

ELECTROCHEMICAL STUDIES OF DIETARY ANTIOXIDANTS AND ANALOGUES:

MECHANISMS OF OXIDATION AND ANTIOXIDANT CAPACITY

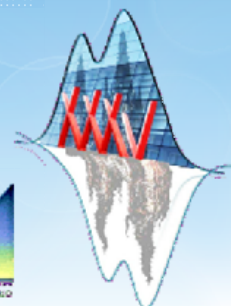
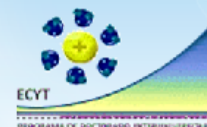


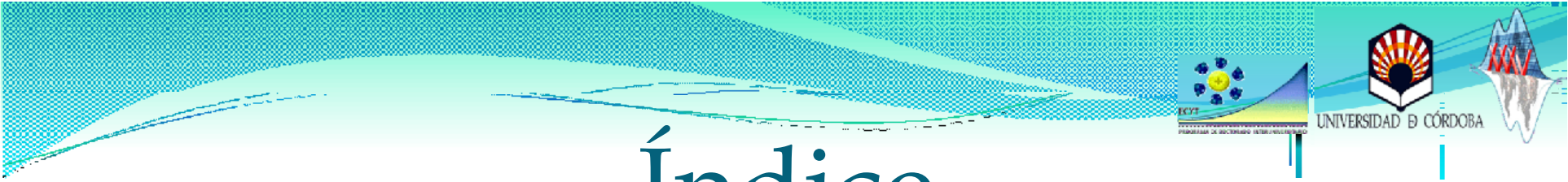
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Rafael Estévez Brito

Departamento de Química-Física

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA





Índice

1. Introducción

2. Objetivos

3. Experimental

4. Primeros Resultados

Introducción



[Antioxidante]↓↓↓

vs.
Sustrato

RETRASA

EVITA

OXIDACIÓN

Antioxidantes sintéticos
(Posibles Efectos Tóxicos)



Antioxidantes naturales

Especial interés de los Antioxidantes Alimentarios, implicados en prevención de:

- Lesiones inflamatorias
- Deficiencias nutricionales
- Enfermedades autoinmunes
- Parkinson
- Infartos de miocardio
- Neurodegeneración
- Envejecimiento
- Neoplasias
- Aterosclerosis
- Diabetes

.....relacionadas directamente con los **Radicales Libres**

Reacciones
Fisiológicas

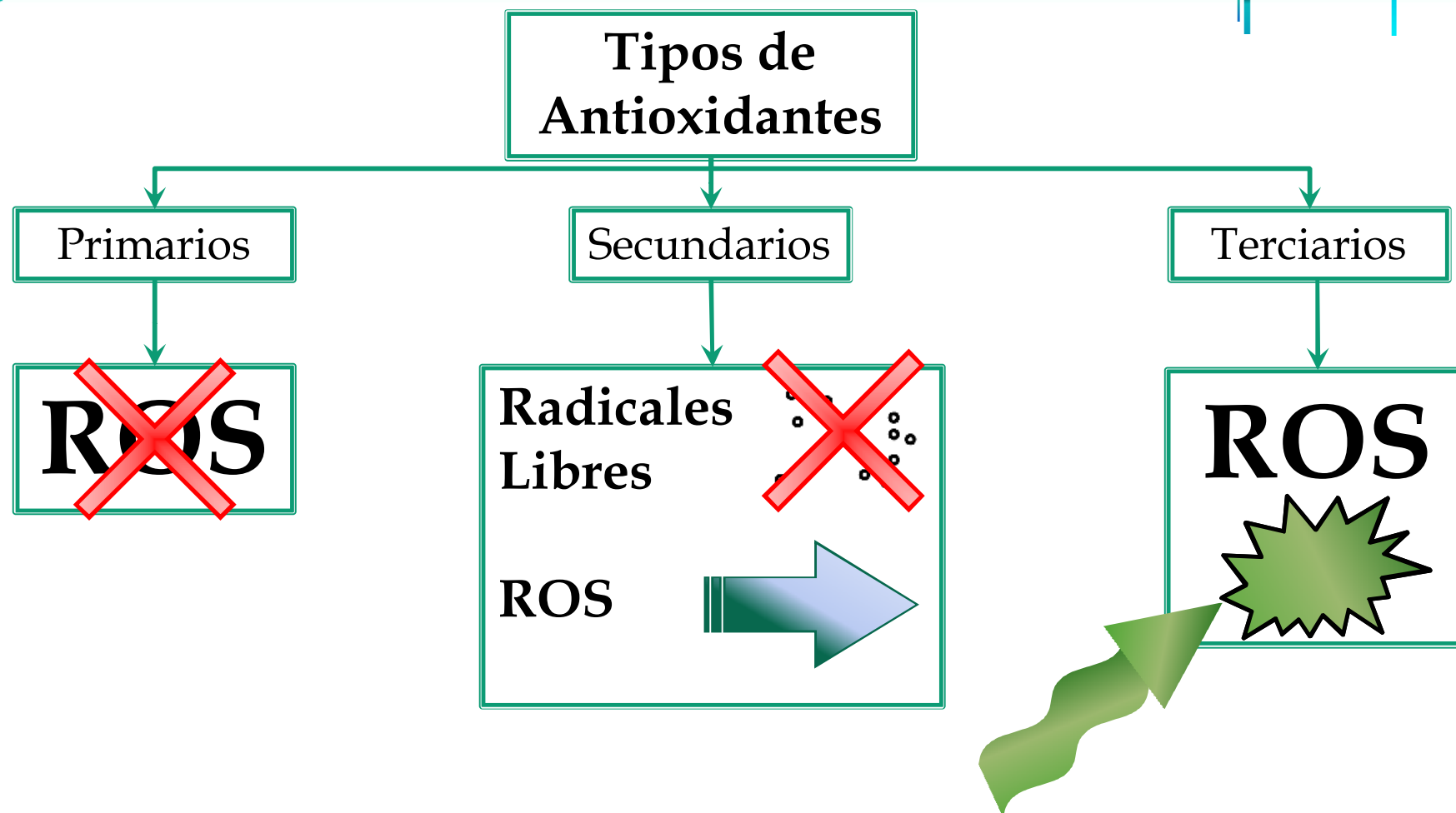
Reguladores

Transmisores

Compuestos
Dañinos

Oxidantes

Citotóxicos

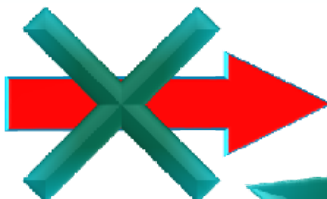


La Capacidad Antioxidante

- Captura de Radicales Libres
- Captura de ROS

Introducción



Oxidante  **Sustrato** *Mantiene sus Características
posibilitando su medida*

Antioxidante
(Capacidad Antioxidante) 



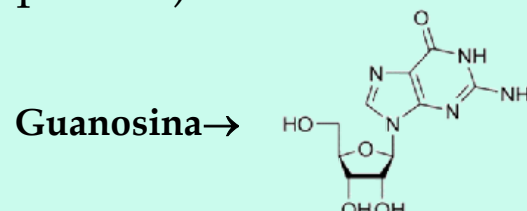
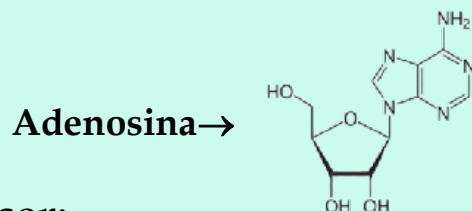
- * Rápida
- * Buena correlación Ensayo DPPH•
(reducción de dicho radical)



