

Uso de técnicas electroquímicas para evaluar el poder antioxidante en alimentos

Dulce Abril Flores Maltos¹, José Sandoval Cortés²,
Blanca Valdivia Urdiales¹, Cristóbal Noé Aguilar González¹

RESUMEN

La presencia de antioxidantes naturales en los alimentos es importante dado que estos no sólo contribuyen a preservar las características organolépticas y la calidad nutricional de los productos que consumimos sino porque ayudan de manera primordial a preservar la salud de los consumidores lo cual hace de suma importancia la detección de la actividad antioxidante de una manera rápida y sencilla. Por lo tanto, el objetivo de esta revisión es resumir las más relevantes contribuciones en el desarrollo de técnicas analíticas electroquímicas para la detección del poder antioxidante en los alimentos y mejorar la calidad de los mismos.

ABSTRACT

Presence of natural antioxidants in foods is very important because these compounds not only help to preserve the organoleptic and nutritional quality of the products consumed by humans, but also because they help in a major way to preserve

Palabras clave: Radicales libres, antioxidantes, antioxidantes naturales, flavonoides, detección electroquímica, biosensor, voltametría.

Key words: Free radicals, antioxidants, natural antioxidants, flavonoids, electrochemical detection, biosensor, voltametry.

Recibido: 20 de noviembre de 2009, aceptado: 25 de junio de 2010

¹ Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila.

² Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, sandcort@gmail.com

the health of consumers making it of paramount importance to detect antioxidant activity in a quick and easy way. Therefore, the objective of this review is to summarize the most relevant contributions in the development of analytical techniques for the detection of electrochemical power antioxidant in food and improve quality.

INTRODUCCIÓN

Las oxidaciones que trascienden indispensables para el funcionamiento del metabolismo humano, desempeñan también un papel importante en el proceso del envejecimiento. El organismo se vale del oxígeno para convertir la energía derivada de la alimentación en una forma de energía válida para la nutrición celular. Mediante esa capacidad de quemar las calorías alimentarias, gracias a las enzimas de sus mitocondrias, las células logran un considerable aumento del rendimiento energético de su alimentación (Korotova *et al.*, 2005; Speisky, Pastene y Gómez, 2006b).

El oxígeno empleado en el proceso de respiración celular produce en las reacciones mitocondriales moléculas o compuestos químicos sumamente reactivos, conocidos como radicales libres. La formación de éstos resulta benéfica ya que a bajas concentraciones funcionan como mensajeros Red-Ox (Circu y A.W., 2010) y reguladores de la fisiología celular (Bailly, Ei-Maarouf-Bouteau y Corbineau, 2008); en altas concentraciones causan graves daños a los diferentes componentes celulares (Dineley *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2009). Las principales especies reactivas de oxígeno responsables del daño celular son el radical superóxido, O_2^- , el peróxido de hidrógeno H_2O_2 y el radical

hidroxilo OH[·] (Mulinacci *et al.*, 2001). El problema surge con la proliferación excesiva de radicales libres, llegando a un punto en el que el propio organismo ya no es capaz de ejercer el control sobre la cantidad y puede producirse daño en los órganos (Bartosz, 2009; Terkeltaub *et al.*, 2002). Esta condición es conocida como estrés oxidativo y ha sido implicado en más de cien enfermedades humanas como cáncer, y el envejecimiento así como las cardiovasculares y neurodegenerativas (Kowaltowski *et al.*, 2009). Por lo tanto, las defensas antioxidantes del organismo son claves para el control de enfermedades crónicas, lo que tiene un gran interés en la medicina preventiva. El cuerpo humano posee diferentes medios para defenderse del daño causado por los radicales libres producidos continuamente. Algunos de estos medios son los compuestos antioxidantes como el glutatión (Cressier *et al.*, 2009) y las enzimas glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa (Paiva-Martins *et al.*, 2006), capaces de disminuir las concentraciones a niveles que no son dañinos para las células y los tejidos.

