

Comparación cuantitativa de la actividad antioxidante en tomate chonto y ahuyama por los métodos ABTS, DPPH y voltamperometría cíclica

Comparaçãõ quantitativa da atividade antioxidante em tomates chonto e picante pelos métodos ABTS, DPPH e voltametria cíclica

DOI: 10.34188/bjaerv5n1-110

Recebimento dos originais: 25/11/2021

Aceitação para publicação: 03/01/2022

Irma María García Giraldo

Candidata a Doctor en Ciencias. Grupo de Investigación en Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias Agroindustriales. Universidad del Quindío. Armenia, Colombia
Institución: Universidad del Quindío/ Docente/Facultad de ciencias agroindustriales
Dirección: Carrera 15 #12N, Armenia, Quindío
Correo electrónico: imgarcia@uniquindio.edu.co

Henry Reyes Pineda

PhD en Tecnología de Membranas, Electroquímica y Medio Ambiente. Grupo de Investigación en Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias Agroindustriales. Universidad del Quindío. Armenia, Colombia
Institución: Universidad del Quindío/ Decano/Facultad de ciencias Agroindustriales
Dirección: Carrera 15 #12N, Armenia, Quindío
Correo electrónico: hreyes@uniquindio.edu.co

Jhon Alexander Rodríguez Espinosa

Magister en Química. Grupo de Investigación en Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias Agroindustriales. Universidad del Quindío. Armenia, Colombia
Institución: Universidad del Quindío/ Docente/Facultad de ciencias básicas
Dirección: Carrera 15 #12N, Armenia, Quindío
Correo electrónico: jarodriguez@uniquindio.edu.co

RESUMEN

Los antioxidantes presentes en frutos tales como el tomate chonto (*Lycopersicum esculentum*) y la ahuyama (*Cucurbita máxima*) han tenido una gran relevancia en la prevención de múltiples enfermedades degenerativas, lo que ha llevado implementar nuevas técnicas para su determinación y cuantificación que sean más económicas, eficientes y amigables con el medio ambiente. Por lo tanto, se compararon los métodos de ABTS, DPPH y voltamperometría cíclica para determinar la capacidad antioxidante del tomate chonto y la ahuyama en los estados de madurez óptimos. Para esto se realizaron diluciones a partir del jugo de semillas de ahuyama y de la pulpa de tomate, para llevar a cabo las mediciones de voltamperometría cíclica. Se instaló la celda en un balón de tres bocas fondo redondo, poniendo platino como electrodo de trabajo, grafito como contra electrodo y un electrodo de referencia de Hg/HgSO₄. Posteriormente se tomaron tres muestras sólidas de pulpa de tomate y semillas de ahuyama las cuales fueron diluidas en metanol y a los extractos se les realizó las pruebas de Folin Cicoalteu para la determinación de fenoles totales.

Por último, los extractos etanólicos y metanólicos de estos frutos se le practicaron las pruebas de DPPH y ABTS. Para las pruebas de DPPH y ABTS, en ambos ensayos se obtuvo una mayor actividad antioxidante en las semillas de ahuyama expresada como vitamina E. En los voltamperogramas cíclicos obtenidos se pudo observar que existe un mecanismo de reducción que permite establecer una mayor actividad antioxidante en las semillas de ahuyama. En conclusión las pruebas realizadas con folin-cicoalteu evidenciaron que podía existir una actividad antioxidante en ambos frutos. En cuanto a los métodos de ABTS y DPPH ambos fueron efectivos al establecer una actividad antioxidante. Por último el método de voltamperometría cíclica resultó ser mucho más económico, rápido y sensible que los métodos comunes utilizados para estas muestras.

Palabras clave: Antioxidantes, semillas de ahuyama, tomate.

RESUMO

Os antioxidantes apresentam em frutos contos como o tomate chonto (*Lycopersicum esculentum*) e o ahuyama (*Cucurbita máxima*) que tem uma grande relevância na prevenção de múltiplas enfermidades degenerativas. , eficiente e amigável com o meio ambiente. Para tanto, compare os métodos de ABTS, DPPH e voltamperometria cíclica para determinar a capacidade antioxidante do tomate chonto e do ahuyama nos estados de madurez óptimos.

