

ESTUDIO CINETICO DE SUSTANCIAS ANTIOXIDANTES CON ESPECIES REACTIVAS

Vanesa Racigh, Laura Villata, Mónica González y Daniel Mártire.

Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA).. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP. Diagonal 113 y 64 (1900) La Plata laura@inifta.unlp.edu.ar

Introducción

En las últimas décadas se ha producido un amplio desarrollo en áreas de investigación relacionadas con los radicales libres y las sustancias antioxidantes, en el campo de la química, la bioquímica y la medicina.

El mecanismo de acción de los antioxidantes puede ocurrir por reacción directa con los radicales libres o catalizando alguna reacción en la que intervienen^[1-3]. Algunos antioxidantes incorporados con la dieta son las vitaminas C, E, A y los carotenoides, pero existen otras sustancias con estas propiedades, compuestos polifenólicos, como los flavonoides y taninos. Todos ellos se encuentran en una amplia variedad de vegetales, frutas y productos derivados^[4-6]

Los flavonoides presentan una estructura química básica que consiste en 15 átomos de carbono dispuestos en tres anillos y difieren en el grado de oxidación y sustitución en los anillos entre ellos podemos mencionar flavonas, flavononas, isoflavonas, flavonoles, flavan-3-oles, y antocianidinas^[7].

La actividad antioxidante de sustancias y productos naturales se determina a partir de varios métodos que se basan en estudiar la decoloración de radicales estables por reacción con los antioxidantes. Se evalúa la disminución de la absorbancia del radical, luego de un período de incubación con la muestra y en varios métodos se compara este cambio con el producido por una sustancia de referencia.

Se utilizan entre otros el radical catión ABTS derivado del ácido 2,2'azino-bis-(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico y el radical DDPH derivado del 2,2'-difeníl-1-picrilhidrazilo.

Nuestro objetivo es utilizar parámetros cinéticos, como constantes de velocidad de reacción, para determinar capacidad antioxidante de sustancias puras o extractos de productos naturales. A tal fin hemos estudiado reacciones entre compuestos polifenólicos, (flavonoides: Epicatequina y Epigallocatequina galato y flavononas: Naringenina y Hesperidina) y los radicales ABTS^{•+} y DDPH[•].

Resultados y discusión

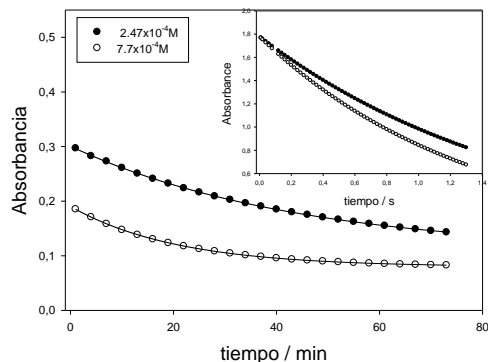
Las reacciones con ABTS^{•+} y DDPH[•] se llevaron a cabo a temperatura ambiente, analizando los cambios temporales de absorbancia para mezclas de reacción con concentración variable de los polifenoles.

El radical catión ABTS se generó utilizando H₂O₂ en buffer acetato (pH=3.6)[8], las soluciones presentan bandas de absorción características con máximos en 420 nm y 740 nm.

Los estudios con radical DDPH se realizaron en etanol. El radical presenta un espectro de absorción con máximos de absorción a 325 y 517 nm.

Los decaimientos observados en presencia de los polifenoles corresponden a cinéticas de pseudo primer orden y su constante de velocidad depende de la concentración del polifenol.

En los estudios cinéticos con ABTS^{•+} se observaron dos procesos: una etapa rápida y una etapa lenta que pudo estudiarse en períodos de tiempo de más de 30 minutos.

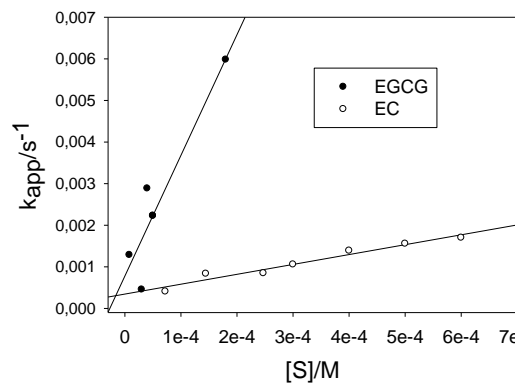


En la figura 1 se muestran los cambios de absorbancia para los dos procesos y para dos concentraciones diferentes de epicatequina

Figura 1

Ambos procesos corresponden a cinéticas de pseudo primer orden y las constantes de velocidad aparentes k_{app} para ambos procesos, aumentan con la concentración de antioxidante, tal como se observa en la figura 2 para dos de los polifenoles estudiados

Figura 2



En el presente trabajo se propone utilizar los parámetros cinéticos obtenidos como índice de la capacidad antioxidante de las muestras.

Referencias

- [1] Hollman, P.C.H., Katan, M.B., 1997 Food and Chemical Toxicology 37, 937–942.
- [2] Prior, R.L., Cao, G., 2000a. Nutrition in Clinical Care 3, 279–288.
- [3] Kaur, Ch., Kapoor, H.C., 2001. Journal of Food Science and Technology 36, 703–725
- [4] van den Berg, R.; Haenen, G. R. M. M.; van den Berg, H.. Food Chem. 1999, 66, 511-517.
- [5] R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Free Radic Biol Med 1999;26:1231–7.
- [6] Evelson, P.; Travacio, M.; Repetto, M. Arch. Biochem. Biophys. 2001, 388, 261-266.
- [7] Pietta, P, J. Nat. Prod. (2000) 63 1035
- [8] Ozcan Erel Clinical Biochemistry 37 (2004) 277– 285