. Posteriormente se guardó en la oscuridad por 12 h. Luego se tomaron 2 ml y se diluyeron con un *buffer* fosfato de pH 7,4 hasta obtener una absorbancia ajustada de 0,700 ± 0,05 a λ = 732 nm, ajustando con un

blanco de *buffer* fosfato. Para la evaluación de la actividad antioxidante se mezclaron 40 µl del patrón de muestra en DMSO con 1.960 µl de catión radical ABTS+• previamente preparado, la mezcla fue incubada a temperatura ambiente durante 30 min en la oscuridad, y posteriormente, se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a 517 nm. Para el blanco de muestra se mezclaron 40 µl del patrón de muestra con 1.960 µl de *buffer* de fosfato y para la referencia se mezclaron 40 µl de DMSO con 1.960 µl de catión radical ABTS+• (Montaño-Castañeda y Santafé-Patiño 2011). Todas las mediciones fueron realizadas por triplicado y el porcentaje de inhibición a esa concentración fue calculado utilizando la ecuación 1. Luego se graficó el% Inh vs la concentración para determinar el porcentaje de inhibición media **(IC_{50})** por interpolación lineal.

*Potencial de reducción f*érrica. Se preparó una solución madre de 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina **(TPTZ)**, 25 ml de solución *buffer* de acetato 300 mM; pH 3,6 con 2,5 ml de solución de TPTZ 10 mM (0,083 g de TPTZ aforados a 10 ml) en HCl 40 mM (1,7 ml de HCl aforados en 500 ml de H_2O) y 2,5 ml de $FeCl_3$*$6H_2O$ 20 mM (0,540 g de $FeCl_3$*$6H_2O$ aforados a 100 ml de H_2O). Para la evaluación del potencial de reducción se mezclaron 1.800 µl de solución madre de TPTZ previamente preparada, con 100 µl de muestra y 100 µl de agua destilada. Luego se incubó la mezcla a temperatura ambiente durante 60 min y se medió la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm. Para cada muestra se tuvo en cuenta la lectura de la absorbancia del blanco que no contenía TPTZ y se utilizó ácido ascórbico como patrón de referencia (Rojano et al. 2008).

Análisis estadístico. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Para determinar el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de las muestras, se consideraron los valores promedios y las deviaciones estándar de las absorbancias medidas en los ensayos a cada concentración. Todos los resultados fueron obtenidos por interpolación gráfica por el método de regresión lineal empleando mínimos cuadrados.

RESULTADOS

La evaluación del contenido del fenoles totales de los extractos de metanólico, diclorometano y acuoso del erizo (tabla 1), mostró valores de 9,47 mg EAG/g para el extracto metanólico y 9,22 mg EAG/g para el extracto de diclorometano. Estos resultados se encuentran entre los valores normales registrados para extractos de organismos marinos, los cuales varían de 2,0 a 9,7 mg EAG/g (Althunibat et al. 2009, Mamelona et al. 2007). En lo que respecta al extracto acuoso, se observó un valor más alto que los usualmente informados para organismos marinos. La determinación del potencial antioxidante de los extractos como fuentes promisorias de nuevos metabolitos con actividad antioxidante se encontró que los mayores valores de actividad antioxidante se presentaron en los extractos metanólico y acuoso en el ensayo ABTS con valores de IC_{50} de 76,75 y 85,60 µg/ml mientras que para el ensayo DPPH todos los valores de IC_{50} mayores a 200 µg/ml, mientras que en la determinación del potencial de reducción férrica todos los valores fueron mayores a 3 mg EAA/g, los cuales son valores significativos para extractos de organismos marinos.

Por su parte, el análisis de los espectros de masas por impacto electrónico de la fracción lipídica obtenida del erizo de mar *M. quinquiesperforata* permitió la identificación de 38 compuestos, de los cuales 30 resultaron ser ácidos grasos y 8 esteroles (véase, tablas 2 y 3).

