

# Charakterisierung von Safranblütenextrakten und deren antioxidativen Eigenschaften mit LC-MS und DPPH-Assay

**Tschopp Andreas**

Bachelor-Thesis, Molecular Life Sciences, Chemie

Auftraggeber: Urs Rügger, Artechemis GmbH

Experte: Dr. Markus Ehrat

Begleitdozent: Prof. Dr. Götz Schlotterbeck, FHNW

## ZUSAMMENFASSUNG

Zur Suche neuer Verwendungszwecke für die Abfallprodukte der Gewürzsafranproduktion wurden mit Hochleistungs Flüssigchromatographie Massenspektrometrie (HPLC-MS) Substanzprofile von vier verschiedenen Extrakten von Safranblüten erstellt. Untersucht wurden zwei verschiedene Ethanol Extrakte, ein Ethanol mit 1% Trifluor-Essigsäure (TFA) Extrakt und ein Methanol Wasser mit 1% TFA Extrakt.

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden zur Ergänzung zweier weiterer Bachelor-Arbeiten innerhalb des selben Projekts verwendet, diese untersuchten pharmakologische und toxikologische Aspekte eines Ethanol Extrakts.

Für die qualitative Analyse wurden Massenspektren, die im Scan-Modus aufgenommen wurden, mit Literaturwerten verglichen.

Die Quantifizierung mit HPLC-MS wurde über die Aglykone der Substanzen durchgeführt. Dafür wurde der Selected-Ion-Monitoring-Modus (SIM) verwendet. Im Rahmen der Teilvalidierung wurden die Wiederfindung, die Linearität, LOD, LOQ sowie die Messpräzision untersucht.

Die Extrakte wurden ebenfalls mit photometrischen Assays untersucht. So wurde die antioxidative Kapazität mit dem DPPH-Assay untersucht. Der Gesamtgehalt der Polyphenole wurde mit dem Folin-Ciocalteu-Assay, der Gesamtgehalt der Flavonoide mit dem Aluminiumchlorid Assay und der Gesamtgehalt der Anthocyane mit einem Anthocyan-Assay bestimmt. Die erhaltenen Werte konnten mit Literaturwerten verglichen werden.

## EINLEITUNG

### Hintergrund

Safran muss in akribischer Arbeit von Hand geerntet werden, um die Stempelfäden der Blüte, in denen die Aromastoffe am konzentriertesten vorliegen, vom Rest der Blüte der *Crocus Sativus L.* zu trennen. Dadurch entstehen grosse Abfallmengen. Aus diesen beiden Gründen ist Safran heute das teuerste Gewürz (100 g kosten um 750.- CHF). Für die Abfallmengen werden nun Verwendungszwecke gesucht. Im Vordergrund stehen die antioxidativen Eigenschaften der Stoffe in diesen anderen Pflanzenteilen. Für die Messungen wurden Safranblüten aus dem Aargau von der Artechemis GmbH zur Verfügung gestellt [1].

## RESULTATE

### Probenvorbereitung

Die gefrorenen Safranblüten wurden gefriergetrocknet, gemahlen und extrahiert.

