



## PRUEBA PRELIMINAR PARA LA PROPUESTA DEL SISTEMA ABTS/LACASA EN LA EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL EN ALIMENTOS

Soriano-Santos, Jorge, Suárez-Torres, Javier Octavio y Ponce-Alquicira, Edith

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Biotecnología. Avenida Sn. Rafael Atlixco No. 186. Colonia Vicentina.C.P. 09340, México D. F. Fax: 58044712; e-mail: [jss@xanum.uam.mx](mailto:jss@xanum.uam.mx).

*Palabras clave: ABTS/lacasa, capacidad antioxidante, alimentos*

**Introducción.** Se sabe que existen numerosos antioxidantes en frutas y vegetales. Los más importantes son el ácido L-ascórbico, fenoles, flavonoides, antiocianinas, taninos, etc. La mayoría de los métodos para la medición de la capacidad antioxidante están basados en la generación de radicales libres; teniendo un punto final en el que se detecta la presencia del radical. Un extracto antioxidante de un alimento, se usa para inhibir ese punto final, capturando el radical libre generado (1,2). Uno de los métodos más utilizados es el sistema ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/HRP (peróxidasa de rábano) por su reproducibilidad. Sin embargo, la enzima HRP requiere H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para generar los cationes ABTS<sup>+</sup>. La lacasa es una enzima polifenoloxidasas que genera los cationes ABTS<sup>+</sup> solo en presencia de O<sub>2</sub> atmosférico (3,4). El objetivo del presente estudio fue realizar una prueba preliminar para proponer el sistema ABTS/lacasa en la evaluación de la capacidad antioxidante total en alimentos.

**Metodología.** La lacasa utilizada de Sigma (EC 1.10.3.2) se obtiene de *Rhus vernicifera*. Se monitoreó el tiempo de formación del radical ABTS<sup>+</sup>, utilizando un espectrofotómetro Shimadzu, siguiendo la metodología de Ing-Chien *et al.* (2). Sólo se sustituyó el sistema ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/HRP por el sistema ABTS/lacasa. Luego se construyó una curva estándar graficando el tiempo lag de formación del radical ABTS<sup>+</sup> versus la concentración del ácido L-ascórbico o ácido ferúlico utilizados como antioxidantes. Se observó si la absorbancia producida por la generación del ABTS<sup>+</sup>, se ajustaba a una recta y de esta manera calcular la actividad antioxidante. Esta actividad se expresó como µg equivalentes de ácido L-ascórbico o ácido ferúlico/ml.

**Resultados y discusión.** La mezcla reacción que resultó positiva para determinar el tiempo lag de formación del radical ABTS<sup>+</sup> contenía: 1.5 mM de ABTS; 0.1 M de amortiguador de acetatos pH 5.0; 2.4 U/ml de lacasa y ácido L-ascórbico (4.5, 6, 7.5, 9, 10.5 y 13.5 µM) ó ácido ferúlico (5, 6.5, 10, 15 y 20µg/ml). En la Fig. 1 se puede observar el tiempo lag experimental obtenido para ambos antioxidantes a través de las curva de regresión lineal que correlacionan este tiempo vs la concentración de ácido ferúlico o ác. L-ascórbico, para la determinación de la capacidad antioxidante. En ambos casos a las concentraciones del antioxidante utilizados, se pudo observar un buen ajuste a una recta, a juzgar por el coeficiente de correlación cercano a la unidad.

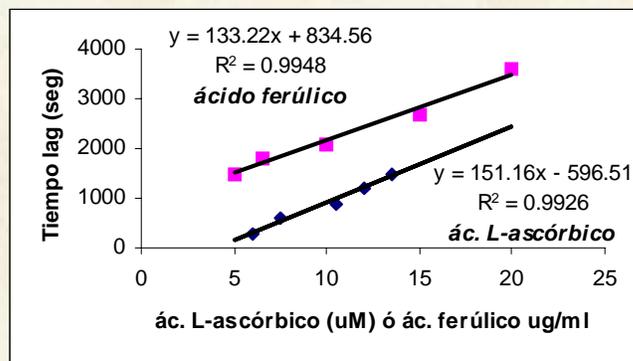


Fig. 1. Tiempo lag de formación del radical ABTS<sup>+</sup> versus ác. Ferúlico o ác. L-ascórbico en el sistema ABTS/lacasa

**Conclusiones.** 1. La lacasa de *Rhus vernicifera* resultó positiva en el sistema propuesto ABTS/lacasa para la evaluación de la actividad antioxidante. 2. El sistema propuesto no requiere el uso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y la generación del catión ABTS<sup>+</sup> solo requiere la presencia de O<sub>2</sub> atmosférico. 3. La correlación cercana a 1, entre el tiempo lag vs la concentración del antioxidante indica que se ajusta a una recta.

**Agradecimiento.** Agradezco a la Dra. Isabel Guerrero Legarreta sus observaciones y comentarios al presente trabajo.

### Bibliografía.

1. Arnao, M. B., Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Cánovas, F. and Acosta, M. (1996). Inhibition by L-ascorbic acid and other antioxidants of the 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) oxidation catalyzed by peroxidase: A new approach for determining total antioxidant status of foods. *Anal Biochem* 236: 255-261.
2. Ing-Chien, C., Hui-Chi, C., Hui-Wen, Y. and Gan-Lin, C. (2004). Evaluation of total antioxidant activity of several popular vegetables and Chinese herbs: A fast approach with ABTS/ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/HRP system in microplates. *J Food Drug Anal* 1(12): 29-33.
3. Thurston, C. F. (1994). The structure and function of fungal laccases. *Microbiol* 140: 19-26.
4. Lonergan, G. and Baker, W. L. (1995). Comparative study of substrates of fungal laccase. *Letters Appl Microbiol* 21: 31-33.