

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



**“ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS CARACTERÍSTICAS
DEL AZAFRÁN (*Crocus sativus* L.) CULTIVADO EN
DISTINTAS ZONAS DE ESPAÑA E IRÁN”**

TRABAJO FIN DE GRADO

JUNIO-2018

Autora: Luciana Raducan

Tutores: Antonio Fabián Guillén Arco

María Emma García Pastor

RESUMEN

Cada vez es más común el uso de plantas medicinales para tratar diferentes afecciones. En los últimos años se ha desarrollado un gran interés por el estudio de las propiedades del azafrán, (*Crocus sativus* L.), y de sus componentes activos principales. El objetivo de este trabajo ha sido caracterizar los parámetros de calidad del azafrán cultivado tanto en distintas zonas de la geografía española como en Irán de forma comparativa y atendiendo además a sus componentes bioactivos. Los resultados mostraron una alta variabilidad dependiendo del origen de las muestras. Aunque en general las muestras procedentes de Irán mostraron mayor poder colorante y mayores niveles de polifenoles totales, el poder aromático mostró valores más altos en algunas de las muestras procedentes de España. Además, las muestras españolas mostraron mejores niveles de carotenos y de actividad antioxidante, así como niveles microbiológicos más bajos.

Palabras clave: Azafrán, Actividad antioxidante, Poder Colorante, Polifenoles, Carotenoides.

Abstract

The use of medicinal plants to treat different conditions is increasing through the years. In recent years there has been a great interest in studying the properties of saffron (*Crocus sativus* L.), and its main active components. The aim of this research has been to characterize the quality parameters of saffron cultivated in different areas of the Spanish geography and in Iran in a comparative manner and also attending to its bioactive components. The results showed a high variability depending on the origin of the samples. Although in general the samples from Iran showed greater coloring power and higher levels of total polyphenols, the aromatic power showed better levels in some of the samples from Spain. In addition, the Spanish samples showed better levels of carotenoids and antioxidant activity as well as lower microbiological levels.

Keywords: Saffron, Antioxidant activity, Coloring Power, Polyphenols, Carotenoids.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1.	INTRODUCCIÓN.....	5
1.1.	Azafrán: taxonomía y características generales.....	5
1.2.	Obtención del azafrán comercial.....	6
1.3.	Importancia económica y social del azafrán.....	9
1.4.	Usos y propiedades del azafrán.....	14
1.5.	Calidad del azafrán.....	18
2.	OBJETIVOS.....	21
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1.	MATERIAL VEGETAL.....	22
3.2.	DETERMINACIONES ANALÍTICAS.....	23
3.2.1.	Determinación del contenido de humedad.....	23
3.2.2.	Determinación del poder colorante, poder amargo y poder aromático de las muestras de azafrán.....	24
3.2.3.	Extracción y cuantificación de la actividad antioxidante.....	24
3.2.4.	Cuantificación de los carotenos totales.....	27
3.2.5.	Cuantificación de los polifenoles totales.....	28
3.2.6.	Análisis microbiológico.....	29
3.2.7.	Análisis estadístico	29
4.	RESULTADO Y DISCUSIONES.....	30
4.1.	Contenido de humedad	30
4.2.	Poder colorante	31
4.3.	Poder de amargor.....	33
4.4.	Poder aromático	34
4.5.	Polifenoles totales	35
4.6.	Carotenos totales	36

4.7. Actividad antioxidante de la fase hidrosoluble.....38

4.8. Actividad antioxidante de la fase liposoluble.....39

4.9. Microbiología40

5. CONCLUSIONES.....43

6. BIBLIOGRAFÍA.....44



1. INTRODUCCIÓN

1.1. Azafrán: taxonomía y características generales

El azafrán es la especia más valiosa del mundo, debido a sus propiedades únicas y al trabajo minucioso que conlleva, ya que su producción es básicamente artesanal. Además, se necesita gran cantidad de flores para conseguir un kilogramo de azafrán, de hecho, se estima que hacen falta más de 170.000 flores para obtener solamente un kilogramo de azafrán seco.

El azafrán especia se obtiene de una planta perenne sin tallo, de una altura de entre 10 y 25 cm, que procede de la familia de las *Iridaceae*, del género *Crocus* y de la especie *Crocus sativus* L., según el Código Internacional de Nomenclatura Botánica (Alonso et al.,1988). Cabe destacar que esta planta sólo florece una vez al año y que la flor permanece abierta durante dos o tres días, en los cuales se deben recoger los estigmas de la flor del azafrán, que posteriormente se someten a un proceso de deshidratación o secado. De este modo, se obtiene el azafrán comercial, que consiste en los estigmas de color rojo secos con una pequeña porción de estilo amarillento agregado.



Fotografía 1. Planta del azafrán



Fotografía 2. Estigmas de azafrán secos (azafrán comercial)

1.2. Obtención del azafrán comercial

Para obtener el azafrán comercial, en primer lugar, se realiza la cosecha de las flores, para luego proceder a la separación de los estigmas del resto de la flor, proceso también conocido como monda. Una vez realizadas estas operaciones, que cabe destacar que básicamente se realizan de forma manual, debido a la dificultad de mecanización de éstas, se realiza la operación, probablemente, más importante, que es la deshidratación de los estigmas recogidos en la monda.

Cabe destacar que, la deshidratación se realiza por diferentes métodos en las distintas zonas o países de los que procede el azafrán, según las técnicas y maquinarias de las que dispone cada país. Así, por un lado, en países como Irán, India o Marruecos, generalmente, la deshidratación se realiza extendiendo los estigmas de azafrán en grandes superficies, exponiéndolas directamente al sol. También se puede dar el caso de extender los estigmas a la sombra en un lugar ventilado. Concretamente, en India, los estigmas se extienden en las grandes superficies directamente al sol durante tres o cinco días, tiempo en el cual se alcanza una humedad de entre ocho y diez por ciento (8-10%), según Nauriyal et al., (1997) y Sampathu et al., (1984). Cabe destacar que, en el área de Kashmir, India, una de las zonas más productoras del mundo actualmente, se opta primero por desecar la flor completa del azafrán para luego separar los estigmas (Hassnain, 1998).

Según Ait-Oubahou y El-Otmani (1999), en Marruecos, la deshidratación se realiza colocando los estigmas sobre telas en capas muy finas, dejándolas al sol durante dos horas. En el caso de que se extiendan a la sombra se tarda entre siete y diez días hasta alcanzar el grado de desecación deseado.

Por otro lado, en países europeos, como Italia, Grecia y España la deshidratación del azafrán se realiza mediante flujos de aire caliente o colocándolos sobre una fuente de calor.

En el caso de Italia, la deshidratación se realiza situando los estigmas en un cedazo colocado a 20 cm, aproximadamente, sobre ascuas de roble durante 15 o 20 minutos hasta alcanzar una humedad entre el 5 y el 20 por ciento. En este rango de humedad los estigmas poseen cierto grado de elasticidad al presionarlos con los dedos (Tammaro, 1999). En Cerdeña, Italia, antes de proceder a la deshidratación, se realiza otra operación, que es la "*feidatura*". La "*feidatura*" consiste en impregnar ligeramente los estigmas con aceite de oliva virgen. La cantidad de aceite que se utiliza es insignificante, ya que se utiliza un cuarto de una cucharilla de café por cada 100 gramos de azafrán fresco, pero es adecuada para mejorar el aspecto del azafrán y prologar su conservación. A continuación, el proceso de deshidratación se lleva a cabo extendiendo los estigmas sobre tablas de madera que, posteriormente, se sitúan al sol o en la chimenea durante el tiempo que permanezca la brasa. Por este método, el proceso de deshidratación dura una noche. Es importante saber que, actualmente, también se utilizan secaderos eléctricos equipados con un termostato a una temperatura de 45 °C.

En el caso de Grecia, tanto los estigmas como los estambres se extienden en una capa fina sobre bandejas con fondo de tela de seda. Posteriormente, estas bandejas se introducen en uno soportes verticales y, éstos a su vez, en habitaciones habilitadas para la deshidratación. Estas habitaciones se mantienen a 20 °C, para después elevarse a 30 – 35 °C, hasta que se alcanza una humedad final de 10- 11 %.

En España, concretamente, en Castilla - La Mancha, en la que hay una Denominación de Origen Protegida del Azafrán (D.O.P), la deshidratación se realiza extendiendo los estigmas en capas finas de 2 cm, aproximadamente, sobre cedazos de tela metálica o seda, que se someten a fuentes de calor como cocinas de gas butano, brasas de sarmiento y braseros eléctricos o a carbón por una duración de 30 minutos y a temperaturas superiores a 70 °C.

Otro método que se emplea para la deshidratación del azafrán es la liofilización. Este método proporciona una serie de ventajas con respecto a la deshidratación tradicional, como el mantenimiento del tamaño, la forma y el color de los estigmas. Sin embargo, el aroma se ve afectado por este método.

El empleo de la deshidratación por las diferentes técnicas descritas tiene un objetivo en común. Este objetivo es conseguir una humedad final reducida, que determina el final del proceso. Alcanzada la humedad deseada, el azafrán se debe almacenar en lugares protegidos de alta humedad relativa, de la luz, de la temperatura, del oxígeno y de largos períodos de almacenamiento, puesto que, estos factores están relacionados con la degradación del color y el aroma del azafrán y, por consiguiente, la calidad del producto será menor.

Cabe destacar que, en Cerdeña (Italia) el azafrán deshidratado, se almacena en contenedores metálicos o de vidrio opaco, para evitar la exposición a la luz y el oxígeno, durante 12 meses desde la producción, aproximadamente. No hay constancia de que se realicen controles de temperatura y humedad relativa, pero, con respecto a la humedad del producto final, cabe resaltar que, según los análisis realizados, la humedad del azafrán comercial no supera el 10 %.

Sin embargo, en Castilla - La Mancha (España), el azafrán se almacena en recipientes de plástico, bolsas de polietileno o cajas de cartón durante un año máximo desde su recolección en lugares secos y protegidos de la luz. Se realizan controles rigurosos sobre la temperatura y la humedad, cuyos valores deben estar comprendidos entre 5 - 10 °C y 30 - 50 %, respectivamente, con ayuda de termohigrómetros.

1.3. Importancia económica y social del azafrán

Los datos más recientes sobre la producción a nivel mundial del cultivo de azafrán fueron recogidos en el Primer Simposio Internacional sobre Biología y Biotecnología en el año 2003, los cuales se reflejan en la siguiente tabla. Podemos observar que el cultivo del azafrán, también llamado “oro rojo” ha experimentado a lo largo de la historia una disminución en unos países, como España y, un aumento en otros, como por ejemplo en Irán.

Tabla 1. Producción mundial del cultivo del azafrán.

País	Producción (Kg)
Irán	150000 - 170000
India	8000 - 10000
Grecia	4000 - 6000
Marruecos	800 - 1000
España	300 - 500
Italia	100
Turquía	10
Francia	4 - 5
Suiza	1

Fuente: Simposio Internacional de Biología y Biotecnología del azafrán (2003)

En este apartado, también se muestra la situación sobre la producción de azafrán en España e Irán, por lo que en las siguientes figuras se explican detalladamente los datos recogidos de los últimos años sobre el cultivo del azafrán en ambos países.