Para se realizar diluições a partir do jugo de semillas de ahuyama e da polpa de tomate, para levar ao cabo as mediciones de voltamperometria cíclica. Se instalou o celda em um balão de três bocas redondo, colocando platina como eletrodo de trabalho, grafado como contra eletrodo e um eletrodo de referência de Hg/HgSO₄. Em seguida, tome três amostras contínuas de polpa de tomate e sementes de ahuyama, as cuales fueron diluídas em metanol e os extratos, se realizada, as pruebas de Folin Cicoalteu para a determinação de fenômenos totais. Por último, os extratos etanólicos e metanólicos de seus frutos se praticam as pruebas de DPPH e ABTS. Para as pruebas de DPPH e ABTS, em ambos os casos, significa que obtuvo uma maior atividade antioxidante nas sementes de ahuyama expressa como vitamina E. Nos voltamperogramas cíclicos obtenidos se pudo observar que existe um mecanismo de redução que permite estabelecer uma maior atividade antioxidante em las semillas de ahuyama. En conclusión las pruebas realizado com folin-cicoalteu evidenciaron que podía existir uma atividade antioxidante em ambos os frutos. Em cuanto aos métodos de ABTS e DPPH, ambos são eficazes para estabilizar uma atividade antioxidante. Por último, o método de voltamperometria cíclica resultou ser muito mais econômico, rápido e sensato que os métodos usados para estas demonstrações.

Palavras-chave: Antioxidantes, sementes de abóbora, tomate.

1 INTRODUCCIÓN

En la industria química se habían estudiado los antioxidantes, un grupo de compuestos caracterizados por su capacidad de oxidarse en lugar de otras sustancias presentes en el medio de reacción (1,2). Para los años 90 el uso de los antioxidantes se había popularizado en los Estados Unidos de América, de tal manera que la mitad de la población consumía suplementos dietarios, y alrededor de una octava parte de la población consumía periódicamente suplementos de vitaminas E y C (3). La vitamina E conocida como α -tocoferol, por ser el componente más abundante de la misma, es bien conocido y representa la mayor posibilidad de prevención de la peroxidación de membrana por estabilización de radicales peróxilo (4,5). En sistemas biológicos, una molécula de vitamina E permite proteger 10.000 moléculas de ácidos grasos insaturados (6). La vitamina C es un antioxidante que actúa en medios acuosos, en combinación con otros antioxidantes primarios como la vitamina E y los carotenoides, así como en conjunto con las enzimas antioxidantes (7,8). El ácido ascórbico es el único antioxidante endógeno en plasma que puede proteger contra el daño peroxidativo inducido por radicales peróxilo (9). Por definición, la actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa (por ejemplo, la peroxidación lipídica (10). Existen varios métodos para medir la actividad antioxidante entre ellos están el método ABTS (azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico, el método DPPH (Difenil Picril Hidrazilo) y el método de Folin-Ciocalteu (11). La voltamperometría cíclica es un procedimiento reportado recientemente como una herramienta promisoría para evaluar la actividad antioxidante (12). En este método, la muestra es introducida en una celda con un sistema de tres electrodos: electrodo de trabajo, electrodo de referencia y electrodo auxiliar (platino) (13).

En este estudio se compararán métodos comunes como el DPPH, ABTS y Folin-ciocalteu, con el método de voltamperometría cíclica y de esta manera determinar cuál es el mejor método para determinar la actividad antioxidante en la ahuyama y el tomate chonto.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

Como materia prima para el estudio, se recolectaron las muestras del tomate chonto maduro en el municipio de Filandia Quindío. En el caso de las semillas de ahuyama las muestras fueron sacadas de varios de estos frutos maduros comprados en un supermercado local. Para los análisis de Follin Cicualteu, ABTS y DPPH se utilizó un espectrofotómetro ultravioleta-visible (UV-VIS) con arreglo de diodos Hewllet Packard modelo HP-8453.

Descripción del proceso: Se determinó la capacidad antioxidante de la ahuyama y el tomate por los métodos de Folin-ciocalteu, DPPH y ABTS los cuales fueron comparados con análisis de

Voltamperometría cíclica obtenidos de un estudio previo titulado “*Determinación electroquímica de antioxidantes presentes en la ahuyama y el tomate chonto*”.

Cuantificación del contenido polifenoles con el índice de Folin-Ciocalteu: Se tomaron las soluciones de los extractos y los estándares, se les adicionó el reactivo Folin-Ciocalteu a cada tubo de ensayo. Se pudo observar la formación de la coloración a través de la lectura de un blanco preparado al mismo tiempo. Los resultados obtenidos se reportaron como mg A.G (ácido gálico)/100g de muestra.

Determinación de la actividad antioxidante por medio del catión ABTS•+: Se preparó el reactivo ABTS en solución acuosa. Luego se hizo reaccionar con persulfato de potasio en un frasco ámbar, se cubrió con papel aluminio; por último se diluyó la solución de ABTS•+ en etanol absoluto hasta obtener una absorbancia inicial de $0.7 \pm (0.02)$ a 732 nm.

