

ZAFFERANO: focus sulle adulterazioni

Introduzione

Lo zafferano (*Crocus sativus* L.) è una pianta i cui stimmi essiccati sono una spezia popolare e un condimento alimentare rinomato per il suo colore, aroma e sapore. Coltivato principalmente in India (zafferano del Kashmir), Spagna (zafferano spagnolo), Iran (zafferano persiano), Afghanistan e Grecia ed anche in Italia, *C. sativus* è una coltura nota per la raccolta molto laboriosa degli stimmi dai fiori. Lo zafferano, oltre all'uso come colorante e aromatizzante, ha una lunga

tradizione d'uso medicinale. Tra i principali costituenti attivi dello zafferano vi sono i carotenoidi come gli esteri della crocetina (o crocine), la crocetina e i ter-

penoidi come picrocrocina e safranale. La filogenesi dello zafferano è stata oggetto di diversi studi. Sulla base di criteri morfologici e citologici, Mathew¹ ha osservato che *C. cartwrightianus* è una specie simile a *C. sativus*. Ulteriori studi hanno indicato che *C. sativus* è probabilmente derivato dal suo antenato *C. cartwrightianus* tramite la fusione di due genomi da due diversi genotipi di *C. cartwrightianus* (autotriploidia).¹ Studi recenti hanno messo in evidenza come i DNA di *C. sativus* e quello di *C. cartwrightianus* abbiano una composizione simile.^{2,3}

Il nome dello zafferano (*C. sativus* L.), che è simile in molte lingue, deriva dalla parola araba z'aferan, che significa giallo. In Anatolia, durante il periodo ittita, lo zafferano era



Assamese: kungkum (কুংকুম)

Cinese: fan honghua (番紅花), xi honghua (西紅花), o zanghonghua (藏紅花)

Olandese: saffran

Francese: safran

Tedesco: Safran

Indi: zaffran, kesar (केसर)

Italiano: zafferano

Giapponese: safurán (さふらん)

Kashmiri: kong or kounḡ (کونگ)

Persiano: zaefaran (زعفران)

Portoghese: açafrao

Russo: shafran (шафран)

Sanscrito: kunkuma (कुंकुम)

Spagnolo: azafrán

Svedese: saffran

Urdu: kesar



chiamato A-Zupiru, che significa regina delle droghe. La pianta è chiamata korikos nell'antico greco, crocum nel periodo romano e kurkum in alcune parti del Medio Oriente. Gli antichi greci, che chiamavano lo zafferano "sangue di Ercole", lo usavano come incenso e lo mettevano negli amuleti per proteggersi dalle malattie e dal male.⁴ Nel riquadro sono riportati i nomi comuni con cui questa pianta è conosciuta nel mondo.^{5,6}

Distribuzione

Lo zafferano è una delle spezie più antiche con una storia d'impiego documentata, principalmente come ingrediente culinario e alimentare. L'origine e la domesticazione dello zafferano non sono certe. Alcune fonti sostengono che lo zafferano ha avuto origine in Medio Oriente, mentre altre citano l'Asia centrale o le isole della Grecia sud-occidentale⁷, da cui si è poi diffuso in India, Cina e nei paesi del Medio Oriente. Tra questi ultimi, la regione araba è accreditata per la distribuzione dello zafferano in tutto il bacino del Mediterraneo, incluso il Marocco. Tale spezia è stata istituita come coltura secondaria di elevato valore nel Vecchio Mondo, dall'India fino alla Gran Bretagna.⁷⁻⁹ I paesi che coltivano tradizionalmente lo zafferano sono: Azerbaigian, Francia, Grecia, India, Iran, Italia, Spagna, Cina, Israele, Giappone e Messico. Attualmente, l'area in cui viene coltivata questa pianta è tuttavia più ampia e comprende molte regioni in tutto il mondo.

Parti della pianta

Il fiore è formato da un perianto di sei tepali (spesso erroneamente chiamati petali nella letteratura scientifica), che contengono pigmenti antocianici.¹⁰ Ha tre stami con antere gialle, lunghi 15-20 mm. Lo stilo è incolore o giallo, collegato a uno stimma a tre rami di colore rosso intenso, lungo 25-50 mm.^{11, 12} I tepali dello zafferano vengono usati principalmente per tingere la lana, come risulta dalla documentazione storica esistente sul suo utilizzo come colorante.¹³ Lo stimma dello zafferano è la parte della pianta con il valore di mercato più elevato, mentre i tepali sono sottoprodotti e, talvolta, sono scartati dopo la raccolta. La parte più pregiata del fiore è il suo pistillo, composto da tre parti:

ovario, stilo e stimma, con aspetto fibroso e di colore rosso intenso. Lo zafferano in polvere si ottiene macinando gli stimmi essiccati.¹⁴ La raccolta dei fiori deve essere eseguita con attenzione per facilitare la separazione dello stimma e degli stami dai tepali. Quando viene separato dal fiore, lo stimma deve essere privo di altre parti del fiore, sporcizia e insetti.¹⁵

Usi generali

I tepali di zafferano sono usati come colorante naturale, per lo più per tingere le fibre di lana. Tra gli altri usi tradizionali quello come spezia, nei cosmetici e come medicinale.⁹

- **Uso medicinale:** le tinture e gli estratti di zafferano, ma anche gli infusi, gli unguenti, i cataplasmi e i bagni a base di zafferano, testimoniano l'uso tradizionale di questa pianta nel corso dei secoli per il trattamento di varie condizioni, come la guarigione delle ferite, febbre, dolore lombare, per aiutare la digestione e come aiuto per la dentizione dei neonati.¹⁴ Oggi, gli estratti di zafferano sono per lo più utilizzati per alleviare i sintomi di ansia e stress da lievi a moderati.^{16,17} Inoltre, vi sono evidenze sempre più crescenti da studi clinici degli effetti benefici di questa pianta sul sonno.¹⁸⁻²¹ Lo zafferano è stato utilizzato in passato anche per trattare malattie degli occhi e della pelle,²² guarire fratture, ridurre il dolore alle articolazioni e rimarginare le ferite.¹⁴ Studi sono inoltre in corso per valutare i potenziali effetti benefici di estratti di zafferano e loro costituenti su malattie neurodegenerative, sindrome metabolica, disfunzione sessuale, sindrome premestruale, appetito e metabolismo di carboidrati e lipidi.^{23,24}

- **Uso cosmetico:** come riportato da alcune fonti, nell'antichità lo zafferano aveva anche un uso cosmetico. Nella medicina tradizionale iraniana, per esempio, lo zafferano era utilizzato per trattare l'erisipela e per migliorare l'incarnato. Nella medicina tradizionale greca, invece, per rinfrescare la pelle del viso, curare ferite, acne e malattie della pelle.²² Formulazioni contenenti zafferano sono utilizzate anche nella medicina ayurvedica per il trattamento topico dell'acne.^{25,26} L'estratto di zafferano ed alcuni dei suoi





composti sono usati anche nell'Unione europea come ingredienti di prodotti cosmetici²⁷ per le loro funzioni balsamiche per la pelle, antiossidanti, coloranti e profumanti.⁹

Uso culinario: gran parte dello zafferano coltivato viene utilizzato in alimenti e bevande. Numerosi piatti utilizzano lo zafferano come spezia: per esempio, la bouillabaisse, una classica zuppa di pesce francese speziata, e la zarzuela, uno stufato di pesce spagnolo. Viene spesso utilizzato per aggiungere colore e sapore a piatti a base di riso, come la paella in Spagna, il risotto alla milanese, il chelow kabab, piatto

tipico iraniano, o i biryani, piatti tradizionali a base di

riso in Bangladesh, India e Pakistan.^{8,28} Safranlı zerde è un budino di riso turco contenente zafferano servito come dessert, mentre il gelato allo zafferano è popolare in Iran e in India; anche i dessert/dolci come il gulabjaman e il kulfi, insieme al famoso tè noto come kahwa, sono preparati con lo zafferano.²⁸ In Marocco, lo zafferano è usato nel tè al posto della menta.^{8,28}

Mercato

Importanza commerciale

Nel 2015 è stato raccolto zafferano per un volume corrispondente a circa 300 t di stimmi interi essiccati, di cui 50 t sono zafferano di prima qualità.^{29,30} La produzione globale di zafferano è salita negli anni successivi, con una stima di 418 t nel 2018 e di 472 t nel 2019.³¹ Lo zafferano è la spezia più costosa al mondo^{22,29}; il suo costo all'ingrosso e al dettaglio varia da 1.100 a 11.000 \$ per kg.