En el gráfico 1 se refleja la evolución comprendida entre los años 1930 y 2010 de la superficie en hectáreas, representada en color violeta y, la producción en kilogramos, en color amarillo, del azafrán en España. Podemos observar que se origina un importante descenso, tanto de la superficie cultivada como de la producción del azafrán, desde 1930 hasta 1950. A partir de mediados de 1950,

la superficie y la producción de este cultivo experimenta varias subidas y bajadas hasta el año 2010, último año del cual se dispone de datos. Cabe destacar que, desde el año 1990 la superficie y la producción fueron muy escasas, muy por debajo de 2000 hectáreas y de 20.000 Kg. En general, observando su evolución histórica podemos afirmar que el cultivo del azafrán se ha reducido extraordinariamente, alcanzando en 2011 sólo 150 hectáreas cultivadas, partiendo de las 11.282 hectáreas cultivadas en 1930.

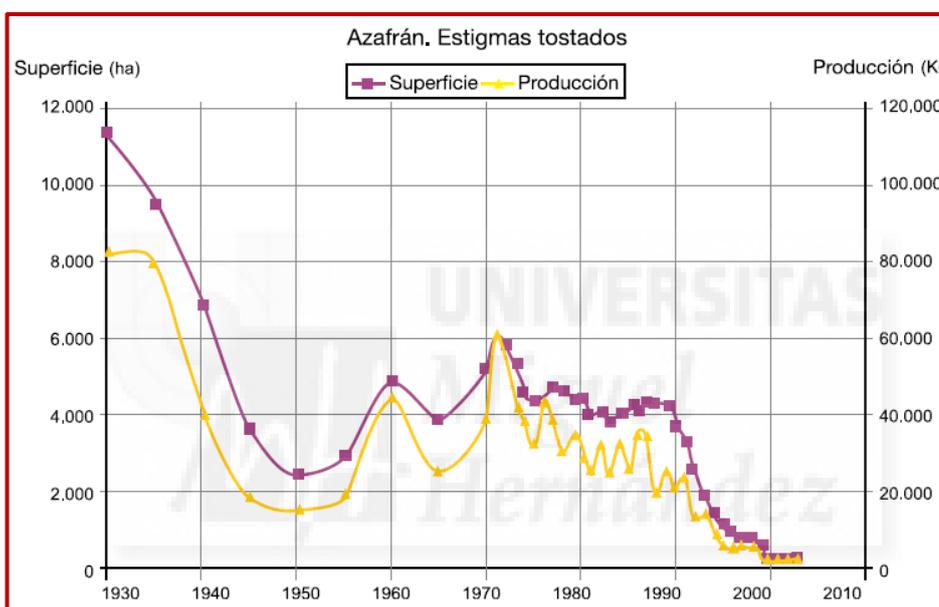


Gráfico 1: Evolución histórica de la superficie nacional (ha) y de la producción (kg) de azafrán en España. Fuente: Libro Blanco del Azafrán

Esta disminución ha ido aumentando con los años a pesar del alto precio alcanzado por el azafrán en el mercado mundial. De hecho, el azafrán con D.O.P La Mancha puede adquirirse hasta por 3000 € el Kg en el mercado mundial. A pesar de este alto precio, las principales razones de la disminución del cultivo son la escasez de mano de obra originada por el éxodo rural y la falta de mecanización, ya que hoy en día la recolección y monda de las flores de azafrán siguen realizándose de forma manual. Esto supone un alto coste

para los agricultores, sobre todo, para los agricultores europeos con respecto a terceros países. Es decir, que hay competencia con terceros países tanto en el ámbito de mano de obra como en el precio final de esta especia, ya que el azafrán procedente de estos países tiene un precio reducido con respecto al español, por lo que se importan grandes cantidades de este azafrán.

En la imagen 1, se refleja la producción del azafrán en toda España. Podemos observar que, la Comunidad Autónoma más productora de azafrán de España, con un 97% es Castilla - La Mancha. Aragón y Murcia también cultivan azafrán, pero en cantidades insignificantes en comparación con Castilla - La Mancha. Concretamente, se ha estimado un 1% de producción de azafrán en cada una de las dos Comunidades Autónomas, tal como se puede observar en la imagen.



Imagen 1. Distribución de la producción del azafrán en España
Fuente: Anuario de Estadística Agraria (MAGRAMA,2013)

La producción en cada una de las provincias de Castilla - La Mancha se puede observar en la siguiente figura. Albacete es la provincia que más azafrán cultiva, con un 82%. En mucha menor medida, Toledo, Cuenca y Ciudad Real solamente dedican un 8, 5 y 2% de la superficie al cultivo del azafrán, respectivamente.

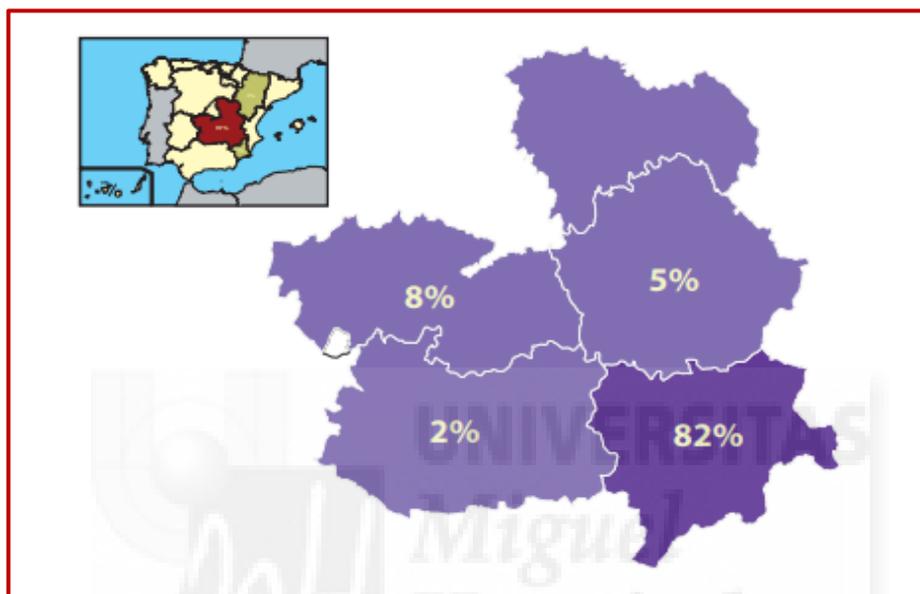


Imagen 2: Distribución de la producción de azafrán en Castilla - La Mancha. Fuente: Anuario de Estadística Agraria (MAGRAMA,2013)

Según los datos recogidos en el Codex Alimentarius, tanto en la tabla 2 como en el gráfico 2, se muestran los datos referentes a la producción y a la superficie destinada, en toneladas y hectáreas, respectivamente, de azafrán cultivado en Irán entre el periodo comprendido entre 2010 y 2015. Como podemos observar en el gráfico, la producción ha aumentado ligeramente desde al año 2010, para alcanzar la mayor producción en el periodo comprendido entre 2013 - 2014 con 311.073 toneladas. Cabe destacar que, en el año 2014 - 2015 la producción ha disminuido con respecto al año anterior. En cuanto a la superficie destinada al cultivo de azafrán en Irán, podemos observar que ha aumentado ligeramente cada año, alcanzándose 87.93 hectáreas en el año 2014 - 2015.

Tabla 2. Evolución de la producción, en toneladas, y de la superficie destinada, en hectáreas, de azafrán en Irán desde 2010 a 2015.

Año de cosecha	Producción (toneladas)	Superficie cultivada (ha)
2010 - 2011	239,244	67,297
2011 - 2012	254,06	73,118
2012 - 2013	261,52	79,394
2013 - 2014	311,073	84,738
2014 - 2015	280,323	87,93

Fuente: Codex Alimentarius

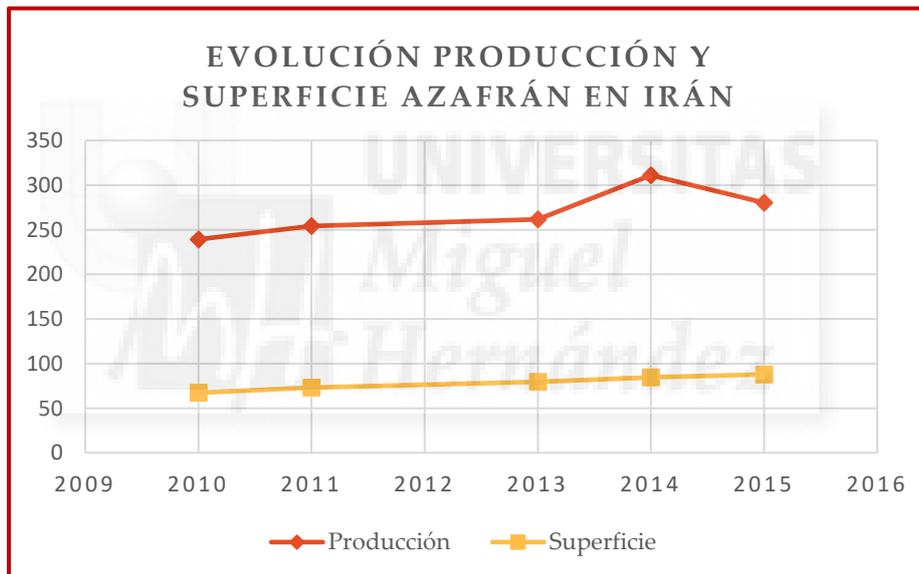


Gráfico 2: Evolución de la producción, en toneladas, y de la superficie, en hectáreas, de azafrán en Irán desde 2010 a 2015 presentada gráficamente. Fuente: Codex Alimentarius

1.4. Usos y propiedades del azafrán

Antiguamente, el azafrán especia tenía una multitud de usos, desde su utilización como cosmético para las mujeres persas hasta su uso como tinte en prendas, como las túnicas de color amarillo que vestían líderes políticos y religiosos persas, babilónicos y egipcios. También destaca su uso en la medicina tradicional, ya que hay constancia de que se empleaba como antiespasmódico, estimulante, afrodisíaco, abortivo, entre otros, según Basker y Negbi, (1983) y Ríos et al., (1996).

Actualmente, el uso del azafrán especia reside principalmente en el uso alimentario por sus interesantes propiedades colorantes, aromatizantes y saborizantes. De hecho, el azafrán forma parte de platos tradicionales mediterráneos como la *Paella* en España, *Bouillabaise*, un plato tradicional procedente de la región de Provenza, Francia y el *Risotto alla milanese*, un arroz meloso con queso típico de Italia.

Más allá del uso alimentario, existen numerosos estudios realizados con diversos componentes del azafrán para constatar su actividad biológica. De hecho, diversos estudios se centran en un componente en concreto, la crocetina (carotenoide presente en el azafrán), que pretenden demostrar sus efectos positivos sobre el sistema cardiovascular, de los cuales destaca el estudio de Gainer, J. L.; Jones, J. R., (1975) o para demostrar su actividad antitumoral y anticarcinogénica. Para ello, se han realizado ensayos in vitro en in vivo, utilizando ratones, según apuntan los estudios de Panikkar, (1990); Abdullaev, (1993), (2002); y Abdullaev y Frenkel, (1999).