Antioxidantes

Los compuestos antioxidantes poseen una estructura química apropiada para reaccionar fácilmente con un radical libre, de modo que, desde el punto de vista químico, un antioxidante es una sustancia que evita o retrasa la oxidación de otra. Esta acción se realiza mediante la reducción del agente oxidante para lo cual los antioxidantes deben tener una estructura química que permita la donación de iones hidrógenos o de electrones como resultado de dicha interacción (Galano, *et al.*, 2009; García Parrilla, 2008; Nagaraju y Belur, 2008; Speisky, Pastene y Gómez, 2006a).

Sin embargo, las defensas natas del cuerpo humano pueden no ser suficientes para aliviar el estrés oxidativo. Por lo tanto, ciertas cantidades de antioxidantes exógenos naturales son recomendadas para mantener un nivel adecuado de antioxidantes con el fin de equilibrar los radicales libres (Kowaltowski, *et al.*, 2009; Luukkonen *et al.*, 2009; Nsangau *et al.*, 2008).

Otros nutrimentos antioxidantes

Se han ido descubriendo un gran número de sustancias y de especies vegetales con acción antioxidante celular. Éstos contienen un grupo muy complejo de pigmentos llamados flavonoides y antocianinas, con acciones antioxidantes

importantes en combinación con las vitaminas. Los vegetales ricos en estas sustancias son el arándano, la semilla de la uva negra, la corteza del pino marítimo (picnogenol), el té verde, la *Chrysanthellum americanum* (manzanilla americana), el cardo mariano y la *Uncaria tomentosa* (uña de gato). Otros antioxidantes muy interesantes a destacar son la coenzima Q10 y el ácido lipoico (<http://diabetesstop.wordpress.com/2007/11/01/oxidacion-celular/>).

Antioxidantes alimentarios

La presencia natural de antioxidantes en los alimentos cumple, primariamente, la función de prevenir y/o retardar el daño oxidativo que afecta a los lípidos y, en menor grado, a las proteínas. Como consecuencia de ello, protegen a los alimentos contra la pérdida del valor nutricional asociado al consumo oxidativo de dichos nutrimentos (Speisky, Pastene y Gómez, 2006a).

Como resultado de lo anterior, la industria de alimentos viene como una alternativa más segura a los antioxidantes de origen natural. Estos últimos comprenden, en términos generales, a aquellos compuestos que están presentes, o bien, pueden ser obtenidos a partir de tejidos, ya sea vegetales (principal fuente) o animales, y que contribuyen a inhibir el inicio, y/o retardar la velocidad de degradación oxidativa de los alimentos. En la categoría de antioxidantes naturales se incluyen el ácido ascórbico (vitamina C, hidrosoluble), los tocoferoles y tocotrienoles (cada uno bajo la forma de isómeros a, b, g, d, todos liposolubles) y los carotenoides. Aunque entre los tocoferoles el α -tocoferol (5, 7, 8-trimetil, vitamina E) es el más abundante, su capacidad antioxidante en aceites comestibles es generalmente menor a la exhibida por el resto de los isómeros (Speisky, Pastene y Gómez, 2006a).

Entre los carotenoides, se han descrito alrededor de 600 compuestos en verduras y frutas, destacando el β -caroteno, el licopeno y la luteína. Cabe mencionar que sólo las vitaminas C, E, y el β -caroteno (pro-vitamina A) representan compuestos esenciales desde un punto de vista nutricional; es decir, compuestos cuya ingesta es esencial y que, de ser inadecuada, provoca cuadros de carencias específicas y conlleva trastornos a la salud. En la Tabla 1 se enlistan aquellos alimentos que constituyen las principales fuentes de antioxidantes esenciales (Speisky, Pastene y Gómez, 2006a).

Tabla 1. Antioxidantes esenciales y sus principales fuentes

Ácido ascórbico (vitamina C)	<p style="text-align: center;">Frutas</p> <p>Naranjas, limón, melón, uva, kiwi, mandarina, toronja, papaya, mango, fresa</p> <p style="text-align: center;">Hortalizas</p> <p>Bruselas, espárragos, espinaca, brócoli, repollo, pimiento, tomate, coliflor, chícharos, papas</p>
α-tocoferol (vitamina E)	<p style="text-align: center;">Aceites</p> <p>Soya, oliva, maíz, canola, girasol</p> <p style="text-align: center;">Semillas</p> <p>Nuez, cacahuete, germen de trigo</p> <p style="text-align: center;">Hortalizas</p> <p>Camote y otras de hoja verde</p> <p style="text-align: center;">Carnes</p> <p>Rojas, blancas, grasa de animal</p>
Carotenos (α y β -caroteno, licopeno, luteína)	<p style="text-align: center;">Frutas</p> <p>Naranjas, durazno, tangerina</p> <p style="text-align: center;">Hortalizas</p> <p>Zanahoria, tomate, melón, maíz, brócoli, espinaca, acelga, chícharo</p>

Fuente: Speisky *et al.*, (2006b).