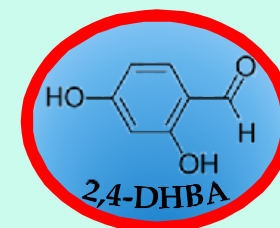
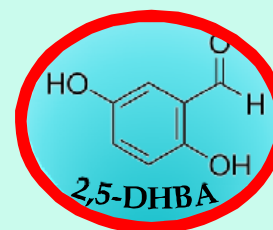
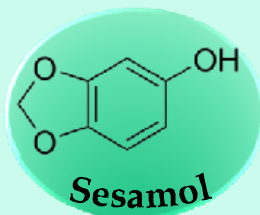
Objetivos



- Evaluar la metodología electroquímica para medir capacidad antioxidante mediante la simulación de ADN (con bases púricas) sobre electrodos de carbono:



- Establecer:
 - Los mecanismos y productos de la oxidación electroquímica del **SESAMOL**, como explicación a su capacidad antioxidante
 - Los mecanismos y productos de la oxidación electroquímica de sus análogos en relación con su potencial capacidad antioxidante
- Explorar la oxidación de **DIHIDROXIBENZALDEHÍDOS** como posibles aditivos antioxidantes alimentarios



Experimental



Instrumental

- **BALANZA** Sartorius de precisión ± 0.00001 g
- **BALANZA ANALÍTICA** de precisión Mettler Toledo AB104, de sensibilidad 0.1 mg
- **PH METRO** Crison GLP 21, con precisión de ± 0.01 unidades de pH, calibrado previamente con disoluciones tampón de pH's 7.00 y 4.00
- **SISTEMA DE REGISTRO VOLTAMÉTRICO** IJ Cambria, CH Instruments, Electrochemical Workstation
- **ESPECTROFOTÓMETRO UV** Crison GLP, Perkin-Elmer Lambda 750S con cubetas de cuarzo Hellma, de 1.00 cm de paso
- **CROMATÓGRAFO DE GASES** Shimadzu GC-2010 con columna capilar HP-5MS de 30 m de longitud y 0.25 mm de diámetro, **ACOPLADO A UN ESPECTRÓMETRO DE MASAS** Shimadzu, operando en modo EI a 70 eV

Electrodos

- **DE TRABAJO:**
GCE de CH Instruments

CPE de gran superficie (lab.) de Metrohm

Barra de Grafito de gran superficie (6mm de $\varnothing$) de Sigma-Aldrich
- **DE REFERENCIA:**
Ag/AgCl/3M KCl de Metrohm
- **AUXILIAR:**
Pt de Metrohm

Reactivos

- **DISOLUCIONES TAMPÓN:**
 - (HCl)
 - (H₃PO₄)
 - (NaOH)
 - (H₃BO₃)
 - (NaCl)
- **MEDIDA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE MEDIANTE SIMULACIÓN DE ADN:**
 - Guanina
 - Guanosina
 - Adenina
 - Adenosina
 - (FeCl₂)
 - (EDTA)
 - (H₂O₂)
 - Ácido Ascórbico
- **ANTIOXIDANTES:**
 - Sesamol
 - Piperonil Alcohol
 - 3, 4-Metilendioxi-anilina
 - 2, 5-Dihidroxibenzaldehído
 - 2, 4-Dihidroxibenzaldehído

TODOS LOS REACTIVOS SON DE
CALIDAD ANALÍTICA

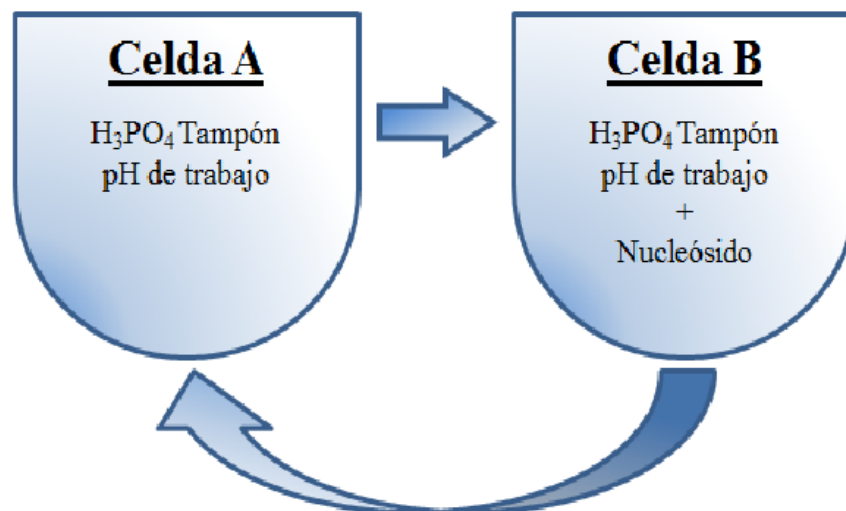
Condiciones

- **TEMPERATURA:**
 - $25^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$
- **LIMPIEZA ELECTRODO:**
 - 1) Pulido Mecánico con papel abrasivo de Carburo de Silicio
 - 2) Pasta de Diamante
 - 3) Alúmina A
 - 4) Alúmina B
 - 5) Baño Ultrasonidos
- **ACTIVACIÓN ELECTRODO:**
Celda de trabajo con disolución Tampón

 $E = 1.7 \text{ V}$
 $t = 300 \text{ segundos}$

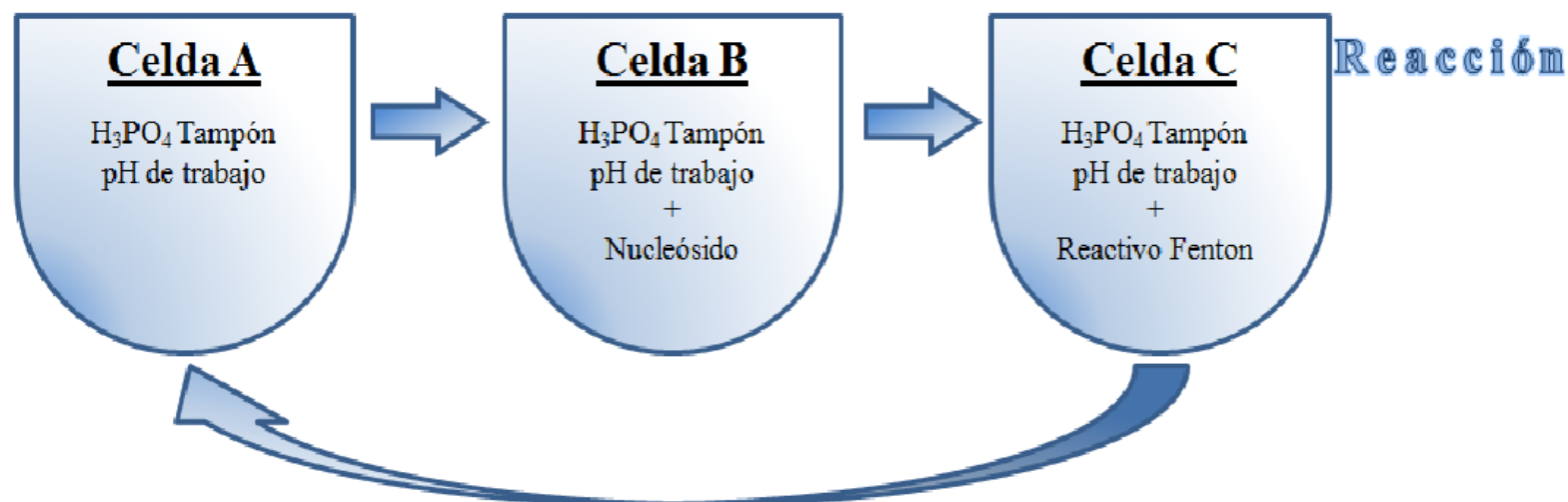
 $VC \text{ de } 0.2 \text{ a } 1.5 \text{ V}$
 5 ciclos
 $v_{\text{barrido}} = 0.1 \text{ V/s}$

Procedimiento de Trabajo para medir la CAPACIDAD ANTIOXIDANTE por simulación de ADN sobre electrodos de carbono

