



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA ANIMALI ALIMENTI RISORSE NATURALI E  
AMBIENTE

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

METODI DI IDENTIFICAZIONE DI ADULTERAZIONI  
NELLO ZAFFERANO

Relatore  
Prof. Vincenzi Simone

Laureando  
Vittorio Nardi  
Matricola n.  
2007474

ANNO ACCADEMICO 2023-2024



## **Riassunto**

### **Capitolo 1: Storia**

- 1.1 Miti e origine
- 1.2 In Italia
- 1.3 Cultura e religione
- 1.4 Il commercio

### **Capitolo 2: Lo zafferano**

- 2.1 La pianta
- 2.2 La chimica
- 2.3 Gli utilizzi

### **Capitolo 3: Adulterazione e metodi di analisi**

- 3.1 Introduzione
- 3.2 Gli adulteranti
- 3.3 ISO 3632
- 3.4 Cromatografia su strato sottile
- 3.5 HPLC
- 3.6 Gas cromatografia
- 3.7 DNA
- 3.8 Spettroscopia NIR e FTIR
- 3.9 Spettroscopia NMR
- 3.10 Altre metodiche
- 3.11 Prospettive future

### **Capitolo 4: Conclusione**

### **Bibliografia e sitografia**



## Riassunto

L'elaborato pone uno sguardo sulla sempre più crescente ricerca di qualità e sicurezza nei confronti della spezia più costosa del mondo: lo zafferano, la spezia ottenuta dagli stimmi dei fiori di *Crocus sativus* L.

Il grande valore economico dello zafferano ha sempre generato in chi la vendeva la tentazione di poter guadagnare di più, aumentando il volume della spezia grazie alla adulterazione. Questa pratica ha da sempre accompagnato la storia della spezia fin dai tempi più antichi e non accenna a fermarsi. L'aumento della richiesta da parte dei consumatori ha fatto sì che fosse necessario lo sviluppo di tecniche analitiche pronte per analizzare e garantire la genuinità e autenticità della spezia.

Le adulterazioni possono avvenire con una numerosa tipologia di sostanze, naturali e artificiali. La normativa ISO 3632 definisce le categorie di qualità e le analisi da effettuare per valutarla, ma non descrive tecniche analitiche e metodi per la ricerca di adulteranti.

Varie tecniche sono state prese in considerazione; tuttavia, tutte possiedono vantaggi e svantaggi. Al giorno d'oggi le tecniche presentano buone potenzialità se prese singolarmente ma combinate riescono a dare risultati più precisi. Le tecniche di analisi genetica si sono rivelate significative per la distinzione delle componenti indesiderate provenienti da altre specie, ma risultano inutili nella ricerca di parti indesiderate della stessa pianta.

Un recente metodo basato su meccanismi di *machine learning* si è rivelato promettente, aprendo le porte ad un possibile diretto coinvolgimento del consumatore sulla rilevazione delle adulterazioni e delle frodi direttamente grazie ad una applicazione per smartphone.

Questa tesi si propone come una finestra sulle varie tecniche utilizzate per ricercare la presenza di componenti estranei alla spezia oltre che valutarne l'efficacia e le criticità.

## **Abstract**

This paper takes a look at the ever-growing search for quality and safety with regard to the world's most expensive spice: saffron, the spice obtained from the stigmas of *Crocus sativus* L. flowers.

The great economic value of saffron has always led those who sell it to the temptation of being able to make more money by increasing the volume of the spice through adulteration. This practice has accompanied the history of the spice since ancient times and shows no signs of stopping. The increase in consumer demand meant that it is necessary to develop ready-made analytical techniques to analyse and guarantee the authenticity and genuineness of the spice.

Adulteration can occur with a wide range of substances, both natural and artificial. ISO 3632 defines the quality categories and the analyses to be carried out to assess it but does not describe analytical techniques and methods for the detection of adulterants.

Various techniques have been considered; however, they all possess advantages and disadvantages. Nowadays techniques have good potential if taken individually but combined they succeed in giving the best. Genetic analysis techniques have proved able to distinguish undesirable components from other species but are useless in the search for different parts of the same plant.

A recent method based on machine learning mechanisms has shown promising, opening the door to possible direct consumer involvement on adulteration and fraud detection directly through a smartphone application.

This thesis is proposed as a window into the various techniques used to search for the presence of foreign components of the spice as well as evaluate their effectiveness and criticality.

## Capitolo 1: Storia

### 1.1 Miti e origine

Lo zafferano è ricoperto di miti e di leggende riguardo alla sua origine ma si presuppone si possa attribuire la sua provenienza all'Asia minore, anche se l'Iran, che ne è il produttore principale, è un altro candidato possibile. Recenti studi ritengono che possa provenire invece dalla regione dell'Attica in Grecia (Nemati et al., 2019). Tuttora sono presenti discordie sulla reale origine della spezia ma si può stabilire che sicuramente è avvenuta tra il Medio Oriente e il Mediterraneo Orientale.

L'origine del nome della specie, ovvero *Crocus sativus*, la si può ricollegare ad una leggenda greca. Croco, infatti, era un giovane ragazzo, amico del dio Hermes. Un giorno, mentre i due stavano giocando a lancio del disco, Hermes per errore colpì Croco sulla testa, provocandogli una ferita mortale. Mentre Croco stava morendo, tre gocce del suo sangue caddero dalla sua testa sopra ad un fiore sottostante ad esso, colorando di rossi i tre stigmi che aveva. A causa di ciò quel fiore venne nominato proprio come l'amico di Hermes (Kakisis, 2018). Un'altra storia afferma che Croco era innamorato di una giovane ninfa di nome Smilace ma che questo amore non era corrisposto. Allora Hermes, vedendo la scena e dato che la ninfa era la sua favorita, trasformò il giovane nel fiore che prende il suo nome.

Ritrovamenti di affreschi sull'isola di Thera, odierna Santorini, rivelano che lo zafferano era ben conosciuto già oltre 3600 anni fa. Negli affreschi è possibile osservare delle donne intente a raccogliere lo zafferano; tuttavia, con molta probabilità non si tratta della stessa specie a cui appartiene la spezia odierna ma bensì si tratta di *Crocus cartwrightianus*, il progenitore selvatico che è possibile ritrovare in natura.

Ulteriori raffigurazioni lasciano intuire come le proprietà farmacologiche dello zafferano fossero conosciute già a quell'epoca, tanto da identificare lo zafferano come una panacea per tutti i mali e rappresentarlo come una divinità della guarigione. Tali affreschi sono stati ritrovati nei pressi del palazzo di Minosse a Cnosso e nel sito archeologico di Agía Triáda, nell'isola di Creta, risalenti circa alla stessa epoca (Ferrence & Bendersky, 2004).

Si è certi che lo zafferano venisse coltivato nella zona di Esfahan e nella regione del Khorasan dagli antichi persiani intorno al X secolo a.C. grazie al ritrovamento di filamenti

di zafferano intrecciati all'interno di tessuti utilizzati allo scopo ritualistico da offrire alle divinità (Hagh-Nazari & Keifi, 2007).

Teofrasto, filosofo e botanico greco del III-IV secolo avanti Cristo, nonché uno dei discepoli di Aristotele, parla dello zafferano nella sua opera *Sugli odori* come ingrediente del *Krocinon*, uno dei molti profumi utilizzati nella Grecia antica.

Ovidio nel suo *Ars amatoria* (tra l'uno a.C. e l'uno d.C.) parla di come lo zafferano venisse usato all'epoca come un cosmetico di lusso, principalmente descrivendo come venisse coltivato nei pressi del fiume Cidno in Turchia (Johnson M., 2016).

Viene citato da Virgilio nel libro IV delle *Georgiche* che racconta di come le api vengano attratte dal profumo dei fiori dello zafferano e che le più giovani, le quali sono quelle con il compito di raccogliere il polline, ne abbiano piene le cestelle poste sulle zampe posteriori.

Anche Salomone nel Cantico dei cantici parla dello zafferano e Plinio il vecchio lo descrive nel suo *Naturalis Historia*, dove racconta che la qualità migliore veniva dalla Cilicia, antica zona geografica nel sud della Turchia, e parla di come la spezia fosse tenuta in grande considerazione ai tempi della guerra di Troia. Addirittura, Omero cita numerose volte lo zafferano nell'Iliade, dicendo come si trovi nel giaciglio fra le nuvole di Zeus, assieme al fiore di loto e al giacinto.

I Greci consideravano lo zafferano come un profumo sensuale e lo spargevano nelle sale, nelle corti, nei teatri e addirittura nei bagni dei Romani. Si racconta tra le leggende e le storie di come Nerone, entrato a Roma, viene accolto dalla folla in visibilio con fiori di zafferano sparsi nelle strade, rilasciando il loro profumo tra le vie della città eterna (Spence, 2023).

L'adulterazione dello zafferano era ben nota già ai tempi di Plinio il vecchio e successivamente ha avuto un incremento durante l'epoca medievale. Infatti, nel XIV secolo d.C. la città di Norinberga, in Germania, era il centro del commercio europeo della spezia con zafferano proveniente da Creta, Austria, Francia, Grecia, Sicilia e Spagna, passante attraverso le mani di intraprendenti mercanti. Ma sfortunatamente molto dello zafferano era adulterato in ingegnosi e insospettabili metodi. Per proteggere l'autenticità dello zafferano, venne introdotto il Codice Safranschou che conteneva specifici standard



e le punizioni inflitte a chi lo avesse adulterato. Le pene per la frode erano abbastanza severe. Chi fosse stato trovato colpevole di adulterare lo zafferano sarebbe stato imprigionato oppure condannato a morte. Spesso il criminale veniva portato al rogo o addirittura seppellito vivo. Misure così forti erano non solo l'indicatore degli enormi guadagni dati dalla vendita di questa spezia ma anche un indicatore della diffusione così vasta della sua frode (Hagh-Nazari & Keifi, 2007) .

## **1.2 In Italia**

In Italia la coltivazione dello zafferano prende diverse strade storiche divise principalmente fra territori differenti e lontani fra di loro, i quali hanno portato a ottenere la Denominazione di Origine Protetta per tre particolari zone. In questi luoghi, la relazione tra la coltivazione dello zafferano e le persone ha condizionato molto la vicenda economica degli abitanti di quei luoghi, rendendo la spezia parte integrante della cultura del posto.

Possiamo trovare infatti:

- lo Zafferano dell'Aquila DOP, prodotto nell'Altopiano di Navelli in Abruzzo tra i comuni di Barisciano, Caporciano, Fagnano Alto, Fontecchio, L'Aquila, Molina Atermo, Navelli, Poggio Picenze, Prata d'Ansidonia, San Demetrio nei Vestini, S. Pio delle Camere, Tione degli Abruzzi e Villa S. Angelo;
- lo Zafferano di Sardegna DOP, prodotto tra i comuni di San Gavino Monreale, Turri e Villanovafranca, situati nella provincia di Medio Campidano;
- lo Zafferano di San Gimignano DOP, prodotto esclusivamente nel comune di San Gimignano, in provincia di Siena.

La coltivazione però non si limita solo a questi luoghi dato che sono presenti coltivazioni anche nel resto della penisola, in particolar luogo in Toscana, Emilia-Romagna, Marche, Umbria e in Sicilia. Ciò nonostante, coltivazioni minori sono presenti un po' ovunque in Italia.

In Sardegna ci sono le più antiche coltivazioni in Italia del croco, portate nell'isola da parte dei Fenici e successivamente consolidate sotto il dominio punico e durante l'Impero

Romano e bizantino. Avviene una prima testimonianza della commercializzazione della droga con il Regolamento del porto di Cagliari del 1317, chiamato anche con il nome di *Breve portus kallaretani*, che contiene una norma apposita per il commercio degli stimmi dalla Sardegna. Nell'800 si diffonde nell'isola la cultura dell'uso dello zafferano non solo come medicinale ma anche per la sua capacità tintoria, il suo utilizzo in cucina e infine come merce di scambio (Disciplinare di produzione DOP di Sardegna-2009).

Per quanto riguarda la coltivazione di zafferano nei territori vicini all'Aquila la storia invece è differente. Intorno al 1230 d.C. nel Sinodo di Toledo avviene l'istituzione della Inquisizione, che con il suo tribunale aveva il compito di indagare e incriminare tutte le teorie che si contrapponevano ai canoni della Chiesa e che ne avrebbero potuto minare le fondamenta. A questo tribunale appartenevano diverse figure della Chiesa cattolica, una delle quali in particolare era un monaco domenicano appartenente alla famiglia Santucci che risiedeva a Navelli, un piccolo comune in provincia dell'Aquila in Abruzzo. Questo monaco aveva la passione oltre che per le leggi in particolare anche per l'agricoltura. Trasferitosi in Spagna per assistere al Tribunale, il religioso venne in contatto con la preziosa spezia e riuscì a trafugare alcuni cormi, così sono definiti i bulbi dello zafferano, e a riportarli in Italia, cosa non da poco tenendo presente che gli spagnoli tenevano moltissimo a questa spezia al punto di impedire che la pianta uscisse dal territorio spagnolo.