1.5. Principales compuestos del azafrán

En los estigmas de la planta *Crocus sativus* L. existen numerosos compuestos, de los cuales los más importantes son los carotenoides, en los que se incluyen la crocina y la crocetina; los aldehídos, como la picrocrocina; y los compuestos aromáticos, de los cuales el principal componente es el safranal. La crocina, compuesto químico exclusivo de la flor de especies de *Crocus* y *Gardenia jasminoides*, es el principal carotenoide responsable del poder colorante de la especia del azafrán. Cabe destacar que, la crocina, cuya estructura química se puede observar en la imagen 3, es un éster formado por un disacárido (gentiobiosa, compuesto por dos unidades de glucosa unidas por enlace glucosídico β 1 \rightarrow 6) y un ácido dicarboxílico, que es la crocetina.

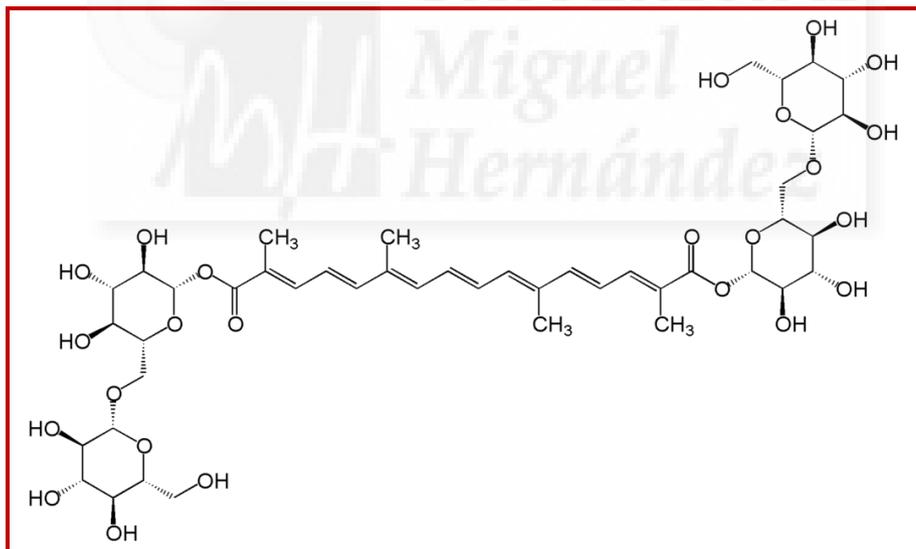


Imagen 3. Estructura química de la crocina, cuya fórmula química es $C_{44}H_{64}O_{24}$

Respecto a la picrocrocina, un aldehído derivado de la zeaxantina cabe resaltar que, es el compuesto químico responsable del poder de amargor del azafrán. González Castañón, (2011) afirma que la picrocrocina también es un compuesto que favorece las secreciones gástricas, al igual que la crocina estimula la secreción de bilis en el hígado, con lo cual se consigue una mejor digestión.

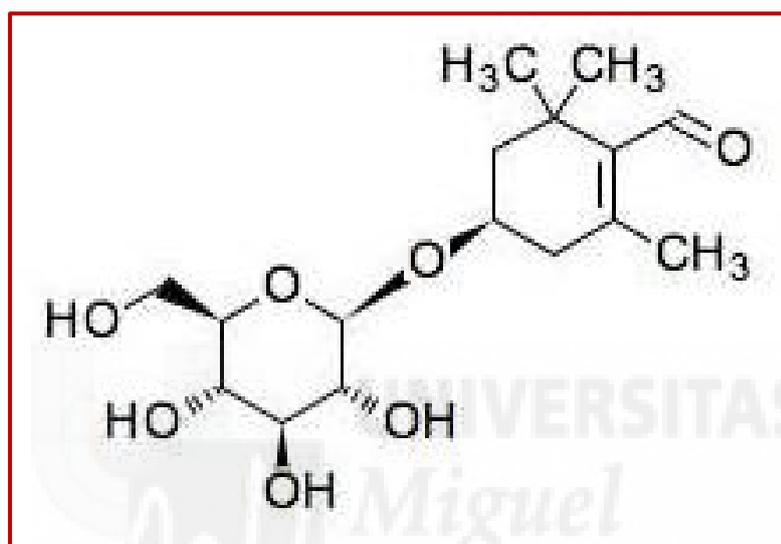


Imagen 4. Estructura química de la picrocrocina, cuya fórmula molecular es $C_{16}H_{26}O_7$

El principal componente de la fracción aromática de la especia del azafrán es el safranal (imagen 5), ya que representa 70% de dicha fracción. Se trata de un compuesto químico que se forma durante el proceso de deshidratación de los estigmas del azafrán. Varios artículos (Himeno y Sano, 1987; Iborra et al., 1992; Lozano et al., 1999) afirman que el safranal se sintetiza a partir de la picrocrocina durante el proceso de deshidratación por dos vías distintas, las cuales son: síntesis química, debido a las altas temperaturas que se alcanzan o, por síntesis enzimática llevada a cabo por la acción de enzimas glicosidasas.

En la imagen 5 se muestra de forma esquemática las dos vías de síntesis propuestas del safranal a partir de picrocrocina. La parte derecha de la imagen se corresponde con la síntesis química del safranal, mientras que en la parte izquierda se muestra la síntesis enzimática, llevada a cabo por las glicosidasas, concretamente, la enzima β -glicosidasa. Es importante destacar que, en la síntesis enzimática, se forma primero un compuesto intermedio, que es el HTCC o 4-hidroxi-2,6,6-trimetil-1,3-ciclohexadien-1-carbaldehído, y a partir de éste se forma el safranal.

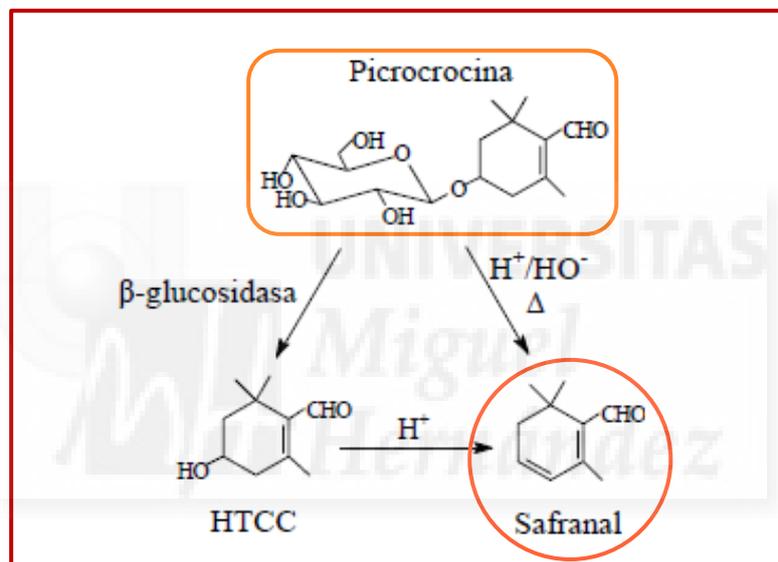


Imagen 5. Síntesis enzimática y química del safranal a partir de la picrocrocina. Fuente Himeno y Sano, (1987)

1.6. Calidad del azafrán

Respecto a la calidad de la especia de azafrán cabe destacar que la normativa aceptada a nivel mundial en el control de calidad del azafrán es la Norma ISO 3632, creada en 1975 y actualizada en el año 2011. Esta norma establece una clasificación del azafrán en tres distintas categorías, categoría I, I y III, según el grado de cumplimiento de las características especificadas en la norma que presenta dicha especia. Las características de las distintas categorías se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 3. Características y especificaciones de las distintas categorías de la especia del azafrán

Características		Categoría	Categoría	Categoría
		I	II	III
% máximo de restos florales		0,5	3	5
% máximo de materia extraña		0,1	0,5	1
% máx. en Humedad y materia volátil	Azafrán en hebras	12	12	12
	Azafrán molido	10	10	10
% máx. sobre materia seca de cenizas totales		8	8	8
% máx. sobre materia seca de cenizas insolubles en ácido		1	1	1,5
% máx. sobre materia seca solubilidad en agua fría		65	65	65
Poder colorante $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 440 nm.	Mínimo	190	150	100
Poder amargo $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 257 nm	Mínimo	70	55	40
Poder aromático $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 330 nm.	Mínimo	20	20	20
	Máximo	50	50	50
Colorantes ácidos artificiales hidrosolubles		Ausencia	Ausencia	Ausencia

Fuente: Norma ISO 3632 (2011)

Es interesante saber que la Norma ISO 3632 del 2011, se ha revisado varias veces en distintos años, siendo esta última la versión actualizada. El objetivo de todas las revisiones realizadas fue con el fin de poder certificar el azafrán, en base a todos los parámetros exigidos, en la mayoría de las transacciones comerciales internacionales. Además, el cumplimiento de dicha Norma de los azafranes comerciales facilita la detección de adulteraciones, así como, la desaparición de azafrán de muy baja calidad.

Respecto a las adulteraciones en el azafrán, cabe mencionar que han sido y todavía pueden ser frecuentes debido al alto precio que puede alcanzar esta especia en el mercado mundial. De hecho, el azafrán D.O.P de La Mancha puede alcanzar los 3000 €/Kg, como ya se ha mencionado en apartados anteriores, sin embargo, este precio todavía puede superarse por el azafrán D.O.P de Teruel, que puede adquirirse por 5000 €/Kg.

Las formas más frecuentes que se han utilizado para adulterar el azafrán comercial se recogen en la tabla 4 de la página siguiente.

Tabla 4. Adulteraciones más frecuentes en el azafrán comercial

ADULTERACIONES DEL AZAFRÁN COMERCIAL	
Sin adición de sustancias extrañas	Mezcla con azafrán extractado o viejo
Adición de otras partes de la planta de azafrán	Adición de estambres cortado en tiras y teñido
Adición de sustancias que aumentan la masa	Incremento de la humedad
	Impregnación con jarabes, miel o glicerina
Adición de partes de otras plantas	Adición de sulfato de bario, sodio y calcio, carbonato cálcico, hidróxido de potasio, nitrato de potasio, tartrato (doble) de potasio y sodio, borato de sodio, lactosa, almidón o glucosa.
	Estigmas de otras especies de <i>Crocus</i> , generalmente más cortos y sin propiedades tintóreas (<i>Crocus vernus</i> , <i>Crocus speciosus</i> , etc.)
	Estambres de algunas especies de clavel
	Pimiento rojo molido
	Cúrcuma
	Plantas herbáceas cortadas en trozos y coloreadas con un colorante azoico
	Raicillas de <i>Allium porrum</i>
	Flores de <i>Papaver rhoeas</i> , <i>Punica granatum</i> , <i>Arnica montana</i> y <i>Scolimimus hispanicus</i> cortadas en tiras.
Flores de <i>Carthamus tinctorius</i> , <i>Calendula officinalis</i> .	
Adición de sustancias animales	Fibras de carne salada y desecada
Adición de productos artificiales	Hilos de gelatina coloreadas
Adición de colorantes orgánicos	Amarillo de martins, tropeolina, fucsina, ácido pícrico, tartracina, eritrosina, azorrubina, amarillo anaranjado, etc.

2. OBJETIVO

En la actualidad, el azafrán es principalmente valorado por su uso alimentario, formando parte de recetas tradicionales en diferentes latitudes como en España la paella, el *lussekatter* en Suecia el *tagine* en Magreb, el *halva* en India o el *tahdig* en Irán. Cada vez están siendo más valoradas sus numerosas propiedades biomédicas y en los últimos años su cultivo y demanda ha aumentado debido a un mayor interés del consumidor por el uso aditivos naturales.