Fonti di approvvigionamento

Oggi, i principali paesi fornitori di zafferano sono: Iran, India, Afghanistan e Spagna.³²⁻³⁵ Il più grande produttore di questa spezia in Europa è la Grecia. Secondo un report del 2011,³⁶ fino al 90% di questa spezia venduta come zafferano spagnolo non proviene, in realtà, dalla Spagna, ma dall'Iran, dalla Grecia o dal Marocco, dove costa meno. Le aziende spagnole possono vendere zafferano acquistato da altri paesi come zafferano spagnolo.³⁶ Lo zafferano iraniano proviene principalmente dalla provincia di Khorasan, mentre le maggiori aree di coltivazione di questa spezia in Afghanistan si trovano nella provincia di Herat

da cui, nel 2020, arrivava il 90% dello zafferano prodotto in questo paese.³⁷ In India, lo zafferano è ampiamente coltivato nelle re-

gioni di Jammu e Kashmir, mentre in Spagna le coltivazioni sono localizzate soprattutto nella regione di Castiglia-La Mancia. Coltivazioni su piccola scala sono presenti anche in Grecia (Kozani, Macedonia occidentale), Azerbaijan (penisola di Aspheron), Italia (Sardegna, Abruzzo), Marocco (area di Taliouine), Francia, Turchia, Israele, Pakistan, Cina, Egitto, Emirati Arabi Uniti, Giappone, Stati Uniti, Nuova Zelanda e Australia.^{8, 38} La produzione di zafferano in Iran, secondo alcune fonti, rappresenta circa il 90-93% della produzione e delle esportazioni globali.^{39, 40} Ottenere 1 libbra (454 g) di stimmi essiccati di zafferano richiede la raccolta di 50-75 mila fiori. Un raccoglitore esperto può raccogliere fino a 150 mila fiori in 40 ore di lavoro.⁴¹



Dinamiche di mercato

Secondo i dati dell'International Trade Center, tra il 2013 e il 2016 il valore globale del mercato dello zafferano è salito, ma, nel contempo, a partire dal 2014 la quantità esportata è diminuita. Si pensa che l'incremento dei prezzi dello zafferano sia stato causato in gran parte dalle fluttuazioni che il tasso di cambio del dollaro statunitense ha avuto in Iran. Mentre l'Iran produce oltre il 90% dello zafferano su scala mondiale, le esportazioni globali dirette contano solo per il 40%. I paesi europei (ad esempio, Spagna, Francia, Italia), Hong Kong ed Emirati Arabi Uniti acquistano grandi quantità di zafferano iraniano e lo rivendono ad un prezzo più alto.

Il prezzo dello zafferano può variare sostanzialmente nel corso di un anno a seconda delle condizioni meteorologiche, economiche e politiche. Tra il 2006 e il 2009, per esempio, il costo di questa spezia è quasi triplicato, per tornare alla media storica l'anno successivo. Presumibilmente, le ragioni di questo rialzo spropositato sono state: la bassa produzione della spezia in Iran a causa delle forti gelate avvenute in quel periodo,⁴² e il fatto che i commercianti iraniani avessero deliberatamente limitato le disponibilità dello zafferano sul mercato internazionale.⁴⁰



Altri fattori che incidono sulla resa dello zafferano sono le malattie fungine (*Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*, *Penicillium* spp., *Helicobasidium purpureum*) e gli effetti negativi del cambiamento climatico che hanno portato alla siccità in alcune aree di produzione.⁴³ Secondo alcune fonti, il mercato globale dello zafferano era stimato in circa 390 mln \$ nel 2017 e in 430 mln \$ nel 2018.⁴⁴

Lo zafferano è destinato per la maggior parte all'uso alimentare.¹⁵ Nell'industria

delle bevande, che utilizza lo zafferano come

aromatizzante, si è rilevato un forte incremento della domanda di questa spezia per l'uso, ad esempio, nei prodotti lattiero-caseari in India e in altri mercati asiatici. Tuttavia, il mercato dello zafferano è sempre più limitato a causa del prezzo elevato.

Oltre alla concorrenza nella domanda, la breve stagione di raccolta ed i requisiti di stoccaggio influenzano la filiera di fornitura di questa spezia. Questo, e il prezzo elevato, potrebbero aver incoraggiato la sintesi chimica dei costituenti dello zafferano, piuttosto che la loro estrazione dalla stessa pianta. Ad esempio, il monoterpenoide safranale, che contribuisce in grande misura all'aroma dello zafferano, è diventato disponibile come ingrediente di sintesi a prezzi competitivi e potrebbe sostituire la molecola naturalmente presente nella pianta.¹⁵ In base ai dati di vendita resi disponibili da alcune società di ricerche di mercato, l'uso dello zafferano negli integratori alimentari negli USA è limitato. Negli ultimi dieci anni, infatti, non era nella classifica dei primi cento ingredienti in uso in questi prodotti. La maggior parte delle vendite avviene nel canale naturale, con volumi di vendita annuali compresi tra 110 e 350 mila \$ (periodo di riferimento: 2012-2017). Nonostante ciò, vi è un interesse sempre più crescente nei confronti dei potenziali effetti benefici di questa pianta a supporto, tra gli altri, della salute degli occhi e della pelle, della funzione cognitiva, dell'umore, del sonno e della salute intestinale. L'interesse e la domanda all'interno di questo mercato potrebbero aumentare a fronte dei risultati positivi di vari studi clinici condotti su diversi estratti di zafferano per scoprire le potenzialità salutistiche di questa spezia.⁴⁵⁻⁴⁸

Adulterazioni

Adulteranti noti

Le preoccupazioni riguardanti lo zafferano adulterato esistono da secoli, suscitate dal prezzo elevato e dai limiti di produzione. Nella sua opera *Naturalis Historia*,⁵⁵ il naturalista romano Plinio il Vecchio (23/24-79 d.C.) scrisse che nulla è adulterato quanto lo zafferano. Questa spezia è sottoposta da sempre, soprattutto per motivi economici, a vari tipi di adulterazione. Il National Dispensatory, pubblicato nel 1884, per esempio, citava la non dichiarata miscelazione di notevoli porzioni di stili gialli agli stimmi.⁵⁰ Gli stimmi sono attaccati ad uno stilo bianco sottile che diventa giallo pallido una volta essiccato. Lo stilo si arriccia e si nota appena dopo l'essiccazione, ma se viene lasciato attaccato agli stimmi rossi, aumenta del 30-50% il peso dello zafferano. Gli stili non sono usati in cucina perché privi di qualsiasi sapore e colore. Il National Dispensatory descrive anche lo zafferano esausto venduto al posto di quello autentico. Inoltre, lo zafferano parzialmente esausto viene mescolato o immerso in oli, glicerina o miele come mezzo per aumentarne il volume.⁵⁰ Altri adulteranti citati nei testi più antichi, che venivano aggiunti allo zafferano polverizzato, sono la creta, il gesso o il solfato di bario.⁵¹

Un altro tipo di frode piuttosto comune nella produzione di zafferano è l'aggiunta o la miscela di filamenti estranei, interi o trasformati in piccoli pezzi, che rendono difficoltosa l'identificazione morfologica della spezia. I filamenti o le polveri grossolane utilizzate per tale adulterazione possono essere stimmi di mais (*Zea mays* L., Poaceae) colorati con radice di barbabietola (*Beta vulgaris* L., Amaranthaceae), buccia o fibre del frutto di melograno (*Punica granatum* L., Lythraceae), fibre di seta tinte di rosso e stimmi di cartamo (*Carthamus tinctorius* L., Asteraceae) e calendula (*Calendula officinalis* L., Asteraceae).

I fiori essiccati di cartamo, noti anche come kasubha, sono spesso erroneamente etichettati come “fiori di zafferano” o “zafferano filippino”, inducendo i consumatori a pensare che si tratti di prodotti realizzati con vero zafferano.⁵²

L'adulterazione intenzionale dello zafferano in polvere è legata principalmente a motivi economici. Nel 2013 in Gran Bretagna, lo zafferano adulterato veniva venduto a £ 277/libbra contro le £ 3.750/libbra dello zafferano di prima qualità.⁵³ Nel 2018, lo zafferano autentico veniva venduto nei mercati marocchini





a 3,50 €/g, mentre quello adulterato era disponibile a 1,00 €/g.⁵⁴ L'aumento del volume e l'aggiunta di parti di piante con caratteristiche fisiche e chimiche simili allo zafferano sono le forme più comuni di adulterazione. Tra i principali adulteranti dello zafferano in polvere vi sono: la curcuma polverizzata (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) e la paprika (*Capsicum annuum* L., Solanaceae), che sono usate come “agenti di carica” * a causa del colore simile e delle caratteristiche di assorbimento UV/Vis.^{55, 56}

Poiché il frutto del gelsomino del Capo (*Gardenia jasminoides* J. Ellis, sin. *G. augusta* (L.) Merr., Rubiaceae) produce gli stessi composti chimici dello zafferano, gli esteri della crocetina da esso isolati sono stati studiati come potenziale fonte di adulterazione degli estratti di zafferano. Il prezzo di un estratto di *G. jasminoides* (32 €/kg) è circa 62-66 volte inferiore rispetto a quello di un estratto di zafferano con origine Spagna. Anche il colorante estratto dai fiori di *Buddleja officinalis* Maxim. (Scrophulariaceae) contiene dei composti che vengono spesso aggiunti come adulteranti allo zafferano⁵⁶, a cui si possono intenzionalmente aggiungere anche coloranti artificiali, sia idrosolubili come eritrosina, ponceau 4R, tartrazina che non polari come i coloranti Sudan.⁵⁷