Determinación de la actividad antioxidante por el método del DPPH•: Se preparó en un matraz cubierto en papel aluminio la solución del (DPPH•). Después se transfirió a un frasco ámbar cubierto con papel aluminio. Posteriormente se ajustó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 529nm hasta obtener una absorbancia de $\pm 1,000$.

Preparación de las muestras de tomate y ahuyama: Los extractos de tomate y ahuyama con los reactivos ABTS y DPPH fueron llevados al espectrofotómetro a una longitud de onda de 529 y 732 nm. . Cada ensayo se realizó 3 veces y su vez cada muestra por triplicado (14). A partir de las absorbancias obtenidas se determinó el porcentaje de actividad antioxidante con la ecuación que se presenta a continuación:

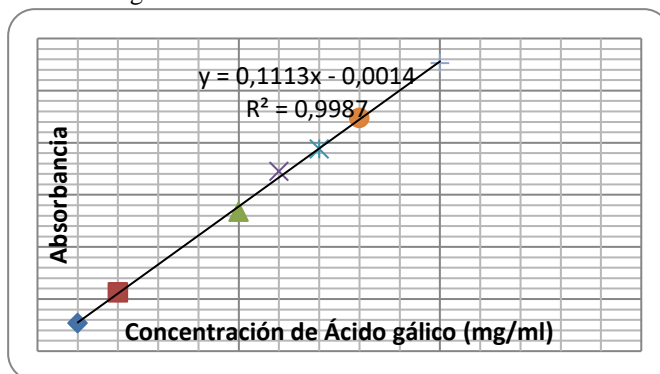
$$\% \text{ Actividad Antioxidante} = \left(\frac{\text{Abs.I} - \text{Abs.M}}{\text{Abs.I}} \right) \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde Abs.I, son las absorbancias iniciales y Abs.M son las absorbancias obtenidas para cada una de las muestras de tomate y ahuyama.

3 RESULTADOS

Determinación de fenoles totales: Se realizó la curva de calibración del ácido gálico, la cual permitió determinar el contenido de fenoles totales para dichos frutos.

Figura 1. Curva de calibración del ácido gálico.



En la tabla 1 se presenta el contenido de fenoles totales (CFT) en equivalentes de ácido gálico (EAG) (mg de ácido gálico/g de muestra)

Tabla 1. Contenido de fenoles totales en tomate chonto y semillas de ahuyama

Nombre	CFT (mg de ácido gálico/100g de la muestra)
Tomate 1	5,086
Tomate 2	5,031
Tomate 3	5,103
Ahuyama 1	5,548
Ahuyama 2	5,623
Ahuyama 3	5,176

Determinación de la Actividad Antioxidante: En la tabla 2 se presentan los porcentajes de actividad antioxidante obtenidos por los métodos de ABTS●+ y DPPH para los extractos de semillas de ahuyama y pulpa de tomate.

Tabla 2. Porcentaje de actividad antioxidante por los métodos de ABTS y DPPH.

Valor promedio del porcentaje de AA			
Tomate ABTS	Ahuyama ABTS	Tomate DPPH	Ahuyama DPPH
24,75	36,9	84,48	98,04
28,56	41	82,02	98,37
31,04	42,04	82,67	98,54

Voltamperometría Cíclica.: En la tabla 3 se muestran los parámetros utilizados para hallar la concentración de las vitaminas E y C presentes en las semillas de ahuyama y el tomate chonto por el método de voltamperometría cíclica obtenidos e un estudio preliminar el cual se encuentra reportado en el artículo titulado *“Determinación electroquímica de antioxidantes presentes en la ahuyama y el tomate chonto”*.

Tabla 3. Parámetros para el cálculo de vitamina C y vitamina E.

Vitamina	i (Ma)	n	F (Col/mol)	A (Cm ²)	D (Cm ² /s)	t (s)	C (Mol/L)	Masa (g)
C	1.5x10 ⁻⁵	2	96500	0.1	0.0139	0.694	2.86x10 ⁻⁴	0.00225
E	5.2x10 ⁻⁵	2	96500	0.1	0.00254	0.694	1.56x10 ⁻³	0.036

4 DISCUSIÓN

Se puede observar que las muestras que presentaron el mayor contenido de fenoles totales expresado en equivalentes de ácido gálico (EAG) fueron las de ahuyama con valores entre 5,176 y 5,623 mg de ácido gálico/100g de la muestra.