Los ácidos grasos con mayor porcentaje de abundancia encontrados a partir del análisis por cromatografía de gases

Tabla 1. Resultados del contenido de fenoles totales **(Cft)**, actividad antioxidante y potencial de reducción férrica **(Prf)** de los extractos de *Mellita quinquiesperforata* [* = miligramos equivalentes al ácido gálico por gramo de extracto; ** = miligramos equivalentes al ácido ascórbico por gramo de extracto; † = 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico acido); ‡ = 2,2-difenil-1-picrilhidracilo]

		Actividad antioxidante		
Extractos	***Cft***	**ABTS†**	**DPPH‡**	***Prf***
Metanólico	9,47 mg EAG/g*	76,75 µg/ml	> 200 µg/ml	3,24 mg EAA/g**
Diclorometano	9,22 mg EAG/g	98,19 µg/ml	> 200 µg/ml	3,37 mg EAA/g
Acuoso	10,97 mg EAG/g	85,60 µg/ml	> 200 µg/ml	3,42 mg EAA/g

Actual Biol 38 (104): 15-22, 2016 | **DOI: 10.17533/udea.acbi.v38n104a02**

Tabla 2. Ácidos grasos identificados del erizo de mar *Mellita quinquiesperforata* (Leske), [**Abrev.** = abreviación; **Tr (min)** = tratamiento, minutos]

Comp.	Nombre de ácido graso	Abrev.	% área	TR (min)
1	Ácido 4,11-tridecadienoico	$C_{13:2}$	0,47	13,20
2	Ácido tetradecanoico	$C_{14:0}$	0,52	14,10
3	Ácido 12-metiltridecanoico	$C_{14:0}$	1,64	16,07
4	Ácido 4,13-pentadecadienoico	$C_{15:2}$	0,37	16,24
5	Ácido 4-pentadecenoico	$C_{15:1}$	4,43	16,94
6	Ácido pentadecanoico	$C_{15:0}$	0,47	17,47
7	Ácido hexadecanoico	$C_{16:0}$	1,76	18,34
8	Ácido 9-hexadecenoico	$C_{16:1}$	0,28	18,63
9	Ácido 14-hexadecenoico	$C_{16:1}$	9,09	19,05
10	Ácido 14-metilpentadecanoico	$C_{16:0}$	0,44	20,27
11	Ácido heptadecanoico	$C_{17:0}$	7,89	20,60
12	Ácido 15-metilhexadecanoico	$C_{17:0}$	26,34	21,27
13	Ácido 9-heptadecenoico	$C_{17:1}$	0,73	21,90
14	Ácido 15-heptadecenoico	$C_{17:1}$	1,36	22,33
15	Ácido 10-octadecenoico	$C_{18:1}$	0,47	22,78
16	Ácido 11-octadecenoico	$C_{18:1}$	8,46	23,27
17	Ácido 16-octadecenoico	$C_{18:1}$	0,63	23,54
18	Ácido 16-metilheptadecanoico	$C_{18:0}$	0,94	25,11
19	Ácido octadecanoico	$C_{18:0}$	5,00	25,31
20	Ácido 11-nonadecenoico	$C_{19:1}$	9,77	25,96
21	Ácido 12-nonadecenoico	$C_{19:1}$	0,49	27,43
22	Ácido 17-nonadecenoico	$C_{19:1}$	1,05	27,76
23	Ácido nonadecanoico	$C_{19:0}$	1,52	27,86
24	Ácido 13,18-eicosadienoico	$C_{20:2}$	2,38	28,56
25	Ácido 14,16-eicosadienoico	$C_{20:2}$	5,76	28,82
26	Ácido 12-eicosenoico	$C_{20:1}$	1,47	28,90
27	Ácido 13-eicosenoico	$C_{20:1}$	0,57	29,86
28	Ácido eicosanoico	$C_{20:0}$	2,43	30,52
29	Ácido 19-heneicosenoico	$C_{21:1}$	0,94	31,24
30	Ácido 14-heneicosenoico	$C_{21:1}$	1,10	33,07

