

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



**“PAN ENRIQUECIDO CON FLORES DE AZAFRÁN (*CROCUS SATIVUS* L.)
DESECADAS EN POLVO - VALORIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS
FLORALES DEL AZAFRÁN”**

UNIVERSITAS
Miguel Hernández

TRABAJO FIN DE GRADO
Marzo-2023

Autor: Carlos Roselli Musmeci
Tutora: María José Frutos Fernández
Cotutora: Débora Cerdá Bernad



Resumen

Actualmente, la explotación del azafrán (*Crocus sativus* L.) en su forma de especia (estigmas desecados) genera una alta producción de subproductos florales (mayoritariamente tépalos) considerados desechos. Sin embargo, esta biomasa presenta un potencial interés bioactivo. Distintas formulaciones de pan de harina de trigo y de harina de espelta han sido enriquecidas con tépalos de azafrán desecados a razón del 0; 2,5; 5 y 10 % p/p respecto a la harina utilizada. El objeto de estudio fue la valorización de los subproductos florales de azafrán a través de su uso como ingrediente funcional en la receta tradicional de pan y estudiar la incidencia de este en parámetros fisicoquímicos de los panes tales como pH, acidez, SST ($^{\circ}$ Brix), cenizas, textura y color, así como en su composición química, determinando el contenido de ácidos orgánicos, azúcares solubles y de minerales. Los resultados mostraron que el enriquecimiento del pan aumentó el nivel de minerales y la composición en ácidos orgánicos y azúcares solubles. Además, las propiedades de la textura de los panes también se vieron afectadas. Respecto al color, se observaron diferencias significativas con el pan control, tanto en el color de la miga como de la corteza. Por tanto, la valorización de los subproductos florales del azafrán, además de reducir el impacto medioambiental, aprovechando una biomasa que se encuentra sin explotar, permite obtener nuevos alimentos funcionales, por lo que las flores de azafrán pueden considerarse como ingredientes adecuados y sostenibles para desarrollar nuevos productos.

Palabras clave: azafrán; subproductos florales; sostenibilidad; minerales; textura.

Abstract

Nowadays, the saffron (*Crocus sativus* L.) exploitation in its spice form (dried stigmata) results in a high production of floral by-products (mostly of tepals) which are considered as waste. Nevertheless, this biomass presents a potential bioactive interest. Different formulations of wheat flour and spelt flour bread have been enriched with dried saffron tepals at 0; 2.5; 5 and 10 % w/w based on flour used. The main aim of this study was the valorization of saffron floral by-products through their use as functional ingredient in traditional bread recipes and to study their effects on the physicochemical properties such as pH, acidity, $^{\circ}$ Brix, ash, texture and color as well as their chemical composition regarding the content of organic acids, soluble sugars and minerals. The results have shown the enrichment of breads modified the mineral levels and the organic acids and soluble sugars profile. In addition, the textural properties were also affected. Regarding the color, significant differences compared with the control bread were found in both the crumb and the crust. Therefore, the valorization of saffron floral by-products could lead to the environmental impact minimization, taking advantage of an unexploited biomass, in addition to obtaining new functional foods. Thus, saffron flowers could be considered as a suitable and sustainable ingredient for developing new products.

Keywords: saffron; floral by-products; sustainability; minerals, texture.

1.INTRODUCCIÓN	6
1.1. El azafrán	6
1.2. Alimentos funcionales	7
1.3. Enriquecimiento del pan	8
2. OBJETIVOS	9
2.1. Objetivos generales	9
2.2. Objetivos específicos	9
3. MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1. Obtención de las muestras	10
3.2. Acondicionamiento de las muestras	10
3.3. Elaboración del pan	10
3.4. Ácidos orgánicos y azúcares solubles	11
3.5. Minerales	12
3.6. Acidez y pH	12
3.7. Actividad de agua (aW)	13
3.8. Sólidos solubles totales (STT)	13
3.9. Textura	13
3.10. Color	14
3.11. Análisis estadístico	14
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
4.1. Ácidos orgánicos y azúcares solubles.	15
4.2. Minerales	18
4.3. Parámetros fisicoquímicos	20
4.4. Textura	21
4.5. Color	23
5. CONCLUSIONES	25
6. REFERENCIAS	26

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figuras

Figura 1. Partes de la planta del azafrán o <i>Crocus sativus</i> L.	6
Figura 2. Diagrama simplificado de la elaboración de cada pan.	11
Figura 3. Ejemplo de rebanada sometida a ensayos de textura.	21
Figura 4. Panes de espelta horneados. Ejemplo del cambio de color. Orden de izquierda a derecha: 0; 2,5; 5 y 10 % de enriquecido.	23
Figura 5. Valores L*a*b para miga (izquierda) y corteza (derecha).	24

Tablas

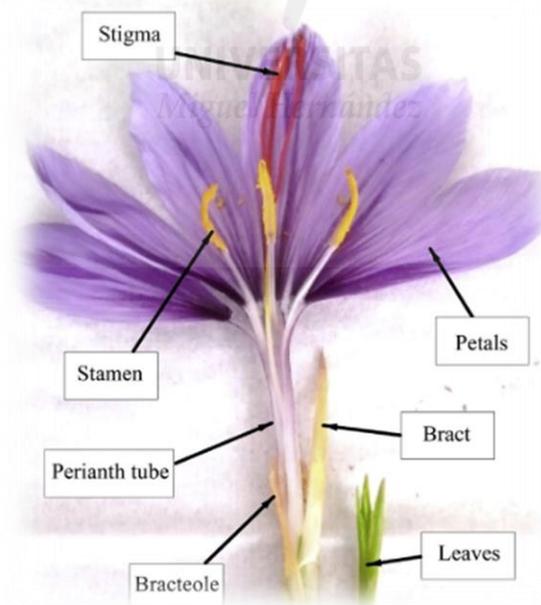
Tabla 1. Contenido en ácidos orgánicos y azúcares solubles de los panes elaborados de trigo (PT) (A) y espelta (PE) (B).	17
Tabla 2. Concentración de minerales de los diferentes panes de trigo (PT) (A) y espelta (PE) (B).	19
Tabla 3. Distintos parámetros fisicoquímicos estudiados.	21
Tabla 4. Parámetros de textura de los panes enriquecidos con subproductos florales de azafrán.	22

1. INTRODUCCIÓN

1.1. El azafrán

El azafrán (*Crocus sativus* L.) es una planta floral bulbosa, perteneciente a la familia de las iridáceas del género *Crocus*, oriundas desde la zona mediterránea hasta el sudeste asiático, cuyo principal valor contemporáneo se atribuye a su uso como especia, es por esto por lo que, de manera coloquial, cuando se habla de azafrán se piensa en los estigmas secos de la flor, apreciados por sus cualidades organolépticas como las aromatizantes y colorantes. A la flor de azafrán la componen el cormo, seis tépalos violetas, tres estambres, y un pistilo, además de los tres estigmas rojos anteriormente mencionados (Gresta et al., 2008) (Figura 1).

