

Activitat antioxidant dels pètals de flors comestibles \_\_\_\_\_



**Escola Superior d'Agricultura de Barcelona**

Especialitat: Hortofructicultura i Jardineria

Treball Final de Carrera

# **ACTIVITAT ANTIOXIDANT DELS PÈTALS DE FLORS COMESTIBLES.**

Alumna: Huguet Rojo, Ana

Professores: López Pérez, Lola  
Almajano Pablos, María  
Pilar

Castelldefels, Juny 2008



**Escola Superior d'Agricultura de Barcelona**

Especialitat: Hortofructicultura i Jardineria

Treball Final de Carrera

# **ACTIVITAT ANTIOXIDANT DELS PÈTALS DE FLORS COMESTIBLES**

Alumna:

Huguet Rojo, Ana

Professores:

López Pérez, Lola

Almajano Pablos, María Pilar

Castelldefels, Juny 2008

## ACTIVITAT ANTIOXIDANT DELS PÈTALS DE FLORS COMESTIBLES

Els darrers anys ha crescut l'interès per l'estudi de la dieta mediterrània degut a les propietats beneficioses per la salut que poden aportar els aliments bàsics d'aquesta dieta, principalment els vegetals i les fruites.

Les flors s'han fet servir en alimentació durant molts segles. En els últims anys ha augmentat l'interès del consumidor per elles, degut als possibles beneficis sobre la salut i a la bellesa que aporten a la cuina. El seu cultiu podria ser d'interès en zones periurbanes però se'n disposa de molt poca informació.

Els polifenols, són un dels components principals dels vegetals i fruites que poden contribuir a la millora de la salut degut al seu potencial antioxidant, afavorint una millora en la qualitat de vida.

En aquest estudi es pretén quantificar els polifenols i la capacitat antioxidant dels pètals de pensament com a model d'aliment vegetal sòlid (obtenint prèviament l'extracte amb polifenols). Per realitzar aquestes mesures s'utilitzen mètodes de mesura de polifenols totals (Folin-Ciocalteu) i de capacitat antioxidant (TEAC i ORAC).

En aquest treball s'estudia la capacitat antioxidant en pètals de pensament cultivats a l'hivernacle de l'ESAB situat a Castelldefels i a la finca HortSala del Maresme.

Paraules clau: activitat antioxidant, flors comestibles, FOLIN, TEAC, ORAC

## ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS PETALOS DE FLORES COMESTIBLES

En los últimos años ha crecido el interés por el estudio de la dieta mediterránea debido a las propiedades beneficiosas para la salud que pueden aportar los alimentos básicos de esta dieta, principalmente los vegetales i las frutas.

Las flores se han utilizado en la alimentación durante muchos siglos. En los últimos años ha aumentado el interés del consumidor por ellas, debido a los posibles beneficios sobre la salud y a la belleza que aportan a la cocina. Su cultivo podría ser de interés en zonas periurbanas pero se dispone de muy poca información.

Los polifenoles, son uno de los compuestos principales de los vegetales i frutas que pueden contribuir a la mejora de la salud debido a su potencial antioxidante, favoreciendo una mejora en la calidad de vida.

En este estudio se pretende cuantificar los polifenoles y la capacidad antioxidante de los pétalos de pensamiento como modelo de alimento vegetal sólido (obtenido previamente el extracto de los polifenoles). Para realizar esta medición se utilizan métodos de medida de polifenoles totales (Folin-Ciocalteau) y de capacidad antioxidante (TEAC y ORAC).

En este trabajo se estudia la capacidad antioxidante en los pétalos de pensamiento cultivados en el invernadero de la ESAB situado en Castelldefels y en la finca HortSala del Maresme.

Palabras clave: actividad antioxidante, flores comestibles, FOLIN, TEAC, ORAC.

## ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE PETALS OF EDIBLE FLOWERS

Lately the study of the Mediterranean diet has increased due to the health beneficial properties that basic food components of this diet, mainly vegetables and fruits, can have.

Flowers have also been used as food for many centuries, today the consumers have a renewed interest in edible flowers due to the possible benefits in health and the beauty that provide to cooking dishes. Their cultivate may be of interest in peri-urbans areas, but there is not more information available about edible flowers cultivation.

Polyphenols are one of the principal components of vegetables and fruits which can contribute to improve human health due to their potential antioxidant activity, improving life quality.

The aim of this study is to quantify the polyphenol content and antioxidant capacity of edible flower as an example of vegetable solid food (obtained before the extract of the polyphenols) To realize this measurement there are in use methods of measure of total polyphenols (Folin-Ciocalteu) and antioxidant capacity evaluation (TEAC and ORAC)

In this work is studied the antioxidant activity in the petals cultivated in the greenhouse of the ESAB placed in Castelldefels and in the estate HortSala of Maresme.

Key words: antioxidant activity, edible flowers, FOLIN, TEAC, ORAC.

## **1. INTRODUCCIÓ**

### **1.1 AGRICULTURA PERIURBANA**

La producció vegetal es va a dur terme des dels seus inicis, propera als assentaments urbans, i tot i això no se'n parlava d'agricultura periurbana. Amb la revolució industrial hi ha un creixement molt important de les ciutats com a conseqüència de les migracions des de les zones rurals en busca de feina, de forma que als 2 últims segles la proporció de població que viu en grans pobles o ciutats ha passat d'esser d'un 5 a un 50% i s'estima que a l'any 2030 més de 2/3 de la població viurà en gran ciutats (MeMichel 2000). Aquest fet té conseqüències de diferent índole: per una banda les ciutats es converteixen en el gran subministrador de productes agraris però per una altra banda, en el seu creixement, s'apropien d'espais agraris, que per les seves característiques ambientals podrien haver estat molt productius.

Als països en desenvolupament, el creixement tan elevat de les ciutats als últims anys arriba a ser caòtic, apareixent grans bosses de pobresa i destrucció amb el consegüent perill de salut pública, de fet s'admet que els països en desenvolupament la mortalitat infantil és quatre vegades més gran en els segments pobres de la població que en els rics. També hi ha diferències entre ambdós segments poblacionals en la incidència de malalties infeccioses com tuberculosi, còlera..

Des de diferents entitats supranacionals en especial la FAO, s'ha impulsat el desenvolupament de la producció agrícola urbana i periurbana (tot i que sigui a temps parcial) mitjançant programes de microfinanciació que permetin, com a mínim, la posta en marxa de producció per així solventar la bossa de fam. (Cabannes, Y. 2006)

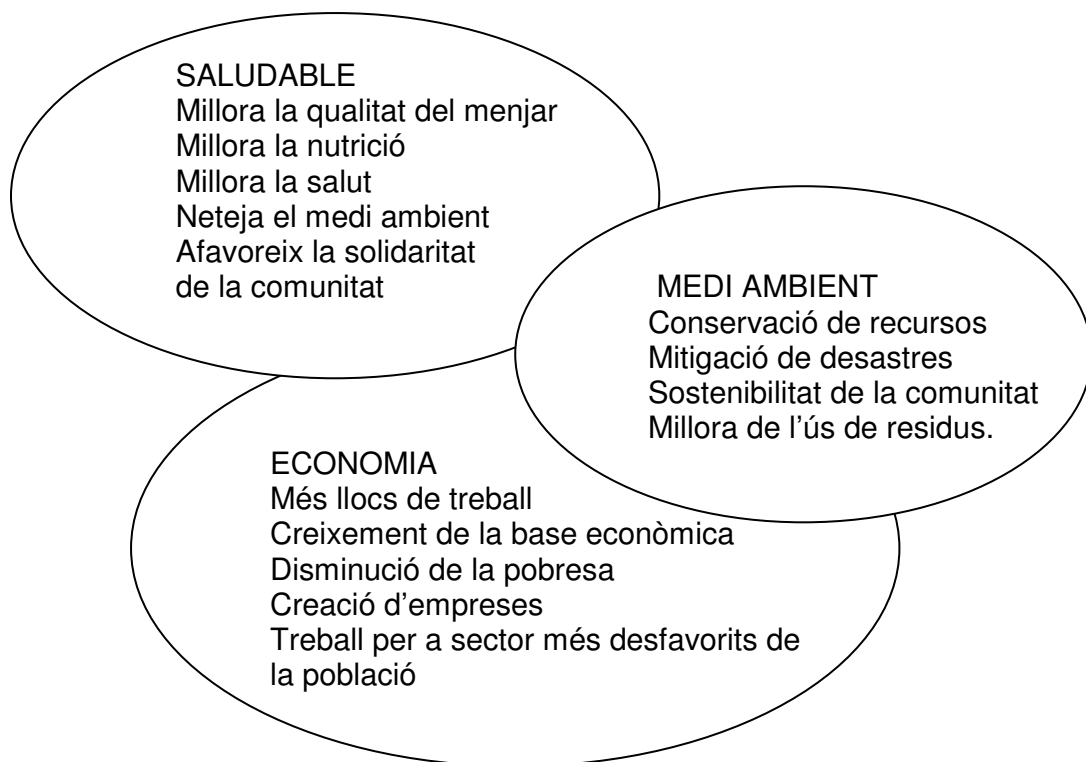
Al països desenvolupats en especial a la Unió Europea s'hi troben els Jardins Urbans i Periurbans. Creats a Anglaterra i Alemanya actualment contenen amb 3.10<sup>6</sup> associats.

Al litoral mediterrani, en concret a la zona periurbana de Barcelona, segueix existint una zona productiva important per les seves condicions climàtiques, per totes les infraestructures de les que disposa i sobre tot pels seus coneixements tècnics. Les seves produccions, en gran part dels casos hortícoles, no poden competir amb produccions procedents d'altres zones (Marroc, Almeria, Múrcia,...) degut als costos tan elevats que han de suportar, en especial l'alt preu del sòl.

A les grans ciutats Europees existeix un segment de la població que admet un sobrepreu per productes saludables i de qualitat que segueixin uns standards de mercat, ecològics i saludables. Nosaltres pensem que un producte de l'agricultura periurbana interessant poden ser les flors comestibles, ingredient que ha de deixar de formar part només de la cuina d'autor i passar a formar part de la nostra dieta com a producte saludable que és.

Actualment l'agricultura periurbana es troba en una situació difícil. Cal assumir que l'espai agrari periurbà es troba constantment apropiat per diversos grups d'individus amb la finalitat de portar a terme les més variades activitats. Aquesta apropiació ha fet de l'espai agrari periurbà un territori singular.

Contribucions principals de l'agricultura urbana:



Font: Urban Agriculture Network

## 1.2 LA DIETA MEDITERRÀNIA

Als darrers anys ha crescut l'interès per l'estudi dels aliments de la dieta mediterrània, a causa de les propietats d'aquests en la prevenció o disminució del risc de patir diverses malalties.

S'ha observat que en les zones on es segueix la dieta mediterrània (Grècia, Itàlia, Espanya, ...) hi ha menys incidències de obesitat, malalties coronàries i un índex de càncer més baix respecte a les dietes que es segueixen a Amèrica i a la resta d'Europa (Weil, 2001). Les característiques definitòries de la dieta mediterrània són:

- Equilibrada nutricionalment
- Consum de molts cereals integrals i pocs hidrats de carboni refinats que tenen un valor glucèmic elevat.
- Menjar menys greixos poliinsaturats i més greixos monoinsaturats, reduint possibles problemes de colesterol i obesitat.
- Consum de poca carn i substituir-la per peix i llegums.
- Menjar molta verdura i fruita variada que aporten fibra i fitoquímics protectors.
- Ús de més aliments frescos i menys aliments processats.
- Ús d'aliments coneguts amb gran varietat de sabors i amb facilitat de preparació.

No obstant, aquesta dieta pot tenir com a problemes la insuficiència de ferro i calci pel creixement de nens i per les dones embarassades, que es pot solucionar variant una mica la dieta i consumir més làctics i aliments rics en ferro, o consumir suplementos alimentaris (Weil, 2001).

En la **figura 1.1** s'observa la piràmide alimentaria pròpia de una dieta mediterrània. Es pot veure que en el vèrtex de la piràmide s'hi troben els aliments amb major quantitat de grasses poliinsaturades, que un excés de consum d'aquestes pot provocar problemes de colesterol. En canvi, s'aconsella el consum en moderació d'oli d'oliva que aporta greixos monoinsaturats.

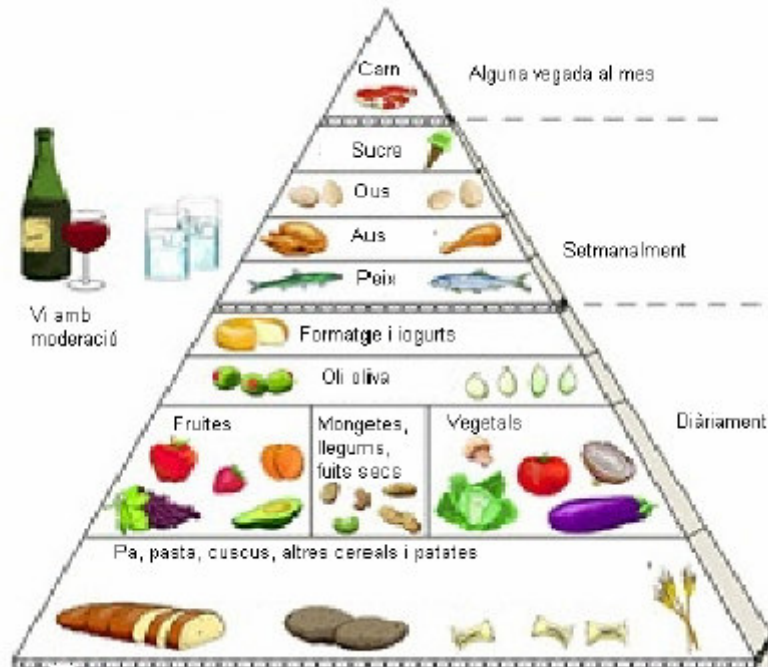
La base està constituïda per els aliments rics amb hidrats de carboni que aporten l'energia del metabolisme; i per fruites, llegums i verdures que aporten fibra i agents protectors de malalties (Weil, 2001).

