



Valorización de los restos florales de la producción de azafrán



ETSI Agrónomos, Albacete

- Gonzalo L. Alonso
- Jéssica Serrano
- Ana M^a Sánchez
- Manuel Carmona
- Luana Maggi
- Andrés Alvarruiz



Facultad de Veterinaria
Universidad de Murcia

- M^a Antonia Murcia
- Magdalena Martínez-Tomé



Instituto de Química de Alimentos, Alemania

- Peter Winterhalter
- Gerold Jerz

Facultad de Farmacia
U. Complutense Madrid

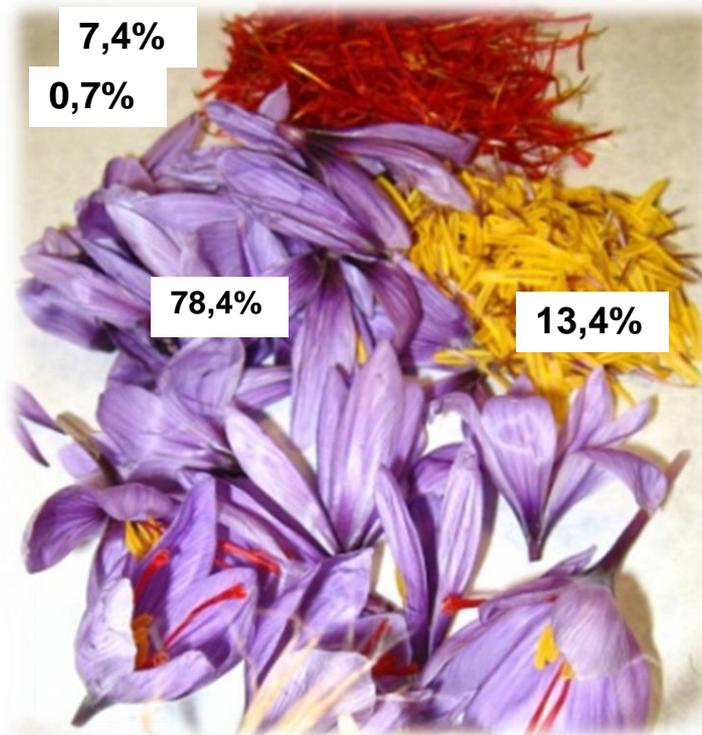
- Luis García-Diz

Instituto de Bioingeniería
U. Miguel Hernández, Elche

- Eugenio Vilanova
- Carmen Estevan
- M. Ángel Sogorb



**173250 flores de azafrán
unos 68 kg**



**5 kg de estigmas frescos
1 kg de azafrán especia**



63 kg de restos florales

- Producción tradicional

- Pequeñas parcelas familiares
- Dispersión
- Floración en un mes

✘ Aprovechamiento



- **Mecanización y cultivo forzado**
 - > Capacidad productiva
 - > Cantidad de restos florales
- **Necesidad de retirada (medio ambiente)**
 - ✓ **Aprovechamiento**



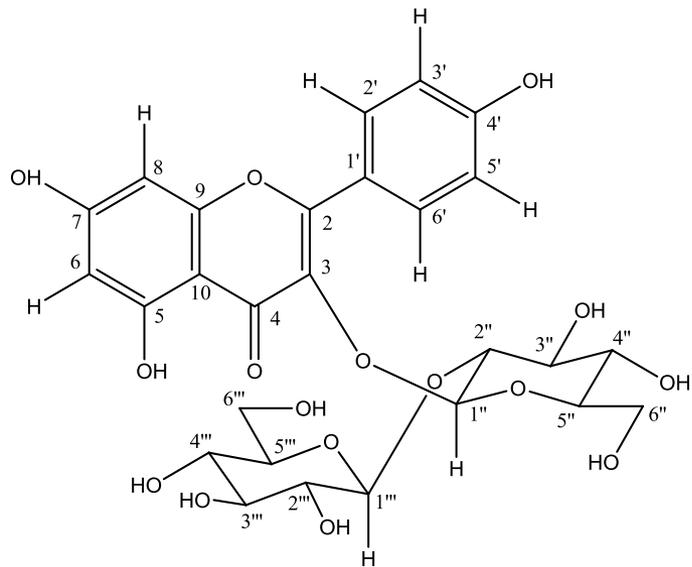
■ **Composición química**

■ **Compuestos fenólicos**

FLAVONOLES

Contenido total: 20,2 mg equiv kaempferol 3,7-di-O-glucósido / g tépalos (masa seca)