Figura 1. Partes de la planta del azafrán o *Crocus sativus* L. (Fuente: Modificado de Rashed-Mohassel, [2020])



Los datos de producción en España, según el análisis provincial de superficie, rendimiento y producción, el cultivo de azafrán presenta una extensión total de 178 hectáreas en toda la península, con un rendimiento de 17 kg por hectárea previo al proceso de secado para la producción de la especia, de los cuales solo

se aprovecha una pequeña fracción en forma de estigma, siendo el restante subproducto floral (tépalos de la flor). La mayor parte de la producción corresponde a Castilla-La Mancha. A esta última le siguen en orden decreciente Cataluña, Aragón y finalmente pequeñas explotaciones dispersas en Navarra, Baleares, Murcia Canarias, entre otros (Ministerio de agricultura, pesca y alimentación [MAPAMA], 2017).

Greta et al. (2008) también indica que, dependiendo de diversas características del cultivo y la calidad de las flores resultantes para una campaña dada, 1 kg de azafrán en forma de especia requerirá de 200.000 a 400.000 estigmas secos. La cosecha y manipulación se realiza de forma manual dada la delicadeza del cultivo, donde los estigmas son separados de los tépalos y estambres tan pronto durante el procesado postcosecha se abra la corola, separen y corten con los dedos, los estigmas por su base. Este proceso de obtención de la especia resulta en una biomasa de subproductos florales cuyo aprovechamiento presenta interés económico, medioambiental y funcional en el campo de la alimentación.

1.2. Alimentos funcionales

Para definir un alimento funcional no solo se ha de contar con un efecto demostrable de influencia biológica en el organismo que lo consume como un plus sobre la base nutricional del alimento en cuestión, sino que además hace falta que este cumpla una serie de características tales como que el alimento en sí debe tener precedencia previa en la dieta del individuo o población, que las cantidades de consumo para conseguir el efecto funcional sean normales (Çakiroğlu & Uçar, 2018), que la matriz alimentaria que transporta la sustancia nutraceútica sea, en lo posible, indistinguible de una versión no funcional, que el alimento funcional debe tener una presentación aceptada por el consumidor (Cranfield & Henson, 2007) y que el fundamento de las propiedades funcionales debe ser la modificación, eliminación o adición de compuestos con efectos bioactivos.

Los principales compuestos de interés biológico y organoléptico, tanto del azafrán como especia, así como el resto de los subproductos florales resultantes de la explotación son: crocina y sus análogos; carotenoides glucósidos de *trans*-crocetina; pirocrocina, responsable del amargor; safranal, responsable del aroma característico de esta planta y diversos compuestos fenólicos, no solo de los estambres, sino también hallados en estigmas, tépalos y estambres (Vignolini et al., 2008).

Los compuestos fenólicos son un tipo de metabolito secundario comúnmente encontrado en las plantas con diversas funciones biológicas tales como respuesta y defensa ante el estrés biótico y abiótico, filtración de distintas longitudes de onda del espectro visible e invisible, reproducción, crecimiento de la planta, etc. Estas moléculas son la principal fuente de antioxidantes quelantes de especies reactivas de oxígeno, de nitrógeno y de control del stress oxidativo (Kumar & Goel, 2019), compuestos de sabida relación con enfermedades asociadas a la edad, enfermedades degenerativas, inflamatorias, entre otras (Pires et al., 2019).

Con respecto al contenido de minerales, estos se pueden encontrar en pétalos en cantidades considerables y en otras partes de la planta (Mlcek & Rop, 2011). Fernandes et al. (2017) presenta valores para decenas de muestras de flores comestibles en donde se aprecia, si bien con alta variabilidad para el contenido de cenizas totales, que los minerales predominantes tienden a ser fósforo, potasio, calcio y magnesio. La misma literatura también indica la mayor concentración de potasio versus sodio con alusión a la incidencia de esto como prevención de enfermedades cardiovasculares.

1.3. Enriquecimiento del pan

El pan, producto elaborado de harina de un cereal refinado o integral, hidratado, con o sin fermentación y sometido a cocción, podría considerarse como un alimento de relevante importancia como matriz portadora de sustancias

funcionales. Los alimentos elaborados en base a cereales, como diversos tipos de panes, representan más del 50% de la ingesta diaria energética en comunidades desarrolladas (Akhtar et al., 2011) por lo que el enriquecimiento funcional, por sutil que sea, de este producto tan común en la dieta, sumada a la facilidad de incorporación de ingredientes con propiedades funcionales en la formulación por lo general durante el mezclado-amasado, dotan al pan de rasgos interesantes como matriz de alimento funcional.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos generales

El objetivo del presente Trabajo Fin de Grado es elaborar pan de alta calidad formulado con la incorporación de subproductos florales del azafrán, ingredientes ricos en compuestos bioactivos y en la evaluación e incidencia en parámetros fisicoquímicos del uso de estos subproductos como ingredientes en la formulación de nuevos productos alimentarios.

2.2. Objetivos específicos

- ❖ Desarrollar y llevar a cabo diversas formulaciones de pan de trigo y espelta enriquecido a distintas concentraciones de polvo de subproducto floral del azafrán previamente deshidratado por estufa a vacío (0%, 2,5%, 5% 10%).
- ❖ Determinar los parámetros fisicoquímicos en las muestras de pan (pH, acidez, SST, aw, color, textura) para estudiar la posible influencia de la adición de la harina de subproductos florales en estos parámetros.
- ❖ Determinar el contenido en minerales en las muestras de pan liofilizadas para estudiar la posible influencia de la adición de la harina de subproductos florales en estos parámetros.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Obtención de las muestras

Las flores de azafrán proceden de la región de Castilla La-Mancha (España), durante la campaña de cosecha de 2020 y se cultivaron siguiendo los requisitos establecidos por la Denominación de Origen Protegida "Azafrán de La Mancha". Las flores están compuestas por todas las partes florales (tépalos, estambres y estilos), excepto los estigmas que se separaron manualmente del resto de la flor a mano.