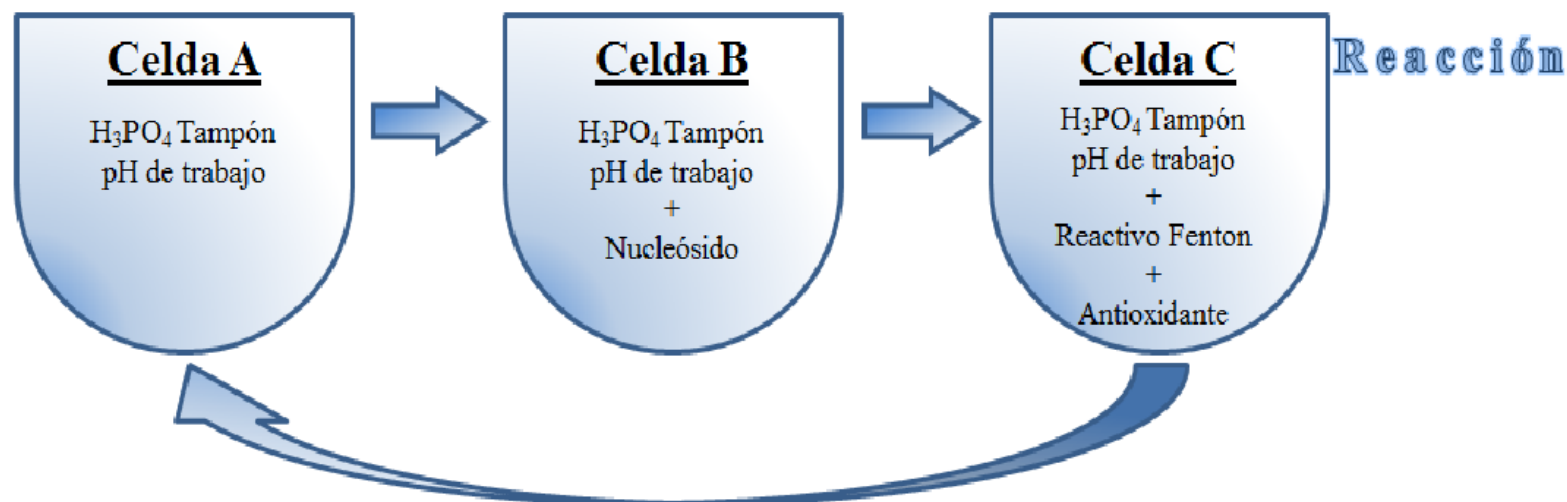


Póster: "SENSORS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY BASED ON THE IMMOBILIZATION OF ADENOSINE AND GUANOSINE ON GLASSY-CARBON AND CARBON PASTE ELECTRODES"

Procedimiento de Trabajo para medir la CAPACIDAD ANTIOXIDANTE por simulación de ADN sobre electrodos de carbón



Procedimiento de Trabajo para medir la CAPACIDAD ANTIOXIDANTE por simulación de ADN sobre electrodos de carbón

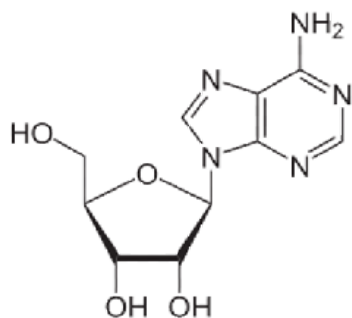


Póster: "SENSORS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY BASED ON THE IMMOBILIZATION OF ADENOSINE AND GUANOSINE ON GLASSY-CARBON AND CARBON PASTE ELECTRODES"

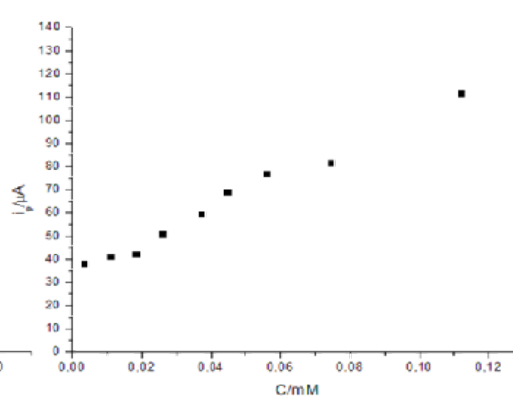
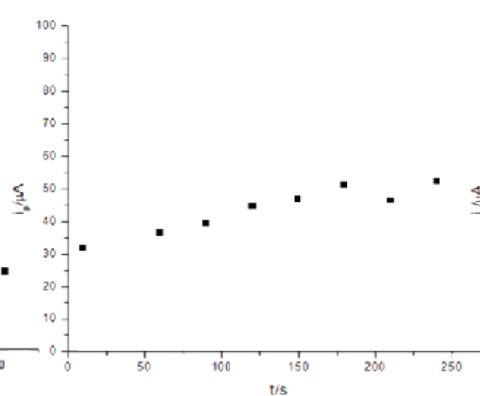
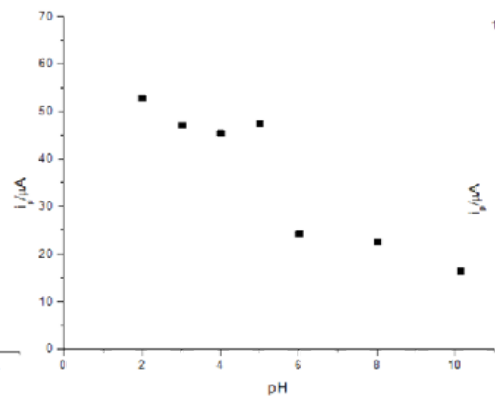
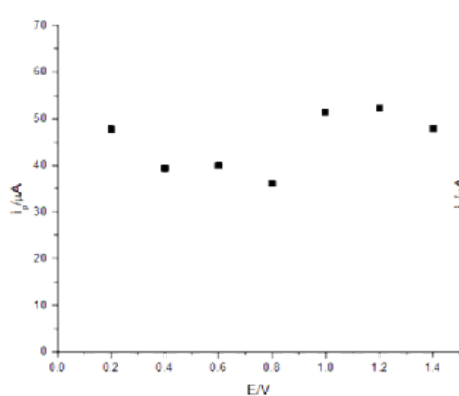
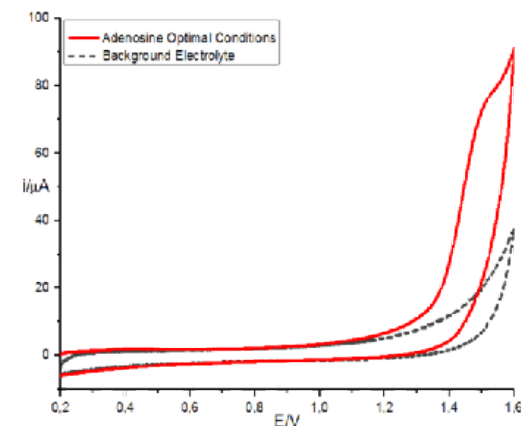
1^{os} Resultados



Optimización de Variables para la inmovilización de Adenosina y Guanosina sobre GCE



- $E_{\text{óptimo}} = 1.2 \text{ V}$
- $\text{pH}_{\text{óptimo}} = 5.0$
- $t_{\text{óptimo}} = 180 \text{ segundos}$
- $[\text{Adenosina}]_{\text{óptima en B}} = 0.056 \text{ mM}$

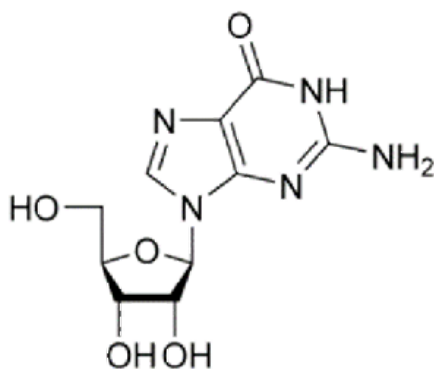


Póster: "SENSORS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY BASED ON THE IMMOBILIZATION OF ADENOSINE AND GUANOSINE ON GLASSY-CARBON AND CARBON PASTE ELECTRODES"

