



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Máster en

Calidad, Seguridad y Tecnología de los Alimentos

Evaluación de la calidad del azafrán producido en Aragón

Evaluation of the quality of saffron produced in Aragón

Autor/es

Carlos Llorens Navarro

Director/es

Ana María Sánchez Gómez

Facultad de Veterinaria

2017

Índice

RESUMEN (ABSTRACT)	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA Y OBTENCIÓN DE AZAFRÁN ESPECIA	1
1.2 EVOLUCIÓN Y SITUACIÓN ACTUAL DEL AZAFRÁN	5
1.3 USOS Y PROPIEDADES DEL AZAFRÁN ESPECIA	6
1.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA	8
1.4.1 ESTERES DE CROCETINA	8
1.4.2 PICROCROCINA	10
1.4.3 SAFRANAL	11
1.5 EL AZAFRÁN EN ARAGÓN.....	2
1.6 CALIDAD DEL AZAFRÁN ESPECIA	2
2. JUTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	14
3. METODOLOGÍA	15
3.1 ADQUISICIÓN DE MUESTRAS.....	15
3.2 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD.....	16
3.3 MOLIENDA Y TAMIZADO	16
3.4 EXTRACCIÓN	16
3.5 DETERMINACIÓN DE PODER COLORANTE, SABORIZANTE Y AROMATIZANTE POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS	17
3.6 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN CROCINAS, PICROCROCINA Y SAFRANAL POR HPLC.....	18
3.7 ANÁLISIS DE CONSUMIDORES SOBRE EL CONOCIMIENTO, PREFERENCIA Y USO DEL AZAFRÁN	21
3.8 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.....	22
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
4.1 HUMEDAD Y MATERIAS VOLÁTILES	23
4.2 DETERMINACIÓN DEL PODER COLORANTE, SABORIZANTE Y AROMATIZANTE POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS	25
4.3 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN CROCINAS, PICROCROCINA Y SAFRANAL POR HPLC.....	28
4.3.1 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PICROCROCINA	29
4.3.2 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE SAFRANAL	30
4.3.3 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ÉSTERES DE CROCETINA	32
4.4 ANÁLISIS DE CONSUMIDORES SOBRE EL CONOCIMIENTO, PREFERENCIA Y USO DEL AZAFRÁN	36
4.4.1 CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	36
4.4.2 CONOCIMIENTO DEL CULTIVO DE AZAFRÁN EN ESPAÑA Y PERCEPCIÓN DE SU CALIDAD	37
4.4.3 CAPACIDAD DE RECONOCIMIENTO DEL AZAFRÁN ESPECIA	38
4.4.4 VALORACIÓN HEDÓNICA DE LOS DOS AZAFRANES	39
4.4.5 PREFERENCIA DE USO ENTRE LOS DOS AZAFRANES	41
4.4.6 ANÁLISIS DE LA INTENCIÓN DE USO DEL AZAFRÁN ESPECIA	42
5. CONCLUSIONES	44
6. BIBLIOGRAFÍA	45

Resumen (*Abstract*)

Con el objetivo de conocer la calidad del azafrán producido en Aragón se analizaron 79 muestras de azafrán especia de diferentes zonas de producción (Valle del Jiloca, Zaragoza, Benabarre y Atarés); tiempo desde su cosecha (menos de 1 año, 1-2 años, más de 10 años) y compradas a granel o envasadas. Se analizaron las muestras según la norma ISO 3632 (2011) por espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-vis) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Los resultados de poder colorante variaron entre 288 y 26; los de poder saborizante entre 110 y 44; los de poder aromatizante entre 51 y 24. Se identificaron y cuantificaron 3 ésteres de crocetina en conformación *trans* y 2 en *cis* y se observó que el contenido de crocinas totales varió entre 332,4 y 11,1 g/kg azafrán en base seca. La picrocroicina de las muestras varió entre 2217 y 131 unidades de área y el safranal entre 5,144 y 0,374 g/kg de azafrán en base seca. Los mejores parámetros de calidad se observaron para las muestras de menos de un año. El estudio de los consumidores indicó que más del 85% de la población conocía el cultivo de azafrán en Aragón y valoraba como buena o muy buena la calidad el azafrán de Teruel. El estudio de preferencia reflejó la importancia de aportar información sobre las características del azafrán para distinguir su buena calidad. Ante una muestra de alta calidad y otra de baja la valoración global hedónica fue mejor para la de alta calidad.

In order to know the quality of the saffron produced in Aragón, 79 samples of spice saffron from different production areas were analyzed, years of harvest and different forms of acquisition (in bulk or sale). Preparation of the samples was carried out following ISO 3632 (2011) and were analyzed by ultraviolet-visible spectrophotometry (UV-vis) and high performance liquid chromatography (HPLC). The results of colouring strength obtained were: 39 samples of category I, 9 of category II, 7 of category III and 24 not admitted. Samples with more quality were those of the last harvest (<1 year), whereas samples of worse quality were those of trademark B. HPLC methodology allowed to identify and quantify picrocrocine, safranal and crocetins esters, the three main compounds responsible for taste, aroma and quality color. A correlation between coloring power and total crocines was found, however, this correlation were not observed between safranal and aroam strength. Finally, a study of Aragon consumers was carried out to determine the knowledge, use and preferences of saffron, after which it was concluded that it would be interesting to train consumers on spice saffron so that they could distinguish their quality and properties.

1. Introducción

1.1 Descripción de la planta y obtención del azafrán especia.

El azafrán (*Crocus sativus L.*) (Figura 1) es una planta monocotiledónea que pertenece a la familia de las Iridáceas. Es una planta herbácea, perenne y geófita que se reproduce de forma vegetativa a partir de un tallo subterráneo llamado bulbo sólido o cormo que, además de cumplir la función de propágulo, es un órgano de reserva. Alcanza una altura de 10 a 25 cm y sus hojas o nomófilos (entre 5 y 11 por brote) son lineares de hasta unos 60 cm de longitud, estrechas (de 1,5 a 2,5 mm) y de color verde oscuro con una franja central blanca en su cara interna y una nervadura en la externa (Botella y col. 1999). En Aragón las hojas se conocen como “cerdas”, “cerras” o “espartillo”. Permanece latente durante el verano y la floración se produce en otoño. Un cormo, dependiendo de su tamaño, puede tener de dos a tres brotes florales y cada brote suele presentar de 1 a 3 flores. La flor o “rosa” del azafrán alcanza una altura máxima de 10-12 cm y consta de seis partes periánticas de color violáceo, tres externas y tres internas, denominadas tépalos. De la parte superior del tubo periántico emergen tres estambres amarillos unidos a los tépalos. Del ápice del ovario subterráneo atravesando el tubo periántico, surge un largo estilo filiforme de color amarillo que acaba en un estigma de color rojo formado por tres filamentos que se conocen como “hebras”, “clavos”, “briznas” o “brines” del azafrán.



Figura 1. *Crocus sativus L.* b) Flores de azafrán. c) Partes de la flor de azafrán

En el azafrán aparecen dos tipos de raíces, unas fibrosas y finas en la base del bulbo madre y otras contráctiles presentes en la base de las yemas laterales, más gruesas que

las anteriores, con aspecto de tubérculo y que permiten al bulbo mantenerse bajo tierra en profundidad.

El azafrán requiere climas mediterráneo-continentales, de inviernos frescos, veranos secos y calurosos y con un régimen de humedad mediterráneo seco. Soporta temperaturas rigurosas tanto en verano como en invierno. El azafrán se adapta bien a suelos calizos que son los más frecuentes de las zonas de cultivo y se cultiva bien en suelos pobres, aunque rinde más en suelos fértiles.

Desde que la planta produce las flores hasta que el consumidor tiene a su disposición el azafrán especia se van a realizar las siguientes operaciones (Alonso y col, 2007 Libro Blanco del Azafrán):

- 1) Recolección de las flores. En Aragón la floración tiene lugar en torno a la segunda quincena de octubre y se prolonga durante unos veinticinco días. Esta operación se hace generalmente a mano y consiste en cortar la flor por su base e introducirla en cestos para evitar su aplastamiento. Es indispensable efectuarla todos los días, en las horas tempranas de la mañana cuando la flor está cerrada, pues cuando sale el sol las flores comienzan a marchitarse, con detrimiento de la calidad del azafrán obtenido.
- 2) Desbriznado, “esbrinado” o “monda”. Consiste en la separación del estigma del resto de partes florales, cortando el estigma más o menos cerca de su inserción con el estilo dependiendo de la proporción de estilo que se quiera mantener en el azafrán. El proceso debe realizarse, a ser posible, en el mismo día de la recolección ya que los estigmas pierden calidad si esta operación se retrasa. Al igual que la recolección, se hace generalmente a mano.
- 3) Tostado o “tueste”. Es el proceso de deshidratación de los estigmas hasta que su peso se ha reducido alrededor del 80% debido a la pérdida de agua y convierte el azafrán fresco en azafrán especia. Se realiza al mismo terminar el desbriznado colocando los estigmas en una delgada capa sobre un cedazo de tela metálica o seda y sometiéndolos a una fuente de calor como una cocina o estufa de gas butano, resistencias eléctricas, o brasas. Las condiciones recomendadas son tiempos de deshidratación cortos, en torno a media hora, y temperaturas superiores a 70°C (Carmona y col., 2005). La humedad del azafrán determina el final del proceso de deshidratación y es de gran importancia durante el almacenamiento para la conservación de la especia. Esta operación también es determinante en la calidad del azafrán porque durante el proceso de tostado, se

producen importantes modificaciones en la composición del azafrán en términos de color (Carmona y col., 2005), sabor (Carmona y col., 2007a) y aroma (Carmona y col., 2006), las tres principales características del azafrán.

4) Limpieza. En caso de que permanezcan restos florales, éstos se eliminan manualmente con el fin de obtener un azafrán puro. Posteriormente el producto final será envasado en recipientes que preserven la calidad de la especia. El azafrán, como muchos productos desecados, es higroscópico tendiendo a alcanzar un equilibrio con la humedad del ambiente. Cuando la humedad es superior al 20%, el azafrán comienza a absorber agua de forma proporcional e independientemente del tamaño de sus partículas. Por ello, después de deshidratar el azafrán, éste se guarda tratando de preservarlo de la humedad y de la luz, factores que afectan de manera muy directa a su color y aroma.

5) Comercialización. Incluye la compra, clasificación, almacenamiento, limpieza y homogeneización, envasado y expedición. Dentro del proceso global, el almacenamiento y envasado del azafrán son los dos procesos más importantes para conservar la calidad inicial del azafrán especia y que el producto llegue en perfectas condiciones al consumidor. Los mismos productores que han recogido la flor, el productor comerciante o el envasador distribuidor, dependiendo del caso, son los que se encargan de realizar estas funciones. Los comerciantes de azafrán suelen ir a comprar el producto a los pueblos y casas de los productores, directamente o a través de corredores, a los que pagan una comisión. A veces, el agricultor va al local del comerciante a vender su producto. Las partidas compradas se clasifican en función de su calidad, antigüedad, etc. Actualmente son conocidos los inconvenientes de almacenar el azafrán durante mucho tiempo, ya que pierde calidad con el tiempo y se tiende a comercializar el azafrán el mismo año de la cosecha. En la sala de almacenamiento, se conserva en recipientes de plástico, bolsas de polietileno o cajas de cartón. Para controlar las condiciones ambientales (humedad, temperatura) se utilizan termo-higrómetros aunque la práctica más frecuente es la de conservarlo en un lugar seco y protegido de la luz. Algunos envasadores utilizan cámaras frigoríficas. Antes de envasar el azafrán, se limpia, se controla su humedad, se homogeneiza la partida y se lleva a cabo la molienda en caso de que el azafrán se suministre en polvo. Para conseguir los objetivos del envasado de azafrán es aconsejable que el envase sea impermeable tanto a la evaporación de sus componentes aromáticos como al vapor de agua, así como a la penetración de olores extraños procedentes de otros productos que pudieran

almacenarse junto a la especia, que lo proteja de la luz y que el tapón o junta del envase garantice el cierre hermético del mismo.

A pesar de ello, se observa en el mercado español que no se comercializan recipientes herméticos, así los productores utilizan materiales alimentarios que responden a las demandas del mercado tales como envases de plástico (polietileno, PVC, polipropileno) de vidrio, de aluminio y otros metales. Posteriormente, como embalaje secundario, emplean cajas de cartón o metálicas. La cantidad de azafrán para su comercialización, habitualmente, varía desde unos centenares de mg hasta 16 g, siendo lo más habitual los de 1 g. Una vez envasado, es recomendable mantener el producto en un lugar fresco, seco y oscuro durante el tiempo que los recipientes permanecen en el almacén. En general, se envasa conforme a las demandas de los clientes y se comercializa inmediatamente, produciéndose la expedición en un plazo inferior a cinco días.

Es importante remarcar que la forma de llevar a cabo las diferentes etapas de este proceso productivo varía de manera importante de un país a otro. Las diferentes formas de obtención de la especia, en función del país productor, afectan de manera importante a las propiedades químicas y sensoriales del producto final (Carmona y col., 2006) proporcionando unas propiedades diferenciadas.

1.2 Evolución y situación actual del azafrán.

El país que posee la mayor producción de azafrán a nivel mundial es Irán. De acuerdo a estadísticas del ministerio de agricultura iraní, publicadas por Mitra Majdzadeh en 2015, el 94% de la producción mundial de azafrán se realiza en tierras iraníes, esto corresponde a 88000 hectáreas cultivadas, con un total de 240 toneladas. India, Grecia, España e Italia también están involucrados en su producción y desempeñan un papel relevante en el comercio del azafrán especia.

En el último siglo en España, al igual que en el resto de Europa, la superficie de cultivo de azafrán ha disminuido notablemente, y especialmente a partir de 1985, cuando la producción se situaba en 26145 y 4223 kilogramos, hasta la situación actual (los últimos datos registrados fueron en 2014) con 1902 kilogramos y 171 hectáreas cultivadas. Si bien es cierto, que desde 2005 (Figura 2), se observa una tendencia al alza en las hectáreas cultivadas.

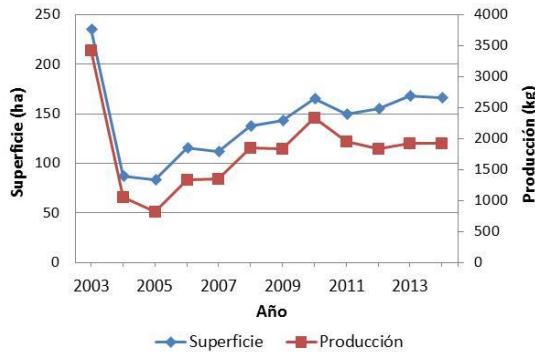


Figura 2. Evolución de superficie cultivada y producción de estigmas tostados de *C.sativus* en España (Fuente: MAPAMA)

La Tabla 1 muestra como actualmente, en España, el cultivo subsiste en Castilla La Mancha, Aragón y en menor medida en la Región de Murcia. Castilla La Mancha es la región con mayor nivel productivo, representa en torno al 96% de la producción total española.

Tabla 1. Superficie cultivada y producción de estigmas tostados de *C.sativus*. en España, por comunidades autónomas en el año 2014 (Fuente: MAPAMA).

Comunidad Autónoma	Superficie (ha)	Producción (kg)
Aragón	8	17
Cataluña	4	36
Castilla La-Mancha	150	1792
Murcia	4	30
Canarias*	5	27

*Cártamo

1.3 Usos y propiedades del azafrán especia.

El azafrán especia constituye una de las especias más valoradas del mercado por sus propiedades colorantes, aromatizantes y saborizantes (Alonso y col, 2001; Carmona y col., 2007a), el uso más importante del azafrán en la actualidad es el alimentario y está presente en muchos platos típicos de la cocina Española. También se utiliza y se ha utilizado en tintes, cosmética y como planta medicinal. Algunas de sus múltiples propiedades beneficiosas para la salud son:

- Favorece el sistema digestivo
- Mitiga la tos
- Es analgésico
- Es bueno para el sistema nervioso y la memoria (Hosseinzadeh y col., 2008b Zheng y col., 2007; Ghazavi y col., 2009).
- Mejora las afecciones oculares y cutáneas (Xuan y col., 1999)

- Es antioxidante (Martínez-Tomé y col., 2001)
- Previene las enfermedades cardiovasculares
- Es anti-inflamatorio (Hosseinzadeh y Younesi, 2002; Kubo y Kinst-Hori, 1999)
- Tiene propiedades antidepresivas, relajantes y sedantes (Ríos y col., 1996)

1.4 Composición química.

Los principales compuestos a los que se debe la calidad del azafrán son los ésteres de crocetina, debido principalmente al papel que desempeñan en el color y las propiedades medicinales; la picrocroicina, por su aportación al sabor amargo; y el safranal, compuesto mayoritario en la fracción aromática de la especia (Sánchez, 2009a)

Debido a la poca solubilidad en agua del safranal, en los extractos acuosos son los ésteres de crocetina y la picrocroicina los compuestos más abundantes. Además, en los extractos acuosos se encuentran flavonoides del grupo de los kaempferoles que son interesantes por su posible contribución a las propiedades y atributos del azafrán especia, a pesar de encontrarse en el azafrán en menores proporciones que el resto de los compuestos mencionados.

A continuación, se expondrán algunos aspectos particulares de cada uno de estos grupos de compuestos.

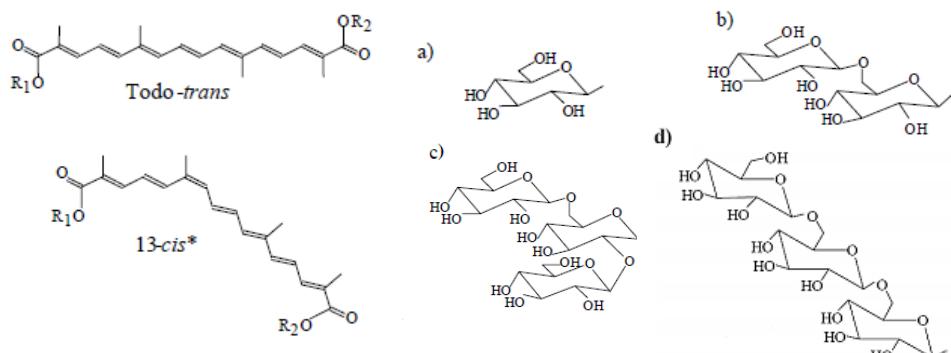
- **1.4.1. Ésteres de crocetina.**

Las sustancias responsables del color que tiene y que proporciona el azafrán especia a soluciones acuosas pertenecen al grupo de los pigmentos carotenoides. En los extractos acuosos de azafrán se encuentra una mezcla de diferentes ésteres glicosilados del ácido 8,8'-diapo- Ψ,Ψ' -carotenedioico, denominado crocetina.

Los azúcares que esterifican los extremos de la crocetina son glucosa, gentiobiosa y neapolitanosa. A diferencia de la mayoría de carotenoides, estos ésteres son hidrosolubles y se les conoce también con el nombre de crocinas. Este nombre proviene del di-(β -D-gentiobiosil) éster de crocetina, compuesto mayoritario del azafrán al que se le llamó crocina cuando fue estudiado por primera vez por Aschoff en 1818. Su coeficiente de absorción molar (ϵ), en agua a 440 y 257 nm es de 89000 y 63350 L cm⁻¹ mol⁻¹ según Speranza y col. (1984).

Otro aspecto importante de este grupo de carotenoides del azafrán es su posible intervención en la formación del aroma, tal y como propusieron Carmona y col. (2006). Según estos autores, la formación del aroma tendría lugar a partir de los ésteres de crocetina por la acción de una carotenasa.