- Kaempferoles glucosilados → > 70%
- Kaempferol 3-O-soforósido → 55,4%



Kaempferol 3-O-soforósido

Menor concentración

- Glucósidos de
- Miricetina
 - Quercetina
 - Ramnetina
 - Isoramnetina

Otros flavonoides

- Glucósido de apigenina
- Glucósido de naringenina y su aglicona
- Glucósido de taxifolina

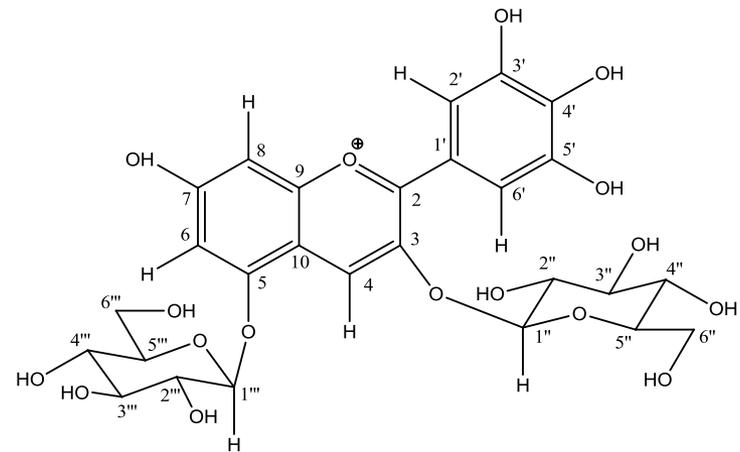
Composición química

ANTOCIANINAS

Mayoritaria \longrightarrow Delfinidina diglucósido,
glucosilaciones en C-3 y C-5 ó C-3 y C-7
 \searrow 81,9% de antocianinas totales

Otras antocianinas identificadas

- Petunidina 3,5 ó 3,7-di-O-glucósido
- 3-O-glucósidos de delfinidina, petunidina y malvidina
- 3-O-rutinósidos de delfinidina y petunidina
- 3,7-di-O-malonilglucósidos de petunidina y malvidina
- Delfinidina 3-O-glucósido-5-O-malonilglucósido



Delfinidina 3,5-di-O-glucósido

Ácidos fenólicos

■ Alcaloides

■ Carotenoides

■ Aromas

■ **Propiedades bio-activas**

- ACTIVIDAD ANTITIROSinASA
- ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE
- ACTIVIDAD ANTIDEPRESIVA
- ACTIVIDAD ANTI-INFLAMATORIA

- ACTIVIDAD ANTINOCICEPTIVA
- ACTIVIDAD HIPOTENSORA
- ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA
- ACTIVIDAD CITOTÓXICA frente a líneas celulares tumorales

■ **Interés por el desarrollo de nuevos productos alimentarios**



Reglamento europeo 258/1997 sobre nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios

- Falta de referencias escritas del consumo en Europa
- Demostrar que no tiene efectos nocivos para la salud

Aislamiento
compuestos de
interés por CCC

Potencial
valor
nutricional

Actividad
antioxidante

- Valorizar los restos florales obtenidos en la producción de azafrán especia con el fin de contribuir a la generación de nuevos productos alimentarios elaborados a partir de las flores de *Crocus sativus* L.

Efecto
citotóxico

Condiciones de
conservación

Métodos de
análisis de
calidad

Aislamiento
compuestos de
interés por CCC

Potencial
valor
nutricional

Actividad
antioxidante

- Valorizar los restos florales obtenidos en la producción de azafrán especia con el fin de contribuir a la generación de nuevos productos alimentarios elaborados a partir de las flores de *Crocus sativus* L.