També aconsella el consum moderat de vi, perquè aporta agents com per exemple els polifenols, que poden prevenir al risc a tenir determinades malalties, però



s'aconseja el consum moderat perquè conté altres components que en altes quantitat són perjudicials per la salut, com per exemple l'etanol (Medina, 1996)

**Figura 1.1** Piràmide dels aliments típics de la dieta mediterrània (Weil, 2001).



A part dels elements necessaris pel metabolisme humà la dieta mediterrània també aporta elements fitoquímics protectors i un d'aquests són elements antioxidants no necessaris per sobreviure però que redueixen la probabilitat de tenir malalties coronàries, de coagulació de la sang i càncers, entre altres malalties.

Aquests elements inhibeixen les reaccions d'oxidació reaccionant amb els radicals lliures.

Els element fitoquímics protectors es troben normalment en fruites, verdures o aliments derivats, i són principalment els polifenols i caretenoids (Weil, 2001).

Els flavonoides són un subgrup de polifenols que només es sintetitzen a la planta. Per aquest motiu l'única font de flavonoids és la ingesta de vegetals, fruites o productes derivats de fruites i vegetals com per exemple el vi o la cervesa (Sellappan, 2002). Són elements no nutritius, que actuen com a antioxidants que tenen un gran interès pels beneficis que aporten a la salut humana (Hertog, 1992).

S'han divulgat estudis que descriuen que els flavonoides tenen una ampla gamma d'efectes biològics com efectes antimicrobianes, antivirals, antial·lèrgic i vasodilatador (Sellappan, 2002).

El institut nacional del càncer dels Estats Units recomana consumir com mínim cinc racions de fruita o verdura diària (Yang, 2004). Com es pot observar en **la figura 1.1**, la base de la dieta mediterrània esta formada entre altres components per hortalisses i fruites que són aliments que aporten flavonoides seguint d'aquesta manera dita recomanació.

### **1.3 LES FLORS COM ALIMENT**

Per tant, aprofitem aquest fet per a demostrar lo saludable que pot ser incloure altres aliments a la nostra dieta com poden ser les flors.

Aprofitant l'interès per els antioxidants i el tema ornamental va sorgir aquests projecte. Per així, d'aquesta manera, fomentar l'ús de les flors comestibles demostrant la seva capacitat antioxidant.

L'oxigen és essencial per a la vida humana, però, paradoxalment, l'oxigen intervé a l'organisme i als aliments en reaccions que donen lloc a substàncies tòxiques: els radicals lliures i les espècies reactives d'oxigen. Aquestes substàncies són molt oxidants i inestables, i en els aliments poden donar lloc a ranciesa, olor i gust desagradable (López *et al*, 2004).

Existeix una gran varietat d'antioxidants, entre els quals; vitamines, zinc, seleni i compostos polifenòlics. Aquests no sols garanteixen que els aliments mantinguin unes propietats sensorials adequades, també permeten allargar la vida de l'aliment i que pugui consumir-se durant més temps (López *et al*, 2004).

A partir dels anys vuitanta ha esdevingut un gran interès per les flors comestibles, especialment en les societats que busquen experiències culinàries úniques (Kelley *et al*, 2001; 2002), recentment s'han donat a conèixer com a un fet nou en la cuina d'autor, no obstant, és difícil trobar informació sobre la seva comercialització (Friedman *et al*, 2005).

Les flors es poden utilitzar; en amanides, en guarnicions de sopes i entrants, com a

ingredients de molts plats, esmicolades sobre postres, en glaçons i en begudes (Barash, 1998). Aquestes aporten un ampli ventall de colors, gustos i formes interessants. A més a més moltes de les flors comestibles tenen components saludables (Friedman et al., 2005). S'ha de tenir en compte que les flors d'algunes plantes posseeixen un actiu antioxidant molt fort, com per exemple les flors de rosa, especialment quan se'n fan infusions (Vanderjagt et al., 2002)

Cal parlar doncs de la florifagia, o l'acte de menjar flors, posant-nos així en precedents i comentar que no és un invent actual ni de la cuina de fusió ni dels cuiners mediàtics. És una cosa tan antiga com el món, doncs els homes recol·lectors de l'història ja s'alimentaven d'elles.

Les seves propietats medicinals i les seves qualitats saludables les han mantingut prop de la cuina durant milers d'anys als cinc continents. A moltes se'ls hi han atribuït diferents poders, d'altres han inspirat mites com els "lotofags", els menjadors de lotos que perdien la memòria, segons relata Homero a "L'odissea". Les arrels confitades d'aquesta planta es feien servir per rostir aus, uns dels plats predilectes de la cort de l'Imperi Celeste, segons explica Néstor Luján al seu llibre "Carnet de ruta". A Àsia, les flors són part important de la farmacopea tradicional. No ha d'estranyar, aleshores, l'ús al Japó i a la Xina de crisantems, dàlies i gessamí als seus plats.

També els indígenes d'Amèrica les apreciaven i consumien molt abans de que els espanyols arribessin a Amèrica. Fray Bernardino Sahagún recull a la seva obra "Historia general de les coses de la nova Espanya" els impronunciables noms de les flors que els asteques feien servir als seus plats i begudes. Flors de la Carbassa, la del maguey o nopla, se segueixen consumint i són patrimoni de la gastronomia popular. El romà Apició inclou al seu receptari "De re coquinaria" un patís de roses que se servia adornat amb pètals. I els àrabs tampoc es queden allunyats del tema: Ambrosio Huici Miranda, a "La cuina Hispano-Magrebí" (ed. Trea), reproduïx les receptes de diferents xarops de flors (de roses, violetes,,,), pastes diferents per a condimentar i algun plat com la "hechura de malva". La costuma de fer servir flors a la cuina s'ha mantingut fins a l'actualitat a tots els països àrabs del mediterrani, on l'ús de la tarongina, la rosa o el fonoll és natural. Les malves varen ser passió de Carlomagno que les menjava en truita o amanida,

mentre que els reis medievals preferien el nard, amb el seu sabor que s'assembla al del gingebre i que se segueix fent servir a la cuina india i Indonèsia. Flors també són la carxofa, la coliflor o safrà, però de tant quotidianes que són no criden pas l'atenció. (Erauuzkin 2005)

Aquesta llarga tradició de la florifagia està sent retomada per cuiners de tot el món que defenen la cuina sana i lleugera i que aposten per productes biològics. A Tailàndia han aparegut nous plats elaborats amb espècies que abans només tenien caràcter ornamental, com les orquídiades. Preparades amb tempura i d'altres. A Europa famosos cuiners fan servir els seus jardins com a horts: pètals, pistils, gemmes, fulles...aporten una bellesa inusual, una delicadesa extrema que es tradueix en lleugers matisos de sabors: amargs, acidulats, picants..

Com millor poden aplicar els matisos gustatius de les flors es menjant-les en cru. Llueixen molt en amanides, però on millor podem apreciar les seves qualitats químiques i biològiques és en compotes i en infusions. De la gran majoria només en mengem els pètals.

Els pètals de rosa es fan servir per perfumar rostits de xai o d'aus. La flor de menta, i la de fonoll combinen molt bé amb el peix. Les caputxines, que tenen un lleuger sabor picant, aporten gràcia a la sopa i amanida. Les violetes es consumeixen en truita, però també confitades i en escarxa (pintades amb clara d'ou, espolvorejades amb sucre glass i al forn a baixa temperatura fins a que es forma una costra cristal·lina. Tècnica que podem aplicar a roses, pensaments..). Les flors de les plantes aromàtiques se sequen i trituren fins a reduir-les a pols per a després barrejar-les amb sal abans d'amanir plats de carn o de peix.

Veiem algunes d'aquestes flors:

- *Yucca filamentosa*, és un planta que creix silvestre als Estats Units i les seves flors blanques es poden fer servir com guarnició de plats.
- *Platycodon grandiflorus* (Campanilla o Campana Xina), maca flor perenne que es pot fer servir per amanides o per combinar amb mantega y que té un sabor molt dolç.
- *Monarda didyma* (Bergamota silvestre, Monarda), flor perenne aromàtica, ideal per amanides, té o per afegir als succs. De sabor dolç. També són comestibles les fulles.

- *Begonia gr. Semperflorens* (Flor de sucre), els pètals d'aquesta varietat es poden consumir amb macedònia de fruites o confitades, també com guarnició de plats. Es fan servir indistintament els pètals o la flor en el seu conjunt.
- *Impatiens walleriana* (Alegria de la casa), flors de color vermell o blanc que es fan servir com a guarnició en plats.
- *Dianthus caryophyllus* (Clavell), els populars clavells mediterranis poden anar en amanides, mantegues o com a guarnició.
- *Dianthus plumarius* (Clavellina, clavellina), idem anterior.
- *Dianthus barbatus* (Clavell del poeta), idem anterior.
- *Chrysanthemum x morifolium* (Crisantem), aquestes flors que acompanyen al dia de tots sants als cementiris, es fan servir en d'altres països en amanides, sopes i salses. Tenen un sabor amarg. S'han d'escaldar els pètals abans de fer-los servir. Les fulles també són comestibles.
- *Taraxacum officinale* (Achicoria amarga), per amanides, les fulles joves i els brots són comestibles. S'han de recol·lectar en floració.
- *Helianthus annuus* (Gira-sol nan). Les seves flors poden fer-se servir per amanides i sopes. Les seves llavors, les populars pipes, són comestibles.
- *Achillea millefolium* (Milenrama, Milfulles, Milefolio...), flors per fer té d'herbes o sucs.
- *Gladiolus* cv. (Gladiol), flors de sabor dolç que es fan servir per amanides, guarnició de plats...
- *Papaver rhoeas* (Rosella), es fan servir només els pètals i serveixen per guarnició o per fer almívar.
- *Hemerocallis* cv (Lliri de dia), amanides, sopes, confitats...Els brots poden ser bons per cuinar o fregir. Possibilitats d'al·lèrgia.
- *Bellis perennis* (Margarita dels prats), para amanides.
- *Alcea rosea* (Malva-rosa o Malva Real), para amanides, comestibles els brots.
- *Antirrhinum majus* (Boca de drac, Dragonària, Conillets, Boca de lleó, Dragoncitos, Gallitos), per amanides, tot i que la seva forta olor fa aconsellable fer-la servir amb moderació.
- *Pelargonium* spp. (Geranis) per amanides, aigües de flors, guarnició..

- *Tropaeolum majus* (Caputxina) per amanides, mantegues, etc. Els seu sabor és semblant al del berro.
- *Violet* (Violeta), per amanides, vinagre, mantegues, te, almívar, confitura...Força fragància i són comestibles les fulles.

### 1.3.1 Els colors dels pètals

Les flors deuen el seu color a dos tipus de pigments: pigments liposolubles continguts als cloroplasts i pigments hidrosolubles continguts als vacúols de les cèl·lules epidèrmiques dels pètals. Gairebé tots els tons blaus i púrpures es deuen a pigments vacuolars anomenats antocians. Aquests canvien de color en funció del grau d'acidesa o alcalinitat i del tipus exacte d'antocianina. Si la solució vacuolar és bàsica, el color és blau; si es neutra, vira cap al púrpura o al violeta; i si és àcida, es converteix en vermell. Aquestes variacions expliquen perquè una mateixa planta varia de color segons on estigui plantada. Els vermells poden ser deguts també a la presència de pigments cromoplàstics. Els grocs els donen gairebé sempre les flavones o carotens. El color blanc dels pètals es deu a la presència de diminutes bosses d'aire entre les cèl·lules que els formen. (Meléndez-Martínez *et al.*,2004)

Els pigments carotenoides són compostos responsables de la coloració de gran nombre d'aliments vegetals i animals, com les pastanagues, suc de taronja, tomàquets, salmó i clara d'ou. No obstant, estudis han posat de manifest les propietats antioxidants d'aquests pigments. (Meléndez-Martínez *et al.*,2004)

Gran part de les fruites i vegetals deuen el seu color als seus corresponents pigments, que són substàncies amb una funció biològica molt important al seu teixit. Existeix una gran quantitat de pigments relacionats amb les fruites i vegetals, entre ells les clorofil·les, els carotenoides, les antocianines, els flavonoides, els tanins, les betalaines i altres. (Jiménez *et al.*,2004)

## 1.4 ELS FENOLS

### 1.4.1 Classificació dels fenols

Els compostos fenòlics són uns compostos químics naturals amb una capacitat antioxidant elevada que arriben a nosaltres a través de la dieta (Weil, 2001).