Tabla 3. Esteroles identificados del erizo de mar *Mellita quinquiesperforata* (Leske) [Tr (min) = tratamiento, minutos]

Comp.	Nombre de esteroles	% área	TR (min)
31	Colesta-5,22-dien-3ß-ol	3,43	50,02
32	Colesta-5-en-3ß-ol	65,69	50,82
33	24-Metilcolesta-5,22-dien-3ß-ol	10,81	51,67
34	Colesta-5,7,22-trien-3ß-ol	4,04	52,53
35	24-Metilcolesta-5-en-3ß-ol	7,78	52,82
36	24-Metilcolesta-22-en-3ß-ol	2,10	53,39
37	Colesta-5,7,9(11),22-tetraen-3ß-ol	3,42	53,90
38	24-Etilcolesta-5-en-3ß-ol	2,74	54,34

fueron: el ácido 15-metilhexadecanoico ($C_{16:0}$, 26,34%), el ácido 11-nonadecenoico ($C_{19:1}$, 9,77%), el ácido 14-hexadecenoico ($C_{14:1}$, 9,09%), el ácido 11-octadecenoico ($C_{18:1}$, 8,46%) y el ácido heptadecanoico ($C_{17:0}$, 7,89%). Entre los AGPI presentes no se encontró la presencia de los ácidos araquidónico ($C_{20:4}$), eicosapentaenoico ($C_{20:5}$) y docosahexaenoico ($C_{22:6}$), los cuales se encuentran bastante asociados a equinoideos (Saito y Aono 2014).

Al realizar la comparación de los ácidos grasos identificados en el erizo de mar *M. quinquiesperforata*, agrupados por sus características estructurales, se logró observar que la proporción en la que están presentes los ácidos grasos de cadena par e impar es similar, 53% para los de cadena par y 43% para los de cadena impar, mientras que si se observó mayor diferencia en la proporciones de los ácidos grasos de cadena lineal (87%), sobre los de cadena ramificada (13%). Por su parte, no fueron identificados ácidos grasos con cadenas laterales con $C \geq 24$, y la proporción de ácidos grasos con cadenas laterales entre 20 y 24 carbonos fue mucho menor (23%) que la de ácidos grasos con cadenas laterales con $C < 20$ (77%); estos resultados están de acuerdo con los reportados en la bibliografía para equinoideos (Martínez-Pita et al. 2010) y para varias clases de equinodermos (Carballeira et al. 1996, Fredalina et al. 1999, Guzmán et al. 2012).

DISCUSIÓN

El contenido de fenoles totales presente en extractos se encuentra relacionado con el potencial antioxidante del mismo, sin embargo, no se ha logrado determinar relación directa que garantice que a mayor contenido de fenoles totales mayor será el potencial antioxidante del extracto (García et al. 2011), dado que las característica de los compuestos fenólicos es variada, y aunque a la mayoría de estos se la asocia características antioxidantes, el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos varía mucho de un compuesto a otro.

Los compuestos fenólicos son producidos a partir del metabolismo secundario de las plantas y no pueden ser producido por animales (Kuskoski et al. 2005), inclusive, se consideran tóxicos para invertebrados a concentraciones superiores a 1 mg EAG/g de organismo. Los invertebrados marinos, principalmente equinodermos, son capaces de asimilar y bioacumular los compuestos fenólicos producidos por la algas, los cuales son ingeridos durante la alimentación diaria (Althunibat et al. 2009). Los resultados mostraron que *M. quinquiesperforata* presenta valores de fenoles totales de 0,16 mg EAG/g de organismo.

En los resultados de actividad antioxidante obtenidos a partir de los extractos, se observa que todos los extractos presentan actividad moderada frente al radical catiónico ABTS, siendo el extracto metanólico el que presentó mayor actividad con un IC_{50} de 76,75 µg/ml, mientras que en la evaluación de la actividad frente al radical DPPH se observó una actividad antioxidante con $IC_{50} > 200$ µg/ml para todos los extractos. Este comportamiento sugiere que *M. quinquiesporfarata* es capaz de producir compuestos que pueden estabilizar moderadamente el radical catiónico ABTS, pero que no son capaces de estabilizar el radical DPPH.

