

Valutazione della qualità dello zafferano tramite spettroscopia UV-Vis in conformità alla norma ISO 3632

Analisi quantitativa integrata mediante spettrofotometro UV-Vis Agilent Cary 3500 e Cary UV Workstation



Autore

Yasurika Heenatigala
Agilent Technologies, Inc.

Abstract

Lo zafferano è una spezia costosa e il suo prezzo dipende direttamente dalla qualità e dall'autenticità del prodotto. Questo rende lo zafferano soggetto ad adulterazione ed etichettatura ingannevole. Lo zafferano commerciale può essere classificato in base alle sue proprietà spettrofotometriche UV-Vis, secondo gli standard ISO 3632-1:2025 e ISO 3632-2:2010. I risultati ottenuti consentono di classificare lo zafferano in quattro categorie commerciali: classe Extra, I, II e III, fornendo un approccio standardizzato per la valutazione della qualità.

In conformità ai metodi delle clausole 7, 10 e 14 della ISO 3632-2, lo spettrofotometro UV-Vis multicella Agilent Cary 3500 è stato utilizzato per la classificazione qualitativa di un campione di zafferano quantificando i marcatori bioattivi chiave. Il campione è stato classificato come classe Extra, come previsto dalla ISO 3632-1. Lo studio evidenzia i vantaggi del software Cary UV Workstation nel rendere più rapide e semplificate le valutazioni della qualità dello zafferano e nel supportare i flussi di lavoro di routine per il controllo qualità, la verifica dell'autenticità e la fiducia dei consumatori.

Introduzione

Lo zafferano è la spezia più costosa al mondo, con un prezzo al grammo che dipende da qualità, origine e purezza. È apprezzato per il suo colore vivace e l'aroma caratteristico, qualità che contribuiscono in modo determinante al suo fascino culinario. Tuttavia, il suo elevato valore di mercato e la produzione limitata lo rendono vulnerabile ad adulterazioni, degrado qualitativo ed etichettature ingannevoli, tutti fattori che rappresentano un rischio per la salute, la sicurezza e la fiducia dei consumatori.

La spettroscopia Ultraviolet-Visible (UV-Vis) è una tecnica analitica rapida e affidabile per valutare la qualità della spezia quantificando i marcatori molecolari bioattivi. Nello zafferano, la crocina è il composto carotenoidico responsabile dell'intensità del colore, la picrocrocina è il principale agente amaro e il safranale è il principale responsabile dell'aroma.

In questa nota applicativa abbiamo utilizzato uno spettrofotometro UV-Vis Agilent Cary 3500 e il software Agilent Cary UV Workstation per analizzare un campione di zafferano commerciale. L'obiettivo dello studio era classificare la qualità del campione in conformità alle norme ISO 3632-1:2025 e ISO 3632-2:2010 Spezie - Zafferano (*Crocus sativus* L.).^{1,2} Questi standard ampiamente consolidati forniscono specifiche e metodi di test per l'analisi dello zafferano essiccato, inclusi filamenti, filamenti tagliati e polvere. I metodi di test standardizzati descritti nella norma ISO 3632-2 supportano la classificazione e la valutazione qualitativa dello zafferano. Essi includono la determinazione del contenuto di umidità e di sostanze volatili (clausola 7), la frantumazione e la setacciatura dei campioni per i test (clausola 10) e la determinazione delle principali caratteristiche mediante metodo spettrometrico UV-Vis (clausola 14). Sulla base di queste valutazioni e dei criteri qualitativi definiti nella ISO 3632-1:2025, i campioni di zafferano possono essere classificati in quattro categorie commerciali: classe Extra (EC), I, II e III, dove EC indica la qualità più elevata.

Condizioni sperimentali

Preparazione del campione

Determinazione del contenuto di umidità e sostanze volatili

Innanzitutto, sono stati pesati 2,5 g di filamenti di zafferano (acquistati localmente) con una precisione di 0,1 mg (2,5018 g) in un piatto di pesatura pulito, asciutto e tarato. Questa porzione di test è stata quindi collocata senza copertura in un forno e mantenuta a 100 ± 1 °C per 16 ore. Dopo il raffreddamento, il campione è stato nuovamente pesato con una precisione di 0,1 mg. Il contenuto di umidità e sostanze volatili (W_{MV}) è stato calcolato ed espresso in percentuale rispetto al campione iniziale. Questo valore è stato riportato con quattro cifre decimali e utilizzato nelle successive analisi spettrofotometriche UV-Vis.