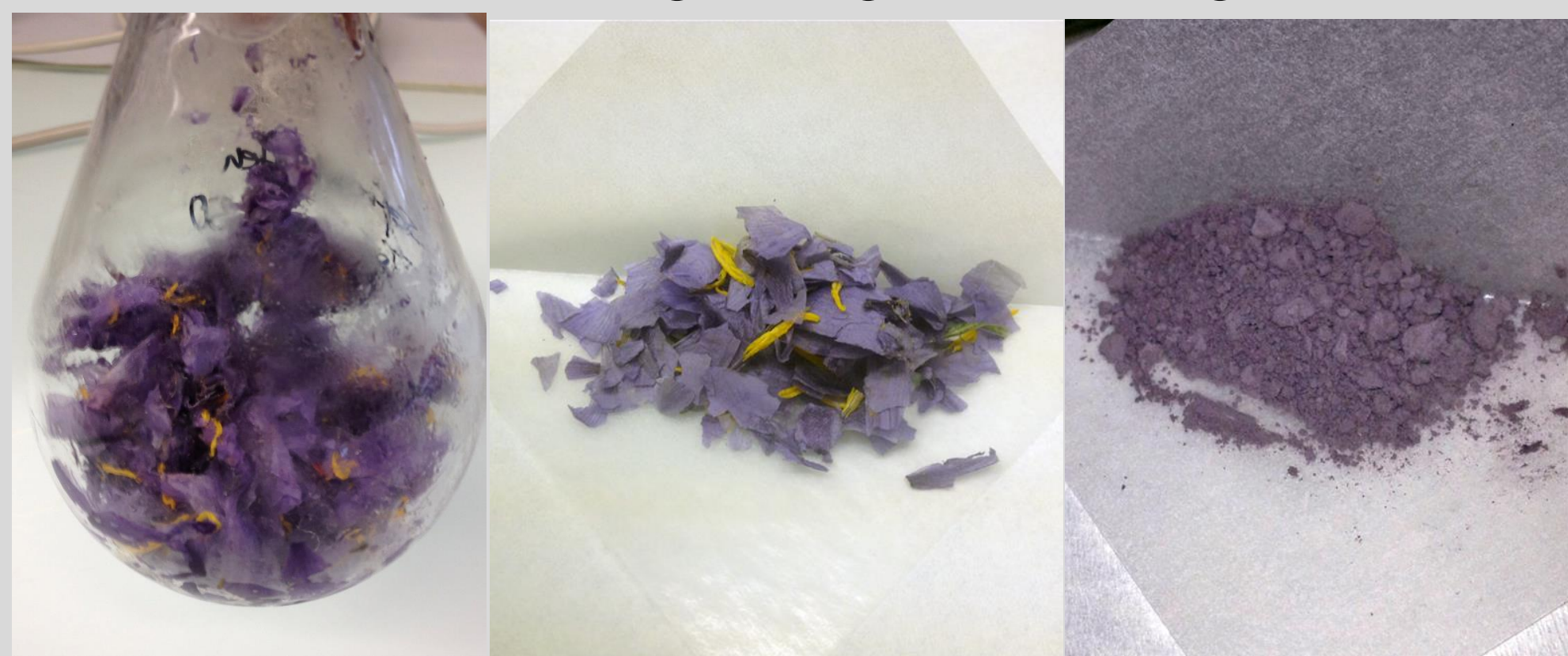


Abb. 1: Links gefrorene Mitte getrocknete rechts Pulver der Safranblüten

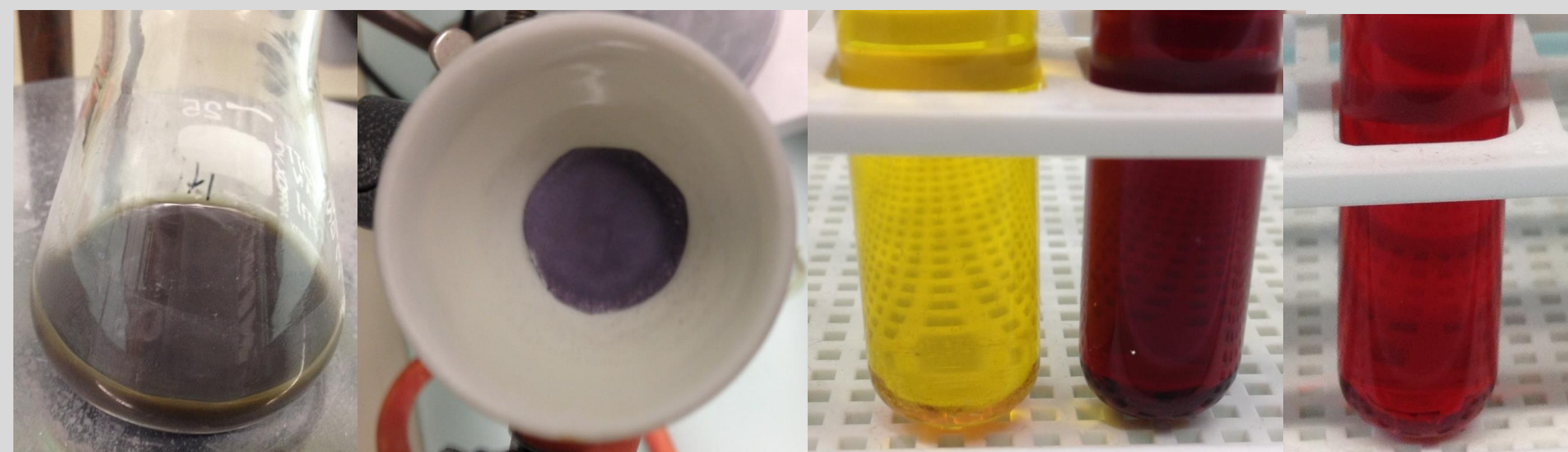


Abb. 2: Links Extraktion des Materials mit Ethanol; 2.v. l. Filtration über Papierfilter; 3.v. l. Ethanol extrakt 4. v.l. Ethanol TFA Extrakt; rechts Methanol-Wasser-TFA Extrakt jeweils vor dem Eindampfen.

