



MEMORIA del PLAN DE INVESTIGACIÓN

DOCTORANDO/A: María Teresa Moreno Muñoz

DNI/PASAPORTE: 45942843K

DIRECTOR: José Miguel Rodríguez Mellado

CODIRECTOR:

PROGRAMA DE DOCTORADO: Electroquímica. Ciencia y Tecnología

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Electroquímica-ECyT UCO

DEPARTAMENTO: Química-Física y Termodinámica Aplicada

TÍTULO DEL PLAN DE INVESTIGACIÓN: Nuevas técnicas electroquímicas para la determinación de la capacidad antioxidante en extractos alimentarios basadas en el método CUPRAC

(Extensión máxima 3 páginas)

1. Describir brevemente las razones por las cuales se considera pertinente plantear esta investigación y, en su caso, la hipótesis de partida en la que se sustentan los objetivos del proyecto de tesis (máximo 20 líneas)

La industria alimentaria busca la satisfacción de los consumidores aplicando modificaciones técnicas a sus productos, por ejemplo, añadiendo sabores y aromas que proporcionan gustos y olores singulares. La adición de aromas está bajo continua observación y evaluación por la Comunidad Europea (Directiva 88/388/CEE), para garantizar que su consumo no representa ningún peligro para los seres humanos. Una característica principal poco estudiada en esta "observación continua" es su capacidad antioxidante (CAO), la cual es importante para prevenir múltiples enfermedades.

A pesar de que el oxígeno es imprescindible para la vida, puede ser también fuente de enfermedades a través de la producción incontrolada de radicales libres entre los que se encuentran las especies reactivas de oxígeno (denominadas comúnmente ROS), que dañan las macromoléculas y alteran los procesos celulares (funcionalidad de las membranas, producción de enzimas, respiración celular, inducción génica, etc.)

El desarrollo de métodos para evaluar la capacidad antioxidante es un objetivo en los últimos años. Para ello existen metodologías un tanto tediosas cuyos análisis son lentos. Como alternativa, las medidas electroquímicas nos ofrecen menores tiempos de respuesta y la interpretación de los resultados no es tan compleja. Debido a ello, se están desarrollando electrodos modificados con el fin de reducir costes y lograr condiciones experimentales más sencillas y rápidas.

2. Indicar los antecedentes y resultados previos que avalan la validez de la hipótesis de partida

El método CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) para la medida de CAO es un método ET (la reacción principal es una transferencia electrónica) que se basa en los cambios de absorción del complejo de neocuproína (Nc) con cobre (II) cuando es reducido por un antioxidante, formando el complejo reducido Nc-Cu(I) que absorbe a 450 nm [1,2]. El ión Cu(II) al ser oxidante mide la oxidación de los compuestos fenólicos, es decir, él se reduce captando un electrón y oxida a los compuestos fenólicos, pudiéndose comparar mediante los potenciales de oxidación obtenidos por voltametría cíclica. Resultados recientes muestran que los potenciales de oxidación bajos se asocian con una mayor facilidad de una molécula dada para la electrodonación y por tanto para actuar como antioxidante [3].

Se han propuesto métodos electroquímicos como los basados en la oxidación de H₂O₂ sobre electrodos de mercurio [4,5], realizando las medidas lejos de las condiciones fisiológicas. También

se han propuesto electrodos de carbón modificados con nanopartículas metálicas para la reducción de H_2O_2 [6-8]. Se han propuesto también medidas electroquímicas de la concentración de Ne-Cu(I) utilizando electrodos de carbón [9, 10], de las que se concluyó que la sensibilidad de estas técnicas es comparable a la del método fotométrico clásico, pero las condiciones experimentales (pH, disolvente no acuoso, baja fuerza iónica, elevado tiempo de incubación) son las mismas. El uso de un electrodo para reemplazar la neocuproína como indicador puede resolver estas limitaciones.

3. Enumerar brevemente y describir con claridad, precisión y de manera realista (es decir, acorde con la duración prevista de la tesis) los **objetivos concretos** que se persiguen

1. Uso del método CUPRAC con detección electroquímica para su aplicación a muestras coloreadas. Se pretende desarrollar una estrategia electroquímica para determinar CAO con el método CUPRAC en ausencia de neocuproína.
2. Modificación del método CUPRAC con nanopartículas de cobre sin y con polímero conductor. La generación "in situ" de iones Cu(II) debe acelerar su interacción con los antioxidantes y reducir o eliminar el tiempo de incubación necesario.
3. Uso del método CUPRAC modificado para su aplicación a muestras coloreadas e inestables, para las cuales no es posible usar el método CUPRAC clásico.
4. Determinación de la pungencia por técnicas electroquímicas; determinación de la capacidad antioxidante de extractos de plantas del género capsicum por técnicas espectroscópicas y electroquímicas. Relación pungencia-CAO.
5. Aplicación del método CUPRAC modificado a extractos de cáscaras de cítricos utilizados en alimentación y cosmética.

4. Especificar brevemente el diseño experimental (en su caso) o el trabajo empírico a realizar en términos de metodología y procedimientos objetivables (máximo 500 palabras), o indicar **3 publicaciones** de los últimos 6 años del director/es en las que se utilice dicha metodología.

