

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

Informe Científico¹

PERIODO ²: 2011

Legajo N°:

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: Villata

NOMBRES: Laura Sofía

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel:

Dirección electrónica (donde desea recibir información): lauravillata@yahoo.com.ar

2. TEMA DE INVESTIGACION

Estudio cinético de oxidantes y antioxidantes de interés biológico

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Adjunto con director Fecha: 02/01/07

ACTUAL: Categoría: Adjunto con director desde fecha:

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: INIFTA, UNLP

Facultad: Ciencias Exactas

Departamento: Química

Cátedra:

Otros:

Dirección: Calle: Diag 113 y 64 N°: s/n

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel:

Cargo que ocupa: Investigador

5. DIRECTOR DE TRABAJOS. (En el caso que corresponda)

Apellido y Nombres: Mártire, Daniel

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: M. B. Gonnet CP: 1897 Tel:

Dirección electrónica: dmartire@inifta.unlp.edu.ar

¹ Art. 11; Inc. "e" ; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

² El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2008 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2006 al 31-12-2007, para las presentaciones bianuales.

Firma del Director (si corresponde)

Firma del Investigador

6. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.

Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

ESTUDIOS CINÉTICOS Y FOTOQUÍMICOS DE INTERÉS BIOLÓGICO Y AMBIENTAL.

En el presente período se continuaron los estudios de la capacidad antioxidante de sustancias presentes en diferentes productos naturales: flavonas (Apigenina) y flavanonas (Naringenina, Hesperidina, Hesperitina)[1,2]. Estas sustancias se encuentran presentes principalmente en cítricos, naranja, limón, mandarina y pomelo y también en orégano, tomillo y otras especies vegetales que se utilizan tanto como condimentos aromáticos así también como infusiones [3-5].

En una primera etapa se investigó la estabilidad de estas sustancias frente a la temperatura y luego frente al efecto de la radiación. Todas las sustancias son poco solubles en agua, por lo que se trabajó con soluciones de etanol o mezclas etanol/agua. Los estudios se llevaron a cabo analizando los cambios en sus espectros de absorción luego de incubar las muestras a temperatura constante en un termostato. En todos los casos no se registraron cambios incubando a temperaturas hasta 40 °C por el término de 2 horas.

En cuanto al efecto de la radiación se realizaron distintos tipos de estudios: como por un lado se pretendía estudiar la reacción de estas sustancias frente a radicales generados fotoquímicamente, se analizó el efecto de irradiar con números crecientes de flashes de luz las muestras en un equipo de flash fotólisis. Para las distintas sustancias no se observaron cambios espectrales al irradiar con 10 flashes. Pero al estudiar, a diferentes longitudes de onda, los cambios temporales de la absorbancia de las muestras luego de la irradiación con un flash se observa, para las diferentes sustancias el decrecimiento de la absorbancia de la muestra (blanqueo de la muestra) para luego volver a la absorbancia inicial. Este proceso ocurre en la escala de tiempo de los microsegundos. Se ha estudiado este efecto a diferentes concentraciones de las sustancias a fin de caracterizar el proceso fotoquímico observado. Para el estudio de la reacción de los antioxidantes con los radicales inorgánicos se trabajó con filtros en la camisa de la celda constituidos por soluciones de la misma sustancias antioxidantes de concentraciones del orden de 0.1 mM. Además del uso de filtros, se trabajó con concentraciones de las soluciones del orden de 0.01 mM a fin de estudiar el efecto de la concentración en la cinética de la reacción con las especies radicalarias. Los resultados indican que las constantes de velocidad de los decaimientos de los radicales aumentan con la concentración del antioxidante.

Por otro lado, a fin de estudiar el efecto de la irradiación continua sobre las muestras se construyó un dispositivo con leds de diferentes longitudes de onda de irradiación. Este dispositivo deberá perfeccionarse para poder lograr una intensidad de irradiación adecuada, por lo que nos encontramos aún probando diferentes sistemas con distintas geometrías y números de leds

El estudio de reacciones con radicales generados térmicamente fue realizado con el radical catión ABTS.+ Estos estudios se enfocaron a analizar los dos procesos observados con las sustancias antioxidantes: una etapa rápida para la cual se requirió el uso de un equipo de flujo detenido de dos jeringas asociado a un espectrofotómetro y una etapa lenta que se pudo estudiar a través de los cambios espectrales de las mezclas de reacción en períodos de tiempo de más de 30 minutos.