En la última década numerosas revisiones científicas resaltan las propiedades biomédicas y farmacológicas del azafrán o sus metabolitos principales (Festuccia et al., 2014; Bolhassani et al., 2014). Sin embargo, en la mayoría de los estudios sobre la bioactividad del azafrán se observa una falta de caracterización de la muestra de partida atendiendo a sus características organolépticas, así como a su calidad funcional. Además, tanto calidad organoléptica como funcional pueden verse alteradas por los diferentes métodos de producción, manipulación y secado de este producto que suelen diferir según el lugar de procedencia. Por ello y con el fin de determinar la influencia del manejo de este producto en distintas latitudes, el objetivo general de este Trabajo Final de Grado será evaluar la calidad general de distintas muestras de azafrán obtenidas en distintos puntos de la geografía española e iraní atendiendo a sus propiedades colorantes, saborizantes y aromatizantes además de evaluar distintos parámetros relacionados con sus propiedades funcionales.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal

Las distintas muestras comerciales de azafrán (*Crocus sativus* L.) sobre las que se realizaron los distintos ensayos que se recogen en este Trabajo Final de Grado fueron suministradas por distintas empresas de España e Irán. Para evaluar la calidad del azafrán español se obtuvieron muestras de las principales denominaciones de origen nacionales procedentes de Albacete, Teruel y Mallorca enviadas por los productores de origen. A su vez se recibieron 5 muestras procedentes de cinco distintas regiones de Irán: Neyshabour, Mashhad, Bardaskan, Bajestan y Firouzeh, situadas al Noroeste de dicho país, tal como se puede observar en la siguiente imagen.



Imagen 6. Mapa de Irán.



Fotografía 3. Muestras de azafrán recepcionadas en el laboratorio procedentes de distintas regiones de Irán. 1: Neyshabour, 2: Mashhad, 3: Bardaskan, 4: Bajestan, 5: Firouzeh.



Fotografía 4. Muestras de azafrán recepcionadas en el laboratorio procedentes de distintas regiones de España. De izquierda a derecha podemos encontrar las muestras de Mallorca, Albacete y Teruel

3.2. Determinaciones analíticas

Una vez recibidas las muestras en el laboratorio de post-recolección de la UMH se procedió a realizar en fresco en cada uno de los lotes de cada región las distintas determinaciones analíticas que se detallan a continuación.

3.2.1. Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad de las muestras a analizar se determinó siguiendo el método oficial AOAC (2005), mediante una estufa modelo P. Selecta (Barcelona, España). El contenido de humedad de las muestras se realizó en la estufa a 105°C hasta peso constante. Los resultados se expresaron en % (g de agua/100 g de muestra).

3.2.2. Determinación del poder colorante, poder amargo y poder aromático de las muestras de azafrán

Cada una de las muestras de azafrán se evaluó tomando 10 mg de cada una de las muestras según describen Álvarez y Mallor, (2009). Para ello las muestras se mantuvieron en maceración con 100 mL de agua destilada durante 24 horas en oscuridad. Transcurrido este tiempo se realizaron medidas espectrofotométricas utilizando un espectrofotómetro modelo Uvikon Xs, Bio-Tek. La absorbancia a 442 nm sirve para medir el poder colorante (que se corresponde con el contenido en crocina) siguiendo la ecuación propuesta por Alonso et al., (1990). Asimismo, el poder amargo y aromático se obtuvieron siguiendo la ecuación descrita por Corradi y Micheli (1979) evaluándose los extractos a 257 y 297nm en el caso del poder amargo y a 327 nm para el poder aromático.

3.2.3. Extracción y cuantificación de la actividad antioxidante

Para la realización de las extracciones y posteriores cuantificaciones de la actividad antioxidante, en tubos anchos de centrífuga se introdujeron: 0,5 g de muestra en fresco de cada una de las muestras de azafrán con 10 ml de tampón fosfato y 15 ml de etil acetato. Los tubos permanecían en el interior de una bandeja con hielo picado para evitar que las muestras se degradaran. Las muestras se homogeneizaban en un Polytron (fotografía 5) a 9500 r.p.m durante 60 segundos en tubos específicos para centrifugar (que fueron previamente pesados para que tuvieran pesos similares). Se colocaron los tubos en la centrífuga modelo C30P CENTRIFUGE, B.Braun, Biotech (fotografía 6) a 20.000 r.p.m. durante 15 minutos a 4°C. Una vez centrifugadas las muestras, se separaban las dos fases para su posterior análisis. Se obtuvieron dos fases (hidrosoluble y liposoluble). Estas fases fueron llevadas a sus respectivos tubos Eppendorf. Todos estos tubos fueron numerados, diferenciados y congelados para su posterior utilización. De cada una de las muestras se realizaron tres extracciones.



Fotografía 5. Polytron utilizado para la homogeneización de las muestras.



Fotografía 6. Centrifuga C30P CENTRIFUGE utilizada para realizar las extracciones.

La determinación de la capacidad antioxidante total (AAT) se llevó a cabo según el método de Cano et al., (1998), adecuado posteriormente por Arnao et al., (2001), para la determinar la AAT en la fase hidrosoluble (FH) y en la fase liposoluble (FL). Este método se basa en la cuantificación del incremento en la absorbancia medida a una longitud de onda de 730 nm que se produce por la adición de la enzima peroxidasa. Para la determinación de la AAT en la FH se introdujo, en dos cubetas desechables, los siguientes compuestos: en primer lugar, 890 μL de tampón Glicina-HCl 50 mM de pH 4,5; a continuación 30 μL de ABTS 5 mM, 30 μL de H_2O_2 0,5 mM y por último se añadieron 25 μL de peroxidasa "horse radish sigma" 5 μM . Una vez preparadas las dos cubetas, se realizó un autocero en el espectrofotómetro, modelo Uvikon XS, Bio-Teck Instruments (Fotografía 7) utilizando un blanco, a una longitud de onda de 730 nm. Tras añadir a todas las cubetas 25 μL de peroxidasa "horse radish sigma" 5 μM y se midió la absorbancia en ese primer instante, lo que se determina absorbancia inicial. Por último, se añadió, en la cubeta que ya contenía la peroxidasa, 25 μL de extracto hidrosoluble y se midió igualmente la absorbancia cada 30, 60 y 90 segundos desde la adición de la muestra. Con la adición de los antioxidantes que contiene la muestra, disminuyen los radicales ABTS° que se habían generado previamente, por lo que se produce un descenso de la absorbancia que es proporcional a la cantidad de antioxidantes presentes en la muestra. Las medidas de absorbancia se llevaron a cabo en un espectrofotómetro modelo Uvikon XS, Bio-Tek Instruments. Los resultados de este trabajo derivan de las mediciones realizadas tras 60 segundos.

La AAT de la FL se cuantificó de manera similar. Se introdujo en dos cubetas desechables, los siguientes compuestos: en primer lugar 25 μL de ABTS 5 mM, 25 μL de H_2O_2 0,5 mM, 25 μL de peroxidasa "horse radish sigma" 5 μM y 880 μL de Etanol. Una vez preparadas las dos cubetas, se

realizó el cero en el espectrofotómetro utilizando un blanco, a una longitud de onda de 730 nm. A continuación, se añadió a todas las cubetas 25 μ L de extracto liposoluble más 850 μ L de Etanol, para que pudieran solubilizarse los compuestos presentes en la fracción liposoluble de los extractos y se midió la absorbancia en ese primer instante. Posteriormente se midió igualmente la absorbancia cada 30, 60 y 90 segundos desde la adición de la muestra. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos transcurridos 60 segundos.



Fotografía 7: Espectrofotómetro Uvikon XS

En ambos casos la AAT se expresó como mg equivalentes de trolox por 100 g de peso fresco, ya que este compuesto, un análogo estructural de la vitamina E, es soluble tanto en disolventes orgánicos como inorgánicos. Para ello se realizaron rectas de calibrado con cantidades conocidas de trolox, tanto en medio de tampón glicina como en medio etanólico y que se usaron para cuantificar la AAT en la FH y FL, respectivamente. Para cada una de las extracciones la cuantificación se realizó por duplicado y los datos son la media \pm ES.

3.2.4. Cuantificación de los carotenos totales

En el caso de los carotenos totales la determinación espectrofotométrica se realizó a 450 nm. de longitud de onda, y en cubetas de cuarzo. En este caso se realizó la determinación de carotenos a partir de la fracción liposoluble de la extracción mencionada anteriormente.

3.2.5. Cuantificación de los polifenoles totales

El método empleado fue el descrito por Wood et al., (2002), con ligeras modificaciones. Este método se basa en la medida de la absorbancia para la posterior comparación con una recta de calibrado construida con las medidas de absorbancia correspondientes a distintas concentraciones de un patrón de contenido en fenoles totales conocido. En este caso, el patrón empleado fue el pirogalol.

Se prepararon 2 tubos de ensayo por cada extracción. En cada uno de los tubos, se añadieron 2,5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu 1/10 (100 mL de Folin-Ciocalteu + 900 mL H₂O ultrapura). A continuación, se añadieron, 25 µL de la extracción obtenida de las muestras de azafrán. En ambos casos se añadió tampón fosfato 50 mM pH 7,8 hasta completar un volumen de 500 µL y se agitó. Al cabo de 2 minutos de reposo, la reacción se paró con la adición de 2 mL de Na₂CO₃, se volvió a agitar y se introdujeron los tubos de ensayo durante 5 minutos en un baño a 50°C.

Finalmente se vertió cada una de las muestras en cubetas y se introdujeron en el espectrofotómetro modelo Uvikon XS, Bio-Tek Instruments donde la absorbancia producida por la coloración azul fue medida a 760 nm. Los resultados se expresan en mg por 100 g de peso fresco y son la media ± ES de las determinaciones realizadas por duplicado en cada una de las extracciones realizadas en cada muestra.

3.2.6. Análisis microbiológicos

Para los ensayos microbiológicos se utilizó 1 gramo de hebras de azafrán por triplicado. Este tejido fue tomado al azar bajo condiciones de esterilidad (Camara de flujo laminar, guantes y pinzas) y homogeneizado en 99 mL de agua de peptona usando un stomacher (modelo Seward, Laboratory Blender Stomacher 400, London, U.K.).

Tras la realización de distintas diluciones seriadas se añadió 1 mL de solución a una placa de agar nutritivo para recuentos de microorganismos aerobios mesófilos y para recuentos de mohos y levaduras (Petrifilm Aerobic and Yeast and Mold Count Plates, Laboratories 3M, Santé, France). Las muestras se prepararon en duplicado. Las placas se incubaron durante 3 días a 30 °C y 5 días a 25 °C para los microorganismos aerobios mesófilos y mohos y levaduras respectivamente.

3.3. Análisis estadístico

En todos los experimentos realizados se ha utilizado un diseño completamente aleatorio. Las diferencias entre las distintas muestras de azafrán se han estudiado mediante análisis de la varianza. Cuando las diferencias mostradas por las distintas muestras han resultado ser significativas, las medias se han separado mediante el Test Tuckey. Todos los análisis se han realizado con el Software SPSS v. 12.0.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Contenido de humedad de las muestras de azafrán

En la figura 1, se puede observar el porcentaje de humedad calculado para las muestras iraníes y las muestras españolas. En base a los resultados obtenidos referentes a las muestras iraníes, se puede observar que el azafrán de Firouzeh presenta el mayor porcentaje de humedad, con un 6,3 %, mientras que, en las restantes muestras iraníes, podemos decir que, presentan una humedad similar. En cuanto a las muestras de origen español, la humedad del azafrán de Mallorca es ligeramente superior al de Albacete, con 3 y 2,6 %, respectivamente. Cabe destacar que el azafrán de Teruel es que menor humedad presenta de todas las muestras, con 1,3 %.