Junto a los antioxidantes esenciales mencionados, es importante citar como antioxidante natural a una amplia variedad de compuestos denominados polifenoles que son potentes antioxidantes, contribuyentes en parte a definir el color, sabor y textura de los alimentos que los contienen. Los polifenoles exhiben en sus estructuras uno o más grupos fenólicos y están representados por ácidos fenólicos simples (ácidos gálico, ferúlico, caféico y clorogénico) y por flavonoides (catequinas, proantocianidinas, antocianidinas y flavonoles), estilbenos (resveratrol), cumarinas y taninos (grupo de compuestos fenólicos de alto peso molecular). Los polifenoles son los que confieren la mayor parte de la actividad antioxidante presente en las frutas y hortalizas, superando, en muchos casos en forma sustancial a la contribución que hace el ácido ascórbico a la actividad antioxidante total. Si bien los polifenoles no son antioxidantes esenciales, en la actualidad existen vastas evidencias científicas que apoyan la hipótesis de que los beneficios para la salud asociados al consumo de alimentos ricos en antioxidantes residirían en la alta presencia de compuestos fenólicos en dichos alimentos (Sfar *et al.*, 2009; Speisky, Pastene y Gómez, 2006a).

El grupo de investigadores del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma de Coahuila, actualmente realiza trabajos para obtener antioxidantes tales

como el ácido gálico, elágico, norhidroguayarático de plantas del semidesierto mexicano y fuentes poco convencionales como lo son los residuos agroindustriales (Maiani *et al.*, 2009), también se ha desarrollado trabajo que permitió reportar la actividad antioxidante de especies vegetales como sangre de drago (*Jatropha dioica*), hojasén (*Flourensia cernua*), damiana (*Turnera diffusa*) y gobernadora (*Larrea tridentata*), siendo esta última la más importante por superar antioxidantes comerciales tales como la catequina, ácido gálico y elágico debido a su alta concentración de compuestos polifenólicos (Belmares-Cerda, 2008).

Técnicas para determinar el poder antioxidante en los alimentos

La Electroforesis Capilar (CE) y, sobre todo, la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) con red de diodos, la espectrometría de masas y la detección electroquímica han demostrado ser poderosas técnicas en la identificación y separación de polifenoles en muestras complejas (Blasco *et al.*, 2005).

La caracterización de las propiedades antioxidantes de las frutas, hortalizas y productos elaborados que día a día se incorporan a los mercados locales e internacionales constituye no sólo una necesidad, sino también una oportunidad de diferenciación. Un ejemplo claro

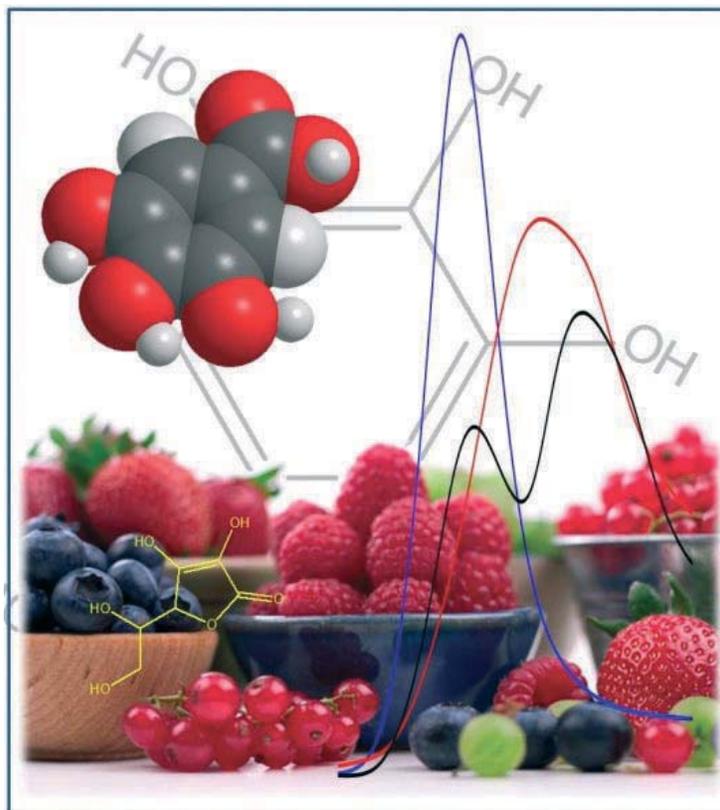
al respecto lo constituye el impulso que sobre su comercialización y consumo ha significado el reconocimiento que se le ha dado a la caracterización del alto contenido antioxidante que presentan ciertos vinos tintos y variedades de aceite de oliva (Speisky, Pastene y Gómez, 2006a).