Efecto
citotóxico

Condiciones de
conservación

Métodos de
análisis de
calidad

■ Cromatografía en Contracorriente (CCC)

- Inventada por Y. Ito en los 70
- Utiliza una fase estacionaria líquida
- Cromatografía líquido-líquido
- Forma continua de extracción líquido-líquido
- Equipos
- Movimiento planetario síncrono
- Sistema de solventes de dos fases
- Zonas de mezclado y zonas de reposo
- Diferente capacidad de partición de los componentes en cada fase



<https://www.youtube.com/watch?v=vumpz9BN-Z0>

■ Análisis bidimensional HSCCC × LC/DAD/ESI/MS³

➤ Aislamiento:
 mayoritarios (kaempferol 3-O-soforósido)

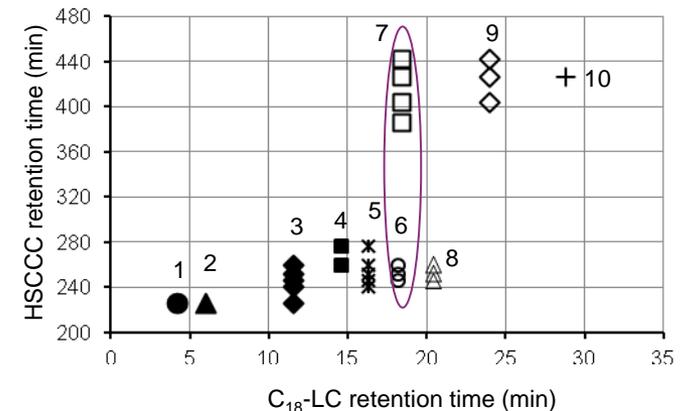
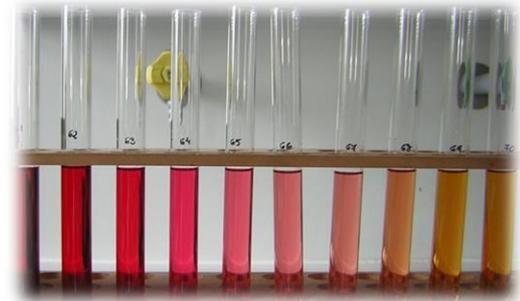
➤ Concentración: minoritarios

■ 32 flavonoles O-glicosilados:
 17 kaempferoles, 8 quercetinas, 5 isoramnetinas, 2 miricetinas