En el proceso de secado del azafrán se produce una gran pérdida de masa fundamentalmente debido a la eliminación casi total del agua contenido en el producto fresco lo que explicaría los bajos contenidos en humedad presentes en la muestra y que por otro lado proveen al azafrán de una mayor estabilidad. Sin embargo, mientras que los contenidos entre el 2-6% de la mayor parte de las muestras indicarían que el secado se ha hecho de forma tradicional, cuando los niveles de humedad son menores indicarían que el proceso de secado se ha realizado en estufa (Álvarez y Mallor, 2009).

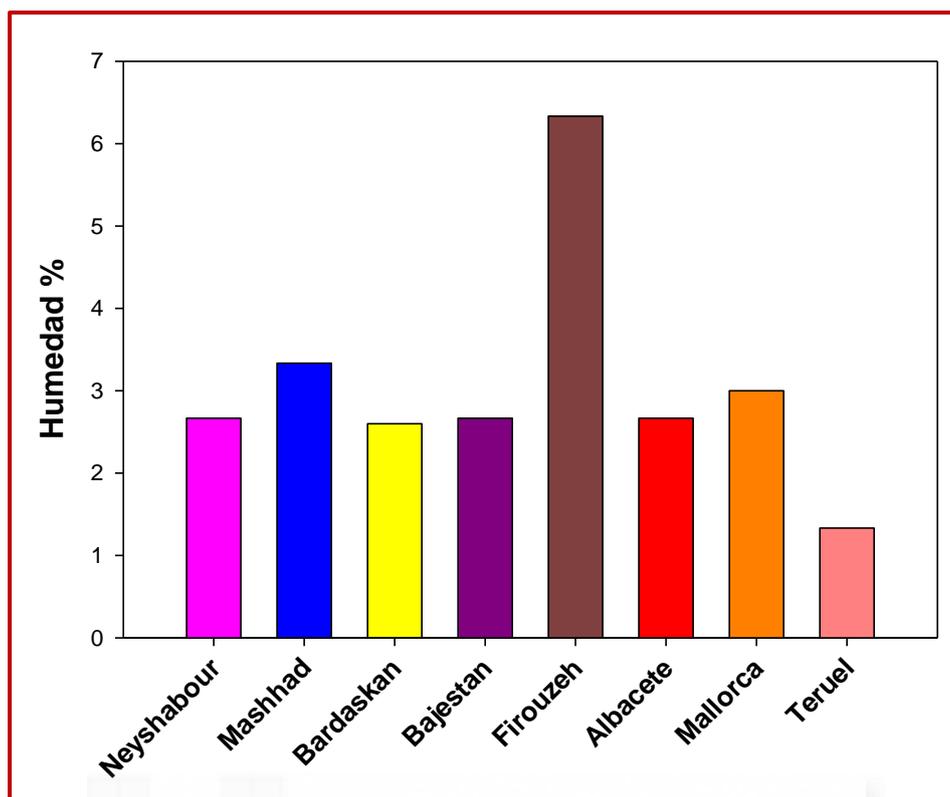


Figura 1. Contenido de humedad (%) de las distintas muestras de azafrán procedentes de diferentes localizaciones iraníes y españolas.

4.2. Poder colorante de las muestras de azafrán

En la siguiente figura se refleja el poder colorante, expresado en porcentaje de crocina, de las diferentes muestras de azafrán de origen iraní y español. Podemos observar que, de todas las muestras de origen iraní, la muestra procedente de Bardaskan es la que mayor porcentaje de crocina presenta ($9,44 \pm 0,14$) y, por tanto, mayor poder colorante tiene. Las muestras procedentes de Neyshabour y Bajestan también muestran niveles de poder colorante bastante altas. En las muestras de azafrán de origen español, podemos observar, que la muestra con mayor porcentaje de crocina es aquella procedente de Teruel ($8,23 \pm 0,1$), seguida de la muestra procedente de Albacete. Sin embargo, la

muestra comercial procedente de Mallorca mostró los niveles más bajos de crocina en las muestras evaluadas.

El poder colorante del azafrán viene derivado principalmente de su contenido en crocina. A su vez, la expresión del gen que estimularía la síntesis de este compuesto parece restringirse tan solo a los tejidos del estigma y está favorecida por las condiciones de estrés por deshidratación, es decir, las condiciones tanto ambientales de producción como las del secado que podrían estar afectando a la expresión del gen y por tanto la procedencia sería un factor determinante en el contenido de esta sustancia (Rubio et al., 2004).

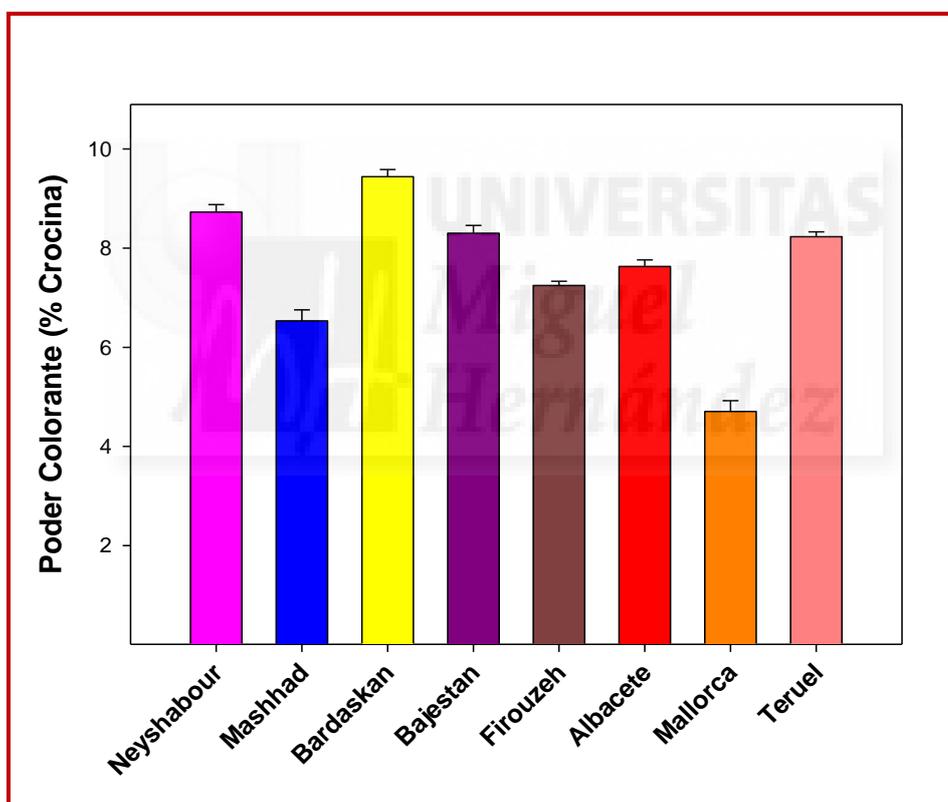


Figura 2. Poder colorante (% Crocina) en las distintas muestras de azafrán recolectadas en diferentes localizaciones iraníes y españolas.

4.3. Poder de amargor de las muestras de azafrán

Con respecto al poder de amargor de todas las muestras evaluadas de azafrán, tal como se puede observar en la figura 3, la muestra procedente de Neyshabour es la que mayor amargor presenta, seguida de Bajestan. Con respecto a las muestras procedentes de España, cabe destacar, que tanto la procedente de Albacete como de Mallorca, presentan un nivel de amargor similar alcanzando los mayores niveles con respecto al resto de muestras españolas. De hecho, la muestra de azafrán de Teruel presenta un menor poder amargo con respecto a las dos muestras anteriores.

El poder amargo del azafrán viene determinado principalmente por el contenido en picrocrocina (Fernández, 2004). El contenido de este compuesto y sus derivados son componentes responsables del sabor amargo y al igual que en el caso del contenido en crocina es dependiente tanto del lugar de origen como de las condiciones de secado influyendo de forma decisiva en la concentración que se puede encontrar en el azafrán (Carmona et al., 2006).

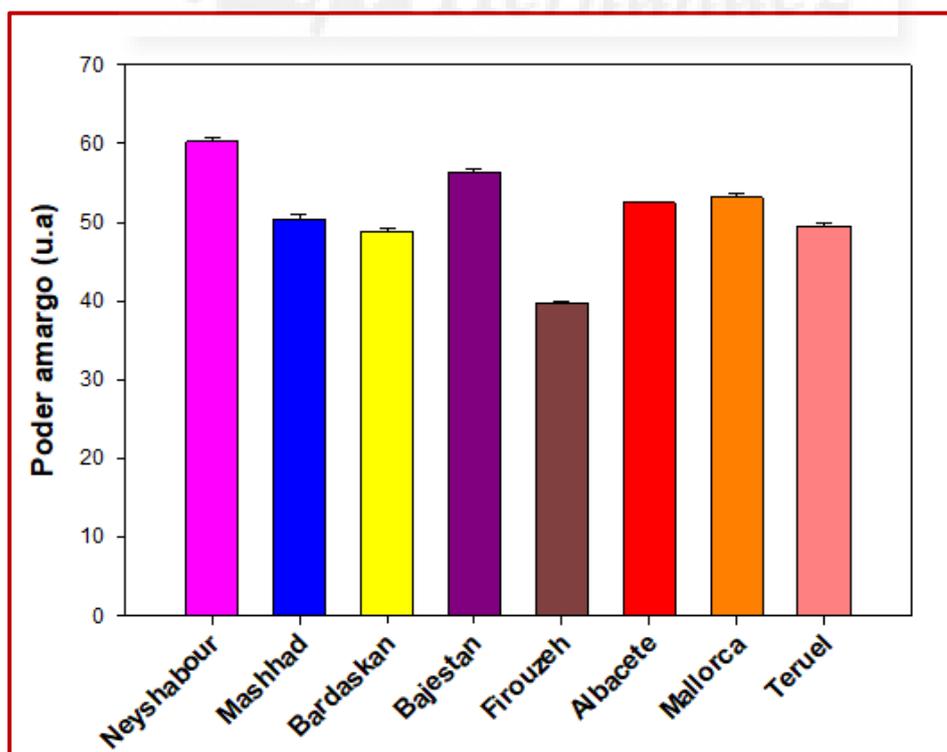


Figura 3. Poder de amargor en las distintas muestras de azafrán recolectadas en diferentes localizaciones iraníes y españolas.

4.4. Poder aromático

Con respecto al poder aromático, en la figura 4 se refleja este parámetro tanto en las muestras de origen iraní como en las muestras de origen español. Podemos observar que, de todas las muestras de origen iraní, la que mayor poder aromático presenta es la muestra procedente de Bardaskan. Para las muestras de origen español, cabe destacar que la que mayor poder aromático tiene es la muestra de azafrán de Teruel, mostrando niveles significativos superiores con respecto al resto de muestras estudiadas tanto de las que proceden de Irán como de España.

El poder aromático viene determinado en el azafrán principalmente por su contenido en safranal, y este es un derivado de la picrocrocina por lo que la concentración de este compuesto también está determinada tanto por las condiciones ambientales como por las condiciones de secado (Carmona et al., 2006). Es decir, tanto las condiciones de estrés hídrico durante la producción de esta especia como la intensidad del secado posterior podría estar estimulando la concentración de safranal y por tanto el poder aromático.