Con el interés creciente en función y la diversidad de los antioxidantes en los alimentos, se han desarrollado varios métodos *in vitro* para la medición de la actividad antioxidante de alimentos, bebidas y muestras biológicas. Los más utilizados comúnmente incluyen ensayos de la capacidad de absorción del radical oxígeno, el poder reductor, la determinación de fenoles totales, 2,2-azino-di-(3-etilbenzotiazolone-sulfónico), 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, actividad del radical hidroxilo, la actividad del radical superóxido y de la inhibición de la peroxidación lipídica. Estos métodos se diferencian en condiciones experimentales y los términos de los ensayos de sus principios. Debido a las múltiples características de reacción y los mecanismos involucrados, por lo general, ningún ensayo expresa con precisión todos los antioxidantes. Por lo tanto, para esclarecer plenamente el perfil completo de la capacidad antioxidante, es necesario el diseño de diferentes ensayos (Kowaltowski *et al.*, 2009).

La voltametría cíclica es una herramienta muy útil para la evaluación y cuantificación del potencial de oxidación de compuestos antioxidantes, ya que se fundamenta en la medición de la oxidación mediante la aplicación de un barrido de potencial, siendo posible cuantificar la respuesta dada en valores de corriente.

Técnicas electroquímicas

Como ya se mencionó, existen diferentes técnicas para la determinación del poder antioxidante en diferentes matrices pero las técnicas electroquímicas que han sido utilizadas recientemente, han demostrado ser una alternativa para llevar a cabo la evaluación del poder antioxidante de diferentes muestras, esto debido a la sencillez, rapidez y bajo costo de los análisis (Barros *et al.*, 2008).



Capacidad antioxidante en alimentos detectada por voltametría mediante reacciones Redox. Fuente: José Sandoval Cortés y Dulce Abril Flores Maltos.

En general, los compuestos antioxidantes actúan como agentes reductores y, en soluciones, tienden a ser fácilmente oxidados sobre la superficie de un electrodo; basado en este hecho, se estableció una interesante relación entre el comportamiento electroquímico de los compuestos antioxidantes y su consiguiente poder antioxidante, donde, el bajo potencial de oxidación corresponde a un alto poder antioxidante (Barros *et al.*, 2008; Cosio *et al.*, 2006).

La aplicación de nanotubos de carbono en la preparación de un sensor electroquímico, demuestra que su estructura particular de propiedades únicas hacen de ellos un material muy atractivo para el diseño de biosensores electroquímicos (Wang *et al.*, 2009).

Se ha propuesto un nuevo protocolo de detección basado en análisis electroquímicos para determinar polifenoles totales en los alimentos. El cual está basado en la utilización de una inyección en flujo con sistema de análisis de un elec-

trodo de carbono vítreo. En comparación con un protocolo espectrofotométrico, el índice electroquímico se define como el contenido total de polifenoles obtenidos por electroquímica. El nuevo protocolo electroquímico se presenta como una alternativa a los procedimientos tradicionales para medir el contenido total de antioxidantes naturales (Blasco *et al.*, 2005).