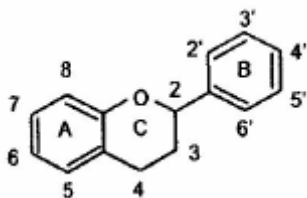
La majoria de compostos fenòlics són polifenols, és a dir, contenen més d'un grup fenol (Llaguno, 1982).

S'han descrit al voltant de 8.000 estructures de compostos fenòlics (Bravo, 1998).

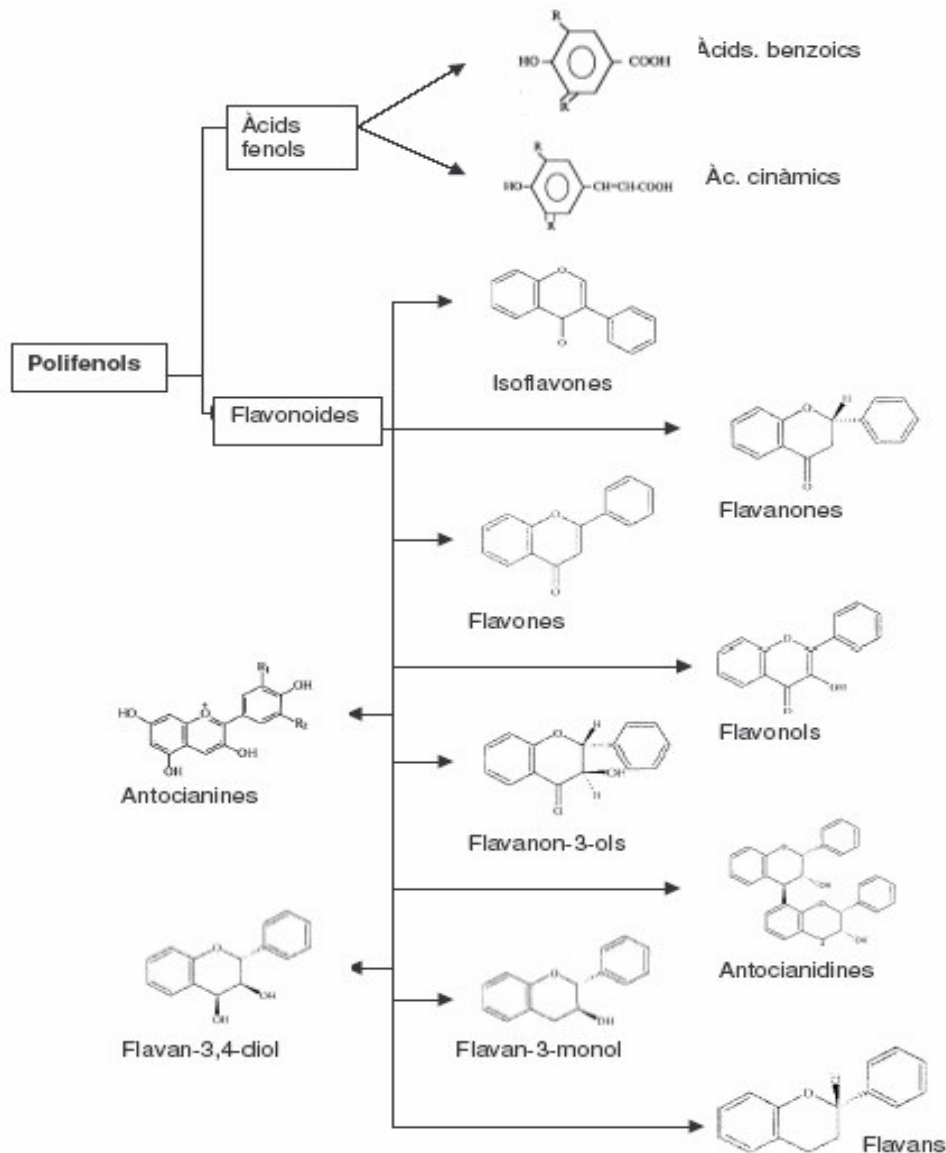
Els fenols es divideixen en dos grans grups, els àcids fenòlics (Zoecklein, 2001) i els flavonoides (Cushnie, 2005), i aquests en varis subgrups.

Els flavonoides són pigments vegetals de baix pes molecular que tenen una estructura comuna format per un esquelet carbonat de tres unitats (C6-C3-C6), compost de tres anells aromàtics, dos dels quals són fenòlics (A i B) i l'altre anell és un pirà heterocíclic (C) (**figura 1.2**)

**Figura 1.2:** Estructura dels flavonoides



**Figura 1.3:** Classificació dels principals polifenols (Cushnie, 2005).



### 1.5 ELS MÈTODES

Per analitzar els polifenols totals s'utilitzen els mètode espectrofotomètric Folin – Ciocalteu.

La mesura de la capacitat antioxidant es realitza amb els mètodes espectrofotomètrics Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) i l'ORAC.

Per realitzar aquest anàlisi els productes han de ser líquids, per aquest motiu s'han de realitzar un extracte de polifenols dels pètals sòlids amb dissolvents. Els



polifenols són components polars, per tant s'ha realitzat l'extracció amb dissolvents polars.

### **1.5.1. Mesura dels polifenols totals**

#### 1.5.1.1 Folin – Ciocalteau

El mètode Folin – Ciocalteau és un mètode molt utilitzat de mesura dels polifenols totals de vegetals, fruites o aliments derivats.

El mètode espectrofotomètric Folin - Ciocalteau es basa en la interacció dels polifenols amb el reactiu de Folin en medi de carbonat de sodi (20%).

El reactiu Folin es una mescla d'àcid fosfotungstic ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) i àcid fosfomolibdic ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Aquest reactiu redueix els compostos fenòlics.

La interacció entre els reactiu Folin i els polifenols dona un rang de colors que va del incolor a un blau fosc, i el contingut de polifenols es proporcional a la intensitat del color dels tres components.

El color es mesurat amb l'espectrofotòmetre a una longitud d'ona de 765nm, que és el punt màxim d'absorció del compost format (Zoecklein, 2001).

### **1.5.2 Mesura de la capacitat antioxidant**

#### 1.5.2.1 Mètode Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

El mètode TEAC es un dels mètodes més utilitzats per la determinació de la capacitat antioxidant de diferents tipus de mostres (Stratil, 2006).

Aquest mètode es basa en la captació dels radicals  $ABTS^{+\bullet}$  pels components antioxidants. El radical  $ABTS^{+\bullet}$  té un color blavós, i en la captació d'aquest radical pels components antioxidants fa decolorar la solució. La pèrdua de color és proporcional a la capacitat antioxidant de la mostra (Re, 1999). El radical  $ABTS^{+\bullet}$  té un màxim d'absorbància en la longitud d'ona de 734nm, que és en la que és mesurarà l'absorbància.

La reacció de captació del radical  $ABTS^{+\bullet}$  té lloc casi integrament al primer minut, però les mesures es realitzen als 5 minuts que es quan es considera que són tangencials horitzontalment (Re, 1999).

#### 1.5.2.2 Mètode Oxygen Radical Antioxidant Capacity (ORAC)

El mètode ORAC (Oxygen Radical Antioxidant Capacity) s'aplica amb freqüència per assegurar la capacitat antioxidant en mostres biològiques i d'aliments. Es basa en la inhibició del radical peroxil oxidatiu induït per descomposició tèrmica de

compostos azo com el 2,2'-azobis(2-amidino-propane)dihydrochloride (AAPH). Així, l'assaig ORAC combina temps i disminució de la inhibició, a diferencia del mètode TEAC que únicament avalua la disminució en la inhibició.

El mecanisme de reacció es basa en la transferència d'un àtom d'hidrogen (HAT) (hydrogen atom transfer) del radical lliure, AAPH, a l'antioxidant. Per això, es fa servir un radical iniciador, el AAPH, per a generar el radical peroxil  $\text{ROO}\cdot$ . Un mol de AAPH perd un mol de dinitrògen per generar dos mols de radical AAPH en un rati constant. En una solució saturada d'aire, el radical AAPH reacciona ràpidament amb l'oxigen per donar un radical peroxil més estable,  $\text{ROO}\cdot$ . La pèrdua de fluorescència de la FL es l'indicador de l'extensió de l'oxidació amb el radical peroxil. En presència d'un antioxidant,  $\text{ROO}\cdot$  capta, preferiblement, un àtom d'hidrogen de l'antioxidant originant un compost hidroperòxid ( $\text{ROOH}$ ) i un radical antioxidant estable ( $\text{ArO}\cdot$ ). Com a conseqüència, la disminució de la fluorescència de la FL per acció del radical peroxil és disminuïda o inhibida.

## **2. OBJECTIUS**

L'objectiu d'aquest projecte és demostrar els beneficis antioxidants dels pètals de flors de pensament, tradicionalment ornamentals, per fomentar-ne el seu consum i afavorir així el seu conreu a l'agricultura periurbana.

Per tal d'assolir l'objectiu principal s'estudien els següents objectius secundaris:

- Optimitzar el protocol d'extracció de polifenols en els pètals de pensaments.
- Quantificar els polifenols totals dels diferents pètals diferenciats per colors.
- Mesurar la capacitat antioxidant dels pètals de pensaments diferenciats per colors.
- Quantificar els polifenols totals dels diferents pètals diferenciats per la seva conservació amb i sense humitat.
- Mesurar la capacitat antioxidant dels pètals diferenciats per la seva conservació amb i sense humitat.

### **3. MATERIAL I MÈTODES**

#### **3.1. PRESENTACIÓ DE LES MOSTRES**

Les mostres que s'han fet servir per a la realització d'aquest TFC, han estat pètals de pensaments de diferents colors adquirits d'una recol·lecció de pètals de pensament aptes per al consum d'un TFC que hi treballava.

#### **Situació**

A l'Escola Superior d'Agricultura de Barcelona, al laboratori 008.

#### **Material vegetal**

Pètals de flor de pensament cultivats a l'hivernacle de l'ESAB situat a Castelldefels i a la finca de producció hortícola HortSala, a Cabrera de Mar. Les plantes d'on se'n varen obtenir els pètals foren cultivades sense cap tipus d'insecticides, ni plaguicides ni fungicides, aconseguint així plantes aptes per al consum. La collita es va realitzar en estadi 3 i a primera hora del matí per aconseguir així tota la turgència. Foren traslladades al laboratori en nevera portàtil i a continuació es va separar els pètals per posteriorment posar a assecar.

#### **3. 2. MÈTODES EXPERIMENTALS**

##### **3.2.1. Extracció de polifenols.**

Per realitzar l'extracció del polifenols del pètals de les mostres flors comestibles de pensaments, varem haver d'assajar quin seria el millor mètode per a l'extracció dels seus polifenols. Per a això varem realitzar la combinació de dos mètodes d'assecat i dos d'extracció. Quedant 4 opcions possibles:

**Taula 3.1** *Combinació dels mètodes d'eliminació d'aigua i d'extracció de polifenols*

		<b>ELIMINACIÓ D'AIGUA</b>	
		LIOFILITZACIÓ	ASSECAT A L'AIRE
<b>EXTRACCIÓ DE POLIFENOLS</b>	<b>EXTRACCIÓ</b>	liofilització/extracció	assecat a l'aire/extracció
	<b>MACERACIÓ</b>	liofilització/maceració	assecat a l'aire/maceració

### ASSECAT:

Prèviament al procés d'assecat i d'extracció del pètals, aquests eren separats del sèpal i posats en safates on posteriorment es pesaven per tenir coneixement del seu pes en fresc i posteriorment en sec.

**A l'aire:** posats a l'estufa situada al departament de fisiologia vegetal a 25°C i amb ventilació durant 10 dies. Un cop assecades es van conservar al dessecador situat al laboratori 008.

**Liofilització:** es van liofilitzar fins a la sequedat. Es va liofilitzar a una pressió de  $7.3 \times 10^{-2}$  mb i una temperatura de -52.2 °C. Un cop van liofilitzades es van conservar al dessecador situat al laboratori 008.

### EXTRACCIÓ:

**Maceració:** per a realitzar la maceració del pètals, es varen posar en 3 ml de dissolvent (2,4 ml MeOH + 0,6 ml H<sub>2</sub>O) una quantitat que anava entre els 0,14 i 0,15 g de pètals. Aquests es van tapar i es varen posar en una multi-agitadora i en refrigeració durant 24 hores. Passat aquest temps es va agafar el sobrenedant.

**Extracció:** per realitzar l'extracció es va seguir el següent protocol:

1. Es pesen 0.14/0,15 g de mostra liofilitzada i 3 mL dissolvent (2,4 ml MeOH + 0,6 ml H<sub>2</sub>O).
2. S'agiten els tubs a 900 revolucions per minut (rpm) en un agitador magnètic durant 30 minuts
3. Es posen els tubs al ultrasons durant 20 minuts.
4. Es centrifuguen els tubs durant 20 minuts a 3000 rpm.
5. Es posa el sobrenedant en un tub sec.
6. S'afegeixen 3 mL de dissolvent en el sediment de cada tub.