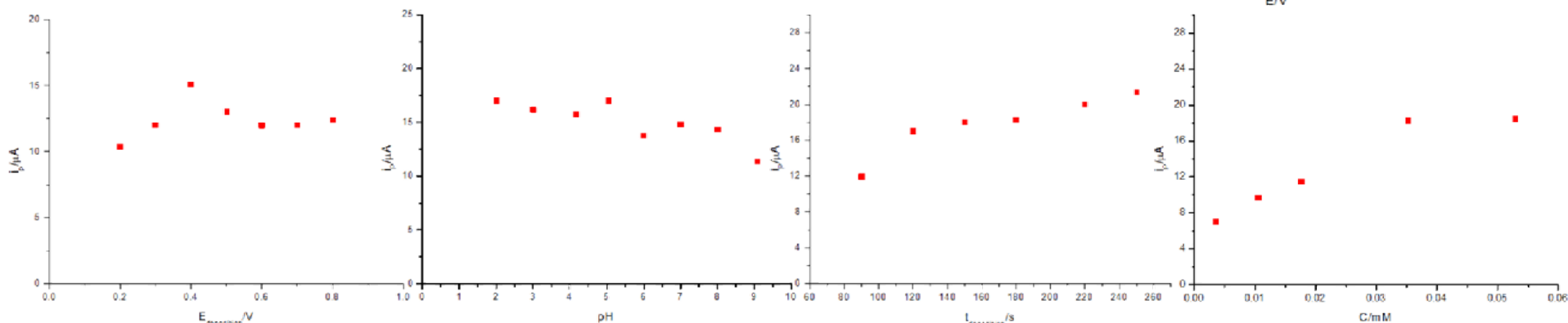
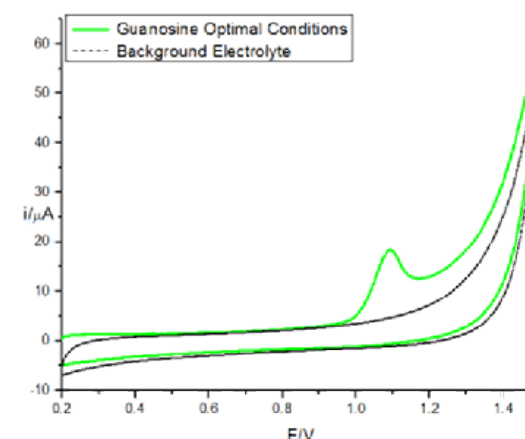
1^{os} Resultados



Optimización de Variables para la inmovilización de Adenosina y Guanosina sobre GCE



- $E_{\text{óptimo}} = 0.4 \text{ V}$
- $\text{pH}_{\text{óptimo}} = 5.0$
- $t_{\text{óptimo}} = 180 \text{ segundos}$
- $[\text{Guanosina}]_{\text{óptima en B}} = 0.035 \text{ mM}$

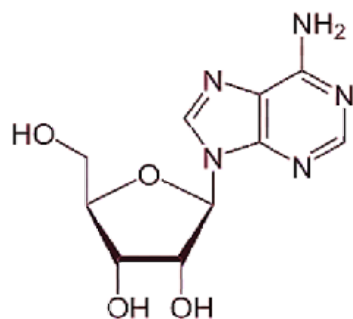


Póster: "SENSORS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY BASED ON THE IMMOBILIZATION OF ADENOSINE AND GUANOSINE ON GLASSY-CARBON AND CARBON PASTE ELECTRODES"

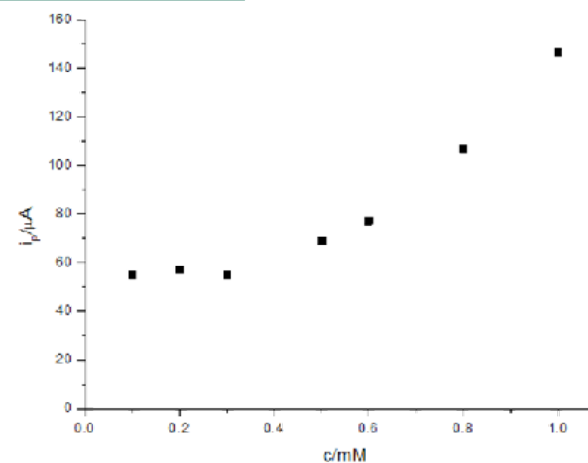
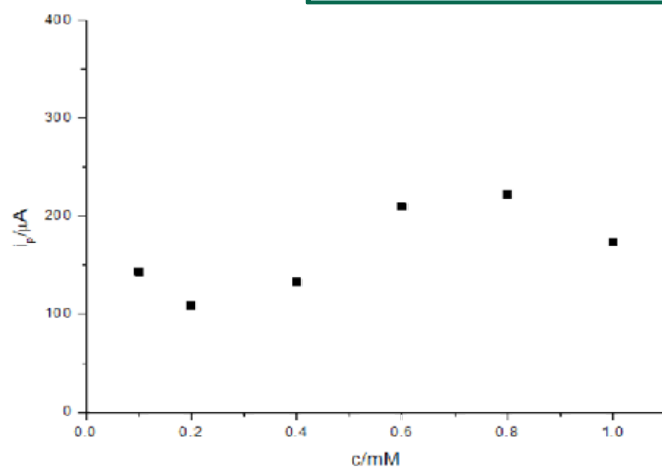
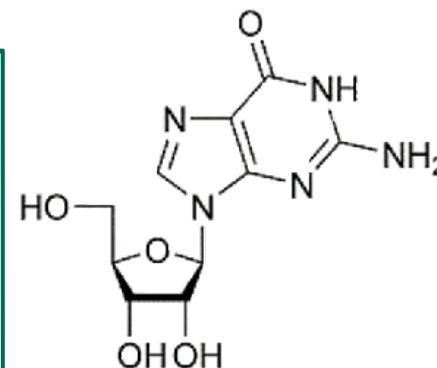
1^{os} Resultados



Optimización de Variables para la inmovilización de Adenosina y Guanosina sobre CPE



- | | |
|---|---|
| • $E_{\text{óptimo}} = 1.2 \text{ V}$ | • $E_{\text{óptimo}} = 0.4 \text{ V}$ |
| • $\text{pH}_{\text{óptimo}} = 5.0$ | • $\text{pH}_{\text{óptimo}} = 5.0$ |
| • $t_{\text{óptimo}} = 180 \text{ segundos}$ | • $t_{\text{óptimo}} = 150 \text{ segundos}$ |
| • $[A]_{\text{óptima en B}} = 0.8 \text{ mM}$ | • $[G]_{\text{óptima en B}} = 1.0 \text{ mM}$ |



Póster: "SENSORS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY BASED ON THE IMMOBILIZATION OF ADENOSINE AND GUANOSINE ON GLASSY-CARBON AND CARBON PASTE ELECTRODES"

1^{os} Resultados



Codeposición en GCE de las dos bases púricas SIMULTÁNEAMENTE



CODEPOSICIÓN:

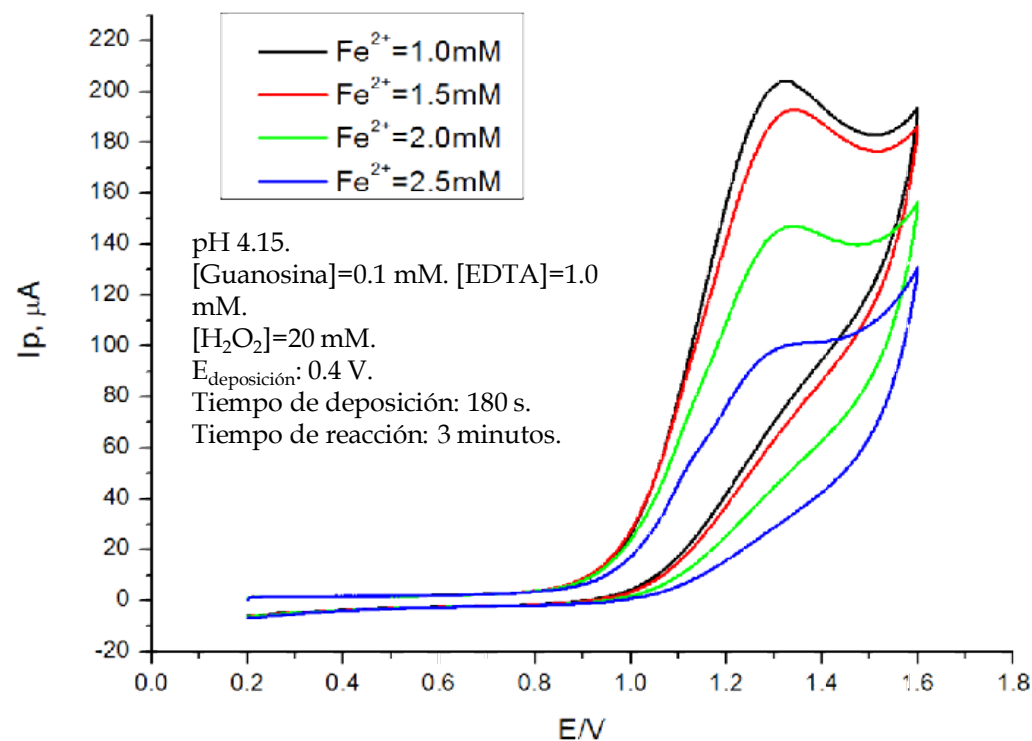
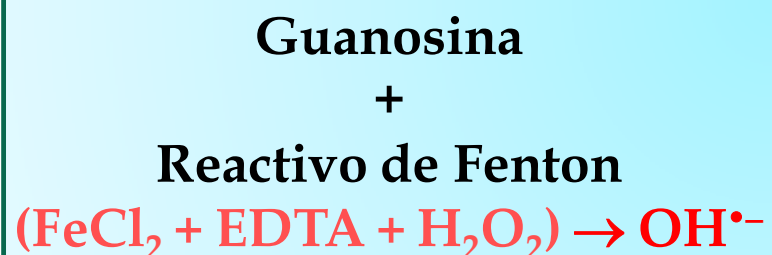
- La superficie del electrodo se ocupa por igual por ambos componentes.
- No se dan efectos sinérgicos ni tampoco inhibición de un nucleósido a otro.
- El electrodo alcanza antes la saturación originando que la cantidad de material depositado para cada nucleósido sea algo menor que en ausencia del otro adsorbato.

Póster: "SENSORS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY BASED ON THE IMMOBILIZATION OF ADENOSINE AND GUANOSINE ON GLASSY-CARBON AND CARBON PASTE ELECTRODES"

1^{os} Resultados



Validación como sensor de Capacidad Antioxidante en GCE (VC)



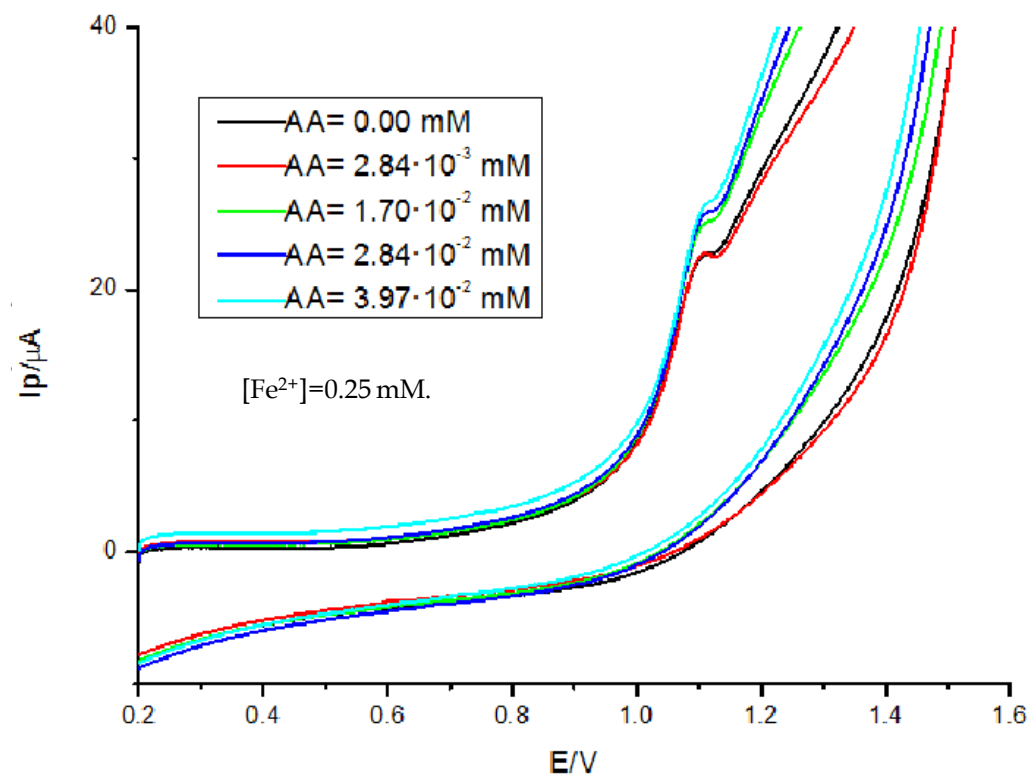
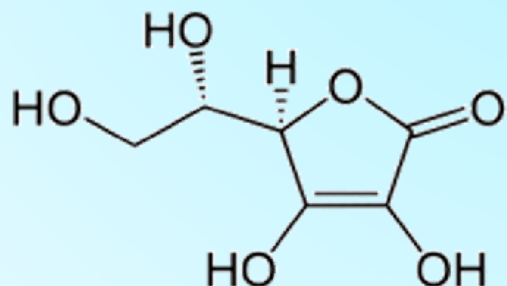
Póster: "SENSORS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY BASED ON THE IMMOBILIZATION OF ADENOSINE AND GUANOSINE ON GLASSY-CARBON AND CARBON PASTE ELECTRODES"

1^{os} Resultados



Validación como sensor de Capacidad Antioxidante en GCE (VC)

Guanosina
+
Reactivo de Fenton
 $(\text{FeCl}_2 + \text{EDTA} + \text{H}_2\text{O}_2) \rightarrow \text{OH}^{\bullet-}$
+
Ácido Ascórbico (antioxidante)



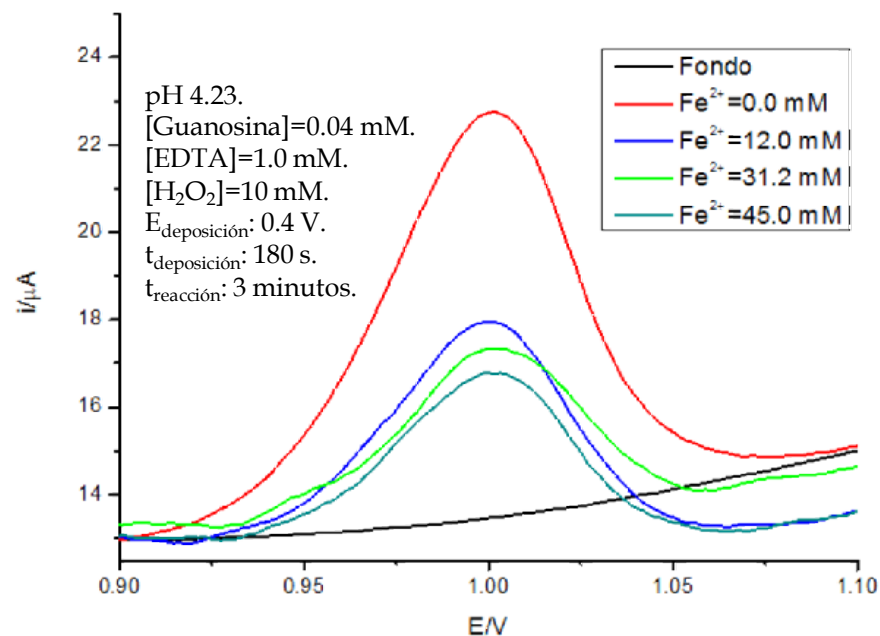
Póster: "SENSORS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY BASED ON THE IMMOBILIZATION OF ADENOSINE AND GUANOSINE ON GLASSY-CARBON AND CARBON PASTE ELECTRODES"