Determinazione delle principali caratteristiche dello zafferano mediante UV-Vis

Bianco: come bianco è stata utilizzata acqua distillata (Milli-Q IQ 7005, Sigma-Aldrich, Merck); 3 mL di acqua distillata sono stati trasferiti in una cuvetta standard in quarzo da 3,5 mL con percorso ottico da 10 mm (Agilent Technologies, codice 50613387).

Estratto acquoso del campione: 1 g di filamenti di zafferano è stato frantumato utilizzando un mortaio e un pestello fino a quando il 95% della frazione di massa è riuscito a passare attraverso un setaccio con maglie di 500 µm. Quindi, 0,5 g del campione frantumato sono stati pesati con una precisione di 0,1 mg in un piatto di pesatura pulito, asciutto e tarato (0,5330 g), e questo è stato considerato il peso della porzione di campione da testare. Questa porzione di test è stata trasferita in un becher da 1.000 mL e sono stati aggiunti 900 mL di acqua distillata. La soluzione è stata agitata con un agitatore magnetico per un'ora, al riparo dalla luce. Trascorso questo periodo, la barra magnetica è stata rimossa e il becher è stato riempito fino al contrassegno con acqua distillata e mescolato. È stata prelevata un'aliquota di 20 mL e trasferita in un matraccio tarato da 200 mL, riempito fino al contrassegno con acqua distillata. Il matraccio è stato chiuso con tappo e mescolato. La soluzione è stata rapidamente filtrata attraverso una membrana di filtrazione in estere misto di cellulosa (MCE) con pori di 0,45 µm (HAWP02400, Sigma-Aldrich, Merck) al riparo dalla luce. Infine, 3 mL della soluzione limpida (estratto acquoso del campione) sono stati trasferiti in una cuvetta standard in quarzo da 10 mm, pronta per l'analisi UV-Vis.

Strumentazione

La cuvetta del bianco e la cuvetta con l'estratto acquoso del campione sono state caricate nello spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500 di Agilent (Figura 1), che è stato utilizzato con i parametri elencati nella Tabella 1. Lo strumento è alimentato da una lampada pulsata allo xeno che non richiede tempo di riscaldamento e consente di raccogliere una scansione completa dello spettro in meno di un secondo. La lampada include una garanzia di sostituzione di 10 anni, riducendo al minimo la frequenza e il costo della sostituzione. Il design modulare del Cary 3500 consente di configurare la serie di spettrofotometri in base alle diverse esigenze di flessibilità e scalabilità del campionamento. Per applicazioni con campioni singoli e laboratori con spazio ridotto sul banco, lo spettrofotometro UV-Vis compatto Cary 3500 consente all'utente di misurare un singolo campione e riferimento in configurazione ambiente o a temperatura controllata. Questa applicazione può essere eseguita anche sullo spettrofotometro UV-Vis flessibile Cary 3500, che dispone di un vano più ampio per la misurazione di campioni liquidi e solidi e per l'uso con accessori.

Dopo aver stabilito la linea di base misurando il bianco, è stato raccolto il profilo UV-Vis dell'estratto acquoso di zafferano.



Figura 1. Lo spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500 di Agilent dispone di otto posizioni fisse per le celle e di un design ottico a doppio raggio con tecnologia a fibre ottiche e otto rispettivi rivelatori, che consentono la misurazione simultanea di un massimo di sette campioni e un riferimento.

Tabella 1. Parametri di raccolta dati UV-Vis per l'analisi dello zafferano con uno spettrofotometro UV-Vis multicella Agilent Cary 3500.

