



CONVOCATORIA DE ASIGNACIÓN DE FONDOS PARA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN PARA JÓVENES DE LA CÁTEDRA DE ECONOMÍA CIRCULAR DE LA UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA

MEMORIA JUSTIFICATIVA DEL PROYECTO

Beneficiario e investigador principal: **MANUEL SALGADO RAMOS**

Proyecto: **Conversión de coproductos de pistacho en compuestos antioxidantes intensificada por tratamiento combinado de agua subcrítica y radiación microondas – MICROPISAN**

Presupuesto adjudicado: **6.000 €**

Periodo ejecución: 01/09/2024 – 31/12/2024

1. ACTIVIDADES DESARROLLADAS

En MICROPISAN se ha llevado a cabo una ruta de aprovechamiento para el residuo de la cáscara verde de pistacho (CVP) basada en la conversión de éste hacia productos con potencial antioxidante a través de un tratamiento combinado de agua subcrítica y radiación microondas (*Microwave-Assisted, Subcritical Water Extraction, MA-SWE*) (**Figura 1**).



Figura 1. Cáscara verde de pistacho (CVP) tras proceso de secado (izquierda); secado + molienda (centro); y reactor microondas utilizado para MA-SWE (derecha).

En líneas generales se ha aplicado la metodología de respuesta-superficie basada en un diseño experimental Box-Behnken para alcanzar la máxima eficiencia de extracción. Para ello, se han ajustado las variables de presión, temperatura y tiempo de extracción, cuya combinación dentro de este modelo derivó en un total de 16 ejecuciones experimentales. Dicha eficiencia se ha evaluado en base a la capacidad antioxidante y cantidad de polifenoles totales de cada uno de los extractos recuperados, calculados mediante técnicas espectrofotométricas. Finalmente, se ha llevado a cabo una extracción mediante tratamiento térmico convencional con diferentes disolventes (agua, etanol), a modo de comparación con MA-SWE. Con ello se pretendía corroborar la eficiencia y sostenibilidad de este último protocolo frente a los métodos tradicionales de extracción.

El proyecto se ha desarrollado en la Facultad de Ciencias y Tecnologías Químicas de Ciudad Real, en el laboratorio del grupo de investigación de *Química Orgánica Sostenible – Química de*



Alimentos y Residuos Agroalimentarios liderado por el Prof. Andrés Moreno. El grupo IBEROPISTACHO fue el responsable del suministro de CVP para la ejecución del mismo.

2. RESULTADOS ALCANZADOS

Como se ha comentado, el diseño Box-Behnken derivó en un total de 16 ejecuciones experimentales mediante diferentes combinaciones de temperatura (120-170°C), tiempo (4-12 min), y presión (5-40 bar) (**Tabla 1**). Se consideraron los valores extremos de cada intervalo, así como el valor central del mismo, teniendo así un total de 3 valores por cada una de las variables. Durante la ejecución de dicho modelo, se midieron tres respuestas para evaluar la eficiencia de cada proceso: el rendimiento de extracción (%), el contenido total de compuestos fenólicos (TPC, *Total Phenolics Content*) mediante ensayo Folin-Ciocalteu, y la capacidad antioxidante total por % de inhibición del extracto antioxidante sobre el radical DPPH (**Tabla 1**).

Tabla 1. Diseño Box-Behnken ejecutado para la conversión de CVP mediante tratamiento MA-SWE y eficiencia de cada proceso en cuanto a rendimiento de extracción, capacidad antioxidante total, y cantidad total de compuestos fenólicos.

	P (bar)	T (°C)	t (min)	Rto. (%)	TPC (mg GAE/g) ^a	Inhib. DPPH (%)
1	40	170	8	45	217.02	39.84
2	22.5	120	12	46	177	25.74
3	22.5	145	8	50.5	190.70	32.97
4	5	120	8	54	174.46	33.15
5	5	145	4	56	193.2	32.48
6	40	120	8	47	165	33.58
7	22.5	145	8	53	190.5	30.43
8	5	145	12	55.2	184.2	38.63
9	40	145	12	50.9	193.68	29.14
10	22.5	170	4	45	218	34.31
11	22.5	145	8	51.7	189	29.31
12	5	170	8	42.5	190	30.20
13	40	145	4	55.7	198.52	37.45
14	22.5	145	8	53	185.64	39.06
15	22.5	120	4	55.6	190	28.80
16	22.5	170	12	43	223	32.67

a. mg GAE/g: mg equivalentes de ácido gálico (*Gallic Acid Equivalents*) / g peso seco de CVP.