Il safranale è un apocarotenoide responsabile del sapore dello zafferano. Questo composto, la cui prima sintesi chimica è stata descritta nel 1936, rappresenta una fonte a basso costo di un aroma simile allo zafferano, usato soprattutto in Cina.^{58,59} Alcuni tra gli adulteranti più comuni e noti dello zafferano sono elencati in Tabella 1. Un altro tipo di adulterazione, giustificata sempre da motivi economici, è il riportare sull'etichetta dello zafferano un'origine diversa da quella reale. Come precedentemente evidenziato, gran parte dello zafferano etichettato come originario della Spagna, proviene in realtà da Grecia, Iran o Marocco.³⁶ A tal proposito, nel 2021 con un'operazione di polizia venne smantellata un'organizzazione criminale dedicata alla vendita fraudolenta di zafferano iraniano etichettato come di origine spagnola. Circa 500 kg di zafferano iraniano, destinato ai mercati UE e USA, sono stati miscelati con residui di fiori, stili di zafferano e coloranti non autorizzati.⁶⁰

* Agenti di carica (Allegato I, Reg. (CE) 1333/2008): sostanze che contribuiscono ad aumentare il volume di un prodotto alimentare senza contribuire in modo significativo al suo valore energetico disponibile.

Tabella 1 – Adulteranti più comuni zafferano

Adulteranti noti	Nome comune	Famiglia botanica	Parte/i di pianta e lavorazione	Effetto della adulterazione
<i>Arnica montana</i> L. ^{52, 57}	Arnica	Asteraceae	Fiori essiccati	Aumentare il volume
<i>Beta vulgaris</i> L. ⁶¹	Barbabietola	Amaranthaceae	Radice macinata	Colorante naturale
<i>Bixa Orellana</i> L. ⁶²	Annatto	Bixaceae	Semi macinati	Aumentare il volume
<i>Buddleja officinalis</i> Maxim. ⁵⁶	Buddleja	Scrophulariaceae	Estratto di fiori	Aumentare il volume
<i>Calendula officinalis</i> L. ^{52, 63}	Calendula	Asteraceae	Fiori essiccati, talvolta colorati	Aumentare il volume
<i>Capsicum annuum</i> L. ⁵⁷	Pepe di Caienna	Solanaceae	Frutto, frutto polverizzato (paprika)	Colorante naturale, aumentare il volume
<i>Carthamus tinctorius</i> L. ^{52, 63}	Cartamo	Asteraceae	Fiori essiccati	Aumentare il volume
<i>Chrysanthemum x morifolium</i> (Ramat.) Hemsl. ⁶²	Crisantemo	Asteraceae	Petali essiccati, fiori polverizzati	Adulterazione accidentale o per motivi economici
<i>Crocus cartwrightianus</i> Herb ⁶⁴	Croco di Cartwright	Iridaceae	Stimmi	Aumentare il volume
<i>Crocus kosaninii</i> Pulevic ⁶⁴	Croco di Kosanin	Iridaceae	Stimmi	Aumentare il volume
<i>Crocus kotschyanus</i> K.Koch ⁶⁴	Croco di Kotschy	Iridaceae	Stimmi	Aumentare il volume
<i>Crocus speciosus</i> M.Bieb. ⁶⁴	Croco di Bieberstein	Iridaceae	Stimmi	Aumentare il volume
<i>Curcuma longa</i> L. ^{52, 63}	Curcuma	Zingiberaceae	Radici essiccate e rizomi polverizzati	Colorante naturale, aumentare il volume
<i>Gardenia jasminoides</i> J. Ellis (sin. <i>G. augusta</i> (L.) Merr.) ^{52, 63}	Gelsomino del Capo	Rubiaceae	Frutto o estratto del frutto	Aumentare il contenuto di esteri di crocetina
<i>Hemerocallis</i> spp. ⁶⁵	Emerocalli	Asphodelaceae	Tepali essiccati	Aumentare il volume
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L. ⁵⁷	Ibisco	Malvaceae	Calice essiccato	Aumentare il volume
<i>Punica granatum</i> L. ⁵⁷	Melograno	Lythraceae	Buccia del frutto essiccata/polverizzata	Aumentare il volume
<i>Rubia tinctorum</i> L. ⁵⁷	Robbia	Rubiaceae	Estratto della radice	Colorante naturale

Adulteranti noti	Nome comune	Famiglia botanica	Parte/i di pianta e lavorazione	Effetto della adulterazione
Coloranti sintetici ⁵²	Coloranti Sudan, Magenta III, Rodamina	-	-	Coloranti sintetici
Costituenti dello zafferano sintetici ⁵⁹	Safranale	-	-	Composti sintetici
<i>Zea mays</i> L. ⁶¹	Mais	Poaceae	Stimmi essiccati	Aumentare il volume

Fonti a supporto della conferma di adulterazione

Attualmente, il principale documento ufficiale contenente i metodi di controllo per verificare la qualità dei filamenti di zafferano e la polvere è la norma ISO 3632-2, che utilizza un metodo spettrofotometrico UV. Si tratta di un approccio analitico consolidato per l'identificazione e la classificazione dello zafferano, ma ha bassa sensibilità e specificità.⁶⁶ Con tale metodo, in combinazione con l'esame microscopico e del DNA barcoding, utilizzando l'analisi della sequenza Sanger, Khilare *et al.*⁶⁷ sono stati analizzati 36 campioni di zafferano commercializzato in India. In 10 di essi è stata rilevata la presenza di specie adulteranti come *Pistacia vera* L. (Anacardiaceae), *Morus alba* L. (Moraceae), *Triticum aestivum* L. (Poaceae) ed *Eriochloa* spp. (Poaceae), 24 campioni sono risultati conformi alle caratteristiche proprie dello zafferano, mentre su 2 campioni non vi erano dati sufficienti per trarre conclusioni sulla loro identità.^{67,68}

In un altro studio condotto presso il Laboratorio di Scienze Forensi di Jammu e Kashmir (India), sfruttando la solubilità e utilizzando il test spot dell'acido solforico e il metodo ISO in combinazione con l'impronta digitale data dalla cromatografia su strato sottile (TLC), due campioni di zafferano sui quattro analizzati, provenienti da mercati locali, sono risultati adulterati.⁶⁹ In un altro studio, la TLC e la spettrometria di massa con ionizzazione elettrospray (ESI-MS) sono state utilizzate insieme per testare 104 campioni di zafferano intero in commercio, provenienti da 16 paesi: in 20 campioni è stata rilevata la presenza dei coloranti sintetici magenta III e rodamina B.⁷⁰

Casi di frodi sullo zafferano sono state segnalate anche attraverso i risultati di indagini e report di organizzazioni governative. In uno studio condotto dall'Indian Council of Agricultural Research (ICAR) in cui sono stati analizzati 113 campioni di zafferano intero venduti nei mercati nella regione del Kashmir, 71 campioni sono stati classificati di grado III, che indica zafferano di bassa qualità secondo gli standard ISO. Le insufficienti pratiche di lavorazione post-raccolta e l'adulterazione sono state identificate come le principali ragioni della scarsa qualità dello zafferano.⁷¹ In due casi, le Autorità europee hanno applicato

misure disciplinari nei confronti di soggetti che hanno prodotto zafferano adulterato.^{72,73} Nel primo caso, risalente al 2019, la Guardia civile spagnola ha sequestrato 87 kg di zafferano adulterato (fibre di zafferano miscelate con stami provenienti da altre fonti) con un valore di mercato stimato di 783 mila €. ^{72,74,75} Nell'altro caso, tre persone sono state arrestate per aver venduto zafferano di qualità scadente. Non sono stati forniti ulteriori dettagli sulla composizione dello zafferano.⁷²

In uno studio, con l'impiego del DNA barcoding con sequenziamento Sanger, utilizzando tre regioni genomiche, trnH-psbA, rbcLa e ITS2, per distinguere lo zafferano (*C. sativus*) da specie adulteranti, 4 su 12 campioni di zafferano intero, provenienti da 12 diverse province della Cina, sono risultati contaminati da *Carthamus tinctorius* e *Chrysanthemum x morifolium*.⁷⁶

In Germania, 15 campioni di zafferano (acquistati per lo più online) sono stati analizzati utilizzando la spettroscopia NMR (risonanza magnetica nucleare): 13 campioni erano zafferano autentico, sebbene uno di questi fosse colorato con tartrazina, mentre gli altri due campioni, acquistati presso un bazar in Egitto, erano invece carta colorata.⁷⁷

Tabella 2 – Principali metodi analitici per rilevare l'adulterazione dello zafferano