1^{os} Resultados



Validación como sensor de Capacidad Antioxidante en CPE (VPD)

Guanosina
+
Reactivo de Fenton
(FeCl₂ + EDTA + H₂O₂) → OH[•]-



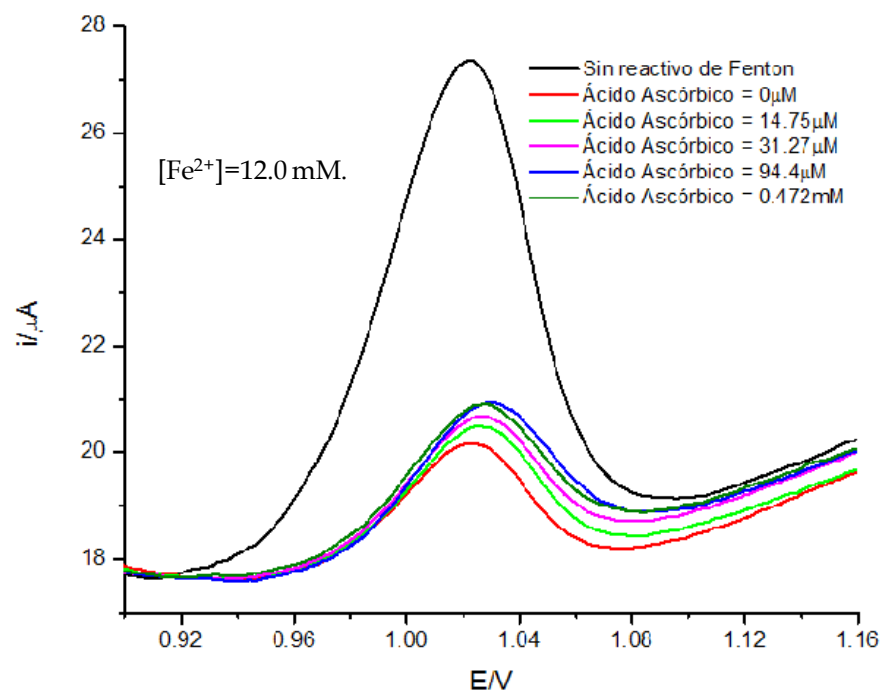
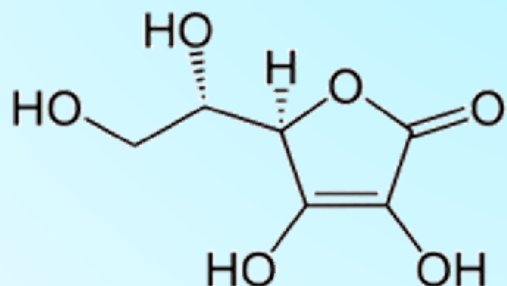
Póster: "SENSORS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY BASED ON THE IMMOBILIZATION OF ADENOSINE AND GUANOSINE ON GLASSY-CARBON AND CARBON PASTE ELECTRODES"

1^{os} Resultados



Validación como sensor de Capacidad Antioxidante en CPE (VPD)

Guanosina
+
Reactivo de Fenton
(FeCl₂ + EDTA + H₂O₂) → OH[•]-
+
Ácido Ascórbico (antioxidante)

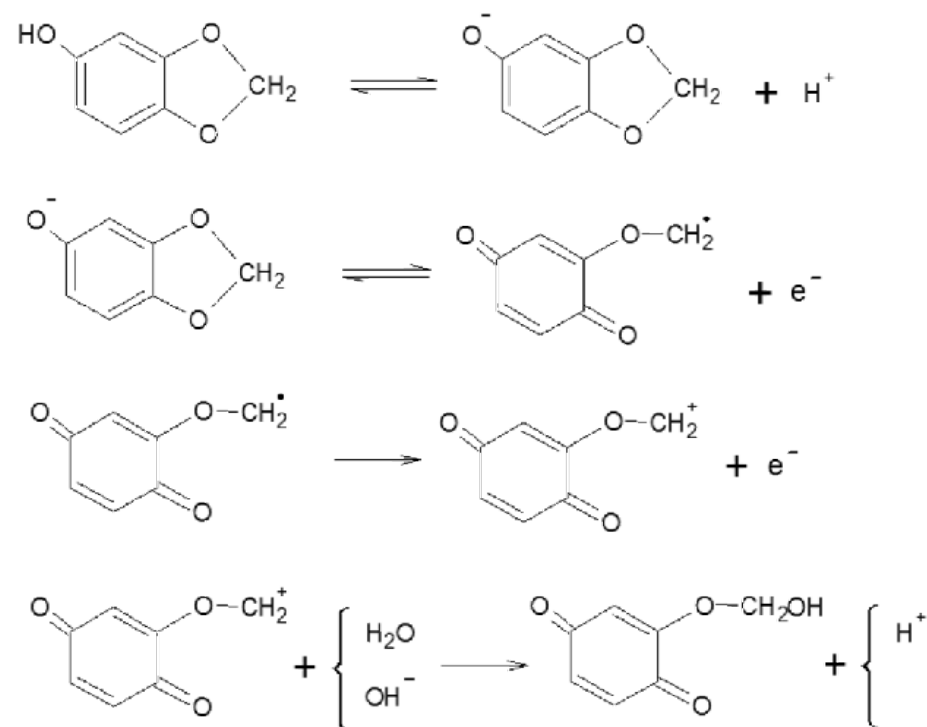
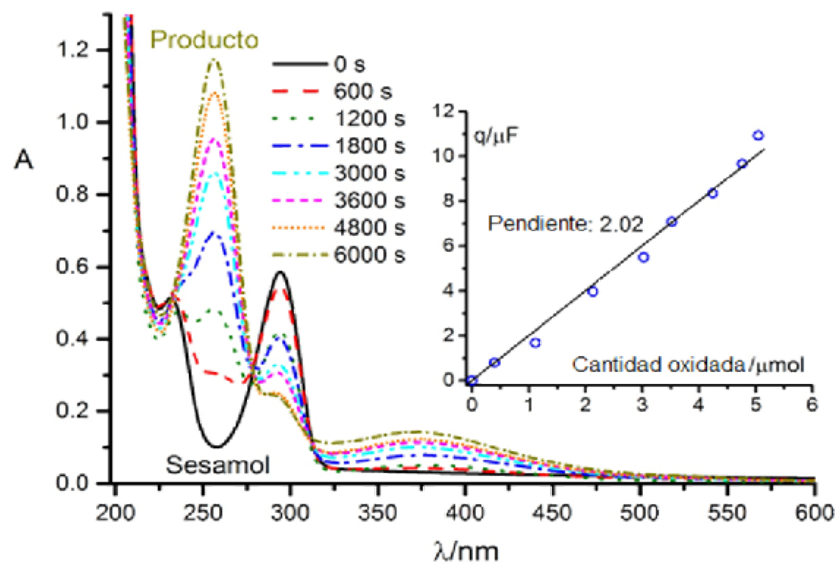
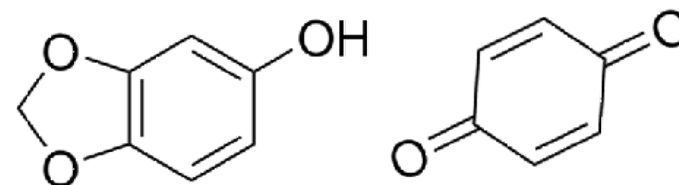
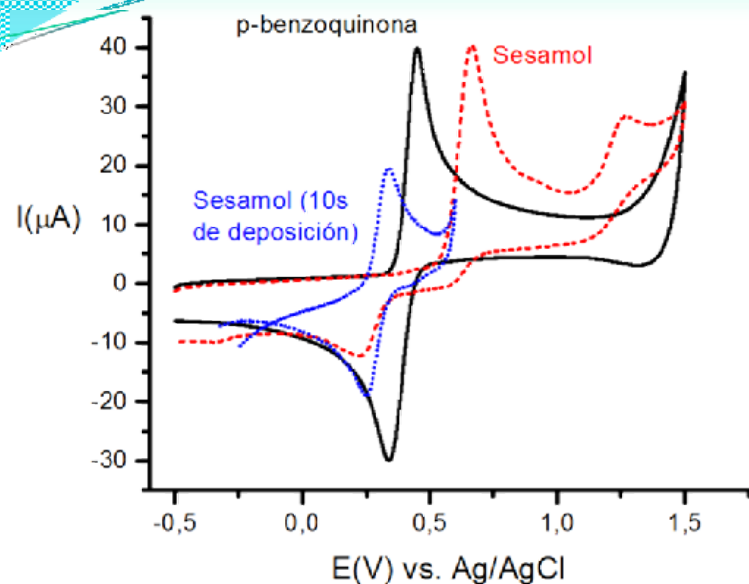