Ambos procesos fueron estudiados a temperatura ambiente y utilizando diferentes concentraciones de sustancias antioxidantes. Se investigó la dependencia de las constantes de velocidad para los dos procesos, observándose que aumentan con la

concentración de antioxidante. Los parámetros cinéticos pueden utilizarse como índice de la capacidad antioxidante de las muestras

Además se realizaron experimentos de flash-fotólisis de 1,4-naftoquinona en presencia de 1,4-naftoquinona y ácido fórmico para lograr la foto-reducción del HgCl₂ en solución acuosa. Los resultados se encuentran en el manuscrito adjunto que fue recientemente enviado para su publicación a Chemosphere.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

7.1 PUBLICACIONES. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

7.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

7.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION. *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.*

Photoinduced Reduction of divalent mercury by quinones.

Andrea M Berkovic; Sonia G Bertolotti; Laura S Villata; Mónica C Gonzalez; Reinaldo Pis Diez; Daniel Martire

Abstract

The laser flash photolysis technique ($\lambda_{exc} = 355 \text{ nm}$) was used to investigate the mechanism of the HgCl₂ reduction mediated by CO₂ radicals generated from quenching of the triplet states of 1,4-naphthoquinone (NQ) by formic acid. Kinetic simulations of the experimental traces support the proposed reaction mechanism. This system is of potential interest in the development of UV-A photoinduced photolytic procedures for the treatment of Hg(II) contaminated waters. The successful replacement of NQ with a commercial fulvic acid, as a model compound of dissolved organic matter, showed that the method is applicable to organic matter-containing waters without the addition of quinones.

Enviado a Chemosphere

Photophysics of hemicyanines.

Walter Massad¹, Heman Montejano¹, Norman Garcia¹,
Daniel Martire², Monica Gonzalez², Paula Caregnato², Laura Villata²,
Angel Costela³, Inmaculada Garcia-Moreno³

¹ Departamento de Química, UNRC, Rio Cuarto, Argentina.

² INIFTA, UNLP, La Plata, Argentina.

³ Instituto de Química-Física "Rocasolano", CSIC, Madrid, Spain.

ABSTRACT

The fluorescence emission spectra and fluorescence quantum yields of the hemicyanines LDS 698, LDS 722 and LDS 730 were measured in different media.

We were unable to detect the presence of any transient species in LFP experiments performed with Ar-saturated solutions of the dyes in methanol. However, in the presence of 0.08 M potassium iodide the absorption of the triplet states was clearly observed. Oxygen consumption measurements in the absence and presence of a chemical trap (furfuryl alcohol) in MeOH: H₂O 1:1 (V / V) solutions of the dyes containing KI confirmed the generation of singlet molecular oxygen

Enviado a Photochemistry and Photobiology

7.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.

Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.

One-electron oxidation of antioxidants. A kinetic-thermodynamic correlation.

Laura Villata, Andrea Berkovic, Monica Gonzalez and Daniel Martire
INIFTA, UNLP, La Plata, Argentina

ABSTRACT

The decay kinetics of the the ABTS radical cation in the presence of the antioxidants epicatechin (EC) and epigallocatechingallate (EGCG) shows a biexponential behavior. The faster process was studied with the stopped-flow technique. The observed apparent rate constant increases with increasing concentration of the antioxidants. For the slower processes the bimolecular rate constants for the reactions of the ABTS radical cation with EC and EGCG are $[(2.4 \pm 0.2) \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}]$ and $[(29 \pm 5) \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}]$, respectively.

A correlation between the Gibbs energy ΔG for the one-electron charge transfer reactions from several antioxidants to radical species and the rate constants of these reactions is proposed. This correlation can be used to predict rate constants of reactions of known ΔG values or viceversa.