Impostazione	Parametro
Intervallo di lunghezze d'onda	200–700 nm
Lunghezze d'onda di analisi	257, 330, 440 nm
Tempo per la media del segnale	0,020 sec
Intervallo dati	1 nm
Larghezza di banda spettrale	2 nm

Risultati e discussione

Determinazione del contenuto di umidità e sostanze volatili

Il contenuto di umidità e sostanze volatili (w_{MV}) del campione è stato calcolato pari al 6,43% del peso iniziale. Secondo la norma ISO 3632-1:2025, questo valore classifica il campione di zafferano come EC, come mostrato nella Tabella 2. Il valore w_{MV} viene utilizzato anche nella determinazione delle caratteristiche principali dello zafferano, come descritto nella sezione successiva.

Tabella 2. Calcoli del contenuto di umidità e sostanze volatili.

Caratteristica	Campione	Unità		
Porzione di test (m0)	2,5018	g		
Residuo secco (m4)	2,3410	g		
Contenuto di umidità e sostanze volatili (w_{MV})	6,4274	%		
Classificazione				
Categorie di specifica	EC	I	II	III
In forma di filamenti	<12%			
In forma di polvere	<10%			
Categorizzazione delle specifiche del campione	Classe Extra			

Determinazione delle caratteristiche principali dello zafferano mediante un metodo spettrometrico UV-Vis

Lo spettro UV-Vis dello zafferano è stato raccolto nell'intervallo di lunghezze d'onda compreso tra 200 e 700 nm utilizzando lo spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500, come mostrato nella Figura 2. I risultati dei tre costituenti primari dello zafferano sono stati ottenuti mediante lettura diretta dell'assorbanza specifica alle seguenti tre lunghezze d'onda:

- $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ (257 nm): assorbanza a ~ 257 nm (λ_{max} della picrocrocina)
- $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ (330 nm): assorbanza a ~ 330 nm (λ_{max} del safranale)
- $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ (440 nm): assorbanza a ~ 440 nm (λ_{max} della crocina)

La classificazione quantitativa del campione di zafferano è stata effettuata in conformità alla norma ISO 3632-1:2025, che definisce i parametri di qualità in base all'intensità dell'assorbanza dei tre costituenti. Una volta registrati i valori di assorbanza a queste lunghezze d'onda con quattro cifre decimali, i valori di intensità sono stati calcolati utilizzando la metodologia descritta nella norma ISO 3632-2:2010.