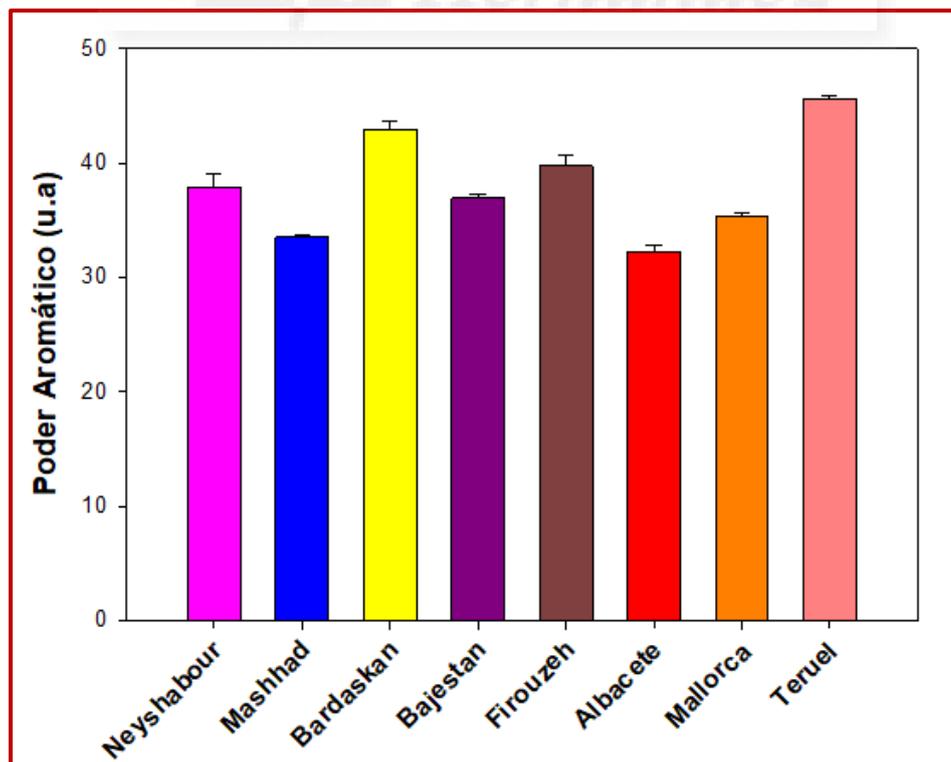


Figura 4. Poder aromático (u.a) en las distintas muestras de azafrán recolectadas en diferentes localizaciones iraníes y españolas.

De hecho, el que la muestra con menor contenido en humedad procedente de Teruel a su vez exhiba el mayor poder aromático confirmaría este hecho.

4.5. Polifenoles totales

Respecto a los polifenoles totales, en la figura 5, podemos observar las respectivas cantidades encontradas tanto de las muestras procedentes de Irán como de España. Cabe destacar que, de todas las muestras procedentes de Irán, la que mayor contenido en polifenoles tiene es la de Neyshabour, con 1552 ± 28 mg por cada 100 g de azafrán. Las muestras restantes procedentes de Bardaskan, Firouzeh y Mashhad presentan un contenido de polifenoles similares, mientras que la muestra de Bajestan es la que menor contenido tiene. En cuanto a las muestras españolas, cabe destacar que el azafrán de Teruel es la que mayor contenido en polifenoles presenta, diferenciándose claramente de las muestras procedentes de Albacete y Mallorca.

Los niveles de polifenoles totales encontrados en las muestras iraníes y españolas son ligeramente superiores a los niveles encontrados por Baba et al., (2015) en muestras de azafrán procedentes de India, y similares a los encontrados por Karimi et al., (2010) para azafranes procedentes de Irán, Turquía y Grecia. Los fenoles son compuestos aromáticos del metabolismo secundario de las plantas, que se encuentran en cantidades relativamente importantes en el azafrán, pudiendo contribuir a sus propiedades sensoriales, así como a sus propiedades antioxidantes, anticarcinogénicas, antimicrobianas, antimutagénicas y antiinflamatorias, por lo que el azafrán podría considerarse como una especia beneficiosa para la salud (Karimi et al., 2010).

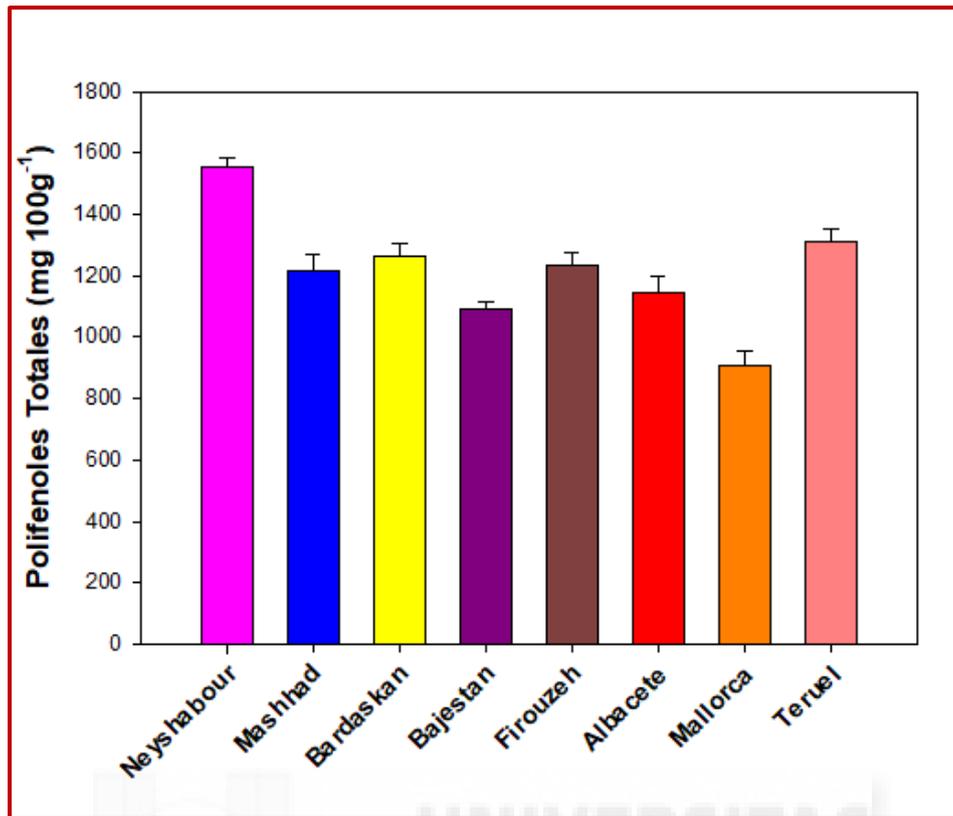


Figura 5. Polifenoles totales (mg/100 g) de las distintas muestras de azafrán procedentes de diferentes localizaciones iraníes y españolas.

4.6. Carotenos totales

En la siguiente figura, se reflejan los carotenos totales obtenidos, expresados en mg por cada 100 g de azafrán, tanto de las muestras iraníes como españolas. Como podemos observar, las muestras procedentes de Bajestan, seguida de Bardaskan y Neyshabour son las que mayor contenido de carotenos totales presentan. Respecto a las muestras españolas, cabe destacar que, el azafrán de Albacete es la que mayor contenido en carotenos totales tiene, con $(58 \pm 4 \text{ mg}/100 \text{ g})$, mientras que la que mostró niveles más bajos fue el azafrán procedente de Mallorca.

Los carotenoides más importantes en el azafrán son crocina y picrocrocina, los cuales exhiben importantes propiedades antioxidantes. Concretamente y

según estudios realizados anteriormente, la crocina tendría tal actividad funcional que está considerándose como una molécula que podría aplicarse para el tratamiento de distintos tipos de cáncer (Rahaiee et al., 2015). Asimismo, los niveles de carotenoides totales que se muestran en la revisión de Rahaiee et al., (2015) así como en los encontrados por Baba et al., (2015) son similares a los encontrados en las distintas muestras evaluadas en este estudio, menos en el caso de las muestras españolas procedentes de Mallorca y Teruel cuyos niveles serían sensiblemente más bajos.

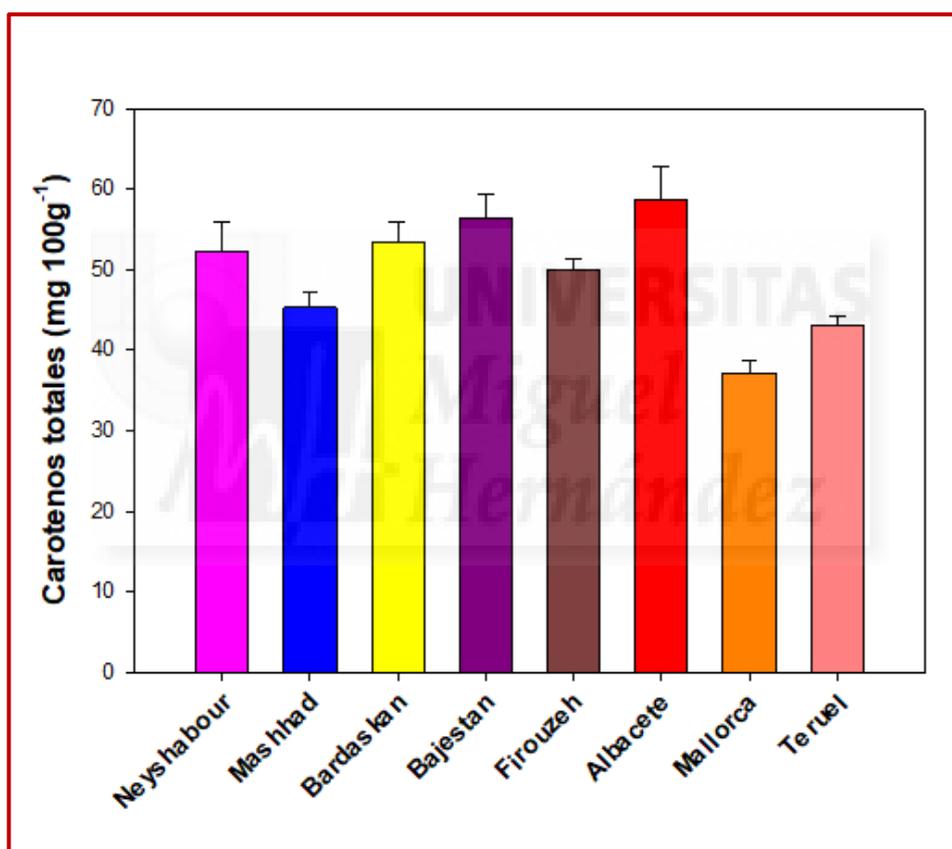


Figura 6. Carotenos totales (mg/100 g) de las distintas muestras de azafrán procedentes de diferentes localizaciones iraníes y españolas.

4.7. Actividad antioxidante de la fase hidrosoluble

En cuanto a los datos obtenidos sobre la actividad antioxidante (AAT) de la fase hidrosoluble de las muestras de azafrán iraníes y españolas expresada en mg equivalentes de trolox, se puede observar en la siguiente figura que las muestras procedentes de Bajestan y Firouzeh mostraron una mayor actividad antioxidante que el resto de las muestras iraníes. En cuanto a las muestras españolas, cabe destacar que el azafrán procedente de Albacete presenta la mayor actividad antioxidante, con 1693 ± 133 mg equivalentes de trolox por 100 g de azafrán, tanto sobre las muestras de Mallorca y Teruel como sobre las muestras iraníes.