7.5 COMUNICACIONES. *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

ESTUDIO CINÉTICO DE REACCIONES DEL RADICAL CATIÓN ABTS CON
SUSTANCIAS ANTIOXIDANTES

Yanina Berrueta Martínez, María Ángela Álvarez Manso, Laura Villata, Mónica González y Daniel Mártire

XVII Congreso de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Córdoba Argentina 3 al 6 de Mayo 2011

7.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS. *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda.*

8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

8.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS. *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.*

8.2 PATENTES O EQUIVALENTES. *Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

8.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRANSFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO. *Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

8.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*

8.5 *Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.*

9. SERVICIOS TECNOLÓGICOS. *Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.*

10. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

10.1 DOCENCIA

10.2 DIVULGACIÓN

11. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES. *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

12. DIRECCION DE TESIS. *Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.*

13. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS. *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*

XVII Congreso de Fisicoquímica y Química Inorgánica. Córdoba Argentina 3 al 6 de Mayo 2011

Se presentó el trabajo bajo la modalidad de POSTER
ESTUDIO CINÉTICO DE REACCIONES DEL RADICAL CATIÓN ABTS CON
SUSTANCIAS ANTIOXIDANTES
Yanina Berrueta Martínez, María Ángela Álvarez Manso, Laura Villata, Mónica
González y Daniel Mártire

14. **CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.** *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc.*
15. **SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO.** *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*
16. **OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO.** *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*
17. **DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.**
18. **ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA.** *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*
19. **TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.** *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

Profesor Adjunto (DS) Fisicoquímica CIBEX Facultad de Ciencias Exactas UNLP
Jefe de Trabajos Prácticos (DE) Area Fisicoquímica Facultad de ciencias Exactas UNLP (30% del tiempo total)
20. **OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES.** *Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período.*

Director del Proyecto de Extensión aprobado por la Facultad de Ciencias Exactas: Actividades para la enseñanza y el aprendizaje de la Química. Un vínculo de integración entre la Universidad y distintos Niveles de la Enseñanza.
21. **TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO.** *Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

ESTUDIOS CINÉTICOS Y FOTOQUÍMICOS DE INTERÉS BIOLÓGICO Y AMBIENTAL.

Palabras clave: poder antioxidante, polifenoles, radicales, cinética, fotoquímica

En el próximo período se pretende continuar los estudios de las reacciones entre compuestos polifenólicos y especies radicalarias generadas térmica o fotoquímicamente. Se completarán estudios con flavonas (Apigenina) y flavanonas (Naringenina, Hesperidina, Hesperitina)[1,2]. Estas sustancias presentes principalmente en cítricos, naranja, limón mandarina y pomelo, también en orégano, tomillo y otras

especies vegetales que se utilizan tanto como condimentos aromáticos así también para preparar infusiones presentan de conocida acción antioxidante [3-5].

En las plantas en las que se encuentran, se les atribuye a estas sustancias un rol de defensa y estudios in vitro indican que actúan como antioxidantes. Además se les atribuye a estas sustancias funciones importantes como la prevención del aumento en el nivel de colesterol, propiedades antiinflamatorias y algunos contribuyen a prevenir la disminución de la densidad ósea (osteoporosis) [6,7].

Se continuarán estudios de flash fotólisis a partir de soluciones de los polifenoles. Se trabajará con las flavonas y flavanonas mencionadas, a temperatura ambiente y termostatazando la celda de reacción y utilizando diferentes concentraciones de los compuestos. Se pretende con estos estudios caracterizar intermediarios de reacción y obtener la dependencia de las constantes de velocidad de los procesos con la naturaleza y con la concentración de los compuestos utilizados, así como el efecto de la temperatura sobre las reacciones..

A partir de estos ensayos podrán definirse las condiciones experimentales para completar el estudio de la reactividad de las sustancias con radicales fuertemente oxidantes, muy reactivos y selectivos como $\text{Cl}_2\cdot^-$ y $\text{Br}_2\cdot^-$. Se conoce que estos radicales al interactuar con compuestos polifenólicos dan lugar a la formación de radicales fenoxilos, como algunos ROS radicalarios.