3.2. Acondicionamiento de las muestras

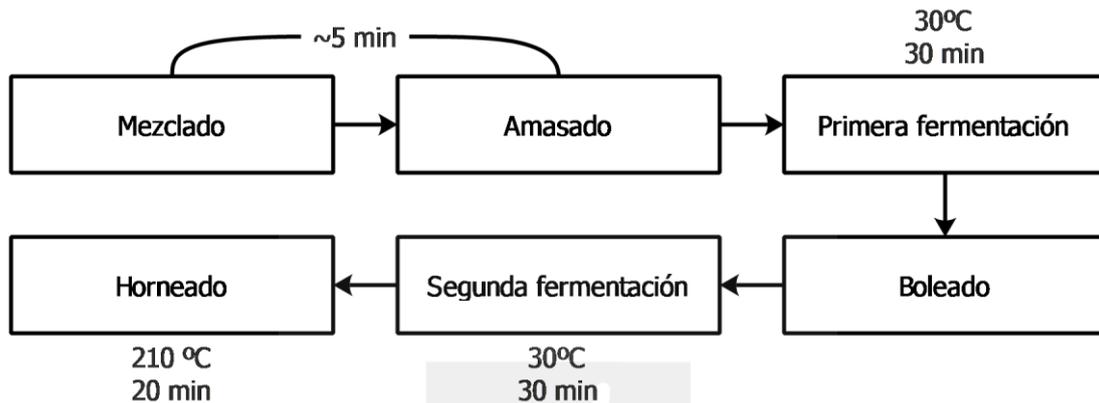
Todas las flores frescas se congelaron en nitrógeno líquido y se mantuvieron a -80 °C hasta su deshidratación por estufa a vacío (VACIOTEM, JP SELECTA®, Barcelona, España) a 50 ± 3 °C, 28 mbar, durante 36 h. Tras ello, se trituraron y tamizaron a través de un tamiz de 500 μm , y se almacenaron en bolsas de polietileno a -20 °C hasta su posterior análisis.

3.3. Elaboración del pan

Las elaboraciones del pan consistieron en formulaciones en base de harina de trigo de fuerza (Fuerza W=360, Tenacidad P=100, Elasticidad L=100, y % proteína=14,2 g; El amasadero, Málaga, España); y harina de trigo blanca de espelta ecológica (Fuerza W=95, Tenacidad P=36, Elasticidad L=105 y % proteína=13,9 g; El amasadero, Málaga, España) con levadura seca de panificación (Mauripan, Barcelona, España) a razón del 1%, sal al 2% p/p respecto a la harina utilizada y agua potable del grifo. Los panes han sido enriquecidos con las muestras de azafrán al 2,5; 5; 10 % p/p respecto a la harina utilizada.

Todos los ingredientes se mezclaron y amasaron durante 5 min. Tras un breve reposo se llevó a cabo la primera fermentación durante 30 min a una temperatura de 30 °C. Transcurrido ese tiempo se boleó la masa de cada pan durante 2 min y se procedió a efectuar una segunda fermentación 30 min a 30°C. Al finalizar esta fase, los 8 panes se hornearon a 210°C durante 20 minutos (Figura 2).

Figura 2. Diagrama simplificado de la elaboración de cada pan.



Como resultado del proceso de elaboración, obtuvimos 8 formulaciones de panes de espelta (PE) y de trigo (PT). Una vez enfriados, una parte de los panes se almacenaron a -20 °C y la otra parte se liofilizó (Christ Alpha 2-4 (B. Braun Biotech International, Melsungen; Alemania) durante 24 h, con una temperatura inicial -25 ± 2 °C y presión 0,220 mbar. Luego, se trituraron ligeramente con un molinillo de café durante unos segundos, se tamizaron a través de una malla de 500 µm, y se almacenaron en bolsas de polietileno a -20 °C hasta su posterior análisis.

3.4. Ácidos orgánicos y azúcares solubles

Para la extracción de ácidos orgánicos y azúcares las diferentes muestras de pan liofilizada se diluyeron con agua ultrapura con una relación muestra-agua 1:20 (p/v). Las mezclas se agitaron durante 5 minutos a 300rpm en un agitador magnético (Ovan, mod. MultiMix Heat D-MMH30E) seguido de 15 min de agitación por ultrasonido Ultrasons (J.P. Selecta s.f.) y nuevamente agitado a 300 rpm durante 5 min. Tras la secuencia de agitación las muestras se han centrifugado a 10000 rpm y 4°C durante 10 min (Centrifuge C30P, B. Braun Biotech International). Los sobrenadantes se filtraron (0,45 µm; Millipore,

España) y se almacenaron en viales de vidrio a -20 °C hasta su análisis. El análisis cuantitativo-cualitativo de ácidos y azúcares por HPLC usando un equipo Hewlett-Packard HPLC serie 1100 (Woldbronn, Alemania) equipado con una columna Supelcogel C-610H (30 cm x 7,8 mm) y una pre-columna Supelcoguard C-610H (5 cm x 4,6 mm) (Supelco, Sigma; Madrid, España). Los ácidos orgánicos se midieron a 210 nm en ultravioleta-visible (UV-VIS) con detector de diodos (DAD G1315A). Para los azúcares se utilizó un detector de índice de refracción (G1362A RID). Como fase móvil se utilizó ácido ortofosfórico al 0,1% con un volumen de inyección de 10 µl y la velocidad de flujo de 0,5 mL/min en condiciones isocráticas. Las concentraciones se calcularon a través de curvas de calibración con los patrones para los azúcares, y ácidos orgánicos (Sigma; Madrid, España). Los resultados fueron expresados como gramos por litro de bebida.

3.5. Minerales

El contenido de minerales fue determinado por ICP-MS tras someter a las muestras a digestión asistida por microondas. La digestión de las muestras consistió en duplicados de 0,5 g de pan liofilizado en 10 mL de HNO₃ al 69% utilizando un digestor de reactor de microondas (CEM Mars one) con rampa de temperatura inicial de 15 min, mantenimiento a 200 °C durante 15 min a una potencia de 950W y una rampa final de enfriamiento de 30 min. Todas las muestras se filtraron (papel de filtro cualitativo Whatman de 90 mm) y se diluyeron con agua ultrapura 1:50 (v/v) y se almacenaron a 4 °C. Las concentraciones totales de macronutrientes (Ca, Mg, Na y K) y micronutrientes (Zn, Cu, Mn y Fe) en las muestras previamente mineralizadas se cuantificaron mediante espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente (ICPMS-2030, Shimadzu, Kyoto, Japón).