Los extractos de pulpa de tomate y semillas de ahuyama evaluados mostraron un comportamiento muy similar entre los valores obtenidos de la actividad antioxidante de estos dos frutos, el valor promedio de los porcentajes de actividad antioxidante más alto se le atribuyen a las semillas de ahuyama con un valor de 42,04% para los ensayos con ABTS y 98,54% para los ensayos con DPPH.

Los valores obtenidos para la concentración de vitamina C por el método de voltamperometría cíclica se encuentran dentro de los rangos reportados por otros autores (A.M. Pisoschi, 2008), observándose que la concentración de Tocoferol (Vitamina E) presente en esta especie de semillas de ahuyama es mayor a la de la vitamina C de la pulpa del tomate, lo cual es un indicio de que la capacidad antioxidante de la vitamina E, es mayor en este fruto.

5 CONCLUSIONES

Las pruebas de Folin-Cicoalteu evaluadas para las semillas de ahuyama y la pulpa de tomate evidenciaron que estos extractos podían presentar actividad antioxidante debido a la cantidad de polifenoles obtenida, observándose un mayor contenido de estos metabolitos en las semillas de ahuyama.

En el caso de los ensayos de ABTS y DPPH se pudo observar que ambas pruebas denotan una alta actividad antioxidante, siendo más preponderante en el análisis del reactivo DPPH para las semillas de ahuyama.

Al momento de realizar la comparación de las pruebas de ABTS y DPPH frente a voltamperometría cíclica se puede evidenciar claramente que con ambos tipos de análisis se puede determinar la actividad antioxidante, sin embargo el método de voltamperometría cíclica resulta ser más económico, rápido, sensible y utiliza menor cantidad de muestra que con los análisis de DPPH y ABTS.

REFERENCIAS

1. Cameron E, Pauling L. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: reevaluation of prolongation of survival times in terminal human cancer. USA. Food Chem. Elsevier Ltd; 1978.
2. Willet W, MacMahon B. Diet and cancer--an overview (second of two parts). *New Engl. Jour. Med.* 1984. 697-903p.
3. Radimer K. Dietary supplement use by US adults: data from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Amer. Jour. Epidem.* 2004. 338-349p.
4. Calaza-ramos C, Julia L, Losada PP, Rodr A. Determination of vitamin E and carotenoid pigments by high performance liquid chromatography in shell of *Chionoecetes opilio*. *Anal Chim.* 2008;7:225–9.
5. Wells G, Inmaculada M, Martín G, Escuredo O, Fischer S. Talanta Multivariate calibration by near infrared spectroscopy for the determination of the vitamin E and the antioxidant properties of quinoa. *Talanta.* Elsevier; 2013;116:65–70.
6. Traber M, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free. Rad. Bio. An. Med.* 2007. 4-15p.
7. Yang Y, Zhou J, Zhang H, Gai P, Zhang X, Chen J. Talanta Electrochemical evaluation of total antioxidant capacities in fruit juice based on the guanine / graphene nanoribbon / glassy carbon electrode. *Talanta.* Elsevier; 2013;106:206–11.
8. Aguirre MJ, Chen YY, Isaacs M, Matsuhira B, Mendoza L, Torres S. Electrochemical behaviour and antioxidant capacity of anthocyanins from Chilean red wine , grape and raspberry. *Food Chem. Elsevier Ltd;* 2010;121(1):44–8.
9. Griffiths HR, Lunec J. Ascorbic acid in the 21st century – more than a simple antioxidant. *Envir. Toxic. And. Pharm.* 2001. 173-182p.
10. Alvarez-suarez M, Novakovic MM, Pezo L, Battino M, Suz DZ. Comparative analysis of antioxidant activity of honey of different floral sources using recently developed polarographic and various spectrophotometric assays. *J Food Compos Anal.* 2013;30:13–8.
11. Padmanabhan P, Jangle SN. Evaluation of DPPH Radical Scavenging Activity and Reducing Power of Four Selected Medicinal Plants and Their Combinations. *Int J Pharm Sci Drug Res.* 2012;4(2):143–6.
12. Fruzi O. Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by "ferric reducing antioxidant power" assay and cyclic voltammetry. *Biochim. Biophys.* 2005 Jan 18; 1721(1-3):174-84.
13. Cosio MS, Buratti S. Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the Labiatae family. *Food. Chem.* 2006 Aug; 97(4): 725-731.
14. Murillo J. Las Euphorbiaceae de Colombia. *Biota Colomb.* 2004;5(2):183–200.
15. Pisoschi A, Negulescu G, Pisoschi A. Ascorbic Acid Determination by an Amperometric Ascorbate Oxidase-based Biosensor. *Rev Chim.* 2010;61(4):339–44.