

CARATTERIZZAZIONE E VERIFICA DELLE PROPRIETÀ ANTIOSSIDANTI ED ANTIRADICALICHE DEI COMPOSTI BIOATTIVI DI CROCUS SATIVUS L.



Zafferano (Crocus Sativus L.): Nuove formulazioni standardizzate, tracciate toscane, come contributo allo sviluppo di nuovi prodotti e nuove terapie per malattie ad alto impatto sociale

PS-GO SaffronNutraMed-sottomisura 1.3 del PSR 2014-2020

Prof.ssa Annalisa Romani ♥

Dott.ssa Pamela Vignolini – Laboratorio PHYTO LAB - DiSIA – Università degli Studi di Firenze



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE
DiSIA
DIPARTIMENTO DI STATISTICA,
INFORMATICA, APPLICAZIONI
"GIUSEPPE PARENTI"



Regione Toscana



Tutelare qualità e sicurezza alimentare della produzione di zafferano toscano salvaguardandone e promuovendone l'identità di prodotto agro-alimentare tradizionale e di qualità.

Work Package n. 1 (WP1): TUTELA DELLA SICUREZZA E QUALITÀ AGRO-ALIMENTARE DELLA PRODUZIONE TOSCANA DI ZAFFERANO ELABORAZIONE DI SCHEDE TECNICHE E NUTRIZIONALI PER LO STIGMA. CARATTERIZZAZIONE DEI METABOLITI SECONDARI DI DIVERSE PARTI E TESSUTI DEL CROCUS SATIVUS L. (TEPALI E STAMI), NELL'OTTICA DELLA VALORIZZAZIONE DELLA MULTIFUNZIONALITÀ DELLA PIANTA.

Work Package n. 4 (WP4): VERIFICA DELLE PROPRIETÀ ANTIOSSIDANTI ED ANTIRADICALICHE DI CROCINE, CROCEFINE, PICROCROCINA E SAFRANALE, COSTITUENTI DELLO ZAFFERANO E SELEZIONI DI STIGMI E TEPALI ESSICCATI PER LA FORMULAZIONE DI NUOVI ALIMENTI ED INTEGRATORI AD USO FITOTERAPICO E BIOMEDICO.



Regione Toscana



Crocus sativus L.

➔ Conosciuto e apprezzato sulle nostre tavole per il suo sapore caratteristico e il colore inconfondibile

➔ utilizzato da secoli nella tradizione popolare – dall’antica Grecia all’Europa, al Medio Oriente, alla Cina – sia come spezia che come medicinale.

➔ Avicenna (980-1037 d.C.) – padre della medicina moderna – elenca le proprietà terapeutiche come antidepressivo, antinfiammatorio, epatoprotettivo, broncodilatatore e afrodisiaco

➔ Studi interessanti condotti sull’utilizzo dello zafferano come integratore: ansiolitico, antidepressivo, decadimento cognitivo, degenerazione maculare e malattie della vista, azione citotossica sulle cellule di varie linee tumorali