La AAT de la fase hidrosoluble se atribuye principalmente a la presencia de compuestos hidrofílicos con propiedades antioxidantes, como los fenoles y la vitamina C (Kalt et al., 2001; Karakaya, 2004). Sin embargo, en el caso del azafrán el contenido en crocina también ha de tenerse en cuenta ya que está descrito como el único carotenoide capaz de solubilizarse en agua (Rahaiee et al., 2015; Soeda et al., 2007) y, por tanto, el contenido en crocina de estas muestras estaría incrementando el poder antioxidante observado en la fase hidrosoluble.

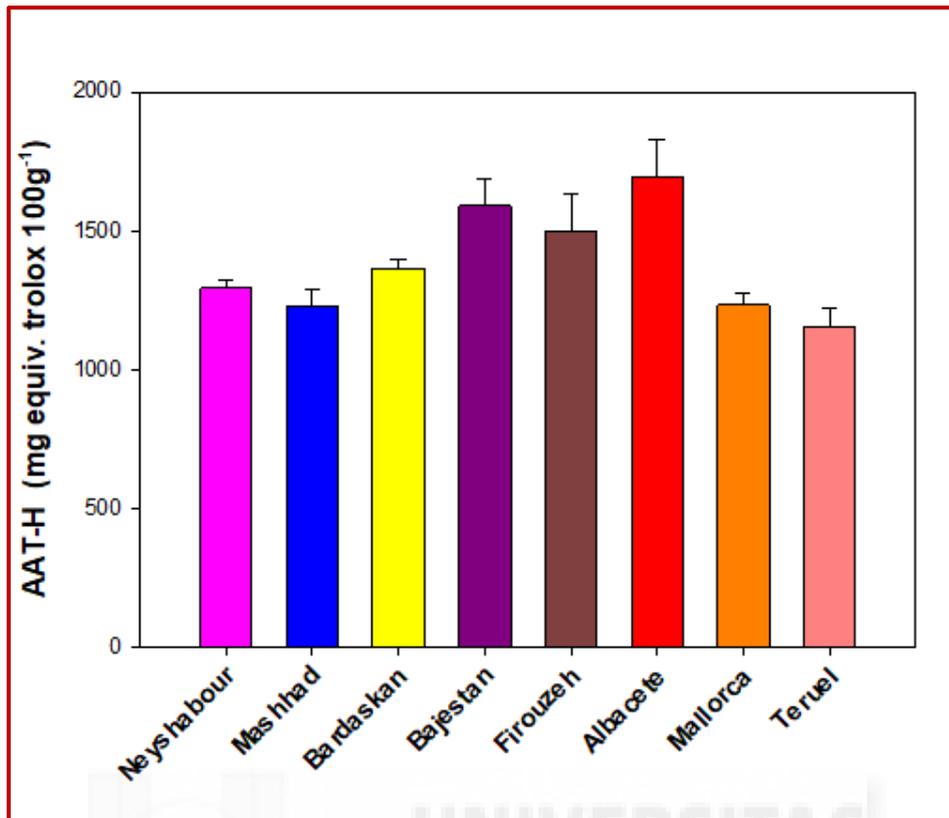


Figura 7. Actividad antioxidante de la fase hidrosoluble (mg equivalentes trolox por 100 g) de las distintas muestras de azafrán procedentes de diferentes localizaciones iraníes y españolas.

4.8. Actividad antioxidante de la fase liposoluble

En la figura 8, se pueden observar los datos obtenidos sobre la actividad antioxidante de la fase liposoluble, también expresada en mg equivalentes de trolox por 100 g, de las distintas muestras de azafrán de origen iraní y español. En las muestras de origen iraní, cabe resaltar que, la actividad antioxidante de dicha fase es similar, excepto en aquella procedente de Bardaskan, que fue significativamente menor. Respecto a las muestras de origen español, cabe destacar que, el azafrán de Albacete tiene mayor actividad antioxidante que el azafrán de Teruel y Mallorca, los cuales mostraron niveles más bajos.

El nivel de AAT en la fase liposoluble fue menor que el descrito anteriormente en la fase hidrosoluble y está atribuido principalmente a los carotenoides

presentes en el azafrán. Fundamentalmente al contenido en picrocrocina y safranal (Rahaiee et al., 2015). De hecho y con respecto a la actividad antioxidante en la fase liposoluble, se ha comprobado que las extracciones de azafrán de componentes liposolubles muestran mayor AAT que las observadas en productos tales como tomate y zanahoria (Papandreou et al., 2006; Assimopoulou et al., 2005).

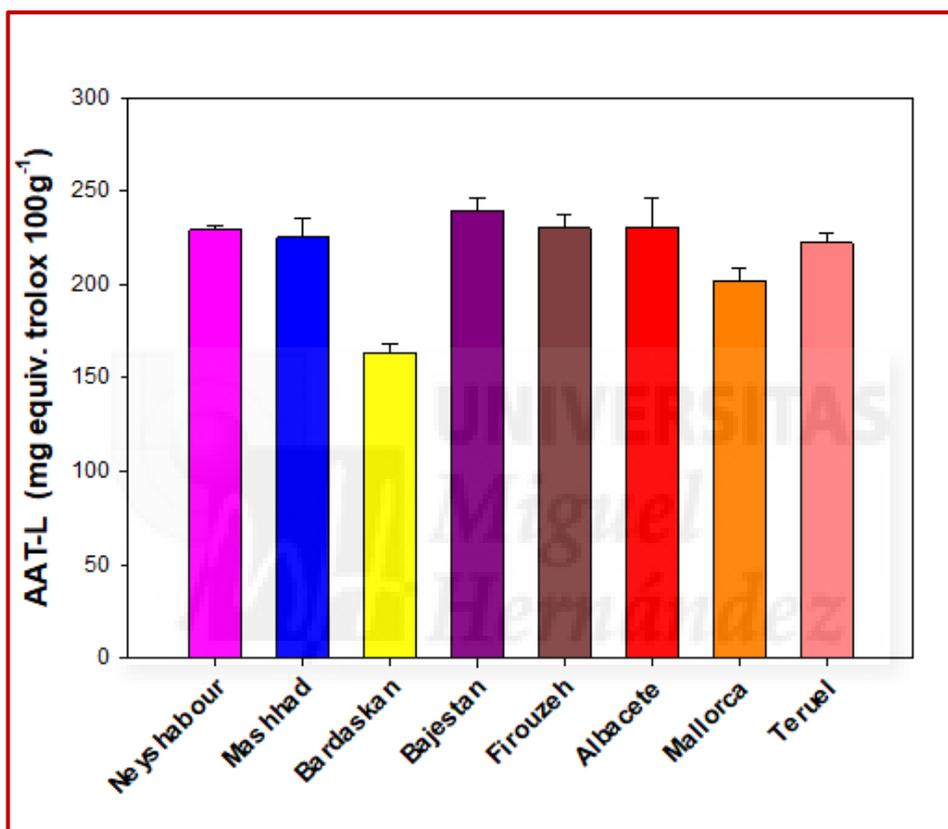


Figura 8. Actividad antioxidante de la fase liposoluble (mg equivalentes de trolox por 100 g) de las distintas muestras de azafrán procedentes de diferentes localizaciones iraníes y

4.9. Microbiología de las muestras de azafrán

En el presente trabajo se realizó el estudio microbiológico de todas las muestras de azafrán, tanto de origen iraní como las de origen español y, los resultados obtenidos se reflejan en la siguiente figura. Como podemos

observar, la muestra de azafrán iraní que presenta mayor cantidad de aerobios mesófilos es la de Bardaskan (4000 UFC/g), mientras que, la que menor contenido de aerobios presenta es Bajestan (50 UFC/g). Respecto a las muestras de azafrán españolas, cabe destacar que, el azafrán de Mallorca es el que mayores aerobios mesófilos presenta (1600 UFC/g), mientras que, el procedente de Albacete (1150 UFC/g) y Teruel contiene cantidades similares (950 UFG/g). Todas las muestras evaluadas mostraron una ausencia de mohos y levaduras.

Las flores de azafrán se desarrollan sobre la superficie del suelo y, por lo tanto, los abonos orgánicos y el compost son las principales fuentes de microorganismos. La flora microbiana del azafrán generalmente contiene bacterias aeróbicas formadoras de esporas. Sin embargo, no se recomienda el proceso de esterilización por calor porque influye en el color, sabor y olor del producto. Como alternativa se proponen tecnologías como las radiaciones gamma, microondas y ultravioleta (UV) junto con la fumigación con óxido de etileno (Kafi, 2002). Sin embargo, también se contempla que se pueda dar una degradación de los pigmentos por efecto de la irradiación gamma (Rastkari et al., 2007). La International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF) recomienda límites máximos de 10^6 UFC/g de bacterias aerobias mesófilas totales, condición que cumplirían todas las muestras evaluadas y por tanto no conllevarían riesgos sobre la salud basándonos en este parámetro. Sin embargo, el contenido de enterobacterias que no ha sido evaluado en este Trabajo de Investigación, requiere ausencia de *Salmonella* en 25 g y recuentos de *E. coli* en cantidades inferiores a 10^2 UFC/g para considerar que especias tales como el azafrán no suponen riesgos contra la salud del consumidor.

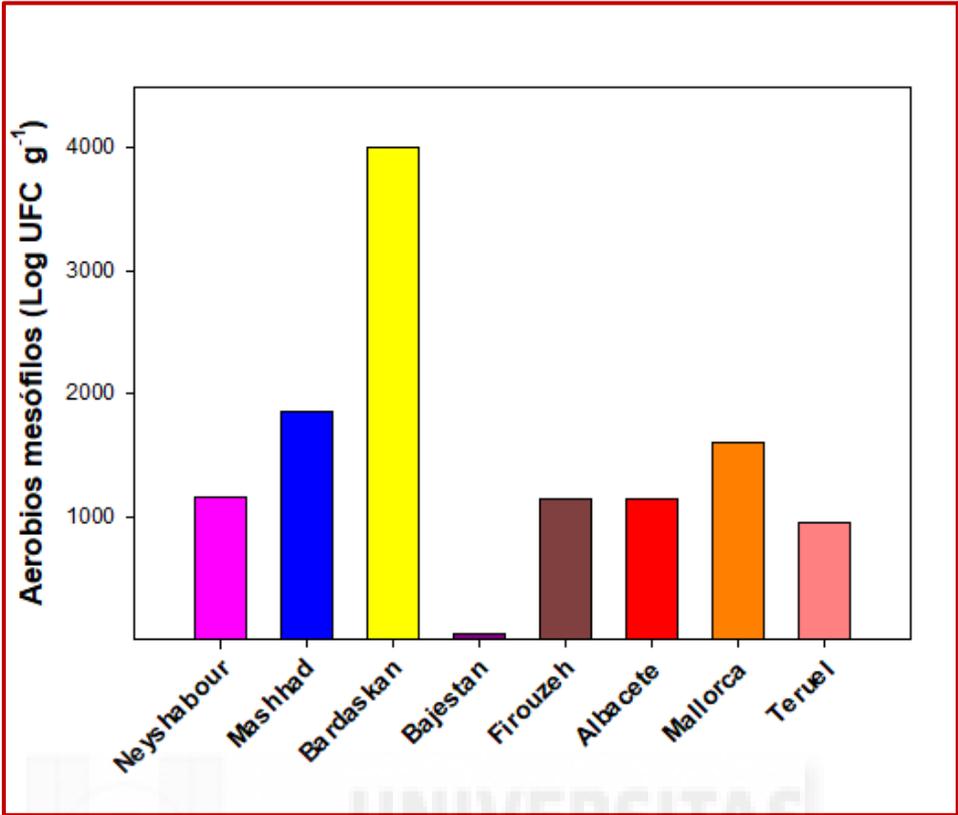
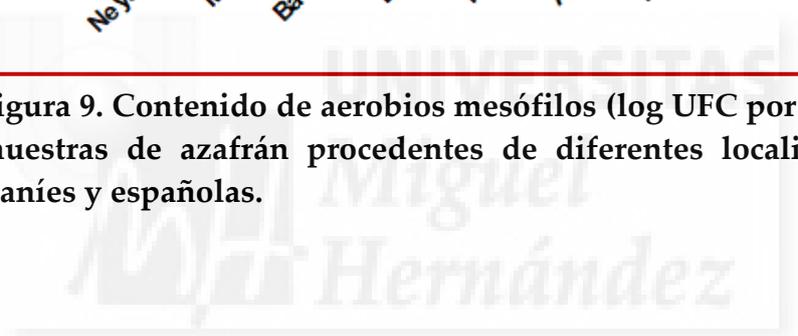