3.6. Acidez y pH

La medición de la acidez y pH se ha realizado con titulación ácido-base (pH-Matic 23 marca CRISON) con NaOH 0,5 M. La acidez se ha expresado en porcentaje de ácido cítrico. La preparación de las muestras para este ensayo consistió en mezclar en proporción 1:10 el pan con agua destilada y posterior triturado a 5000 rpm durante 10 s con una Ultraturrax IKA T18 (IKA-Werke GmbH & Co, s.f.).

3.7. Actividad de agua

Para la actividad de agua se ha utilizado el medidor La preparación de las muestras consistió en triturado manual de cada tipo de pan en trozos de aproximadamente 5 mm y enrasando el plato para conseguir un empaquetado de las muestras lo más uniforme posible. Los ensayos se realizaron a 24°C y se dieron por concluidos para cada muestra al llegar la actividad de agua a la estabilidad en dos mediciones consecutivas separadas por un intervalo de 5 min.

3.8. Sólidos Solubles Totales (STT)

Se han determinado los SST expresados en grados Brix con un refractómetro digital (Hanna®, modelo HI96812). La preparación de las muestras para este ensayo consistió en mezclar en proporción 1:10 el pan con agua destilada en tubos tipo Falcon de 50 mL y un posterior triturado a 5000 rpm durante 10 s con una Ultraturrax IKA T18 (IKA-Werke GmbH & Co).

3.9. Textura

Los ensayos de textura se han realizado con un texturómetro TA.XT.plus (Stable Micro Systems s.f.) con una célula de carga de 50 kg y sonda SMS P100. Las muestras consistieron en rebanadas de pan, miga y corteza incluidas, de 2,5 cm de ancho y unos 7 cm de diámetro, las cuales fueron sometidas a prueba de

doble compresión bajo los siguientes parámetros: velocidad de pre-ensayo y ensayo de 1,70 mm/s, velocidad de post-ensayo de 10,0 mm/s, deformación máxima del 40 % y fuerza de activación mínima de 5 g. Entre los ensayos de textura que se han realizado se encuentran: dureza, cohesividad, elasticidad, pegajosidad y masticabilidad.

La dureza (N) se ha definido como la fuerza máxima detectada al 40% de deformación máxima. La cohesividad (-) se ha calculado como el cociente entre las áreas de las curvas de fuerza entre dos repeticiones consecutivas de compresión. La elasticidad (mm) se ha determinado como la deformación, en milímetros, de una misma pieza, entre dos repeticiones de compresión consecutivas. La gomosidad (N) se ha calculado como el producto de la dureza por la cohesividad. Finalmente, la masticabilidad (N) como el producto de la dureza por cohesividad por el cociente (de la distancia, en segundos, de los picos máximos de fuerza en un ciclo de dos repeticiones de compresión).

3.10. Color

Se realizaron las mediciones de color por triplicado tanto para cada muestra, así como para sus correspondientes migas y cortezas. Se han medido los parámetros L^*a^*b acotados al espacio de color CIELAB. La instrumentación utilizada fue un colorímetro portátil Minolta CR-300 Chroma Mether (Osaka, Japón).

3.11. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se usó el software SPSS v 21.0 (SPSS Inc., Chicago-Illinois-USA). Los resultados fueron expresados como la media \pm la desviación estándar. La comparación de medias se realizó con un análisis de varianza (ANOVA) y mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey. La diferencia significativa fue establecida como $p < 0.05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Ácidos orgánicos y azúcares solubles

Los resultados de la Tabla 1 muestran que el enriquecimiento de los panes con subproductos florales de azafrán modificó la composición de ácidos orgánicos y azúcares solubles en las distintas formulaciones respecto al control. Los ácidos orgánicos juegan un papel importante en los alimentos, ya que son responsables de las propiedades sensoriales, pero también tienen otras funciones importantes ya que podrían modular la microbiota intestinal (Wei et al., 2021).

Ácidos orgánicos como el propiónico, málico e isocítrico cuantifican de manera creciente y en paralelo según el porcentaje de subproducto floral añadido a la formulación. El ácido isocítrico es un isómero del ácido cítrico con similares características acidulantes y antioxidantes (Kamzolova & Morgunov, 2019), además otros estudios resaltan otros efectos profilácticos como la mejora de absorción de hierro, o la reabsorción de trombos (Finogenova et al., 2005). El ácido propiónico tiene propiedades antimicrobianas, inhibiendo el crecimiento de mohos y bacterias y se utiliza como conservante (Ben Braïek & Smaoui, 2021). El ácido fítico tiene características quelantes de minerales, como el Fe y Cu detectados. En las formulaciones con base de harina de espelta se ha detectado el ácido fítico sin diferencias significativas entre los niveles de enriquecimiento y el control, sugiriendo éste es de origen de la misma molienda de espelta y la migración de este ácido desde la capa de aleurona de este cereal (Mueen-ud-D et al., 2009), y no del subproducto floral.

Además, tanto los panes de trigo como los de espelta enriquecidos con subproductos florales del azafrán mostraron altas cantidades de ácido láctico y málico, que aumentaron de forma significativa con el porcentaje de flores de azafrán añadidas. Estos ácidos orgánicos presentan efectos positivos para la salud, ya que favorecen la absorción gastrointestinal de hierro (Shahrzad et al., 2001). Además, el ácido láctico podría actuar como conservante frente a varios

microorganismos patógenos, y el ácido málico como acidulante (Ben Braïek & Smaoui, 2021). Así, los subproductos florales de azafrán aportan un mayor contenido en ácidos orgánicos, como el ácido láctico y málico. Previos estudios ya demostraron la presencia de estos compuestos en bio-residuos de azafrán de origen español (Serrano-Díaz et al., 2013).

Entre los azúcares solubles, que juegan un papel importante en los alimentos, no sólo en las propiedades sensoriales, sino también en la conservación del producto, se observa que algunos, como la glucosa, y la inulina aumentan significativamente con el nivel de enriquecimiento (Tabla 1). Un aporte de inulina significativo presenta interés funcional por numerosos beneficios nutricionales, como fibra fermentable, y de salud, por sus efectos prebióticos bifidogénicos, reductor de riesgos de patologías gastrointestinales, promovedores de la absorción de calcio, magnesio y hierro (Shoaib et al., 2016). También se pudo observar que la fructosa supera el umbral mínimo de detección del ensayo en concentraciones a partir del 5% de subproducto añadido p/p respecto a la harina y para ambos tipos de harina utilizados. Por lo tanto, los subproductos florales de azafrán son fuentes potenciales para desarrollar nuevos alimentos funcionales ya que mejoran la composición de ácidos orgánicos y azúcares solubles contribuyendo a mejorar el valor nutricional del producto.