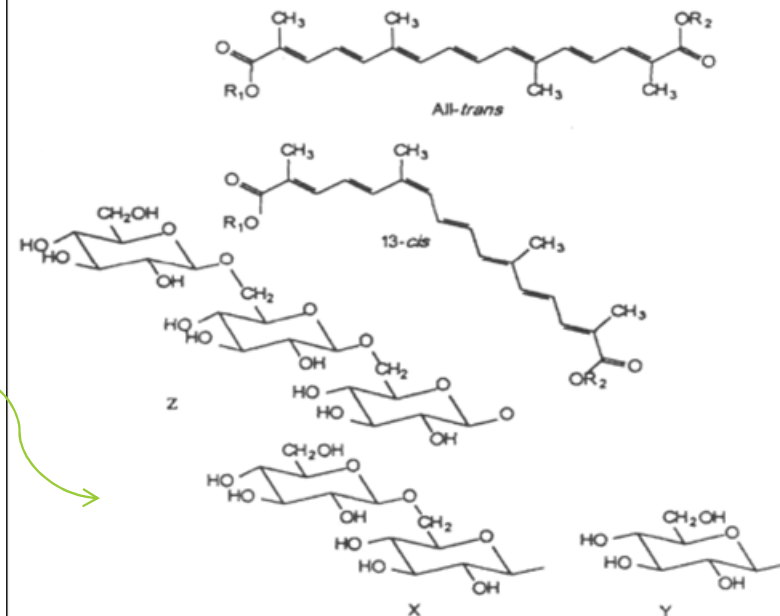
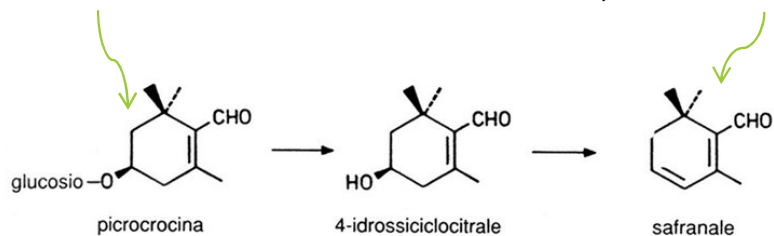
Principi attivi zafferano:



Componente colorante

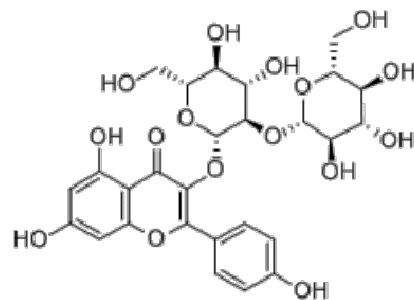
Componente amara

Componente aromatica



Crocins (CRCs): Glucosyl esters of crocetin

Crocina-5: R_1 =Three β -D-glucosyl (Z), R_2 = β -D-gentiobiosyl (X)	$C_{50}H_{74}O_{29}$	MW: 1138
Crocina-4: $R_1=R_2$ = β -D-gentiobiosyl (X)	$C_{44}H_{64}O_{24}$	MW: 976
Crocina-3: R_1 = β -D-gentiobiosyl (X), R_2 = β -D-glucosyl (Y)	$C_{38}H_{54}O_{19}$	MW: 814
Crocina-2: R_1 = β -D-gentiobiosyl (X), R_2 =H	$C_{32}H_{44}O_{14}$	MW: 652
Crocina-Z: $R_1=R_2$ = β -D-glucosyl (Y)	$C_{32}H_{44}O_{14}$	MW: 652
Crocina-1: R_1 = β -D-glucosyl (Y), R_2 =H	$C_{26}H_{34}O_9$	MW: 490
Crocetin (CRT): $R_1=R_2$ =H	$C_{20}H_{24}O_4$	MW: 328

