

Caracterización química de azafrán por técnicas de HPLC

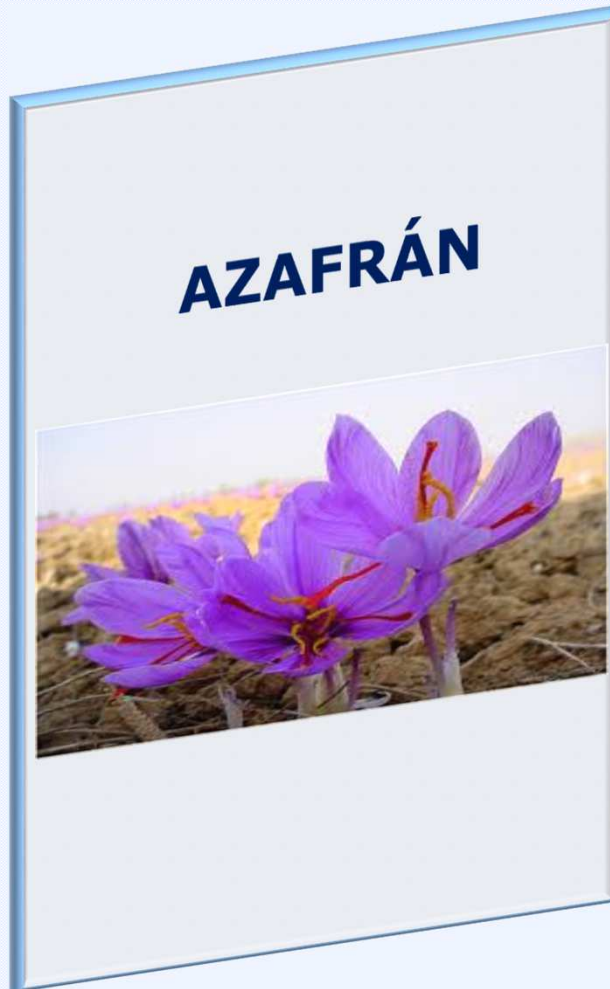


GmbH

Caracterización química de azafrán por técnicas de HPLC

Dr. Fernando Lafont. Univesidad Córdoba

Introducción



Preparación muestra

Instrumentación analítica

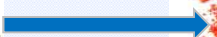
HPLC-UV/DAD

UHPLC-QTOF

Resultados



Preparación de muestra



0,25 g muestra homogeneizada

Transferir muestra a un tubo de 50 mL

Añadir 25 mL 50% H₂O/50% MeOH

Dispersar



20000 rpm



Centrifugar



Filtrar

0.2 µm



Transferir 1 mL a vial

+

100 µL PI (2-nitroanilina)

Inyectar HPLC-UV/DAD

Inyectar UHPLC-TOF

Instrumentación HPLC-UV/DAD

HPLC

Fase móvil A: H₂O

Fase móvil B: ACN

Columna: C18, 10 cm × 4,6 mm 2,7 μm

Flujo de la columna: 1 mL min⁻¹

Temperatura: 35°C

Inyección de muestra: 5 μl



Detector UV/DAD

λ_1 : 440 nm

λ_2 : 250 nm

λ_3 : 310 nm

Tiempo (min)	A (%)	B (%)
6	20	80
29	50	50
30	100	0
34	100	0

Instrumentación UHPLC-TOF

HPLC

Fase móvil A: Metanol

Fase móvil B: H₂O/Ac. Fórmico 0,05%

Columna: C18, 10 cm × 2,1 mm 1,8 μm

Flujo de la columna: 0,40 mL min⁻¹

Temperatura columna: 40°C

Inyección de muestra: 5 μl

Tiempo (min)	A (%)	B (%)
0	95	5
0.35	95	5
10	50	100
14	0	100



Detector MS: Bruker
Maxis Impact II,
Resolución: 40000

Adquisición de datos:
bbCID (m/z 60-1000)