Con el fin de abreviar, se va a utilizar en este trabajo la nomenclatura de Carmona y col. (2006) para designar los ésteres de crocetina: en primer lugar, se hace referencia a la conformación *cis* o *trans*, seguida por un guion que la separa del número de residuos de glucosa en la molécula. Posteriormente, se indica la distribución de los residuos como (t) triglucósido, (n) neapolitanósido, (G) gentiobiósido o (g) glucósido. El nombre de la estructura base, éster de crocetina, se omite por tratarse del mismo en todos los compuestos (Figura 3).



* En la crocina con conformación *cis* no se ha podido precisar la posición de los sustituyentes R_1 y R_2 con respecto al enlace C_{13-14}

<i>trans/cis</i> -5-tG: $R_1 = d$ y $R_2 = b$	<i>trans/cis</i> -3-Gg: $R_1 = b$ y $R_2 = a$	t: triglucosa
<i>trans/cis</i> -5-nG: $R_1 = c$ y $R_2 = b$	<i>trans/cis</i> -2-G: $R_1 = b$	n: neapolitanosa
<i>trans/cis</i> -4-ng: $R_1 = c$ y $R_2 = a$	<i>trans/cis</i> -2-gg: $R_1 = a$ y $R_2 = a$	G: gentiobiosa
<i>trans/cis</i> -4-GG: $R_1 = R_2 = b$	<i>trans/cis</i> -1-g: $R_1 = a$	g: glucosa

Figura 3. Estructura de los ésteres de crocetina encontrados en azafrán por diferentes autores.

Las crocinas *cis*, con respecto a sus homónimos *trans*, presentan una banda de absorción adicional alrededor de 334 nm en su espectro ultravioleta-visible (UV-vis) y el máximo de absorción a 440 nm presenta un efecto hipsocrómico de unos 5 nm (Pfister y col., 1996) (Figura 4).

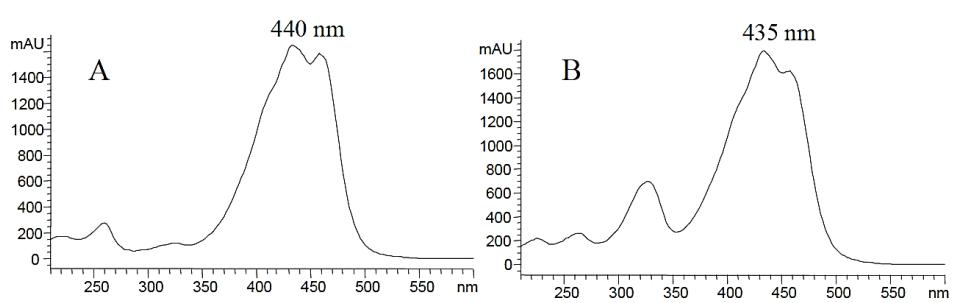


Figura 4. Espectros UV-vis característicos de las crocinas con conformación *trans* (A) y *cis* (B)

Los ésteres de crocetina son los responsables del poder colorante del azafrán ($E_{1cm}^{1\%}$ 440 nm). En este trabajo se han estudiado estos ésteres de crocetina centrado en el desarrollo del método analítico basado en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para separar, identificar y cuantificar estos carotenoides.

- 1.4.2. Picrocrocina.

La picrocrocina ($C_{16}H_{26}O_7$, Mr = 330), es el 4-(β -D-glucopiranosiloxi)-2,6,6-trimetil-1-ciclohexen-1-carboxaldehido y es considerada la sustancia responsable del sabor amargo del azafrán. Su estructura fue establecida por Kuhn y Winterstein en 1934. Su espectro UV-vis en disolución acuosa presenta un máximo a 250 nm (Figura 5), siendo su coeficiente de extinción molar $10100 \text{ L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ (Buchecker y Eugster, 1973)

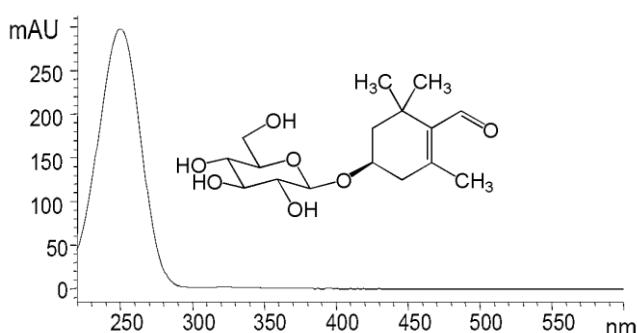


Figura .5 Espectro de absorción UV-vis de la picrocrocina y su estructura química

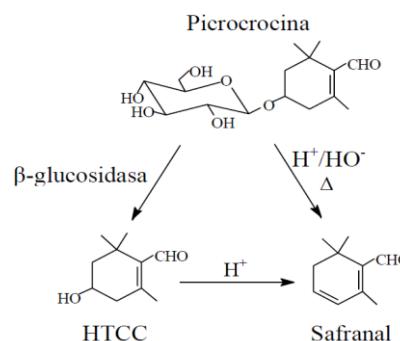


Figura 6. Formación del safranal a partir de picrocrocina como precursor.

La picrocrocina se considera el precursor del safranal. Durante el proceso de deshidratación esta transformación tiene lugar bien por la temperatura que se alcanza o por la acción de glicosidasas (Himeno y Sano, 1987; Iborra y col., 1992) (Figura 6).

Durante el desarrollo del estigma, crocinas y picrocrocina mantendrían una proporción constante debido a que el HTCC (4-hidroxi-2,6,6-trimetil-1,3-ciclohexen-1-carbaldehido) formado por la acción de una carotenasa se glucosidaría transformándose en picrocrocina. En el momento de la antesis una o varias glicosidasas actuarían sobre la picrocrocina convirtiéndola de nuevo en HTCC. En el caso del azafrán desecado a alta temperatura la actividad de estas enzimas, glicosidasas y carotenasas, sería corta. Sin embargo el azafrán deshidratado a temperatura ambiente podría mantener la actividad durante muchas horas a lo largo de los varios días que dura el proceso de secado.

- **1.4.3. Safranal.**

El safranal ($C_{10}H_{14}O$, Mr = 150), es el 2,6,6-trimetil-1,3-ciclohexen-1-carboxaldehído. Es el responsable del aroma característico del azafrán y componente mayoritario de los compuestos volátiles (70%), pero no está presente en los estigmas frescos, así pues su concentración depende fuertemente de las condiciones de tostado y almacenamiento.

Presenta su máximo de absorción a 330 nm en solución acuosa, pero su solubilidad en agua es limitada, 673,07 mg de safranal/L de agua a 20°C (García-Rodríguez y col., 2014), aunque esta determinación no es la más adecuada ya que los ésteres de crocinas, de configuración cis, absorben también a esta longitud de onda (Alonso y col, 1996) e interfieren en esta determinación. Por este motivo Maggi y col (2011) establecieron una metodología HPLC para cuantificar el safranal.

1.5 El Azafrán en Aragón.

La región tradicionalmente productora de azafrán en Aragón es la Comarca del Jiloca, al noroeste de la provincia de Teruel, las zonas productoras son las siguientes:

- Zona Monreal: Monreal del Campo y Torrijo del Campo.
- Zona de Muniesa: Muniesa, Loscos y Lécera.
- Zona de Campo Bello: Bello, Las Cuerlas y Gallocanta.
- Zona de Campo Visiedo: Visiedo, Lidón y Argente.

Sin embargo, se está observando como la producción se extiende a otras zonas de la geografía aragonesa, como la zona cercana a Benabarre (Huesca).

Según indica Pascual Terrado en el libro “El azafrán y la comarca del Jiloca, (1997)” antaño el azafrán significaba una gran ayuda para familias desfavorecidas, con sus parcelas de tamaño reducido y con abundante mano de obra, conseguían ingresos muy elevados por unidad de superficie, en comparación con el resto de cultivos, aunque no tanto por unidad de tiempo. Al mismo tiempo, el azafrán servía como producto-ahorro, ya que los productores tendían a conservar las cosechas de varios años para comercializar el producto en el momento más oportuno, o en función de las necesidades de la explotación.

Según datos de MAPAMA, en 18 años se ha pasado de producir 177 kilogramos en 49 hectáreas de cultivo (1996) a 17 kilogramos y 8 hectáreas (2014). A pesar de estos datos negativos, la tendencia en Aragón sigue la del resto de España, observándose un

incremento en la producción, desde 2004 (Figura 7), en un total de 20 kg que ha sido registrado en capítulos de libros como el de Camarena y Sanjuán (2009).

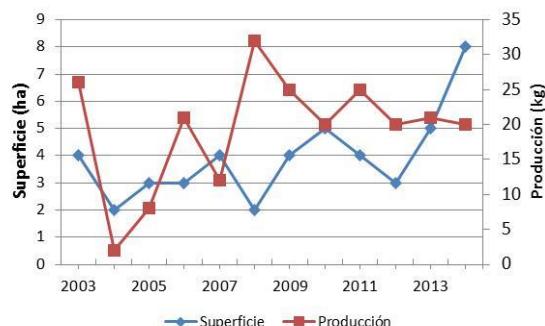


Figura 7. Superficie de cultivo de *C.sativus* y producción de su estigma tostado en Aragón.

Tabla 2. Superficie de cultivo ecológico de *C.sativus* en Aragón.

	R-0	REC	AE	TOTAL
Teruel	0	0,05	3,82	3,87
Huesca	0	0	0,18	0,18
Zaragoza	0	0	0,18	0,18
Aragón	0	0,05	4,18	4,23

R-0 hectáreas en reconversión durante el primer año de prácticas en producción ecológica ; REC hectáreas en el segundo año de reconversión ; AE hectáreas en actual producción ecológica

Actualmente se está extendiendo el cultivo ecológico de azafrán, que está regulado según el Reglamento (CE) 834/2007 y Reglamento (CE) 889/2008. Según dicta este reglamento, es necesario un periodo de conversión de dos años para adaptar la tierra sobre la que se cultiva el azafrán y que de un producto que podemos catalogar como ecológico. Los últimos registros de superficie (ha) inscritas en el Comité aragonés de agricultura ecológica (CAAE) a 31/12/2015 son aportados en la Tabla 2.

Existe una Asociación de Productores del Jiloca, AZAJI que ha supuesto una importante fuente de apoyo (financiero, mecánico y de garantía de la venta del producto) de dinamización y revitalización del sector, lo que ha favorecido la entrada de nuevos productores y el aumento de la superficie cultivada (Sisó y col., 2010). Algunos de estos productores han estado experimentando en la incorporación de azafrán al queso de oveja y a la crema de chocolate, entre otros productos, comercializándose a una escala local, Sanjuán y col., (2011) observaron que existía un segmento potencial de consumidores que inclinaban sus gustos hacia estas innovaciones, sobretodo en queso.

Camarena y col., (2008) estudiaron la distribución de azafrán en el mercado urbano de Zaragoza y observaron que en los 16 establecimientos que vendían azafrán lo hacían tanto en hebra como molido y en envases alternativos, predominando el envase de plástico y que además los establecimientos gourmet y tiendas especializadas compraban en su mayoría directamente al productor.

Aragón cuenta con un Reglamento técnico para la utilización de la marca “Calidad Alimentaria” para el “Azafrán de Aragón” (BOA, 2003), aunque no se está utilizando y

sus especificaciones de calidad, a diferencia de otras normativas de calidad no han sufrido revisiones desde su creación.

1.6 Calidad del azafrán especia.

Los factores que afectan a la calidad del azafrán están presentes en todos los pasos de su producción, desde el cultivo hasta el producto final puesto a disposición del consumidor. Influyen las condiciones de cultivo (suelo, agua, temperatura, estado sanitario, etc.), las prácticas culturales, la recogida de la flor y su monda, el proceso de deshidratación, la manipulación, el almacenamiento y el envasado.

La normalización de la calidad del azafrán frente al estancamiento en las labores de producción y comercialización ha avanzado en la cuantificación de determinados parámetros por métodos espectrofotométricos e incluso cromatográficos. La valoración instrumental de la calidad de azafrán ha avanzado en los últimos años intentando evitar la evaluación subjetiva de las características organolépticas que permitía tradicionalmente diferenciar los azafranes no sólo por su país de origen, sino incluso por la localidad geográfica en que había sido cosechado.

Las normas de control de calidad en España, aplicadas en el azafrán son (Tabla 3):

- Reglamento Técnico Sanitaria (RTS) (B.O.E., 1984): Para la elaboración, circulación y comercio de condimentos y especias. Es una Normativa muy general, que fija algunas características que debe cumplir el producto terminado, como el máximo de humedad, cenizas, fibra bruta e intervalo admitido para el extracto etéreo.
- Norma ISO 3632 (2011): Es la que habitualmente se emplea para certificar el azafrán en la mayoría de las transacciones comerciales internacionales. Es una normativa de carácter voluntario, en la que los comercializadores no están obligados a cumplirla. Establece tres categorías; I, II y III, siendo la categoría I la de mayor calidad.
- Pliego de condiciones del “azafrán de La Mancha” (1999). Reglamento (CE) N° 464/2001 de la Comisión de 7 de marzo de 2001, en la que se inscribe a la DOP Azafrán de la Mancha en el Registro de Denominaciones de Origen protegidas y de Indicaciones Geográficas Protegidas.

Tabla 3. Requerimientos para el azafrán en hebra o molido según ISO 3632 (2011) y pliego de condiciones del azafrán de La-Mancha

	ISO 3632			RTS	D.O.P Azafrán de La Mancha
	Categorías				
Parámetro	I	II	III		
Restos florales (% máx.)	0,5	3	5	N.E	0,5
Materias extrañas (%máx.)	0,1	0,5	1,0	N.E	0,1
Humedad y materias volátiles (%máx.)					
Azafrán en hebra	12	12	12	15	11
Azafrán en polvo	10	10	10	N.E	
Cenizas totales (%máx.)	8	8	8	8	8
Cenizas insolubles en ácido (%max.)	1,0	1,0	1,0	2	
Extracto soluble en agua fría (%máx.)	65	65	65		65
Extracto etéreo sobre materia seca (%min-máx.)	N.E.			3,5-14,5	3,5-14,5
Poder colorante $E_{1cm}^{1\%}$ 440nm (min)	200	150	100	N.E	200
Poder saborizante $E_{1cm}^{1\%}$ 257 nm, en masa seca (min)	70	55	40	N.E	70
Poder aromatizante $E_{1cm}^{1\%}$ 330 nm, en masa seca (min-max)	20-50	20-50	20-50	N.E	> 20
Colorante artificiales ácidos hidrosolubles	Ausente			N.E	N.S.

N.E. no especifica

2. Justificación y objetivos

El azafrán es un cultivo históricamente muy arraigado en la provincia de Teruel cuya producción se está intentando recuperar por el alto valor añadido de la especia, la sostenibilidad del cultivo y su importancia socio-cultural. El azafrán de Teruel se ha distinguido por una alta calidad que era bien reconocida en el pasado, pero que con la disminución en la producción y la disponibilidad de azafranes de otras zonas productoras necesita distinguirse y revalorizarse. Este trabajo Fin de Máster se embarca dentro del proyecto denominado “Puesta en valor de la calidad del azafrán (*Crocus sativus L.*) producido en Teruel” que está financiado por el Fondo de Inversiones de Teruel y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FITE). El objetivo general es evaluar la calidad del azafrán producido en Aragón y el reconocimiento de ella por parte de los consumidores.

Para conseguir estos objetivos generales, se han planteado diversos objetivos puntuales:

- Analizar diferentes muestras de azafrán de Aragón siguiendo el procedimiento establecido en el Capítulo 14 de la ISO 3632 (2011), determinando las principales características espectrofotométricas relacionadas con el poder colorante, saborizante y aromatizante.
- Identificar y cuantificar los ésteres de crocetina, picrocrocina y safranal que están presentes en el azafrán especia, mediante el uso de cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de fotodiodos UV-vis (HPLC-DAD).
- Realizar un estudio de consumidores en Aragón sobre el conocimiento, preferencia y usos del azafrán especia, mediante la realización de sesiones de degustación, y dar a conocer cómo es el azafrán especia, en hebra y molido, como diferenciar su calidad, como conservarlo y sus potenciales usos en gastronomía.

3. Metodología

3.1 Adquisición de muestras.

Para el presente trabajo se dispuso de diferentes muestras de azafrán cultivado en Aragón (Tabla 4) a la que además se añadió una muestra de azafrán D.O.P La Mancha, haciendo un total de 79 muestras a analizar.

Tabla 4. Lugares de compra de las muestras de azafrán de Aragón

Tipo muestra	Cosecha	Nº muestra (lugar producción)
Granel	< 1 año	2,3, 52, 65, 67, 75, 77 y 78 (Calamocha), 22 (Fuentes Claras), 23 (Villarquemado), 24 (Blancas), 45, 46, 47, 48, 49, 73 y 81 (Monreal del Campo), 66 (Benabarre), 70 (Zaragoza), 80 (Atarés),
	1-2 años	51, 64, 68, 69 y 76 (Calamocha), 4 y 21 (Blancas), 53 y 74 (Monreal del Campo)
	> 10 años	50 (Monreal del Campo) y 79 (no especificado)
Tipo muestra	Marca comercial	Nº muestra (lugar producción)
Envasada	A	1 (no especificado), 5 a 19 y 35 a 44 (Monreal del Campo)
	B	25 a 34 y 54 a 58 (no especificado)
	C (ecológico)	54 a 58 (Blancas)

Del total de muestras, 30 fueron compradas a granel, a 13 productores distintos, de las cuales 21 tenían menos de 1 año (cosecha 2016-2017) y 9 tenían entre 1 y 2 años (cosecha 2015-2016). 46 muestras fueron compradas, ya envasadas, de forma online y en puntos de venta al público de Zaragoza, en las que no se especificaba el año de cosecha, 26 pertenecían a una marca comercial A, 15 pertenecían a otra marca comercial B y 5 a una marca comercial C de cultivo ecológico. Para ambas marcas comerciales, A y B, se disponía de 6 lotes diferentes de azafrán y dos tipos de envasado distintos para cada una de ellas, la marca A envasaba en plástico y en bote de vidrio, mientras que la marca B envasaba en caja metálica y en bote de vidrio.

Se tomaron a su vez, dos muestras de azafrán, uno de más de 10 años y otro de más de 15 años, con el objetivo de poder comparar los resultados obtenidos con el resto de muestras. También se compró un azafrán D.O.P. Castilla La-Mancha, de cosecha 2015-2016, como referencia de calidad.

Las cantidades disponibles de azafrán en hebra eran de aproximadamente 5 gramos para aquellas compradas a granel, mientras que las envasadas eran de un gramo.

3.2 Determinación de humedad y materias volátiles

La determinación de la humedad y materias volátiles se realizó de acuerdo a como dicta el capítulo 7 de la ISO 3632. Para ello se pesó 500 mg de azafrán en hebra, en una cápsula de pesado, y se llevó a la estufa durante 16 horas a $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, esta operación se realizó por triplicado cuando se dispuso de 5 g de muestra, por duplicado cuando se dispuso de 2 g y 1 única vez cuando se dispuso de 1 g de azafrán. El contenido en humedad y materias volátiles, w_{MV} , se expresó como:

$$w_{MV} = (m_0 - m_1) \times \frac{100}{m_0}$$

Donde m_0 es la masa (g) de análisis, m_1 es la masa (g) del residuo desecado.

3.3 Molienda y tamizado.

Se realizó de acuerdo a como dicta el capítulo 10 de la ISO 3632. Para la molienda de las muestras de azafrán se utilizó un molinillo o triturador hasta que el 95% del polvo pasa a través de un tamiz, de luz de malla 500 μm y luego se reincorporó la muestra que quedó en el tamiz y se homogeneizó el total de la muestra reconstituida.