Riferimento bibliografico	Metodo	Adulterante	Marker adulterante
Aiello <i>et al.</i> , 2018 ¹⁰²	MALDI-MS/MS	Curcuma polverizzata, fiori di calendula	Geniposide, curcumina, demetossicurcumina, bisdemetossicurcumina, glicosidi di isoramnetina, quercetina e canferolo.
Aiello <i>et al.</i> , 2019 ¹⁰³	MALDI-MS/MS	Estratto del frutto di gelso-mino del capo	Gardecina
Bhooma <i>et al.</i> , 2020 ⁷⁰	TLC, TLC-MS, HRMS/MS, HPLC-Vis	Coloranti sintetici	Magenta III, Rodamina B
Di Donato <i>et al.</i> , 2021 ¹⁰⁷	GC-MS	Petali di calendula e cartamo, rizomi di curcuma polverizzati	-
Dowlatabadi <i>et al.</i> , 2017 ⁸⁶	¹ H NMR	Filamenti di cartamo, coloranti sintetici	Asparagina, valina, glicina, tartrazina, giallo naftolo
Guijarro-Diez <i>et al.</i> , 2017 ¹⁰⁰	LCMS	Estratto del frutto di gelso-mino del capo	Geniposide
Haghighi <i>et al.</i> , 2007 ¹⁰⁵	HPLC-UV/Vis	Filamenti di cartamo, barbabietola, robbia	-
Heidarbeigi <i>et al.</i> , 2015 ⁶¹	Naso elettronico	Fiori di cartamo, barba/seta di mais, barbabietola	-

Riferimento bibliografico	Metodo	Adulterante	Marker adulterante
Karimi <i>et al.</i> , 2016 ⁹⁴	FT-IR	Coloranti sintetici	Tartrazina, Giallo tramonto, Azorubina, Giallo chinolina, Rosso allura, Sudan II
Kong <i>et al.</i> , 2019 ¹⁰⁹	HPLC-MS/MS	Barba/stimmi di mais, crisantemo polverizzato, cartamo polverizzato	Allantoina, acido clorogenico, idrossi zafferano giallo A
Marieschi <i>et al.</i> , 2012 ⁶⁵	Analisi RAPD	Semi di cartamo, fiori di calendula, fiori di aconito, semi macinati di achiote (<i>Bixa orellana</i> L.), tepali di emerocallide, rizomi di curcuma polverizzati, stimmi di croco olandese	Marker SCAR di <i>A. montana</i> , <i>B. orellana</i> , <i>C. officinalis</i> , <i>C. tinctorius</i> , <i>C. vernus</i> , <i>C. longa</i> , <i>Hemerocallis</i> spp.
Moras <i>et al.</i> , 2018 ¹⁰¹	UHPLC-DAD-MS	Estratto del frutto di gelsomino del capo	Crocine, iridoidi
Petrakis & Polissiou, 2017 ⁶²	FT-IR	Stami di zafferano, fiori di calendula, semi di cartamo, curcuma polverizzata, fiori di Buddleja, estratto del frutto di gelsomino del capo	-
Petrakis <i>et al.</i> , 2017 ⁹⁶	¹ H & ¹³ C NMR	Coloranti sintetici	Coloranti Sudan I-IV
Sabatino <i>et al.</i> , 2011 ⁶³	HPLC-PDA/ESI-MS	Fiori di calendula, filamenti di cartamo, curcuma polverizzata	Quercetina, 3- <i>O</i> -rutinosilramnoside, rutina, isoramnetina-3- <i>O</i> -rutinosilramnoside, narcissina, safflominina A, giallo zafferano B, giallo zafferano B anidro, bisdemetossicurcumina, demetossicurcumina, curcumina
Schumacher <i>et al.</i> , 2016 ⁷⁷	¹ H NMR	Coloranti sintetici	Tartrazina, Ponceau 4R, Crocina brillante
Villa <i>et al.</i> , 2017 ⁶⁴	PCR	Filamenti di cartamo	-
Yilmaz <i>et al.</i> , 2010 ⁹⁵	¹ H NMR	Radice di curcuma polverizzata, fiori di cartamo	-

Sebbene l'incidenza dell'adulterazione dello zafferano resti sconosciuta, i dati oggi disponibili suggeriscono che si tratta di una procedura molto frequente. Hensel e Rösing⁷⁸ citano due studi di Czygan in cui è documentata l'adulterazione di oltre il 90% di 198 campioni di zafferano intero e in polvere in commercio, analizzati negli anni 80'. Secondo tale report, l'adulterazione è più evidente nei campioni polverizzati che negli stimmi di zafferano interi. Nel tentativo di catalogare un lavoro accademico sulla frode alimentare, Moore *et al.* (2012)

hanno condotto una ricerca bibliografica completa sull'adulterazione degli ingredienti alimentari. Lo zafferano, per il numero di articoli recuperati sulle adulterazioni, si è classificato al quarto posto tra gli alimenti maggiormente oggetto di questa pratica, dietro olio d'oliva, latte vaccino e miele.⁷⁹ Analogamente, nello studio di Everstine (2019) lo zafferano si è classificato al terzo posto dietro il peperoncino in polvere e la curcuma nella categoria erbe/spezie per quanto riguarda l'incidenza di frodi registrate tra il 2010 e il 2019.⁸⁷



Possibili problemi di sicurezza

I più comuni adulteranti trovati nello zafferano sono coloranti sintetici, alcuni dei quali come il colorante Sudan e la Rodamina B possono essere dannosi per la salute, in quanto possono causare asma, reazioni allergiche e danni al DNA.^{81, 82} Nella sua valutazione, l'EFSA ha concluso che sia Sudan I-IV che Rodamina B sono potenzialmente genotossici e cancerogeni.⁸¹ Pertanto, l'adulterazione dello zafferano con coloranti sintetici può costituire un problema di sicurezza.^{14, 55}

Metodi analitici per rilevare le adulterazioni

Sono molti i metodi per rilevare le adulterazioni dello zafferano, dalla ispezione visiva alla solubilità,^{66, 83} fino ai metodi analitici sviluppati per distinguere lo zafferano dai suoi adulteranti: la cromatografia liquida ad alte prestazioni con rivelatore a serie di fotodiodi (HPLC-PDA), l'HPLC con rivelatore a spettrometria di massa con elettrospray (HPLC-ESI-MS),⁶³ la cromatografia su strato sottile (TLC),^{70, 84} il sistema del naso elettronico accoppiato all'analisi statistica multivariata,⁶¹ la metabolomica basata sulla risonanza magnetica nucleare ^1H (^1H NMR),^{85, 86} e tecniche più economiche, rapide e non distruttive come la spettroscopia infrarossa (IR) a medio raggio⁸⁷ e la spettrofotometria ultravioletta/visibile (UV/Vis)⁸⁸ – **Tabella 2.**

- **Test basati su macchie:** in base alla solubilità in acqua degli esteri della crocettina, un semplice test che spruzza un po' di zafferano in polvere nell'acqua può fornire informazioni sulla sua autenticità. Nel caso di vero zafferano, la spezia intera o in polvere è rapidamente circondata da un colore giallo chiaro.

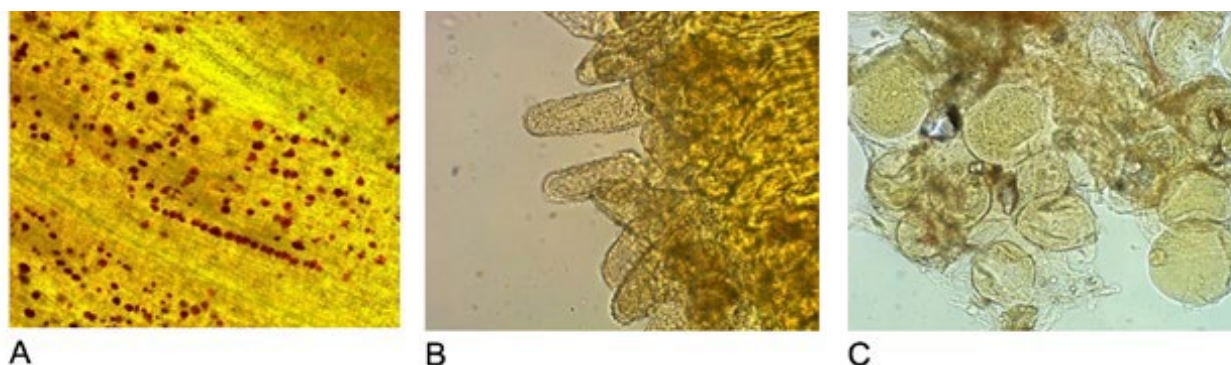


Figura 1: Caratteristiche microscopiche dello zafferano: A: contenuto rosso delle cellule del parenchima (200 x); B: bordo terminale dello stimma con papille a forma di dito (400 x); C: granuli di polline con esina finemente punteggiata (200 x).

In caso di adulterazione completa, non si osserva alcun colore o un colore rosastro opaco che si diffonde lentamente nell'acqua. L'esposizione dello zafferano a metanolo o acetonitrile è utilizzata per rilevare invece la presenza di coloranti sintetici. Un colore rosso scuro o rosa dopo esposizione del materiale vegetale a questi solventi indica la presenza di coloranti artificiali.^{69,70} I metodi sopra indicati sono rapidi ed economici, ma l'approccio è limitato al rilevamento di coloranti non dichiarati.