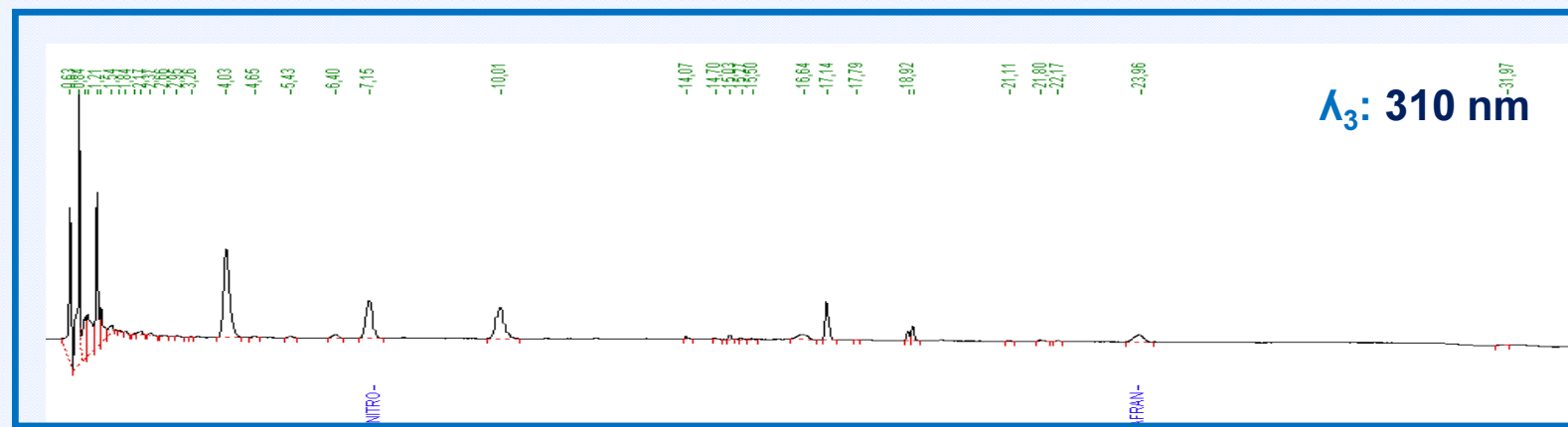
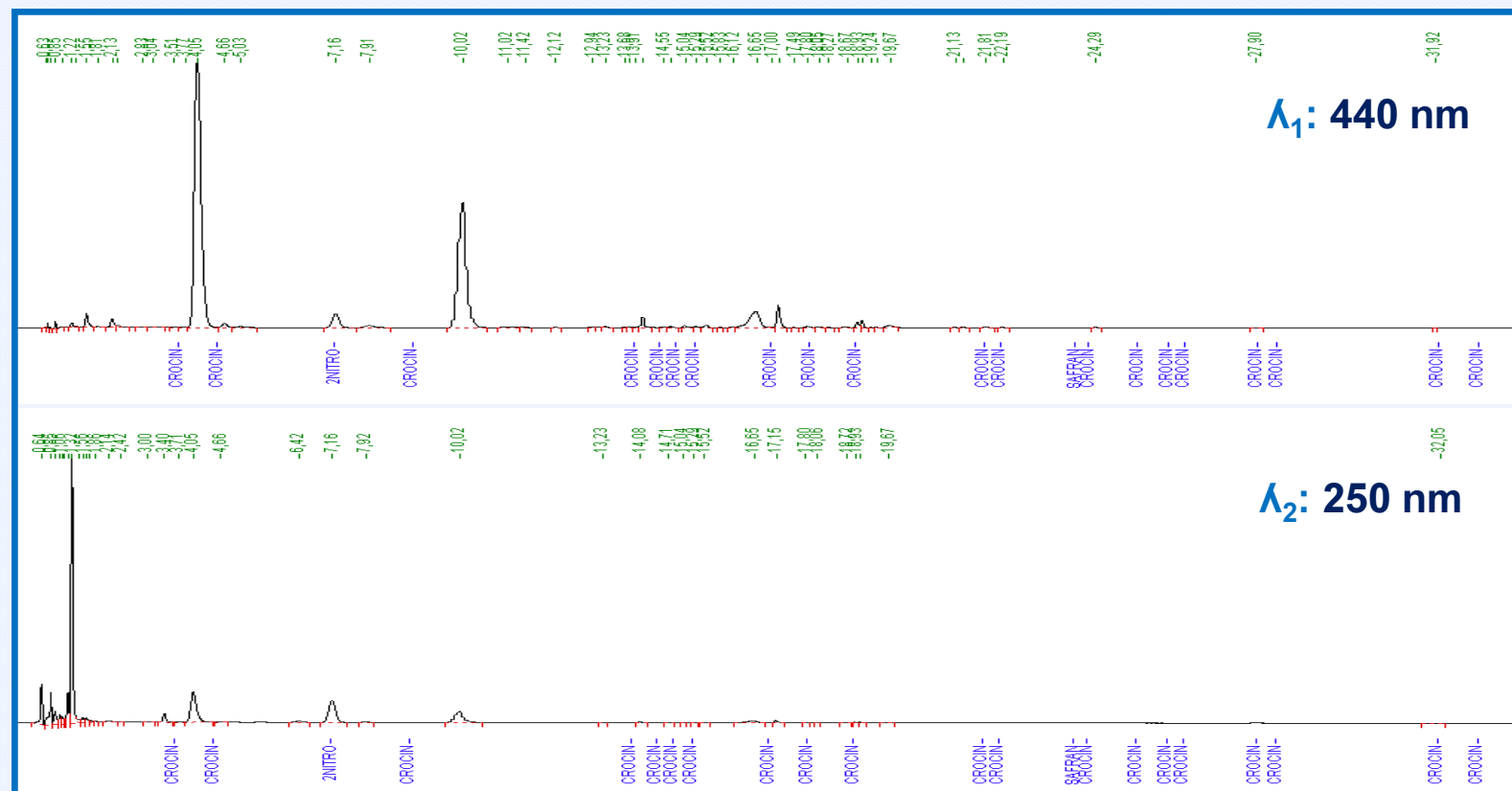
Fuente