Tabla 1. Contenido en ácidos orgánicos y azúcares solubles de los panes elaborados de trigo (PT) (A) y espelta (PE) (B).

A	Muestras (mg/100 g peso seco)			
	PT 0%	PT 2,5%	PT 5%	PT 10%
Ácidos orgánicos				
Ácido isocítrico	1878 ± 7,00c	1895 ± 6,02bc	1922 ± 14,01b	1957 ± 19,01a
Ácido láctico	241,60 ± 59,95d	384,20 ± 22,09c	502,90 ± 19,06b	595,00 ± 20,18a
Ácido málico	132,20 ± 4,98d	214,50 ± 11,12c	334,70 ± 30,15b	516,10 ± 29,90a
Ácido oxálico	14,24 ± 1,90	13,91 ± 0,62	13,84 ± 0,93	13,79 ± 0,93
Ácido fumárico	0,24 ± 0,07c	0,04 ± 0,00c	1,05 ± 0,08b	1,98 ± 0,13a
Ácido propiónico	nd	834,90 ± 6,96b	932,9 ± 32,67a	982,5 ± 47,71a
Azúcares solubles				
Glucosa	1303 ± 12,01d	1411 ± 16,04c	1617 ± 13,02b	1917 ± 34,02a
Maltosa	37,70 ± 0,14a	33,32 ± 0,10c	36,75 ± 0,16b	33,11 ± 0,33c
Fructosa	nd	nd	480,10 ± 40,01b	913,30 ± 82,02a
Inulina	5011 ± 70c	5377 ± 95b	6504 ± 58a	6511 ± 223a
B	PE 0%	PE 2,5%	PE 5%	PE 10%
Ácidos orgánicos				
Ácido fítico	178,10 ± 27,29	164,80 ± 4,98	167,70 ± 10,47	171,70 ± 3,19
Ácido isocítrico	nd	1885 ± 5b	1910 ± 9b	1934 ± 22a
Ácido láctico	302,70 ± 32,89d	384,40 ± 6,30c	448,00 ± 4,87b	676,30 ± 11,20a
Ácido málico	102,00 ± 10,17d	189,20 ± 15,75c	291,90 ± 25,64b	520,70 ± 32,31a
Ácido oxálico	11,33 ± 0,76	11,75 ± 0,22	9,77 ± 3,73	10,98 ± 0,26
Ácido fumárico	nd	nd	nd	1,71 ± 0,20
Ácido propiónico	nd	840,90 ± 8,99c	910,00 ± 15,91b	1051 ± 48a
Azúcares solubles				
Glucosa	1210 ± 6d	1317 ± 25c	1512 ± 8b	1829 ± 3a
Maltosa	33,19 ± 0,24a	33,03 ± 0,41a	31,19 ± 0,32b	30,49 ± 0,13b
Fructosa	nd	nd	97,11 ± 48,27b	813,50 ± 12,22a
Inulina	5464 ± 80c	5682 ± 112c	6231 ± 211b	6846 ± 48a

Media ± desviación estándar en la misma fila seguida de diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) para cada tipo de pan con diferentes formulaciones (n = 3).

4.2. Minerales

El contenido mineral de los panes a estudio se muestra en la Tabla 2. Los macroelementos, como Ca, K, Na y Mg, son relevantes en diversas funciones fisiológicas, tanto en plantas como en animales. Todas las muestras de pan presentaron un alto contenido de K y Na, aumentando de forma significativa el K con el % de enriquecimiento en los panes de trigo. En los panes tanto de trigo como de espelta al 10%, los valores de K (2800 mg/100 g) representan aproximadamente el 59,60 % de la ingesta diaria de potasio en adultos (4700 mg por día) con un consumo de 100 g de pan (U.S. Food & Drugs Administration, 2020). La ingesta de potasio tiene varios beneficios para la salud, ya que puede reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares (Weaver et al., 2018). En el caso del Na, cuyo umbral seguro de ingesta diaria recomendado es 2000 mg por día sana (European Food Safety Authority [EFSA], 2022), la ingesta de 100 g de las formulaciones de mayor enriquecimiento representaría en torno al 32,30 % de esta recomendación.

En cuanto a los microelementos, la concentración de Fe en todas las muestras fue la más alta. El hierro es un elemento esencial para la fisiología humana ya que está involucrado en varios procesos metabólicos. Para este nutriente, 16 mg por día representa una ingesta adecuada para el percentil 95 de las personas de una población sana (European Food Safety Authority [EFSA], 2022), por lo que las formulaciones tanto de trigo como espelta al 10 % de subproducto floral podrían aportar cantidades cercanas a esta ingesta adecuada.

Otros panes elaborados con cierta fracción de sustancias vegetales en polvo como materia de enriquecido también muestran un incremento similar en el contenido mineral del pan resultante en formulaciones con la misma fracción sal y levadura de panadería (en torno al 2% y 1%, respectivamente) como fermento en la masa de harina base (Amoah et al., 2021; Frutos et al., 2008; Rakha et al., 2017). En la fracción de cenizas correspondientes a macronutrientes, la adición de subproducto floral tuvo mayor incidencia en la concentración de calcio,

seguido de potasio, incrementándolos respecto al control. En la fracción correspondiente a micronutrientes, el enriquecimiento tuvo mayor incidencia en la concentración de hierro detectada seguido del manganeso, respecto a las formulaciones control.

Por tanto, los panes enriquecidos con subproductos florales de azafrán mostraron altas concentraciones de macrominerales, por lo que pueden ser ingredientes potenciales para contribuir a la mejora de la calidad nutricional de nuevos productos.

Tabla 2. Concentración de minerales de los diferentes panes de trigo (PT) (A) y espelta (PE) (B).