Riportata a casa e piantata, la pianta si rivelò attecchire e adattarsi molto bene al terreno e all'habitat dell'altopiano, grazie anche a delle accortezze che il chierico aveva imparato sui metodi di coltivazioni utilizzati in Spagna: lo zafferano attrasse l'interesse di importanti famiglie dell'epoca e contribuì allo sviluppo economico e commerciale della città dell'Aquila, creando vie di commercio della spezia con Milano e Venezia, oltre che con città estere quali Francoforte, Marsiglia, Vienna, Norimberga ed Augusta. Il commercio di zafferano all'epoca era spesso correlato con il commercio della lana, la quale veniva tinta con la spezia.

Lo zafferano è presente in un documento ufficiale di Re Roberto d'Angiò, stilato nel 1317, fatto che lo rende la più vecchia testimonianza dell'importanza del commercio della spezia in quei territori. Nel XV secolo i territori dell'Aquila vedono la massima prosperità economica e culturale grazie anche allo zafferano. Infatti, grazie alle imposte sul

commercio dello zafferano, si è potuta finanziare la costruzione della Basilica di San Bernardino da Siena. Lo zafferano dell'Aquila col tempo si afferma a livello internazionale per la sua qualità, superando in fama anche gli altri zafferani prodotti nella penisola ed in Sardegna, rendendolo una merce contesa fra i numerosi commercianti dell'epoca.

Affermatosi a livello internazionale, lo zafferano dell'Aquila veniva desiderato da ogni parte d'Europa e veniva trasportato fino a Norimberga da numerosi mercanti. A causa della poca fiducia nei confronti dei mercanti, principalmente milanesi, veneziani e fiorentini, la città tedesca decise di stabilire all'Aquila una propria delegazione. Nel 1458 Re Ferrante I D'Aragona decretò che la città avesse il diritto a fondare una propria università, evento che avvenne in concomitanza con l'apertura di una tipografia da parte di un commerciante di zafferano e allievo dell'inventore della stampa. La maggiore produzione di zafferano si raggiunse poco prima della peste, la quale fu una delle cause, oltre che alcune guerre e l'aumento delle tasse imposte sulla spezia, del successivo graduale declino della sua coltivazione. Solo grazie ai Borboni la produzione di zafferano venne parzialmente ripresa, ma tutto ricadde gradualmente nel dimenticatoio fino al XIX secolo, quando la riduzione fu drastica (Coop. Altopiano di Navelli, [www.zafferanoaltopianonavelli.it](http://www.zafferanoaltopianonavelli.it)).

Anche a San Gimignano la coltivazione si fa risalire intorno al XIII secolo grazie a numerosi documenti. La ricchezza portata dalla spezia ha contribuito non poco alla costruzione delle numerose torri presenti in città. Lo zafferano era così importante che veniva utilizzato spesso addirittura al posto del denaro. In particolare, era utilizzato nella stipula dei contratti che prevedevano l'anticipo in denaro di parte del raccolto. A seguito di un assedio nel 1228 il Comune risistemò il castello della Nera grazie un contratto basato su soldi e zafferano.

Anche qui vennero messe regole rigide che furono affidate alle cure dei membri dell'Arte dei Medici e Speciali, una corporazione di eruditi, che controllavano la correttezza delle pesate tra gli scambi e provvedevano alla taratura delle bilance. Ancora oggi esistono infatti collegamenti con questi membri nel cognome Pesalgruoghi o Pesalgruoci, presenti a San Gimignano (Disciplinare di produzione DOP di San Gimignano-2003).

### 1.3 Cultura e religione

Lo zafferano ha un forte legame con la religione di molte civiltà sia antiche che tuttora esistenti, basti pensare alla sua presenza nel Cantico dei cantici di Salomone all'interno dell'Antico Testamento.

Nella cultura indiana vige l'uso dello zafferano in un'importante applicazione rituale. Il puntino rosso che molte persone indiane spesso portano in fronte viene prodotto attraverso l'uso dello zafferano. Prende il nome di *tīlaka* e simbolizza una affiliazione religiosa e spirituale oppure la propria appartenenza ad una setta. Se il puntino invece si trova appena all'attaccatura dei capelli viene chiamato *sindūra*, la quale traduzione letterale è "colore rosso", ed è un simbolo di legame coniugale. Se il puntino in questione però si trova tra le sopracciglia allora prende il nome di *bindu*. Questo ultimo termine significa letteralmente "punto" oppure "nevo" e sta a simbolizzare il terzo occhio di Shiva, una delle divinità più importanti dell'induismo.

Il terzo occhio di Shiva viene aperto solo, secondo la religione induista, alla distruzione di un mondo annegato dall'oscurità allo scopo di ripartire. A causa di questa simbologia quindi, il *bindu* sta a simboleggiare la virtù dell'intuizione, la quale viene spesso associata al simbolo della bellezza femminile. Questa relazione tra lo zafferano e la religione induista è antica quando l'induismo stesso e le altre religioni indiane (Motamedi et al., 2020).

Lo zafferano risulta presente nella bandiera dell'India, attraverso il suo colore arancione, e viene utilizzato come un simbolo di coraggio e di sacrificio. Anche nei costumi religiosi possiamo notare questa ricorrenza al colore arancione. Infine, lo zafferano viene usato spesso nelle celebrazioni ricorrenti in India ed Iran, prima fra tutte il festival Holi che prende luogo negli ultimi anni anche in Italia dove è tradizione il lancio di polveri colorate tra la gente.

Anche nella religione buddista possiamo ritrovare l'uso dello zafferano. Secondo la leggenda, al momento della morte del Buddha il suo corpo venne avvolto con un mantello colorato con lo zafferano, sviluppando un legame simbolico tra i fedeli buddisti e la spezia. Infatti, è possibile notare come i monaci buddisti siano soliti vestire con tuniche

colorate di arancione zafferano allo scopo di avvicinarsi spiritualmente al Buddha (Motamedi et al., 2020).

#### 1.4 Il commercio

Attualmente il maggiore produttore di zafferano a livello mondiale è l'Iran con una produzione stimata pari al 90% di tutto lo zafferano mondiale, che corrisponde all'incirca a 300 tonnellate annue. Viene coltivato anche in stati quali: Cina, India, Francia, Regno Unito, Afghanistan e molti altri.

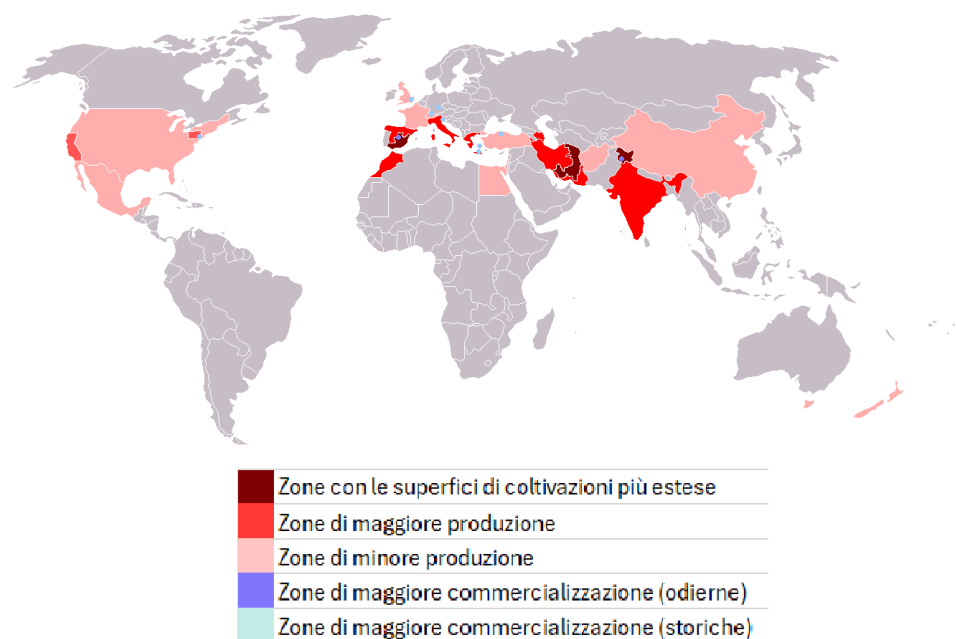


Figura 1 Luoghi di produzione dello zafferano (Wikipedia)

Anche la Spagna risulta un gran produttore di zafferano nonché un grande importatore e riesportatore. Non a caso lo zafferano è uno degli ingredienti fondamentali di un piatto tipico spagnolo come la paella. Il paese è sempre stato un grande centro di scambio per quanto riguarda i commerci dello zafferano, ma negli anni 90 la coltivazione ha subito un drastico calo a seguito di un massiccio abbandono dell'agricoltura. Tuttavia, grazie alle conoscenze e alle tecniche di commercio della spezia, mantenute e tramandate di generazione in generazione tra le famiglie spagnole (Moratalla-López N. et al., 2018), negli ultimi anni si è constatata una grande ripresa nella produzione da parte delle

campagne spagnole arrivando all'ottenimento di una denominazione di origine protetta dello zafferano prodotto nella regione di La Mancha.

Gli Emirati Arabi Uniti sono dei grandi importatori della spezia che viene però lavorata e riesportata in gran parte, come è possibile notare dall'immagine a fine paragrafo. L'Italia risulta uno tra i maggiori paesi che importa tale spezia, soprattutto a causa del fatto che la nostra produzione interna non riesce a soddisfare la domanda. Non sorprende che la Cina sia una grande importatrice di zafferano a causa del fatto che la spezia è presente in numerosissime formulazioni legate alla medicina tradizionale cinese.

In molti affermano come il miglior zafferano del mondo provenga dalla regione del Kashmir, in India. Tuttavia, la dicitura "zafferano più prezioso del mondo" è difficile da attribuire realmente a quella regione dato che gli zafferani prodotti in Europa possiedono anch'essi lo stesso attributo. Secondo il sito TasteAtlas, lo zafferano migliore del mondo è quello prodotto in Spagna, lo *Azafrán de la Mancha* DOP, seguito da quello prodotto in Grecia, il *Krokos Kazanis* DOP, e quello prodotto in Marocco nella città di Taliouine. Gli zafferani italiani nella lista sono posti quasi subito dopo.

Sono necessari approssimativamente 225.000 stigmi raccolti a mano oppure 75.000 fiori per produrre una libbra di zafferano (Eghbali et al., 2023), e considerando che una libbra corrisponde a circa mezzo chilo, il numero di fiori richiesti per un chilo di prodotto sale a oltre 150.000.

È possibile fare un confronto della produzione per ettaro di zafferano con quella di uno dei suoi più comuni adulteranti: la curcuma. La curcuma, coltivata principalmente in India, si stima abbia una resa media per ettaro di 4,5 tonnellate di prodotto mentre per lo zafferano la cosa cambia. Nelle zone a coltura poliennale si stima una resa intorno ai 4-6 kg/ettaro durante il primo anno di coltivazione e un aumento della resa a partire dall'anno seguente con oltre 12 kg/ettaro per poi diminuire. Nelle zone, invece, a coltura annuale la resa media non supera i ~ 3,6 kg/ettaro (Landi, 2007).

Il prezzo della spezia è dettato dalla sua scarsa resa per ettaro oltre che dal costo della manodopera, la quale differenzia per esempio uno zafferano prodotto in Iran piuttosto che uno prodotto in Europa.

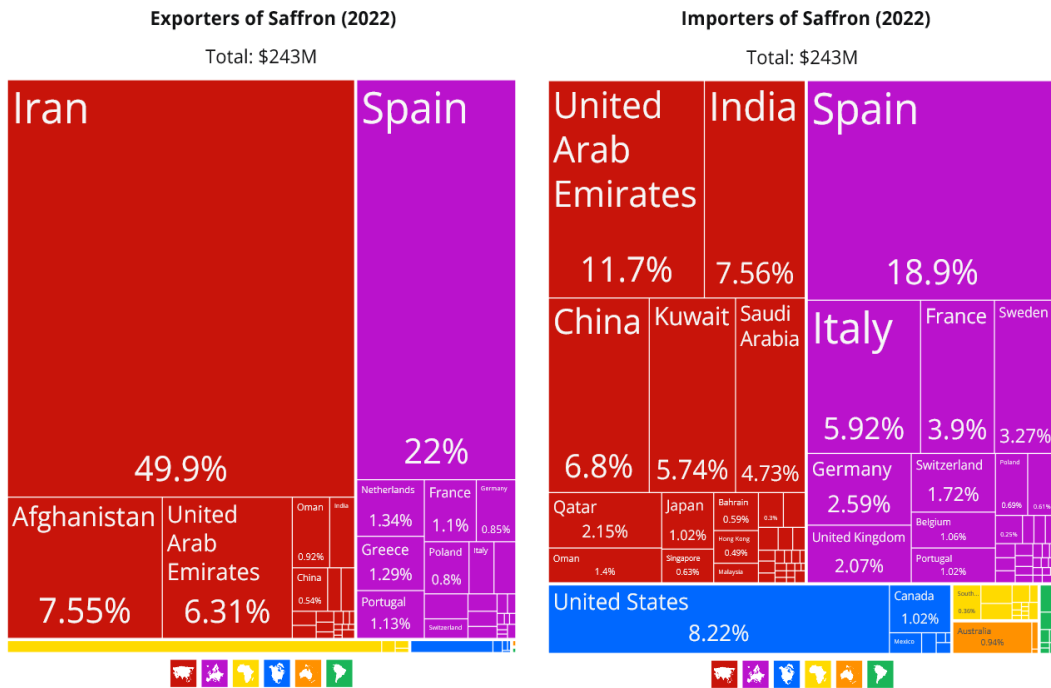


Figura 2 Maggiori importatori ed esportatori di zafferano (Fonte The Observatory of Economic Complexity)

## Capitolo 2: Lo zafferano

### 2.1 La pianta

#### Tassonomia

Regno	Plantae
Phylum	Tracheofita
Classe	Liliopsida
Ordine	Asparagales
Famiglia	Iridiaceae
Genere	<i>Crocus</i>
Specie	<i>sativus</i> L.