3.4 Extracción.

La preparación de los extractos acuosos de azafrán se llevó a cabo de acuerdo al capítulo 14 de la norma ISO 3632. Para ello se pesó 500 mg de la muestra a analizar, con una aproximación de 1 mg, y se transfirió cuantitativamente a un matraz aforado de 1000 mL con 900 mL de agua de calidad analítica tipo I (Wasserlab). Esta disolución se agitó con un agitador magnético durante 1h a 1000 rpm, apartado de la luz. Tras 1h de agitación se enrasó el matraz aforado y se homogeneizó, obteniéndose el extracto acuoso concentrado. A continuación se tomaron, por duplicado, 10 mL del extracto concentrado con una pipeta y se transfirió cuantitativamente a un matraz aforado de 100 mL, que se enrasó con agua y se agitó, obteniéndose dos disoluciones 1:10 (v/v) por cada extracto concentrado.

Este proceso se realizó por duplicado, obteniendo 2 y 4 extractos acuosos concentrados y diluidos respectivamente de cada muestra. El proceso de molienda se realizó en el mismo laboratorio para todas las muestras.

3.5 Determinación del poder colorante, saborizante y aromatizante por espectrofotometría UV-vis.

El espectrofotómetro se calibró antes de cada medida, tomado como referencia agua, realizando un barrido entre las longitudes de onda de 200 y 700 nm, estableciendo la línea base de medida.

Se realizaron tres medidas espectrofotométricas, en una cubeta de cuarzo, para cada una de las disoluciones 1:10 preparadas (3x4), tomando una pequeña cantidad del extracto que se hizo pasar a través de un filtro de politetrafluoroetileno hidrofílico (PTFE) con un tamaño de poro de 0,45 µm.

La espectrofotometría UV-vis permite una determinación rápida de las características principales del azafrán relacionadas con la picrocrocina, safranal y crocinas. Las medidas espectrofotométricas de todas las muestras se realizaron en dos laboratorios distintos, debido al gran volumen de muestras disponibles. El primero de ellos disponía de un espectrómetro Biochrom Libra S22 y se realizaban las medidas de los extractos acuosos de azafrán en una micro-cubeta de cuarzo, con un paso óptico de 1cm. El segundo laboratorio de análisis estaba equipado con un espectrofotómetro Shimadzu UV-1700 PharmaSpec y realizaba las medidas de los extractos acuosos de azafrán en una cubeta de cuarzo.

Los resultados se obtuvieron por lectura directa de la absorbancia específica a tres longitudes de onda, tomando como resultado la media aritmética y la desviación estándar de al menos 3 lecturas:

$$E_{1cm}^{1\%} (\lambda_{max}) = \frac{D \times 10000}{m \times (100 - w_{MV})}$$

Donde D es la absorbancia específica, m la masa (g) de análisis y w_{MV} es el contenido en humedad y materias volátiles de la muestra.

$E_{1cm}^{1\%} 440$ nm se corresponde con el poder colorante, $E_{1cm}^{1\%} 330$ nm con el poder aromático y $E_{1cm}^{1\%} 257$ nm con el poder saborizante de la muestra.

Para determinar la precisión, se siguieron las directrices de Eurachem Guidelines (1998) y se determinaron dos parámetros, la repetibilidad y la reproducibilidad que se expresaron en términos de desviación estándar relativa (DSR%).

Para la repetibilidad se tomó la muestra 49 (Tabla 5) y se analizó 5 veces (60 medidas) por el mismo analista el mismo día, para considerar la repetibilidad de un método como aceptable, su valor debe ser inferior al 20%. El límite de repetibilidad (L_r), a un nivel de confianza del 95%, fue calculado según la siguiente ecuación:

$$L_r = 1,96 \times \sqrt{2} \times \sigma_r$$

Donde σ_r es la desviación estándar medida en condiciones de repetibilidad.

Para la reproducibilidad se tomó la muestra 48 (Tabla 5), de características similares a la muestra 49 y se analizó 3 veces (36 medidas) en tres días distintos, por tres analistas diferentes y en los dos equipos distintos. El límite de reproducibilidad (L_R), a un nivel de confianza del 95%, fue calculado según la siguiente ecuación:

$$L_R = 1,96 \times \sqrt{2} \times \sigma_R$$

Donde σ_R es la desviación estándar medida en condiciones de reproducibilidad.

Además se analizaron las 7 mismas muestras (3, 45, 66, 67, 68, 69 y 74 de la Tabla 5), en el mismo día, por parte de los dos laboratorios, cuya extracción fue realizada de forma independiente (para un molido común). El objetivo de este proceso fue comparar los resultados espectrofotométricos y estimar el error cuadrático medio, que podría resultar de analizar una muestra en diferentes lugares, para cada longitud de onda, según la siguiente ecuación:

$$ECM = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n |y_1 - y_2|^2}{n}}$$

Donde y_1 e y_2 son cada una de las medidas, del laboratorio 1 y 2 respectivamente, para el mismo extracto acuoso y n el número de réplicas totales.

3.6 Determinación del contenido en crocinas, picrocrocina y safranal por HPLC.

En este trabajo se identificaron y cuantificaron, mediante HPLC-DAD, los tres componentes principales del azafrán: ésteres de crocetina, picrocrocina y safranal. De los 16 ésteres de crocetina descritos en la bibliografía, en este trabajo se identificaron y cuantificaron *trans*-4-GG, *trans*-3-Gg, *trans*-2-gg, *cis*-4-GG y *cis*-3-Gg.

Para ello se inyectó 20 μ L del extracto acuoso concentrado de la muestra de azafrán en un equipo cromatográfico HPLC Agilent 1100 (Palo Alto, CA) equipado con una columna Luna C18 de Phenomenex (Le Pecq Cedex, Francia) de dimensiones 150 mm x 4,6 mm y con un diámetro de poro de 3 μ m que se equilibra a 30°C, acoplado a un detector de fotodioidos UV-vis (DAD) (Hewlett-Packard, Waldbronn, Alemania). Los eluyentes utilizados fueron agua (A) y acetonitrilo (B) con el siguiente gradiente: 20% B, 0-5min, 20-80% B, 5-15min, 80% B, 15-20 min y 80-20% 20-23min. El caudal se fijó en un valor constante de 0,500mL/min. El detector de DAD se fijó a 250, 330 y 440 nm para la detección de picrocrocina, safranal y ésteres de crocetina, respectivamente. Cada muestra se extrajo por duplicado y de cada extracto se realizaron 2 medidas (2x2).

La identificación de picrocrocina se llevó a cabo por comparación con la bibliografía (Carmona y col., 2006) de su espectro UV-vis entre 200 y 600 nm y su tiempo de retención (t_r) por HPLC-DAD. La cuantificación se realizó integrando las áreas resultantes de su máximo de señal a 250 nm.

La identificación de safranal se llevó a cabo por comparación con la bibliografía de su espectro UV-vis entre 200 y 600 nm y su t_r por HPLC-DAD y además por comparación con la señal del patrón. Para su cuantificación se usó el método de calibración externa, para ello se prepararon dos series de solución patrón [pureza > 88% (Sigma-Aldrich)] en metanol de concentraciones 4, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,06 y 0,03 mg/L que fueron analizadas por duplicado a 330 nm. Los resultados para cada muestra analizada se expresaron en g safranal/kg azafrán, dividiendo la concentración (mg/L) resultante de la interpolación, entre su masa seca (masa pesada para la preparación del extracto acuoso a la que se le ha quitado el valor de humedad calculado).

La identificación de los ésteres de crocetina se llevó a cabo por comparación con la bibliografía de su espectro UV-vis entre 200 y 600 nm y su t_r por HPLC-DAD y además por comparación con la señal del patrón. Su cuantificación se basó en curvas de calibración.

Se preparó 1 disolución madre del patrón de *trans*-4-GG (pureza > 99%) en 50 mL de metanol y se prepararon las disoluciones de trabajo con concentraciones de 53,95; 10,79; 5,39; 2,59; 1,72 y 0,86 mg/L que analizaron por duplicado en HPLC determinando su área a 440 nm. Con el mismo procedimiento se preparó una serie de

soluciones, a partir del mismo patrón, de concentraciones 75,53; 70,13; 64,74; 19,42; 10,79; 5,39; 2,59 y 1,72 mg/L que se analizaron por duplicado en HPLC a 250 nm.

Se preparó mediante el mismo procedimiento, una serie de soluciones a partir del patrón de *trans*-3-Gg de concentraciones 18; 10; 5; 2,4; 1,6 y 0,8 mg/L que se analizaron por duplicado en HPLC a 440nm y a 250 nm.

Para la cuantificación de los ésteres de crocetina mayoritarios, *trans*-4-GG y *trans*-3-Gg se tomó la curva de calibración a 250 nm, en vez de a 440 nm. Esto se debió a que, para las muestras con mayor contenido crocinas, el detector se saturaba y no permitía registrar la señal tras un valor límite. Por ello se decidió cuantificar estos dos compuestos a 250 nm, a pesar de que su absorción fuera menos específica, ya que de esta manera la señal resultante era menor y el detector no se saturaba, permitiendo una cuantificación adecuada.

Patrones comerciales de *trans*-2-gg y los isómeros *cis*-4-GG y *cis*-3-Gg no están disponibles en el mercado, por lo que la cuantificación de estos compuestos se realizó haciendo uso de las rectas de calibrado para *trans*-4-GG y *trans*-3-GG a 440 nm con el correspondiente factor de corrección de su Mw y ϵ . (crocetinas *trans* y *cis* 89000 y 63350 L·mol⁻¹·cm⁻¹ respectivamente, obtenidos por Speranza y col., 1984).

Se realizó una validación del método intralaboratorio de acuerdo con la guía Eurachem (1998). La linealidad se comprobó estudiando el comportamiento de las rectas de calibrado realizadas a partir de los patrones de los compuestos de azafrán. La selectividad se determinó comparando los cromatogramas obtenidos de las muestras de azafrán con los de las soluciones patrón analizadas por HPLC-DAD y observando el t_r al que eluía cada compuesto.

La sensibilidad del método se determinó calculando el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ). Para ello se comparó la altura de un pico de muestra y la altura de un pico de ruido instrumental. El LOD se estableció a una relación señal-ruido superior a 3 y el LOQ se estableció para una relación señal-ruido superior a 10. Los límites de detección y cuantificación teóricos se comprobaron posteriormente empíricamente. La repetibilidad del método se calculó mediante la DSR% de la muestra 49 analizada 5 veces, para considerar la repetibilidad de un método como aceptable, su valor debe ser inferior al 20%.

3.7 Análisis y sesiones de degustación con consumidores.

Se llevaron a cabo 18 sesiones de degustación con consumidores, de aproximadamente 45 minutos de duración, en las que participaron un mínimo de 6 personas por sesión y un máximo de 14. La población objeto de estudio estaba formada por consumidores mayores de 18 años residentes en Aragón, que fueron reclutados de diferentes zonas de Zaragoza, Huesca y Teruel. Para el reclutamiento de los consumidores se realizó un muestreo aleatorio estratificado con afijación proporcional según género (masculino y femenino), edad (18-24 años, 25-34 años, 35-44 años, 45-54 años, 55-64 años y ≥ 65 años) y nivel de estudios (primarios, secundarios y superiores). El número de participantes ascendió a 202.

En las sesiones se presentaron dos muestras de azafrán bien diferenciadas una de ellas de la última cosecha, 2016-2017 (muestra 49), mientras que la otra muestra correspondía a un azafrán recolectado hace más de 15 años (muestra 50). Para todas las sesiones se prepararon 70 botes de vidrio transparente, 14 con cada tipo de muestra de aproximadamente 0,5 gramos que se etiquetaron del 1 al 5 de la siguiente forma:

- El azafrán de la cosecha del 2016-2017, en hebra, fue utilizado para llenar los frascos etiquetados con el número 1, a su vez se molíó la cantidad necesaria para llenar los frascos del número 4.
- El azafrán de más de 15 años, en hebra, fue utilizado para llenar los frascos etiquetados con el número 2.
- Los frascos con el número 3 fueron llenados con cártamo.
- Los frascos numerados con el 5 fueron llenados con colorante alimentario.

Además para cada una de las sesiones realizadas se prepararon extractos acuosos con 20 mg de azafrán, que se vertían sobre 500 mL de agua, previamente llevada a ebullición mediante un hervidor. De este modo se dejaba reposar la infusión durante 30 minutos, tiempo suficiente para realizar una extracción rápida de las muestras.

Las sesiones se realizaron en locales público/privados donde los consumidores completaron un formulario que constaba de 38 preguntas (Anexo 1), de las cuales sólo las siguientes preguntas fueron analizadas estadísticamente en este trabajo:

- 1) Preguntas 1 y 2 sobre el conocimiento para identificar azafrán y distinguirlo de productos que pueden ser utilizados en alimentación y que tienen propiedades colorantes, aromatizantes y/o saborizantes.
- 2) Preguntas 3.1, 3.2, 4.1, 4.2 y 5.1 y 5.2 sobre la valoración hedónica de las dos muestras de azafrán, primero en hebra (color y aroma), después en infusión (color y sabor) y por último tras la información global aportada (valoración global), en una escala hedónica de 9 puntos que iba desde 1 “me disgusta muchísimo” hasta 9 “me gusta muchísimo”.
- 3) Pregunta 6 sobre la intención de uso de las dos muestras de azafrán valoradas.
- 4) Preguntas 4, 7 y 8 sobre la preferencia de uso entre las dos muestras de azafrán, primero tras la presentación en hebra, después tras una información global de hebra más infusión y por último tras un aporte de información sobre la calidad de los azafranes degustados según su año de cosecha.
- 5) Preguntas 17, 18 ,19 ,20 y 22 sobre el conocimiento del cultivo de azafrán en España y percepción de su calidad en 5 items (muy mala, mala, regular, buena y muy buena).
- 6) Preguntas 30, 31, 32, 35 y 37 sobre la caracterización de la población de estudio.

3.8 Métodos estadísticos aplicados al análisis con consumidores.

El tratamiento estadístico se realizó haciendo uso del programa estadístico PSPP 0.10.2 y el módulo estadístico de Excel 8.0.2. Se analizó la distribución normal de los datos mediante un test de Kolmogorov-Smirnov, para la comparación de dos medias se realizó el test t de Student si la distribución de los datos era normal y un test de Man-Withney si no lo era, la evaluación de las diferencias estadísticamente significativas se llevó a cabo mediante un análisis de la varianza con un ANOVA en caso de distribución normal y con un test de Kruskal-Wallis en caso de no serlo y se realizó un test Chi-cuadrado de Pearson para comprobar si dos características cualitativas estaban relacionadas entre sí.

4. Resultados y discusión

4.1 Humedad y materias volátiles.

La humedad relativa para las 79 muestras analizadas no superaba el 12%, valor límite que establece la ISO 3632 para azafrán en hebra (Tabla 5). La muestra con mayor valor fue la 79 mientras que la que tuvo un menor valor fue la 54. El valor medio de humedad fue de $7,1 \pm 1,1\%$ con una DSR que no supera el 16%. Estos resultados fueron en consonancia con los publicados por Sánchez y col., (2009b), donde el valor medio de humedad para muestras de azafrán de España fue de $6,67 \pm 0,8\%$.

Tabla 5. Resultados espectrofotométricos y cuantificación, en base seca, de los principales compuestos de azafrán ± su desviación estándar para todas las muestras analizadas.

Nº	Humedad %	$E_{1cm}^{1\%}$ 257 nm	$E_{1cm}^{1\%}$ 330 nm	$E_{1cm}^{1\%}$ 440 nm	Categoría ISO 3632	Picrocrocina (área)	Safranal (g/kg azafrán)	Total crocinas (g/kg azafrán)	
Azafranes de < 1 año. Granel									
2	s.e.	6,5±0,1	77±1 ^f	29±1 ^d	204±8 ^f	I	1069±23 ^k	0,649±0,028 ^m	249,8±5,5 ^e
77	P1	7,6±0,3	96±1 ^d	31±2 ^{cd}	272±9 ^b	I	1076±39 ^k	0,864±0,053 ⁱ	194,3±10,9 ^g
78	P1	10,7±0,3	93±1 ^{de}	32±1 ^c	259±4 ^d	I	1677±25 ^d	1,718±0,075 ^h	181,8±6,6 ^{gh}
3	s.e.	8,1±0,4	110±3 ^a	28±1 ^e	288±7 ^a	I	1983±3 ^c	1,466±0,048 ^j	331,3±1,1 ^a
22	P2 ec	6,2	93±1 ^{de}	27±1 ^e	236±8 ^{de}	I	1651±8 ^f	0,921±0,026 ^k	248,5±12,5 ^{ef}
24	P2	7,4	77±1 ^f	33±1 ^c	241±4 ^d	I	686±15 ^l	0,450±0,010 ^o	245,6±19,8 ^{ef}
23	P2	6,5	94±1 ^d	25±1 ^f	231±5 ^e	I	1907±22 ^c	0,523±0,028 ⁿ	215,1±13,1 ^g
45	P3 ec	6,5±0,2	102±1 ^c	35±1 ^{bc}	264±5 ^{bc}	I	2048±26 ^b	3,563±0,020 ^d	299,7±14,4 ^c
46	P3 ec	7,4±0,4	96±1 ^d	37±1 ^{ab}	248±3 ^d	I	1757±42 ^e	3,141±0,178 ^e	253,2±3,1 ^e
47	P3 ec	6,5±0,2	96±1 ^d	36±1 ^b	248±5 ^d	I	1989±50 ^c	5,144±0,180 ^a	177,5±4,4 ^h
48	P3 ec	6,3±0,4	98±3 ^{cd}	36±2 ^{bc}	256±9 ^c	I	2204±121 ^a	3,323±0,154 ^e	223,9±16,4 ^{fg}
49	P3 ec	7,6±0,5	99±3 ^{cd}	29±1 ^d	260±10 ^c	I	2024±6 ^b	1,802±0,054 ^h	187,3±2,6 ^{gh}
52	P3	6,3±0,1	105±2 ^b	28±1 ^e	273±8 ^b	I	2217±8 ^a	2,301±0,085 ^g	220,1±4,6 ^g
73	P3	9,0±0,5	96±2 ^d	34±2 ^{bc}	272±6 ^b	I	1586±51 ^{fg}	2,320±0,065 ^g	300,9±8,2 ^c
81	P3	7,3	92±1 ^e	37±1 ^{ab}	228±4 ^e	I	1580±180 ^{fg}	3,886±0,145 ^b	175,6±2,0 ^h
70	s.e.	8,3	101±1 ^c	38±1 ^a	282±2 ^a	I	1585±14 ^h	2,761±0,049 ^f	332,4±3,8 ^a
75	P4	8,2±0,5	97±1 ^d	38±1 ^a	271±3 ^b	I	1361±26 ⁱ	3,739±0,030 ^c	271,4±13,1 ^d
65	P4	6,3±0,1	96±1 ^d	37±2 ^{ab}	268±6 ^b	I	1323±28 ^{ij}	2,727±0,047 ^f	239,8±3,6 ^f
66	s.e.	8,2±0,6	104±1 ^b	37±1 ^{ab}	268±7 ^b	I	1858±26 ^d	3,889±0,046 ^b	322,6±3,1 ^b
67	P5	7,3±0,4	92±1 ^e	33±1 ^c	255±4 ^c	I	1253±42 ^j	1,573±0,025 ⁱ	292,4±5,1 ^c
80	s.e.	7,8±0,2	104±1 ^b	30±1 ^d	286±4 ^a	I	2058±11 ^b	0,788±0,056 ^l	172,5±6,3 ^h

Continuación Tabla 5.