En la evaluación del potencial de reducción férrica de los extractos se encontraron valores muy similares para todos ellos, encontrándose el máximo potencial de reducción en el extracto acuoso con valor de 3,42 mg EAA/g, estos valores son moderados en la evaluación del potencial reducción de extractos de organismos marinos. El potencial de reducción está ligado a la capacidad de donar electrones a los compuestos presentes en el extracto, la cual es una de las principales características de los compuestos fenólicos polihidroxilados (Zhou et al. 2011). Los valores encontrados en el potencial de reducción junto con los resultados del contenido de fenoles totales para el extracto acuoso, sugiere que este extracto puede contener compuestos de este tipo, dado que los compuestos fenólicos polihidroxilados son compuestos con elevada polaridad, propiedad que contribuiría a su distribución en la fracción acuosa cuando se realizó la partición del extracto metanólico.

En lo que tiene que ver con el tipo de compuestos lipídicos, se encontró prevalencia de los ácidos grasos monoinsaturados AGMI (50%) sobre los ácidos grasos saturados AGS (37%) en la composición de ácidos grasos totales, mientras que el contenido de ácidos grasos poliinsaturados AGPI fue solo del 13% el cual resulta ser un porcentaje bajo ya que los valores de AGPI para equinoideos se encuentran entre 30 y 40% (Martínez-Pita et al. 2010), debido a que estos organismos tiene como principal fuente de alimentación las algas y el fitoplancton que son grandes productores de AGPI (Drazen et al. 2008, Guzmán et al. 2012). Este comportamiento en el contenido de AGPI en *M. quinquiesperforata* sugiere que este organismo modifica estructuralmente los ácidos grasos que adquiere en la dieta, convirtiendo los AGPI en AGMI y AGS, esto sugerido también por el alto contenido de AGMI, los cuales están asociados con funciones de mantenimiento de la fluidez de la membrana en especies de aguas profundas, las cuales deben soportar bajas temperaturas y altas presiones (Drazen et al. 2008). Si bien *M. quinquiesperforata*, al igual que todos los clipasteroideos, es una especie de aguas someras (Pereira 2011), es probable que el alto contenido de AGMI presente en ella también cumpla la función antes descrita, lo que podría sugerir baja fluidez de la membrana, teniendo en cuenta que los clipasteroideos solo puedan habitar en aguas de poca profundidad.

Si bien no se encontraron AGPI, fueron encontrados varios AGMI y AGS de la serie C_{20}, como lo son los ácidos eicosanoico y eicosenoico, para los cuales se ha establecido que uno de sus principales precursores es el ácido araquidónico (Miles y Calder 2012). Sin embargo, la ausencia de AGPI unido a la falta de ácidos grasos de las series ω-3 y ω-6, le confieren a *M. quinquiesperforata* un bajo nivel nutricional, debido a que este tipo de ácidos son muy necesarios en la dieta humana cumpliendo diversas funciones en el organismo (Gómez et al. 2011).

El análisis estructural de los esteroles identificados a partir de *M. quinquiesperforata*, permitió establecer que el núcleo predominante en este tipo de estructuras es el núcleo Δ^5 mono y diinsaturado con un porcentaje de abundancia de 87,5%, este tipo de núcleos ya han sido establecidos como núcleos predominantes en equinodermos (Kanazawa 2001, Pérez et al. 1996, Stonik et al. 1998). Asimismo, se observó otra característica marcada del filum equinodermata, como lo es alto contenido de esteroles con sustituciones en C_{24} de la cadena lateral (Iorizzi 1995, Kanazawa 2001), el cual fue del 50% para *M. quinquiesperforata*. El esterol predominante es el colesta-5-en-3β-ol (colesterol) con un porcentaje de abundancia del 65,69%, resultado razonable debido a que se ha establecido que el colesterol es el principal esterol en invertebrados marinos, el cual es un constituyente importante de membranas y precursor de sustancias fisiológicamente importantes (Kanazawa 2001). Se encontró la presencia de compuestos como el 24-metilcolesta-5-en-3β-ol (campesterol) en proporciones de 7,78% y el 24-etilcolesta-5-en-3β-ol (sitosterol) en proporciones de 2,74%, estas estructuras se encuentra más íntimamente relacionadas a las plantas (Palou et al. 2005), sin embargo, los equinodermos son capaces de introducirlos a partir del consumo de algas y fitoplancton.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen ala Oficina de Investigaciones de la Universidad de Córdoba, Montería, Colombia, por la financiación del proyecto.