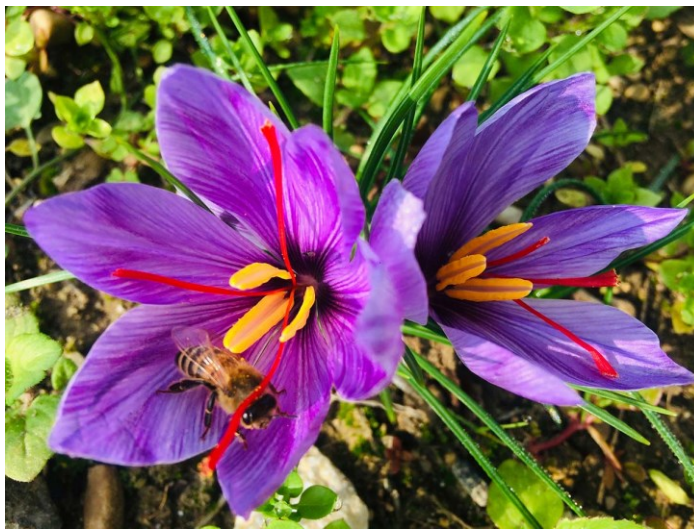


Figura 3 Fiori di zafferano

La specie *Crocus sativus* L. fa parte del genere *Crocus* che è formato da 85 specie diverse, tra cui il *sativus* risulta la più importante a livello economico e culturale. Appartiene alla famiglia delle Iridiacee, che comprende 60 generi e oltre 1500 specie. Il significato del termine *sativus* presente nella tassonomia della specie è attribuibile al naturalista Carlo Linneo (XVII secolo) che ha aiutato allo studio della tassonomia e significa “coltivato”, differenziandola così dalle altre specie selvatiche.

A livello genetico si tratta di una pianta che presenta triploidia ( $2n = 3x = 24$ ) rendendola sterile per quando riguarda i suoi componenti maschili e permettendo la sua propagazione solo per via agamica, con la formazione di bulbi in corrispondenza del bulbo originale. Diverse ipotesi sono presenti per quanto riguarda la sua origine genetica ma un recente studio di Nemati et al., (2019) afferma come il suo corredo genetico sia compatibile con quello di piante di *Crocus cartwrightianus* selvatico presenti nella regione greca dell'Attica, ipotizzando un possibile caso di ibridazione autotriploide tra differenti genotipi della suddetta specie.

Dal 2007 grazie al sostegno dell'Unione europea è stata sviluppata una collezione contenente il germoplasma di numerose specie di *Crocus*, chiamata CROCUSBANK, allo



scopo di rendere accessibile ai ricercatori il patrimonio genetico del genere e per riuscire a preservarne la biodiversità (Fernández et al., 2011).

Lo zafferano è una pianta perenne ed erbacea che raggiunge l'altezza di 15 cm e si sviluppa a partire da uno speciale bulbo-tubero chiamato cormo. Possiede le seguenti caratteristiche:

- **Cormo:** di forma subvoidale e presenta una tunica esterna marroncina che lo protegge completamente fino ad avvolgere gli scapi fiorali. Ha una compressione alla base e una forma più appiattita all'apice. L'interno è carnoso e di colore bianco. Il peso oscilla dai 0,5 ai 25 grammi mentre l'altezza e la lunghezza variano rispettivamente tra 1 e 5 cm e tra 0,5 e 4 cm.
- **Foglie:** presenta foglie strette, lineari e allungate con un colore verde intenso. Vengono avvolte da una membrana costituita da 3-4 strati di tuniche originate dal cormo. Il margine è intero e appena papilloso sviluppandosi fino a 60-70 cm di lunghezza e possiedono una larghezza media compresa tra 2-3 mm. Sono presenti dalle 3 alle 7 foglie mediamente.
- **Perigonio:** campanulato, violaceo con striature più scure, di forma tubulosa a fauce dilatata in alto da cui emergono sei tepali (tre interni e tre esterni) di colore rosso violaceo e con una lunghezza compresa tra i 4 ed i 5,6 cm. Sono per lo più fiori solitari oppure presenti in numero di due o tre, raramente succede che vi siano 5 fiori, ciascuno avvolto da 1 o 2 spate.
- **Stimmi:** interi di colore rosso scarlatto, trifidi, si presentano in numero di 3, con una lunghezza tra 1,4 e 4,8 cm ed un peso compreso tra 0,02 e 0,055 gr, sporgenti dalle lacinie perigoniali (Disciplinare di produzione DOP di Sardegna-2009).

Il metodo di coltivazione consiste nella messa a dimora dei cormi nel periodo compreso tra gli inizi di giugno e i primi di ottobre ponendoli alla profondità di 15-20 cm. La fioritura avviene in un arco di tempo compreso tra metà ottobre e fine novembre e si protrae per 15-20 giorni. La durata della coltivazione cambia da territorio a territorio: in Europa viene preferita la tecnica di coltivazione pluriennale mentre nel resto del mondo la coltivazione è annuale (Disciplinare di produzione DOP di Sardegna-2009).

Ha un uso commerciale solamente lo stimma, o stigma, del fiore, il quale è la sezione finale della parte areale del pistillo, preceduto dallo stilo, e serve normalmente alla pianta per ricevere e raccogliere il polline. Nello zafferano si presenta colorato di rosso scarlatto e dopo la essiccazione o tostatura assume il tipico colore rosso scuro.

La raccolta avviene durante le prime ore del mattino quando i fiori devono ancora aprirsi per mantenere al meglio la freschezza della spezia. Vengono successivamente separati gli stimmi dal resto del fiore facendo attenzione a non dividerli ed eliminando la parte bianca composta dallo stilo. Successivamente avviene l'essiccazione degli stimmi mediante metodi differenti a seconda del luogo.

In Italia il metodo tradizionale, tratto dai disciplinari, prevede un essiccamento effettuato posizionando gli stimmi su una grata in prossimità di braci ardenti di legna, principalmente quercia o mandorlo. Il prodotto risulta accettabile quando si spezza facilmente ed in modo netto.

Differenti metodiche possono essere ritrovate negli altri paesi come India, Iran e Marocco dove, per esempio, viene preferito effettuare il processo a temperatura ambiente. In India, infatti, gli stimmi vengono essiccati al sole per 3-5 giorni fino a che raggiungono un'umidità compresa fra 8 e 10%. In Marocco gli stimmi vengono messi sopra ad un telo ben distanziati e lasciati asciugare sotto il sole per alcune ore oppure all'ombra per 7-10 giorni. In Grecia si preferisce un metodo più moderato, spargendoli su dei vassoi poco profondi con un fondo fatto di seta mentre in Spagna viene tradizionalmente tostato a temperature comprese tra 75 e 121 °C per un lasso di tempo che va dai 28 ai 55 minuti (Cid-Pérez et al., 2021).

Lo zafferano di Sardegna possiede inoltre un ulteriore passaggio facoltativo durante la sua lavorazione, infatti, poco prima dell'essiccamento gli stimmi vengono presi e umettati con dell'olio extra vergine di oliva con le dita.

Attualmente sono state avanzate delle proposte per la definizione di uno standard sullo zafferano da parte della commissione del *Codex Alimentarius* ma, ad oggi non vi sono ancora notizie a riguardo.

Gli stimmi dello zafferano vengono raccolti ancora rigorosamente a mano, fattore determinante sul prezzo finale di vendita della spezia; tuttavia, sono in progettazione

macchinari allo scopo di velocizzare l'operazione di raccolta dei fiori. Per esempio, l'Università di Cagliari ha attualmente depositato un brevetto per un sistema semi-automatico per la raccolta dei fiori di zafferano. Lo sviluppo si sta rivelando promettente permettendo in futuro di abbassare i costi di produzione derivati dall'uso ancora rigoroso di manodopera.

La pianta può essere soggetta ad attacchi da parte di animali selvatici quali arvicole, roditori e lumache oltre che essere soggetta all'attacco del fungo *Fusarium oxysporum*.

Lo zafferano cresce bene in presenza di suoli calcareo-argillosi sciolti e a bassa densità. Inoltre, richiede che siano ben drenati e ben irrigati, con un valore di pH compreso tra 6,8 e 7,8. La coltura richiede un quantitativo di acqua pari a 600 millimetri di pioggia all'anno (Kothari et al. 2021).

Il ciclo vitale dello zafferano consta di due fasi: vegetativa e generativa.

La fase vegetativa ha inizio con lo sviluppo della fase embrionale dei cormi verso novembre, a seguito della fioritura. Nei mesi di dicembre e febbraio avviene un grande sviluppo di foglie e di radici allo scopo di assorbire e accumulare nutrienti nei bulbotuberi. La formazione di nuovi bulbi avviene tra l'autunno e la primavera, portando all'atrofizzazione e al riassorbimento del bulbo madre. Normalmente avviene lo sviluppo di 2-3 bulbi più grandi e numerosi altri più piccoli.

Nel mese di marzo avviene il passaggio alla fase generativa. Questa fase permette ai bulbi la trasformazione dei meristemi vegetativi apicali in gemme radicali oppure gemme a fiore. Tra aprile e giugno l'attività decresce fino ad arrivare ad uno stato dormiente nella pianta. Tra fine agosto e inizio del mese di settembre lo zafferano riprende l'attività con lo sviluppo dell'apparato fogliare e in successivamente la fioritura (Landi, 2007).

## 2.2 La chimica

### 2.2.1 Composizione

Lo zafferano è composto mediamente da:

- 10% umidità;
- 12% proteine;
- 5% grassi;
- 5% sali minerali;
- 5% fibra;
- 63% zuccheri includendo amido, zuccheri riducenti, pentosani, gomme, pectina e destrine.

I valori vengono presi con percentuali di peso su peso (w/w). Questo intervallo di valori però si è visto cambiare molto in base al luogo di provenienza e alle condizioni di sviluppo (Melnyk et al., 2010).

Lo zafferano è una buona fonte di tiamina ed una ottima fonte di vitamina B2, nota anche con il nome di riboflavina. Era già stata individuata la presenza di questa vitamina nella spezia grazie alla sua fluorescenza con degli studi degli anni 50', tuttavia la strumentazione dell'epoca non riusciva ad isolare correttamente la vitamina a causa della presenza di altre molecole fluorescenti che interferivano con la determinazione. Nella ricerca di Hashemi e Bedia (2016), attraverso l'uso dell'elettroforesi capillare accoppiata ad un rilevatore di fluorescenza, è stato rivelato come, in media, la quantità di riboflavina si aggiri tra i 5,02 ed i 13,86 µg/g (microgrammi su grammo di prodotto).

Questi sono dati incoraggianti, tuttavia, a causa del fatto che le quantità normalmente utilizzate di zafferano in uso alimentare sono molto scarse, dell'ordine di meno di un grammo, la quantità di riboflavina assunta tramite lo zafferano risulta molto minore, per esempio, rispetto a quella che deriva dal consumo di altri alimenti ricchi di vitamina B2 quali latticini, fegato e uova.

Lo zafferano possiede una tra le maggiori percentuali di concentrazioni di carotenoidi tra gli alimenti. Infatti, grazie allo studio di Caballero-Ortega et al., (2007) si è potuto quantificare la quantità di carotenoidi glicosilati idrosolubili presenti all'interno di una

serie di campioni presi da Grecia, India, Nuova Zelanda, Spagna, Francia, Azerbaijan, Italia, Turchia, Iran e Cina. Si è riusciti a rivelare che lo zafferano è composto in media da oltre l'8% di questi carotenoidi. Nello studio si nota come il campione proveniente dalla Grecia abbia un totale di  $94,06 \pm 0,07$  mg per gr di stigmi di carotenoidi.

Principalmente i carotenoidi in questione sono crocetina, crocine, picrocrocina e safranale. Tuttavia, sono presenti in minor quantità anche altri carotenoidi quali licopene, zeaxantina, fitofluene, beta-carotene e altri.

Per rendersi conto della grande quantità di questi carotenoidi occorre paragonarlo con qualcosa che tutti conoscono. È risaputo infatti, che le carote sono una grande fonte di caroteni, da cui tra l'altro prendono il nome. Secondo lo studio di Koca Bozalan e Karadeniz (2011) dentro le carote possiamo trovare un quantitativo medio di carotenoidi totali che varia tra i 78,81 e 83,07 mg su kg di prodotto fresco. Secondo i calcoli otteniamo che le carote contengono 0,008% di carotenoidi mentre lo zafferano ne contiene circa mille volte in più.