Azafranes de 1-2 años. Granel									
76	P1	7,9±1,1	93±1 ^{ab}	29±1 ^c	250±7 ^a	I	1584±51 ^{ab}	2,916±0,011 ^d	231,2±5,5 ^b
51	s.e.	6,3±0,1	93±1 ^{ab}	39±2 ^{ab}	234±5 ^b	I	1697±16 ^a	3,508±0,042 ^a	196,3±10,3 ^d
21	P2 ec	5,9	82±1 ^d	41±1 ^a	195±5 ^d	II	1194±90 ^e	2,880±0,052 ^d	211,7±5,3 ^{cd}
74	P3	10,1±0,2	91±1 ^b	39±1 ^{ab}	202±7 ^{cd}	I	1116±33 ^e	1,012±0,039 ^g	236,7±1,6 ^a
53	P3	7,0±0,2	87±1 ^c	37±1 ^b	209±3 ^c	I	1619±18 ^b	2,534±0,110 ^f	112,2±7,3 ^f
64	P4	6,4	95±1 ^a	38±1 ^b	256±3 ^a	I	1361±9 ^d	2,600±0,082 ^{ef}	235,0±3,0 ^{ab}
68	P5	7,7±0,2	75±1 ^e	41±1 ^a	199±3 ^d	II	734±22 ^g	3,288±0,027 ^b	234,3±8,6 ^{ab}
69	P5	8,2	80±1 ^d	41±1 ^a	197±2 ^d	II	1029±34 ^f	2,597±0,053 ^e	215,3±5,0 ^c
4	s.e.	6,6	82±1 ^d	38±1 ^b	214±3 ^c	I	1452±15 ^c	3,084±0,093 ^c	143,3±2,3 ^e
Azafranes de > 10 años. Granel									
50	s.e.	7,4	45±1 ^a	31±1 ^a	27±1 ^a	X	131±8 ^b	1,276±0,024 ^a	25,8±0,9 ^a
79	s.e.	12,0±0,3	44±1 ^a	31±1 ^a	26±0 ^a	X	239±9 ^a	0,374±0,012 ^b	11,1±0,2 ^b
Envasado. Ecológico. Marca comercial C. 1 Lote									
59	L1	7,3	100±1 ^{ab}	36±1 ^{ab}	257±4 ^a	I	1896±41 ^b	3,186±0,156 ^a	228,5±24,4 ^a
60	L1	6,5	100±3 ^a	38±1 ^a	258±5 ^a	I	1925±31 ^a ^b	3,158±0,294 ^a	218,7±13,0 ^a
61	L1	5,7	92±0 ^c	34±0 ^b	243±3 ^b	I	1980±11 ^a	3,120±0,052 ^a	194,6±5,8 ^{ab}
62	L1	6,2	97±2 ^b	34±2 ^b	263±9 ^a	I	1975±42 ^{ab}	3,226±0,257 ^a	196,0±8,0 ^{ab}
63	L1	6,5	98±2 ^{ab}	36±1 ^{ab}	264±8 ^a	I	1907±86 ^{abc}	3,226±0,123 ^a	185,5±7,6 ^b
Envasado. Marca comercial A. 6 Lotes									
*1	L2	10,1	57±2 ^e	35±1 ^c	85±3 ^{gh}	X	477±18 ^f	2,186±0,072 ^a	34,5±0,6 ^{gh}
*5	L3	8	46±1 ^h	32±1 ^{cd}	33±1 ⁱ	X	245±5	0,918±0,042 ^f	22,7±1,3 ^j
6	L4	9,2	56±2 ^{ef}	36±1 ^{bc}	65±2 ⁱ	X	553±5 ^e	1,732±0,142 ^b	35,5±3,1 ^{gh}
7	L4	7,6	55± ^{1ef}	35±1 ^c	44±1 ^k	X	347±6 ^h	0,992±0,020 ^f	28,0±2,2 ⁱ
8	L4	7,5	55± ^{1ef}	36±1 ^{bc}	46±1 ^k	X	344±18 ^h	1,052±0,093 ^f	28,9±1,7 ^{hi}
9	L4	6,5	50±1 ^g	32±0 ^c ^d	34±1 ⁱ	X	377±5 ^g	0,921±0,064 ^f	20,4±2,3 ⁱ
10	L5	4,4	52±1 ^{fg}	34±1 ^c	50±1 ^k	X	545±12 ^e	0,778±0,032 ^g	29,7±1,0 ^{hi}
11	L5	6,8	48±1 ^{gh}	29±1 ^d	50±1 ^k	X	526±16 ^e	0,871±0,025 ^{fg}	33,6±1,8 ^h
12	L6	6,7	53±1 ^f	32±1 ^{cd}	60±2 ⁱ	X	392±16	1,139±0,052 ^e	38,1±0,9
13	L6	7,4	59±2 ^{de}	35±1 ^c	91±3 ^g	X	561±44 ^{de}	1,405±0,038 ^c	55,7±1,6 ^e
14	L6	6,7	55± ^{1ef}	33±1 ^{cd}	75±3 ^h	X	618±13 ^d	1,407±0,122 ^c	41,2±3,8 ^g
15	L6	7,3	52±1 ^{fg}	32±1 ^{cd}	74±1 ^h	X	614±3 ^d	1,488±0,130 ^{bc}	38,4±0,9 ^g
16	L6	6,3	59±5 ^{de}	34±1 ^c	80±2 ^h	X	627±25 ^d	1,307±0,070 ^d	63,8±3,9 ^d
35	L6	6,4	56±0 ^e	34±0	100±2 ^e	III	684±21 ^{cd}	1,353±0,028 ^{cd}	66,7±1,7 ^d
36	L6	6,8	43±1 ⁱ	24±1 ^e	90±3 ^g	X	659±93 ^{cd}	1,364±0,085 ^{cd}	57,9±3,7 ^{de}
37	L6	7,2	57±0 ^e	35±0 ^c	103±2 ^{de}	III	499±9 ^f	1,445±0,039 ^c	92,1±8,2 ^{a^b}
38	L6	6,8	56±1 ^e	35±1 ^c	79±2 ^h	X	635±41 ^{cd}	1,261±0,090 ^d	55,8±3,5 ^e

Continuación Tabla 5.

39	L6	6,4	82±1 ^a	51±1 ^a	96±1 ^f	X	816±50 ^b	1,605±0,134 ^b	65,0±3,1 ^d
40	L6	6,7	69±2 ^b	37±1 ^b	142±4 ^a	III	903±26 ^a	1,293±0,097 ^d	103,2±7,1 ^a
41	L6	7,1	60±0 ^d	35±0 ^c	105±1 ^d	III	779±7 ^c	1,697±0,105 ^b	77,3±5,6 ^c
42	L6	7,5	64±1 ^c	37±1 ^b	119±3 ^c	III	790±5 ^c	1,558±0,124 ^{ab}	79,8±4,3 ^c
43	L6	6,4	58±1 ^e	35±1 ^c	91±1 ^g	X	699±59 ^{cd}	1,332±0,033 ^{cd}	54,5±3,2 ^e
44	L6	7,2	65±1 ^c	36±1 ^{bc}	130±2 ^b	III	830±67 ^{ab}	0,931±0,082 ^f	88,9±3,2 ^b
17	L7	7,3	53±1 ^f	37±1 ^b	60±1 ⁱ	X	322±56 ^h	1,136±0,080 ^e	47,9±3,4 ^f
18	L7	6,7	51±1 ^{fg}	36±1 ^{bc}	55±1 ^j	X	440±67 ^{fg}	1,371±0,312 ^{cd}	22,9±1,0 ^j
19	L7	6,2	55±1 ^{ef}	38±1 ^b	60±1 ⁱ	X	491±6 ^f	1,154±0,074 ^e	34,9±0,9 ^{gh}
Envasado. Marca comercial B. 6 Lotes									
25	L8	6,1	84±1 ^{de}	48±1 ^{ab}	177±3 ^e	II	1321±6 ^f	1,961±0,140 ^b	139,4±10,3 ^{ef}
27	L8	5,9	82±1 ^e	44±1 ^b	196±5 ^{cd}	II	1445±3 ^d	1,191±0,075 ^g	126,7±6,0 ^{fg}
29	L8	7,4	86±1 ^d	49±1 ^a	177±1 ^e	II	1381±6 ^e	2,184±0,041 ^a	118,7±5,2 ^g
33	L8	7,2	81±1 ^{ef}	46±1 ^b	175±3 ^e	II	1377±104 ^{def}	1,946±0,151 ^{bc}	130,2±8,8 ^f
26	L9	7,1	101±2 ^b	36±2 ^d	274±7 ^a	I	1960±41 ^a	1,994±0,094 ^b	173,9±7,3 ^d
30	L9	7	91±1 ^c	35±1 ^d	230±4 ^b	I	1731±94 ^b	1,226±0,199 ^{ef}	242,0±2,1 ^a
32	L9	6,8	106±2 ^a	35±2 ^d	266±7 ^a	I	2047±60 ^a	1,229±0,093 ^f	211,4±4,1 ^c
28	L10	6,5	79±4 ^{ef}	40±2	179±5 ^e	II	1317±60 ^{de}	1,355±0,113 ^{ef}	125,8±4,8 ^{fg}
31	L10	6,3	85±1 ^d	44±1 ^b	202±2 ^c	I	1541±21 ^c	1,290±0,094 ^f	230,1±4,4 ^b
34	L10	7	85±0 ^d	43±0 ^c	200±1 ^c	I	1572±12 ^c	1,466±0,140 ^e	144,2±4,2 ^e
*54	L11	4,1	77±2 ^f	33±2 ^{ed}	192±3 ^d	II	1596±49 ^c	1,279±0,163 ^f	130,1±6,3 ^f
*56	L11	6,7	89±1 ^c	32±1 ^e	230±5 ^b	I	1476±135 ^{bc}	1,477±0,091 ^e	162,9±11,3 ^d
*57	L12	6,6	81±1 ^e	49±1 ^a	146±4 ^f	III	1335±69 ^{de}	1,315±0,112 ^f	84,5±6,9 ^h
*55	L13	6,9	70±0 ^g	43±0 ^c	96±2 ^g	X	1123±74 ^g	1,745±0,037 ^d	54,7±1,3 ⁱ
*58	L13	6,9	70±1 ^g	43±1 ^{bc}	96±2 ^g	X	1175±42 ^g	1,834±0,094 ^c	59,4±3,8 ⁱ
Azafrán D.O.P La Mancha									
20	L16	7,2	82±1	33±1	216±5	I	1352±8	1,991±0,042	199,3±10,4

P_x: productor nº x; ec: ecológico; L_x: lote nº x; *muestras con el mismo envase dentro de la misma marca comercial; s.e: sin especificar. Letras distintas significan resultados significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) entre columnas y grupos distintos.

4.2 Determinación del poder colorante, saborizante y aromatizante por espectrofotometría UV-vis.

La repetibilidad del proceso tuvo una DSR% de 2,90%, 5,09% y 3,80% para $E_{1cm}^{1\%}$ 257, 330 y 440 nm respectivamente. El L_r fue de 8, 4 y 27 unidades de absorbancia para $E_{1cm}^{1\%}$ 257, 330 y 440 nm respectivamente, que permitió decidir al analista si la diferencia entre los replicados de una muestra era o no significativa.

La reproducibilidad del proceso tuvo una DSR% de 4,4%, 7,2% y 3,6%. El L_R fue de 12, 7 y 25 unidades de absorbancia para $E_{1cm}^{1\%}$ 257, 330 y 440 nm.

Los valores de precisión de nuestro método se encuentran dentro de los observados en otros artículos donde obtuvieron valores de $E_{1cm}^{1\%}$ 330 nm de 2,8% y 8,5% para repetibilidad y reproducibilidad (Alonso y col., 1996).

La correlación entre los valores de absorbancia obtenidos a 257, 330 y 440 nm, de las 7 muestras de azafrán analizadas por ambos laboratorios se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Factor de Correlación (R) y error cuadrático medio (ECM) entre los valores de E257, E330 y E440 nm obtenidos por los dos laboratorios de análisis.

	Factor de correlación (R)	ECM
$E_{1cm}^{1\%}$ 257 nm	0,982	3
$E_{1cm}^{1\%}$ 330 nm	0,987	2
$E_{1cm}^{1\%}$ 440 nm	0,981	7

Los valores obtenidos mostraron una buena correlación entre los resultados, ya que su valor es muy próximo a 1, y el error cuadrático medio (ECM) fue de 3, 2 y 7 para 257, 330 y 440 nm respectivamente.

El espectro UV-vis que se obtiene de un extracto acuoso de un azafrán de gran calidad es el que se muestra en la Figura 8.

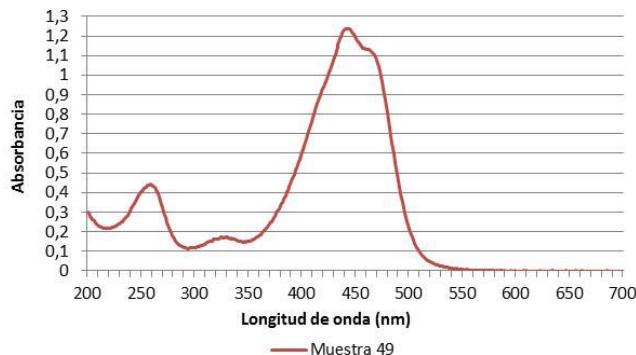


Figura 8. Espectro UV-vis del extracto acuoso de la muestra nº49.

De los 79 azafranes analizados, 39 cumplían las especificaciones de espectrofotometría que dicta la ISO 3632 para la categoría I, un total de 9 para la categoría II, 7 para la categoría III y los 24 restantes estaban por debajo de las especificaciones recogidas por la normativa. Analizando los resultados espectrofotométricos ($E_{1cm}^{1\%}$ 257, 330 y 440 nm) de la Tabla 5 podemos decir lo siguiente:

Todos los azafranes de menos de 1 año tuvieron un poder colorante de categoría I, donde las muestras 3, 70 y 80 fueron las que obtuvieron los valores más altos de entre las 79 analizadas (288 ± 7 , 282 ± 2 y 286 ± 4 respectivamente), además la muestra 3 fue a su vez la que tenía un mayor valor de $E_{1cm}^{1\%}$ 257 nm (110 ± 3).

Todas las muestras de 1-2 años obtuvieron un poder colorante y saborizante inferior respecto a las de < 1 año comparando ambas cosechas para mismos productores, mientras que el poder aromático aumentaba para el productor 3, 2 y 5 (P3, P2ec, P5) y disminuía para P1 y P4, además sus valores de absorbancia estaban en el rango de la muestra D.O.P que también era de 1-2 años. A pesar de perder unidad de color, 7 de las 9 muestras obtuvieron un valor de categoría I.

Los azafranes de más de 10 años obtuvieron los valores más bajos de poder colorante y saborizante de todas las muestras y no cumplieron las especificaciones técnicas para ninguna categoría. Sin embargo, el poder aromatizante se encontró dentro de los rangos del resto de muestras. Estos resultados se producen debido a la cinética de degradación que sufren los ésteres de crocetina y la picrocrocina que fue estudiada por Sánchez y col., (2008) y (2010). Estos autores aceleraron las condiciones para la degradación de los extractos acuosos de azafrán y se comprobó que esto provocaba un descenso pronunciado del máximo de absorbancia a 440 nm, pequeños descensos en la absorbancia a 250 nm y un ligero aumento de la absorción a 330 nm. Concluyeron que los cambios producidos en la absorción a 330 nm eran atribuibles tanto al aumento del contenido de isómeros *cis*, como a la aparición de algunos productos de degradación con absorbancia en esta parte del espectro.

Dentro de los azafranes envasados, las muestras de la marca comercial de azafrán ecológico (C) obtuvieron resultados espectrofotométricos de gran calidad, cuyo poder colorante fue de categoría I (en rangos semejantes a los azafranes de < 1 año), si bien es cierto que sólo se dispuso de 5 muestras de un mismo lote. Sin embargo, para las marcas comerciales A y B no ocurrió lo mismo, 6 de las 26 muestras de la marca A tuvieron un poder colorante de categoría III y las 20 restantes fueron no admitidas. Mientras que para la marca B, 6 muestras tuvieron un poder colorante dentro de categoría I, 6 de categoría II, 1 de categoría III y 2 no admitidas, que pertenecían al mismo lote (L13).

Los resultados obtenidos para las marcas comerciales A y B quedaron lejos de los conseguidos para las muestras a granel, a pesar de que la marca comercial B tuvo mejores resultados que la A. No se observó que el tipo de envasado fuera determinante de la calidad del azafrán en su interior, si bien es cierto que de los tres envasados disponibles el más acertado para conservar la calidad del azafrán especia es el de caja metálica, protegiéndolo de la exposición solar.

4.3 Determinación del contenido en ésteres de crocetina, picrocrocina y safranal.

Los valores de los límites de detección y cuantificación calculados se muestran en la Tabla 7. La DSR% varió desde 2,8% (picrocrocina) a 7,5% (*trans*-2-gg). Por lo tanto, el método propuesto mostró tuvo un valor inferior al 20% establecido como repetible.

Tabla 7. LOD, LOQ y repetibilidad (%RSD) para cada uno de los compuestos de azafrán identificados.

λ de medida	LOD (g/kg azafrán)	LOQ (g/kg azafrán)	DSR%	
Trans-4-GG	250 nm	0,02	0,06	4,2%
Trans-3-Gg	250 nm	0,08	0,26	1,1%
Trans-2-gg	440 nm	0,02	0,06	7,5%
Cis-4-GG	440 nm	0,03	0,10	2,3%
Cis-3-Gg	440 nm	0,02	0,06	3,4%
Safranal	330 nm	0,031	0,104	3,0%
Picrocrocina	257 nm	12*	40*	2,8%

*Valores de área de pico

Los valores para el LOD y LOQ para el safranal fueron inferiores a los reportados por García-Rodríguez y col., (2014) (0,105 y 0,28 g/kg azafrán), mientras que los valores de LOD y LOQ para *trans*-4-GG y *trans*-3-Gg, también fueron inferiores a los publicados por este mismo autor (LOD y LOQ de 0,33 y 0,96 g/kg azafrán para *trans*-4-GG y 0,38 y 1,02 g/kg azafrán para *trans*-3-Gg). La linealidad también mostró que era adecuada, ya que los coeficientes de determinación eran próximos a 1 (Tabla 8).

Tabla 8. Características analíticas de las rectas de calibrado de los patrones

	Rango de concentración lineal (mg/L)	Pendiente	Coeficiente de determinación (R^2)
Trans-4-GG (250 nm)	75,53-1,72	13,52	0,997
Trans-3-Gg (250 nm)	45-0,8	13,94	0,991
Trans-4-GG (440 nm)	53,95-0,86	74,15	0,998
Trans-3-Gg (440 nm)	18-0,8	171,71	0,968
Safranal (330nm)	0,030-4	80,39	0,971

Los tiempos de retención de los distintos compuestos de azafrán fueron los que se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Tiempos de retención y máximos cromatográficos de los compuestos identificados.

Compuesto	Resultados	
	Tiempo de retención (min)	UV-vis (λ_{max} nm)
Trans-4-GG	12,15	262,438,462
Trans-3-Gg	12,69	262,438,462
Trans-2-gg	13,36	262,438,462
Cis-4-GG	13,84	259,326,441,461
Cis-3-Gg	14,49	264,326,441,461
Picrocrocina	8,26	250
Safranal	20,64	313

En la Figura 9 se muestra el chromatograma resultado de la medición, por HPLC-DAD, del extracto acuoso de la muestra 3 a las tres longitudes de onda (440, 330 y 250 nm).