- **Analisi microscopica:** può essere di aiuto per rilevare la presenza nello zafferano di parti intere o polverizzate di altre specie di piante. Caratteristici dello zafferano sono il contenuto rosso delle cellule del parenchima (Figura 1A), le papille sulle cellule dell'epidermide (Figura 1B) e le dimensioni e la forma del polline (Figura 1C), che possono essere utilizzate per distinguere lo zafferano dai fiori di calendula e dal cartamo.^{67,83,89} Inoltre, la monografia della Farmacopea europea su *Crocus sativus* per preparazioni omeopatiche, che contiene una descrizione dettagliata delle caratteristiche microscopiche positive degli stimmi di *Crocus*, richiede che “non siano presenti parti con pareti ruvide, cristalli e granuli di polline contenenti 3 pori germinali”.⁹⁰
- **Metodi genetici:** alcuni studi hanno valutato la capacità della tecnica del DNA barcoding di distinguere lo zafferano dai suoi adulteranti, tra cui specie di *Crocus* strettamente correlate, ma anche il cartamo ed altri adulteranti noti.^{65,76,91,92} I DNA barcoding per le regioni matK, rbcL, ITS2 e trnH-psbA permettono di distinguere lo zafferano da altre specie di piante, quali curcuma, calendula, gardenia, cartamo e *Buddleja* (*Buddleja* spp., Scrophulariaceae).⁵⁶ Gismondi *et al.*⁹¹ hanno dimostrato che le regioni matK e rbcL, poiché altamente conservate all'interno del genere *Crocus*, non consentono la differenziazione tra specie diverse di *Crocus*, che può essere fatta con il barcoding ITS2. L'uso di marcatori del DNA permette di rilevare piccole quantità (fino all'1%) di diversi

materiali usati per aumentare il volume, tra cui cartamo e curcuma.⁷⁶ La combinazione del DNA barcoding con l'analisi di fusione ad alta risoluzione (HRM) permette di distinguere le specie di *Crocus* e zafferano da curcuma, calendula, mais, cartamo ed emerocallide (*Hemerocallis* spp., Asphodelaceae).⁹¹

Il test sul DNA basato sulla PCR, messo a punto per rilevare e quantificare il cartamo quale adulterante nello zafferano, ha una sensibilità assoluta e relativa molto alta in quanto è in grado di rilevare, rispettivamente, 2 pg di DNA di cartamo

(~1,4 copie di DNA) e lo 0,1% di cartamo nello zaf-

ferano.⁶⁴ Tuttavia, questi metodi non sono stati testati nella loro capacità di rilevare materiali vegetali non dichiarati negli estratti di zafferano. In relazione ai mini-barcode del DNA, che hanno mostrato un certo successo nell'identificare frammenti di DNA di dimensioni più piccole⁹³ che possono essere presenti negli estratti di piante, non sono state presentate prove a supporto di una loro applicazione efficace nel caso dello zafferano. Inoltre, i metodi basati sul DNA non sono in grado di rilevare l'aggiunta non dichiarata di coloranti alimentari o di costituenti sintetici dello zafferano come il safranale.

- **Metodi spettroscopici:** il metodo spettrofotometrico UV-Vis proposto dalla norma ISO 3632-273 è semplice, ha un basso costo e un breve tempo di analisi. Aiuta a rilevare l'adulterazione dello zafferano con adulteranti comuni come cartamo, curcuma o calendula, ma non è sufficientemente specifico per tutti gli adulteranti e richiede che siano presenti livelli considerevolmente elevati (circa 200 mg/g) di adulterante.^{57,63}

La spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR) con riconoscimento del profilo è stata utilizzata per identificare l'adulterazione dello zafferano con coloranti alimentari non dichiarati, come tartrazina, giallo tramonto, azorubina, giallo chinolina, rosso allura e Sudan-II. Le regioni dello spettro 1800-1830, 2600-2900 e 3700-3850 cm^{-1} sono state segnalate come utili per la differenziazione di campioni di zafferano autentico da materiali adulterati.⁹⁴





- **Metodi basati su NMR:** diversi studi hanno fornito prove dell'utilità di rilevare le adulterazioni attraverso spettroscopia NMR (risonanza magnetica nucleare), in particolare se abbinata ad analisi statistiche multivariate come, per esempio, l'analisi delle componenti principali (PCA) o modelli di analisi discriminante dei minimi quadrati parziali (PLS-DA). Questi metodi riescono a rilevare con un certo successo l'adulterazione dello zafferano con

stami di zafferano, cartamo, curcuma e gardenia e coloranti sintetici come Sudan I-IV, Tartrazina o Naftolo giallo.^{85,95,96}

- **Metodi TLC e HPTLC:** diversi studi hanno utilizzato la TLC (cromatografia su strato sottile) per rilevare la presenza nello zafferano di coloranti sintetici come magenta III o rodamina B.^{69,70,97} Questi coloranti si rilevano facilmente attraverso la presenza di macchie rosa o arancioni senza utilizzare un reagente di derivatizzazione. Nel 2020, l'HPTLC (cromatografia su strato sottile ad alte prestazioni), accoppiata all'analisi delle immagini multivariate (MIA), è stata valutata come strumento per distinguere lo zafferano autentico da quello adulterato con cartamo, altre specie di *Crocus*, calendula e robbia (*Rubia tinctorum* L., Rubiaceae). L'analisi MIA delle immagini HPTLC, utilizzando il metodo PLS-DA a livelli del 5-35% (p/p), ha mostrato una corretta classificazione dello zafferano e degli adulteranti con un tasso di errore dell'1,96%.⁸⁴ Un metodo HPTLC messo a punto nel 2021 consente di distinguere gli stimmi dagli stami e dai tepali in base alle impronte digitali degli apocarotenoidi e dei flavonoidi.⁹⁸ Nella relativa monografia della Farmacopea europea è descritto il metodo HPTLC ufficiale per la corretta identificazione del *Crocus* per l'uso in preparazioni omeopatiche.⁹⁰
- **Metodi HPLC-UV/Vis, HPLC-MS/MS e GC-MS:** le crocine sono il gruppo principale di pigmenti in *C. sativus*, ma anche la specie *Gardenia* contiene gli stessi composti. Al fine di trovare marcatori chimici specie specifici in grado di identificare le differenze tra i profili fitochimici delle due piante, sono stati sviluppati molti metodi analitici. Il glicoside iridoide geniposide è stato identificato come composto marker della specie *Gardenia*.^{99,100} Sulla base della concentrazione

di geniposide, con un metodo HPLC-MS è stato possibile rilevare fino allo 0,004% di adulterazione dello zafferano con *Gardenia*.¹⁰⁰ Inoltre, utilizzando un metodo UHPLC-UV/Vis-ESIMS si è riusciti a rilevare la presenza di esteri della crocetina, crocetine, derivati del canferolo, safranale e picrocrocina in *C. sativus* e in *Gardenia* spp., oltre a esteri della crocetina, di iridoidi specifici come gardenoside, genipin-1-*O*-gentibioside, geniposide e 6"-*O*-*trans*-cumaril-genipin-1-*O*-gentibioside.¹⁰¹



Sabatino *et al.* (2011) sono riusciti a caratterizzare, separatamente, le impronte digitali HPLC-PDA-ESI-MS di estratti di zafferano contenenti estratti di altre piante come calendula, cartamo e curcuma. L'isoramnetina 3-*O*-neoesperidoside, per esempio, è risultata essere caratteristica della calendula; nel caso del cartamo, le molecole specie specifiche sono rappresentate dallo zafferano anidro giallo B e dalla cartamina. La curcuma è facilmente identificabile grazie alla presenza di curcuminoidi, ovvero demetossicurcumina, bisdemetossicurcumina e curcumina.⁶³

Nel 2018, è stato messo a punto un metodo rapido, semplice ed affidabile per l'analisi quantitativa e l'impronta digitale dei costituenti dello zafferano mediante spettrometria di massa con desorbimento/ionizzazione laser assistita da matrice (MALDI). Il profilo fitochimico dello zafferano autentico e di campioni adulterati con *Curcuma longa* L. è stato identificato tramite MS e spettrometria di massa tandem (MS/MS).¹⁰² Lo stesso gruppo di ricerca è stato inoltre in grado di identificare il geniposide come un marker specifico per rilevare l'adulterazione dello zafferano con *Gardenia jasminoides*.¹⁰³

Nel 1999, Lozano *et al.* hanno pubblicato un metodo HPLC-UV/Vis per la ricerca dei metaboliti secondari dello zafferano e di tre adulteranti, calendula, cuscuto rossa (*Cuscuta planiflora* Ten., Convolvulaceae) e cartamo.¹⁰⁴ Sorprendentemente, gli autori non sono stati in grado di estrarre alcun colorante dalle tre specie vegetali e, quindi, non è stato possibile rilevare l'adulterazione. Successivamente, il metodo è stato ampliato includendo estratti di robbia, barbabietola rossa e tepali di zafferano, oltre al cartamo precedentemente studiato. Mentre gli estratti di robbia (> 9,1%), barbabietola rossa (> 14,3%) e cartamo (> 14,3%) sono stati prontamente identificati, gli autori non sono stati in grado di rilevare l'aggiunta di estratti di tepali di zafferano.¹⁰⁵