Ionización: Electrospray positivo, 5500 V

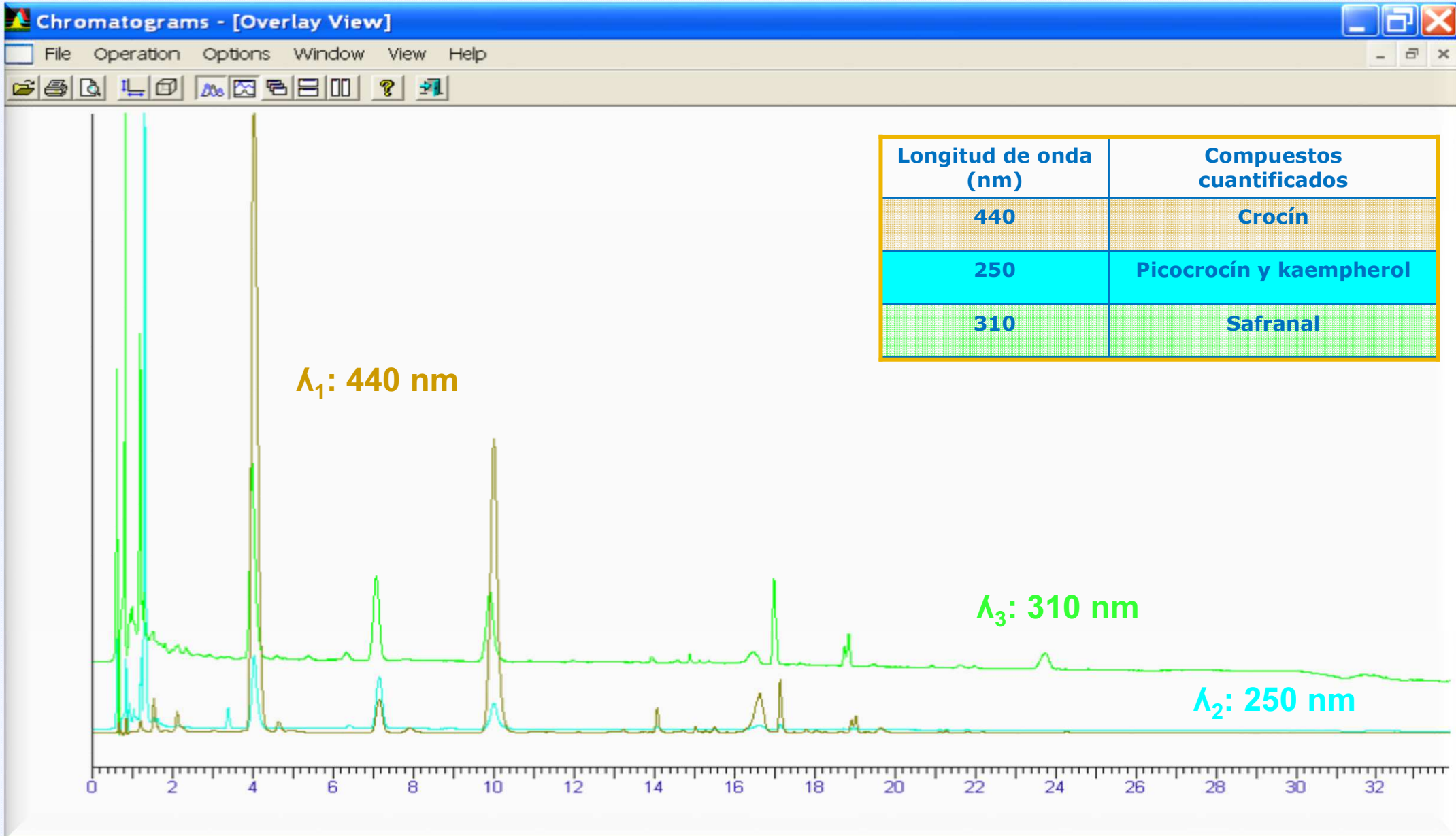
Temperatura: 225 °C

Resultados HPLC-UV/DAD

Number	Time	Component Name
1	3,610	crocin 1
2	4,486	crocin 2
3	7,128	2nitroanilina (PI)
4	8,885	crocin 3
5	13,867	crocin 4 y 5
6	14,446	crocin 6
7	14,813	crocin 7
8	15,235	crocin 8
9	16,962	crocin 9
10	17,831	crocin 10