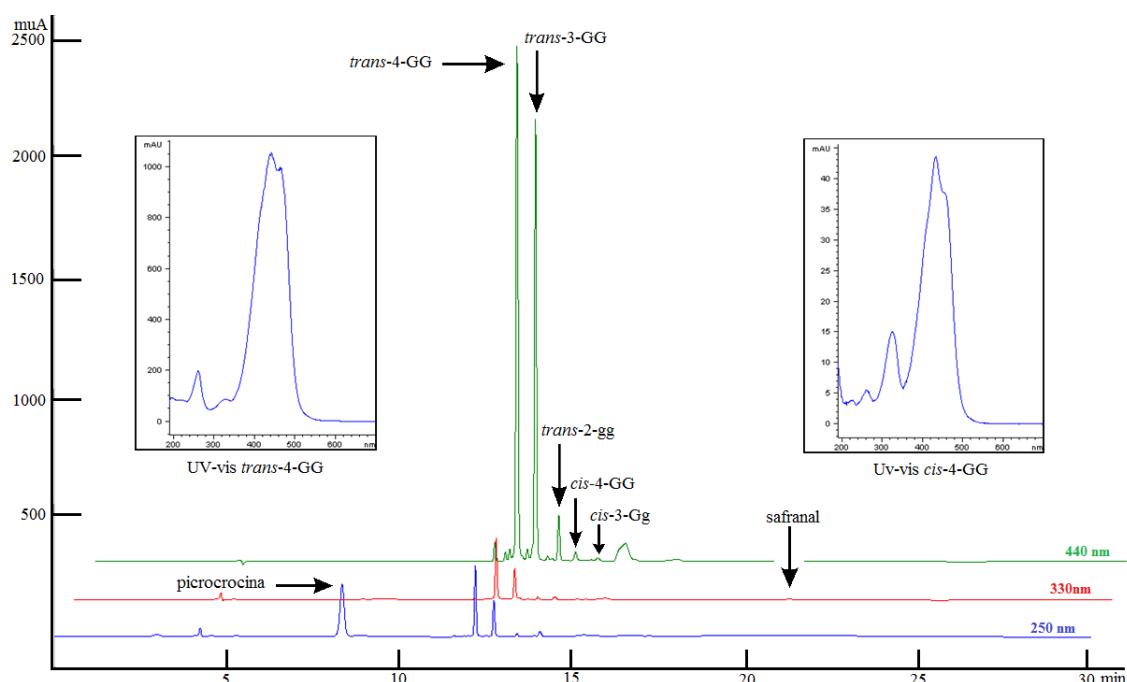


Figura 9. Cromatograma de la muestra 3, para las 3 longitudes de onda de detección (250,330 y 440nm)y espectro UV-vis de los ésteres de crocetina trans y cis mayoritarios.

4.3.1 Identificación y cuantificación de picrocrocina.

El primer compuesto en eluir es la picrocrocina, a un t_r de 8,26 minutos y es identificada y cuantificada a una longitud de onda de 250 nm.

Los valores de área de pico de la señal de picrocrocina calculados para todos los azafranes se muestran en la Tabla 5. La muestra 48 y 52, pertenecientes a azafranes de < 1 año, fueron las que obtuvieron un mayor valor, estos resultados no estuvieron de acuerdo con los obtenidos para el poder saborizante, mientras que la muestra 5 y 79, pertenecientes a azafranes de la marca comercial A y de > 15 años respectivamente, fueron las que obtuvieron los valores más pequeños, en este caso los resultados sí que coincidieron con los de poder saborizante. Los valores de área de pico de la señal de picrocrocina, para las 79 muestras analizadas, se compararon con los obtenidos por espectrofotometría UV-vis a 257 nm (Figura 10).

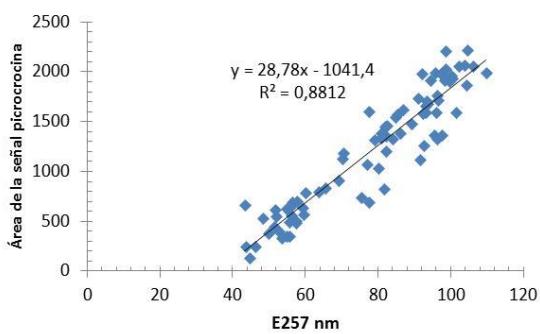


Figura 10. Correlación entre el área de la señal de pirocrorocina y el poder saborizante.

Los resultados mostraron una correlación significativa con una $R = 0,938$, a pesar de que 257 nm es una longitud de onda donde surgen problemas de selectividad con muchos otros compuestos, algunos estudios como el de Del campo y col (2009) y Corradi y col., (2001) encontraron una sobreestimación en el contenido de picrocrocina a 257 nm que puede ser justificada por la interferencia, principalmente, de los ésteres de crocetina *trans*.

4.3.2 Identificación y cuantificación de safranal.

El último compuesto en eluir de la columna cromatográfica es el safranal, a un t_r de 20,65 minutos y es identificado y cuantificado a una longitud de onda de 330 nm. La curva de calibración obtenida a partir del patrón exhibió una buena relación lineal entre 0,030 y 4 mg/L, con un valor de $R^2 = 0,971$, para un total de 8 puntos (Tabla 8).

La cantidad de safranal, en base seca, calculada para cada una de las muestras están recogidas en la Tabla 5, los valores obtenidos fueron semejantes a los valores obtenidos por García-Rodríguez y col., (2017) (1,0- 5,2 g/kg de azafrán). La muestra 47 fue la que resultó tener un mayor contenido en safranal (< 1 año), mientras que la 79 la que tuvo un menor contenido (> 15 años).

El contenido de safranal, para cada una de las 79 muestras analizadas fue comparado con su valor $E_{1cm}^{1\%}$ 330 nm obtenido por espectrofotometría UV-vis (Figura 11). No se encontró una correlación significativa ($R = 0,23$), ya que su valor se encontraba muy alejado de 1. Esto es debido a que existen otras sustancias presentes en el azafrán que absorben a 330 nm, como los isómeros de ésteres de *cis*-croacetina.

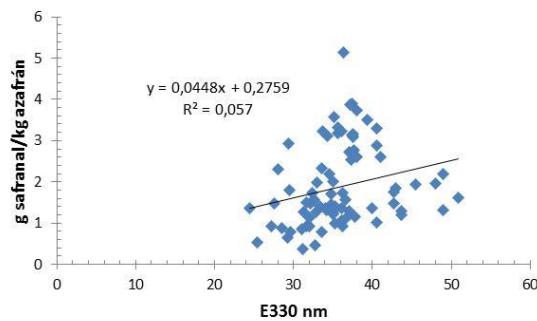


Figura 11. Correlación entre la cantidad de safranal (g/kg de azafrán) y poder aromatizante.

Los resultados obtenidos son similares a los publicados por García-Rodríguez y col., (2017), en los que no se encontró tampoco una correlación significativa entre % safranal por HPLC y E330 nm, con una $R^2 = 0,064$, además encontraron una sobreestimación de safranal medido por UV-vis, que se relacionó con el contenido de ésteres de croacetina (isómero *cis*) y otros compuestos presentes en el azafrán. También Maggi y col., (2011) observaron unos resultados similares cuando compararon el contenido de safranal (g/ kg azafrán), obtenido por cromatografía gas (GC), y la absorbancia a 330 nm.

De estos valores se concluye que el poder aromatizante, medido por espectrofotometría UV-vis no da una aproximación acertada del contenido de safranal de la muestra de azafrán analizado.

Comparando el contenido en safranal, entre cosechas de < 1 año y 1-2 años para los mismos productores, se observaron dos comportamientos distintos, para el productor 1, 3 y 5 se produjo un aumento significativo en las cosechas de 2015-2016, mientras que para los productores 2 y 4 no se observó esta tendencia. Maggi y col., (2010) estudiaron el cambio y evolución en el aroma del azafrán y observaron que se producía un aumento de la cantidad de safranal en su almacenamiento durante los dos primeros años y a partir de este punto disminuía progresivamente.

4.3.3 Identificación y cuantificación de ésteres de crocetina.

El orden de elución de los diferentes ésteres de crocetina identificados en este trabajo, según su t_r es el siguiente: *trans*-4-GG < *trans*-3-Gg < *trans*-2-gg < *cis*-4-GG y *cis*-3-Gg (Tabla 9).

Se observó en los cromatogramas que a un tiempo de retención mayor que el de *cis*-3-Gg ($t = 15,3$ min), aparecía una señal cuyo espectro UV-vis se correspondía con el de los ésteres de crocetina, pero no fue posible su identificación debido a que parecía ser la suma de varios de ellos. Es posible que esta suma de picos se debiera a que aparecen juntos ésteres de crocetina como las *trans*-2-Gg y *cis*-2-gg, por eso sólo se cuantificaron en el cómputo global de crocinas y se identificaron como “otros ésteres de crocetina”.

Las curvas de calibración para los ésteres de crocetina *trans*-4-GG y *trans*-3-Gg exhibieron una buena regresión lineal para 250 y 440 nm, con unos valores de $R^2 > 0,99$ a excepción de *trans*-3-Gg para 250 nm, que fue de ligeramente inferior (Tabla 8). Los límites de detección y cuantificación para cada uno de los compuestos de crocetina identificados en este trabajo se muestran en la Tabla 7.

La cantidad total de crocinas, para las 79 muestras analizadas, se puede observar en la Tabla 5. Las dos muestras que tuvieron mayor cantidad de crocinas totales fueron la 3 y la 70 (azafranes < 1 año), las mismas que obtuvieron el de poder colorante más elevado por UV-vis, junto a la muestra 80. La muestra 79 (azafrán de > 10 años) fue la que resultó tener una menor cantidad de crocinas totales, este resultado también estuvo de acuerdo a los resultados de poder colorante.

La cantidad total de crocinas fue comparada con el poder colorante determinado por espectrofotometría UV-vis (Figura 10).

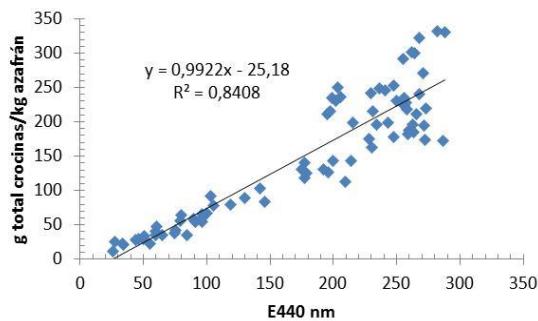


Figura 10. Correlación entre g total de crocinas/kg azafrán y E440 nm.

Se encontró una correlación significativa entre los resultados obtenidos para ambos métodos, con un valor de $R = 0,916$. Aunque el poder colorante, relacionado con el contenido total de ésteres de crocetina es determinado correctamente por la ISO 3632, esta norma no permite la identificación individualizada de los diferentes ésteres de crocetina, ni su relación *trans/cis*, dato importante para la industria farmacéutica, ya que se le atribuyen mayores propiedades biomédicas a los isómeros *trans* (Hosseinzadeh y col., 2008a; Ghadrdoost y col., 2011).

La Tabla 10 muestra las cantidades obtenidas, en base seca, y el porcentaje relativo que representa de cada uno de los ésteres de crocetina para las 79 muestras analizadas y la abundancia relativa de los ésteres de crocetina *trans* respecto del total.

Tabla 10. Resultados cromatográficos de las crocinas identificadas ± su desviación estándar y abundancia relativa de crocinas trans (%) para todas las muestras analizadas.

Nº	Trans-4-GG	%	Trans-3-GG	%	Trans-2-gg	%	Cis-4-GG	%	Cis-3-Gg	%	Otras	%	% trans
Azafranes < 1 año. Granel													
2	88,1±3,4 ^f	35	63,5±0,8 ^d	25	36,6±1,0 ^a	15	23,2±0,3 ^c	9	6,7±0,2 ^a	2	31,6±1,5 ^e	12	86
77	97,9±12 ^{ef}	50	58,7±2,3 ^d	30	19,1±4,6	10	8,7±0,6 ^g	4	2,5±0,3 ^g	1	7,4±0,6 ^{hi}	4	94
78	88,2±8,7 ^f	48	57,6±1,1 ^{de}	31	23,0±,9 ^{bc}	13	5,2±0,2 ^h	2	1,4±0,1 ^e	1	6,8±0,8 ⁱ	4	96
3	165,2±3,1 ^a	50	89,3±0,6 ^a	27	25,2±0,9 ^b	8	7,0±0,8 ^{gh}	2	1,0±0,1 ^h	0	43,6±1,1 ^c	13	97
22	131,0±5,6 ^d	53	61,2±1,1 ^d	25	15,8±1,7 ^e	6	13,6±0,5 ^e	6	2,5±0,2 ^g	1	24,4±7,6 ^f	10	93
24	119,1±7,9 ^e	49	69,2±3,6 ^c	28	17,8±0,9 ^d	7	17,5±1,7 ^d	7	3,9±0,4 ^e	2	18,0±7,5 ^g	7	91
23	114,1±9,6	53	56,6±7,6 ^{de}	26	19,4±4,2 ^{cd}	9	11,9±0,3 ^f	6	2,4±0,2 ^g	1	10,8±0,4 ^h	5	93
45	138,4±4,2 ^{cd}	46	66,4±3,0 ^c	22	21,1±0,7 ^c	7	32,3±1,4 ^{ab}	11	6,1±0,4 ^b	2	35,3±6,4 ^d	12	86
46	114,8±1,6 ^e	45	56,1±0,3 ^e	22	18,9±0,8 ^{cd}	8	34,9±0,4 ^a	14	7,1±0,4 ^a	3	21,5±1,3 ^g	9	82
47	94,1±2,7 ^f	53	38,3±0,9	22	9,4±0,4 ^g	5	26,7±0,4 ^b	15	5,7±0,2 ^{cd}	3	3,4±0,5 ^k	2	81
48	117,0±7,8 ^e	52	52,6±3,0 ^{ef}	24	13,5±1,6 ^{ef}	6	25,8±2,3 ^{bc}	12	5,7±0,4	3	9,3±3,1 ^h	4	85
49	88,3±3,7	47	54,8±2,7 ^e	29	23,6±1,8 ^{bc}	13	13,5±0,3 ^e	7	4,0±0,1 ^e	2	3,1±0,4 ⁱ	2	91
52	115,3±3,7 ^e	52	58,8±0,4 ^{de}	27	21,7±0,7 ^c	10	12,7±1,0 ^e	6	2,7±0,1 ^{ef}	1	8,8±0,7 ^h	4	93
73	137,5±3,6 ^d	46	67,4±1,7 ^c	22	18,0±0,9 ^d	6	26,9±0,9 ^{bc}	9	5,3±0,2 ^d	2	45,9±1,9 ^{bc}	15	87
81	92,7±4,7 ^f	53	50,2±1,8 ^f	29	12,7±0,8 ^f	7	11,8±0,6 ^{ef}	7	2,6±0,2 ^{ef}	2	5,5±0,3 ^j	3	92
70	152,5±1,0 ^b	46	79,8±0,8 ^b	24	17,6±0,8 ^d	5	27,3±1,0 ^{bc}	8	5,2 ±0,3 ^d	2	49,8±1,5 ^b	15	89
75	142,5±4,7 ^c	53	61,3±2,7 ^d	23	9,6±0,1 ^g	4	30,2±0,9 ^b	11	5,7±0,1 ^c	2	22,0±4,7 ^{fg}	8	86
65	123,3±0,9	52	63,0±0,4 ^d	26	14,2±0,6 ^e	6	13,5±0,3 ^e	6	2,7±0,1 ^{fg}	1	23,2±1,9 ^f	10	93
66	142,5±2,8 ^c	44	69,1±1,6 ^c	21	16,0±0,7 ^d	5	28,9±1,5 ^b	9	5,5±0,2 ^{cd}	2	60,6±1,0 ^a	19	87
67	142,8±0,8 ^c	49	56,5±0,4 ^e	19	13,7±0,8 ^{ef}	5	17,2±0,5 ^d	6	3,2±0,1 ^f	1	58,9±5,0 ^a	20	91
80	75,9±2,1 ^g	44	55,9±1,8 ^e	3	3,1±3,8 ^h	18	3,0±0,1 ⁱ	1	1,2±0,1 ^{gh}	1	5,3±0,5 ^j	3	98

Continuación Tabla 10.

Azafranes 1-2 años. Granel													
76	86,2±4,1	37	70,4±1,1^a	30	47,2±0,6^a	20	10,2±0,3^d	4	3,1±0,1^b	1	14,1±0,9^f	6	94
51	95,3±5,5	49	42,7±2,2^d	22	12,4±0,5^c	6	30,0±1,5^a	15	6,3±0,1^a	3	9,7±1,1^g	5	81
21	104,1±1,4	49	49,4±0,5^c	23	9,6±0,6^d	5	15,8±0,8^{bc}	7	2,6±0,1^c	1	30,2±4,2^d	14	90
74	95,3±0,9	40	56,1±2,4^b	24	21,9±0,7^b	9	12,7±1,4^{cd}	5	2,5±0,1^c	1	48,1±2,5^b	20	92
53	60,0±5,5	54	31,2±1,9^f	28	9,9±0,3^d	9	8,6±0,4^e	8	2,0±0,1^d	2	0,5±0,6ⁱ	1	91
64	121,4±2,2	52	63,0±1,1^b	27	13,2±0,1^c	6	13,9±0,3^c	6	2,9±0,1^{bc}	1	20,7±1,2^e	9	92
68	100,6±3,8	43	45,6±0,8^{cd}	20	10,3±0,3	4	17,8±1,6^b	8	3,0±0,1^b	1	56,9±2,6^a	24	88
69	87,6±3,8	41	48,3±1,4^c	22	19,5±1,1^b	9	16,8±0,7^b	8	3,4±0,2^b	2	39,6±1,3^c	18	89
4	82,4±1,6	58	37,4±0,2^e	26	6,4±0,3^e	5	11,5±0,3^d	8	2,4±0,2^c	2	3,3±0,8^h	2	9
Azafranes > 10 años. Granel													
50	11,1±0,1	43	5,9±0,1^a	23	1,3±0,1^a	5	2,1±0,1^a	8	0,3±0,0^a	1	5,1±0,5^a	20	89
79	5,6±0,2	51	2,6±0,1^b	24	0,7±0,0^b	7	1,4±0,1^b	13	0,2±0,0^a	2	0,4±0,2^b	38	84
Envasado. Ecológico. Marca comercial C. 1 Lote													
59	126,7±12^a	56	60,9±6,9^a	27	15,2±1,1^a	7	13,6±1,1^a	6	3,0±0,2^a	1	9,1±5,3^a	4	93
60	121,7±7,4^{ab}	56	57,5±3,2^{ab}	26	15,1±1,3^a	7	13,5±0,9^a	6	3,1±0,2^a	1	7,9±2,8^{ab}	4	92
61	110,9±5,1^{bc}	56	55,6±1,1^{as}	28	12,7±0,8^b	6	11,9±0,4^a	6	3,0±0,3^a	2	4,9±0,5^b	3	92
62	115,2±6,0^b	59	51,6±1,1^b	26	11,0±1,0^b	6	10,8±0,4^b	6	2,4±0,2^a	1	5,7±1,0^b	3	93
63	108,5±6,5^c	59	47,7±1,7^c	26	11,5±1,7^b	6	10,6±0,4^b	6	2,4±0,2^a	1	4,6±0,4^b	3	93
Envasado. Marca comercial A. 6 lotes													
*1	12,9±0,3^g	38	5,7±0,2^g	16	4,4±0,7^{bc}	13	7,7±0,4^b	22	1,6±0,2^b	5	2,2±0,3^c^d	6	71
*5	11,9±0,5^{gh}	53	5,8±0,3^g	26	1,4±0,2^d	6	2,2±0,2^e	10	0,4±0,0^e	2	1,0±0,1^e	4	88
6	18,9±1,7^e	53	8,7±0,8^f	25	1,6±0,1^d	5	4,3±0,4^{cd}	12	0,8±0,0^d	2	1,1±0,3^d^e	3	85
7	13,3±1,3^g	48	7,6±0,6^{fg}	27	1,8±0,1^d	6	3,5±0,1^d	12	0,6±0,0^{de}	2	1,2±0,2^e	4	85
8	14,3±1,2^{fg}	49	7,7±0,5^f	27	1,6±0,2^d	6	3,5±0,1^d	12	0,7±0,0^d	2	1,2±0,3^{de}	4	85
9	10,9±1,8^h	53	4,7±1,0^h	23	1,1±0,1^{de}	5	2,4±0,1^{de}	12	0,5±0,0^e	2	0,8±0,2^e	4	85
10	14,5±0,6^f	49	8,0±0,1^f	27	1,6±0,0^d	5	4,0±0,0^d	13	0,8±0,0^d	3	0,8±0,6^e	3	84
11	15,9±1,2^{ef}	47	9,0±0,4^{ef}	27	2,2±0,1^{cd}	7	4,6±0,1^{cd}	14	0,9±0,0^d	3	1,1±0,2^e	3	83
12	19,2±0,9^e	48	11,3±0,2^e	29	2,6±0,2^{cd}	7	4,5±0,2^{cd}	11	0,9±0,0^d	2	1,2±0,1¹	3	86
13	27,5±1,7^d	49	14,4±0,3^d	26	4,4±0,4^{bc}	8	6,5±0,5^{bc}	12	1,5±0,1^b	3	1,4±0,2²	3	85
14	23,8±2,7^{de}	58	8,6±0,6	21	2,0±0,4^d	5	3,5±0,4	8	0,8±0,2^d	2	2,4±0,5^{cd}	6	89
15	22,4±1,5^e	58	8,4±0,4	22	1,6±0,5^d	4	3,5±0,7	9	0,8±0,2^d	2	1,6±0,2²	4	88
16	31,4±1,7^{cd}	49	13,1±5,1^d	20	6,6±0,7^b	10	6,9±0,4^b	11	1,4±0,2^{bc}	2	4,6±1,3^b	7	86
35	34,3±1,4^c	52	14,6±0,3^d	22	6,8±0,9^b	10	6,5±0,2^{bc}	10	1,5±0,0^{bc}	2	2,8±0,4^c	4	87
36	29,7±2,0^d	51	14,1±1,0^d	24	3,7±0,9^c	6	5,7±0,3^c	10	1,3±0,2^c	2	3,3±0,3^{bc}	6	87
37	44,7±3,0^b	49	23,2±1,0^b	25	7,0±0,5^b	8	9,4±1,4^a	10	1,8±0,1^b	2	5,9±2,3^a	6	87
38	28,1±3,3^d	51	13,5±0,8^{de}	24	3,9±0,5^c	7	6,0±0,3^c	11	1,4±0,0^{bc}	3	2,7±0,3^c	4,9	86

Continuación Tabla 10.