Una tecnica di gas-cromatografia a desorbimento termico, accoppiata a spettrometria di massa (GC-MS), è stata sviluppata per identificare i costituenti volatili dello zafferano. Tale metodica analitica è stata applicata a 252 campioni della spezia provenienti da produttori spagnoli. Sulla base dell'impronta digitale e del contenuto di safranale, è stato possibile rilevare l'adulterazione con cartamo. Inoltre, il β -ciclocitrale è stato identificato come marker per la presenza di safranale sintetico.¹⁰⁶

Un gruppo di ricercatori italiani ha sviluppato una tecnica GC-MS, preceduta da microestrazione in fase solida (SPME), per classificare campioni di zafferano autentico e adulterato, proveniente da tre regioni italiane, in base al suo profilo aromatico. La performance predittiva di un modello PLS-DA calibrato con 42 campioni è stata testata utilizzando nove campioni autentici e nove campioni adulterati artificialmente. I campioni di zafferano adulterato con petali di *Calendula officinalis* L., petali di *Carthamus tinctorius* L. o rizomi polverizzati di *Curcuma longa* L. sono stati correttamente profilati.¹⁰⁷

- **Altri metodi:** una tecnica analitica denominata “naso elettronico” ha dimostrato di essere in grado di rilevare e caratterizzare odori complessi utilizzando una serie di sensori. Con tale sistema si è riusciti a classificare con successo zafferano autentico e adulterato, ad esempio, con cartamo, stimmi di mais o barbabietola.⁶¹ Anche costituenti dello zafferano come il safranale sono stati sostituiti con molecole di origine sintetica natural identici. Campioni di zafferano provenienti da cinque diversi paesi sono stati indagati attraverso analisi isotopica ^{13}C del safranale, che è stato separato utilizzando la tecnica estrattiva con fluido supercritico (SFE). Mentre con tale metodo non è stato possibile distinguere le origini geografiche dei campioni, è stato invece possibile rilevare una netta differenza dei livelli di ^{13}C correlati al safranale di origine naturale rispetto a quelli relativi allo stesso composto ottenuto mediante sintesi chimica.⁵⁹ Analogamente, utilizzando rapporti di isotopi stabili e misurando gli elementi in traccia, campioni di zafferano di origine iraniana sono stati chiaramente distinti da zafferano spagnolo. La differenziazione dei campioni della spezia provenienti da vari luoghi della stessa provincia iraniana di Khorasan si è rivelata invece più difficile.¹⁰⁸

Conclusioni

In quanto materia prima costosa, lo zafferano è fortemente a rischio di adulterazione. Le attività di coltivazione e raccolta in diverse aree geografiche portano ad uno zafferano con caratteristiche di identità e qualità simili a quelle della spezia proveniente dai principali paesi fornitori di *C. sativus*. L'adulterazione, per motivi economici, include materiali di qualità inferiore, altre piante, coloranti sintetici o l'aggiunta non dichiarata di oli, glicerolo o miele per aumentare il volume. I coloranti sintetici possono presentare rischi per la sicurezza e la salute e la loro assenza deve essere verificata tramite test appropriati. Per autenticare lo zafferano, è necessario utilizzare un set completo di metodi di prova ortogonali, che possono includere, tra gli altri, analisi microscopica, HPTLC, HPLC, FT-IR o NMR.



Riferimenti bibliografici

- 1 Mathew B. Botany, taxonomy and cytology of *Crocus sativus* and its allies. In: Negbi M., ed. *Saffron: Crocus sativus L.* Amsterdam, The Netherlands: Harwood Academic Publishers; 1999:16-26.
- 2 Caiola M.G., Caputo P., Zanier R. RAPD analysis in *Crocus sativus* L. accessions and related *Crocus* species. *Biol Plant.* 2004; 48(3): 375-380.
- 3 Brandizzi F., Grilli Caiola M. Flow cytometric analysis of nuclear DNA in *Crocus sativus* and allies (Iridaceae). *Plant Syst Evol.* 1998; 211(3): 149-154.
- 4 Yildirim M.U., Sarihan E.O., Khawar K.M. Ethno-medicinal and traditional usage of saffron (*Crocus sativus* L.) in Turkey. In: *Saffron: An Age Old Panacea in a New Light.* London, United Kingdom: Elsevier; 2020: 21-31.
- 5 Srivastava T.N., Rajasekharan S., Badola D.P., Shah D.C. Important medicinal plants of Jammu and Kashmir I. Kesar (saffron). *Anc Sci Life.* 1985; 5(1): 68-73.
- 6 Saffron (*Crocus sativus* L.). 2010. http://gernot-katzers-spice-pages.com/engl/Croc_sat.html.
- 7 Mzabiri I., Addi M., Berrichi A. Traditional and modern uses of saffron (*Crocus sativus*). *Cosmetics.* 2019; 6(4): 63.
- 8 Gresta F., Lombardo G.M., Siracusa L., Ruberto G. Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems. A review. *Agron Sust Dev.* 2008; 28(1): 95-112.
- 9 Negbi M. Saffron cultivation: past, present, and future prospects. In: Negbi M., ed. *Saffron: Crocus sativus L.* Amsterdam, The Netherlands: Harwood Academic Publishers; 1999:1-15.
- 10 Hosseini D.K., Shariatmadar S. Identification of anthocyanins of *Crocus sativus* petals. *Iran Inst Sci Technol Rep, Khorasan Cent.* 1994.
- 11 Applequist W.L. *Crocus sativus* L. The Identification of Medicinal Plants: A Handbook of the Morphology of Botanicals in Commerce. Austin, TX: American Botanical Council; 2006: 54.
- 12 Hosseini A., Razavi B.M., Hosseinzadeh H. Saffron (*Crocus sativus*) petal as a new pharmacological target: a review. *Iran J Basic Med Sci.* 2018; 21(11): 1091-1099.
- 13 Mortazavi S.M., Kamali Moghaddam M., Safi S., Salehi R. Saffron petals, a by-product for dyeing of wool fibers. *Progr Color Colorants Coat.* 2012; 5(2): 75-84.
- 14 Alonso G.L., Zalacain A., Carmona M. Saffron. In: *Handbook of Herbs and Spices.* Cambridge, United Kingdom: Elsevier (Woodhead Publishing); 2012: 469-498.
- 15 José Bagur M., Alonso Salinas G.L., Jiménez-Monreal A.M., et al. Saffron: An old medicinal plant and a potential novel functional food. *Molecules.* 2017; 23(1): 30.
- 16 Shafiee M., Arekhi S., Omranzadeh A., Sahebkar A. Saffron in the treatment of depression, anxiety and other mental disorders: Current evidence and potential mechanisms of action. *J Affect Disord.* 2018; 227: 330-337.
- 17 Dai L., Chen L., Wang W. Safety and efficacy of Saffron (*Crocus sativus* L.) for treating mild to moderate depression: A systematic review and meta-analysis. *J Nerv Ment Dis.* 2020; 208(4): 269-276.
- 18 Pachikian B.D., Copine S., Suchareau M., Deldicque L. Effects of saffron extract on sleep quality: A randomized double-blind controlled clinical trial. *Nutrients.* 2021; 13(5): 1473.
- 19 Umigai N., Takeda R., Mori A. Effect of crocetin on quality of sleep: A randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Complement Ther Med.* 2018; 41: 47-51.
- 20 Lopresti A.L., Smith S.J., Metse A.P., Drummond P.D. Effects of saffron on sleep quality in healthy adults with self-reported poor sleep: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Sleep Med.* 2020; 16(6): 937-947.