Die Extraktion mit Ethanol mit 1% TFA zeigte ein ausgezeichnetes Droge zu Extrakt Verhältnis (DEV, 5:4) Die Extraktion mit Ethanol zeigte ein DEV von 25:8 und das Methanol-Wasser-TFA Extrakt ein DEV von 25:16. Die Extrakte wurden jedoch nicht gefriergetrocknet, was diese Verhältnisse noch etwas ändern wird.

## Qualitative Untersuchung mit HPLC- MS

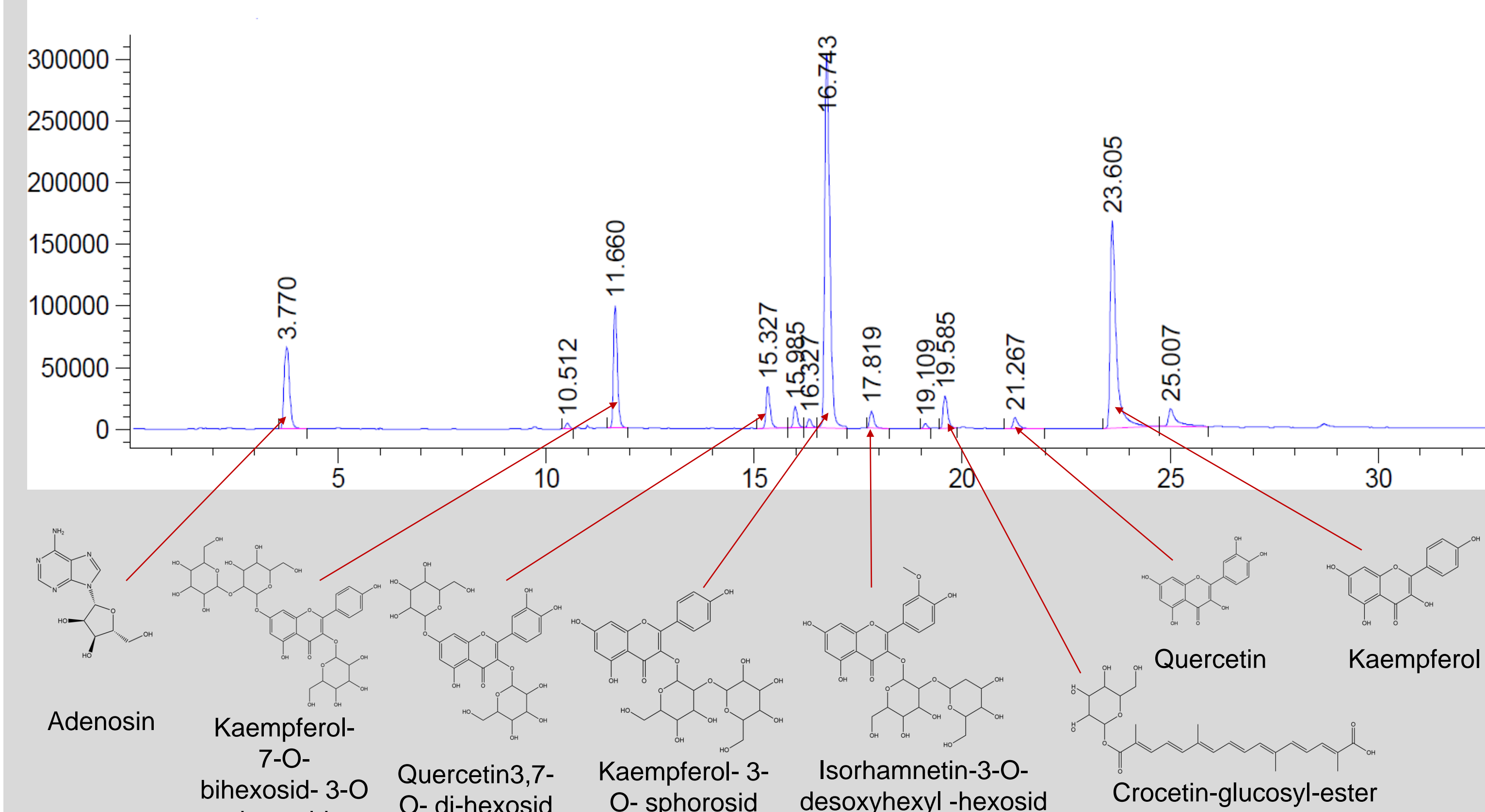


Abb. 3: Totalionen-Chromatogramm vom Methanol-Wasser-TFA Extrakt, gemessen im SIM-Modus jeweils mit einem Substanzvorschlag, der anhand von Literaturquellen gemacht wurde.