La reproducibilidad y validez del modelo se corrobora mediante la ejecución de 4 experimentos en idénticas condiciones de presión, temperatura y tiempo que engloban el valor central de cada una de las variables (exp. 3, 7, 11 y 14, **Tabla 1**). Tal y como se observa, el tratamiento MA-SWE



bajo estas condiciones condujo a resultados similares en cuanto a rendimiento, TPC, e inhibición del DPPH.

El software *Design Expert 11* se utilizó para llevar a cabo el diseño experimental en base a las variables establecidas (presión, tiempo, temperatura). Una vez ejecutado el modelo, los datos experimentales recogidos en la **Tabla 1** en cuanto a rendimiento, TPC, y % inhibición DPPH se introducen de nuevo en dicho software, y el programa realiza una optimización basada en criterios como maximizar la respuesta, minimizar el error, o alcanzar un objetivo específico. De este modo, se pueden conocer las condiciones óptimas de extracción en cuanto a temperatura, tiempo y presión. En este proyecto nos hemos centrado en obtener **la máxima recuperación de compuestos fenólicos totales (TPC)** con capacidad antioxidante pero con el **mínimo rendimiento de extracción** posible, ya que dicho rendimiento engloba otros compuestos recuperados mediante MA-SWE, como azúcares o pectinas, los cuáles se descartaron para este estudio. Los valores en cuanto a inhibición del DPPH no se consideraron en profundidad, aunque sirvieron para corroborar el potencial antioxidante de los extractos recuperados.

En base a los datos anteriores (**Tabla 1**), los valores teóricos óptimos de presión, temperatura y tiempo que proporciona *Design Expert 11*, de acuerdo a los criterios establecidos, se resumen en la **Tabla 2**. Junto a estos, se muestran los valores de rendimiento y TPC teóricos que se obtendrían al realizar el tratamiento MA-SWE en esas condiciones, según el modelo.

Tabla 2. Valores óptimos teóricos de rendimiento de extracción y compuestos fenólicos totales (TPC) de acuerdo con el diseño Box-Behnken ejecutado (software *Design Expert 11*) vs. valores experimentales obtenidos en el laboratorio en las condiciones óptimas de extracción.

	P (bar)	T (°C)	t (min)	Rto. (%)	TPC (mg GAE/g)
<i>Design Expert 11</i>	27.89	170	11.54	43.71	223
Experimental MA-SWE (óptimos)				40.15	229.02

De acuerdo con el modelo, las **variables óptimas de presión (27.89 bar)**, **temperatura (170°C)**, y **tiempo (11.54 min)** que nos proporciona *Design Expert 11* deben de conducir a un **rendimiento de extracción de 43.71%** y un contenido total de compuestos fenólicos (TPC) de **223 mg GAE/g**.

Estos resultados fueron corroborados de forma experimental, por triplicado, a través de un nuevo tratamiento MA-SWE en estas condiciones óptimas. Tal y como se observa, los resultados obtenidos (rendimiento de extracción, TPC) se muestran similares a los teóricos que proporciona *Design Expert 11* (rendimiento: 40.15%; TPC: 229.02 mg GAE/g, **Tabla 2**).

Finalmente, se llevó a cabo una tratamiento convencional para la recuperación de antioxidantes de CVP a modo de comparación con MA-SWE. En primer lugar se utilizó una mezcla hidroalcohólica al 50%, puesto que según diversos estudios en el campo esta composición es la más efectiva en condiciones convencionales para la extracción de antioxidantes. Seguidamente, se utilizó solo agua para ver la influencia del disolvente orgánico (etanol en este caso). Los resultados se muestran en la **Tabla 3**.



Tabla 3. Rendimiento de extracción y cantidad total de compuestos fenólicos obtenidos tras conversión de CVP mediante MA-SWE y tratamiento convencional (CE, *Conventional Extraction*).

Método	P (bar)	T (°C)	t (min)	Rto. (%)	TPC (mg GAE/g)
CE (EtOH: H ₂ O 50%)	-	50	60	47.75	197.10
CE (H ₂ O)	-	50	60	36	179.91
MA-SWE	27.89	170	11.54	40.15	229.02

Estos datos recogidos en la **Tabla 3** corroboran la **eficiencia del protocolo MA-SWE** para la extracción de compuestos fenólicos con capacidad antioxidante en comparación a los métodos tradicionales de extracción, observando como el efecto combinado de la radiación microondas y agua en estado subcrítico (170°C, 27.89 bar) es capaz de aumentar el TPC hasta en un 21% en comparación con agua a 50°C en un tiempo de procesado 5 veces menor (11.54 min con MA-SWE vs. 60 min con H₂O, CE). La utilización de una mezcla hidroalcohólica no condujo a mejoras notables con respecto al CE-H₂O, con resultados en cuanto a TPC aún alejados de los obtenidos con MA-SWE (229.02 vs, 197.10 mg GAE/g).