A	Minerales (mg/g peso seco)			
	PT 0%	PT 2,5%	PT 5%	PT 10%
Ca	0,387 ± 0,000b	0,563 ± 0,049b	0,679 ± 0,079a	0,918 ± 0,014a
Cu	0,0005 ± 0,000b	0,001 ± 0,000a	0,002 ± 0,000a	0,002 ± 0,000a
Fe	0,019 ± 0,009c	0,060 ± 0,001b	0,092 ± 0,009b	0,159 ± 0,012a
K	1,62 ± 0,00d	1,96 ± 0,09c	2,26 ± 0,08b	2,77 ± 0,14a
Mg	0,313 ± 0,000c	0,348 ± 0,012bc	0,370 ± 0,014b	0,417 ± 0,008a
Mn	0,011 ± 0,001	0,0125 ± 0,000	0,0125 ± 0,000	0,0145 ± 0,000
Na	6,41 ± 0,00ab	7,13 ± 0,32a	6,82 ± 0,23ab	6,05 ± 0,85b
Zn	0,009 ± 0,001	0,010 ± 0,000	0,010 ± 0,000	0,0105 ± 0,000
B	PE 0%	PE 2,5%	PE 5%	PE 10%
Ca	0,335 ± 0,063c	0,523 ± 0,082bc	0,661 ± 0,011b	0,948 ± 0,028a
Cu	0,0008 ± 0,000	0,001 ± 0,000	0,001 ± 0,000	0,002 ± 0,000
Fe	0,033 ± 0,018c	0,063 ± 0,003c	0,107 ± 0,003b	0,179 ± 0,004a
K	1,53 ± 0,12b	1,78 ± 0,17b	2,09 ± 0,16b	2,89 ± 0,18a
Mg	0,340 ± 0,026	0,345 ± 0,028	0,408 ± 0,001	0,486 ± 0,080
Mn	0,007 ± 0,000b	0,009 ± 0,000ab	0,010 ± 0,000ab	0,013 ± 0,002a
Na	8,10 ± 0,55	7,13 ± 0,55	7,43 ± 0,13	7,39 ± 0,12
Zn	0,007 ± 0,000b	0,008 ± 0,000ab	0,008 ± 0,000ab	0,010 ± 0,000a

Media ± desviación estándar en la misma fila seguida de diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) para cada tipo de pan con diferentes formulaciones (n = 3).

4.3. Parámetros fisicoquímicos

Los resultados de los parámetros fisicoquímicos estudiados en los diferentes panes se representan en la Tabla 3. Entre los ensayos de pH medidos, estos se encontraron entre 5,62 y 5,18. En las muestras control se observaron valores dentro de rangos normales observados para el pan blanco, Barber et al., (1992), por ejemplo, presenta valores similares con los observados en sus muestras control de pan. También se ha observado una tendencia de disminución de pH de manera paralela a la fracción de subproducto en polvo adicionado como consecuencia de un incremento de ácidos orgánicos de origen floral, por lo que también se aprecia un incremento del porcentaje de acidez en este caso expresado en ácido cítrico. Respecto a la actividad de agua (aW), esta se ha encontrado en el rango de 0,861 a 0,847. Se observa de nuevo una tendencia descendente de la aW en paralelo a la cantidad de subproducto floral añadido. Efectos similares fueron observados en otros tipos de panes enriquecidos con sustancias pulverulentas vegetales no endospéricas, como la especia de cúrcuma (Lim et al., 2011). Esto puede deberse a diversos factores, siendo el más evidente la relación harina y subproducto en polvo, donde el balance de parámetros como la fracción de glúcidos tanto en el caso del trigo y de espelta y la fracción proteica de la masa pueden tener incidencia en la actividad de agua. Por ejemplo, existe una importante correlación entre la red de gluten, la capacidad de retención de agua de la masa y la distribución de la humedad tras cocción en el pan (Primo-Martín et al., 2006). Cambios en la fracción proteica de la masa podría explicar el descenso aW. No obstante, hacen falta más estudios acotados a este caso en concreto para confirmar la anterior premisa. Finalmente, también se observó de manera análoga al aporte de ácidos orgánicos, que los sólidos solubles totales incrementan a mayor enriquecimiento del pan, consecuencia de los azúcares de origen floral.

Tabla 3. Distintos parámetros fisicoquímicos estudiados

Tipo de pan	Enriquecido (% p/p)	Parámetro fisicoquímico			
		pH	Acidez *	aW	SST (°B)
Pan de trigo	0	5,62 ±0,01a	0,09±0,01d	0,850±0,03a	0,77±0,01d
	2,5	5,50 ± 0,01b	0,12±0,01c	0,843±0,02b	0,93±0,02c
	5	5,31 ± 0,02c	0,23±0,02b	0,842±0,04b	1,07±0,02b
	10	5,20 ± 0,01d	0,28±0,02a	0,838±0,02c	1,30±0,01a
Pan de espelta	0	5,54 ± 0,01a	0,20±0,02d	0,861±0,01a	0,97±0,01d
	2,5	5,23 ± 0,00b	0,21±0,01b	0,855±0,01b	1,03±0,03c
	5	5,21 ± 0,00c	0,23±0,02b	0,853±0,01b	1,07±0,02b
	10	5,18 ± 0,01d	0,24±0,01d	0,847±0,03c	1,30±0,01a

(*) Expresado en porcentaje de ácido cítrico

Media ± desviación estándar en la misma columna seguida de diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) para cada tipo de pan con diferentes formulaciones (n = 3).

4.4. Textura

Figura 3. Ejemplo de rebanada sometida a ensayos de textura



Los efectos del enriquecimiento en la textura fueron apreciables entre las distintas formulaciones (Tabla 4). Respecto a la dureza, ésta ha incrementado a la par que se aumenta la fracción de subproducto añadido. La dureza presenta, al igual que

en caso de la aW, relación con la fracción de gluten de la formulación. Cambios en la cantidad de harina de la formulación y, por tanto, de la cantidad de gluten, inciden en las características viscoelásticas de la masa de los panes. La adición de subproducto floral en polvo también disminuyó la elasticidad, así como la cohesividad de ésta, disminuyendo el umbral de deformación que pudo soportar cada rebanada de pan sometida a las repeticiones de la prueba de doble compresión. La masticabilidad y gomosidad son funciones de la dureza, y están relacionadas con la fuerza requerida para masticar, reducir y tragar el alimento, en este caso se observó un incremento de estos parámetros, por lo que la adición de sustancias distintas a almidón y gluten endospermicos posiblemente repercuten en un incremento del trabajo requerido para la ingesta de estos panes. Resultados similares de incremento y reducción de estas mismas características texturales se pueden observar en trabajos previos de panes funcionales enriquecidos (Dvořáková et al., 2012; Frutos et al., 2008; Lim et al., 2011).