39	34,5±1,8 ^c	53	15,7±1,5 ^{cd}	24	3,9±0,3 ^c	6	7,0±0,6 ^b	10	1,4±0,1 ^{bc}	2	2,6±0,4 ^c	4	87
40	50,1±6,1 ^a	49	26,3±1,3 ^a	25	11,3±0,8 ^a	11	9,4±0,7 ^a	9	2,5±0,1 ^a	3	3,8±0,4 ^{bc}	3,6	88
41	41,8±2,9 ^b	54	18,2±1,5 ^c	23	6,1±3,1 ^b	8	7,4±0,8 ^b	10	1,7±0,2 ^b	2	2,7±0,9 ^c	3,5	88
42	42,0±3,8 ^b	53	18,8±0,8 ^c	24	7,2±0,7 ^b	9	7,5±0,3 ^b	9	1,7±0,2 ^b	2	2,7±0,2 ^c	3,4	88
43	27,3±2,1 ^d	50	13,4±0,6 ^d	25	4,2±0,3 ^{bc}	8	5,4±0,2 ^c	10	1,2±0,1 ^c	2	3,1±0,4 ^c	5,6	87
44	39,3±2,6 ^b	44	23,5±1,3 ^b	26	11,4±1,5 ^a	13	8,7±0,5 ^{ab}	10	2,5±0,1 ^a	3	3,7±0,3 ^{bc}	4,1	87
17	26,3±1,6 ^d	55	13,8±0,8 ^d	29	1,7±0,1 ^c ^d	4	3,9±0,5 ^d	8	0,6±0,0 ^{de}	1	1,6±0,6 ^d	3,3	90
18	14,3±0,4 ^f	62	5,7±1,0 ^{gh}	25	0,9±0,1 ^e	4	0,8±0,1 ^f	3	0,4±0,0 ^e	2	0,9±0,2 ^e	3,9	95
19	19,8±1,4 ^e	57	6,9±0,4 ^g	80	2,2±0,0 ^{cd}	6	3,5±0,1 ^d	10	0,7±0,0 ^d	2	2,0±0,4 ^d	5,6	88
Envasado. Marca comercial B. 6 lotes													
25	73,2±6,2 ^{cd}	52	32,2±2,5 ^{de}	23	6,8±0,2 ^{de}	5	19,2±2,2 ^a	14	3,8±0,1 ^{ab}	3	4,6±1,3 ^b	3	83
27	56,6±5,7 ^e	45	34,5±1,2 ^d	27	14,2±2,4 ^c	11	13,4±0,8 ^b	11	4,2±0,1 ^a	3	4,1±0,3 ^{bc}	3	85
29	65,2±3,6 ^{de}	55	26,4±0,8 ^e	22	6,0±0,9 ^e	5	14,4±0,4 ^b	12	3,4±0,2 ^b	3	3,4±0,8 ^c	3	83
33	68,2±7,5 ^d	52	27,6±1,0 ^e	21	8,1±0,7 ^d	6	15,7±0,4 ^b	12	3,5±0,3 ^b	3	7,0±0,6 ^a	5	84
26	101,1±8,5 ^b	58	50,1±1,1 ^c	29	9,0±1,5 ^d	5	7,0±0,4 ^c	4	1,9±0,3 ^c	1	4,8±0,5 ^b	3	95
30	141,0±4,4 ^a	58	60,7±2,4 ^a	25	21,8±1 ^b	9	10,2±1,2 ^c	4	3,4±0,5 ^b	1	4,9±1,4 ^b	2	94
32	114,3±1,4 ^b	54	55,9±0,2 ^b	27	26,2±4,0 ^a	12	8,1±0,4 ^{cd}	4	2,3±0,3 ^c	1	4,6±0,8 ^b	2	95
28	70,3±3,6	56	27,1±1,9 ^e	22	4,7±0,4 ^f	4	17,0±0,5 ^{ab}	14	3,6±0,3 ^{ab}	3	3,2±1,4 ^c	3	83
31	131,6±5,6 ^a	57	61,4±1,2 ^a	27	8,7±2,2 ^d	4	20,1±1,1 ^a	9	4,3±0,5 ^a	2	4,0±0,6 ^{bc}	2	89
34	78,4±2,9 ^c	55	29,3±1,1 ^e	21	6,9±0,5 ^{de}	5	19,8±0,4 ^a	14	4,2±0,3 ^a	3	4,4±0,5 ^b	3	83
54*	70,9±3,4 ^d	55	35,0±2,8 ^d	27	11,4±2,4 ^{cd}	9	7,3±0,6 ^c	6	2,1±0,3 ^c	2	3,3±0,2 ^c	3	93
56*	79,5±3,9 ^c	49	47,2±3,8 ^c	29	21,7±3,3 ^{ab}	13	7,7±0,7 ^{cd}	5	2,1±0,3 ^c	1	4,8±0,9 ^b	3	94
57*	47,2±3,6 ^e	56	18,5±1,5 ^f	22	4,4±0,4 ^f	5	9,3±0,8 ^c	11	2,4±0,3 ^c	3	2,3±0,4 ^d	3	86
55*	20,3±0,6 ^g	55	12,7±0,1 ^g	23	3,8±0,3 ^f	7	4,6±0,1 ^e	8	1,2±0,2 ^d	2	2,1±0,9 ^{cd}	4	89
58*	31,6±2,5 ^f	50	13,9±0,9 ^g	23	6,8±0,3 ^{de}	11	4,4±0,4 ^e	8	1,1±0,1 ^d	2	2,0±0,2 ^d	3	91
Azafrán D.O.P La Mancha													
20	110,9±5,6	56	56,0±3,2	28	11,9±0,4	6	12,4±1,0	6	2,7±0,2	1	5,5±0,8	3	92

Letras distintas significan resultados significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$) entre columnas y grupos distintos.

Se observó como *trans*-4-GG fue el éster de crocetina mayoritario para todas las muestras, mientras que la segunda crocina más abundante fue, también para todas las muestras, *trans*-3-Gg. Además la suma de estas dos crocinas representa más del 70% del contenido total de crocinas para todas las muestras. El tercer éster de crocetina más abundante no siguió el mismo perfil para todas las muestras, para 47 de las 79 muestras analizadas fue *cis*-4-GG, mientras que para las 32 restantes fue *trans*-2-gg, mientras que el menos abundante sí que fue, para todas las muestras, *cis*-3-Gg, esto ya fue observado en estudios anteriores como el de Sánchez y col., (2008b). En nuestro trabajo se pudo

ver como las dos muestras que obtuvieron una mayor cantidad de crocinas totales (3 y 70) tuvieron como tercer éster más abundante, *trans*-2-gg y *cis*-4-GG, respectivamente, es posible que este efecto sea debido al distinto procedimiento de tostado.

Se calculó la abundancia relativa de la suma de las crocinas *trans*, respecto de las *cis* y se vio que los isómeros *trans* se encontraban en rangos de abundancia de muy mayoritarios en cuanto al total de crocinas, Speranza y col., (1984) sugirieron que los ésteres de crocetina pueden sufrir una reacción de fotoisomerización y cambiar a *cis*-crocinas. Esto podría haber ocurrido en las muestras de azafrán que tienen menor calidad, que mayoritariamente son las de la marca comercial A, donde se observa que la abundancia relativa de las crocinas *trans* es revelablemente inferior, sólo 2 de 26 tienen un valor > 90%, mientras que para las de mayor poder colorante (categoría I) 20 de las 30 muestras analizadas tuvieron un % abundancia *trans/cis* > 90%, además el azafrán D.O.P La Mancha tenía este mismo perfil. Al comparar los resultados obtenidos entre azafranes de < 1 año y azafranes de > 10 años no se pudo observar un aumento del contenido relativo de *trans*-3-Gg en detrimento del de *trans*-4-GG, que se cita en algunos estudios como los de Sánchez y col., (2008a) y (2010).

4.4 Análisis de consumidores sobre el conocimiento, preferencia y uso del azafrán.

4.4.1 Caracterización de la población de estudio.

La muestra de población estudiada ha de representar fielmente la población de Aragón en la que habitan, para ello se tomaron las cifras de población de la comunidad autónoma de Aragón y de sus respectivas provincias, publicadas en el BOE a fecha 1 de enero de 2016. El nivel de estudios de la población española fue caracterizado con las cifras del estudio “education at a Glance: OCDE Indicators” de la OCDE (2014), para España y es interpolado para la comunidad de Aragón al no poseer otro banco de datos. La Tabla 11 muestra esta comparativa.

De las respuestas a las preguntas 30, 31, 32, 35 y 37 del Anexo 1 se comprueba que la afijación proporcional se han cumplido en cuanto a provincias, género y a nivel de estudios, pero existen notables diferencias en los tramos de edad entre 18-24 años, que ha quedado sobrerepresentados y los tramos 25-34 y 35-44 años que han quedado subrepresentados.

Tabla 11. Comparativa entre la población de estudio de este trabajo y la población de Aragón.

	Valor de la muestra (%)	Valor de la población, según BOE y OCDE (%)
Género		
Masculino	48,5%	49,4%
Femenino	51,5%	50,6%
Edad		
18-24	28,2%	5,6%
25-34	6,9%	14,1%
35-44	8,4%	19,8%
45-54	15,8%	18,9%
55-64	17,3%	15,5%
>64	23,3%	26,1%
Nivel de estudios		
Primarios	23%	17%
Secundarios	48,0%	50%
Superiores	28,2%	33%
Provincia		
Huesca	18,3%	16,9%
Teruel	12,4%	10,5%
Zaragoza	69,3%	72,6%

Para este estudio, además, se caracterizó la población según su renta mensual (según las respuestas a la pregunta 35); un 7,4% de los encuestados tenían una renta inferior a 900 €/mes, un 15,3% entre 900 y 1500 €/mes, un 21,8% una renta de 1501-2500 €/mes, un 18,3% una renta de 2501-3500 €/mes, un 7,9% una renta de 3501 a 4500 €/mes y un 2,5% una renta superior a 4500 €/mes, el resto de los encuestados prefirieron no revelar sus ingresos.

4.4.2. Conocimiento del cultivo de azafrán en España y percepción de su calidad.

La figura 11 A resume el análisis univariante de las Preguntas 17 (¿cree que se produce azafrán en Aragón?) y 18 (¿ha oído hablar del azafrán producido en Teruel?) y la Figura 12 B de la pregunta 20 (¿cree que se produce azafrán en otras regiones de España?) del cuestionario.

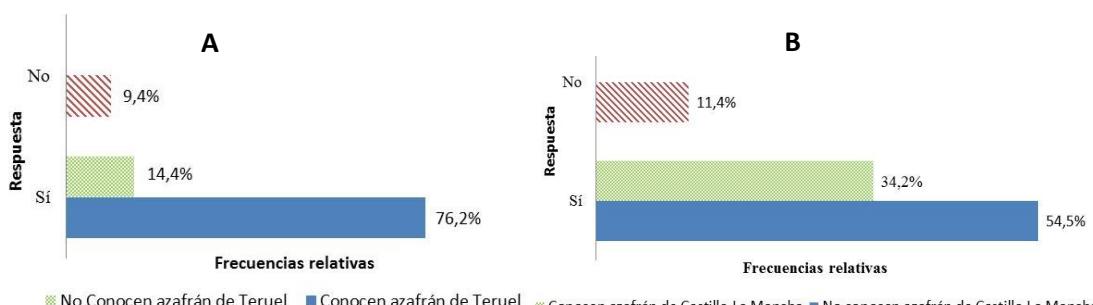


Figura 11. (A) Conocimiento del azafrán de Aragón. (B) Conocimiento del azafrán de otras regiones de España

Se puede observar que la mayoría de la población conoce el cultivo de azafrán en España (88,7% de los consumidores), siendo un 54,5% los que sabían de su cultivo en Castilla La Mancha. De igual modo en el segundo gráfico se puede observar que la mayoría de la población conoce el cultivo de azafrán en Aragón (85,6% de los consumidores), siendo un 76,2% los que sabían de su cultivo en la provincia de Teruel. Estos datos indican un menor conocimiento del azafrán especia en nuestra comunidad, aunque fueron superiores a los publicados por Camarena y col., (2008) en el que el 76% de los encuestados sabían del Azafrán de Aragón.

La figura 12 A representa las respuestas a las preguntas 19 (¿cree usted que la calidad del azafrán de Teruel es...?) y 21 (¿cree usted que la calidad del azafrán de Castilla La Mancha es...?) de los resultados obtenidos se puede concluir que la variable que describe el origen aragonés puede tener un efecto significativo y positivo en la valoración de la calidad percibida.

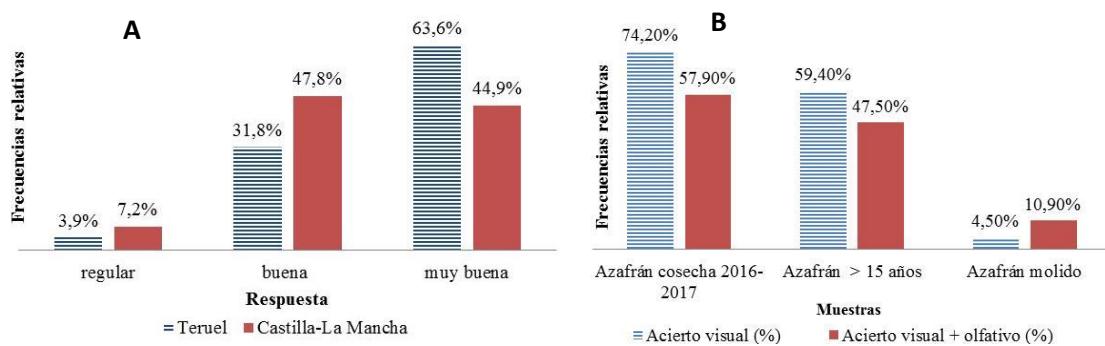


Figura 12. (A) Calidad percibida del azafrán. (B) Acierto en el reconocimiento visual de las muestras de azafrán.

4.4.3. Capacidad de reconocimiento de azafrán especia.

Para estudiar que parte de la población es capaz de reconocer el azafrán especia, se analizan los resultados de las preguntas 1 y 2 del cuestionario, que indicaban lo siguiente: “Se tienen 5 muestras de productos que pueden ser utilizados en la alimentación y que tienen propiedades colorantes, aromatizantes y/o saborizantes, en primer lugar observe detenidamente las muestras e indique que producto de la lista cree que es cada uno de ellos, luego puede abrir los frasco, oler el producto e indicar de nuevo lo que cree que es cada muestra”. Los resultados obtenidos son los representados en la Figura 12 B.

Para las dos muestras en hebra se puede observar que el porcentaje de acierto es más elevado en el reconocimiento visual, que cuando se realiza de forma conjunta al olfativo. A su vez la población tiene un mayor acierto a la hora de reconocer el azafrán de la cosecha 2016-2017 respecto del más antiguo. El azafrán en polvo tiene un reconocimiento muy escaso. Se puede concluir que es posible que el consumidor no reconozca bien el aroma característico del azafrán y que reconoce mucho mejor un azafrán en hebra que molido.

4.4.4. Valoración hedónica de los dos azafranes.

El objetivo fue averiguar si los consumidores apreciaban diferencias significativas en la valoración hedónica de las dos muestras, para las preguntas 3.1, 3.2, 4.1, 4.2, 5.1 y 5.2 del cuestionario. Mediante la aplicación del Test de Kolmogorov-Smirnov, se observa que los datos muestrales no siguen una distribución normal.

En la Figura 13 se presentan las medianas de las puntuaciones hedónicas para cada uno de los parámetros valorados cuantitativamente (color de la hebra, aroma de la hebra, color de la infusión, sabor de la infusión y valoración global) de los dos tipos de azafranes valorados (muestra 49 = azafrán de cosecha 2016-2017, muestra 50 = azafrán > 15 años).

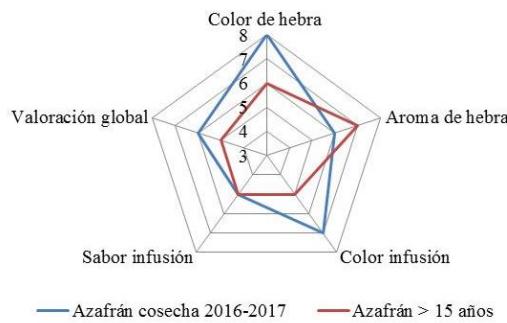


Figura 13. Medianas obtenidas de las valoraciones hedónicas de los consumidores para las dos muestras de azafrán

Mediante la aplicación del test de Man-Withney, comparación de medias, se observa que existen diferencias significativas, a un nivel de significación del 5%, en el color de la hebra, color de la infusión y valoración global entre ambos azafranes, siendo el de la cosecha 2016-2017 el mejor valorado. Sin embargo, no se aprecian diferencias significativas en el aroma de la hebra ni en el sabor de la infusión.

Se estudia la influencia de atributos no sensoriales tales como la edad, el sexo, la renta, los estudios y la provincia de los consumidores en la valoración hedónica de los dos tipos de azafrán. Para ello se realiza un test de Kruskal-Wallis (análisis de varianza).