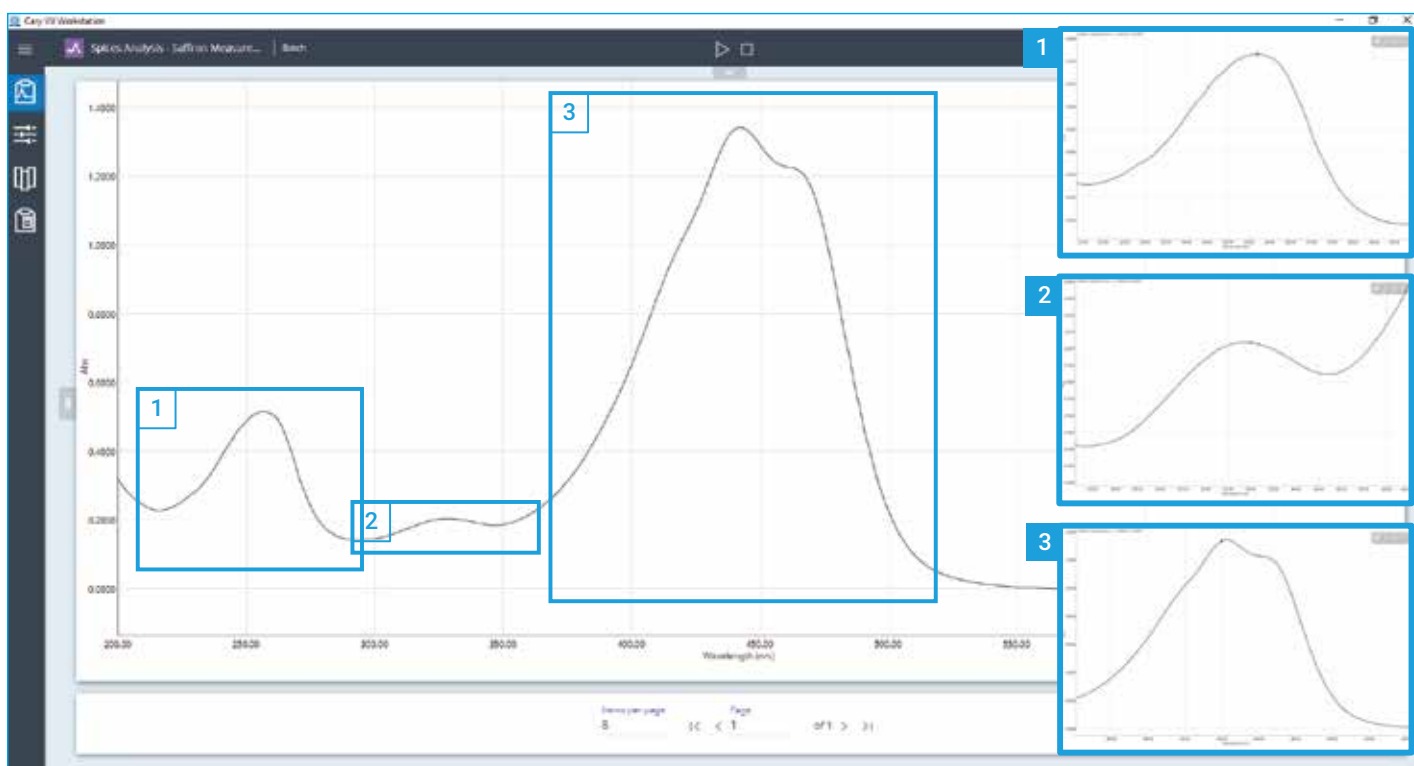


Figura 2. Spettro UV-Vis compreso tra 200 e 700 nm dell'estratto acquoso di zafferano. (1) mostra l'assorbanza massima della picrocrocina, (2) mostra la caratteristica forma a spalla del safranale intorno ai 330 nm e (3) mostra la caratteristica forma dello spettro dell'assorbanza della crocina.

L'intensità di un costituente dello zafferano può essere calcolata utilizzando l'equazione 1.

Equazione 1.

$$A \frac{1\%}{1\text{cm}} (\lambda_{\text{max}}) = \frac{D \times 10.000}{m \times (100 - w_{\text{MV}})}$$

dove:

D = assorbanza specifica del costituente

10 000 = fattore di conversione dell'unità che consente il confronto tra diversi campioni di zafferano

m = massa, in grammi, della porzione di test

w_{MV} = contenuto di umidità e sostanze volatili, espresso come frazione di massa percentuale, del campione

I calcoli dei costituenti sono stati espressi utilizzando le seguenti equazioni:

Equazione 2.

$$(\text{picrocrocina, agente del sapore}) = \frac{D(257 \text{ nm}) \times 10.000}{0,5330 \times (100 - 6,4274)}$$

Equazione 3.

$$(\text{safranale, agente dell'aroma}) = \frac{D(330 \text{ nm}) \times 10.000}{0,5330 \times (100 - 6,4274)}$$

Equazione 4.

$$(\text{crocina, agente della colorazione}) = \frac{D(440 \text{ nm}) \times 10.000}{0,5330 \times (100 - 6,4274)}$$

Questi calcoli forniscono valori per la classificazione dell'intensità di sapore, aroma e colore del campione di zafferano, consentendo di classificarlo come EC, I, II o III secondo le specifiche ISO 3632-1:2025.

L'analisi dei dati è stata eseguita utilizzando il software Cary UV Workstation, che ha consentito sia l'acquisizione dei dati che il calcolo automatico dei valori di intensità all'interno della stessa piattaforma.