- 21 Lopresti A.L., Smith S.J., Drummond P.D. An investigation into an evening intake of a saffron extract (affron®) on sleep quality, cortisol, and melatonin concentrations in adults with poor sleep: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multidose study. *Sleep Med.* 2021; 86: 7-18.
- 22 Gao X.H., Zhang L., Wei H., Chen H.D. Efficacy and safety of innovative cosmeceuticals. *Clin Dermatol.* 2008; 26(4): 367-374.
- 23 Roshanravan N., Ghaffari S. The therapeutic potential of *Crocus sativus* Linn.: A comprehensive narrative review of clinical trials. *Phytother Res.* 2021; 36(1): 1-14.
- 24 Lu C., Ke L., Li J., et al. Saffron (*Crocus sativus* L.) and health outcomes: a meta-research review of meta-analyses and an evidence mapping study. *Phytomedicine.* 2021; 91: 153699.
- 25 Prajapati P.K., Sharma R., Amrutia A., Patgiri B.J. Physicochemical screening and shelf life evaluation of Kukumādi Ghta prepared using Kesara and Nāgakesara. *Anc Sci Life.* 2017; 36(3): 129-135.
- 26 Appiah S., Lawley B., Vu M., Bell C., Jones H. Evaluation of the effectiveness of Eladi Keram for the treatment of *Acne vulgaris*: a randomised controlled pilot study. *Eur J Integr Med.* 2017; 12: 38-43.
- 27 Commission decision of 8 May 1996 establishing an inventory and a common nomenclature of ingredients employed in cosmetic products. Vol 96/335/EC. Brussels, Belgium: European Commission; 1996.
- 28 Muştu Ç. Safranin (*Crocus sativus* L.) özellikleri, tarihçesi ve gıdalarda kullanımı üzerine bir araştırma. *Food and Health.* 2021; 7(4): 300-310.
- 29 Saffron. BMT Netherlands B.V. <https://cargo-handbook.com/index.php/Saffron>
- 30 Ali A., Hakim I.A. An overview of the production practices and trade mechanism of saffron in Kashmir valley (India): Issues and challenges. *Pacific Bus Rev Int.* 2017; 10(2): 97-106.
- 31 Saffron market. 2017; <https://www.future-marketinsights.com/reports/saffron-market>
- 32 Afghanistan national export strategy 2018-2022, Saffron sector. In: Ministry of Industry and Commerce of the Islamic Republic of Afghanistan, ed. Geneva, Switzerland: International Trade Centre (ITC); 2018: 1-57.
- 33 Singla R.K., Bhat G.V. Crocin: an overview. *Indo Glob J Pharm Sci.* 2011; 1(4): 281-286.
- 34 Anonymous. Iran's saffron exports top \$117mn in eight months. Mehr News Agency [online]. December 16, 2020.
- 35 Saffron Trade in 2019. The Observatory of Economic Complexity (OEC) 2020. <https://oec.world/en/profile/hs92/saffron?redirect=true>.
- 36 Anonymous. Made in Spain? The great saffron trading scandal. El País. 2011.
- 37 Azimy M.W., Khan G.D., Yoshida Y., Kawata K. Measuring the impacts of saffron production promotion measures on farmers' policy acceptance probability: A randomized conjoint field experiment in Herat province, Afghanistan. *Sustainability.* 2020;12(10):4026.
- 38 Dhar A.K., Mir G.M. Saffron in Kashmir-VI: A review of distribution and production. *J Herbs Spices Med Plants.* 1997; 4(4): 83-90.
- 39 Ghorbani M. The economics of saffron in Iran. *Acta Hortic.* 2007; 739: 321-331.
- 40 Dubois A. Analyse de la filière safran au Maroc: Quelles perspectives pour la mise en place d'une Indication Géographique? Montpellier, France: Département d'Agronomie, Université de Montpellier 3; 2010.
- 41 Lak D. South Asia: Kashmiris pin hopes on saffron. BBC News [online]. November 11, 1998.
- 42 Sinaiee M. Export rivals and frost cut Iran's harvest cash. *The National* [online]. November 16, 2008.
- 43 Cardone L., Castronuovo D., Perniola M., Cicco N., Candido V. Saffron (*Crocus sativus* L.), the king of spices: An overview. *Sci Hort.* 2020; 272: 109560.
- 44 Global Saffron Market – Industry Analysis and Forecast 2020-2027 by Formulation, Application and Region. 2020; <https://www.maximizemarketresearch.com/market-report/global-saffron-market/24308/>.
- 45 Rahmani J., Manzari N., Thompson J., et al. The effect of saffron on weight and lipid profile: A systematic review, meta-analysis, and dose-response of randomized clinical trials. *Phytother Res.* 2019; 33(9): 2244-2255.
- 46 Hausenblas H.A., Heekin K., Mutchie H.L., Anton S. A systematic review of randomized controlled trials examining the effectiveness of saffron (*Crocus sativus* L.) on psychological and behavioral outcomes. *J Integr Med.* 2015; 13(4): 231-240.

- 47 Akhondzadeh S., Sabet M.S., Harirchian M.H., et al. Saffron in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a 16-week, randomized and placebo-controlled trial. *J Clin Pharm Ther.* 2010; 35(5): 581-588.
- 48 Agha-Hosseini M., Kashani L., Aleyaseen A., et al. *Crocus sativus* L. (saffron) in the treatment of premenstrual syndrome: a double-blind, randomised and placebo-controlled trial. *BJOG.* 2008; 115(4): 515-519.
- 49 Pliny the Elder. *Plini Secundi Naturalis historiae libri XXXVII.* Von Jan L., Mayhoff K., eds. Leipzig, Germany: B. G. Teubner; 1906.
- 50 Stillé A., Maisch J.M. *The National Dispensatory: Containing the Natural History, Chemistry, Pharmacy, Actions, and Uses of Medicine. Including Those Recognized in the Pharmacopoeias of the United States, Great Britain, and Germany, with Numerous References to the French Codex. Vol 1.* Philadelphia, PA: Henry C. Lea's Son & Co.; 1884.
- 51 Remington J.P., Wood H.C., Sadtler S.P., Lawall C.H., Kraemer H. *The Dispensatory of the United States of America.* Philadelphia, PA: Lippincott 1918.
- 52 Moratalla-López N., Zalacain A., Bagur M.J., Salinas M.R., Alonso G.L. Saffron. In: Morin J.-F., Lees M., eds. *Food Integrity Handbook.* Nantes, France: Eurofins Analytics France; 2018: 193-204.
- 53 Herbert I. Gangs make a fortune from the ancient art of adulterating saffron. *The Independent* [online]. 2013.
- 54 Bellaouali I. Moroccan saffron farmers battle knockoff spices. *Phys Org News* [online]. December 17, 2018.
- 55 Hagh-Nazari S., Keifi N. Saffron and various fraud manners in its production and trades. *Acta Hort.* 2007; 739: 411-416.
- 56 Soffritti G., Busconi M., Sánchez R.A., et al. Genetic and epigenetic approaches for the possible detection of adulteration and auto-adulteration in saffron (*Crocus sativus* L.) spice. *Molecules.* 2016; 21(3): 343.
- 57 Sanchez A.M., Maggi L., Carmona M., Alonso G.L. Authentication of saffron spice (*Crocus sativus* L.). In: Ebeler S.E., Takeoka G.R., Winterhalter P., eds. *Progress in Authentication of Food and Wine.* Washington, DC: ACS Publications; 2011: 309-331.
- 58 Kuhn R., Wendt G. Synthese des Safranals. *Ber Dtsch Chem Ges A/B.* 1936; 69(6): 1549-1555.
- 59 Semiond D., Dautraix S., Desage M., Majdalani R., Casabianca H., Brazier J.L. Identification and isotopic analysis of safranin from supercritical fluid extraction and alcoholic extracts of saffron. *Anal Lett.* 1996; 29(6): 1027-1039.
- 60 Anonymous. Desarticulada una organización criminal dedicada a la venta fraudulenta de azafrán en Castilla la Mancha. *ABC Pueblos de Toledo* [online]. May 6, 2021.
- 61 Heidarbeigi K., Mohtasebi S.S., Foroughirad A., Ghasemi-Varnamkhasti M., Rafiee S., Rezaei K. Detection of adulteration in saffron samples using electronic nose. *Int J Food Prop.* 2015; 18(7): 1391-1401.
- 62 Petrakis E.A., Polissiou M.G. Assessing saffron (*Crocus sativus* L.) adulteration with plant-derived adulterants by diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy coupled with chemometrics. *Talanta.* 2017; 162: 558-566.
- 63 Sabatino L., Scordino M., Gargano M., Belligno A., Traulo P., Gagliano G. HPLC/PDA/ESI-MS evaluation of saffron (*Crocus sativus* L.) adulteration. *Nat Prod Commun.* 2011; 6(12): 1873-1876.
- 64 Villa C., Costa J., Oliveira M.B.P.P., Mafra I. Novel quantitative real-time PCR approach to determine safflower (*Carthamus tinctorius*) adulteration in saffron (*Crocus sativus*). *Food Chem.* 2017; 229: 680-687.
- 65 Marieschi M., Torelli A., Bruni R. Quality control of saffron (*Crocus sativus* L.): development of SCAR markers for the detection of plant adulterants used as bulking agents. *J Agric Food Chem.* 2012; 60(44): 10998-11004.
- 66 Spices - Saffron (*Crocus sativus* L.) - Part 2: Test methods. ISO 3632-2:2010(en). Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization (ISO); 2010.
- 67 Khilare V., Tiknaik A., Prakash B., et al. Multiple tests on saffron find new adulterant materials and reveal that 1st grade saffron is rare in the market. *Food Chem.* 2019; 272: 635-642.
- 68 Mudur G.S. Adulteration alarm on saffron sold in India. *The Telegraph* [online]. October 21, 2018.
- 69 Iqbal M., Shukla S.K., Wani S. Rapid detection of adulteration in indigenous saffron of Kashmir Valley, India. *Res J Forensic Sci.* 2015; 3(3): 7-11.
- 70 Bhooma V., Nagasathiya K., Vairamani M., Parani M. Identification of synthetic dyes magenta III (new fuchsin) and rhodamine B as common adulterants in commercial saffron. *Food Chem.* 2020; 309: 125793.