Di seguito vengono descritti i maggior composti presenti nello zafferano nonché i principali responsabili delle proprietà farmacologiche, tintorie e aromatiche. Da ricordare che le quantità di questi composti ritrovati nello zafferano variano in base al luogo di provenienza della spezia presa in campione.

### **Crocetina**

La crocetina è un apocarotenoide ritrovabile nello zafferano. Chimicamente in realtà lo si può ritrovare esterificato con due molecole di gentibiosio, assumendo così il nome di crocina, ma può essere ritrovato legato anche ad altri glicosidi. La formula bruta è  $C_{20}H_{24}O_4$  ed è in parte responsabile degli effetti positivi sulla salute dati dalla spezia oltre che del suo potere colorante.

Grazie allo studio di Frusciante e colleghi (2014), si è riusciti a capire meglio il possibile meccanismo che porta alla sintesi della crocetina.

Dalla zeaxantina a seguito dell'azione di una diossigenasi, chiamata *carotenoid cleavage dioxygenase 2* (CCD2), vengono ottenuti crocetina dialdeide ed un precursore della picrocrocina. Con una aldeide deidrogenasi avviene successivamente la formazione di crocetina, la quale può essere ulteriormente trasformata nelle varie crocine contenute nello zafferano. Prima di questo studio l'origine della crocetina e della picrocrocina nello zafferano era solamente una ipotesi.

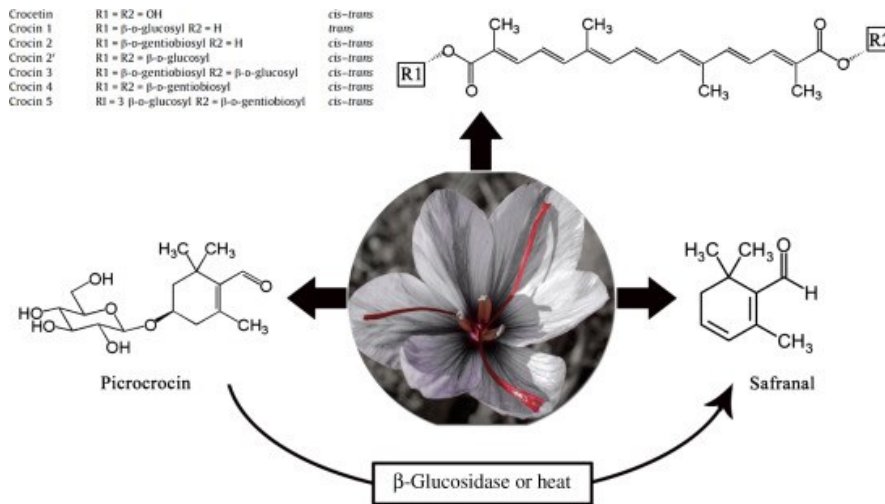


Figura 4 I composti caratteristici dello zafferano (Jafari et al., 2020)

## Crocine

Le crocine sono le molecole maggiormente presenti all'interno dello zafferano e vengono differenziate a causa della presenza contemporanea di forme *cis* e *trans*. Possiedono formula chimica  $C_{44}H_{64}O_{24}$  e sono le maggiori responsabili del colore giallo tipicamente rilasciato nei cibi e nelle tinture assieme alla crocetina, nonché anche forse le principali responsabili degli effetti benefici che possiede lo zafferano. Sono molecole che grazie agli zuccheri sono idrosolubili, caratteristica che le rende differenti dalle altre tipologie di caroteni che sono solo liposolubili.

Sono presenti oltre sei differenti crocine sulla base della tipologia degli zuccheri e della loro posizione R1 e R2 (Jafari et al. 2020).

## **Picrocrocina**

La picrocrocina è la molecola responsabile del gusto amaro tipico dello zafferano ed è il secondo composto più abbondante in peso.

Chimicamente la sua formula è  $C_{16}H_{26}O_7$  e si tratta di un glucoside del safranale. Nei processi di essiccamento dello zafferano oppure per effetto enzimatico di una  $\beta$ -glucosidasi, la picrocrocina viene trasformata in safranale. Quindi risulta logico pensare che lo zafferano appena essiccato contenga le maggiori quantità di questa molecola che diminuisce con l'avanzare del tempo. Il tempo, infatti, permette un maggiore rilascio di aroma dato dal safranale ma diminuisce il gusto stesso dello zafferano.

Nello studio di Mir et al. (2012) risulta come vi sia una correlazione positiva tra la lunghezza degli stimmi di zafferano e la quantità presente di picrocrocina e di crocina mentre vi sia una correlazione negativa con la quantità di safranale.

Lo zafferano presenta una quantità di picrocrocina che può variare dallo 0,79% al 12,94% o superiore (Alonso et al., 2001) anche se recenti studi riportano numeri più alti.

## **Safranale**

Il safranale è la molecola maggiormente responsabile del profumo e dell'aroma dello zafferano. Costituisce oltre il 70% dei composti volatili totali presenti nello zafferano mentre il rimanente 30% è costituito da oltre 150 aromi volatili (Jafari et al., 2020).

Possiede la formula chimica  $C_{10}H_{14}O$  ed è un monoterpene ottenuto attraverso due separate vie a partire dalla picrocrocina.

Alcune tipologie di analisi che verranno approfondite nel prossimo capitolo vengono basate sulla rilevazione di questa molecola.

## **2.3 Gli utilizzi**

Lo zafferano trova un largo uso nelle cucine un po' di tutto il mondo, principalmente grazie al suo potere colorante e al tipico aroma. Nei luoghi dove viene coltivato maggiormente è possibile ritrovare molte ricette che prevedono il suo uso. In Sardegna,

per esempio, le ricette non mancano, a tal punto che esiste un proverbio a riguardo: “*s’ainu non manicat taffaranu*” che vuol dire che solo gli asini non mangiano lo zafferano (Landi, 2007).

Un ulteriore utilizzo proviene dal suo effetto tintorio sui tessuti. Le proprietà tintorie scaturite dalle crocine, infatti, venivano utilizzate per colorare i tessuti di un bellissimo arancione zafferano ma al giorno d’oggi la pratica è poco utilizzata a causa dell’avvento di coloranti artificiali più economici.

Nel corso del tempo lo zafferano si è affermato moltissimo non tanto per il suo uso come spezia ma quanto per il suo uso nelle medicine tradizionali di tutto il mondo, riscontrabile per esempio nella medicina tradizionale cinese (Mohajeri et al., 2020) e nella medicina *ayurvedica* (Motamedi et al., 2020).

Nelle medicine popolari veniva utilizzato per le seguenti ragioni:

- trattamento dell’insonnia;
- contraccettivo;
- afrodisiaco;
- abortivo;
- induzione del travaglio;
- promozione dell’allattamento;
- miglioratore della fertilità;
- sedativo;
- antiemetico;
- lavaggio oculare;
- espettorante;
- antidepressivo;
- trattamento delle ferite superficiali;
- trattamento della dispnea;
- trattamento delle infezioni oculari;
- rimedio per la gola infiammata;
- mal d’orecchio;
- sbornia;



- emicrania e febbre;
- costipazione;
- trattamento della emorragia uterina cronica;
- antidismenorreico.

Nonostante le numerose proprietà solo alcune hanno trovato un riscontro nei test farmacologici effettuati nel tempo (Ferrence & Bendersky, 2004).

La grandissima presenza di carotenoidi è un fattore importante delle sue proprietà antiossidanti (Cerdá-Bernad et al., 2022) e inoltre, in base allo studio fatto da Rahmani et al. (2020), risulta avere un grande potenziale per il trattamento del diabete di tipo 2 con effetti positivi anche sul girovita.

Le proprietà antidepressive e miglioratrici dell'umore e del sonno sono state confermate dallo studio di Ghaderi et al. (2020). Nel 2021 l'EFSA, ovvero l'Autorità europea per la sicurezza alimentare, ha valutato l'eventuale attribuzione di un *claim* salutistico ad un estratto acquoso di zafferano allo scopo di ridurre gli effetti della depressione e come miglioratore dell'umore. Tuttavia, a causa della scarsa quantità di prove scientifiche a riguardo, non si è riuscito a stabilire una decisiva correlazione causa-effetto in grado di sostenere il suddetto *claim* (EFSA Panel on Nutrition, Novel foods and Food allergens (NDA) et al., 2021).

Numerosi sono gli studi che affermano come lo zafferano possieda proprietà antitumorali. Per esempio, Vago et al. (2024) ha studiato l'effetto degli estratti di zafferano sia ottenuti dagli stigmi che da altre parti della pianta su cellule di tumori renali e della vescica osservando una riduzione dose-dipendente di vitalità di queste tipo di cellule *in vitro*.

Gran parte degli utilizzi in medicina è ancora sotto studio e fino ad ora non ci sono molte conferme validate scientificamente. Tuttavia, è possibile dire che lo zafferano e i suoi costituenti possiedono dei potenziali effetti positivi su malattie neuropsichiatriche, come ansia e depressione, e legate all'età quali malattie cardiocircolatorie, oculari, neurodegenerative e sarcopenia (El Midaoui et al., 2022).

Vale la pena citare che nello studio di Mustafa e Othman, (2024) è stato sperimentato come gli estratti di zafferano se addizionati all'acqua di abbeveramento dei broiler, ovvero

i polli comuni da macello, possono risultare in una riduzione dello stress nell'animale. I risultati indicano che tali estratti hanno raggiunto buoni risultati, ottenendo un miglioramento del sistema immunitario, la riduzione della temperatura corporea e del livello di ormoni da stress nel sangue negli animali presi in campione.

## **Capitolo 3: Adulterazioni e metodi di analisi**

### **3.1 Introduzione**

Lo zafferano a causa del suo enorme valore economico e del fatto di essere venduto spesso in formato di polvere si presta molto alla adulterazione con lo scopo di guadagno da parte del venditore, andando a recare un danno economico non da poco al consumatore e a chi fa parte di questa filiera. Occorre aggiungere inoltre che è possibile ritrovare molto più frequentemente casi di diluizione dello zafferano piuttosto che la sua totale sostituzione.

Per quanto riguarda le possibili adulterazioni, esse possono essere riassunte in pochi punti:

- aggiunta di altre specie vegetali come curcuma o cartamo può ridurre i costi di produzione. Ad esempio, l'aggiunta di piante come la curcuma oppure lo zafferanone (*Chartamus tinctorius*) può aumentare la quantità complessiva del prodotto finale senza dover utilizzare una quantità maggiore di zafferano oltre che ridurre la quantità di tempo necessario per la lavorazione dello zafferano, andando ad influire quindi sui costi non solo della materia prima ma anche della manodopera;
- falsare l'origine della materia prima: può accadere che venga venduto zafferano etichettato, per esempio, italiano, ma che nella realtà è composto in parte oppure totalmente da zafferano di altra origine pagato dal produttore di meno e rivenduto allo stesso prezzo di altri concorrenti realmente italiani.
- riutilizzo di materie vecchie: spesso accade infatti che vengano aggiunti allo zafferano parti di lotti vecchi ricolorati per rivitalizzare il colore, andando così a determinare un deprezzamento della qualità del prodotto. Oltretutto, dato che il territorio di provenienza delle spezie più economiche si trova fuori dall'Unione

europea, vi è la possibilità che vengano utilizzati coloranti ritenuti tossici o addirittura proibiti in UE, creando un rischio da non sottovalutare;

La problematica della adulterazione dello zafferano, come si è visto, non è un fatto che ha origini recenti ma è bene intersecato nella storia di questa spezia. Nel suo *Naturalis Historia*, Plinio il vecchio afferma che non c'è niente di ugualmente adulterato come lo zafferano ed indica un primo e rudimentale metodo per distinguere uno stigma di qualità. In mano, quando è ben secco, deve infatti rompersi e risultare friabile mentre quando è umido, segno che è stata aggiunta acqua per farlo pesare di più, risulta flaccido. Un altro metodo consisteva nello spalmare lo zafferano con le mani sul viso e verificare se iniziava a bruciare gli occhi e la pelle poiché lo zafferano risultava a queste parti leggermente caustico.

I danni di tale adulterazione non sono riscontrabili solo nel campo economico ma anche nel campo della salute del consumatore e possono essere causati dalla presenza di allergeni alimentari oppure di sostanze tossiche. Sono spesso ritrovati polveri di ossidi di ferro oppure coloranti artificiali, alcuni dei quali banditi in Unione europea per via della loro nota tossicità, come i coloranti Sudan I, II, III e IV.

Inoltre, un problema causato dalle poche conoscenze da parte di persone estranee al settore può portare alla sostituzione anche involontaria del *Crocus sativus* con una pianta simile, il *Colchicum autumnale*, che risulta tossica per l'uomo.

Di seguito verranno fornite un elenco con spiegazione delle maggiori forme di adulterazione dello zafferano riscontrabili nel mondo commerciale.

### **3.2 Gli adulteranti**

La lavorazione degli stimmi di zafferano porta all'inevitabile scarto di parti meno pregiate della pianta, come il fiore e le parti fogliari, i quali non vengono utilizzati direttamente come spezia ma vengono eliminati oppure riutilizzati come fonte di nutrimento per l'allevamento. Dato l'enorme quantitativo di scarto prodotto, è logico pensare che possa venir utilizzato allo scopo di aumentare la dose di spezia prodotta. L'uso degli scarti vegetali del croco ha la conseguenza di abbassare il livello di qualità del prodotto venduto.