Come mostrato nella Figura 3, la pagina di impostazione della sequenza ha consentito l'integrazione di parametri personalizzati, come la massa del campione, e l'implementazione dei seguenti tre calcoli utilizzando lo strumento di analisi "End of sequence" (Fine della sequenza):

- "Analysis 1" (Analisi 1): intensità del sapore (picrocrocina)
- "Analysis 2" (Analisi 2): intensità dell'aroma (safranale)
- "Analysis 3" (Analisi 3): intensità della colorazione (crocina)

Al termine della scansione, Cary UV Workstation ha generato uno spettro scalabile e tabelle di analisi che mostrano l'assorbanza e i valori di intensità calcolati per ciascun composto. I valori di assorbanza ottenuti per i composti di picrocrocina, safranale e crocina nel campione di prova (0,5330 g) sono riportati nella Tabella 3.

Tabella 3. Risultati dell'assorbanza dei composti picrocrocina, safranale e crocina nell'estratto acquoso di zafferano (0,5330 g di campione).

Analita	λ	Assorbanza
Picrocrocina	257	0,5156
Safranale	330	0,2035
Crocina	440	1,3351

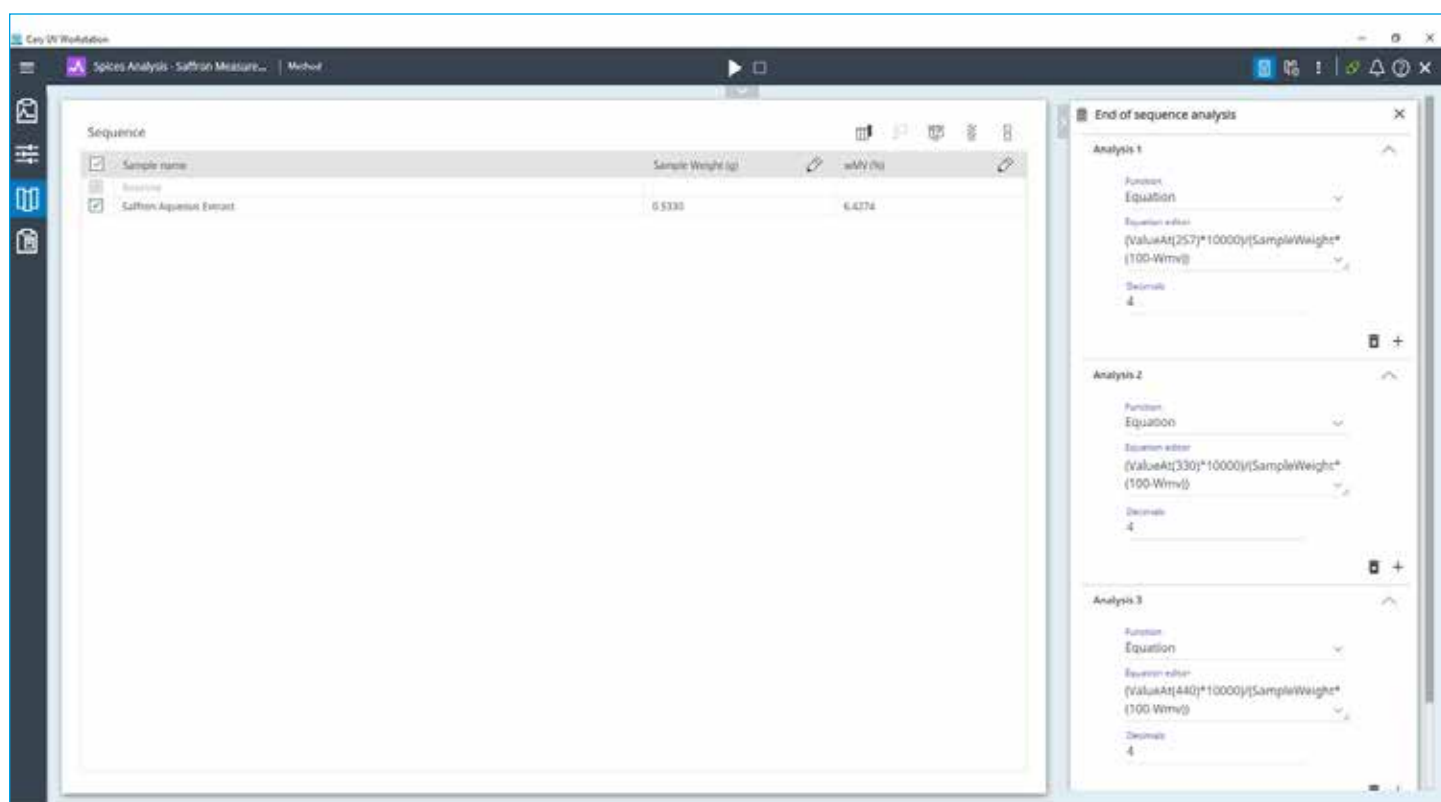


Figura 3. La pagina di configurazione della sequenza in Agilent Cary UV Workstation, che consente all'utente di creare i metodi di test e di calcolo. Il peso del campione è stato aggiunto come parametro personalizzato e le tre equazioni sono state inserite nella funzione di analisi di fine sequenza, consentendo il calcolo automatico delle caratteristiche principali dello zafferano.

Questi valori di assorbanza sono stati elaborati per determinare la classificazione del campione di zafferano in base ai requisiti minimi (e massimi) di intensità definiti dalla norma ISO. Sono riportati i valori di assorbanza (Figura 4, scansione della lunghezza d'onda) e un esempio del calcolo dell'intensità del sapore, basato sull'assorbanza a 257 nm per la picrocrocina (Figura 4, Analisi 1).

Cary UV Workstation ha trasformato i dati della spettroscopia UV-Vis in informazioni utili a livello commerciale. Utilizzando l'analisi quantitativa automatizzata, che può essere salvata come metodo accessibile, il software ha fornito una classificazione numerica del campione secondo il sistema di classificazione commerciale definito dalla norma ISO 3632.