La voltametría es un estudio atractivo, conveniente y especialmente sensible para la determinación de la actividad y propiedades antioxidantes. Por lo tanto, y con base en lo descrito anteriormente, las investigaciones sobre la determinación de la actividad antioxidante por un cómodo y sensible enfoque voltamétrico permite comparar la actividad de algunos antioxidantes y sus compuestos en soluciones, productos alimenticios y farmacéuticos para analizar su influencia en el proceso de reducción de oxígeno y recomendar el uso de estas sustancias para fines profilácticos. La principal desventaja del enfoque electroquímico es su limitación: los antioxidantes deben ser inactivos en la gama potencial de la reducción de oxígeno en las mismas condiciones experimentales. Actualmente, los métodos para determinar la actividad antioxidante se basan principalmente en la inhibición de un modelo de reacción de oxidación en la solución de antioxidantes y grabar una señal de control por quimioluminiscencia, cromatografía de fase gaseosa y otros métodos. Tras cierta experiencia en el ámbito de la reducción electroquímica del oxígeno, se ha aplicado un eficaz y conveniente método para la determinación de la actividad

antioxidante mediante el registro de la corriente en la reducción electroquímica del oxígeno en una película de electrodos de mercurio (o un electrodo de carbono vítreo). Este último proceso ha sido tratado como un "modelo" de reacción y es el producto en el cátodo con la formación del radical activa-anión de oxígeno. Como es sabido, la reducción electroquímica del oxígeno en la película de electrodos de mercurio es un proceso casi reversible dependiendo de la difusión, así como de la tasa de la interconversión cinética. Por lo tanto, el enfoque voltamétrico permite la determinación no sólo de la actividad antioxidante, sino que permite considerar problemas como el comportamiento electroquímico, la influencia mutua, la influencia de la tasa y el tiempo de acción sobre la reducción electroquímica del oxígeno (Korotkova, Karbainov y Shevchuk, 2002).

CONCLUSIONES

Las ventajas de las técnicas electroquímicas representan una muy buena alternativa para el desarrollo de (bio) sensores capaces de hacer frente a futuros retos en biodetección, diagnósticos clínicos, vigilancia del medio ambiente y control de calidad, entre otros. El aumento de la reactividad de los nanotubos de carbono permite la rápida y sensible detección de diferentes analitos como el peróxido de hidrógeno, ácido ascórbico, ácido úrico, la dopamina en reacciones Red-Ox y por ello es posible determinar o cuantificar un conjunto de compuestos, en este caso, el poder antioxidante presente en alimentos.

REFERENCIAS

- BAILLY, C., H. EL-MAAROUF-BOU-TEAU, and CORBINEAU F., From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. *Comptes Rendu Biologies*, 331, 806-814, 2008.
- BARROS L., *et al.*, Antioxidant activity of *Agaricus* sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays *Food Chemistry*, 111: 61-66, 2008.
- BARTOSZ, G., Reactive oxygen species: Destroyers or messengers?, *Biochemical Pharmacology*, 77, 1303-1315, 2009.
- BELMARES-CERDA, R.E. "Compuestos polifenólicos presentes en plantas del Semidesierto de México, su transformación microbiana y aplicaciones industriales", Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Coahuila, 2008.
- BLASCO, *et al.*, "Electrochemical Index" as a screening method to determine "total polyphenolics" in foods: A proposal. *Analytica Chimica Acta* 539: 237-244, 2005.
- CIRCU, M.L. and T.Y. AW, Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis, *Free Radical Biology & Medicine*, 2010.
- COSIO, M.S., Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the Labiatae family, *Food Chemistry*, 97, 725-731, 2006.