Gli scarti vengono essiccati e spezzettati oppure macinati ed aggiunti alla polvere di zafferano.

Le altre parti del fiore di *Crocus sativus*, tuttavia, non sono i soli adulteranti che vengono ritrovati maggiormente. Gli adulteranti, infatti, spesso vengono utilizzati a causa della loro colorazione rosso-gialla che riesce a mimetizzarsi molto bene ed a non variare drasticamente il colore del prodotto finale. Gli adulteranti di origine naturale sono quelli più complicati da esaminare e da identificare correttamente all'interno dello zafferano mentre quelli di sintesi risultano più semplici.

Tra gli adulteranti più comuni possiamo trovare le seguenti sostanze:

- Fiori di cartamo: viene chiamato anche con il nome di zafferanone, i fiori possiedono caratteristiche tintorie simili a quelle dello zafferano e i petali essiccati sono molto simili agli stimmi. La pianta viene usata come sostituto economico dello zafferano.
- Curcuma: spezia ottenuta dalla macinazione ed essiccazione dei rizomi di *Curcuma longa* che trova largo uso in cucina. Viene usata come alternativa allo zafferano oppure come adulterante a causa della sua grande resa e della sua economicità;
- Stimmi di mais: chiamati anche barba di mais, sono i filamenti tipici rosso-gialli presenti sul mais quando si sviluppa la pannocchia vera e propria. Spesso vengono ricolorati ed essiccati prima di essere mescolati alla spezia, vengono utilizzati a causa della loro morfologia che ricorda molto gli stimmi dello zafferano;
- Fiori di calendula: essiccata può ricordare il colore dello zafferano;
- *Gardenia jasminoides*: gli estratti del suo frutto contengono esteri di crocetina, abbondanti anche nello zafferano e che gli donano il caratteristico colore;
- Stimmi di *Crocus vernus*; questi stimmi provengono da una specie appartenente allo stesso genere dello zafferano, tuttavia, possiedono quantità molto minori dei composti tipici della spezia, aggiungendoli principalmente con lo scopo di aumentare il volume di prodotto venduto;
- Fiori di *Arnica montana*; aggiunti per via del loro colore giallo;
- Semi macinati di *Bixa orellana*: chiamato anche annatto, questi semi macinati possiedono capacità coloranti simili allo zafferano;

- Fiori di Emerocallidi: fiori usati come decorazione per aiuole che presentano una colorazione simile alla spezia.

## **Il colchico**

Nonostante non appartenga neppure allo stesso ordine, infatti la specie appartiene all'ordine delle *Liliaces* mentre lo zafferano come già detto appartiene alle *Asparagales*, il colchico, nome latino *Colchicum autumnale*, viene aggiunto in questa lista non perché sia propriamente una specie riscontrata nella adulterazione della spezia ma per un'altra motivazione.

È comunemente conosciuto come "zafferano bastardo", il cui fiore è quasi indistinguibile da quello del *Crocus sativus*. Questa somiglianza spesso induce persone poco esperte o estranee al settore dello zafferano a raccogliarlo erroneamente. Tuttavia, il colchico presenta una seria minaccia per la salute del consumatore a causa della presenza dell'alcaloide tossico conosciuto come colchicina. Tale sostanza non solo rende la pianta irritante per la pelle durante la raccolta, la quale può portare ad una reazione simil allergica, ma può anche provocare gravi conseguenze per la salute, tra cui vomito, diarrea acuta, infiammazioni gravi a livello gastrointestinale e, in casi estremi, la morte (Plant For A Future, [www.pfaf.org](http://www.pfaf.org)).

I periodi di fioritura tra lo zafferano ed il colchico sono molto vicini tra loro, il colchico fiorisce tra agosto e settembre mentre come si è già detto lo zafferano fiorisce tra ottobre e novembre.

Le due piante presentano variazioni morfologiche che possono essere sfruttate per distinguerle l'una dall'altra. Il colchico presenta sei stami di piccole dimensioni mentre lo zafferano ne presenta solo tre accompagnati dai classici tre stimmi rossi.

Un'altra caratteristica distintiva tra le due specie risiede nel loro habitat, poiché il colchico si trova comunemente in ambienti naturali come i prati o radure boschive umide, mentre lo zafferano non è naturalmente rintracciabile in habitat selvatici a causa delle sue caratteristiche genetiche. La natura sterile data dalla triploidia dello zafferano rende la pianta dipendente dalle cure dell'uomo, permettendo quindi la sua propagazione solo attraverso il manuale spostamento dei bulbi da parte dell'essere umano. Pertanto, in caso di individuazione di piante che potrebbero essere erroneamente scambiate per zafferano, è consigliabile evitare la raccolta. È possibile che vengano ritrovate piante simili allo zafferano, per esempio quelle imparentate ad esso quali il *Crocus pallasii*, ma queste non hanno un valore commerciale e comunque a meno che non si è certi che sia zafferano meglio non raccoglierlo.



Figura 5 Differenze fra il fiore di zafferano e il fiore di colchico

### 3.3 ISO 3632

L'analisi della qualità del prodotto sia intero che macinato viene eseguita secondo le indicazioni della normativa ISO 3632-1:2011 e ISO 3632-2:2010 che determina la qualità dello zafferano attraverso l'uso della spettrofotometria UV-visibile e della cromatografia su strato sottile, rispettivamente utilizzate allo scopo di stabilire la categoria di appartenenza dello zafferano e la presenza di coloranti artificiali aggiunti.

I disciplinari di produzione in Italia dei prodotti DOP quali lo zafferano dell'Aquila, lo zafferano di San Gimignano e lo zafferano di Sardegna, sono tutti basati sulla normativa ISO per quanto riguarda l'identificazione della qualità, il che definisce le regole a cui sono soggetti i prodotti per essere commercializzati con la dicitura DOP.

La norma categorizza lo zafferano in tre distinti gradi di qualità sulla base di diversi tipi di analisi effettuati, dividendo in criteri fisici e criteri chimici tale suddivisione:

- Prima categoria: è lo zafferano di miglior pregio, senza la presenza di materiale vegetale della stessa pianta (limite dello 0,5% sulla massa totale) oppure di materiale esterno vegetale o animale (limite dello 0,1%). La picrocrocina, che dona il gusto alla spezia, quando analizzata alla lunghezza d'onda di 257 nanometri deve avere una assorbanza minima di 70 mentre il potere colorante dato dalla crocina analizzata alla lunghezza d'onda di 440 nm deve avere un minimo di assorbanza di 200;
- Seconda categoria: zafferano di media qualità che può contenere fino al 3% di materiale endogeno di *Crocus sativus* e/o un massimo di 0,5% di materiale esogeno. La picrocrocina contenuta deve avere un minimo di assorbanza di 55 mentre la crocina un minimo di 170;
- Terza categoria: lo zafferano di più bassa qualità. Può contenere un massimo del 5% di materiale vegetale endogeno e/o un massimo di 1% di materiale estraneo. La picrocrocina deve avere una assorbanza minima di 40 mentre la crocina di 120.

Nelle versioni precedenti della normativa ISO 3632 veniva considerata anche una quarta categoria dove i valori ottenuti dai campioni erano di molto inferiori alle altre tre categorie. Tuttavia, si è visto nel tempo che lo zafferano appartenente alla quarta categoria possedeva spesso grandi quantità di materiale esogeno, rendendo di fatto difficile categorizzarlo propriamente come zafferano. Si è reso necessario quindi eliminare questa categoria, migliorando i limiti per la quale il prodotto messo in esame si possa definire correttamente come zafferano.

La spettrofotometria UV-visibile è la tecnica usata principalmente nella ISO, e si basa sull'assorbimento dell'energia luminosa da parte del campione. Nello zafferano viene utilizzata per valutarne la forza colorante, data principalmente dalle crocine e dalle

picrocrocine in minor parte. Questo metodo possiede il vantaggio di essere rapido e semplice, nonché permette l'analisi di grandi quantità di campioni ma possiede anche diversi svantaggi. Uno tra di questi, per esempio, è la incapacità di distinguere la natura degli adulteranti oltre che la loro quantità effettiva. Infatti, secondo lo studio di Sabatino et al. (2011) la tecnica della spettrofotometria UV-vis risulta avere dei problemi a identificare correttamente la qualità dello zafferano. Nello studio si afferma che alla presenza di valori tra il 10 ed il 20% di adulterante, secondo la analisi, il campione poteva ancora rientrare nella categoria II di qualità della ISO mentre solo per quantitativi tra il 20% ed il 50% di peso su peso (w/w) di adulterante i campioni venivano giudicati peggio della categoria III.

Oltre alle caratteristiche sopra citate riguardanti le caratteristiche coloranti, tutte e tre le qualità devono rispettare alcuni parametri:

- Umidità: non deve essere superiore del 12% nel caso di filamenti interi/a pezzi e del 10% nel caso dello zafferano in polvere;
- Ceneri totali: non devono essere superiori al 8%;
- Ceneri insolubili in acido: non devono essere superiori al 1%;
- Estratto solubile in acqua fredda: deve avere una frazione di massa non superiore al 65% sulla materia secca;
- Potere aromatico: espresso valutando l'assorbanza del safranale alla lunghezza d'onda di 330 nanometri, deve avere una assorbanza minima di 20 ed una massima di 50;
- Assenza totale di qualsiasi tipologia di colorante di origine sintetica.

García-Rodríguez et al. (2017) fa notare che le differenze tra le categorie sono basate solo sui composti coloranti, mentre la ISO non dà molto valore al potere aromatico dato dal safranale, nonostante si tratti di uno dei tre maggiori composti ritrovato nella spezia. Lo studio ha quindi paragonato l'identificazione del safranale attraverso le indicazioni della ISO 3632 con l'estrazione del safranale attraverso l'uso della cromatografia liquida ad alta prestazione equipaggiata con un rilevatore a serie di fotodiodi (HPLC DAD). È stato dimostrato che nelle analisi mediante spettrofotometria UV-visibile la quantità di safranale viene sovrastimata possibilmente a causa di interferenze causate dalla presenza



di esteri di cis-crocetina ed altri composti che assorbono a lunghezze simili a quella del safranale, ovvero a 330 nm.

Sempre la ISO 3632 propone delle immagini di riferimento per analizzare varie parti dello zafferano al microscopio. Le immagini sono divise in ingrandimenti 100x e 400x e sono utilizzate per osservare sia la spezia intera che macinata.

Tra i metodi descritti nella ISO troviamo anche una metodica molto semplice per valutare la presenza di eventuali nitrati. Se aggiungiamo il campione di zafferano genuino in una soluzione contenente difenilammina potremmo notare come esso diventi prima blu per poi passare rapidamente ad un colore rosso-marroncino scuro. Nel caso ci fossero dei nitrati il colore blu della soluzione persisterà piuttosto che cambiare (Kumari et al., 2021).

### **3.4 Cromatografia su strato sottile TLC**

La cromatografia su strato sottile (TLC) è una tecnica utilizzata per separare le componenti colorate dei campioni grazie al passaggio per capillarità di un fluido attraverso una matrice che costituisce la fase stazionaria.

Si tratta di una tecnica presente nella normativa ISO e attraverso questo metodo vengono ricercati i seguenti coloranti:

- amaranto (E123);
- azorubina (E122);
- arancio II;
- ponceau 4R (E124);
- giallo di chinolina (E104);
- giallo tramonto FCF (E110);
- tartrazina (E102);
- giallo 2G (E107);
- rosso acido 88.

Si tratta di una tecnica dai costi modesti e molto utilizzata nei laboratori, tuttavia, è possibile utilizzarla solo per la ricerca di coloranti estranei allo zafferano.

Una versione evoluta della tecnica, definita ad alte prestazioni (HPTLC) è stata testata, in accoppiata ad una analisi multivariata di immagini, nello studio di Amirvaresi et al. (2020). La tecnica si è rivelata utile nell'autenticazione dell'origine di diversi campioni di zafferano iraniano riuscendo a identificarne l'origine nel 92% dei casi, a seguito di una analisi delle componenti principali nelle coordinate RGB delle immagini ottenute. Inoltre, alcuni adulteranti più comuni come lo stile di zafferano, il cartamo, la calendula e la robbia comune sono stati studiati mediante raccolta di immagini HPTLC e utilizzando una regressione ai minimi quadrati parziali (PLS-DA): i risultati hanno rivelato una classificazione accurata dello zafferano e degli adulteranti con una sensibilità del 99,14%, una specificità del 96,94%, un tasso di errore dell'1,96% e un'accuratezza del 98,04%.