3. GRADO DE CUMPLIMIENTO DEL PLAN DE TRABAJO Y OBJETIVOS PROPUESTOS

En base al plan de trabajo establecido en la propuesta inicial, se han cumplido los objetivos en lo relativo a:

- Acondicionamiento y caracterización del residuo de CVP para su procesado.
- Diseño experimental mediante la metodología de respuesta-superficie (modelo Box-Behnken) y ejecución de la misma para fijar las condiciones ideales de extracción.
- Evaluación de TPC y capacidad antioxidante de los extractos recuperados.
- Validación de las condiciones óptimas de manera experimental de acuerdo a la información suministrada por *Design Expert II*.
- Divulgación de resultados en congreso internacional, en relación con la temática del proyecto.

Las tareas en lo referente a la caracterización de los extractos por RMN y HPLC, y evaluación del impacto ambiental en cuanto a economía atómica, productividad de masa del proceso, o factor medioambiental (métricas química verde, GCPMs) se están terminando de ejecutar. Tras esta evaluación, se pretende llevar a cabo una pequeña prueba a mayor escala con MA-SWE para evaluar la escalabilidad de la metodología desarrollada.

Se puede concluir por tanto que el **grado de cumplimiento de los objetivos propuestos es casi total** dentro del periodo de ejecución del proyecto.

4. DIVULGACIÓN DE RESULTADOS

Se presentaron diversos estudios en relación con la temática de MICROPISAN en el **5th Iberoamerican Congress on Biorefineries (5-CIAB)** (internacional) que se desarrolló en Jaén durante los días 2-4 de octubre de 2024:



1. González-Serrano, D.J.^{1,*}, Benmebarek, I.E.¹, Moreno, A., Cabañas, B. *Towards an integrated food biorefinery: Valorization of alliaceous agro-industrial by-products by isolation of polysaccharides, natural colorants, and platform chemicals*. Comunicación oral

2. Benmebarek, I.E.^{1,*}, González-Serrano, D.J.¹, Moreno, A., Sánchez-Verdú, M.P. *Optimizing the microwave-assisted hydrothermal extraction of pectin from tangerine by-products and its physicochemical, structural, and functional properties*. Póster.

(¹ miembro del proyecto; * : ponente)

5. UTILIZACIÓN DEL PRESUPUESTO

Se desglosan a continuación los gastos que se han llevado a cabo durante la ejecución del proyecto:

- GASTOS DE VIAJES Y DIETAS: **370.56 €**

El IP del proyecto, el Dr. Manuel Salgado Ramos, se encontraba desarrollando su actividad en la Universitat de València como contratado postdoctoral Margarita Salas de la UCLM durante el periodo de ejecución del proyecto. Los gastos en cuanto a viajes y dietas se corresponden con las visitas de éste al laboratorio del Prof. Andrés Moreno para la supervisión y preparación de las actividades a desarrollar.

- GASTOS EN MATERIAL FUNGIBLE E INVENTARIABLE: **4909.00 €**

1. Ordenador sobremesa Intel 17 16 RAM SSD 512 – **781 €**

Este equipo se adquirió para ser acoplado al equipo de análisis termogravimétrico (TGA) que se utiliza habitualmente en el laboratorio para la caracterización de muestras de biomasa.

2. Módulo IS50 LASER ASSEMBLY – **4.128 €**

Se trata de un láser para la caracterización mediante análisis infrarrojo (IR), el cual va acoplado al anterior equipo TGA (TGA-IR). Se utiliza para la caracterización de muestras de biomasa de manera frecuente en el laboratorio.

Se han pasado los gastos de **asistencia a congresos** propuestos en la memoria inicial a **gastos de fungible y/o inventariable** ante la necesidad de hacer funcionar el instrumento TGA-IR para la caracterización de las muestras y otros ensayos.

Estos gastos suman un **total de 5279.56 €**, quedando por tanto un **remanente de 720.44 €**.

En este punto cabe mencionar que, junto con estos dos pedidos, se realizó otro por valor de 720.06 € en relación con los reactivos 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline) y 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. Dicho pedido no se tramitó ya que la casa comercial correspondiente no envió la factura dentro de la fecha límite para la compra de material y/o reactivos en el ejercicio 2024.

6. ACTIVIDADES A CORTO PLAZO

Se está trabajando en la elaboración de **un artículo científico** para su envío a una revista del JCR dentro del área de química o ingeniería medioambiental. Para ello, se están terminando de ejecutar algunas de las tareas propuestas, como la caracterización mediante HPLC o RMN, o la evaluación del impacto medioambiental de los procesos mediante las métricas de la química verde.