## Quantitative Untersuchung mit HPLC-ESI(+)-MS

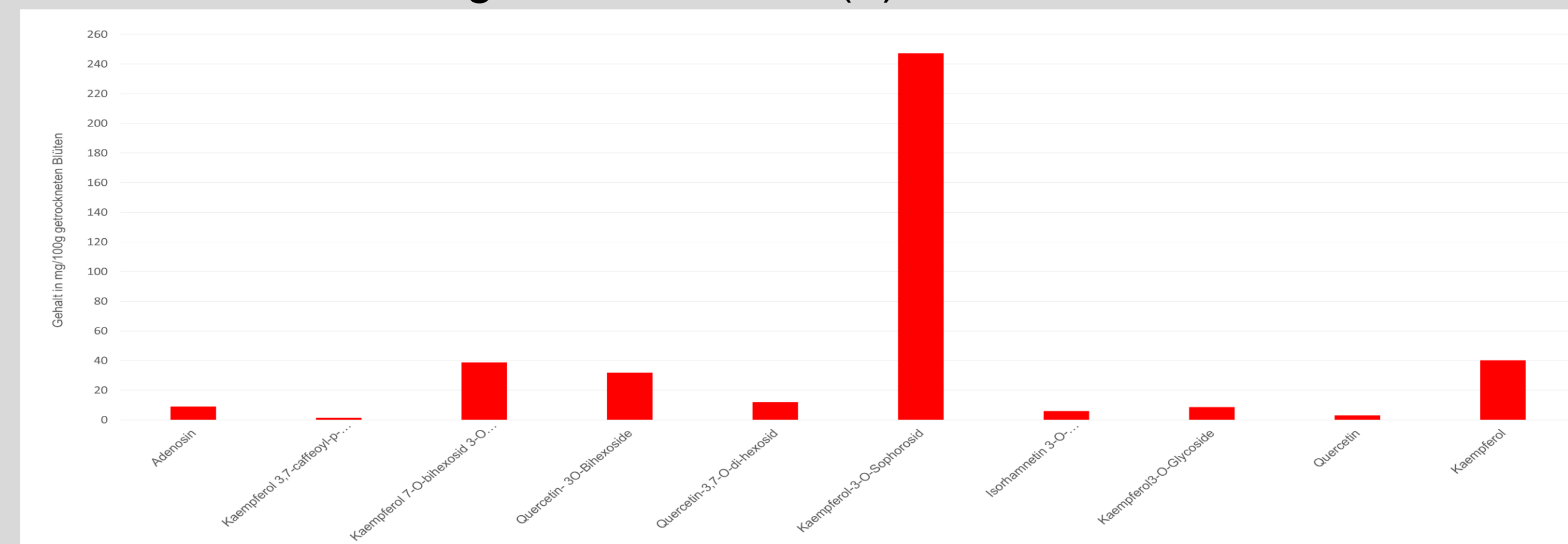


Abb. 4: Maximalwerte der quantifizierten Substanzen in den verschiedenen Extrakten zurückgerechnet auf mg/100g getrocknete Blüten.

## Fotometrische Assays

Bezüglich antioxidativer Kapazität (25.9  $\mu\text{mol}$  Trolox Äquivalent /g getrocknete Blüten) lassen sich die Safranblüten mit *Ocimum Americanum* (Amerikanischem Basilikum) vergleichen.

Beim Gesamtgehalt der Anthocyane (131.1 mg Callistephin Äquivalente /100g gefrorenen Blüten) können Safranblüten mit *Vaccinium virgatum* (südliche schwarze Blaubeere) verglichen werden.

Weiter lassen sich Safranblüten beim Gesamtgehalt der Flavonoide (241.4 mg Epicatechin Äquivalente /100g gefrorenen Blüten) mit Maulbeeren und beim Gesamtgehalt der Polyphenole (3281 mg Quercetin Äquivalente /100g getrockneten Blüten) mit Salbei vergleichen.

## SCHLUSSFOLGERUNG

Die Extraktion des Materials mit Ethanol und 1% Trifluoressigsäure löste quantitativ am meisten Material aus dem Blüten und brachte auch bei allen Methoden hohe Werte.

Hauptkomponente, die nach LC-ESI (+) ionisierbar und messbar sind, sind in den Safranblütenextrakten die Kaempferol Glykoside, allen voran das Kaempferol Sophorosid, sowie Quercetin Glykoside.

Die vorgeschlagenen Strukturen müssen, nach der Isolation mit LC-MS<sup>n</sup> und 2D-NMR Methoden bestätigt werden. Eine antioxidative Wirkung der Extrakte konnte mittels DPPH-Assay bestätigt werden.

## REFERENZEN

[1] S.R. Sampathu, S. Shivashankar, Y.S. Lewis, A.B. Wood, C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition 20 (1984) 123–157.