Del punt 2 al punt 6 es repeteixen 2 vegades, augmentant el temps d'agitació a 60 minuts i 90 minuts.

7. Es Centrifuguen els tubs amb els sobrenedant durant 30 minuts.
8. En el vial tenim l'extracte que serà guardat a temperatura de congelació a -20 °C fins el seu anàlisi. Realitzant aquest procediment s'obté l'extracte de pètals per realitzar els diferents anàlisis.

### **3.2.2. Quantificació dels polifenols totals**

#### **Mètode Folin – Ciocalteu**

El mètode Folin-Ciocalteu s'utilitza per quantificar els polifenols totals que conté un aliment. Per poder realitzar aquest mètode es necessita que l'aliment sigui líquid o treballar amb extractes com és el nostre cas.

Aquest mètode es basa en la interacció dels polifenols amb el reactiu Folin activat amb el carbonat de sodi (20%). La reacció entre reactiu de Folin i els polifenols en medi bàsic dóna un rang de colors, de incolor a blau fosc, depenen de la quantitat de polifenols que conté la mostra. El color es mesura a una longitud d'ona de 765 nm.

#### **Materials i reactius:**

- Reactiu Folin
- Carbonat de sodi (20%)
- Aigua bidestil·lada
- Cubetes vidre
- Micropipetes i puntes
- Espectrofotòmetre

#### **Procediment:**

1. Es preparen les cubetes de plàstic de 4 mL. (es realitza un blanc)
2. S'afegeix mostra fins a una proporció de 1:40.
3. S'afegeixen 2 mL d'aigua bidestil·lada.

4. S'afegeix reactiu Folin fins a una proporció de 1:25 i carbonat de sodi (20%) fins a una proporció de 3:25.
5. Es posen les mostres 1 hora en fosc.
6. S'afegeix aigua bidestil·lada fins a 4 mL.
7. Es determina els valors de l'absorbància a una longitud d'ona de 765 nm.

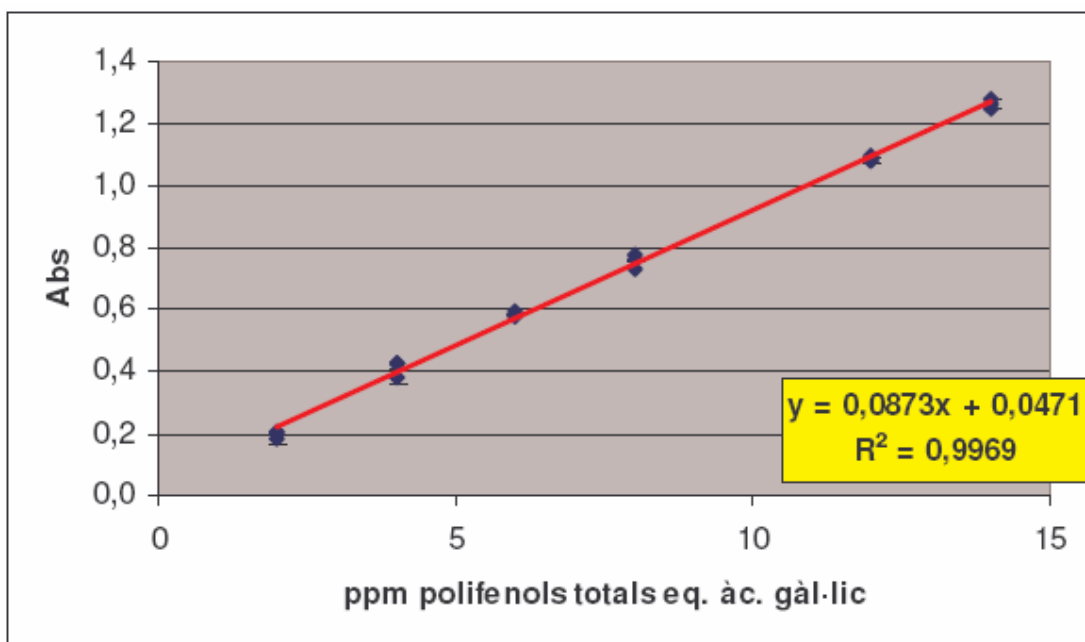
### Recta de calibrat

Es va realitzar la recta de calibrat del mètode Folin-Ciocalteu amb cubetes de plàstic a l'espectrofotòmetre Unicam-Helio, que es el que es va utilitzar per realitzar totes les mesures d'absorbàncies de les mostres i extractes durant el treball.

Per realitzar el calibrat es va utilitzar l' àcid gàl·lic, que és un àcid fenòlic i mesurant l'absorbància de les diferents concentracions a la longitud d'ona de 765nm.

Es van utilitzar les concentracions de 2, 4, 6, 8 10, 12 i 14 ppm d'àcid gàl·lic per realitzar la recta de calibrat.

**Figura 3.1** Recta de calibrat del mètode Folin – Ciocalteu



Un cop realitzada la recta de calibrat, es buscà la formula d'aquest recta que és:

$$y = 0,0873x + 0,0471, \text{ amb } R^2 = 0,9969$$

x = valor de polifenols totals equivalents a àcid gàl·lic

y = valor de l'absorbància obtinguda

Llavors, sabent l'absorbància de la mostra analitzada es sabrà la quantitat de polifenols totals equivalents a àcid gàl·lic amb ppm.

Així, realitzant els factors de conversió corresponents i tenint en compte les dilucions (si s'han realitzat) es sabrà ppm de polifenols totals equivalents àcid gàl·lic en el corresponent mostra o extracte.

En l'extracte per saber el contingut total de polifenols equivalents a àcid gàl·lic en l'aliment s'han de realitzar els factors de conversió tenint en compte el pes de la mostra que s'hi ha afegit i el volum de dissolvent.

### **3.2.3. Quantificació de la capacitat antioxidant**

#### **Mètode TEAC**

S'utilitza el mètode espectrofotomètric TEAC per determinar la capacitat antioxidant de les mostres.

Aquest mètode es basa en la captació dels radicals ABTS<sup>•+</sup> pels components antioxidants. L'ABTS<sup>•+</sup> té un color verd-blavós, i a mida que disminueix la concentració d'aquest radical lliure la solució perd el color.

La inhibició del color és proporcional a la capacitat antioxidant de la mostra.

Mesurant el percentatge d'inhibició del color i, a partir d'una recta de calibrat es calcula la capacitat antioxidant amb equivalents Trolox.

#### Materials i reactius:

- Solució del radical 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic àcid) diammonium salt (ABTS) 7mM.
- Solució de persulfat de potassi (PBS) 2.45 mM a pH 7.4.
- Termostatitzador
- Cubetes de plàstic
- Micropipeta i puntes 10 a 100 µL
- Micropipeta i puntes de 1 a 5 mL.



- Espectrofotòmetre

Procediment:

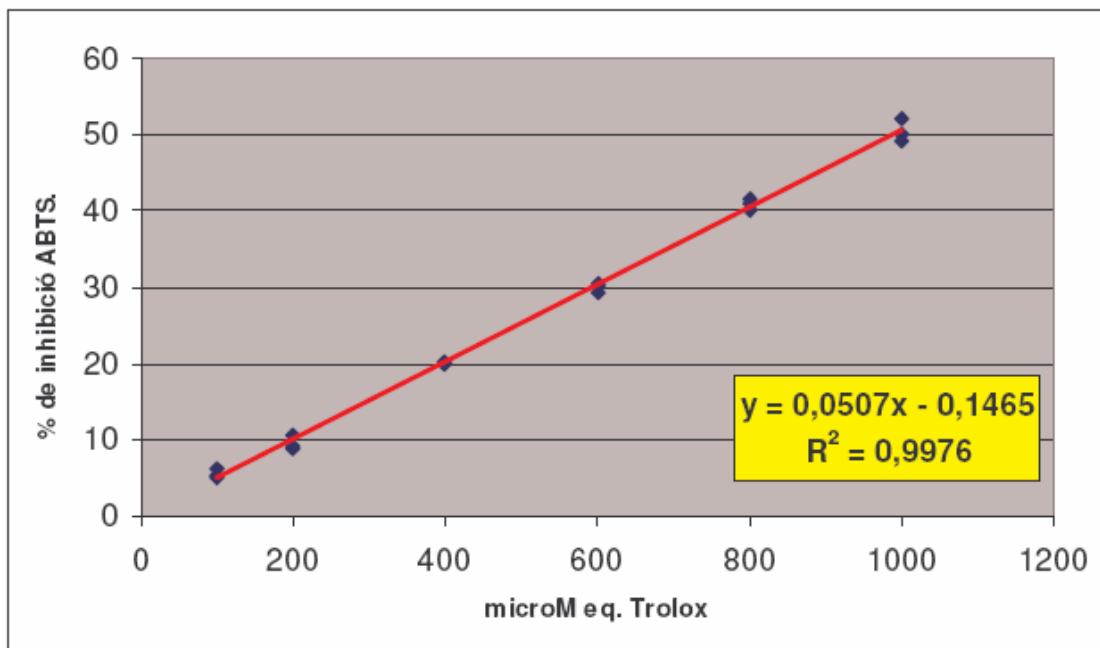
1. Es mesura l'absorbància de la solució de treball (barreja radical ABTS amb PBS) a la longitud d'ona de 734 nm, aquesta solució ha d'estar dins el rang [0.72 – 0.74]
2. Es termostatitza a 30 °C
3. Es posa la solució de treball a les cubetes de plàstic
4. Es mesura l'absorbància de totes les cubetes (t0) a 734 nm.
5. S'afegeix la mostra fins a una concentració de 1:50 en cada cubeta i es deixen les mostres a un bany d'aigua a 30 °C.
6. Al cap de 5 minuts de l'addició de la mostra (t5) es mesura l'absorbància.

Recta de calibrat

La recta de calibrat del mètode TEAC es va realitzar amb cubetes de plàstic a l'espectrofotòmetre HP8452A, utilitzant com a reactiu antioxidant el Trolox.

La longitud d'ona que es va utilitzar va ser 734 nm, i es va fer a concentracions de 100, 200, 400, 600 ,800 i 1000 µM. Per fer la recta de calibrat es va seguir el protocol del TEAC i es va obtenir la recta.

**Figura 3.2** Recta de calibrat del mètode TEAC



Per obtenir el resultat de la capacitat antioxidant primer s'ha d'obtenir el valor ABTS, que s'obté a partir de la següent formula:

$$ABTS = \left( \frac{Abs_{t=0}(mostrà) - Abs_{t=5}(mostrà)}{Abs_{t=0}(mostrà)} - \frac{Abs_{t=0}(blanc) - Abs_{t=5}(blanc)}{Abs_{t=0}(blanc)} \right) \times 100$$

El resultat que s'obté d'aquesta formula és el % d'inhibició del ABTS.

La formula obtinguda en l'equilibrat, que és:

$$y = 0.0507x - 0.1465 \text{ amb } R^2 = 0.9976$$

x = microM eq. Trolox

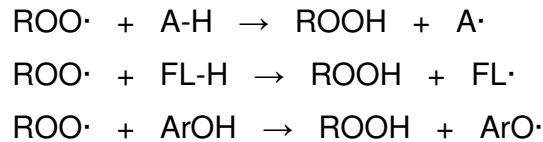
y = % inhibició de ABTS

I fent els factors de conversió necessaris s'obté el valor final en μmols de Trolox / 100 g de mostra que ens indica la capacitat antioxidant de la mostra expressada en equivalents Trolox.

### **Mètode ORAC**

El mètode ORAC (Oxygen Radical Antioxidant Capacity) s'aplica amb freqüència per assegurar la capacitat antioxidant en mostres biològiques i d'aliments. Es basa en la inhibició del radical peroxil oxidatiu induït per descomposició tèrmica de compostos azo com el 2,2'-azobis(2-amidino-propane)dihydrochloride (AAPH). Així, l'assaig ORAC combina temps i disminució de la inhibició, a diferencia del mètode TEAC que únicament avalua la disminució en la inhibició.

El mecanisme de reacció es basa en la transferència d'un àtom d'hidrogen (HAT) (hydrogen àtom transfer) del radical lliure, AAPH, a l'antioxidant. Per això, es fa servir un radical iniciador, el AAPH, per a generar el radical peroxil ROO·. Un mol de AAPH perd un mol de dinitrògen per generar dos mols de radical AAPH en un rati constant. En una solució saturada d'aire, el radical AAPH reacciona ràpidament amb l'oxigen per donar un radical peroxil més estable, ROO·. La pèrdua de fluorescència del la FL es l'indicador de l'extensió de l'oxidació amb el radical peroxil. En presència d'un antioxidant, ROO· capta, preferiblement, un àtom d'hidrogen de l'antioxidant originant un compost hidroperòxid (ROOH) i un radical antioxidant estable (ArO·). Com a conseqüència, la disminució de la fluorescència de la FL per acció del radical peroxil és disminuïda o inhibida. Las reacciones que tenen lloc són:



On A-H representa al radical iniciador AAPH, FL-H és el compost fluorescent (FL) i ArOH és l'antioxidant.