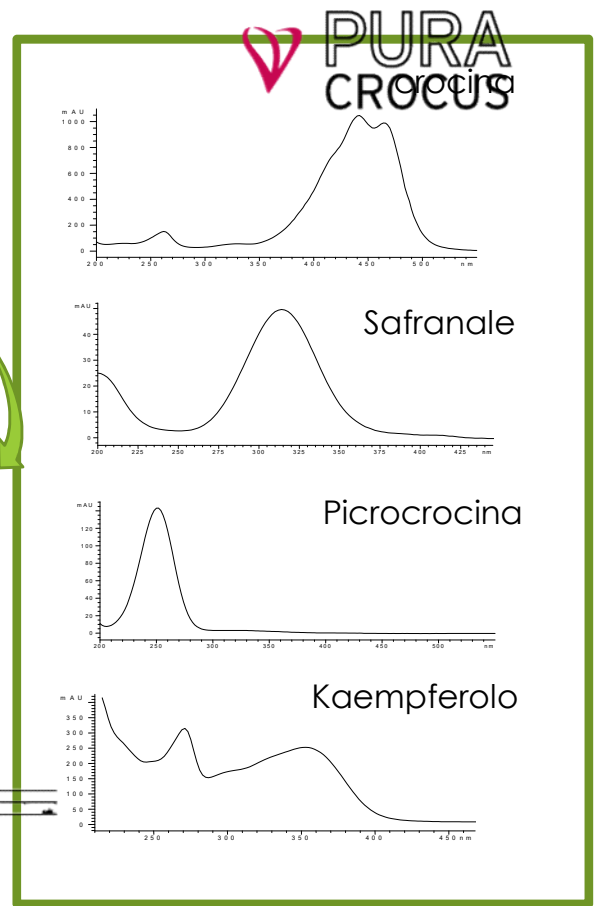
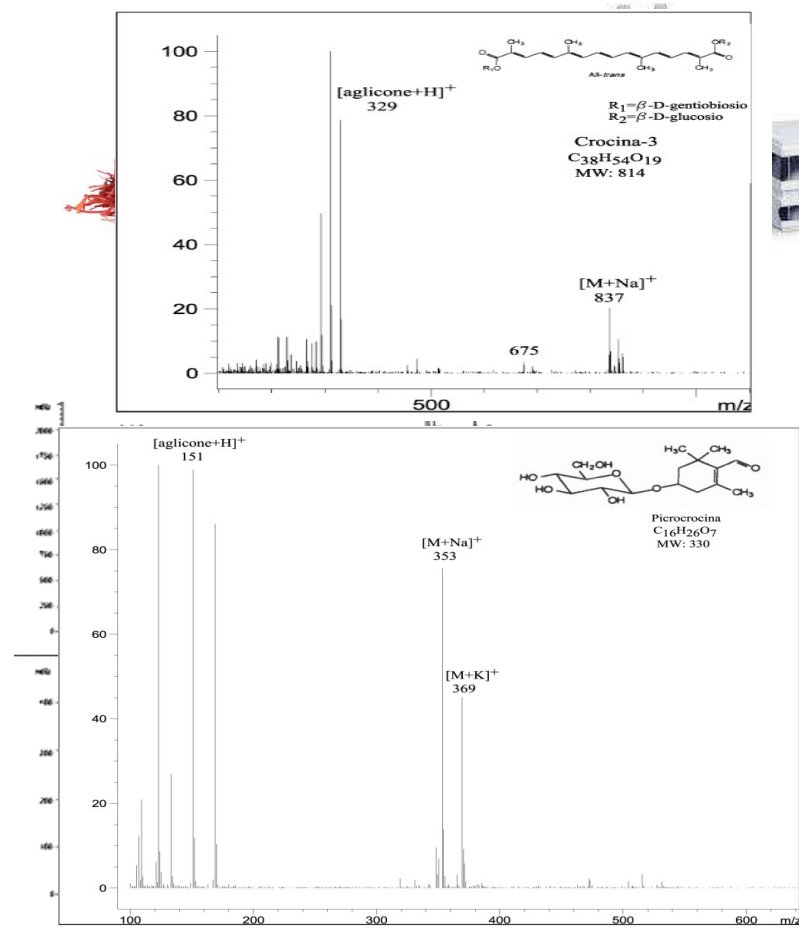


Kaempferolo 3-O-soforoside



caratterizzazione dei metaboliti secondari dei tessuti del *C. sativus* L. (tepali, stami e stigmi), mediante analisi HPLC/DAD/MS nell'ottica della valorizzazione della multifunzionalità della pianta

Analisi HPLC/DAD/MS STIGMI



Spettri UV/Vis



Profilo spettrofotografico acquisito a 440 e 350 nm dell'estratto idroalcolico di stigmi. c= crocine, k= derivati Kaempferolo, p= picrocrocina, s= safranale



STIGMI 2020	mg/g
<u>crocine</u>	
trans crocina 5	1.60
trans crocina 4	256.93
trans crocina 3	112.37
trans crocina 2'	3.67
cis crocina 4	17.01
cis crocina 2	18.25
cis crocina 1	1.47
crocina derivati	22.3
TOTALE CROCINE	433.61
safranale	0.65
picrocrocina	42.44
<u>flavonoidi</u>	
kaempferolo 3 soforoside 7	
glucoside	2.68
kaempferolo derivato	1.30
kaempferolo 3 soforoside	10.23
TOTALE FLAVONOIDI	14.21