Póster: "SENSORS FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY BASED ON THE IMMOBILIZATION OF ADENOSINE AND GUANOSINE ON GLASSY-CARBON AND CARBON PASTE ELECTRODES"

1^{os} Resultados



Sesamol



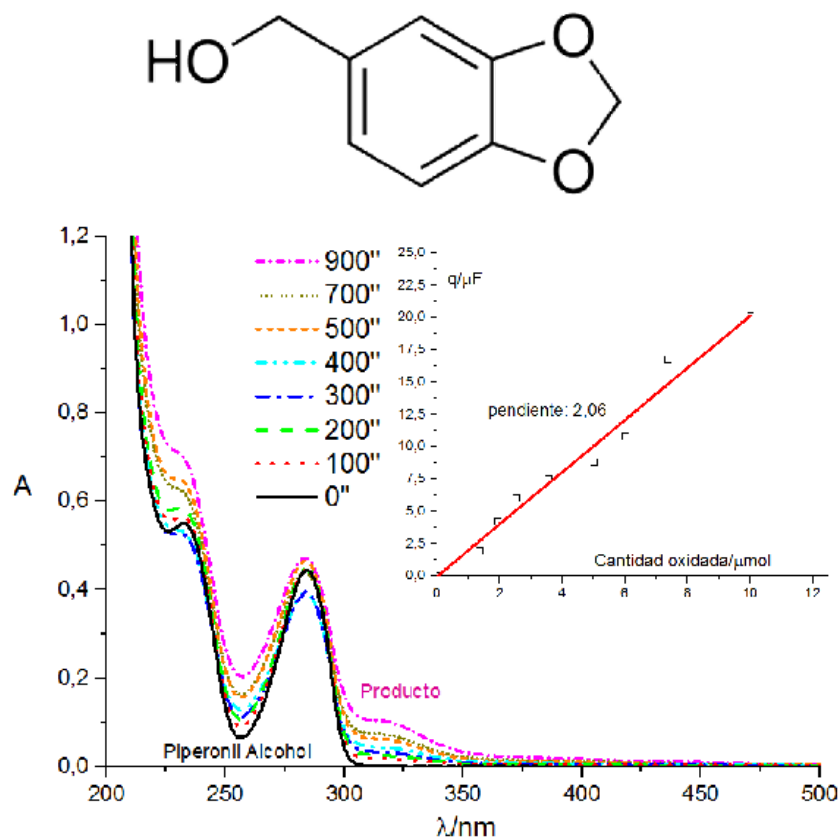
Póster: "ON THE ELECTROCHEMICAL OXIDATION MECHANISM OF SESAMOL ON A GLASSY CARBON ELECTRODE"