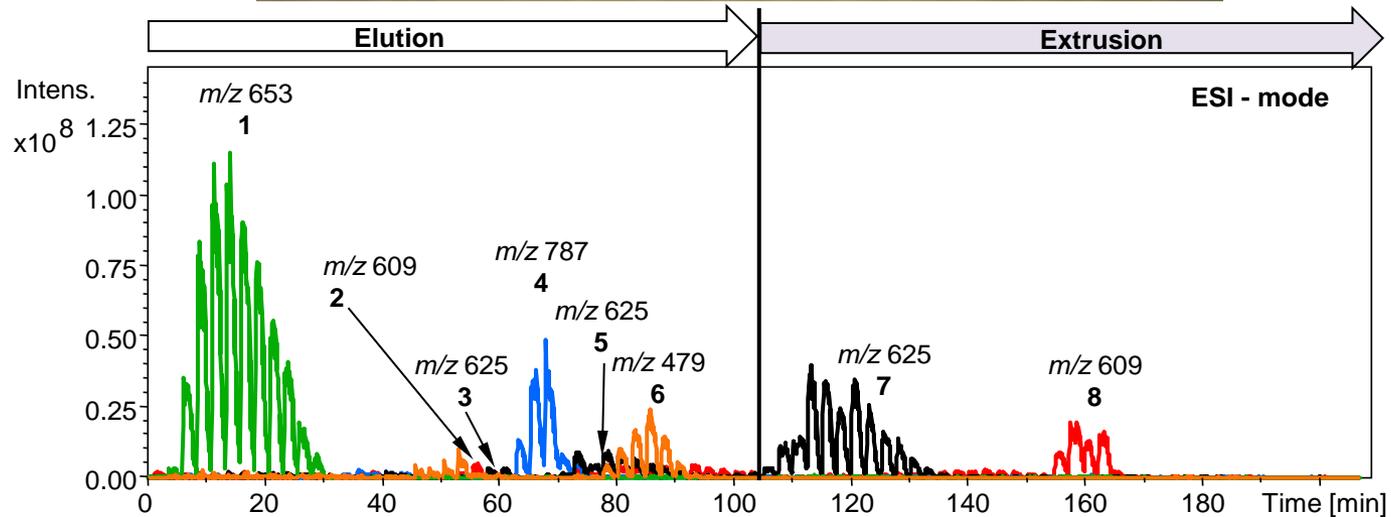
■ 2 flavonoles C-/ O-glicosilados

■ 10 antocianinas O-glicosiladas:
 5 delphinidinas, 2 petunidinas, 2 malvidinas, 1 cianidina

➤ Permite distinguir compuestos con el mismo tiempo de retención en LC y señales DAD, MS pero de diferente polaridad



■ Inyección secuencial off-line en ESI-MS/MS



- Se puede observar el orden de elución y los efectos de co-elución de los componentes mayoritarios y minoritarios
- Importante reducción del tiempo de análisis en MS
- Fraccionamiento de compuestos objetivo (quercetina 3-soforósido y kaempferol 3-soforósido).

■ Sánchez A.M. y col. (2014) Proceedings 8th International Conference on CCC. London

Aislamiento
compuestos de
interés por CCC

Potencial
valor
nutricional

Actividad
antioxidante

- Valorizar los restos florales obtenidos en la producción de azafrán especia con el fin de contribuir a la generación de nuevos productos alimentarios elaborados a partir de las flores de *Crocus sativus* L.

Efecto
citotóxico

Condiciones de
conservación

Métodos de
análisis de
calidad

- Composición proximal, minerales, fibra dietética, azúcares, ácidos orgánicos y aniones



Flores enteras



Bio-residuos florales

- ↓ energía y lípidos
- ↑ carbohidratos
- ↑ Ca, K, Mg, P y Fe (+)



Estambres

- ↑ cenizas, proteínas, lípidos
- ↑ fibra dietética total e insoluble
- ↓ carbohidratos disponibles y azúcares totales



Bio-residuos florales



Estambres



Estigmas

- Fuentes equilibradas de fibra dietética insoluble y soluble

Aislamiento
compuestos de
interés por CCC

Potencial
valor
nutricional

Actividad
antioxidante

- Valorizar los restos florales obtenidos en la producción de azafrán especia con el fin de contribuir a la generación de nuevos productos alimentarios elaborados a partir de las flores de *Crocus sativus* L.

Efecto
citotóxico

Condiciones de
conservación

Métodos de
análisis de
calidad

- Evaluación con 4 métodos: peroxidación lipídica, ensayo de la desoxirribosa, test Rancimat y ensayo TEAC



Estambres



↑ actividad
antioxidante



Tépalos



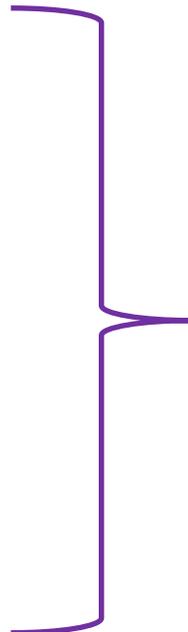
↑ contenido
fenólico



Flores enteras



Bio-residuos florales



Posibilitan la obtención de
productos con actividad
antioxidante

- Serrano-Díaz J. y col. (2012). Journal of Food Science 77 (11), 1162-1168

Aislamiento
compuestos de
interés por CCC

Potencial
valor
nutricional

Actividad
antioxidante

- Valorizar los restos florales obtenidos en la producción de azafrán especia con el fin de contribuir a la generación de nuevos productos alimentarios elaborados a partir de las flores de *Crocus sativus* L.