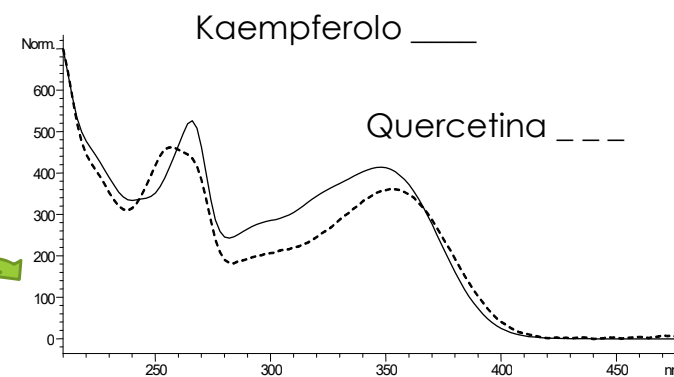
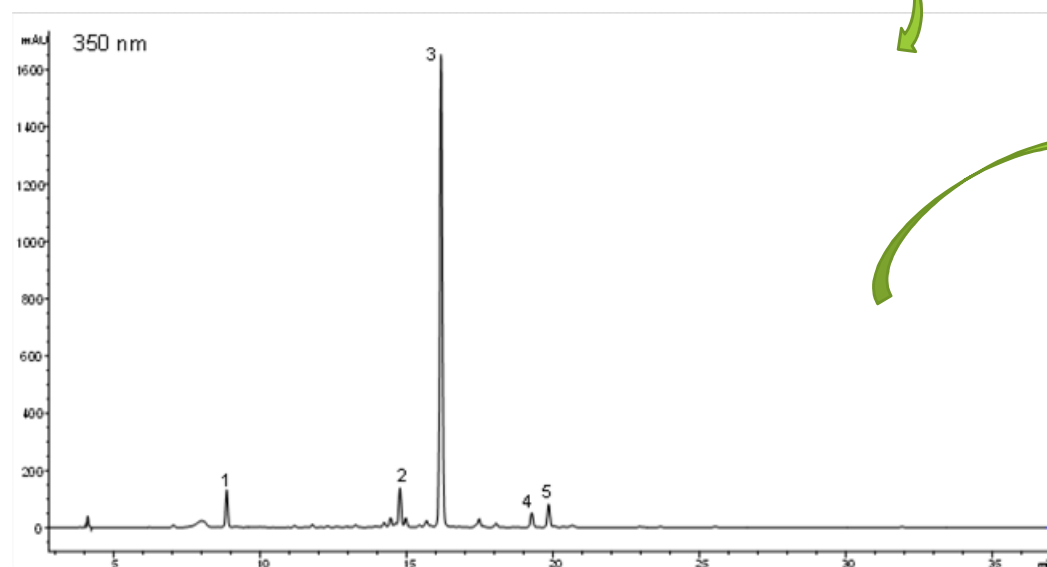
STIGMI 2021	mg/g
<u>crocine</u>	
trans crocina 5	0.93
trans crocina 4	362.99
trans crocina 3	169.36
trans crocina 2'	8.437
cis crocina 4	7.99
cis crocina 2	18.04
cis crocina 1	1.44
crocina derivati	13.43
TOTALE CROCINE	582.62
safranale	0.07
picrocrocina	104.73
<u>flavonoidi</u>	
kaempferolo 3 soforoside 7	
glucoside	3.63
kaempferolo derivato	0.36
kaempferolo 3 soforoside	8.37
TOTALE FLAVONOIDI	12.36

I dati sono espressi in mg/ g di campione, sono la media di tre ripetizioni (standard deviation < 5%)



Analisi HPLC/DAD/MS

TEPALI E STAMI



Spettri UV/Vis

Profilo cromatografico acquisito a 350 nm dell'estratto idroalcolico di tepali. 1= k 3 sophorose 7 glucoside, 2 =q diglucoside, 3 =K 3 sophorose, 4 =K sinapoil glucoside, 5= K glucoside. K=kaempferolo, q= quercetina