Se pretende además realizar un estudio cinético a partir de especies radicalarias estables, como el radical catión ABTS, obtenido a partir del 2,2-azino bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato), y el radical DDPH obtenido a partir del 2,2-difenil-1-picrilhidrazil. Ambos se utilizan extendidamente para determinar la capacidad antioxidante de diferentes sustancias y productos naturales comparando la reactividad relativa de la sustancia con la de una solución de referencia, Trolox, derivado sintético análogo a la vitamina E pero soluble en agua. Nos proponemos realizar estudios cinéticos de la reacciones de estos radical con los diferentes polifenoles.

Ambas reacciones pueden estudiarse analizando la disminución de la absorbancia del respectivo radical coloreado, en el caso del radical catión ABTS a 700 nm mientras que el radical DDPH presenta una banda de absorción a 517 nm.[8,9]

En el transcurso de las investigaciones se propone:

(a) Determinar parámetros cinéticos a través del análisis de los decaimientos de los radicales en presencia de distintas concentraciones de antioxidantes.

(b) Correlacionar los resultados obtenidos con la estructura molecular y con resultados obtenidos con otros polifenoles.

(c) Correlacionar las constantes de velocidad con la variación de energía libre de la reacción de transferencia de carga entre distintas sustancias con acción antioxidante y diferentes radicales, a fin de poder predecir constantes de velocidad para este tipo de sustancias.

Se propone determinar en los diferentes procesos el efecto de temperatura, fuerza iónica, pH, concentración de reactivos, concentración de oxígeno disuelto, así como determinar la naturaleza química de los productos de reacción, a fin de plantear un mecanismo que permitirá comprender la relevancia que los intermediarios reactivos sobre los sistemas propuestos.

Las técnicas a emplear son espectrofotometría UV-Vis y flash-fotólisis para los estudios cinéticos, y técnicas cromatográficas y espectrofotométricas en el análisis de los productos de reacción. Se pretende extender las investigaciones a productos naturales con reconocidas propiedades antioxidantes.

[1]Flavonoids as Antioxidants. Pier-Giorgio Pietta J. Nat. Prod. 2000, 63, 1035-1042

[2] Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. Robert J Nijveldt, Els van Nood, Danny EC van Hoorn, Petra G Boelens, Klaske van Norren, and Paul AM van Leeuwen. Am J Clin Nutr 2001;74:418–25.

[3] Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications Chapter 4 Antioxidants from spices and herbs, N. Nalcatani. Editor Fereidoon Shahidi. 1997 AOCS Press

[4] Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Seung-Joo Lee a, Katumi Umano b, Takayuki Shibamoto c, Kwang-Geun Lee. Food Chemistry (2005) 91: 131–137.

[5] Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. H. J. D. Dorman, A. Peltoketo, R. Hiltunen and M. J. Tikkanen. Food Chemistry, 2003 83, 2: 255-262

[6] Hesperidin, a Citrus Flavonoid, Inhibits Bone Loss and Decreases Serum and Hepatic Lipids in Ovariectomized Mice. Hiroshige Chiba, Mariko Uehara, Jian Wu, Xinxiang Wang, Ritsuko Masuyama, Kazuharu Suzuki, Kazuki Kanazawa and Yoshiko Ishimi. J. Nutr. 2003 133: 1892-1897.

[7] Naringenin prevents dyslipidemia, apoB overproduction and hyperinsulinemia in LDL-receptor null mice with diet-induced insulin resistance. Diabetes (2009) doi:10.2337/db09-0634.

[8] Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical D. Villano, M.S. Fernandez-Pachon, M.L. Moya, A.M. Troncoso, M.C. Garcia-Parrilla. Talanta 71 (2007) 230–235

[9] A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Ozcan Erel Clinical Biochemistry 37 (2004) 277–285

Condiciones de la presentación:

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Investigador, la que deberá incluir:
- Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 21).
 - Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda “Informe Científico Período”.
 - Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.
- B. Envío por correo electrónico:
- Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: infinvest@cic.gba.gov.ar (puntos 1 al 21), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
 - En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.

Nota: El Investigador que desee ser considerado a los fines de una promoción, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.