1^{os} Resultados

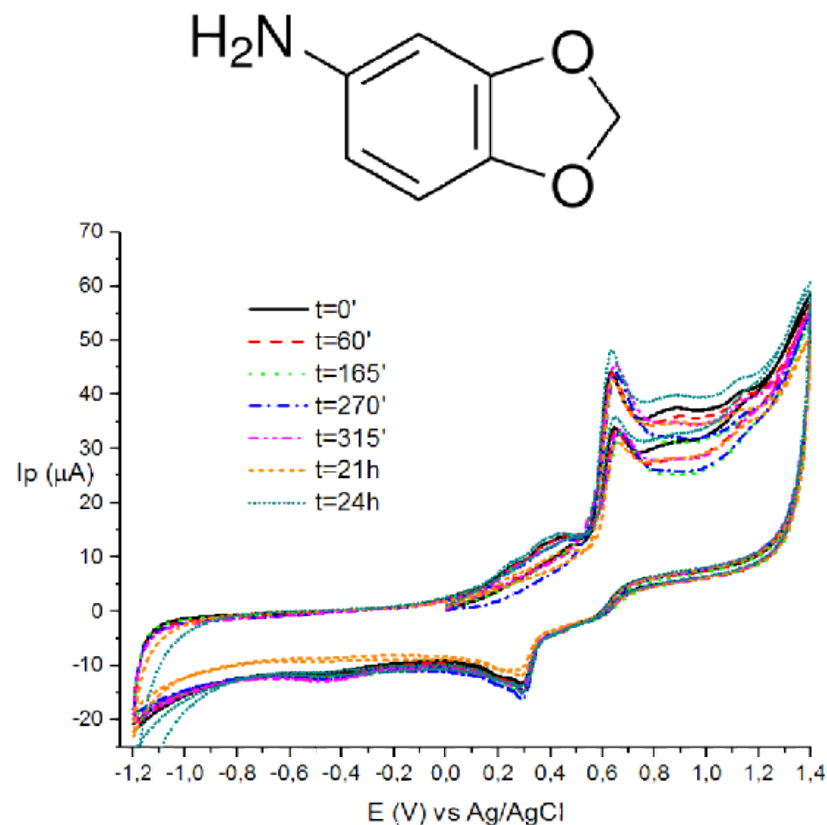


Análogos del Sesamol: Piperonil Alcohol y 3,4-Metilendioxianilina

Electrolisis a **E** constante



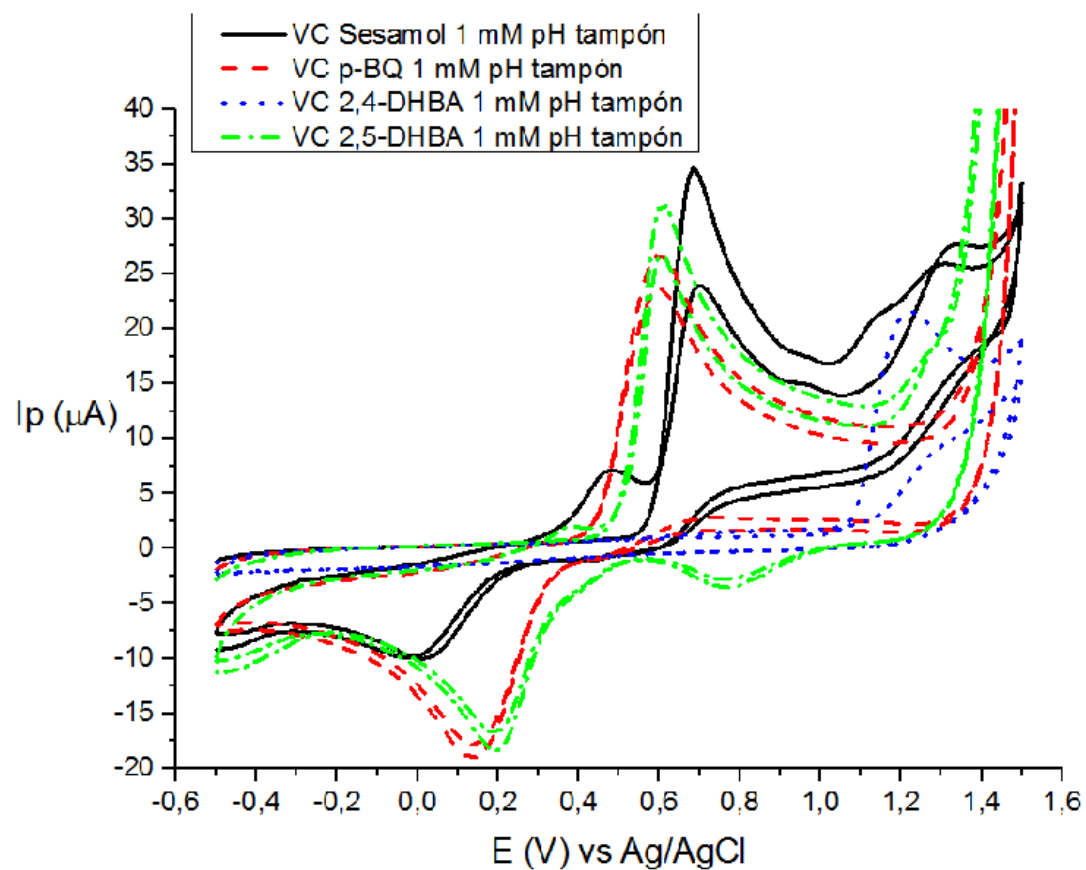
Estudio de **ESTABILIDAD** con el tiempo



1^{os} Resultados



Análogos del Sesamol: 2, 4 y 2,5-Dihidroxibenzaldehído

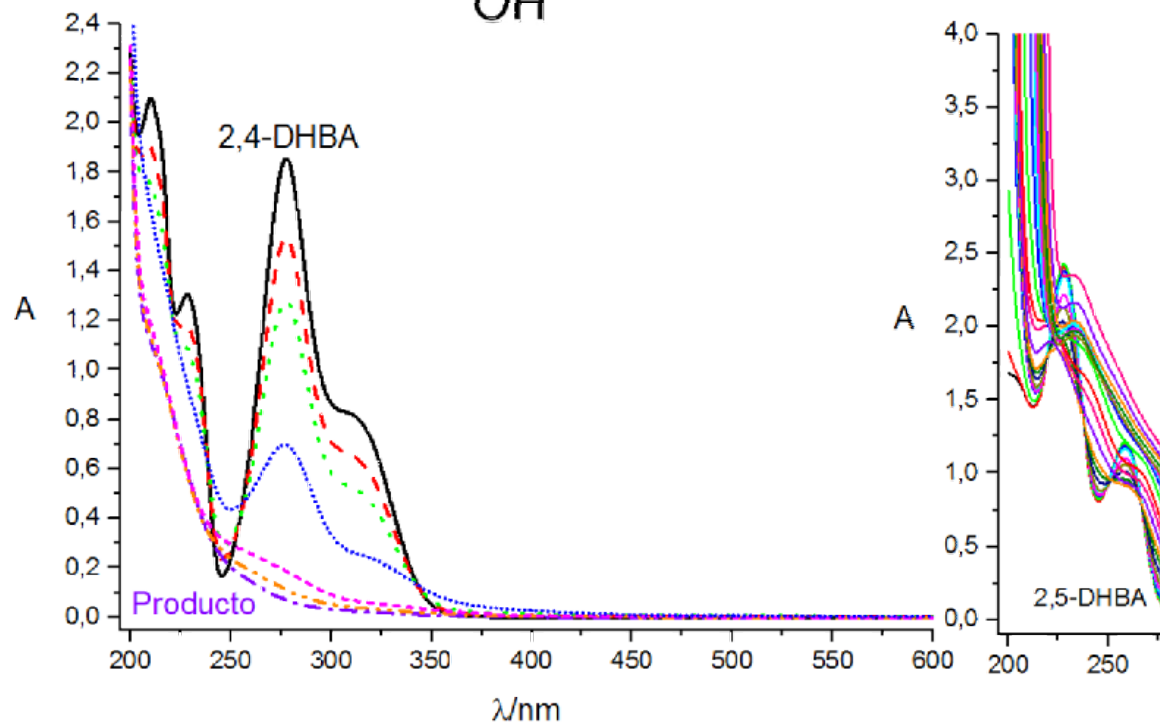
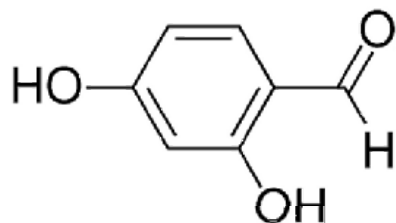


1^{os} Resultados

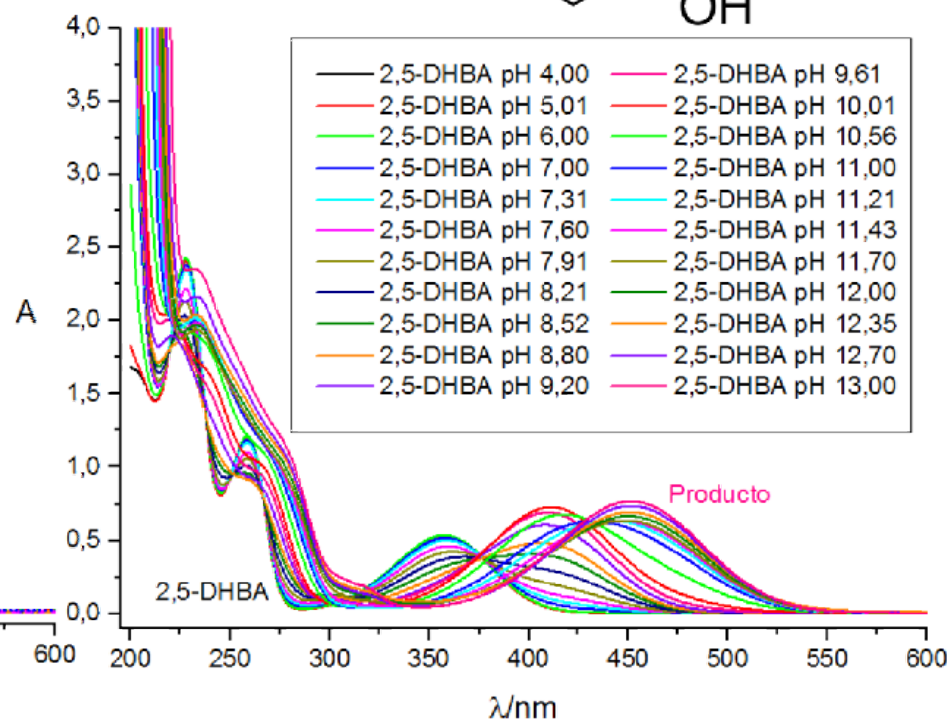
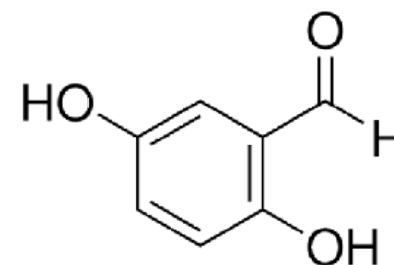


Análogos del Sesamol: 2, 4 y 2,5-Dihidroxibenzaldehído

Electrolisis a **E** constante



Pruebas con el **pH**



ELECTROCHEMICAL STUDIES OF DIETARY ANTIOXIDANTS AND ANALOGUES:

MECHANISMS OF OXIDATION AND ANTIOXIDANT CAPACITY



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Rafael Estévez Brito

Departamento de Química-Física

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