11	18,869	crocin 11 y 12
12	21,758	crocin 13
13	22,131	crocin 14
14	23,804	safranal
15	24,110	crocin 15
16	25,219	crocin 16 y 17
17	25,901	crocin 18 y 19
18	26,273	crocin 20
19	27,911	crocin 21
20	28,347	crocin 22
21	31,979	crocin 23
22	32,882	crocin 24

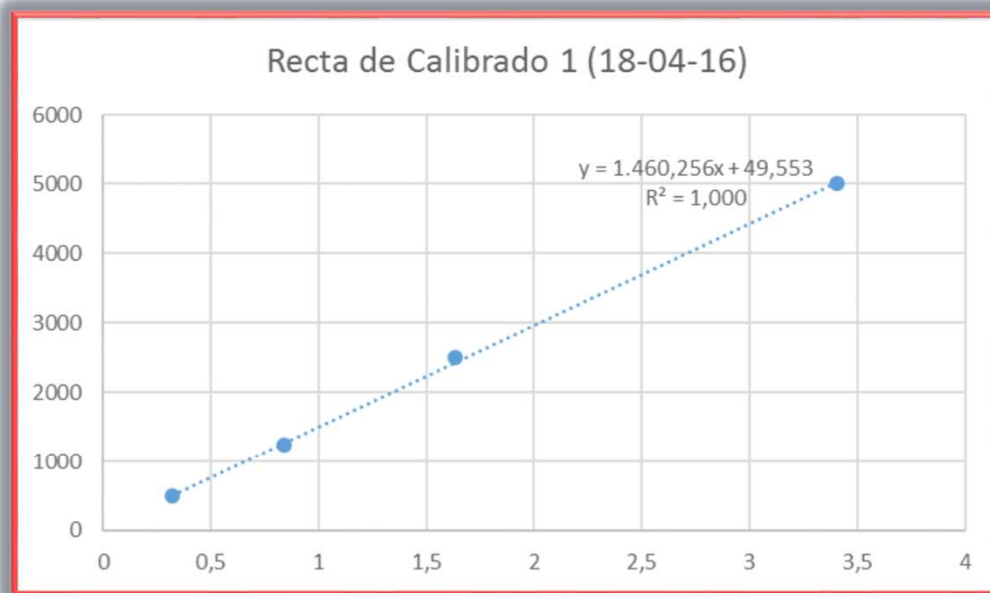


Resultados HPLC-UV/DAD



Resultados HPLC-UV/DAD

Crocín (suma)