Tras el análisis de todas las posibles combinaciones entre las variables cuantitativas y cualitativas del estudio, las observaciones fueron las siguientes:

- Edad: Los consumidores de más de 64 años son los únicos que no observan diferencias significativas ($\alpha=0,05$) entre el color de la hebra de ambos azafranes Figura 14A. En cambio los menores de 25 años son los únicos que no ven una diferencia significativa en cuanto a la calidad global de los dos azafranes. Figura 14B

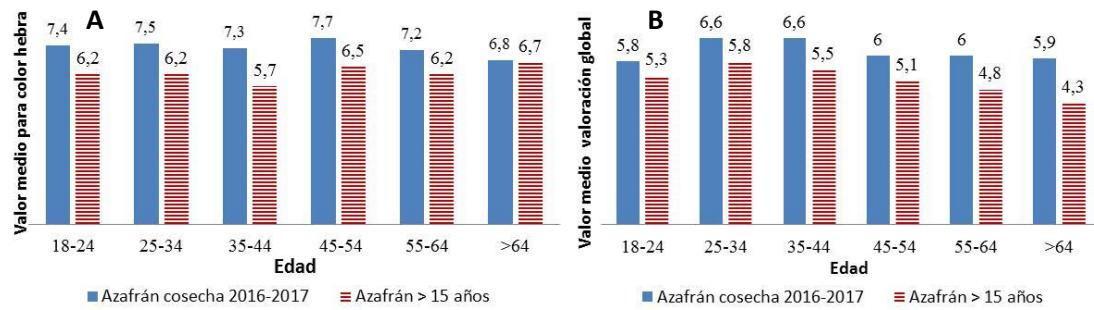


Figura 14. (A)Valoración del color de la hebra de los dos azafranes, por edad de los consumidores.
(B)Valoración global de los dos azafranes, por edades.

- Sexo: No se aprecian diferencias significativas en las valoraciones hedónicas.
- Estudios: Los consumidores con estudios primarios son los únicos que no aprecian una diferencia significativa entre el color de la hebra de ambos azafranes (Figura 15 A).

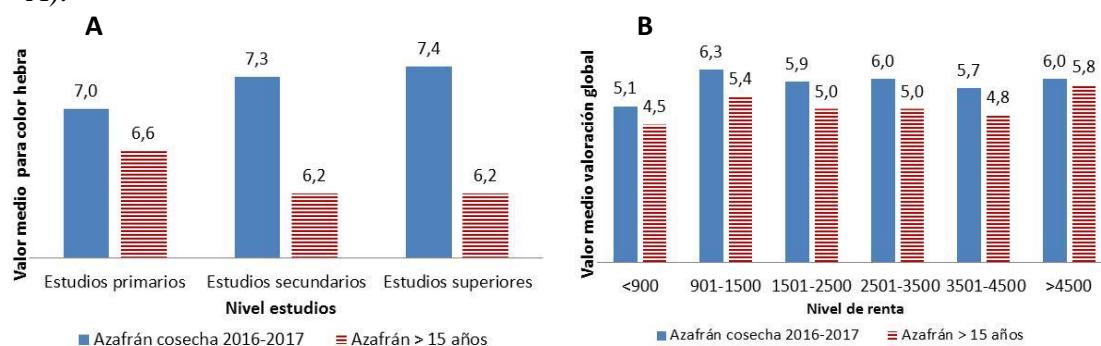


Figura 15. (A)Valoración del color de la hebra de los dos azafranes, por nivel de estudios de los consumidores. (B)Valoración global de los dos azafranes, por nivel de renta de los consumidores.

- Renta: Los consumidores de renta < 900 €/mes y aquellos de > 4500 €/mes son los únicos que no aprecian diferencias significativas entre la calidad global de ambos azafranes (Figura 15 B).

- **Provincias:** Los consumidores de Teruel no observan diferencias significativas en el color de la hebra entre ambos tipos de azafrán, además los turolenses otorgan un valor medio, al azafrán de la cosecha 2016-2017, menor que el que otorgan oscenses y zaragozanos para el azafrán cosechado hace más de 15 años (Figura 16 A).

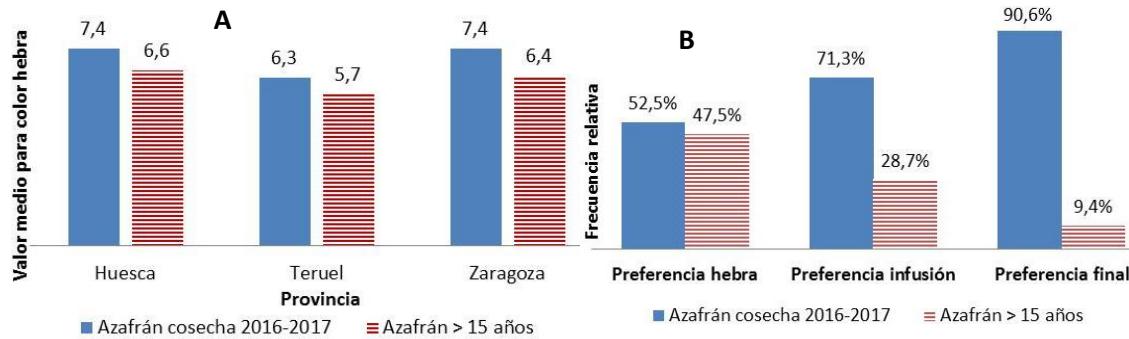


Figura 16. (A)Valoración del color de la hebra de los dos azafranes, por provincia de los consumidores. (B)Preferencia de uso de los dos azafranes tras cada valoración hedónica.

4.4.5. Preferencia de uso entre los dos azafranes.

Después de realizar cada una de las valoraciones hedónicas (primero azafrán en hebra, después azafrán en infusión) y tras un aporte de información adicional sobre la calidad del azafrán, se pedía a los encuestados que expresaran su preferencia entre las muestras, a elegir entre uno de los dos azafranes evaluados, en las preguntas 4, 7 y 8 ¿cuál de los dos azafranes preferiría para cocinar? En el Figura 16 B se muestra los resultados obtenidos

Se observa que en la condición en hebra un 52,5% de los entrevistados usarían preferentemente el azafrán de la cosecha de 2016-2017 para cocinar. Sin embargo, en la preferencia revelada para las muestras en infusión presenta un aumento de los encuestados que se decantan por la primera opción (71,3%) y el incremento final aún es mayor, hasta el 90,6%, cuando se aporta la información sobre la calidad y el año de cosecha de los dos tipos de azafranes valorados. Estos resultados parecen indicar que los consumidores no tienen la capacidad de discernir de igual manera la calidad de un azafrán cuando este se presenta en hebra, que cuando está en dilución y cede su poder colorante al medio. A su vez, parte de estos consumidores necesitan de un aporte de información extra para decantarse por la opción de mejor calidad, que puede ser debido a la falta de conocimiento sobre los parámetros de calidad del azafrán.

En la Figura 17 A se observa que un mayor porcentaje de consumidores de Zaragoza prefieren el azafrán de la cosecha de 2016-2017, en cualquiera de sus estados, respecto al resto de población de Aragón. A su vez también se observa que los consumidores de la provincia de Huesca, en una primera opinión, prefieren el azafrán de más de 15 años en hebra, respecto al de la cosecha actual. Este comportamiento es anómalo respecto el resto de comportamientos observados a lo largo de todo el estudio.

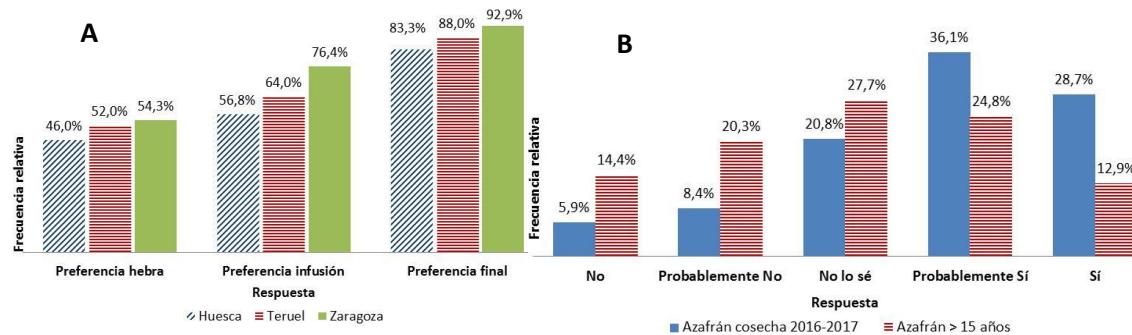


Figura 17. Preferencia del azafrán de cosecha 2016-2017 por provincias, tras cada valoración hedónica. (B) Intención de uso de ambos azafranes.

De la prueba de Chi-cuadrado realizada se concluye que existe, a un nivel de significación del 95%, una dependencia de consumidores de Zaragoza para elegir el azafrán de la cosecha del 2017.

4.4.6. Análisis de la intención de uso del azafrán especia.

Después de la valoración hedónica global (hebra + infusión) de cada uno de los azafranes, se preguntó a los consumidores si usarían cada una de las muestras para cocinar (pregunta 6.1 y 6.2 ¿cree que utilizaría la muestra valorada para cocinar?).

En la Figura 17 B se muestra la intención de uso de los entrevistados para los dos tipos de azafrán. Se puede observar que la moda para el azafrán de la cosecha de 2016-2017 es “probablemente sí”, mientras que la moda para la muestra de más de 15 años es “no lo sé”. De esta manera puede concluir que la mayor parte de la población utilizaría preferiblemente el azafrán de la cosecha 2016-2017, y de forma habitual en su cocina. Según Camarena y col., (2008) un 76% de los encuestados (encuesta realizada en Zaragoza) utilizaban azafrán, sin embargo, tan sólo el 22% lo hacen de forma regular (semanal o mensual)

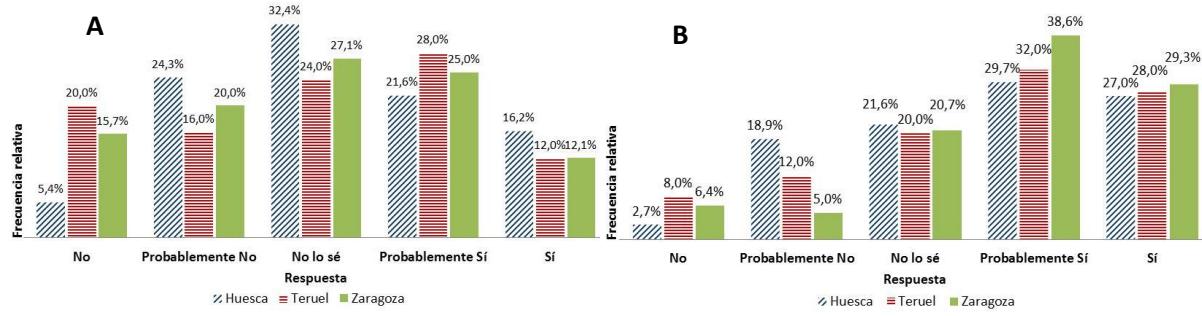


Figura 18. (A) Intención de uso del azafrán de > 15 años, por provincias (B) Intención de uso del azafrán de cosecha 2016-2017, por provincias.

Al tratar los resultados, se observa que son los consumidores de la provincia de Teruel los que se desmarcan en la intención de uso de la muestra de azafrán de más de 15 años, a pesar de ser la provincia aragonesa por excelencia en cuanto a la producción de azafrán, hay un mayor porcentaje de la misma que probablemente usaría la muestra de azafrán de más de 15 años, siendo esta la moda, a diferencia de oscenses y zaragozanos cuya moda sería “no lo sé” Figura 18 A. En la condición opuesta a este comportamiento, también se observa que una mayor parte de la población de Teruel, respecto a las otras dos provincias, no usaría bajo ningún concepto ese mismo azafrán Figura 18 B. Este comportamiento que podría parecer contrario puede ser debido a las costumbres culinarias, ya que en Teruel es más habitual introducir el azafrán especia, como saborizante, en la elaboración de sus platos, de este modo una mayor parte de los consumidores usaría la especia de más de 15 años debido a su hábito de uso, aunque otra importante parte de los mismos no la usaría nunca ya que reconoce su baja calidad.

5. Conclusiones

De los resultados obtenidos en este Trabajo de Fin de Máster, se han sacado las siguientes conclusiones:

1. El poder colorante ($E_{1cm}^{1\%}$ 440 nm) de 39 de las 79 muestras analizadas fue mayor de 200 estando incluidas en el rango correspondiente a categoría I, según ISO 3632 (2011) y correspondiente principalmente a azafranes de menos de 1 año. En el rango de la categoría II se encontraban 9 muestras con valores de $E_{1cm}^{1\%}$ 440 nm entre 150 y 200, mientras que en el de categoría III se encontraban 7 muestras. El resto de las muestras no alcanzaron el valor mínimo de poder colorante establecido por ISO, encontrándose en el grupo de azafranes de más de 10 años o de cosecha no especificada.
2. Los valores de poder saborizante ($E_{1cm}^{1\%}$ 257 nm) se encontraron entre 110 y 44, correspondiendo estos extremos a azafranes de menos de un año y más de 10 años respectivamente.
3. Los valores de poder aromatizante ($E_{1cm}^{1\%}$ 330 nm) se encontraron entre 51 y 24, estando en el rango normal para azafrán.
4. El contenido total de crocinas, determinado por HPLC, se encontró entre 332,4 y 11,1 g/kg azafrán en base seca correspondiendo estos extremos a azafranes de menos de un año y más de 10 años respectivamente. Además se observó cómo los ésteres de crocetina *trans*-4-GG y *trans*-3-Gg eran los mayoritarios para todas las muestras y que el porcentaje de crocinas *trans*, respecto a la suma de ésteres *cis* y *trans* determinados, se correspondía con las muestras de mayor calidad.
5. El contenido total de picrocrocina se encontró entre 2217 y 131 unidades área, correspondiendo estos extremos a azafranes de menos de un año y más de 10 años respectivamente.
6. El contenido en safranal se encontró entre 5,144 y 0,374 g/kg de azafrán en base seca, correspondiendo estos extremos a azafranes de menos de un año y más de 10 años respectivamente.
7. El estudio de consumidores ha demostrado que más del 85% de la población de Aragón conocía del cultivo de azafrán en la Comunidad Autónoma y más del 75% conocía del cultivo en Teruel

8. La mayoría de consumidores perciben como buena o muy buena la calidad del azafrán de Teruel. Cuando se pregunta sobre la preferencia entre una muestra de azafrán de gran calidad y una de baja calidad, el 47% de los consumidores prefirió la de menor calidad. Sin embargo cuando se aporta información sobre el azafrán más del 90% de los consumidores prefirió el azafrán de mayor calidad, reflejando la importancia de mantener informado al consumidor sobre las características del azafrán.
9. Los resultados de la valoración hedónica global mostraron que los parámetros mejor valorados para la muestra de mayor calidad fueron el color de la hebra. Para la muestra de menor calidad los parámetros mejor valorados fueron el aroma y sabor de la infusión. La muestra de mayor calidad obtuvo una mayor valoración hedónica.

6. Bibliografía

- Alonso, G. L., Salinas, M. R., Esteban-Infantes, F. J., & Sánchez-Fernández, M. A. (1996). Determination of safranal from saffron (*Crocus sativus* L.) by thermal desorption-gas chromatography. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 44, 185–188.
- Alonso, G. L., Salinas, M. R., Garijo, J., & Sánchez-Fernández, M. A. (2001). Composition of crocins and picrocrocin from Spanish saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Food Quality*, 24(3), 219-233.
- Alonso, G.L. Libro Blanco del Azafrán, L. B. (2007). Azafrán en Europa. Problemas y estrategias para valorizar la calidad y mejorar la competitividad.
- BOA N° 80/1869 (2003) Sección III, Orden de 16 d junio de 2003, 4.7.
- BOE: Real Decreto 636/2016, de 2 de diciembre.
- Botella, O., De Juan, J. A., Pérez, A., & Muñoz, R. L. H. (1999). En *Análisis biométrico de material vegetal de azafrán*. VIII Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas, Murcia, España.
- Bucheker, R.; Eugster, C. H. (1973). Absolute configuration of picrocrocin. *Helv. Chim. Acta*, 56 (3), 1121-1125.
- Camarena D.M., Sanjuán A.I. (2009). *El azafrán del Jiloca: ¿hacia la recuperación productiva y comercial de un cultivo tradicional?* En: Moreno L., Sánchez M.M., Simões O. (Coord.). Cultura, Inovaçao e Território. O Agroalimentar e o Rural. Sociedad Portuguesa de Estudios Rurais (SPER), Lisboa, Pp. 245-254.
- Camarena Gómez, D. M., Damino, A. B., Erraach, Y., Gálvez, A., Ouabouch, H., Vilcarromero, Y., & Sanjuán López, A. I. (2008). Panorámica de la distribución de azafrán en el mercado urbano de Zaragoza.
- Carmona, M., Sánchez, A. M., Ferreres, F., Zalacain, A., Tomás-Barberán, F., & Alonso, G. L. (2007a). Identification of the flavonoid fraction in saffron spice by LC/DAD/MS/MS: Comparative study of samples from different geographical origins. *Food Chemistry*, 100(2), 445-450.

- Carmona, M., Zalacain, A., Pardo, J. E., López, E., Alvarruiz, A., & Alonso, G. L. (2005). Influence of different drying and aging conditions on saffron constituents. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 3974-3979.
- Carmona, M., Zalacain, A., Salinas, M. R., & Alonso, G. L. (2007b). A new approach to saffron aroma. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(2), 145-159.
- Carmona, M.; Zalacain, A.; Alonso, G. L. (2006) The dehydration process. *The chemical composition of saffron: color, taste and aroma*, first edition; Editorial Bomarzo, Albacete, España.
- Del Campo, C. P., Carmona, M., Maggi, L., Kanakis, C. D., Anastasaki, E. G., Tarantilis, P. A., & Alonso, G. L. (2010). Effects of mild temperature conditions during dehydration procedures on saffron quality parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(4), 719-725.
- Del Campo, C. P., Carmona, M., Maggi, L., Kanakis, C. D., Anastasaki, E. G., Tarantilis, P. A., ... & Alonso, G. L. (2009). Picrocrocin content and quality categories in different (345) worldwide samples of saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(2), 1305-1312.
- Eurachem Guide. (1998). The Fitness for Purpose of Analytical Methods, Eurachem, LGC, Teddington, UK.
- García-Rodríguez, M. V., López-Córcoles, H., Alonso, G. L., Pappas, C. S., Polissiou, M. G., & Tarantilis, P. A. (2017). Comparative evaluation of an ISO 3632 method and an HPLC-DAD method for safranal quantity determination in saffron. *Food Chemistry*, 221, 838-843.
- García-Rodríguez, M. V., Serrano-Díaz, J., Tarantilis, P. A., López-Córcoles, H., Carmona, M., & Alonso, G. L. (2014). Determination of saffron quality by high-performance liquid chromatography. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(32), 8068-8074.
- Ghadrdoost, B., Vafaei, A. A., Rashidy-Pour, A., Hajisoltani, R., Bandegi, A. R., Motamedi, F., ... & Pahlvan, S. (2011). Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats. *European journal of pharmacology*, 667(1), 222-229.