Analisi HPLC/DAD/MS

TEPALI 2020	mg/g
Flavonoidi	
k 3 sophorose 7 glucoside	2.45
k diglucoside	0.39
q diglucoside	1.31
q diglucoside	4.17
metil q diglucoside	0.66
K 3 sophorose	48.16
K sinapoil glucoside	1.05
K glucoside	1.20
K cumaroil glucoside	0.03
q cumaroil glucoside	0.03
k derivati	6.49
q derivati	0.87
quercetina	0.05
kaempferolo	0.17
miricetina	0.04
TOTALE FLAVONOIDI	67.06
Antociani	
delfinidina 3,7 diglucoside	4.77
petunidina 3-7 diglucoside	1.48
antociani	0.47
TOTALE ANTOCIANI	6.62

TEPALI 2021	mg/g
Flavonoidi	
k 3 sophorose 7 glucoside	2.81
k diglucoside	0.22
q diglucoside	1.63
q diglucoside	5.80
metil q diglucoside	0.86
K 3 sophorose	58.32
K sinapoil glucoside	2.65
K glucoside	2.67
K cumaroil glucoside	0.02
q cumaroil glucoside	0.02
k derivati	4.82
q derivati	4.82
quercetina	0.03
kaempferolo	0.12
miricetina	0.04
TOTALE FLAVONOIDI	84.84
Antociani	
delfinidina 3,7 diglucoside	12.26
petunidina 3-7 diglucoside	2.53
antociani	1.67
TOTALE ANTOCIANI	16.46

STAMI 2021	mg/g
crocine	
tracce	
Flavonoidi	
q diglucoside	1.80
q diglucoside	2.94
isoramnetina diglucoside	1.28
k derivato+isoramnetina derivato	0.23
isoramnetina ramnosil glucoside	4.13
q derivato	0.45
isoramnetina glucoside	0.33
k derivato	0.15
q p cumaroilglucoside	0.92
k p cumaroilglucoside	0.26
isoramnetina p cumaroilglucoside	0.14
q derivato	0.05
kaempferolo	0.01
isoramnetina	0.03
flavonoidi	0.50
TOTALE FLAVONOIDI	13.2

I dati sono espressi in mg/ g di campione, sono la media di tre ripetizioni (standard deviation < 5%
K=kaempferolo, q= quercetina



Analisi HPLC/DAD/MS



STIGMI 2020	mg/g
crocine	
trans crocina 5	3.643
trans crocina 4	261.73
trans crocina 3	78.94
trans crocina 2'	4.17
cis crocina 4	34.32
cis crocina 2	25.01
cis crocina 1	3.66
crocina derivati	20.51
TOTALE CROCINE	431.97
safranale	0.78
picrocrocina	18.24
flavonoidi	
kaempferolo 3 soforoside	
7 glucoside	3.72
kaempferolo 3 soforoside	4
TOTALE FLAVONOIDI	7.72



TEPALI 2020	mg/g
Flavonoidi	
k 3 sophoroside 7 glucoside	2.58
K 3 sophoroside	46.03
K sinapoil glucoside	0.92
K glucoside	2.25
k derivati	4.6
q derivati	0.32
flavonoidi	1.65
kaempferolo	0.18
TOTALE FLAVONOIDI	67.06
Antociani	
delfinidina 3,7 diglucoside	9.39
petunidina 3-7 diglucoside	2.79
antociani	0.79
TOTALE ANTOCIANI	12.97

2021



I dati sono espressi in mg/ g di campione, sono la media di tre ripetizioni (standard deviation < 5%). K=kaempferolo, q= quercetina



Nell'ambito delle attività progettuali il Laboratorio Phytolab- DiSIA ha provveduto alla valutazione delle proprietà antiossidanti di estratti di Tepali essiccati di zafferano.