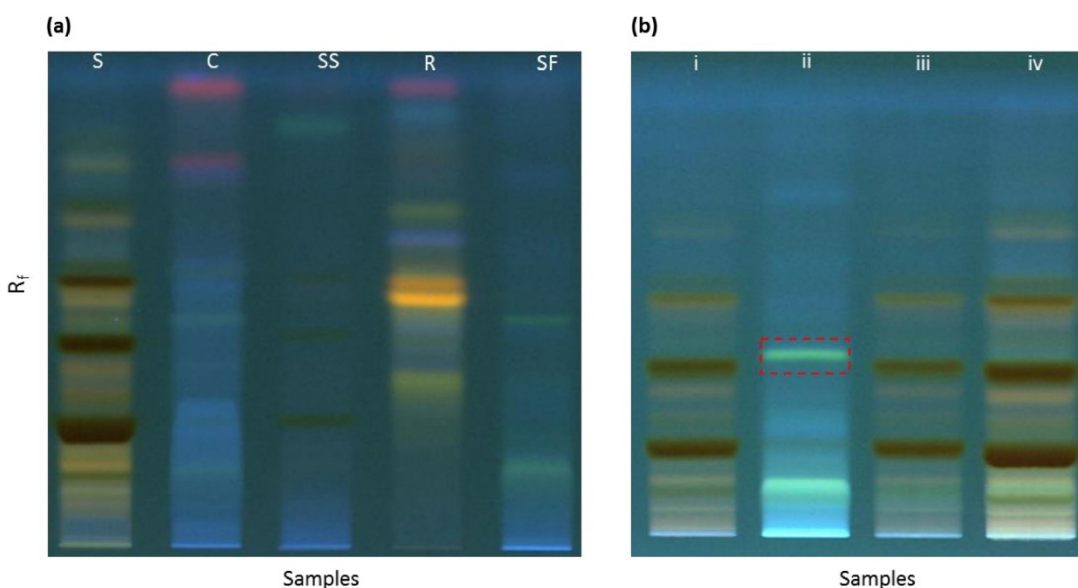


Figura 6 (a) Immagine HPTLC di: S zafferano; C calendula; SS stili di zafferano; R robbia; SF cartamo. (b) Immagine HPTLC di: I zafferano puro, II cartamo puro; III campioni adulterati con il 5% di cartamo e un volume di iniezione di 3 microlitri; IV campioni adulterati con il 5% di cartamo e un volume di iniezione di 10 microlitri (Amirvaresi et al. 2020)

### 3.5 HPLC

La tecnica della cromatografia liquida ad alta prestazione, o HPLC, è una tecnica molto comune nei laboratori che si presta a grandi utilizzi nell'ambito della ricerca di determinate molecole. Il sistema HPLC funziona attraverso l'affinità delle varie molecole presenti in una fase definita mobile e delle sfere di vario materiale presenti in una fase definita stazionaria, il tutto sotto pressione ed in colonne dal diametro molto piccolo.

Nella ISO 3632 viene utilizzata la HPLC solo per la ricerca della presenza di coloranti artificiali idrosolubili azoici, in sostituzione o in abbinata alla cromatografia su strato sottile.

A causa della poca affidabilità, secondo alcuni, della metodologia ISO, ulteriori marcatori sono stati ricercati al fine di migliorare la identificazione della presenza di adulteranti nello zafferano. Per fare ciò, una ipotesi potrebbe essere la ricerca di molecole specifiche che sono ASSENTI nello zafferano, a differenza dei vari studi che invece cercano qualcosa all'interno di esso.

Nello studio di Kong et al., (2019), infatti, si sono ricercati degli specifici composti assenti nello zafferano ma presenti in piante estranee quali mais, crisantemo e cartamo. Lo studio si è avvalso dell'uso combinato di HPLC e di spettrometria di massa, con lo scopo di ricercare determinati composti quali allantoina (marcatore degli stimmi di mais), acido clorogenico (crisantemo) e safflomina A (cartamo).

La tecnica può essere utilizzata anche per quantificare le molecole presenti all'interno dei campioni, infatti è stata utilizzata nello studio di Caballero-Ortega et al. (2007) per andare a quantificare i metaboliti secondari più presenti all'interno dello zafferano.

È emerso in questo caso che campioni di origine differente non mostrano la presenza di picchi diversi, ma solo un loro diverso rapporto. Questo è un buon punto di partenza per poter utilizzare questa tecnica come metodo di autenticazione dello zafferano.

La tecnica HPLC abbinata a detector Q-TOF è stata utilizzata anche per identificare simultaneamente dei marcatori di autenticità del *Crocus sativus* (kaempferol 3-O-

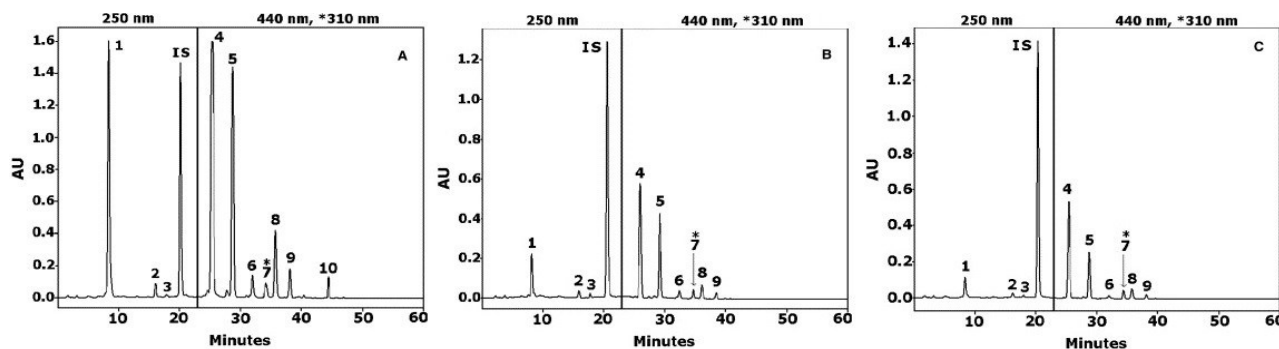


Figura 7 Esempio di impronta cromatografica ottenuta con HPLC. I numeri rappresentano rispettivamente i picchi di: 1 picrocrocina; 2 HTTC; 3 3-gentiobiosyl-kaempferolo; 4 trans-crocina 4; 5 trans-crocina 3; 6 trans-crocina 2; 7 safranale; 8 cis-crocina 4; 9 trans-crocina 2; 10 cis-crocina 2; presente lo standard interno 2-nitroanilina. Rispettivamente si fa riferimento a campioni provenienti da: A Grecia; B campione commerciale Sigma S8381; C Cina. (Tratto da Caballero-Ortega et al., 2007)

glucoside, kaempferol 3-O-sophoroside, kaempferol 3,7-O-diglucoside, kaempferol 3,7,4-O-triglucoside, kaempferol 3-O-sophoroside-7-O-glucoside) e il genoposide come marcatore della adulterazione con fiori di gardenia (Guijarro-Díez et al., 2017).

### 3.6 Gas cromatografia

La gas cromatografia è un'altra tecnica cromatografica che differisce dall'HPLC per l'utilizzo di gas al posto di solventi allo stato liquido come carrier. Questa tipologia di analisi spesso viene utilizzata abbinata ad altre tipologie oltre che abbinata alla chemiometria, una tipologia di statistica alla quale vengono applicati calcoli matematici ai dati chimici.

Per esempio nello studio di Filatova et al. (2024) viene utilizzata in accoppiata con la spettroscopia di massa ad alta risoluzione previa estrazione tramite micro-estrazione in fase solida (SPME). Sono state ricercate nello zafferano e negli adulteranti delle specifiche molecole marker che possano distinguere la spezia dalle altre, utilizzando poi la chemiometria per elaborare i dati. Nello studio sono stati utilizzati come adulteranti presi in analisi cartamo, curcuma e calendula oltre che dei campioni di *Capsicum annum*. Nello studio è stata eseguita sia una analisi dei componenti principale (PCA) che una regressione ai minimi quadrati parziali (PLS-DA). Lo studio ha rilevato che attraverso questa tecnica combinata è possibile arrivare a identificare quantitativi di adulterante nello zafferano superiori al 2%. Grazie a questa ricerca si sono riusciti a identificare 11 marcatori per lo zafferano e ben 27 marcatori volatili per quattro fra i suoi adulteranti più comuni.

Un studio era stato fatto precedentemente da Di Donato et al. (2021) con metodiche molto simili a Filatova et al. ma con l'aggiunta del metodo di classificazione SIMCA, acronimo di *Soft Independent Models of Class Analogy*. L'uso della gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa permette di rilevare la presenza di adulterante fino al 2% del totale nel caso di curcuma e calendula mentre fino al 3% nel caso del cartamo, anche se in questo ultimo l'intensità dei segnali trovati era scarsa probabilmente a causa della diversa componente volatile.

### 3.7 DNA

L'analisi del DNA è una tipologia di ricerca che attualmente sta prendendo molto piede nel campo delle analisi questo perché, se fino a cinquanta anni fa il costo dei primer e dei nucleotidi per essa era molto elevato per piccole quantità, ora si è reso più accessibile sia come costi che come quantità.

Il DNA barcoding è una tra le varie tecniche utilizzate con a base le molecole di DNA. Per DNA barcoding si intende la ricerca di determinati segmenti all'interno del genoma caratteristici di quella specie. Ogni specie possiede nel genoma alcuni tratti che la differenziano da tutte le altre, un po' come se fossero i codici a barre dei prodotti del supermercato, da cui infatti prende il nome. Tale tecnica potrebbe essere usata per esempio alla ricerca di eventuali patogeni. Affiancata dalla PCR, ovvero la *Polymerase Chain Reaction*, permette di ottenere più facilmente le copie dei segmenti in questione per effettuare le analisi del caso.

La ricerca di determinate sequenze presenti nello zafferano e nei suoi più comuni adulteranti può portare alla identificazione della sostanza in questione, oltre che garantire l'eventuale presenza dell'adulterante stesso. Tuttavia, questo metodo può risultare inefficace se allo zafferano vengono aggiunte parti della stessa pianta, motivo per cui è necessario affiancarlo ad eventuali altre tipologie di analisi. Questa ricerca potrebbe però in futuro permettere lo sviluppo di kit pronti all'uso per facilitare e velocizzare le analisi sullo zafferano (Marieschi et al., 2012).

Sono presenti numerosi studi che cercano di trovare dei marcatori genetici tipici solo dello zafferano che possano essere realmente utilizzati per permettere di identificare meglio questa tipologia di truffa nel mondo commerciale (vedi Javanmardi et al., 2011; Marieschi et al., 2012; Soffritti et al., 2016; Villa et al., 2017). In questi studi vengono presi in esame anche marcatori dei più comuni adulteranti spesso ritrovati in campioni di zafferano in tutto il mondo.

Lievens et al. (2021) per esempio ha sviluppato e studiato un'ulteriore metodica per determinare la purezza di un ingrediente all'interno di un cibo. La metodologia prende il nome di "DNA *accounting*", che potrebbe essere tradotta con "Contabilità del DNA". In sostanza il funzionamento prevede l'analisi attraverso l'uso iniziale di una specifica PCR,

denominata ddPCR, per poi fare una comparazione con una analisi fluorimetrica del DNA.

Con il termine ddPCR si intende la “*droplet digital*” PCR la quale è una tecnica dove le reazioni avvengono all’interno di piccole goccioline in una emulsione di acqua e olio, da qui infatti prende il nome “*droplet*”. Dentro queste goccioline avvengono le reazioni di polimerizzazione solo ed esclusivamente dove vi è la presenza della molecola presa di mira dall’enzima polimerasi. A seguito della reazione un computer valuta in modo positivo o negativo se è avvenuta tale reazione, definendo ogni gocciolina con uno zero se negativa e con uno se positiva. Alla fine, si trasforma in un calcolo che il computer esegue stimando il numero di molecole presenti. ([www.labworld.it](http://www.labworld.it))

La ddPCR permette in pratica di ottenere una stima quantitativa delle copie dei segmenti presi in considerazione che poi verrà messa a confronto con le reali copie ottenute stabilendo la concentrazione del DNA. I due valori dovrebbero essere teoricamente uguali e l’eventuale deviazione del numero atteso di copie da quello effettivo dovrebbe essere un indice della presenza di adulteranti, dandoci informazioni sia quantitative che qualitative (Raina et al., 2024).

Le aspettative della analisi con DNA *accounting* si rivelano interessanti ma rimane la problematica che si tratta di una analisi che presenta alti costi a causa della tipologia di macchinario e dei reagenti utilizzati, rendendola poco accessibile a eventuali piccoli laboratori o a piccole aziende che la richiedono.

### **3.8 Spettroscopia NIR e FTIR**

La spettroscopia a infrarossi permette una tipologia di analisi non distruttiva dei campioni lasciando spazio ulteriormente poi ad altre analisi sugli stessi campioni. Una luce infrarossa viene emessa dal macchinario comprendendo un vasto range di lunghezze d’onda e andando ad eccitare i legami tra le molecole del campione. Ogni tipo di legame possiede certe frequenze che vengono assorbite, creando dei picchi negativi sullo spettro finale. Qui però le tecniche si dividono in due strade.

La spettroscopia nel vicino infrarosso (*Near Infra Red*) si differenzia dalla spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR) per via del fatto che la prima sfrutta solo

determinate lunghezze d'onda generate dal monocromatore mentre la seconda utilizza tutta la frequenza dell'infrarosso andando ad osservare le interferenze prodotte piuttosto che i picchi di energia mancante. La spettroscopia FTIR sviluppa quindi moltissimi dati che vengono elaborati dalla trasformata di Fourier, un complesso calcolo matematico che permette di ottenere spettri più precisi della NIR.