La protecció de l'antioxidant es mesura a partir de l'àrea de fluorescència sota la corba (AUC) de la mostra en comparació amb la AUC del blanc, en la que l'antioxidant no està present. El AUC es calcula mitjançant la següent expressió:

$$AUC = \left( 0,5 + \left( \sum_{i=1}^{i=31} \frac{f_i}{f_1} \right) \right) \cdot CT$$

On :

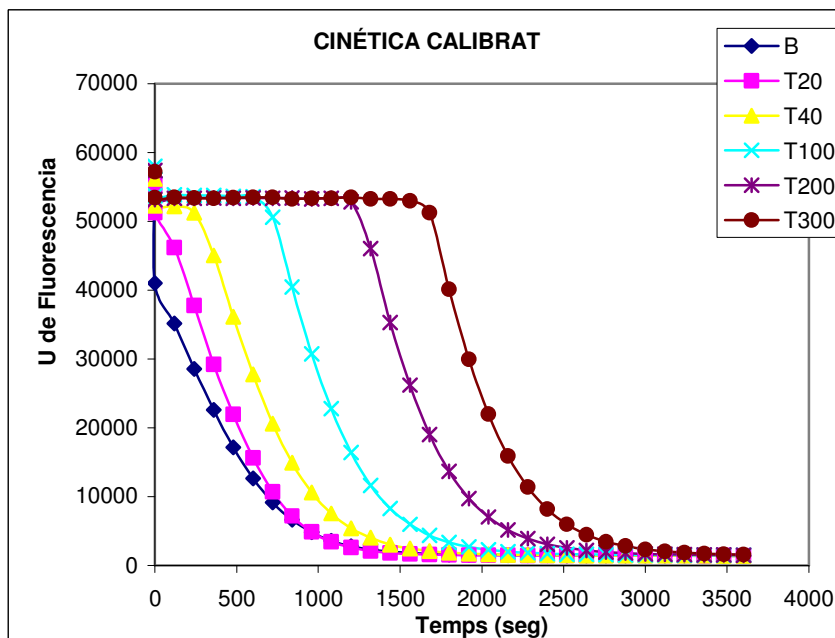
i: nombre de cicles.

f: unitats de fluorescència.

CT: temps de cada cicle en minuts. En aquest cas CT es igual a 2.

La figura mostra un exemple de las AUC del blanc i dels patrons Trolox 20 mM, 40 mM, 100mM, 200mM y 300mM (concentracions en 20 microlitres).

**Figura 3.3** Mostra de les AUC de la mostra i dels patrons



L'àrea neta sota la corba (AUC neta) es troba per diferència entre l'AUC de la mostra i l'AUC del blanc. Aquesta AUC neta (y) es gràfica front a la concentració de Trolox dels patrons (x) obtenint una recta de regressió lineal, a partir de la qual es calcula els mols equivalents de Trolox per litre de mostra. S'ha de remarcar que aquest calibrat amb Trolox s'ha de realitzar cada cop que s'aplica el mètode. A la figura s'indica un exemple de la recta de calibrat obtinguda per un assaig del mètode ORAC.

#### Materials i reactius:

- Trolox 97% (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic àcid);
- PBS (phosphate buffered saline);
- AAPH; 2,2-Azobis(2-methylpropionamidine) dihidrochloride 97%;
- Fluoresceïna (Fluorescein Sodium Salt;  $C_{20}H_{10}Na_2O_5$ ) s'obté de Fluka.
- Agua MilliQ.

#### Preparació de les dissolucions necessàries:

- Fluoresceïna. La solució stock de fluoresceïna (FL#1) es prepara dissolvent 2 mg de reactiu en 100 mL de PBS 75 mM (pH 7,0). La segona dissolució stock (FL#2) es prepara diàriament a partir d'una dilució 1/10 de la solució FL#1 en PBS 75 mM. Es prepara una tercera solució de fluoresceïna (FL#3) (preparació diària), de la que s'afegeixen 120 microlitres/pocillo a la placa obtenint una concentració final por pocillo de 80 nM.
- Trolox
- AAPH.

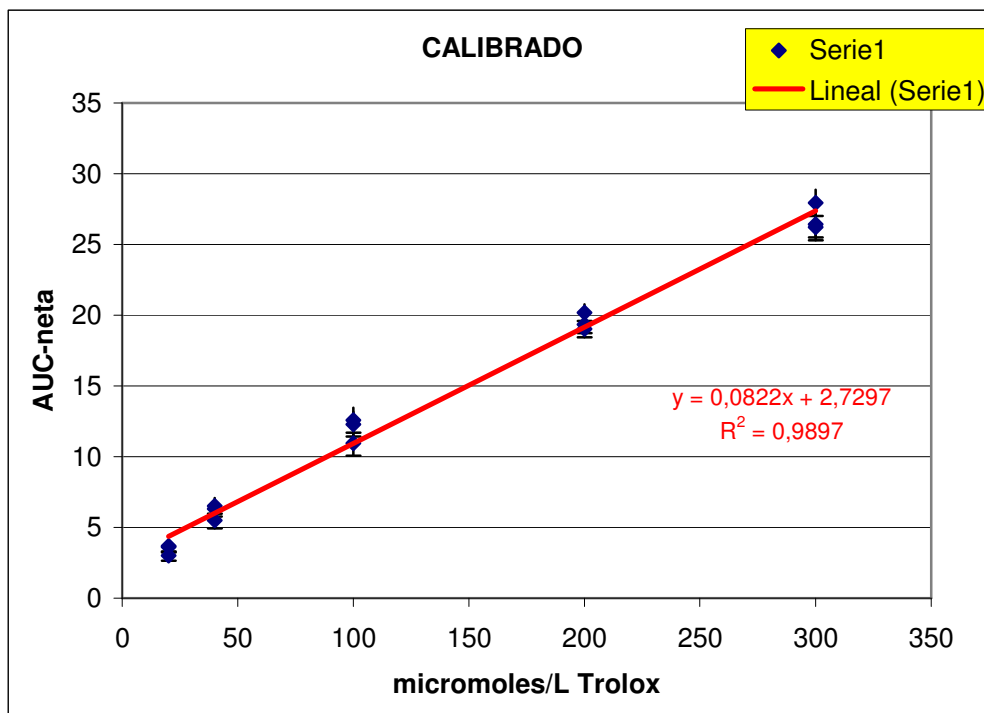
#### Procediment:

La temperatura del fluorímetre ha de ser de 37 °C. S'addicionen 120 microlitres de la solució de FL#3 per pocillo amb ajuda d'una pipeta multicanal i a continuació 20 microlitres de PBS 75 mM (blanc), patró o mostra segons convingui. S'incuba la placa dins de l'aparell 10 minuts a 37 °C i es realitza la lectura a temps zero.

Un cop s'obtenen els valors inicials s'afegeixen ràpidament 60 microlitres de la solució AAPH a 37 °C i es realitza la lectura de la fluorescència durant 60 minuts (31 cicles).

Els resultats obtinguts es tracten mitjançant les formules exposades anteriorment.

**Figura 3.4** Recta de calibrat del mètode ORAC



## **4. RESULTATS I DISCUSSIÓ**

### **4.1 DETERMINACIÓ DE LA METODOLOGIA**

Abans de procedir a l'extracció de tots els pètals subjectes a estudi, i causa de la falta clara d'antecedents, es va analitzar la millor metodologia d'extracció combinant dos tipus d'eliminació d'aigua (liofilització i secat amb corrent d'aire a estufa) i dos tipus d'extracció (directa, amb tres extraccions i maceració), tal i com s'explica al punt 3 Material i Mètodes, el que ens donava quatre possibles combinacions com queda reflexat a la **taula 4.1**.

**Taula 4.1** *Combinació dels mètodes d'eliminació d'aigua i d'extracció de polifenols. Metodologia testada.*

		<b>ELIMINACIÓ D'AIGUA</b>	
		<b>LIOFILITZACIÓ</b>	<b>ASSECAT A L'AIRE</b>
<b>EXTRACCIÓ DE POLIFENOLS</b>	<b>EXTRACCIÓ</b>	liofilització/extracció	assecat a l'aire/extracció
	<b>MACERACIÓ</b>	liofilització/maceració	assecat a l'aire/maceració

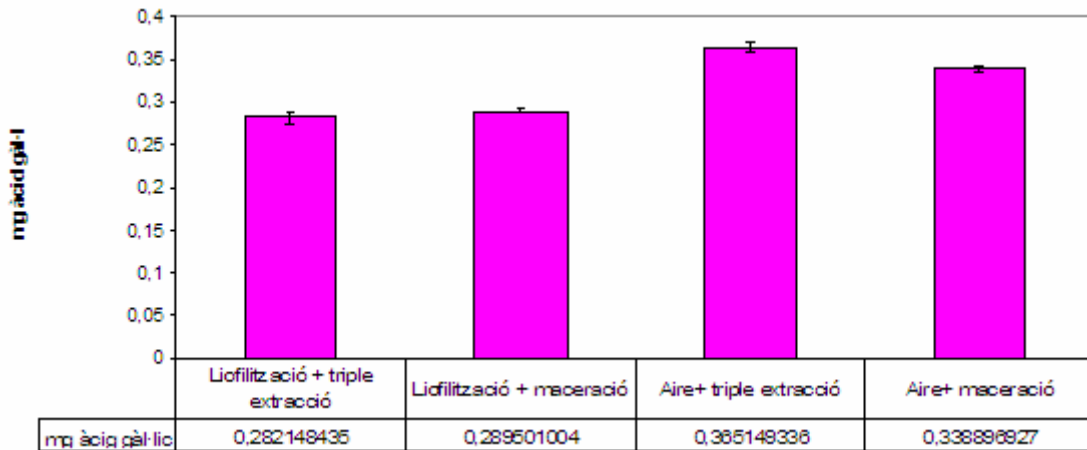
Les quatre opcions es varen realitzar amb pètals de plantes procedents del mateix cultiu, doncs la intenció era la de quantificar quina era l'opció amb la que obteníem més quantitat de polifenols mitjançant la metodologia de mesura Folin-Ciocalteu. Els resultats obtinguts per lectura espectrofotomètrica i aplicant la corba de calibrat (Punt 3: Material i Mètodes), es recullen a la següent **taula 4.2**.

**Taula 4.2** *Resultats del mètode Folin-Ciocalteu expressats en mg polifenols totals equivalents en àcid Gàl·lic per gram de mostra seca.*

<b>MÈTODES</b>	<b>mg àcid Gàl·lic/g mostra seca ± desviació estàndard</b>
Liofilització+ extracció	0,282148435 ± 0,0073
Liofilització+ maceració	0,289501004 ± 0,0026
Aire+ extracció	0,365149336 ± 0,0066
Aire+ maceració	0,338896927 ± 0,0031

La major extracció es produïa assecant en corrent d'aire i mitjançant una triple extracció amb Metanol al 75%. Per això ha esta aplicat a la resta dels experiments.

**Figura 4.1** Resultats del mètode Folin-Ciocalteu expressats en mg polifenols totals equivalents en àcid Gàl·lic per gram de mostra seca.



Després de l'estudi es varen estudiar les possibles raons per les quals s'obtenien els resultats. Es possible que la millor manera d'assecar els pètals fos la d'assecat a l'aire doncs en front de la liofilització, pot ser que deixem l'aigua de constitució dels pètals, fet que podria facilitar-ne l'extracció i d'aquí que en tinguem un resultat superior. Juntament amb el fet que al fer-ne una triple extracció obtinguem un millor resultat degut a que amb la triple extracció es força molt més l'extracció dels polifenols.

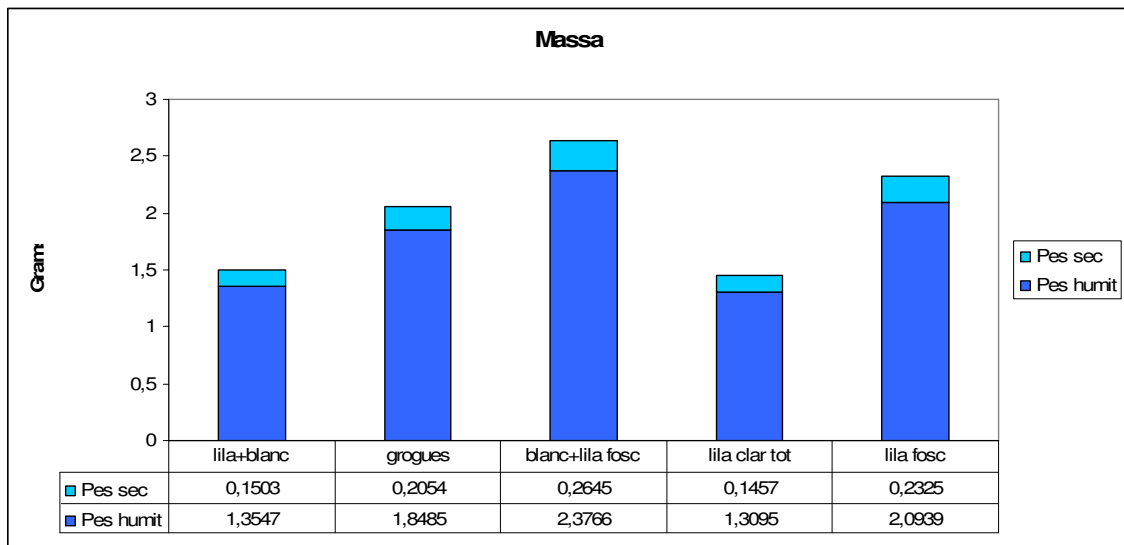
Amb la combinació de totes dues es com varem obtenir el millor resultat.