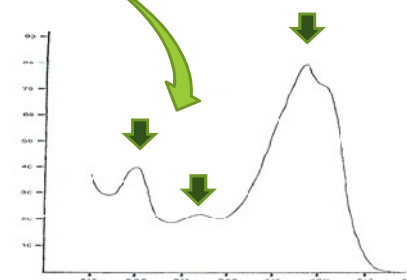
	mgGAE/g
tepali 2020	58
tepali 2021	70



Analisi spettrofotometrica secondo metodica ISO/TS 3632-2011

pubblicata nel 1980 e regolarmente aggiornata, ultima versione pubblicata 2011

	Categoria		
	I	II	III
Potere amaricante, picrocrocina, espresso in lettura diretta dell'assorbanza a 257 nm	≥70	≥55	≥40
Potere aromatico, safranale, espresso in lettura diretta dell'assorbanza a 330 nm			
Min.	20	20	20
Max.	50	50	50
Potere colorante, crocine, espresso in lettura diretta dell'assorbanza a 440 nm	≥200	≥170	≥120



	2020	2021
Picrocrocina, 257 nm	102	112
Safranale, 330 nm	25	30
Crocine, 440 nm	200	307



➔ applicazione della norma ISO sugli stigmi per la definizione delle soglie legali minime di presenza di principi attivi quali crocine, picrocrocina e safranale



analisi degli stigmi per la valutazione del contenuto di proteine, lipidi, carboidrati, minerali e ceneri, base per la successiva messa a punto di una tabella nutrizionale

ALLEGATO V - REGOLAMENTO (UE) N. 1169/2011 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO

ALIMENTI AI QUALI NON SI APPLICA L'OBBLIGO DELLA
DICHIARAZIONE NUTRIZIONALE : Spezie

<i>campione</i>	<i>Umidità % 103° 16 h</i>	<i>Ceneri %</i>	<i>Fibra %</i>	<i>Proteine %</i>	<i>Grassi %</i>	<i>Zuccheri %</i>
zafferano	6.6	5.1	4.5	15.2	4.8	63.9



**REALIZZAZIONE DI NUOVE FORMULAZIONI STANDARDIZZATE TOSCANE COME
CONTRIBUTO ALLA TERAPIA DELLE PATOLOGIE DELLA SUPERFICIE OCULARE,
DELLA CATARATTA E DELLA MACULOPATIA DEGENERATIVA LEGATA ALL'ETÀ**

**REALIZZAZIONE DI NUOVE FORMULAZIONI STANDARDIZZATE TRACCIATE TOSCANE
COME CONTRIBUTO ALLA RIDUZIONE DEI DISORDINI E DEI SINTOMI DEPRESSIVI E
VERIFICA DELLE PROPRIETÀ ANSIOLITICHE E ANTIDEPRESSIVE DEI BIOCOMPONENTI
PRESENTI**



PIN

POLO
UNIVERSITARIO
CITTÀ DI PRATO

SERVIZI DIDATTICI
E SCIENTIFICI
PER L'UNIVERSITÀ
DI FIRENZE





Retrotitolo del contenuto in principi attivi del liofilo per la sperimentazione sull'animale

Analisi HPLC/DAD/MS liofilo estratto zafferano



<u>LIOFILO STIGMI</u>	<u>mg/g</u>
<u>crocine</u>	
trans crocina 5	7.38
trans crocina 4	151.90
trans crocina 3	193.99
trans crocina 2'	38.05
cis crocina 4	15.66
cis crocina 2	41.22
cis crocina 1	9.53
crocina derivato	21.48
TOTALE CROCINE	479.22
safranale	0.12
picrocrocina	39.87
<u>flavonoidi</u>	
kaempferolo 3 soforoside 7 glucoside	4.11
kaempferolo 3 soforoside	8.68
TOTALE FLAVONOIDI	12.80





Grazie per l'attenzione

pamela.vignolini@unifi.it



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

DISIA
DIPARTIMENTO DI STATISTICA,
INFORMATICA, APPLICAZIONI
"GIUSEPPE PARENTI"



Regione Toscana