Tabla 4. Parámetros de textura

Tipo de pan	Enriquecido (% p/p)	Parámetro de textura				
		Dureza (N)	Cohesividad (-)	Elasticidad (mm)	Gomosidad (N)	Masticabilidad (N)
Pan de trigo	0	42,24d	0,93a	1,59a	39,47d	37,73c
	2,5	48,36c	0,88b	1,50b	42,58c	40,00b
	5	51,12b	0,87b	1,49b	44,68b	41,51b
	10	54,17a	0,86b	1,47c	46,91a	43,21a
Pan de espelta	0	34,65c	0,89a	1,53a	31,14d	28,64c
	2,5	41,31b	0,84b	1,43b	34,76c	31,93b
	5	43,75b	0,82bc	1,40c	36,06b	32,94b
	10	52,12a	0,80c	1,37d	41,91a	38,22a

Media \pm desviación estándar en la misma columna seguida de diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) para cada tipo de pan con diferentes formulaciones (n = 3).

4.5. Color

En las mediciones de color, para cada porcentaje distinto de enriquecimiento en las formulaciones, han sido observadas diferencias. En la escala CIELab los valores L^* corresponden a la luminosidad detectada y datan entre 0 (negro) y 100 (blanco), la coordenada a^* en positivo indica detección de rojo y si en valores negativos, verde. Finalmente, la coordenada b^* indica color amarillo en sus valores positivos y en sus valores negativos, azul (Commission Internationale d'Eclairage – Comisión Internacional de la Iluminación [CIE], Viena, Austria, 1976).

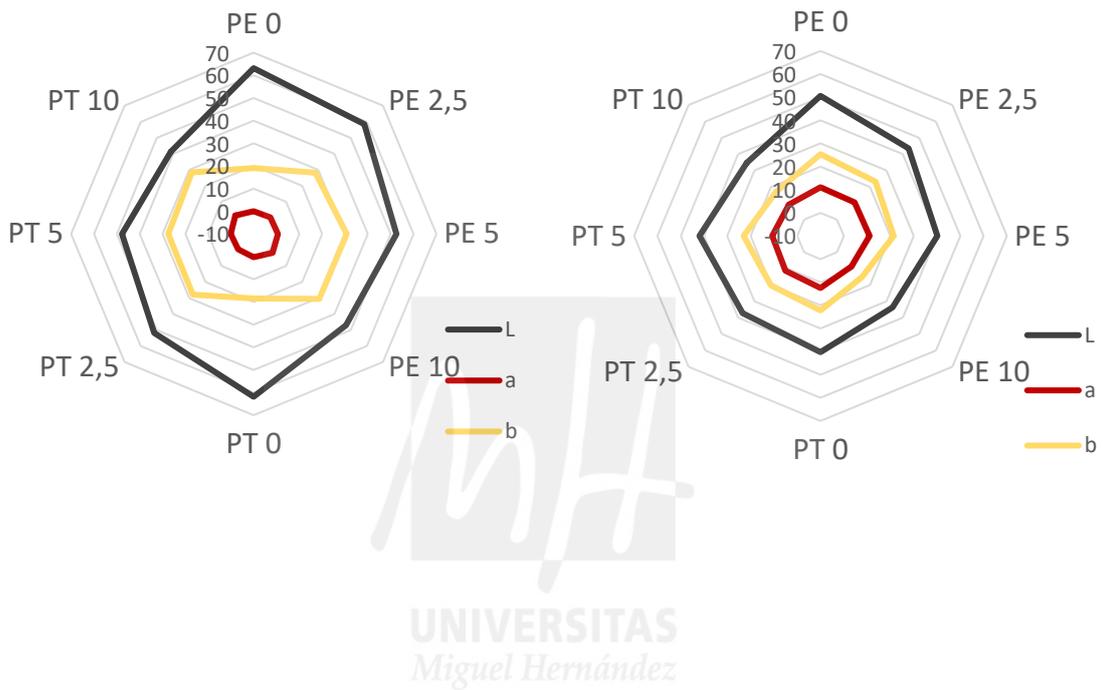
Figura 4. Panes de espelta horneados. Ejemplo del cambio de color. Orden de izquierda a derecha: 0; 2,5; 5 y 10 % de enriquecido.



Respecto a la luminosidad, este valor indica una tendencia decreciente a medida que se incrementa la adición de subproducto floral, indicando incidencia en la coloración, de la corteza formada, por parte de pigmentos florales o el pardeamiento, durante la cocción, de estas u otras sustancias añadidas con el enriquecimiento. En la luminosidad de la miga de todas las formulaciones se ha observado lo mismo, pero con menor magnitud, al no presentar esta parte pardeamiento no enzimático de Maillard, presenta valores por encima de la mitad de la escala de luminosidad, con excepción de las formulaciones al 10% de enriquecimiento, Frutos et al. (2008) presenta resultados similares para panes enriquecidos con subproductos vegetales, observando una disminución de la luminosidad al reducir la fracción de harina de la formulación. Para los valores a^* de tanto de la miga como la corteza, se observaron valores próximos y positivos entre todas las formulaciones, indicando poco cambio en la coloración

rojiza de los panes. Para las coordenadas b^* , también se observaron diferencias respecto al control. La diferencia de valores de este parámetro se acentúa en la miga, siendo esta más susceptible a presentar cambios apreciables en la coloración a favor del amarillo.

Figura 5. Valores L^*a^*b para miga (izquierda) y corteza (derecha)



5. CONCLUSIONES

El enriquecimiento de pan con subproducto floral de azafrán aumenta el nivel de minerales, la concentración y composición en ácidos orgánicos y azúcares solubles respecto al pan control. También modifica la actividad de agua del producto final. Por tanto, los subproductos florales de azafrán son ingredientes adecuados y sostenibles para desarrollar nuevos alimentos funcionales.

Además, el enriquecimiento a las concentraciones dadas tiene repercusiones organolépticas en la textura como la dureza y masticabilidad, así como en el color de los panes, características a tener en cuenta para la formulación de panes funcionales. Así, el aprovechamiento de subproducto de azafrán presenta interés para la valorización de una biomasa que se encuentra sin explotar mediante su aplicación como ingrediente en la elaboración del pan, permitiendo obtener nuevos alimentos con efectos beneficiosos, además de reducir el impacto medioambiental.