## 4.2 INFLUÈNCIA DEL COLOR

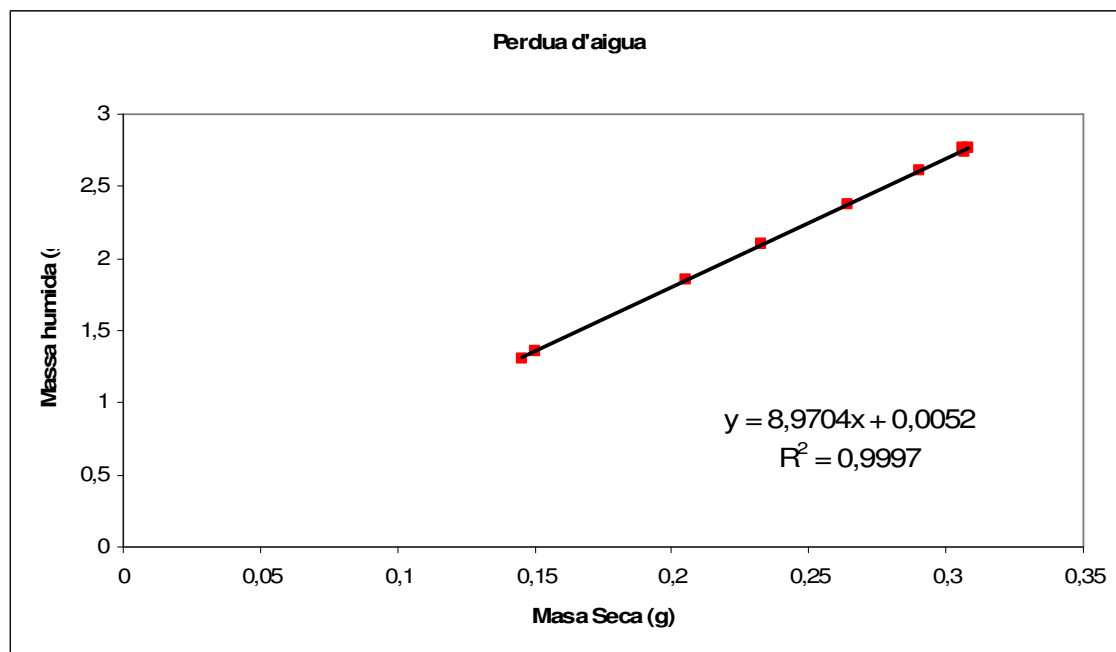
### 4.2.1 INFLUÈNCIA DEL COLOR EN EL CONTINGUT DE POLIFENOLS TOTALS.

Definit el mètode d'assecat es va procedir a assecar les mostres a l'aire (Punt 3: Materials i Metodologia), i es varen obtenir els següents resultats:

**Figura 4.2** Matèria seca (g) i aigua (g) dels pètals de pensament dels diferents colors i conservats en diferents humitats.



**Figura 4.3** Relació entre el pes fresc i el pes sec de les mostres

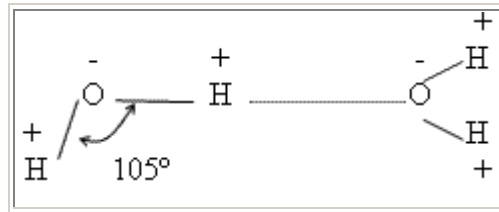




El percentatge d'humitat (Figura 4.3.) és independent del color dels pètals amb una correlació molt bona ( $R^2 = 0,9997$ )

L'aigua té gran importància gracies a les seves propietats físico-químiques:

1) Es un dipol i té carregues parcials que permeten als ponts d'H.



2) Líquida entre 0 – 100°C (a la Pressió atmosfèrica)

3) Elevada constant dielèctrica (el que facilita la solubilitat de compostos polars)

4) Elevat calor específic i calor d'evaporació (el que serveix per a controlar la termoregulació en plantes)

5) Responsable de la turgència cel·lular i creixement (extensió) cel·lular.

6) Dissolvent ideal d'electròlits.

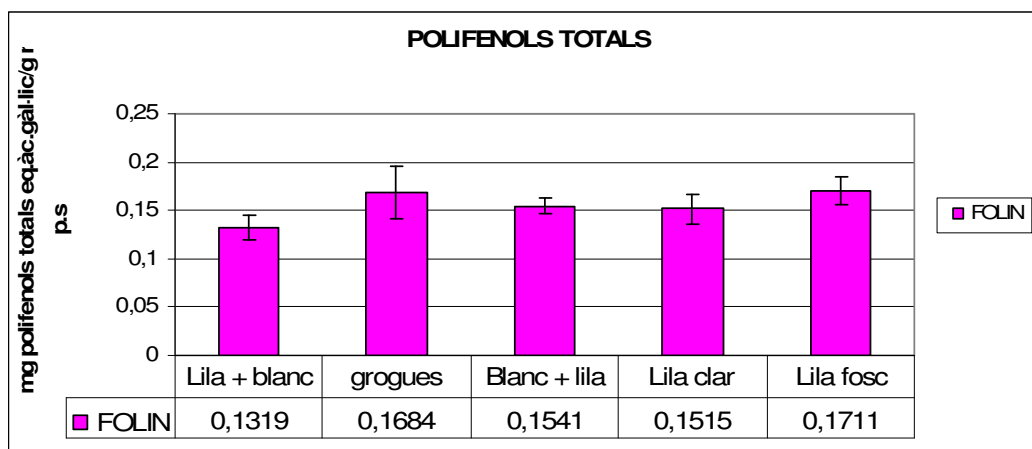
(Fuentes 1998)

El fet de treballar amb els pètals secs implica que ha disminuït el percentatge de  $H_2O$ , però no s'ha eliminat totalment perquè queda sempre el  $H_2O$  de constitució. Això és important perquè facilitarà, en el procés d'extracció de polifenols.

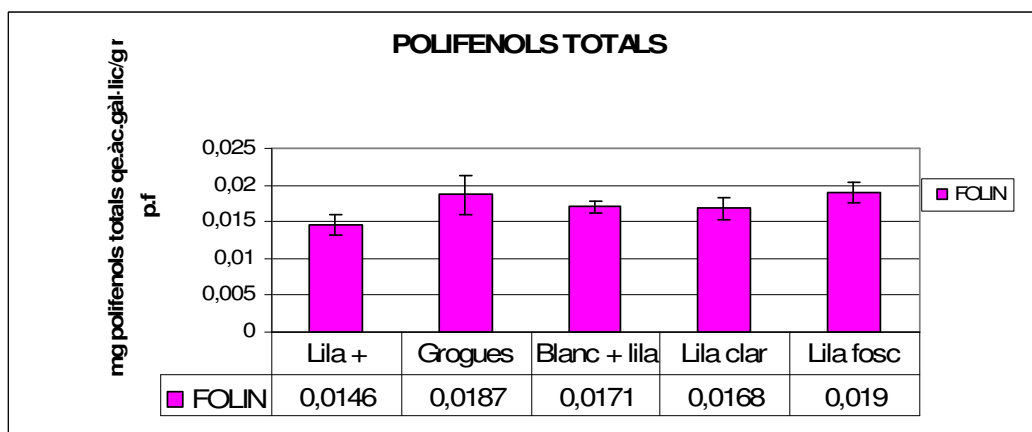
Fem servir MeOH 75% perquè la bibliografia ens indica que és un dels millors dissolvents per extreure polifenols, objecte del nostre estudi (Santas et al, 2008) i presenta la característica de solubilitzar tan els pigments liposolubles continguts als cloroplasts, com als pigments hidrosolubles continguts als vacúols de les cèl·lules epidèrmiques dels pètals.

Es van estudiar la quantitat de polifenols (mitjançant el mètode Folin-Ciocalteu) existents en els pètals de diferents colors. Els resultats són recollits a les **figures 4.4 i 4.5**. S'observa que els pètals que contenen més quantitats de polifenols són els de color lila fosc i grocs.

**Figura 4.4** Resultats del mètode Folin-Ciocalteu expressats en mg polifenols totals equivalents en àcid Gàl·lic per gram de mostra seca.



**Figura 4.5** Resultats del mètode Folin-Ciocalteu expressats en mg polifenols totals equivalents en àcid Gàl·lic per gram de mostra humida.



Lògicament els resultats són molt similars degut a que el percentatge d'humitat pràcticament no varia d'un color a un altre.

Els pètals que més polifenols contenen i els que més capacitat antioxidant demostren són els grocs i els liles. Això està en concordança amb Meléndez-Martínez et al (Melendez-Martinez et al, 2004) que corroboren que els tons blaus i púrpures es deuen al contingut d'antocians i els grocs a les flavones o carotens. Aquets pigments són per tant msjoritariament responsables de les propietats antioxidants (Meléndez-Martínez et al.,2004)

Com era d'esperar, els pètals que tenen un color més pàlid contenen menys polifenols i menys capacitat antioxidant a causa que aquestes games de color es deuen a la presència de diminutes bosses d'aire entre les cèl·lules que el formen els pètals. (Meléndez-Martínez et al., 2004)

#### 4.2.2 ESTUDI DE LA ACTIVITAT ANTIOXIDANT

El polifenols tenen diverses propietats i contribueixen a les propietats funcionals dels pètals comestibles. Una d'aquestes propietats funcionals és l'activitat antioxidant que està relacionada amb el contingut de polifenols. (Frankel, 2000)

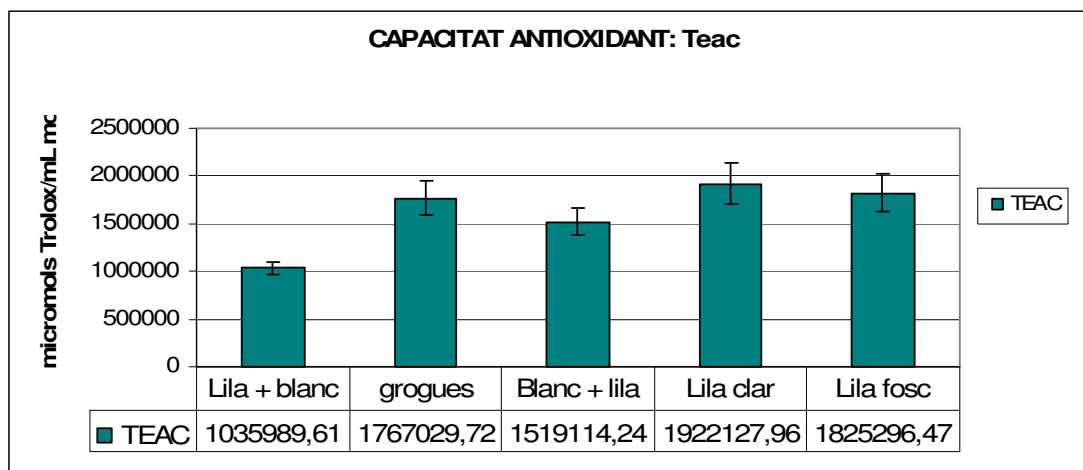
Tal i com s'ha comentat anteriorment, la capacitat antioxidant s'ha determinat per 2 metodologies diferents. Això està aconsellat ja que són mètodes que només parcialment es poden extrapolar als beneficis teòrics que tindria en la salut humana. Si els mètodes utilitzats són coincidents en un percentatge del 60% l'extrapolació és més fiable. (Santas, 2008)

Després de determinar la quantitat de polifenols continguts en les mostres, es va procedir a analitzar la seva capacitat antioxidant mitjançant els mètodes TEAC i ORAC.

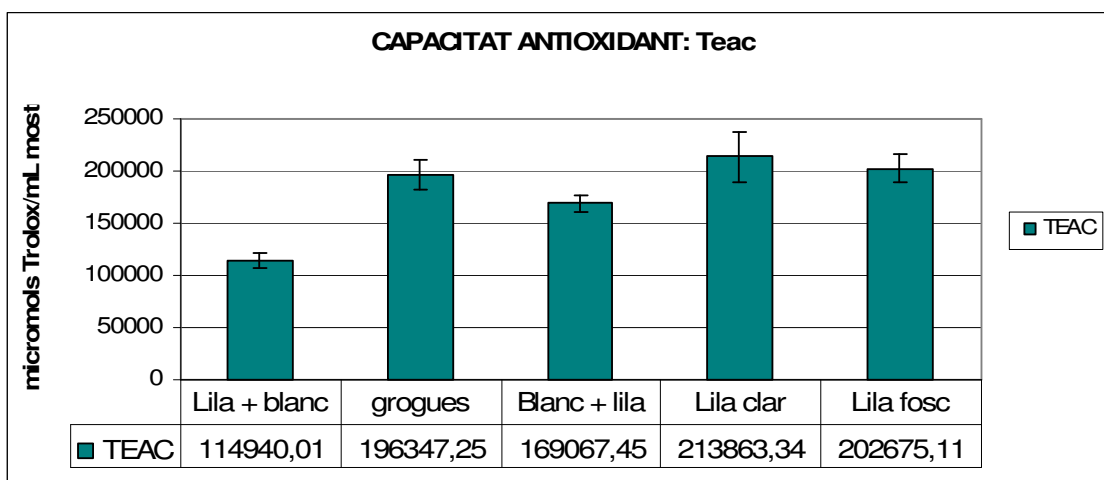
##### 4.2.2.1 Mètode TEAC

El color lila es el que reflexa una major capacitat antioxidant, (tan clar com foscos) tot seguit dels grocs (**Figura 4.6.** i **4.7.**)

**Figura 4.6** Resultats del mètode TEAC expressats en  $\mu\text{mol}$  equivalents de Trolox totals per gram de mostra seca.