Come mostrato nella Tabella 4, tutte e tre le caratteristiche dell'estratto di zafferano hanno soddisfatto i requisiti EC secondo la norma ISO 3632-1:2025, confermando l'alta qualità del campione. Anche il contenuto di umidità e sostanze volatili (w_{MV}), determinato separatamente al 6,43%, rientrava nei limiti accettabili per la classificazione EC. Questo valore è stato incluso nei calcoli dell'intensità.

Nel complesso, Cary UV Workstation ha fornito un flusso di lavoro semplificato e intuitivo, integrando la raccolta dati, l'analisi spettrale e i calcoli conformi alla norma ISO in un'unica piattaforma. Questo approccio automatizzato riduce gli errori manuali e semplifica la classificazione dello zafferano per applicazioni di ricerca e controllo qualità commerciale.

Analysis 1 results (2025-08-18 22:44:16 (-07:00))

(ValueAt(257)*10000)/(SampleWeight*(100-Wmv))

Sample name	Results
Saffron Aqueous Extract	103.3773

Wavelength scan (2025-08-18 22:44:16 (-07:00))

Sample	257.00 nm	330.00 nm	440.00 nm	Y mode
	Value	Value	Value	
Saffron Aqueous Extract	0.5156	0.2035	1.3351	Abs

Figura 4. Risultati dell'Analisi 1, intensità del sapore dell'estratto acquoso di zafferano e assorbanza specifica dei tre costituenti primari dello zafferano, calcolati automaticamente utilizzando il software Agilent Cary UV Workstation.

Tabella 4. Intensità e risultati della classificazione dei composti picrocrocina, safranale e crocina nell'estratto acquoso di zafferano.

Caratteristica	λ (nm)	Specifiche di intensità ISO	EC	I	II	III	Intensità calcolata	Classificazione del campione
Intensità del sapore	257	Area	80	70	55	40	103,3773	Classe Extra
Intensità dell'aroma	330	Area	30	20	20	20	40,8105	Classe Extra
		Massimo	50	50	50	50		
Intensità della colorazione	440	Area	230	200	170	120	267,6997	Classe Extra

Di qualifica

Una documentazione accurata e tracciabile è essenziale per la riproducibilità analitica, la garanzia della qualità e la conformità. Cary UV Workstation facilita questa tracciabilità attraverso un sistema di reportistica integrato. Questi report possono essere generati in formato PDF e/o CSV, riducendo al minimo gli errori di trascrizione.