Criterios de linealidad

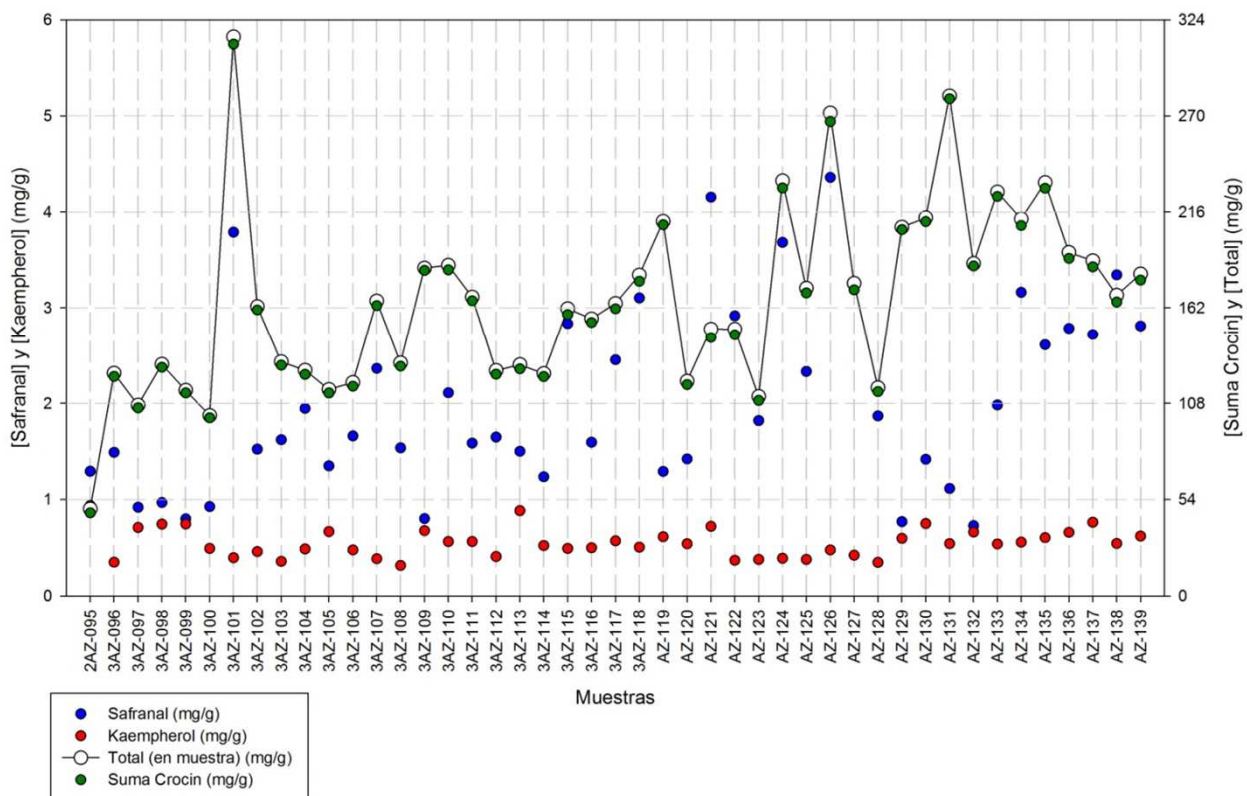
$$r^2 > 0,995$$

$$RSD < 10\%$$

Resultados HPLC-UV/DAD

Tendencias Safranal, Kaempherol, Suma Crocin y Total

Muestras 2AZ095-AZ139

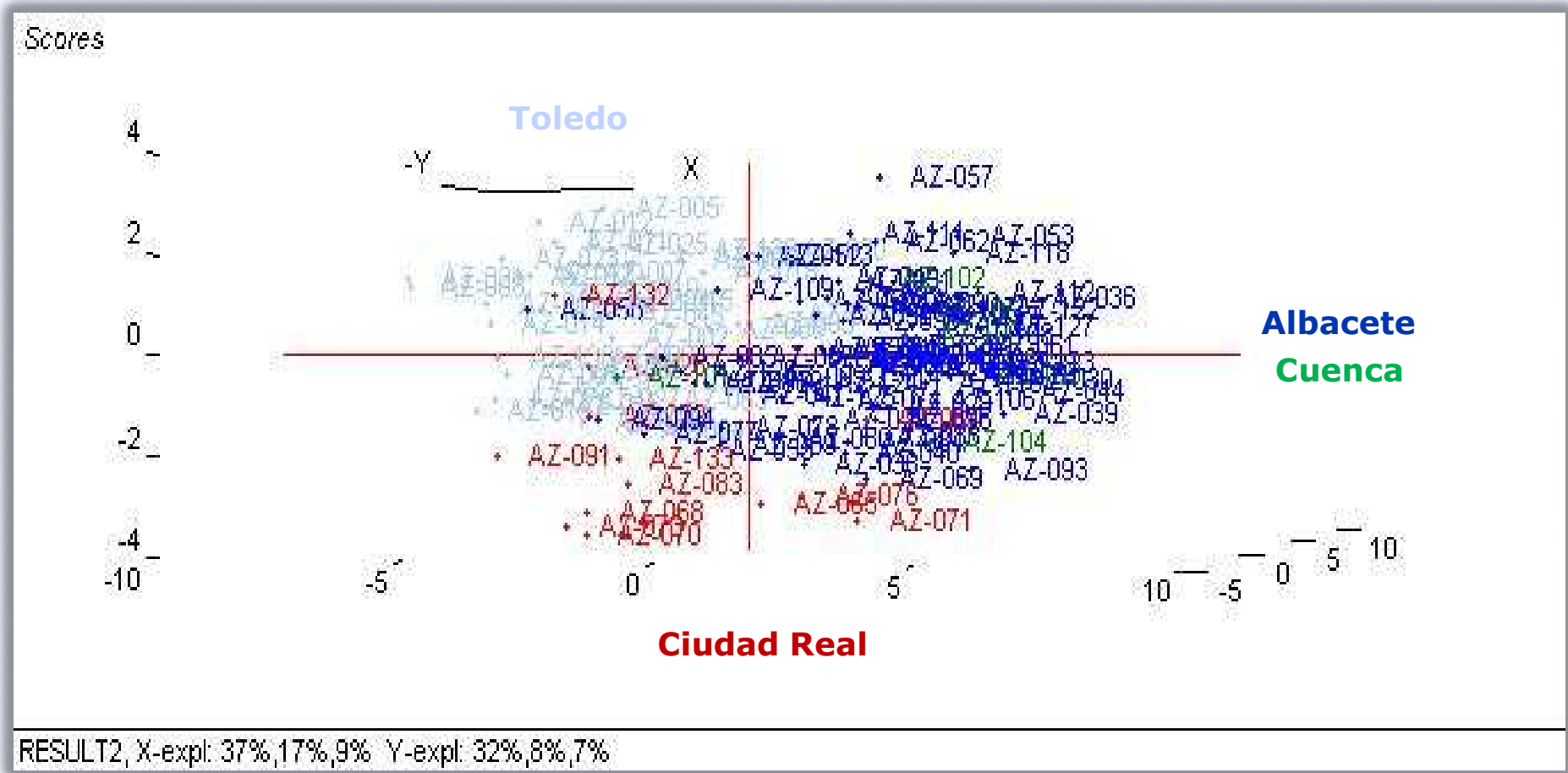