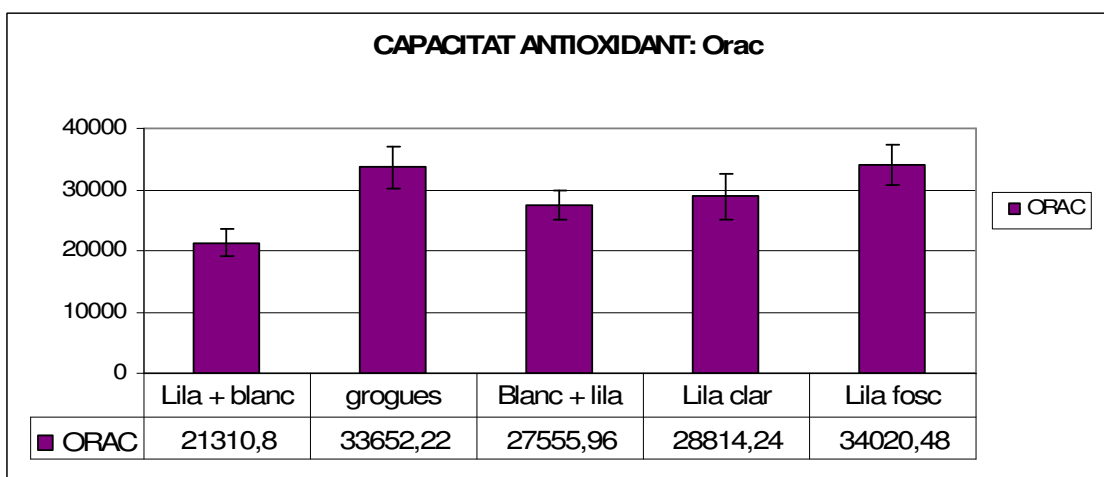


**Figura 4.7** Resultats del mètode TEAC expressats en  $\mu\text{mol}$  equivalents de Trolox totals per gram de mostra humida.



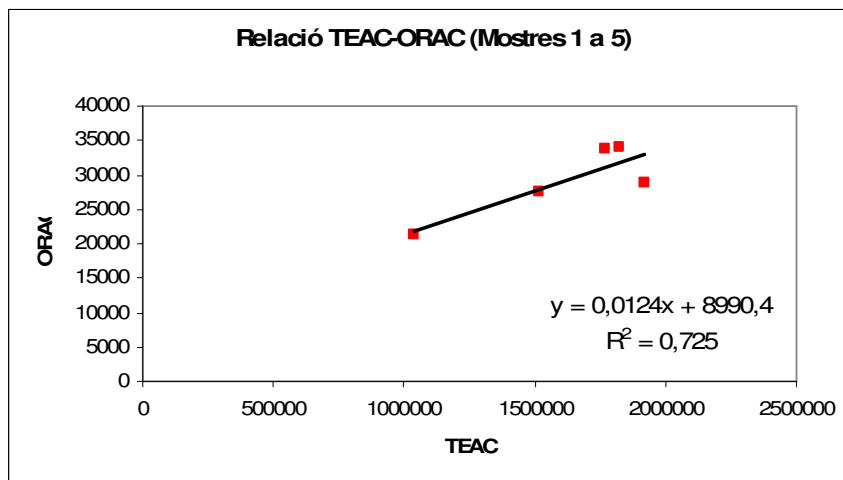
#### 4.2.2.2 Mètode ORAC

**Figura 4.8** Resultats del mètode ORAC en  $\mu\text{mol}$  se Trolox totals equivalents per gram de mostra seca.

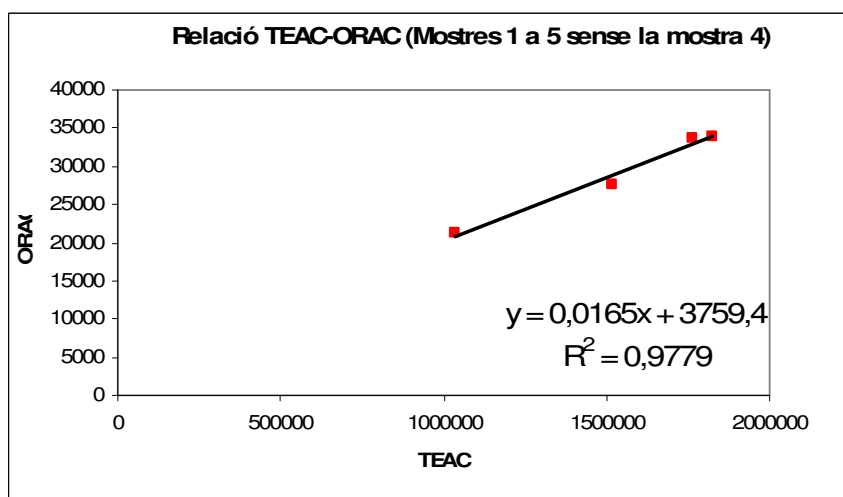


S'ha analitzat la relació que existeix entre els dos mètodes de determinar la activitat antioxidant. Se observa que es una bona correlació, con una  $R^2$  de 0,725, (**figura 4.9 i figura 4.10**) que augmenta considerablement ( $R^2 = 0,977$ , Figura 4.9.) si s'elimina un dels resultats que difereix considerablement en ambos mètodes. Aquesta correlació superior a 0,6, està d'acord amb la bibliografia (Santas, 2008) i valida ambos mètodes i la seva extrapolació al possible benefici que pugui realitzar-se en el cos humà com a conseqüència de la seva inclusió a la dieta.

**Figura 4.9** *Relació entre el TEAC i l'ORAC de les diferents mostres per colors.*



**Figura 4.10** *Relació entre el TEAC i l'ORAC de les diferents mostres per colors sense la mostra 4 (lila clar).*



### 4.3 INFLUÈNCIA DEL TEMPS DE CONSERVACIÓ EN REFRIGERACIÓ AMB I SENSE HUMITAT

#### 4.3.1 INFLUÈNCIA DEL TEMPS DE CONSERVACIÓ EN REFRIGERACIÓ AMB I SENSE HUMITAT EN EL CONTINGUT DE POLIFENOLS TOTALS.

Hem diferenciat 5 grups de pètals pel seu color per estudiar-ne la capacitat antioxidant.

Per altre banda s'ha volgut estudiar la evolució de les propietats funcionals (en concret l'activitat antioxidant) dels pètals després de la seva conservació en refrigeració (4°C) i amb humitat relativa alta durant un període de 10 dies i

diferenciar-ne els resultats segons el tipus de conservació: un grup va ser conservat amb humitat i l'altre sense.

Per analitzar la influència que podia tenir la conservació en nevera, a temperatura de refrigeració, durant 10 dies, amb i sense humitat proporcionada per paper de cel·lulosa impregnat d'aigua, es varen prendre dos grups de pètals de colors similars: grocs i taronges.

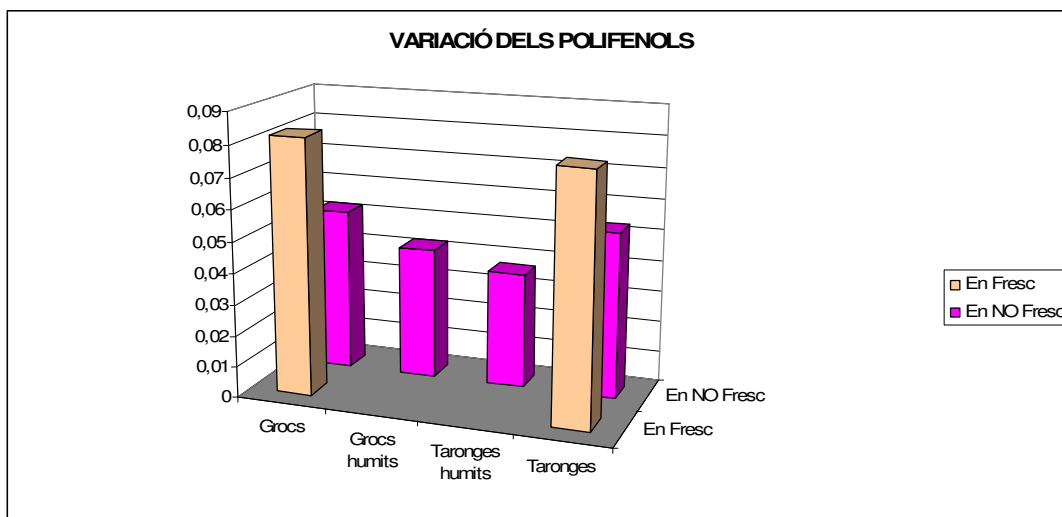
Els tres tractaments són:

- L'habitual: assecar en estufa fins a pes constant. Aquest servirà de referència.
- Mantenir en nevera, tancats i sense humitat afegida.
- Mantenir en nevera, tancats i amb humitat afegida.

Els resultats control indiquen que els polifenols disminueixen al conservar els pètals a la nevera. Aquest fet és important a l'hora de fer-los servir en plats en ús, on a més de la seva capacitat de guarnir es busca altres propietats i ens indica que cal disminuir al màxim els temps de emmagatzematge, tot i que ho fem en condicions òptimes.

Cal destacar que la disminució de polifenols dels que s'han mantingut en més graus d'humitat és més gran. Això ens indica que possiblement l'humitat ens afavoreix la degradació dels polifenols, mentre que la conservació en refrigeració també ho disminueix, com és lògic, però en menor percentatge. A diferència de les hortalisses de fulls a les que una disminució de l'aigua de constitució les hi implica una pèrdua en metabòlits tan importants com la vitamina C.

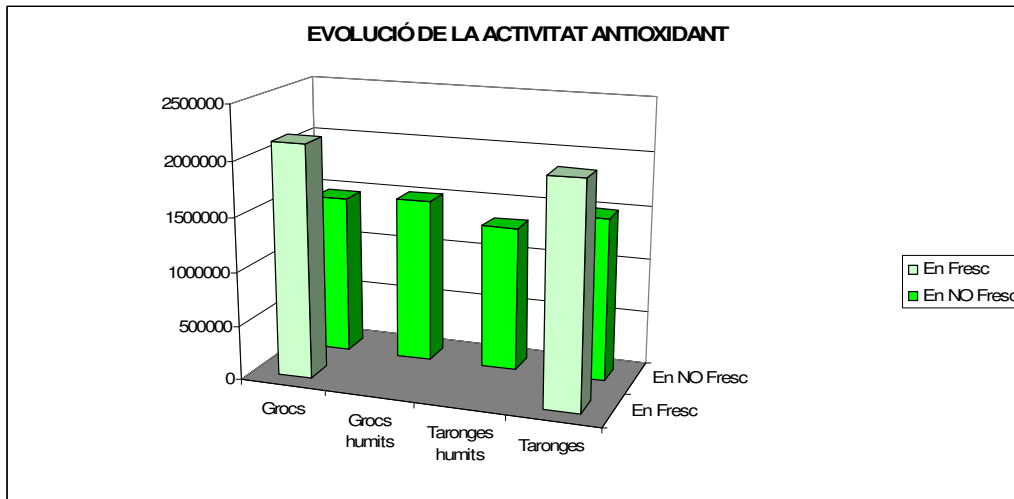
**Figura 4.11** Resultats del mètode Folin-Ciocalteu expressats en mg polifenols totals equivalents en àcid Gàl·lic per gram de mostra seca.