Se utilizarán técnicas voltamétricas, como la voltametría cíclica, voltametría lineal, voltametría de pulso diferencial y voltametría de onda cuadrada, siendo ésta la que posee una mejor sensibilidad para llevar a cabo las medidas, y una mejor reproducibilidad de las señales obtenidas al monitorizar la señal proporcionada por el Cu^{+2} a Cu^0 (barrido de reducción). Así se consigue el estudio de la CAO de los distintos antioxidantes (ácido ascórbico, ácido gálico, trolox...), para reducir dicho par, de manera que cuanto mayor es la capacidad reductora de un antioxidante, más Cu^{+2} reducirá, y al aplicar un barrido de potencial, la señal proporcionada por la reducción del Cu^{+2} a Cu^0 será menor, al haber menos Cu^{+2} libre en la disolución para reducirse. En esta misma reducción se basa el método CUPRAC, donde se mide espectrofotométricamente la absorbancia a 450 nm del complejo formado por la neocuproína y el Cu^0 .

También se modificarán electrodos de carbono vitrificado con polímeros conductores (polifenazinas y/o polianilina) y nanopartículas de cobre, optimizando parámetros como el efecto del electrolito soporte, influencia del pH, velocidad y amplitud de barrido, tiempo de deposición de la nanopartícula y número de ciclos de la polimerización. Las técnicas empleadas para llevar a cabo dichos procedimientos serán voltametría cíclica (polimerización), cronoamperometría (electrodeposición de las nanopartículas) y voltametría de pulso diferencial (la cual elimina las corrientes faradaicas, siendo una técnica cuantitativa). Si se tiene éxito, este método podrá ser aplicado a muestras coloreadas e inestables, para las cuales el método CUPRAC espectrométrico conduce a resultados que no corresponden con la realidad.

Para medir la capacidad antioxidante de extractos de plantas del género capsicum se utilizarán técnicas espectroscópicas y electroquímicas (voltametría lineal), llevando a cabo la extracción de capsaicina de diversas muestras realizando la comparación del contenido de ésta en varias muestras. En la actualidad, este tipo de análisis es muy importante ya que tanto la extracción

como el estudio de la pungencia de la capsaicina pueden solucionar problemas asociados al uso de nuevos aditivos.

Las metodologías propuestas en este apartado se aplicarán en distintos ámbitos de la alimentación y de la cosmética. Concretamente se pretende aplicarlas a extractos de cáscaras de cítricos, que en los últimos años están recibiendo gran atención por parte de los investigadores y tecnólogos de estos campos.

Las referencias [3-8], publicadas por el director del trabajo y miembros de su equipo de investigación contienen una gran parte de la metodología propuesta.

5. Referencias bibliográficas (máximo 10, de gran relevancia para el trabajo que se emprende) que han debido ser mencionadas de manera precisa en los apartados 2 y 4

1. R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek, S.E. Karademir, J. Agric. Food Chem. 52 (2004) 7970
2. R. Apak, M. Özyürek, K. Güçlü, E.C. Apanoğlu, J. Agric. Food Chem. 64 (2016) 997
3. J.F. Arteaga, M. Ruiz Montoya, A. Palma, G. Alonso Garrido, S. Pintado, J.M. Rodríguez Mellado, Molecules 17 (2012) 5126
4. A. Palma, M. Ruiz Montoya, J.F. Arteaga, J.M. Rodríguez Mellado, J. Agric. Food Chem. 62 (2014) 582.
5. R. Estévez Brito, J.M. Rodríguez Mellado, A. Palma, M. Ruiz Montoya, J.F. Arteaga, J. Electrochem. Soc. 161 (2014) H854
6. P. Rivas, J.M. Rodríguez Mellado, S. Acta 171 (2015) 150-155.
7. J. Agrisuelas, J.J. García-Jareño, P. Rivas, J.M. Rodríguez-Mellado, F. Vicente, Electrochim. Acta 171 (2015) 165.
8. M.P. Rivas Romero, R. Estévez Brito, A. Palma, M. Ruiz Montoya, J.M. Rodríguez Mellado, R. Rodríguez-Amaro, J. Electrochem. Soc. 164 (2017) B97
9. A.N. Tufan, S. Baki, K. Güçlü, M. Özyürek, R. Apak, J. Agric. Food Chem. 62 (2014) 7111
10. A. Cárdenas, M. Gómez, C. Frontana, Electrochim. Acta 128 (2014) 113

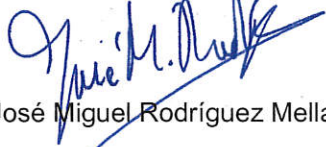
El/la doctorando/a



Fdo.: María Teresa Moreno Muñoz

Se informa que el proyecto de tesis puede ser desarrollado en el periodo señalado por la normativa de Doctorado de la UCO, y que cuenta con los medios y financiación necesarios.

El/la director/a

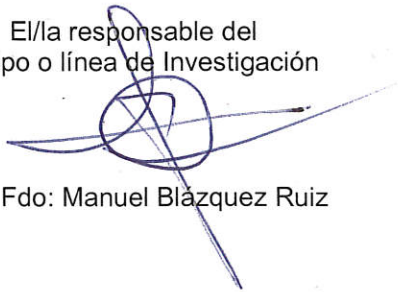


Fdo.: José Miguel Rodríguez Mellado

El/la director/a

Fdo.: _____

El/la responsable del
equipo o línea de Investigación



Fdo: Manuel Blázquez Ruiz

El/la responsable del grupo de investigación



Fdo.: José Miguel Rodríguez Mellado