- 71 Nehvi F.A., Dhar J.J., Wani S.A. *A value chain on kashmir saffron. Final report, National Agricultural Innovation Project. New Delhi, India: Indian Council of Agricultural Research (ICAR); 2014.*
- 72 Loopuyt P. *2019 Annual Report, The EU Food Fraud Network and the Administrative Assistance and Cooperation System. Luxembourg, Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2020.*
- 73 *February 2018 - Monthly Summary of Articles on Food Fraud and Adulteration. Ispra, Italy: Joint Research Centre of the European Commission; 2018: 1-4.*
- 74 Addy R. *Food fraud: adulterated saffron sparks international probe. Food manufacture [online]. 2019.*
- 75 Taylor P. *New case of saffron fraud uncovered in UK. Securing Industry [online]. August 14, 2019.*
- 76 Huang W.-J., Li F.-F., Liu Y.-J., Long C.-L. *Identification of Crocus sativus and its adulterants from Chinese markets by using DNA barcoding technique. Iran J Biotechnol. 2015; 13(1): 36-42.*
- 77 Schumacher S., Mayera S., Sprolla C., Lachenmeier D.W., Kuballa T. *Authentication of saffron (Crocus sativus L.) using ¹H nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. Paper presented at: XIII International Conference on the Applications of Magnetic Resonance in Food Science. 2016; Karlsruhe, Germany.*
- 78 Hensel A., Rösing M. *Crocus. In: Blaschek W., Hänssel R., Keller K., Reichling J., Rimpler H., Schneider G., eds. Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis. 2. Drogen A-K. Berlin and Heidelberg, Germany: Springer Verlag; 1998: 436-450.*
- 79 Moore J.C., Spink J., Lipp M. *Development and application of a database of food ingredient fraud and economically motivated adulteration from 1980 to 2010. J Food Sci. 2012; 77(4): R118-126.*
- 80 Everstine K. *Lead in spices. Food Safety Tech [online]. August 29, 2019.*
- 81 *Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission to review the toxicology of a number of dyes illegally present in food in the EU. The EFSA Journal. 2005; 263: 1-71. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2005.263>*
- 82 Fonovich T.M. *Sudan dyes: are they dangerous for human health? Drug Chem Toxicol. 2013; 36(3): 343-352.*
- 83 Classen B., Hiller K., Loew D. *Croci stigma ad praeparationes homoeopathicas. In: Blaschek W, ed. Wichtl - Teedrogen und Phytopharmaka. 6th ed. Stuttgart, Germany: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH; 2016:204-206.*
- 84 Amirvaresi A., Rashidi M., Kamyar M., Amirahmadi M., Daraei B., Parastar H. *Combining multivariate image analysis with high-performance thin-layer chromatography for development of a reliable tool for saffron authentication and adulteration detection. J Chromatogr A. 2020; 1628: 461461.*
- 85 Petrakis E.A., Cagliani L.R., Polissiou M.G., Consonni R. *Evaluation of saffron (Crocus sativus L.) adulteration with plant adulterants by (1)H NMR metabolite fingerprinting. Food Chem. 2015; 173: 890-896.*
- 86 Dowlatabadi R., Farshidfar F., Zare Z., et al. *Detection of adulteration in Iranian saffron samples by ¹H NMR spectroscopy and multivariate data analysis techniques. Metabolomics. 2017; 13(2): 19.*
- 87 Varliklioz Er S., Eksi-Kocak H., Yetim H., Boyaci I.H. *Novel spectroscopic method for determination and quantification of saffron adulteration. Food Anal Meth. 2017; 10(5): 1547-1555.*
- 88 Zalacain A., Ordoudi S.A., Blázquez I., et al. *Screening method for the detection of artificial colours in saffron using derivative UV-Vis spectrometry after precipitation of crocetin. Food Addit Contam. 2005; 22(7): 607-615.*
- 89 Işcan G., Köse Y.B., Demirci F. *Croci stigma – safran. Bitkisel Drogaların Makroskopik ve Mikroskopik Özellikleri. Antalya, Turkey: Antalya Eczacı Odası Akademisi Yayınları; 2019: 306-307.*
- 90 *Croci sativi stigma ad praeparationes homoeopathicas. European Pharmacopoeia (Ph. Eur. 10.0). Strasbourg, France: European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care; 2021: 1710.*
- 91 Gismondi A., Fanali F., Labarga J.M.M., Caiola M.G., Canini A. *Crocus sativus L. genomics and different DNA barcode applications. Plant Syst Evol. 2013; 299(10): 1859-1863.*
- 92 Babaei S., Talebi M., Bahar M. *Developing a SCAR and ITS reliable multiplex PCR-based assay for safflower adulterant detection in saffron samples. Food Control. 2014; 35(1): 323-328.*
- 93 Little D.P. *Authentication of Ginkgo biloba herbal dietary supplements using DNA barcoding. Genome. 2014; 57(9): 513-516.*

- 94 Karimi S., Feizy J., Mehrjo F., Farrokhnia M. Detection and quantification of food colorant adulteration in saffron sample using chemometric analysis of FT-IR spectra. *RSC Advances*. 2016; 6(27): 23085-23093.
- 95 Yilmaz A., Nyberg N.T., Mølgaard P., Asili J., Jaroszewski J.W. ¹H NMR metabolic fingerprinting of saffron extracts. *Metabolomics*. 2010; 6(4): 511-517.
- 96 Petrakis E.A., Cagliani L.R., Tarantilis P.A., Polissiou M.G., Consonni R. Sudan dyes in adulterated saffron (*Crocus sativus* L.): Identification and quantification by ¹H NMR. *Food Chem*. 2017; 217: 418-424.
- 97 Patel K.J., Boghra V.R. Appraisal of various physico-chemical characteristic and detection of synthetic color in saffron (*Crocus sativus*). *Asian J Dairy Food Res*. 2018; 37(4): 304-309.
- 98 Girmé A., Saste G., Pawar S., et al. Quantitative determination and characterization of a Kashmir saffron (*Crocus sativus* L.)-based botanical supplement using single-laboratory validation study by HPLC-PDA with LC-MS/MS and HPTLC investigations. *ACS Omega*. 2021; 6(36): 23460-23474.
- 99 Carmona M., Zalacain A., Sánchez A.M., Novella J.L., Alonso G.L. Crocetin esters, picrocrocin and its related compounds present in *Crocus sativus* stigmas and *Gardenia jasminoides* fruits. Tentative identification of seven new compounds by LC-ESI-MS. *J Agric Food Chem*. 2006; 54(3): 973-979.
- 100 Gujjarro-Díez M., Castro-Puyana M., Crego A.L., Marina M.L. Detection of saffron adulteration with gardenia extracts through the determination of geniposide by liquid chromatography-mass spectrometry. *J Food Comp Anal*. 2017; 55: 30-37.
- 101 Moras B., Loffredo L., Rey S. Quality assessment of saffron (*Crocus sativus* L.) extracts via UHPLC-DAD-MS analysis and detection of adulteration using gardenia fruit extract (*Gardenia jasminoides* Ellis). *Food Chem*. 2018; 257: 325-332.
- 102 Aiello D., Siciliano C., Mazzotti F., Di Donna L., Athanassopoulos C.M., Napoli A. Molecular species fingerprinting and quantitative analysis of saffron (*Crocus sativus* L.) for quality control by MALDI mass spectrometry. *RSC Advances*. 2018; 8(63): 36104-36113.
- 103 Aiello D., Siciliano C., Mazzotti F., Di Donna L., Athanassopoulos C.M., Napoli A. A rapid MALDI MS/MS based method for assessing saffron (*Crocus sativus* L.) adulteration. *Food Chem*. 2020; 307: 125527.
- 104 Lozano P., Castellar M.R., Simancas M.J., Iborra J.L. A quantitative high-performance liquid chromatographic method to analyse commercial saffron (*Crocus sativus* L.) products. *J Chromatogr A*. 1999; 830(2): 477-483.
- 105 Haghighi B., Feizy J., Kakhki A.H. LC determination of adulterated saffron prepared by adding styles colored with some natural colorants. *Chromatographia*. 2007; 66(5): 325.
- 106 Alonso G.L., Salinas M.R., Garijo J. Method to determine the authenticity of aroma of saffron (*Crocus sativus* L.). *J Food Prot*. 1998; 61(11): 1525-1528.
- 107 Di Donato F., D'Archivio A.A., Maggi M.A., Rossi L. Detection of plant-derived adulterants in saffron (*Crocus sativus* L.) by HS-SPME/GC-MS profiling of volatiles and chemometrics. *Food Anal Meth*. 2021; 14(4): 784-796.
- 108 Wakefield J., McComb K., Ehtesham E., et al. Chemical profiling of saffron for authentication of origin. *Food Control*. 2019; 106: 106699.
- 109 Kong W., An H., Zhang J., et al. Development of a high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry method for identifying common adulterant content in saffron (*Crocus sativus* L.). *J Pharm Pharmacol*. 2019; 71(12): 1864-1870.