El estudio realizado en el presente Trabajo Fin de Grado supone una alternativa sostenible para el desarrollo de nuevo alimentos funcionales, mejorando la receta tradicional del pan, usando las partes de la flor de *C. sativus* que son desechadas. Sin embargo, son necesarios estudios posteriores para estudiar cuáles son los efectos a nivel fisiológico tras su consumo y estudios de análisis sensorial para determinar la aceptación de estos productos por parte de los consumidores.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Akhtar, S., Anjum, F. M., & Anjum, M. A. (2011). Micronutrient fortification of wheat flour: Recent development and strategies. En *Food Research International* (Vol. 44, Issue 3, pp. 652-659). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.033>
- Amoah, I., Cairncross, C., & Rush, E. (2021). Swallowing and Liking of Vegetable-Enriched Bread Compared With Commercial Breads as Evaluated by Older Adults. *Frontiers in Nutrition*, 7. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.599737>
- Barber, B., Ortolá, C., Barber, S., & Fernández, F. (1992). Storage of packaged white bread - III. Effects of sour dough and addition of acids on bread characteristics. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 194(5), 442-449. <https://doi.org/10.1007/BF01197726>
- ben Braïek, O., & Smaoui, S. (2021). Chemistry, Safety, and Challenges of the Use of Organic Acids and Their Derivative Salts in Meat Preservation. En *Journal of Food Quality* (Vol. 2021). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2021/6653190>
- Çakiroğlu, F. P., & Uçar, A. (2018). Consumer attitudes towards purchasing functional products. *Progress in Nutrition*, 20(2), 257-262. <https://doi.org/10.23751/pn.v20i2.5859>
- Cranfield, J., & Henson, S. (2007). *Functional Food and Natural Health Product Issues: The Canadian and International Context*. <https://www.researchgate.net/publication/242115676>
- Dvořáková, P., Burešová, I., & Kráčmar, S. (2012). Textural properties of bread formulations based on buckwheat and RYE flour. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 60(5), 61-68. <https://doi.org/10.11118/actaun201260050061>
- Fernandes, L., Casal, S., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & Ramalhosa, E. (2017). Edible flowers: A review of the nutritional, antioxidant, antimicrobial properties and effects on human health. En *Journal of Food Composition and Analysis* (Vol. 60, pp. 38-50). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.03.017>
- Frutos, M. J., Guilabert-Antón, L., Tomás-Bellido, A., & Hernández-Herrero, J. A. (2008). Effect of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Fiber on Textural and Sensory Qualities of Wheat Bread. *Food Science and Technology International*, 14(5_suppl), 49-55. <https://doi.org/10.1177/1082013208094582>
- Gresta, F., Lombardo, M., Siracusa, L., & Ruberto, G. (2008). Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems. A review. En *Agronomy for Sustainable Development* (Vol. 28, Issue 1, pp. 95-112). <https://doi.org/10.1051/agro:2007030>
- Kamzolova, S. v., & Morgunov, I. G. (s. f.). *Microbial production of (2R,3S)-isocitric acid: state of the arts and prospects*. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10207-4/Published>

- Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370. <https://doi.org/10.1016/J.BTRE.2019.E00370>
- Lim, H. S., Park, S. H., Ghafoor, K., Hwang, S. Y., & Park, J. (2011). Quality and antioxidant properties of bread containing turmeric (*Curcuma longa* L.) cultivated in South Korea. *Food Chemistry*, 124(4), 1577-1582. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.016>
- Mlcek, J., & Rop, O. (2011). Fresh edible flowers of ornamental plants - A new source of nutraceutical foods. En *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 22, Issue 10, pp. 561-569). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.04.006>
- Mueen-ud-D, G., ur-Rehman, S., Muhammad A, F., & Nawaz, H. (2009). Studies on Organic Acids and Minerals Content of Sourdough Naans Made from Different Extraction Rate Wheat Flours and Starter Cultures. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(6), 877-881. <https://doi.org/10.3923/pjn.2009.877.881>
- Pires, T. C. S. P., Barros, L., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Edible flowers: Emerging components in the diet. En *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 93, pp. 244-258). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.020>
- Primo-Martín, C., Pijpekamp, A. van de, Vliet, T. van, Jongh, H. H. J. de, Plijter, J. J., & Hamer, R. J. (2006). The role of the gluten network in the crispness of bread crust. *Journal of Cereal Science*, 43(3), 342-352. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.12.007>
- Rakha, A., Arsalan Mahmood, M., Sohail, M., Rasul Anwar, B., Batool, I., & Rashid, S. (2017). Enrichment of wheat flour bread to enhance physicochemical and sensory attributes using broccoli powder. En *Pakistan Journal of Food Sciences* (Vol. 27, Issue 1). <https://www.researchgate.net/publication/327728847>
- Rashed-Mohassel, M.-H. (2020). Evolution and botany of saffron (*Crocus sativus* L.) and allied species. *Saffron*, 37-57. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818638-1.00004-6>
- Serrano-Díaz, J., Sánchez, A. M., Martínez-Tomé, M., Winterhalter, P., & Alonso, G. L. (2013). A contribution to nutritional studies on *Crocus sativus* flowers and their value as food. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(1), 101-108. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2013.03.009>
- Shahzad, S., Aoyagi, K., Winter, A., Koyama, A., & Bitsch, I. (2001). *Human Nutrition and Metabolism-Research Communication Pharmacokinetics of Gallic Acid and Its Relative Bioavailability from Tea in Healthy Humans 1*. <https://academic.oup.com/jn/article/131/4/1207/4686988>
- Shoaib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R., Shakeel, A., Ansari, A., & Niazi, S. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. En *Carbohydrate Polymers* (Vol. 147, pp. 444-454). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.020>
- Vignolini, P., Heimler, D., Pinelli, P., Ieri, F., Sciullo, A., & Romani, A. (s. f.). *Characterization of By-products of Saffron (Crocus sativus L.) Production*.

Weaver, C. M., Stone, M. S., Lobene, A. J., Cladis, D. P., & Hodges, J. K. (2018). What Is the Evidence Base for a Potassium Requirement? *Nutrition Today*, 53(5), 184-195.
<https://doi.org/10.1097/NT.0000000000000298>

Wei, X., Bottoms, K. A., Stein, H. H., Blavi, L., Bradley, C. L., Bergstrom, J., Knapp, J., Story, R., Maxwell, C., Tsai, T., & Zhao, J. (2021). *microorganisms Dietary Organic Acids Modulate Gut Microbiota and Improve Growth Performance of Nursery Pigs*.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms>