Figura 9. Contenido de aerobios mesófilos (log UFC por g) de las muestras de azafrán procedentes de diferentes localizaciones iraníes y españolas.



5. CONCLUSIONES

Atendiendo a los resultados obtenidos en este Trabajo de Investigación concluimos que tanto las muestras de azafrán procedentes de Irán como las de origen español muestran calidad similar, aunque mostrando diferencias según el origen principalmente debidas a las condiciones agronómicas y ambientales de cada zona de origen.

El poder colorante fue mayor en la muestra de Bardaskan y el poder aromático fue alto tanto en esta muestra iraní como en la procedente de Teruel por lo que concluimos que estas dos localizaciones producirían el azafrán con mayor calidad organoléptica, aunque la calidad microbiológica del azafrán de Bardaskan fue más baja en comparación al resto.

No hay duda de que, dado el alto contenido en compuestos bioactivos, así como los niveles de actividad antioxidante hacen del azafrán una interesante fuente de dichos compuestos, por lo que el consumo de esta especia incluso en una pequeña cantidad podría tener un efecto beneficioso en la salud de los consumidores.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abdullaev, F. I. 1993. Biological effects of saffron. *Biofactors*, 4, 149-152.
- Abdullaev, F. I. 2002. Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L.). *Exp. Biol. Med.*, 227, 20-25.
- Abdullaev, F. I.; Frenkel, G. D. 1999. Saffron in biological and medicinal research. In *Saffron. Crocus sativus* L. Medicinal and aromatic plants. Industrial profiles; Negbi, M. Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, Holland, 103-113.
- Ait-Oubahou, A.; El-Otmani. M. 1999. Saffron cultivation in Marocco. In *Saffron. Crocus sativus* L. Medicinal and aromatic plants. Industrial profiles; Negbi, M. Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, Holland, 87-102.
- Alonso, G. L.; Sánchez, A. M. 2007. In *Libro blanco del azafrán en Europa. Problemas y estrategias para valorizar la calidad y mejorar la competitividad*; Nuove Grafiche Puddu: Cerdeña, Italia.
- Alonso, G. L.; Varón, R.; Navarro, F.; Gómez, R. 1988. Algunos detalles históricos sobre el azafrán. *Revista de la Facultad de Educación de Albacete*, 2: 223-230.
- Alonso, G.L., Varon, R., Navarro, F., Gómez, R., Salinas, M.R. 1990. Autoxidation in saffron at 40°C and 75% relative humidity. *J. Food Sci.* 55(2): 595-596.
- Alvarez, J.M., Mallor, C. 2009. Evaluación de parámetros de calidad del azafrán del Jiloca. *ITEA*. 105(1): 61-66.
- Álvarez, J.M., Mallor, C. 2009. Evaluación de parámetros de calidad del azafrán del Jiloca. *ITEA*. 105(1): 61-66.
- AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemist. *Official Methods of Analysis*. (18va. ed.). Washington, USA.
- Arnao, M.B., Cano, A. y Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food chemistry*. 73:239-244.
- Assimopoulou AN, Sinakos Z, Papageorgiou VP. 2005. Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. *Phytother Res* 19:997-1000.

Baba, S.A., Malik, A.H., Wani, Z.A., Mohiuddin, T., Shah, Z., Abbas, N., Ashraf, N. 2015. Phytochemical analysis and antioxidant activity of different tissue types of *Crocus sativus* and oxidative stress alleviating potential of saffron extract in plants, bacteria, and yeast. *S. Afr. J. Bot.*, 99, pp. 80-87.

Basker, D.; Negbi, M.1983. The uses of saffron. *Econ. Bot.*, 37, 228-236.

Bolhassani, A., Khavaria, A., Bathaie, S.Z. 2014. Saffron and natural carotenoids: Biochemical activities and anti-tumor effects. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Reviews on Cancer*, 1845 (1), pp. 20-30.

Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Canovas, F., Acosta, M., Arnao, M.B. 1998. An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochem. Anal.* 9: 196-202.

Carmona, M., Zalacain, A., Alonso, G.L. 2006. El color, sabor y aroma del azafrán especia. Altabán Ediciones.

Comisión del Codex Alimentarius. Programa conjunto sobre normas alimentarias de la fao/oms. Comité del Codex sobre especias y hierbas culinarias. Tercera sesión Chennai, India, 6-10 de febrero de 2017. Propuestas de nuevos trabajos.

Corradi, C. y micheli, G. 1979. Caratteristiche generlai dello zafferano. *Boll Chim. Farm.* 118(9): 537-552.

Fernández, J.A. 2004. Biology, biotechnology and biomedicine of saffron. *Boll, Chim. Farm.* 118(9):537-552.

Festuccia, C., Mancini, A., Gravina, G.L., Scarsella, L., Llorens, S., Alonso, G.L., Carmona, M. 2014. Antitumor effects of saffron-derived carotenoids in prostate cancer cell models. *Biomedical Research International*.

Gainer, J. L.; Jones, J. R. 1975. The use of crocetin in experimental atherosclerosis. *Experientia*, 31, 548-549.

González Castañón, M. L. 2011. La biotecnología en la mejora del azafrán (*Crocus sativus* L.). Unidad de Tecnología en Producción Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA).

Hassnain, F. M. 1998. In Saffron cultivation in Kashmir. Surinder Singh Sethi, Rima Publishing House: Nueva Delhi, India.

Himeno, H.; Sano, K. 1987. Synthesis of crocin, picrocrocin and safranal by saffron stigmalike structures proliferated in vitro. *Agric. Biol. Chem.*, 51, 2395-2400.

Iborra, J. L.; Castellar, M. R.; Canovas, M.; Manjón, A. 1992. TLC preparative purification of picrocrocin, HTCC and crocin from saffron. *J. Food Sci.*, 57, 714-731.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 2005. Spices, herbs, and dry vegetable seasonings, p. 360– 372. In International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ed.), *Microorganisms in foods 6: microbial ecology of food commodities*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, London.

ISO/TS 3632-1, 2 Saffron (*Crocus sativus* L.) Part 1: Specifications, Part 2: Test Methods; ISO: Geneva, Switzerland, 2003.

Kafi, M. 2002. Saffron: Production technology and manufacture. Mashhad: Ferdowsi University Publication. Medicinal and aromatic plants. Industrial profiles; Negbi, M. Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, Holland, 1999; 53-61.

Lozano, P.; Castellar, M. R.; Simancas, M. J.; Iborra, J. L. 1999. Quantitative high-performance liquid chromatographic method to analyse commercial saffron (*Crocus sativus* L.) products. *J. Chromatogr. A*, 830, 477-483.

Nair, S. C.; Kurumboor, S. K.; Hasegawa, J. H. 1995. Saffron chemoprevention in biology and medicine: a review. *Cancer Biother*, 10, 257-264.

Nauriyal, J. P.; Gupta, R.; George, C. K. 1997. Saffron in India. *Arecaunt Spices Bull.*, 8, 59-72.

Panikkar, K. R. 1990. Antitumour activity of saffron. *Cancer Lett.*, 57, 109-114.
Papandreou MA, Kanakis CD, Polissiou MG, Efthimiopoulos S, Cordopatis P. 2006. Inhibitory activity on amyloid- β -aggregation and antioxidant properties of *Crocus sativus* stigma extract and its crocin constituents. *J Agric Food Chem* 54:8762–8768.

Puga A.A. 2013. Tratamientos para estimular la ruptura de la dormancia de cormos de azafrán (*Crocus sativus* L.). Tesis Doctoral. Universidad de Almería.

Rahaiee, S., Moini, S., Hashemi, M. Shojaosadati S.A. 2015. Evaluation of antioxidant activities of bioactive compounds and various extracts obtained from saffron (*Crocus sativus* L.): a review. *J Food Sci Technol* 52: 1881-1888.

Rastkari N, Razzaghi N, Afarin Alemi R, Ahmadkhaniha R. 2007. Effect of gamma irradiation on chemical properties of Saffron pigments. *Acta Horti (ISHS)* 739:451-453.

Ríos, J. L.; Recio, M. C.; Giner, R. M.; Manez, S. 1996. An update review of saffron and its active constituents. *Phytother. Res.*, 10, 189-193.

Rubio, M.A., Fernández, N.P. Fernández, J.A., Gómez-Gómez, L. 2004. Glucosylation of the saffron apocarotenoid crocetin by a glucosyltransferase isolated from *Crocus sativus* stigmas. *Planta*, 216: 955-966.

Sampathu, S. R.; Shivashankar, S.; Lewis, Y. S. 1984. Saffron (*Crocus sativus* Linn.). Cultivation, processing, chemistry and standardization. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* 1984, 20 (2), 123-157.

Sánchez Gómez, A.M. 2009. Avances en el estudio de los ésteres de crocetina, picrocrocina y flavonoides del azafrán especia. Tesis Doctoral. Universidad de Castilla - La Mancha.

Soeda SH, Ochiai T, Shimeno H, Saito H, Abe K, Tanaka H, Shoyama Y. 2007. Pharmacological activities of crocin in saffron. *J Nat Med* 61:102–111.

Tamarro, F. 1999. Saffron (*Crocus sativus* L.) in Italy. In *Saffron. Crocus sativus* L. Medicinal and aromatic plants. Industrial profiles; Negbi, M. Ed.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, Holland, 53-61.

Wood, J.E., Senthilmohan, S.T., Peskin, A.V. 2002. Antioxidant activity proacyanidin containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry*. 77: 155-161.

Páginas web consultadas

Botanical online. Azafrán, la especia más cara del mundo <https://www.botanical-online.com/azafran.htm>. Consultada en Junio 2018.

CONSEJO REGULADOR DE LA DOP "Azafrán de La Mancha". <http://www.doazafrandelamancha.com/es/>. Consultada en Junio 2018.

MAPAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente), Anuario de Estadística www.mapama.gob.es. Consulta en Junio de 2018.