- CRESSIER, D., Synthesis, antioxidant properties and radioprotective effects of new benzothiazoles and thiadiazoles, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, 5275–5284, 2009.
 - DINELEY, K.E., *et al.*, Zinc causes loss of membrane potential and elevates reactive oxygen species in rat brain mitochondria, *Mitochondrion*, 5, 55-65, 2005.
 - DOMÉNECH DE ANTONIO, E. "Efecto de la administración de antioxidantes orales en las adaptaciones al ejercicio físico". Tesis de Doctorado, Universidad de Valencia, 2007.
 - GALANO, A., *et al.*, Role of the reacting free radicals on the antioxidant mechanism of curcumin, *Chemical Physics*, 363, 13-23, (2009).
 - GARCÍA PARRILLA, M.C., Antioxidantes en la dieta mediterránea. *Nutrición clínica médica*, 2(3): 129-140, 2008.
 - HUERTA JIMÉNEZ, M., *et al.*, Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. *INCI*, 30(2): 728-734, 2005.
 - KOROTKOVA E.I., KARBAINOV Y.A., SHEVCHUK A.V., Study of antioxidant properties by voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 518: 56–60, 2002.
 - KOROTKOVA E.I., *et al.*, Investigation of antioxidant activity and lipophilicity parameters of some preservatives. *Electrochimica Acta*, 51: 324–332, 2005.
 - KOWALTOWSKI, A.J., *et al.*, Mitochondria and reactive oxygen species. *Free Radical Biology & Medicine*, 47, 333–343, 2009.
 - LI, H., *et al.*, Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chemistry*, 112, 454-460, 2009.
 - LUUKKONEN, J., *et al.*, Enhancement of chemically induced reactive oxygen species production and DNA damage in human SH-SY5Y neuroblastoma cells by 872MHz radiofrequency radiation. *Mutation Research*, 662, 54-58, 2009.
 - MAIANI, G., Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53, S194-S218, 2009.
 - MARTINS, S., Kinetic study of nordihydroguaiaretic acid recovery from *Larrea tridentata* by microwave-assisted extraction. *J Chem Technol Biotechnol*, 2010.
 - MULINACCI, N., *et al.*, Polyphenolic content in olive oil waste waters and related olive samples. *Journal of Agricultural Food & Chemistry*, 49(8): 3509-3514, 2001.
 - NAGARAJU, A. and L.R. BELUR, Rats fed blended oils containing coconut oil with groundnut oil or olive oil showed an enhanced activity of hepatic antioxidant enzymes and a reduction in LDL oxidation. *Food Chemistry*, 108, 950-957, 2008.
 - NSANGOU, M., *et al.*, DFT study of the structure of hydroxybenzoic acids and their reactions with radical •OH and image radical O₂•- radicals. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 850, 135-143, 2008.
 - PÉREZ-JIMÉNEZ, J., *et al.*, Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular disease risk factors. *Nutrition*, 24, 646-653, 2008.
 - PRIETO, J.M., In vitro activity of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and their main constituents in peroxyxynitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry*, 104: 889–895, 2007.
 - PAIVA-MARTINS, F., Effects of copper on the antioxidant activity of olive polyphenols in bulk oil and oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54: 3738-3743, 2006.
 - SFAR, S., Zinc, copper and antioxidant enzyme activities in healthy elderly Tunisian subjects, *Experimental Gerontology*, 44, 812-817, 2009.
 - SPEISKY, H., PASTENE, E. y GÓMEZ, M. Antioxidantes Fundamentales para la Salud. *Indualimentos*, 41, 2006a.
 - SPEISKY, H., PASTENE, E. y GÓMEZ, M. Antioxidantes Fundamentales para la Salud. *Indualimentos*, 49, 2006b.
 - TERKELTAUB, R., *et al.*, Invited review: the mitochondrion in osteoarthritis. *Mitochondrion*, 1, 301-319, 2002.
 - TOCCO, G., *et al.*, Prolongation of alloskin graft survival by catalytic scavengers of reactive oxygen species. *Cellular Immunology*, 241: 59-65, 2006.
 - VASILIEVNA KHARISSOVA, O. y C. L. ROBLEDO JIMÉNEZ, Síntesis de nanoestructuras de carbono mediante microondas. *Ingenierías*, 7(23): 6-11, 2004.
 - YANG X., and H. ZHANG, Sensitive determination of kojic acid in foodstuffs using PVP (polyvinylpyrrolidone) modified acetylene black paste electrode. *Food Chemistry*, 102: 1223–1227, 2007.
 - WANG, X., Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chemistry*, 112, 454-460, 2009.
 - WEI, Y., *et al.*, Studies on electrochemical properties and scavenge of superoxide anion in aprotic media by using carbon nanotubes powder microelectrode. *Bioelectrochemistry*, 61: 51– 56, 2003.
- Dicliotopografía**
- Oxidación celular. De: <http://diabetesstop.wordpress.com/2007/11/01/oxidacion-celular/>, 1 nov. 2007.