Prima è stato esportato un file in formato CSV (Figura 5) in una posizione personalizzata, contenente i dettagli relativi al metodo, alla sequenza e ai parametri del campione, nonché ai risultati dei calcoli. L'esportazione CSV facilita il trasferimento dei dati di laboratorio nei sistemi LIMS, supportando una tracciabilità rapida dei campioni, la gestione del flusso di lavoro e l'accuratezza dei dati.

Il software genera inoltre automaticamente report di scansione intuitivi, che consolidano informazioni critiche quali parametri dello strumento, configurazione del metodo, informazioni sul campione, spettri di assorbanza per gli analiti target e risultati quantitativi (Figura 6).

Analysis 1 results	2025-08-18 22:44:16 (-07:00)		
(Value at(257)*10000)/(SAMPLEWEIGHT*(100-WMV))			
Sample Name	Results		
Saffron Aqueous Extract	103.377		
Analysis 2 results	2025-08-18 22:44:16 (-07:00)		
(Value at(330)*10000)/(SAMPLEWEIGHT*(100-WMV))			
Sample Name	Results		
Saffron Aqueous Extract	40.8105		
Analysis 3 results	2025-08-18 22:44:16 (-07:00)		
(Value at(440)*10000)/(SAMPLEWEIGHT*(100-WMV))			
Sample Name	Results		
Saffron Aqueous Extract	267.7		
Wavelength scan	2025-08-18 22:44:16 (-07:00)		
Sample	257.00 nm 330.00 nm 440.00 nm Y mode		
	Value Value Value		
Saffron Aqueous Extract	0.51559 0.20354 1.33513 Abs		

Figura 5. Cary UV Workstation di Agilent genera un'esportazione in formato CSV che descrive in dettaglio le analisi e i risultati di fine sequenza, supportando i requisiti di tracciabilità e semplificando la gestione dei dati.