REFERENCIAS

Althunibat OY, Hashim RB, Taher M, Duad JM, Ikeda MA, Zali BI. 2009. *In vitro* antioxidant and antiproliferative activities of three Malaysian sea cucumber species. European Journal of Scientific Research, 37: 376-387.

Blunt JW, Copp BR, Munro MHG, Northcote PT, Prinsep MR. 2010. Marine natural products. Natural Products Reports, 27: 165-237.

Blunt JW, Copp BR, Munro MHG, Northcote PT, Prinsep MR. 2012. Marine natural products. Natural Products Reports, 29 (2): 144-222.

Blunt JW, Copp BR, Munro MHG, Northcote PT, Prinsep MR. 2013. Marine natural products. Natural Products Reports, 30: 237-323.

Blunt JW, Copp BR, Munro MHG, Northcote PT, Prinsep MR. 2014. Marine natural products. Natural Products Reports, 31 (2): 160-258.

Carballeira N, Cruz C, Sostre A. 1996. Identification of the novel 7-methyl-6-octadecenoic acid in *Holothuria mexicana*. Journal Natural Product, 59: 1076-1078.

Carboni S, Vignier J, Chiantore M, Tocher DR, Migaud H. 2012. Effects of dietary microalgae on growth, survival and fatty acid composition of sea urchin *Paracentrotus lividus* throughout larval development. Aquaculture, 324: 250-258.

Cawood A, Dinga R, Nappera FL, Younga RH, Williamsa JA, Warda MJ, Gudmundsenb O, Vigec R, Payned SP, Yea S, Shearmana CP, Gallaghera PJ, Grimblea RF, Caldera PC. 2010. Eicosapentaenoic acid (EPA) from highly concentrated n-3 fatty acid ethyl esters is incorporated into advanced atherosclerotic plaques and higher plaque EPA is associated with decreased plaque inflammation and increased stability. Atherosclerosis, 212: 252-259.

Drazen J, Phleger C, Nichols P. 2008. Lipid, sterols and fatty acid composition of abyssal holothurians and ophiuroids from the North-East Pacific Ocean: Food web implications. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 151: 79-87.

Fredalina BD, Ridzwan BH, Zainal-Abidina AA, Kaswandia MA, Zaitonb H, Zalic I, Kittakoopd P, Mat-Jaise AM. 1999. Fatty acid compositions in local sea cucumber, *Stichopus chloronotus*, for wound healing. General Pharmacology, 33: 337-340.

García JR, De la Rosa LA, Herrera-Duenez G, González-Barrios AG, López-Díaz JA, González-Aguilar GA, Ruiz-Cruz S, Álvarez-Parrilla E. 2011. Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en la ciudad de Juárez, México. Tecnociencia, 5 (2): 67-75.

Gómez C, Bermejo L, Kohen V. 2011. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. Nutritional recommendations. Nutrición Hospitalaria, 26 (2): 323-329.

Guzmán MS, Santafé GG, Salcedo MM, Angulo AA, Torres O. 2013. Estudio químico y actividades antioxidante y bactericida de *Ganoderma applanatum*. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 11 (1): 88-94.

Guzmán M, Santafé G, Torres O. 2012. Holothurogenina antifúngica obtenida del pepino de mar *Holothuria floridana*, recolectado en el Caribe colombiano. Boletín de la Sociedad Química de México, 6 (1): 102-105.