L'analisi richiede che il campione sia omogeneo, rendendo difficile, per esempio, la rilevazione di adulteranti se questi non sono stati miscelati bene. Inoltre, la quantità di umidità presente può alterare sensibilmente la analisi e sono necessarie calibrazioni continue per ottenere dei risultati soddisfacenti. Nonostante ciò nello studio di Shawky et al. (2020) si è rivelata una buona metodica, riuscendo ad arrivare a differenziare tra zafferano puro ed uno contenente 10 mg/gr di adulterante, tra cui stami e stigmi esausti di zafferano stesso.

### **3.9 Spettroscopia NMR**

La spettroscopia di Risonanza Magnetica Nucleare, in inglese NMR, è una particolare tecnica che utilizza i campi magnetici per influenzare gli atomi e osservarne le reazioni, andando ad informarci sulla composizione chimica dei campioni su cui viene eseguita. La metodica non è distruttiva e attraverso il suo uso è possibile ottenere il profilo chimico degli adulteranti e metterlo a paragone con quello dello zafferano. Attraverso l'uso di questa tecnica è possibile differenziare lo zafferano tradizionale da quello coltivato biologicamente, andando ad analizzare gli isotopi di idrogeno e carbonio presenti.

Alcuni studi (Petrakis et al., 2015, 2017) mostrano come questo metodo sia abbastanza affidabile nel riconoscere la presenza di adulterazione nello zafferano, in particolar modo per la ricerca dei coloranti Sudan, composti banditi in Unione europea. La metodica si rivela infatti richiedere una lavorazione minima del campione analizzato oltre che una alta riproducibilità dei test. Vantaggi che però vengono ridotti a causa della costosa attrezzatura necessaria per svolgere l'analisi.

### 3.10 Altre metodiche

L'analisi sensoriale e olfattiva dello zafferano può avvenire solo durante il consumo della spezia. Infatti, l'aroma dello zafferano deve risultare “come il miele, con note metalliche erbose e di fieno. Il gusto dello zafferano deve essere come il fieno ma con delle punte di amaro” (Kumar et al. 2009). I numerosi coloranti che vengono cercati tramite le analisi all'interno dello zafferano spesso possiedono una nota di artificiale che rovina il gusto.

In questo si potrebbe testare l'eventuale presenza di colorante immergendo lo zafferano in acqua per osservare ciò che succede. In acqua lo zafferano genuino tende a rilasciare il proprio colore in modo graduale e lento mentre coloranti estranei vengono rilasciati molto rapidamente. Questo è un banale metodo per valutare se lo zafferano che abbiamo comprato possiede qualcosa di colorato in modo artificiale al suo interno. L'unico svantaggio è che si tratta di una pratica che può essere utilizzata solo sugli stimmi interi dello zafferano poiché per il prodotto in polvere risulterebbe inutile.

Un ulteriore metodo per verificare la qualità dello zafferano può essere ottenuto per via chimica. Nello studio condotto da Mohamad et al. (2015) viene cercato appunto un metodo rapido e veloce per distinguere dello zafferano genuino. Attraverso l'uso di acido solforico si è riusciti ad evidenziare come gli apocarotenoidi contenuti nello zafferano reagiscano in modo differente all'acido solforico rispetto ai coloranti presenti nello zafferano falso. I carotenoidi dello zafferano, infatti, vengono idrolizzati sviluppando una colorazione blu variando successivamente tra il viola ed il rosso mentre quello falso sviluppa una colorazione gialla. Ciò nonostante, metodologie chimiche potrebbero risultare inefficaci per la ricerca in presenza di quantità piccole di adulterante.

Recentemente ha preso piede una nuova tecnologia che sfrutta molteplici sensori allo scopo di simulare l'organo olfattivo umano. Tale tecnica prende il nome di naso elettronico, oppure *E-nose*, il quale si basa su un sistema di semiconduttori a base di ossidi metallici che reagiscono con i componenti dei campioni analizzati. Un computer poi riassume e analizza i dati ottenuti attraverso questa reazione. Esiste un'altra tecnica che va a simulare invece le papille gustative dell'essere umano attraverso dei sensori elettrochimici e prende il nome di lingua elettronica, oppure *E-tongue*. Entrambe le tecniche sono spesso usate in combinazione, un po' anche a ricordare ciò che avviene all'interno del corpo umano con l'olfatto retronasale. Nello studio di Heidarbeigi et al.



(2015) viene utilizzata la tecnica del naso elettronico riuscendo ad ottenere un riconoscimento di adulterazione da parte di stimmi di mais e cartamo con un successo rispettivo del 86,87% e del 100% grazie all'uso di reti neurali e di PCA per analizzare i dati.

In due studi differenti di Yousefi-Nejad et al. (2021, 2022) viene utilizzata per esempio la tecnica della lingua elettronica per predire le concentrazioni rispettivamente di safranale e di crocine, con una rispettiva accuratezza del 98,81% e del 98,80%. Questa tecnica può prendere campo nel riconoscimento della qualità dello zafferano.

### **3.11 Prospettive future**

Quasi tutte le metodologie descritte precedentemente hanno la caratteristica comune di essere metodiche dispendiose in termini di tempo e di risorse oltre che spesso distruttive per i campioni analizzati e, essendo noto il valore economico non indifferente di tali campioni, si sta cercando di sviluppare ulteriori metodi di ricerca delle frodi nello zafferano. Inoltre, per molte è necessaria la presenza di personale specializzato ed addestrato.

Per fare un paragone, secondo la ISO 3632-1:2011 il minimo quantitativo di campione da utilizzare è di 23 grammi per gli stimmi interi/a pezzi e di 13,5 grammi per la forma in polvere mentre lo zafferano comunemente trovato in commercio viene venduto in confezioni al dettaglio di 0,3 grammi. Le analisi dello zafferano sono improntate in modo che le grandi aziende possano eseguirle attraverso l'uso di laboratori adeguati oppure commissionando ad enti esterni, lasciando però al consumatore finale il dubbio sulla veridicità delle informazioni che tali aziende trasmettono al prodotto.

In uno studio condotto da Alighaleh et al. (2023) si è studiata la possibilità di identificare adulterazioni nello zafferano mediante un metodo non distruttivo come l'identificazione attraverso l'uso di immagini opportunamente trattate al computer e software informatici. Nello studio sono state utilizzate foto con raffigurati diversi adulteranti comuni nello zafferano e utilizzate come fonte di apprendimento per algoritmi di *machine learning*. La maggior comprensione della tecnologia e lo sviluppo sempre maggiore dei sistemi informatici vengono in aiuto proprio alla causa attraverso algoritmi complessi addestrati

a riconoscere lo zafferano mediante l'uso di immagini RGB (*Red-Green-Blue*). La tecnica si è rivelata avere il 99.8% di accuratezza nel riconoscimento dei campioni contraffatti.

Questo studio, che non è il solo (vedi Momeny et al. 2023), mostra come l'avanzamento della tecnologia nell'informatica possa sviluppare un metodo per rendere accessibile anche al consumatore l'abilità di riconoscere se il prodotto acquistato sia genuino o meno, confermando quindi la trasparenza che deve esserci tra azienda produttrice e consumatore finale.

Una possibile applicazione sviluppata per i dispositivi mobili potrebbe avere un funzionamento simile a quello che oggi prende il nome di ricerca inversa delle immagini. Quando infatti si utilizza questo servizio, il sistema manda l'immagine nel server e viene processata attraverso algoritmi. Successivamente viene messa in paragone con altre immagini, creando un feedback sulle caratteristiche riscontrabili dall'immagine di partenza confrontate con le immagini presenti nel database. Un sistema simile potrebbe essere sviluppato, eventualmente poi anche ampliato grazie alle foto che il consumatore stesso ha utilizzato per la comparazione. Si andrebbe così a sviluppare un database da cui il sistema può trarre le informazioni, reso disponibile grazie al lavoro di ricercatori, eventuali aziende produttrici e i consumatori.

L'avanzamento della intelligenza artificiale nei vari campi della vita di tutti i giorni potrebbe nel prossimo futuro permettere di individuare frodi e adulterazioni nei prodotti semplicemente attraverso l'uso di una fotografia fatta dal proprio smartphone. Inoltre, potrebbe essere di grande aiuto anche alle autorità competenti con un feedback rapido per la valutazione della presenza di frode nel prodotto.

## Capitolo 4: Conclusione

La ricerca della presenza di adulteranti nello zafferano è ancora in fase di sviluppo ma al giorno d'oggi ci sono molte tecniche disponibili che possiedono un grande potenziale nel risolvere questo problema.

Le analisi più semplici come quella attraverso l'uso di acido e il semplice colore rilasciato in acqua sono affidabili solo quando il campione è molto adulterato, lasciando spazio quindi alle altre tipologie.

La normativa ISO ci viene in aiuto solo per determinare la qualità del prodotto e non rileva eventuali suoi adulteranti con la spettroscopia UV-vis.

La HPLC si rivela come una buona tecnica ma sono necessari ulteriori studi alla ricerca di marcatori ritrovabili negli adulteranti per permetterne un migliore riconoscimento.

L'analisi genetica possiede la maggior affidabilità nella ricerca di adulteranti, tuttavia, non si è rivelata utilizzabile nel caso di adulterazioni con altre parti della stessa pianta.

L'uso dei metodi basati sull'infrarosso si è rivelato promettente nella ricerca ma possiede comunque dei problemi.

La gas cromatografia risulta un ottimo metodo per l'identificazione degli adulteranti, tuttavia, non presa singolarmente ma in abbinata ad altri tipi di analisi.

Gli strumenti di analisi quali naso e lingua elettronica necessitano ancora di ulteriori sviluppi ma possiedono un buon potenziale.

Con gli ultimi svolti nel campo del *machine learning* ci sono ottime basi per permettere il riconoscimento tramite immagini della presenza di adulteranti, con la possibilità di dare in mano al consumatore uno strumento per verificare in prima persona la qualità del prodotto acquistato.

Ogni analisi presentata possiede vantaggi e svantaggi, rendendo difficile trovare una metodica realmente affidabile singolarmente, motivo per cui è consigliato l'uso di più tecniche alla volta. L'educazione dei consumatori ai rischi collegati dall'adulterazione dello zafferano deve avvenire affinché si possa generare pressione sulle aziende produttrici per dare la priorità sulla autenticità dei prodotti. Le tecniche sviluppate

necessitano ancora di ricerche e anche gli effetti che hanno gli adulteranti sulla salute e sulle finanze del consumatore sono ancora da ben definire, ciò nonostante, ci sono buone premesse per risolvere questo problema.

## Sitografia

- <https://www.perseus.tufts.edu/hopper/text?doc=Perseus%3Atext%3A1999.02.0137%3Abook%3D21%3Achapter%3D17#note10> Consultato in data 28 marzo 2024
- <http://www.zafferanodop.it/storia-zafferano.asp> Consultato in data 28 marzo 2024
- <https://pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Colchicum+autumnale> Consultato in data 4 aprile 2024
- <https://www.zafferanoaltopianonavelli.it/lo-zafferano-dell-aquila-dop/> Consultato in data 6 aprile 2024
- <https://www.labworld.it/replicazione-del-dna-goccia-dopo-goccia/> Consultato in data 11 aprile
- [https://it.wikipedia.org/wiki/Crocus\\_sativus](https://it.wikipedia.org/wiki/Crocus_sativus) Consultato in data 12 aprile
- [https://it.wikipedia.org/wiki/Curcuma\\_longa](https://it.wikipedia.org/wiki/Curcuma_longa) Consultato in data 13 aprile
- <https://www.tasteatlas.com/saffron> Consultato in data 13 aprile
- <https://oec.world/en/profile/hs/saffron?yearSelector1=2022&yearSelector2=2022> Consultato in data 13 aprile
- [https://dryades.units.it/dolomitifriulane/index.php?procedure=taxon\\_page&id=6764&num=320](https://dryades.units.it/dolomitifriulane/index.php?procedure=taxon_page&id=6764&num=320) (Portale della Flora d'Italia) Consultato in data 15 aprile

## Bibliografia

- Alighaleh, P., Pakdel, R., Ghanei Ghoshkhaneh, N., Einafshar, S., Rohani, A., & Saeidirad, M. H. (2023). Detection and Classification of Saffron Adulterants by Vis-Nir Imaging, Chemical Analysis, and Soft Computing. *Foods (Basel, Switzerland)*, 12(11), 2192. <https://doi.org/10.3390/foods12112192>
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2001.tb00604.x>
- Amirvaresi, A., Rashidi, M., Kamyar, M., Amirahmadi, M., Daraei, B., & Parastar, H. (2020). Combining multivariate image analysis with high-performance thin-layer