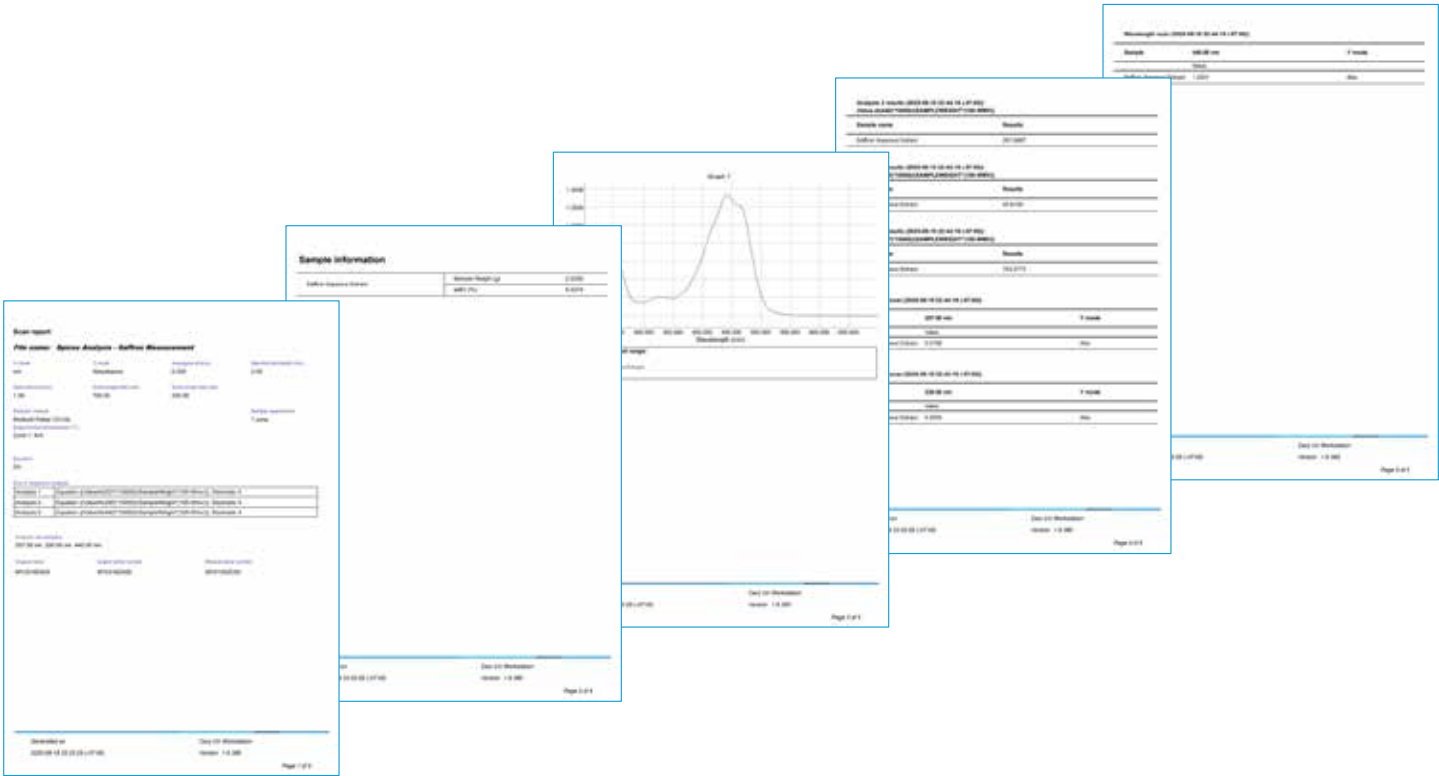


Figura 6. Esempio di un report di scansione dettagliato generato da Cary UV Workstation di Agilent per la misurazione dello zafferano.

Conclusione

Lo spettrofotometro UV-Vis multicella Agilent Cary 3500, combinato con il software Agilent Cary UV Workstation, ha fornito una quantificazione precisa del colore, del sapore e dell'aroma attraverso la misurazione dei composti crocina, picrocrocina e safranale, rispettivamente. Il metodo supporta la valutazione della qualità dello zafferano in conformità con lo standard industriale ISO 3632, consentendo una classificazione affidabile dei campioni commerciali e segnalando al contempo potenziali casi di adulterazione, degradazione o etichettatura errata.

Cary 3500 UV-Vis utilizza una lampada pulsata allo xeno affidabile e di lunga durata che non richiede un tempo di riscaldamento, consentendo il funzionamento immediato e l'acquisizione di scansioni spettrali complete per campioni del bianco e campioni di zafferano in meno di un secondo. Queste capacità supportano l'analisi ad alta produttività delle spezie attraverso la misurazione precisa dei picchi di assorbanza specifici dei composti.

Grazie agli strumenti spettrali integrati, ai calcoli automatizzati e alle funzionalità di reportistica intuitive, Cary UV Workstation ha semplificato notevolmente il flusso di lavoro dal campionamento alla reportistica per l'analisi dello zafferano. I calcoli personalizzati definiti nella norma ISO 3632 accelerano l'elaborazione dei dati e riducono gli errori di calcolo. Il software fornisce inoltre i risultati tramite un'interfaccia intuitiva, ideale per la tracciabilità.

Insieme, lo spettrofotometro UV-Vis Cary 3500 e il software Cary UV Workstation hanno consentito un notevole risparmio di tempo, riducendo al minimo il tempo dedicato all'analisi dei dati e lasciando più tempo per il controllo qualità dei campioni. Il sistema Cary 3500 fornisce una soluzione efficiente per la determinazione delle caratteristiche principali dello zafferano in conformità con la clausola 14 della norma ISO 3632-2:2010.

Bibliografia

1. International Organization for Standardization, ISO 3632-1:2025 – Spices – Saffron (*Crocus sativus* L.), Part 1: Specification, ISO, Geneva, Switzerland, 2025
2. International Organization for Standardization, ISO 3632-2:2010 – Spices – Saffron (*Crocus sativus* L.), Part 2: Test methods, ISO, Geneva, Switzerland, 2010

Ulteriori informazioni

- [Spettrofotometro UV-Vis multicella Cary 3500](#)
- [Software Cary UV Workstation](#)

www.agilent.com

DE-009373

Le informazioni fornite possono essere soggette a modifica senza preavviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2025
Stampato negli Stati Uniti, il 12 settembre 2025
5994-8611ITE