Efecto
citotóxico

Condiciones de
conservación

Métodos de
análisis de
calidad

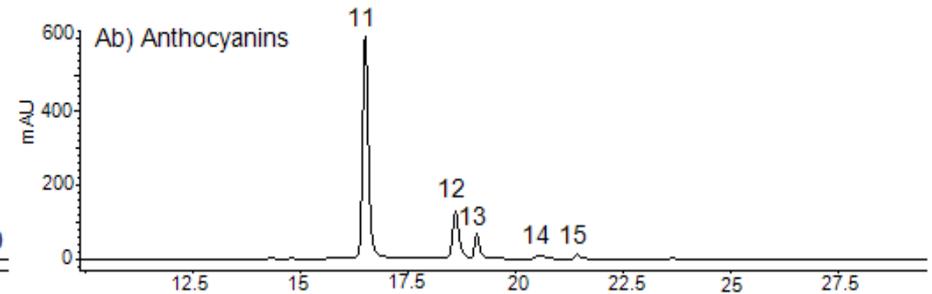
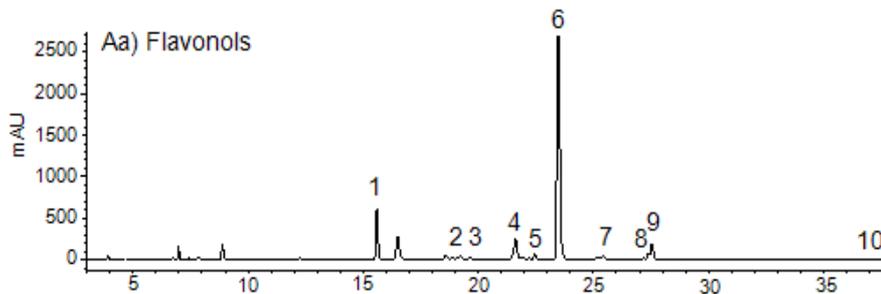
■ Método de análisis de flavonoles y antocianinas para determinar la calidad química de los restos florales

- Validación de método de extracción-HPLC-DAD



extractos

- Agua:HCl (100:1, v/v)
- Agua:ACN:TFA (47:50:3, v/v/v)
- Agua:ACN:HCl (50:50:1, v/v/v)



- Cuantificación → Considerar el desdoblamiento de picos cromatográficos de K3S y D3,5diG



por ACN al 50%

- Serrano-Díaz J. y col. (2014) Journal of Agricultural and Food Chemistry 62, 3125-3133

Aislamiento
compuestos de
interés por CCC

Potencial
valor
nutricional

Actividad
antioxidante

- Valorizar los restos florales obtenidos en la producción de azafrán especia con el fin de contribuir a la generación de nuevos productos alimentarios elaborados a partir de las flores de *Crocus sativus* L.

Efecto
citotóxico

Condiciones de
conservación

Métodos de
análisis de
calidad

- Seleccionar la mejor forma de conservación, evitando su degradación y la alteración de sus parámetros de calidad

- Convección con aire caliente - Liofilización
- T 50, 70, 90, 110, 125 °C; $v = 2, 4, 6, 8 \text{ ms}^{-1}$
- Parámetros de color CIELAB, total de polifenoles y antocianinas, cuantificación de flavonoles y antocianinas

Los tratamientos a 90 °C

+
combinados con velocidades de aire

2 ms^{-1}

4 ms^{-1}

6 ms^{-1}



mejores condiciones de deshidratación de los bio-residuos
florales obtenidos en la producción de azafrán especia

Aislamiento
compuestos de
interés por CCC

Potencial
valor
nutricional

Actividad
antioxidante

- Valorizar los restos florales obtenidos en la producción de azafrán especia con el fin de contribuir a la generación de nuevos productos alimentarios elaborados a partir de las flores de *Crocus sativus* L.

Efecto
citotóxico

Condiciones de
conservación

Métodos de
análisis de
calidad

■ Primer paso para demostración de seguridad

- Extractos secos en agua, agua:HCl (100:1, v/v), etanol , etanol:HCl (100:1, v/v), diclorometano y hexano
- Se determinó su composición en flavonoles y antocianinas
- Estudio de viabilidad celular: fibroblastos 3T3, método de 3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-2, 5-difeniltetrazoliumbromido (MTT)

✓ El extracto acuoso sin acidificación



el más adecuado para realizar aplicaciones alimentarias



no mostró efecto citotóxico a ninguna concentración estudiada

+

↑ riqueza en kaempferol 3-*O*-soforósido y delfinidina 3,5-di-*O*-glucósido

■ Serrano-Díaz J. y col.(2014) Food Chemistry 147, 55-59



**Muchas gracias
por su atención**