- Ghazavi, A., Mosayebi, G., Salehi, H., & Abtahi, H. (2009). Effect of ethanol extract of saffron (*Crocus sativus* L.) on the inhibition of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57bl/6 mice. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 12(9), 690-695.
- Himeno, H., & Konosuke, S. A. N. O. (1987). Synthesis of Crocin, Pjcrocin and Safranal by Saffron Stigma-like Structures Proliferated in Vitro. *Agricultural and Biological Chemistry*, 51(9), 2395-2400.
- Hosseinzadeh, H., Abootorabi, A., & Sadeghnia, H. R. (2008a). Protective effect of crocus sativus stigma extract and crocin (trans-crocin 4) on Methyl Methanesulfonate-induced DNA damage in mice organs. *DNA and cell biology*, 27(12), 657-664.
- Hosseinzadeh, H., Sadeghnia, H. R., & Rahimi, A. (2008b). Effect of safranal on extracellular hippocampal levels of glutamate and aspartate during kainic acid treatment in anesthetized rats. *Planta médica*, 74(12), 1441-1445.
- Iborra, J., Castellar, M. R., Cánovas, M. A., & Manjón, A. R. (1992). TLC preparative purification of picrocrocin, HTCC and crocin from saffron. *Journal of Food Science*, 57(3), 714-716.
- Indicators, O. E. C. D. (2012). Education at a glance 2012. *Editions OECD*.
- Khosravan, V. (2002). Anticonvulsant effects of aqueous and ethanolic extracts of *Crocus sativus* L. stigmas in mice. *Arc Iran Medi*, 5, 44.
- Kubo, I., & Kinst-Hori, I. (1999). Flavonols from saffron flower: tyrosinase inhibitory activity and inhibition mechanism. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 4121-4125.
- Maggi, L., Carmona, M., Zalacain, A., Kanakis, C. D., Anastasaki, E., Tarantilis, P. A. & Alonso, G. L. (2010). Changes in saffron volatile profile according to its storage time. *Food Research International*, 43(5), 1329-1334.
- Maggi, L., Sánchez, A. M., Carmona, M., Kanakis, C. D., Anastasaki, E., Tarantilis, P. A.. & Alonso, G. L. (2011). Rapid determination of safranal in the quality control of saffron spice (*Crocus sativus* L.). *Food Chemistry*, 127(1), 369-373.
- Martínez-Tomé, M., Jiménez, A. M., Ruggieri, S., Frega, N., Strabbioli, R., & Murcia, M. A. (2001). Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. *Journal of food protection*, 64(9), 1412-1419.

- Pfister, S., Meyer, P., Steck, A., & Pfander, H. (1996). Isolation and structure elucidation of carotenoid– glycosyl esters in gardenia fruits (*gardenia jasminoides ellis*) and saffron (*crocus sativus linne*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(9), 2612-2615.
- Rios, J. L., Recio, M. C., Giner, R. M., & Manez, S. (1996). An update review of saffron and its active constituents. *Phytotherapy Research*, 10(3), 189-193.
- Sánchez Gómez, A. M. (2009a). *Avances en el estudio de los ésteres de crocetina, picrocroicina y flavonoides del azafrán especia* (Tesis Doctoral, Universidad de Castilla La Mancha).
- Sánchez, A. M., Carmona, M., A. Ordoudi, S., Z. Tsimidou, M., & Alonso, G. L. (2008a). Kinetics of individual crocetin ester degradation in aqueous extracts of saffron (*Crocus sativus L.*) upon thermal treatment in the dark. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(5), 1627-1637.
- Sánchez, A. M., Carmona, M., del Campo, C. P., & Alonso, G. L. (2009b). Solid-phase extraction for picrocrocin determination in the quality control of saffron spice (*Crocus sativus L.*). *Food Chemistry*, 116(3), 792-798.
- Sánchez, A. M., Carmona, M., Jarén-Galán, M., Minguez Mosquera, M. I., & Alonso, G. L. (2010). Picrocrocin kinetics in aqueous saffron spice extracts (*Crocus sativus L.*) upon thermal treatment. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(1), 249-255.
- Sánchez, A. M., Carmona, M., Zalacain, A., Carot, J. M., Jabaloyes, J. M., & Alonso, G. L. (2008b). Rapid determination of crocetin esters and picrocrocin from saffron spice (*Crocus sativus L.*) using UV-visible spectrophotometry for quality control. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(9), 3167-3175.
- Sanjuán-López, A. I., Philippidis, G., & Resano-Ezcaray, H. (2011). How useful is acceptability to explain economic value? An application on the introduction of innovative saffron products into commercial markets. *Food quality and preference*, 22(3), 255-263.
- Sisó Terraza, P., & Sanjuán López, A. I. (2010). Análisis de la situación interna del sector productor-comercializador de azafrán en la Comarca del Jiloca.
- Speranza, G., Dada, G., Manitto, P., Monti, D., & Gramatica, P. (1984). 1-3-cis-crocin-a new crocinoid of saffron. *Gazzetta Chimica Italiana*, 114(3-4), 189-192.

- Terrado, P. R. (1997). *El azafrán y la comarca del Jiloca*. CE Jiloca.
- Xuan, B., Zhou, Y. H., Li, N. A., Min, Z. D., & chiou, G. C. (1999). Effects of crocin analogs on ocular blood flow and retinal function. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics*, 15(2), 143-152.
- Zheng, Y. Q., Liu, J. X., Wang, J. N., & Xu, L. (2007). Effects of crocin on reperfusion-induced oxidative/nitrative injury to cerebral microvessels after global cerebral ischemia. *Brain research*, 1138, 86-94.

ANEXO 1

Conocimiento

Aquí tiene cinco muestras de productos que pueden ser utilizados en alimentación y que tienen propiedades colorantes, aromatizantes y/o saborizantes.

1. En primer lugar, observe detenidamente las muestras e indique que producto de la lista cree que es cada una de ellas (Marque con una X).

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
Cártamo / Alazor					
Azafrán					
Cúrcuma					
Curry					
Pimentón					
Colorante alimentario					
No lo sé					

2. Ahora puede abrir los frascos, puede oler el producto e indique de nuevo lo que cree que es cada muestra (Marque con una X).

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
Cártamo / Alazor					
Azafrán					
Cúrcuma					
Curry					
Pimentón					
Colorante alimentario					
No lo sé					

3. Ahora vamos a quedarnos con dos de las muestras, que son azafrán.

En primer lugar, fíjese en la muestra “1”. Observela de nuevo y puede volver a olerla e indíquenos cuánto le gusta el color y el aroma en esta escala de 1 a 9 (Marque con una X).

1 = Me disgusta muchísimo; 2 = Me disgusta mucho; 3 = Me disgusta moderadamente;

4 = Me disgusta ligeramente; 5 = Ni me gusta ni me disgusta; 6 = Me gusta ligeramente;

7 = Me gusta moderadamente; 8 = Me gusta mucho; 9 = Me gusta muchísimo

3.1. Muestra “1” (en hebra)

Me disgusta
muchísimo

Me gusta muchísimo

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Color								
Aroma								

A continuación, fíjese en la muestra “2”. Observela de nuevo y puede volver a olerla e indíquenos cuánto le gusta el color y el aroma en esta escala de 1 a 9 (Marque con una X).

3.2. Muestra “2” (en hebra)

Me disgusta
muchísimo

Me gusta muchísimo

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Color								
Aroma								

4. ¿Cuál de estos dos azafranes prefiriría para cocinar? (Marque con una X).

Muestra “1” Muestra “2”

Ahora hemos diluido en agua la misma cantidad de las dos muestras.

Pruébe la infusión de la muestra “1” y indíquenos cuánto le gusta el color y el sabor de esta infusión en la misma escala de 1 a 9.

4.1. Muestra “1” (infusión)

Me disgusta
muchísimo

Me gusta muchísimo

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Color								
Sabor								

Antes de probar la muestra “2” debe comer un trozo de pan para eliminar el sabor de su boca.

A continuación, pruebe la infusión de la muestra “2” y indíquenos cuánto le gusta el color y el sabor en la misma escala de 1 a 9.

4.2. Muestra “2” (infusión)

Me disgusta
muchísimo

Me gusta muchísimo

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Color								
Sabor								

Finalmente, teniendo en cuenta el producto en hebra y su infusión indique cuánto le gusta en global cada una de las muestras en la misma escala de 1 a 9.

5.1. Muestra “1” (hebra + infusión)

Me disgusta
muchísimo

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Me gusta muchísimo

Global

6.1. ¿Cree que utilizaría la muestra “1” para cocinar (Marque con una X).

No

Probablemente No

No lo sé

Probablemente Sí

Sí

5.2. Muestra “2” (hebra + infusión)

Me disgusta
muchísimo

1 2 3 4 5 6 7 8 9

Me gusta muchísimo

Global

6.2. ¿Cree que utilizaría la muestra “2” para cocinar (Marque con una X).

No

Probablemente No

No lo sé

Probablemente Sí

Sí

7. ¿Cuál de estos dos azafranes prefiriría para cocinar? (Marque con una X).

Muestra “1” Muestra “2”

El azafrán de la muestra “1” ha sido producido en España y corresponde a la cosecha del 2016. Está formado por estigmas grandes y una proporción baja de otras partes florales. Tiene un color rojo vivo intenso y uniforme. Su aroma es el característico de un azafrán de cosecha reciente. Disuelto proporciona un intenso color amarillo anaranjado que indica un gran poder colorante. Se trata de un azafrán de gran calidad.

El azafrán de la muestra “2” ha sido producido en España y corresponde a una cosecha de hace más de 10 años. Está formado por estigmas grandes y una proporción baja de otras partes florales. Tiene color rojo anaranjado menos vivo que el de la muestra “1” y su aroma es propio de un azafrán conservado durante muchos años. Su poder colorante es menor que el de la muestra “1” por lo que para lograr la misma intensidad es necesario añadir más cantidad de azafrán. La calidad de este azafrán se ha visto mermada por el paso del tiempo.

8. Teniendo en cuenta la información anterior, ¿cuál de estos dos azafranes prefiría para cocinar? (Marque con una X).

 Muestra “1” Muestra “2”

9. ¿Había oído hablar antes del azafrán? (Marque con una X).

 No Sí

10. Cuando quiere dar color y/o sabor y aroma a sus platos, ¿qué utiliza? Puede indicar más de una opción (Marque con una X).

 Pimentón Colorante alimentario Azafrán Cúrcuma

Otros, indicar _____

11. ¿Con qué frecuencia utiliza azafrán en su hogar? (Marque con una X).

 Nunca (**ir a la pregunta 14**) Sólo en celebraciones especiales

- De vez en cuando
- Al menos una vez al mes
- Al menos una vez a la semana

12. ¿En qué platos suele utilizar azafrán cuando cocina en su hogar? Puede indicar más de una opción (Marque con una X).

- Legumbres y verduras
- Sopas y cremas
- Paella
- Otros guisos de arroces
- Pasta
- Pescado
- Carne
- Postres

Otros, indicar _____

13. ¿Dónde adquiere habitualmente el azafrán que utiliza en su hogar? Puede indicar más de una opción (Marque con una X).

- Mi propia producción
- Supermercado e hipermercado
- Tiendas especializadas gourmet
- Directamente del productor
- Internet
- Tiendas de barrio (comestibles, fruterías, etc.)
- Me lo proporcionan amigos o conocidos

Otros, indicar _____

14. Responda a esta pregunta si contestó “Nunca” a la pregunta 11. ¿Por qué no utiliza azafrán? Puede indicar más de una opción (Marque con una X).

- Por falta de costumbre
- No sé cómo utilizarlo
- Es caro
- Utilizo otros productos
- No sé para qué se utiliza
- No me gusta su sabor
- No me gusta el color que aporta

Otros, indicar _____

LEA LA INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL AZAFRÁN FACILITADA

15. Le voy a presentar 7 tarjetas. Cada una presenta 3 factores que pueden influir en su decisión de utilizarlo en la elaboración de sus platos e infusiones. Estas características son: 1) Aroma; 2) Sabor; 3) Color; 4) Es un producto natural de origen vegetal; 5) Aporta beneficios para la salud; 6) Precio; 7) Es de una cosecha reciente.

La contestación es sencilla, primero usted tiene que evaluar las características presentes en cada tarjeta y marcar con una X la característica que para Usted es más importante y menos importante a la hora de decidir utilizar azafrán en la elaboración de sus platos e infusiones. Pase a la siguiente tarjeta y repita el proceso.

Menos importante	TARJETA 1	Más importante
<input type="checkbox"/>	Sabor	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Precio	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Es un producto natural de origen vegetal	<input type="checkbox"/>

Menos importante	TARJETA 2	Más importante
<input type="checkbox"/>	Aroma	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Es un producto natural de origen vegetal	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Aporta beneficios para la salud	<input type="checkbox"/>

Menos importante	TARJETA 3	Más importante
<input type="checkbox"/>	Es un producto natural de origen vegetal	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Es de una cosecha reciente	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Color	<input type="checkbox"/>
<hr/>		
Menos importante	TARJETA 4	Más importante
<input type="checkbox"/>	Color	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Sabor	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Aroma	<input type="checkbox"/>
<hr/>		
Menos importante	TARJETA 5	Más importante
<input type="checkbox"/>	Es de una cosecha reciente	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Aporta beneficios para la salud	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Sabor	<input type="checkbox"/>
<hr/>		
Menos importante	TARJETA 6	Más importante
<input type="checkbox"/>	Precio	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Aroma	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Es de una cosecha reciente	<input type="checkbox"/>
<hr/>		
Menos importante	TARJETA 7	Más importante
<input type="checkbox"/>	Aporta beneficios para la salud	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Color	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	Precio	<input type="checkbox"/>

16. ¿Podría indicarme su grado de acuerdo o desacuerdo con las siguientes afirmaciones? (Marque con una X).

	Muy en desacuerdo	En desacuerdo	Indiferente	De acuerdo	Muy de acuerdo
Creo que utilizar azafrán es bueno					
Aquellas personas que son importantes para mí consideran que debería utilizar azafrán					
El utilizar azafrán sólo depende de mí					
Aunque quisiese utilizar azafrán no creo que pudiese hacerlo					
El azafrán es un ingrediente sólo para personas expertas					
El azafrán es fácilmente sustituible por otros productos					
El azafrán es un ingrediente típico de la cocina española					
Es difícil saber la calidad del azafrán y si es auténtico					

17. ¿Cree que se produce azafrán en Aragón? (Marque con una X).

No

Sí, dónde? _____

18. ¿Ha oído hablar del azafrán producido en Teruel? (Marque con una X).

No (ir a pregunta 20) Sí

19. ¿Cree usted que la calidad del azafrán de Teruel es...? (Marque con una X).

Muy mala

Mala

Regular

Buena

Muy buena

20. ¿Cree que se produce azafrán en otras regiones de España? (Marque con una X).

No

Sí, dónde? _____

21. ¿Ha oído hablar del azafrán con Denominación de Origen Protegida (DOP) "Azafrán de La Mancha"? (Marque con una X).

No (ir a pregunta 23) Sí



22. ¿Cree usted que la calidad del azafrán

Marque con una X).

Muy mala

Mala

Regular

Buena

Muy buena

23. ¿Qué importancia le asigna a cada una de las siguientes informaciones que puede llevar el azafrán en su etiqueta? (Marque con una X).

	Ninguna	Poca	Indiferente	Bastante	Mucha
Lugar donde ha sido producido					
Cantidad recomendada a utilizar					
Forma de utilización					
Año en el que ha sido cosechado					
Categoría comercial (I, II o III)					

24. El azafrán que se vende suele llevar algunos de los siguientes logos que informan o certifican su proceso de producción y elaboración. Por favor, ordénelos de 1 a 5 en función de su preferencia donde 1 indica el más preferido y 5 el menos preferido.

Denominación
de Origen
Protegida

Calidad
Alimentaria
de Aragón

Artesanía
Alimentaria de
Aragón

Agricultura
Ecológica

Slow food



25. ¿Es usted quién realiza la compra de alimentos en su hogar? (Marque con una X).

Nunca

Casi nunca

Alguna vez

A menudo

Casi siempre

Siempre

26. ¿Con qué frecuencia cocina usted en su hogar? (Marque con una X).

Nunca

Esporádicamente

Una o dos veces a la semana

Todos o casi todos los días

27. ¿De dónde provienen las recetas de cocina que se utilizan en su hogar y/o usted utiliza?

Puede indicar más de una opción (Marque con una X).

De mis padres (tradición familiar)

De familiares, amigos o conocidos

De libros de cocina

De programas de televisión y prensa

De internet

Del envase de los alimentos

28. ¿Podría indicarme su grado de acuerdo o desacuerdo con las siguientes afirmaciones? (Marque con una X).

	Muy en desacuerdo	En desacuerdo	Indiferente	De acuerdo	Muy de acuerdo
Constantemente pruebo comidas o alimentos nuevos					
No confío en comidas o alimentos nuevos					
Si no sé lo que hay en una comida o alimento, no lo pruebo					
Me gustan las comidas o alimentos de otros países					
La comida de otros países y/o culturas me parece demasiado extraña para comerla					
Me da miedo comer cosas que nunca he probado antes					
Soy muy particular respecto a las comidas que como					

Yo comería casi cualquier cosa					
Me gusta probar restaurantes de comidas de otros países y/o culturas					

29. ¿Podría indicar el grado de importancia que tiene para usted que los alimentos de su dieta diaria... (Marque con una X).

	Ninguna	Poca	Indiferente	Bastante	Mucha
... sean saludables?					
... ayuden a mantener el medio rural?					
... sean fáciles de preparar?					
... sean producidos en la región?					
... sepan bien?					
... no tengan aditivos, colorantes artificiales ni conservantes?					
... no sean muy caros?					
... ayuden a aumentar la renta de los agricultores?					
... tengan una buena relación calidad / precio?					
... sean producidos de forma respetuosa con el medio ambiente?					

30. ¿Podría indicar su año de nacimiento?

19 _____

31. ¿Usted es? (Marque con una X).

Hombre Mujer

32. ¿Cuál es el mayor nivel de estudios que ha obtenido? (Marque con una X).

- Primarios (EGB, Primaria)
- Secundarios (BUP, Bachiller, FP Medio)
- Superiores (FP Superior, Universitarios)

33. ¿Podría decirnos el número de miembros de su hogar (incluido usted)?

_____ miembros

34. ¿Es usted vegetariano o vegano? (Marque con una X).

No

Sí

35. ¿Podría indicar en qué intervalo se sitúa la renta mensual neta de su hogar (incluyendo los ingresos de todos sus miembros)? (Marque con una X).

< 900 €/mes

901 – 1.500 €/mes

1.501 – 2.500 €/mes

2.501 – 3.500 €/mes

3.501 – 4.500 €/mes

> 4.500 €/mes

No lo sé / Prefiero no decirlo

36. ¿Podría indicar su nacionalidad? (Marque con una X).

Española

Otra, indicar _____

37. ¿Podría indicar en qué provincia reside? (Marque con una X).

Huesca

Teruel

Zaragoza

Otra, indicar _____

38. ¿Cuánto tiempo lleva viviendo en Aragón?

_____ años

INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL AZAFRÁN PARA EL CUESTIONARIO

El azafrán es una especia valorada por el color sabor y aroma que proporciona y por sus propiedades medicinales. Esta especia está formada por los estigmas desecados de la flor del *Crocus sativus* que es de color lila y es llamada comúnmente “rosa del azafrán” (Imagen 1). Se puede presentar en hebra, es decir, los estigmas enteros (Imagen 2) o molido (Imagen 3).



Imagen 1: Flor de azafrán



Imagen 2: Azafrán en hebra



Imagen 3: Azafrán molido

Para conseguir un kilo de azafrán es necesario recolectar entre 100.000 y 300.000 flores. Tanto la recolección de las flores como la separación de los estigmas (hebras del azafrán) se realizan tradicionalmente a mano, lo que contribuye a conseguir un azafrán de alta calidad. Además, es importante que la recolección se realice a primeras horas de la mañana y que se separen las hebras de las flores y se tuesten a las pocas horas de su recolección. Las hebras se tuestan también artesanalmente hasta perder la mayor parte de su humedad y quedarse en un 20% de su peso aproximadamente. El tostado es una operación muy delicada de la que depende, en gran medida, la calidad y la conservación del azafrán.

Por sus propiedades colorantes, aromatizantes y saborizantes, el uso más importante del azafrán en la actualidad es el alimentario y está presente en muchos platos típicos de la cocina Española. También se utiliza y se ha utilizado en tintes, cosmética y como planta medicinal.

Algunas de sus múltiples propiedades beneficiosas para la salud son:

- Favorece el sistema digestivo
- Es bueno para el sistema nervioso y la memoria
- Mitiga la tos
- Mejora las afecciones oculares y cutáneas
- Es antioxidante
- Es analgésico
- Previene las enfermedades cardiovasculares
- Es anticancerígeno
- Tiene propiedades antidepresivas, relajantes y sedantes