Muestras totales: 139

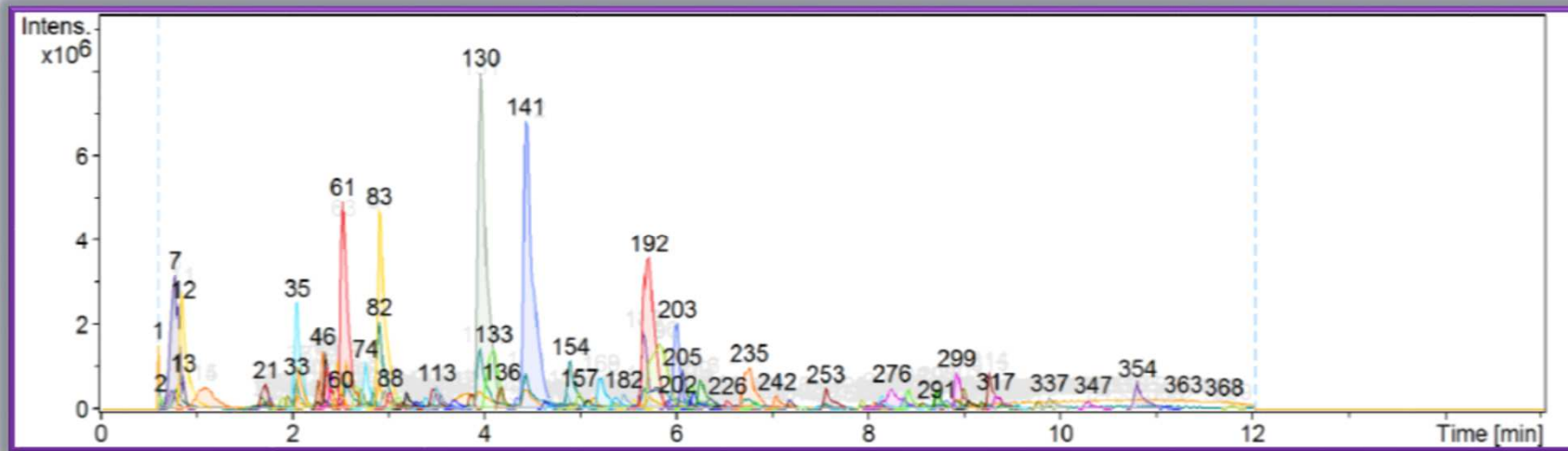


Compuesto	Valor medio (mg/g)	RSD (%)
Safranal	1.87	43.5
Crocín	174	26.7
Kaempherol	0.55	25.5

Resultados HPLC/UV-DAD

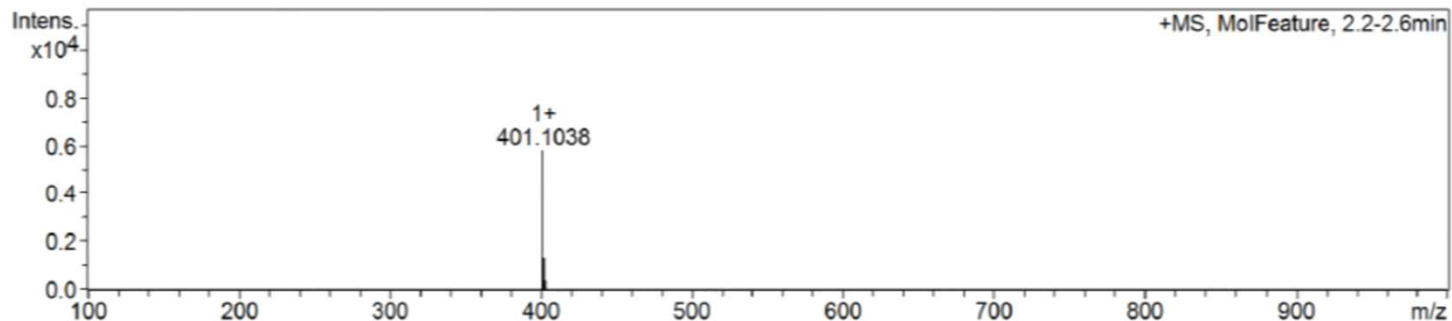


Resultados HPLC/QToF



Detección de 368 compuestos diferentes

Cmpd 281, MolFeature, 2.4 min



Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	# Sigma	Score	rdb	e ⁻ Conf	N-Rule
401.1038	1	C24H17O6	401.1020	-4.6	19.4	1	100.00	16.5	even	ok



Gracias!!!