### 4.3.2 ESTUDI DE LA ACTIVITAT ANTIOXIDANT

#### 4.3.2.1 Mètode TEAC

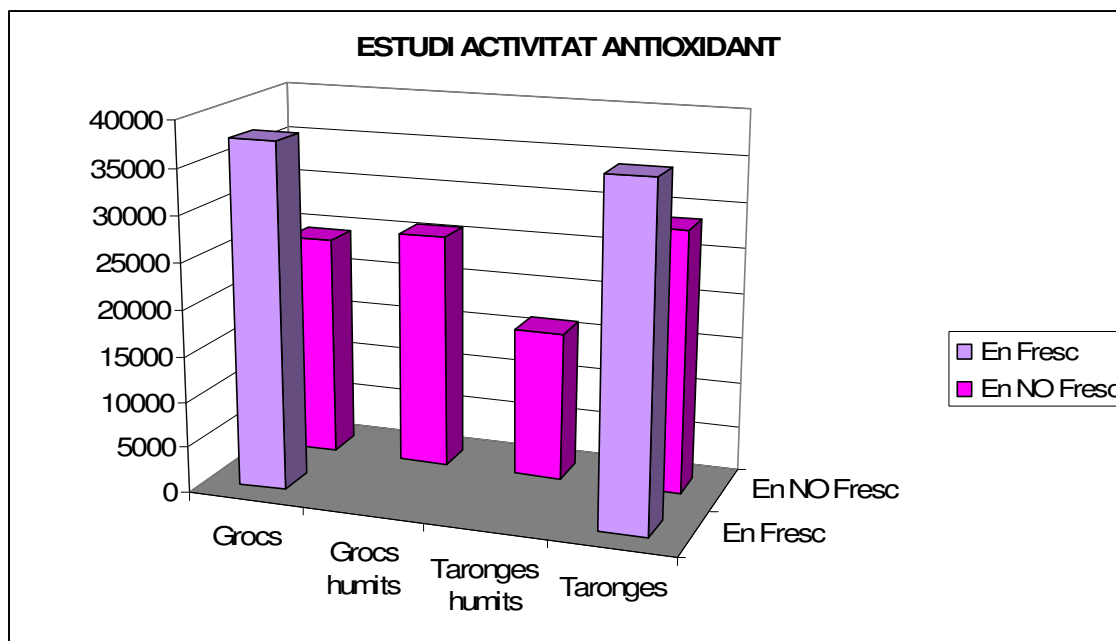
**Figura 4.12** Resultats del mètode TEAC expressats en  $\mu\text{mol se Trolox totals equivalents per gram de mostra seca}$ .



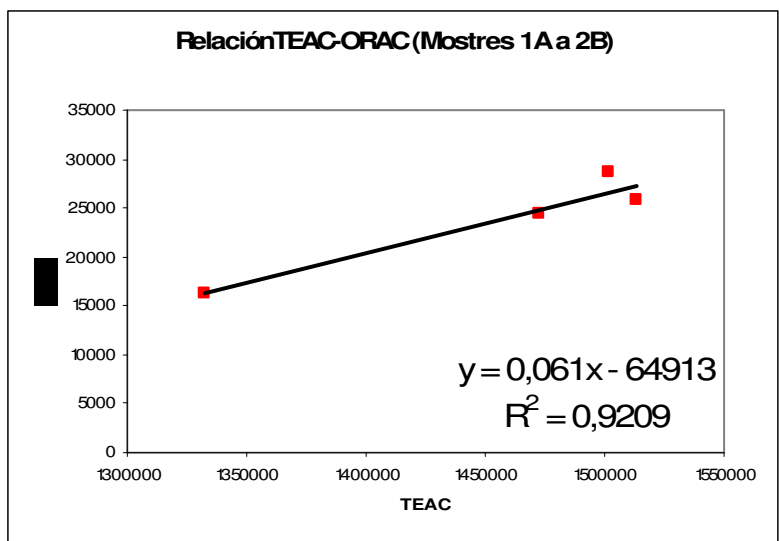
En el cas de la conservació de l'activitat antioxidant, es pot veure que hi ha una disminució després dels 10 dies de conservació, tot i que en aquest cas no hi trobem una diferència tan clara com en el cas de la quantitat de poliofenols.

#### 4.3.2.2 Mètode ORAC

**Figura 4.13** Resultats del mètode ORAC en  $\mu\text{mol se Trolox totals equivalents per gram de mostra seca}$



**Figura 4.14** Corelació entre el TEAC i l'ORAC de les diferents mostres per colors.



Sembla mantenir-se la bona relació entre metodologies, però la falta de més mostres no ens permeten ser més concloents.

#### 4.4 INFLUÈNCIA DELS TEMPS DE CONGELACIÓ DELS EXTRACTES

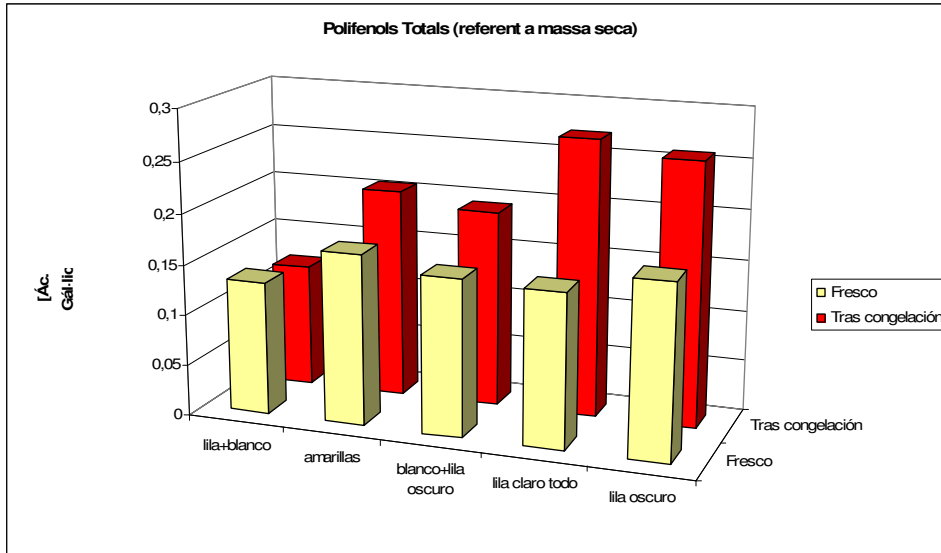
Els extractes de les mostres dels pètals de diferents colors i els diferenciats per mètodes de conservació els varem mantenir congelats per així poder observar-ne l'efecte de la congelació en llargs períodes en l'extracte.

Cal remarcar que es va realitzar al llarg dels mesos d'estiu i que a la temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$  el MeOH del 75% no solidifica, sinó que segueix en estat líquid. Aquest fet propicia que pugui existir una certa evaporació del dissolvent en el processat, per el que influiria en l'augment de concentració de polifenols i per tant en un augment global que no es representatiu de que hagi hagut un increment en si mateixos, sinó que s'ha evaporat part del dissolvent. Això explicaria l'augment de la quantitat de polifenols. Una altre explicació podria esser els problemes ocasionats amb el mal funcionament de la congelació als mesos d'estiu. El fet

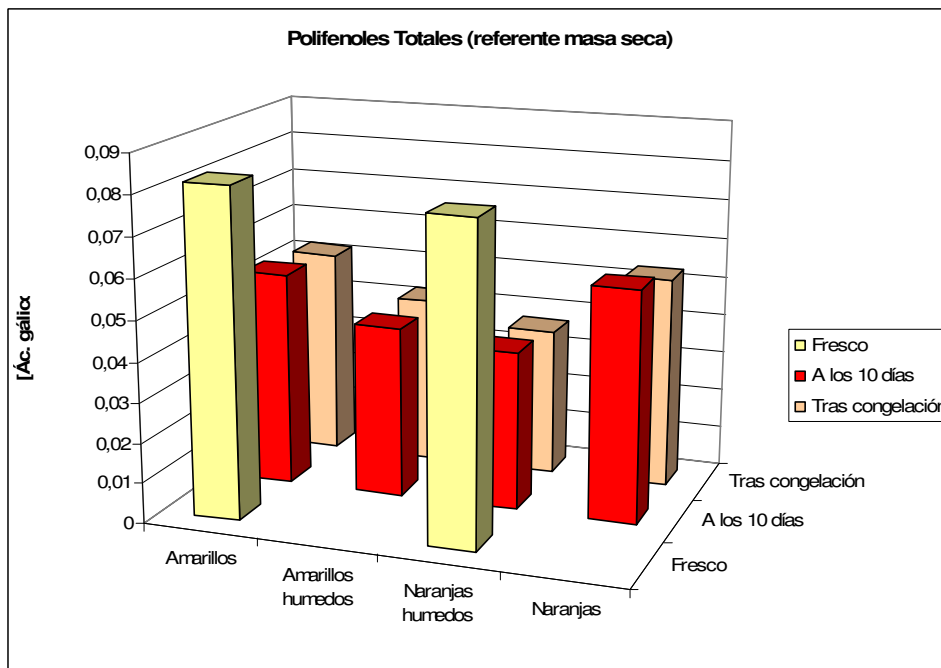


global es que s'ha produït una evaporació de part del MeOH, el que provocaria un augment de la concentració de les mostres

**Figura 4.15** Comparació de polifenols totals abans i després de la congelació.



**Figura 4.16** Comparació dels polifenols de les mostres congelades dels pètals conservats amb i sense humitat



## 5. CONCLUSIONS

En l'estudi realitzat s'han obtingut les següents conclusions:

1. La millor metodologia a l'hora d'extraure els polifenols dels pètals de flor comestible és la d'assecar els pètals de flors a l'aire i fer-ne una triple extracció amb MeOH al 75%.
2. Els pètals de pensament contenen una quantitat polifenols suficientment alta com per a tenir capacitat antioxidant.
3. Els pètals que contenen més quantitat de polifenols i capacitat antioxidant són els de colors liles.
4. La correlació amb la metodologia de quantificació de polifenols i les de determinació de capacitat antioxidant és superior al 60%.
5. Els polifenols es degraden amb el pas del temps tot i que els conservem en refrigeració.
6. La humitat augmenta la velocitat de la degradació dels polifenols.

## 1. BIBLIOGRAFIA

1. Barash C. W., *The flavors of flowers*. Herb Companion. 1998, vol. 10, núm\_4, p. 32-37.
2. Cabannes, Y. 2006 *Financing and Investment for Urban Agriculture*. Cities farming for the future. Ed. Von Veenhuizen.
3. Cushnie, T.; Lamb, A. (2005); *Antimicrobial activity of flavonoids*, International Journal of Antimicrobial Agents, 26: 343-356.
4. Erauzkin Cañada, Iker. *El sabor de las flores*. Barcelona: Editorial Oceano S.L., 2005. ISBN 84-7556-390-2.
5. Frankel EN, Meyer AS *The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants* Source: JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE Volume: 80 Issue: 13 Pages: 1925-1941 Published: OCT 2000
6. Friedman, H.; Vinokur, Y.; Rot, I.; Rodov, V.; Goldman, G.; Resnick, N.; Hagiladi, A.; Umiel, N. *Tropaeolum majus L. As edible flowers: growth and postharvest handling*. HortScience, 2005, vol. 19, núm. 1, p. 3-8.
7. Hertog, M.; Hollman, P.; Venema, D. (1992); *Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavanoids in vegetables and fruits*, Journal of agricultural and food chemistry, 40: 1591-1598.
8. Jiménez, M.E; Zambrano, M.L; Aguilar M.R. *Stability of Pigments in Fruit Subjected to Microwave Energy Treatment Información Tecnológica-Vol. 15 N°3-2004, págs.: 61-66*
9. Kelley K. M.; Behe B. K.; Biernbaum J. A.; Poff K. L. *Consumer and professional chef perceptions of three edible flowers species*. HortScience 2001, vol. 36, p.162-166.

10. Kelley K. M.; Behe B. K.; Biernbaum J. A.; Poff K. L. *Consumer preference for edible flower Color, Container Size, and Price*. HortScience 2001, vol. 36, núm. 4, p. 801-804
11. Llaguno, C.; *Enología: temas actuales*; Ed. ANQUE; Madrid, 1982.
12. López, A ; López, M<sup>ª</sup>C ; Lamuela, RM<sup>a</sup> ; Mariné, A ; *Antioxidants i salud*. Institut d'Estudis Catalans, Centre Català de la Nutrició de l'IEC. Barcelona,2004.
13. McMichel, A.J. 2000 *The urban environment and health in a world of increasing globalization: issues for developing countries* Bulletin of the World Health Organisation 78(9):1117-1126
14. Medina, X.; "La alimentación mediterránea"; Ed. Icaria, Barcelona, 1996
15. MELENDEZ-MARTINEZ, Antonio J., VICARIO, Isabel M. y FRANCISCO J., Heredia. *Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides*. ALAN, jun. 2004, vol.54, no.2, p.149-155. ISSN 0004-0622.
16. MELENDEZ-MARTINEZ, Antonio J., VICARIO, Isabel M. y FRANCISCO J., Heredia. *Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos*. . ALAN, jun. 2004, vol.51, no.2, p.148-154. ISSN 0004-0785.
17. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice- Evans, C. (1999); *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*, Free Radical Biology & Medicine, Vol 26: 1231-1237.
18. Santas J, Carbo R, Gordon MH, et al. *Comparison of the antioxidant activity of two Spanish onion varieties* Source: FOOD CHEMISTRY Volume: 107 Issue: 3 Pages: 1210-1216 Published: APR 1 2008
19. Sellappan, S.; Akoh, C. (2002); *Flavonoids and antioxidant capacity of Georgia-grown Vidalia onions* Journal of agricultural and food chemistry, 50: 5338-5342.

20. Urban Agriculture Network

21. Weil, A.; *¿Sabemos comer? Una guía indispensable en tiempos de crisis alimentarias*; Ed. Urano, Barcelona, 2001.

22. Yang, J.; Meyers, K.; van der Heide, J.; Hai, R. (2004); *Varietal differences in phenolic content and antioxidant and antiproliferative activities of onions*  
Journal of agricultural and food chemistry, 52: 6787- 6793.

23. Zoecklein, B.; Fugelsang, K.; Gump, B.; Nury, F.; *Análisi y producció de vino*; Ed. ACRIBIA, Zaragoza, 2001.