Iorizzi, M. 1995. Starfish saponins, Part 53. A reinvestigation of the polar steroids from the starfish *Oreasterreticulatus*: isolation of sixteen steroidal oligoglycosides and six polyhydroxysteroids. Journal Natural Product, 58 (1): 10-26.

Kanazawa A. 2001. Sterols in marine invertebrates. Fisheries Science, 67: 997-1007.

Kuskoski E, Asuro A, Troncoso A, Fett R, Mancini-Filho J. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 25 (4): 726-732.

Mamelona J, Pelletier EM, Lalancette KG, Legault J, Karboune S, Kermasha S. 2007. Quantification of phenolic contents and antioxidant capacity of Atlantic sea cucumber, *Cucumaria frondosa*. Food Chemistry, 104: 1040-1047.

Martinez-Pita I, Gracía F, Pita M. 2010. The effect of seasonality on gonad fatty acids of the sea urchins *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* (Echinodermata: Echinoidea). Journal of Shellfish Research, 29 (2): 517-525.

Miles E, Calder P. 2012. Influence of marine n-3 polyunsaturated fatty acids on immune function and a systematic review of their effects on clinical outcomes in rheumatoid arthritis. British Journal of Nutrition, 107: 171-184.

Montaño-Castañeda MC, Santafé-Patiño GG. 2011. Evaluación de la actividad antioxidante de esponjas marinas del Caribe colombiano. Actualidades Biológicas, 33 (95): 173-181.

Palou A, Picó C, Bonet M, Oliver P, Serra F, Rodríguez A, Ribot J. 2005. El libro blanco de los esteroles vegetales. Segunda edición. España: Unilever Foods S. A. p. 173.

Pereira DM,Valentão P, Teixeira N, Andrade PB. 2013. Amino acids, fatty acids and sterols profile of some marine organisms from Portuguese waters. Food Chemistry, 141: 2412-2417.

Pérez MG, Roccatagliata AJ, Maier MS, Seldes AM, Díaz de Astarloa JM. 1996. Main sterols from the echinoid *Encope emarginata*. Biochemical Systematics and Ecology, 24 (2): 115-118.

Purcell SW, Hair CA, Mills DJ. 2012. Sea cucumber culture, farming and sea ranching in the tropics: Progress, problems and opportunities. Aquaculture, 368-369: 68-81.

Rojano BA, Gaviria CA, Gil MA, Sáez JA, Schinella G, Tournier H. 2008. Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios. Vitae, 15 (1): 173-181.

Saito H, Aono H. 2014. Characteristics of lipid and fatty acid of marine gastropod *Turbo cornutus*: High levels of arachidonic and n-3 docosapentaenoic acid. Food Chemistry, 145: 135-144.

Santafé G, Guzmán M, Torres O. 2014. Triterpenos holostánicos con actividad antifúngica obtenidos del pepino de mar *Holothuria floridana*, recolectado en la bahía de Cispatá, Córdoba-Colombia. Información Tecnológica, 25 (2): 87-92.

Santafé G. 2009. Estudio químico de las fracciones esterólicas de esponjas marinas recolectadas en el Caribe colombiano. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 7 (2): 55-62.

Siikavuopi SI, Dale T, Mortensen A. 2007. The effects of stocking density on gonad growth, survival and feed intake of adult green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). Aquaculture, 262: 78-85.

Stonik V, Ponomarenko L, Makarieva TN. 1998. Free sterol compositions from the sea cucumbers *Pseudostichopus trachus*, *Holothuria* (Microtele) *nobilis*, *Holothuriascabra*, *Trochostoma orientale* and *Bathyplotes natans*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 120: 337-347.

Zhou DY, Qin L, Zhu BW, Wang XD, Tan H, Yang JF, Li DM, Dong XP, Wu HT, Sun LM, Li XL, Murata Y. 2011. Extraction and antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from spines of purple sea urchin *Strongylocentrotus nudus*. Food Chemistry, 129: 1591-1597.