- chromatography for development of a reliable tool for saffron authentication and adulteration detection. *Journal of Chromatography A*, 1628, 461461.
- Caballero-Ortega, H., Pereda-Miranda, R., & Abdullaev, F. I. (2007). HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. *Food Chemistry*, 100(3), 1126–1131. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.020>
- Cerdá-Bernad, D., Valero-Cases, E., Pastor, J. J., & Frutos, M. J. (2022). Saffron bioactives crocin, crocetin and safranal: effect on oxidative stress and mechanisms of action. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(12), 3232–3249. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1864279>
- Cid-Pérez, T. S., Nevárez-Moorillón, G. V., Ochoa-Velasco, C. E., Navarro-Cruz, A. R., Hernández-Carranza, P., & Avila-Sosa, R. (2021). The Relation between Drying Conditions and the Development of Volatile Compounds in Saffron (*Crocus sativus*). *Molecules*, 26(22), 6954. <https://doi.org/10.3390/molecules26226954>
- Di Donato, F., D'Archivio, A. A., Maggi, M. A., & Rossi, L. (2021). Detection of Plant-Derived Adulterants in Saffron (*Crocus sativus* L.) by HS-SPME/GC-MS Profiling of Volatiles and Chemometrics. *Food Analytical Methods*, 14(4), 784–796. <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01941-x>
- Disciplinare di produzione DOP "Zafferano dell'Aquila". Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea, 5.02.2005
- Disciplinare di produzione DOP "Zafferano di San Gimignano". Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea, 5.02.2005
- Disciplinare di produzione DOP "Zafferano di Sardegna". Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea, 3.02.2009
- EFSA Panel on Nutrition, Novel foods and Food allergens (NDA), Turck, D., Castenmiller, J., De Henauw, S., Hirsch-Ernst, K. I., Kearney, J., Knutsen, H. K., Maciuk, A., Mangelsdorf, I., McArdle, H. J., Naska, A., Pelaez, C., Pentieva, K., Thies, F., Tsabouri, S., Vinceti, M., Bresson, J.-L., & Siani, A. (2021). Affron® and increase in positive mood: Evaluation of a health claim pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 19(7), e06660. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6669>
- Eghbali, S., Farhadi, F., & Askari, V. R. (2023). An overview of analytical methods employed for quality assessment of *Crocus sativus* (saffron). *Food Chemistry: X*, 20, 100992. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100992>
- El Midaoui, A., Ghzaïel, I., Vervandier-Fasseur, D., Ksila, M., Zarrouk, A., Nury, T., ... & Lizard, G. (2022). Saffron (*Crocus sativus* L.): A source of nutrients for health and for the treatment of neuropsychiatric and age-related diseases. *Nutrients*, 14(3), 597.
- Fernández, J.-A., Santana, O., Guardiola, J.-L., Molina, R.-V., Heslop-Harrison, P., Borbely, G., Branca, F., Argento, S., Maloupa, E., Talou, T., Thiercelin, J.-M., Gasimov, K., Vurdu, H., Roldán, M., Santaella, M., Sanchís, E., García-Luis, A., Suranyi, G., Molnár, A., ... De-Los-Mozos-Pascual, M. (2011). The World Saffron and *Crocus* collection: Strategies for establishment, management,

- characterisation and utilisation. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58(1), 125–137. <https://doi.org/10.1007/s10722-010-9601-5>
- Ferrence, S. C., & Bendersky, G. (2004). Therapy with Saffron and the Goddess at Thera. *Perspectives in Biology and Medicine*, 47(2), 199–226. <https://doi.org/10.1353/pbm.2004.0026>
- Filatova, M., Hajslová, J., & Stupak, M. (2024). Detection of saffron adulteration by other plant species using SPME-GC-HRMS. *European Food Research and Technology*, 250(3), 911–922. <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04443-2>
- Frusciante, S., Diretto, G., Bruno, M., Ferrante, P., Pietrella, M., Prado-Cabrero, A., Rubio-Moraga, A., Beyer, P., Gomez-Gomez, L., Al-Babili, S., & Giuliano, G. (2014). Novel carotenoid cleavage dioxygenase catalyzes the first dedicated step in saffron crocin biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(33), 12246–12251. <https://doi.org/10.1073/pnas.1404629111>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.089>
- Ghaderi, A., Asbaghi, O., Reiner, Ž., Kolahdooz, F., Amirani, E., Mirzaei, H., Banafshe, H. R., Maleki Dana, P., & Asemi, Z. (2020). The effects of saffron (*Crocus sativus* L.) on mental health parameters and C-reactive protein: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Complementary Therapies in Medicine*, 48, 102250. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.102250>
- Guijarro-Diez, M., Castro-Puyana, M., Crego, A. L., & Marina, M. L. (2017). A novel method for the quality control of saffron through the simultaneous analysis of authenticity and adulteration markers by liquid chromatography-(quadrupole-time of flight)-mass spectrometry. *Food chemistry*, 228, 403-410.
- Hagh-Nazari, S., & Keifi, N. (2007). SAFFRON AND VARIOUS FRAUD MANNERS IN ITS PRODUCTION AND TRADES. *Acta Horticulturae*, 739, 411–416. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.739.54>
- Hashemi, P., Erim, F.B. Analysis of Vitamin B2 in Saffron Stigmas (*Crocus sativus* L) by capillary Electrophoresis Coupled with Laser-Induced Fluorescence Detector. *Food Anal. Methods* 9, 2395–2399 (2016). <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0430-9>
- Heidarbeigi, K., Mohtasebi, S. S., Foroughirad, A., Ghasemi-Varnamkhasti, M., Rafiee, S., & Rezaei, K. (2015). Detection of Adulteration in Saffron Samples Using Electronic Nose. *International Journal of Food Properties*, 18(7), 1391–1401. <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.915850>
- ISO Standard (2011). – Spices — Saffron (*Crocus sativus* L.) — Part 1 (Specification) and Part 2 (Test Methods). ISO 3632-1:2011 - ISO 3632-2:2010
- Jafari, S.-M., Tsimidou, M. Z., Rajabi, H., & Kyriakoudi, A. (2020). Bioactive ingredients of saffron: Extraction, analysis, applications. In *Saffron* (pp. 261–290). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818638-1.00016-2>

- Javanmardi, N., Bagheri, A., Moshtaghi, N., Sharifi, A., & Kakhki, A. H. (s.d.). *Identification of Safflower as a fraud in commercial Saffron using RAPD/SCAR marker*.
- Johnson, M. (2016). *Ovid on Cosmetics: Medicamina Faciei Femineae and Related Texts*. London: Bloomsbury Publishing
- Kakisis, J. D. (2018). Saffron: From Greek mythology to contemporary anti-atherosclerotic medicine. *Atherosclerosis*, 268, 193–195. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.11.021>
- Koca Bozalan, N., & Karadeniz, F. (2011). Carotenoid Profile, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity of Carrots. *International Journal of Food Properties*, 14(5), 1060–1068. <https://doi.org/10.1080/10942910903580918>
- Kong, W., An, H., Zhang, J., Sun, L., Nan, Y., Song, A., & Zhou, L. (2019). Development of a high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry method for identifying common adulterant content in saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(12), 1864–1870. <https://doi.org/10.1111/jphp.13152>
- Kothari, D., Thakur, M., Joshi, R., Kumar, A., & Kumar, R. (2021). Agro-climatic suitability evaluation for saffron production in areas of western Himalaya. *Frontiers in plant science*, 12, 657819.
- Kumar, R., Singh, V., Devi, K., Sharma, M., Singh, M. K., & Ahuja, P. S. (2008). State of Art of Saffron (*Crocus sativus* L.) Agronomy: A Comprehensive Review. *Food Reviews International*, 25(1), 44–85. <https://doi.org/10.1080/87559120802458503>
- Kumari, L., Jaiswal, P., & Tripathy, S. S. (2021). Various techniques useful for determination of adulterants in valuable saffron: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 301–321. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.061>
- Landi, R. (2007). *Lo zafferano: Tradizione e tipicità*. Firenze: Camera di Commercio Industria, Artigianato e Agricoltura.
- Lievens, A., Paracchini, V., Pietretti, D., Garland, L., Maquet, A., & Ulberth, F. (2021). DNA Accounting: Tallying Genomes to Detect Adulterated Saffron. *Foods*, 10(11), 2670. <https://doi.org/10.3390/foods10112670>
- Marieschi, M., Torelli, A., & Bruni, R. (2012). Quality Control of Saffron (*Crocus sativus* L.): Development of SCAR Markers for the Detection of Plant Adulterants Used as Bulking Agents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(44), 10998–11004. <https://doi.org/10.1021/jf303106r>
- Melnyk, J. P., Wang, S., & Marcone, M. F. (2010). Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Research International*, 43(8), 1981–1989. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.033>
- Mir, J. I., Ahmed, N., Wafai, A. H., & Qadri, R. A. (s.d.). *Variability in stigma length and apocarotenoid content in Crocus sativus L. selections of Kashmir*.
- Mohajeri, S. A., Hedayati, N., & Bemani-Naeini, M. (2020). Available saffron formulations and product patents. In *Saffron* (pp. 493–515). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818638-1.00034-4>

- Mohamad, I., Shukla, S. K., & Shakeel, W. (2015). Rapid detection of adulteration in indigenous saffron of Kashmir valley India. *Research Journal of Forensic Sciences*, 3 (3), 7–11.
- Momeny, M., Neshat, A. A., Jahanbakhshi, A., Mahmoudi, M., Ampatzidis, Y., & Radeva, P. (2023). Grading and fraud detection of saffron via learning-to-augment incorporated Inception-v4 CNN. *Food control*, 147, 109554.
- Moratalla-López N, Zalacain A, Bagur MJ, Salinas MR, Alonso GL (2018) Saffron. In: Food Integrity Handbook on Food Authenticity Issues and Related Analytical Techniques. [Internet]. Eurofins Analytics France. [193–204]
- Motamedi, M., Gharaei, F., & Saket, S. (2020). Saffron and religion. In *Saffron* (pp. 15–21). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818638-1.00002-2>
- Mustafa, M. A., & Othman, S. A. (2024). Effect of adding natural and synthetic antioxidants to broiler drinking water as antistressor on productivity, antioxidant statuses and hematological traits under heat stress. *Tikrit Journal for Agricultural Sciences*, 24(1), 94–104. <https://doi.org/10.25130/tjas.24.1.9>
- Nemati, Z., Harpke, D., Gemicioğlu, A., Kerndorff, H., & Blattner, F. R. (2019). Saffron (*Crocus sativus*) is an autotriploid that evolved in Attica (Greece) from wild *Crocus cartwrightianus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 136, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.03.022>
- Petrakis, E. A., Cagliani, L. R., Polissiou, M. G., & Consonni, R. (2015). Evaluation of saffron (*Crocus sativus* L.) adulteration with plant adulterants by <sup>1</sup>H NMR metabolite fingerprinting. *Food Chemistry*, 173, 890–896. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.107>
- Petrakis, E. A., Cagliani, L. R., Tarantilis, P. A., Polissiou, M. G., & Consonni, R. (2017). Sudan dyes in adulterated saffron (*Crocus sativus* L.): Identification and quantification by <sup>1</sup>H NMR. *Food Chemistry*, 217, 418–424. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.078>
- Rahmani, J., Bazmi, E., Clark, C., & Nazari, S. S. H. (2020). The effect of Saffron supplementation on waist circumference, HA1C, and glucose metabolism: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Complementary Therapies in Medicine*, 49, 102298. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2020.102298>
- Raina, A., Kaul, S., & Dhar, M. K. (2024). Sniffing out adulteration in saffron: Detection methods and health risks. *Food Control*, 155, 110042. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110042>
- Sabatino L, Scordino M, Gargano M, Belligno A, Traulo P, Gagliano G (2011) HPLC/PDA/ESI-MS Evaluation of Saffron (*Crocus sativus* L.) Adulter Nat Prod Commun 6 (12):1934578X1100601220
- Shawky, E., Abu El-Khair, R. M., & Selim, D. A. (2020). NIR spectroscopy-multivariate analysis for rapid authentication, detection and quantification of common plant adulterants in saffron (*Crocus sativus* L.) stigmas. *LWT*, 122, 109032. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109032>
- Soffritti, G., Busconi, M., Sánchez, R. A., Thiercelin, J. M., Polissiou, M., Roldán, M., & Fernández, J. A. (2016). Genetic and epigenetic approaches for the possible detection of adulteration and auto-adulteration in saffron (*Crocus sativus* L.) spice. *Molecules*, 21(3). <https://doi.org/10.3390/molecules21030343>. Article 343.



- Spence, C. (2023). Saffron: The colourful spice. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 34, 100821. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2023.100821>
- Vago, R., Trevisani, F., Vignolini, P., Vita, C., Fiorio, F., Campo, M., Ieri, F., Di Marco, F., Salonia, A., Romani, A., & Bettiga, A. (2024). Evaluation of anti-cancer potential of saffron extracts against kidney and bladder cancer cells. *Food Bioscience*, 57, 103501. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103501>
- Villa, C., Costa, J., Oliveira, M. B. P. P., & Mafra, I. (2017). Novel quantitative real-time PCR approach to determine safflower (*Carthamus tinctorius*) adulteration in saffron (*Crocus sativus*). *Food Chemistry*, 229, 680–687. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.136>
- Yousefi-Nejad, S., Heidarbeigi, K., & Roushani, M. (2021). Applications of electronic tongue system for quantification of safranal concentration in saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(2), 1626–1633. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00723-7>
- Yousefi-Nejad, S., Heidarbeigi, K., & Roushani, M. (2022). Electronic tongue as innovative instrument for detection of crocin concentration in saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Food Science and Technology*, 59(9), 3548–3556. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05349-1>