



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

Ricerche presso il DAGRI-UNIFI Portoferraio, 3 giugno 2022

- Francesco Ferrini – Università di Firenze
- Francesca Alderotti, DAGRI-UNIFI
- Cecilia Brunetti, IPSP-CNR
- Cassandra Detti, IPSP-CNR
- Luana Beatriz Dos Santos Nascimento, DAGRI-UNIFI
- Antonella Gori, DAGRI-UNIFI
- Barbara Baesso Moura, CNR-IRET
- Lucrezia Muti, DAGRI-UNIFI
- Dalila Pasquini, DAGRI-UNIFI
- + tesisti e collaboratori esterni



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

AURUMFOLIUM

...e altri progetti

Attività di Ricerca

• Vivaismo e verde urbano:

- Ricerche sulla messa a punto di sistemi di individuazione di stress fisiologici sulle piante arboree.
- Basi biochimiche della cross-tolerance e dello stress idrico in specie arboree ornamentali
- Valorizzazione di specie arboree e arbustive ornamentali per il miglioramento della qualità dell'aria in ambiente urbano e periurbano
- Selezione di specie e genotipi adattati all'ambiente urbano, con particolare riferimento alle limitazioni indotte dall'ambiente edafico e dalla disponibilità idrica (da autunno 2021)
- Analisi del rapporto fra chiome delle piante e ambiente atmosferico, in relazione alla capacità di trattenuta e/o assorbimento di inquinanti, così come alla emissione di precursori dell'ozono da parte delle piante stesse (Progetto LIFE e Interreg)

• Metabolismo secondario nelle specie sempreverdi della macchia mediterranea. Ruolo delle specie più diffuse come bio-fattorie

- Studi sul metabolismo secondario di specie della macchia mediterranea e loro uso per la produzione di principi attivi medicinali e cosmetici (PSR AURUMFOLIUM)
- Ruolo svolto da specifici antociani contenuti nelle foglie di specie mediterranee e loro applicazione nella cura della salute umana



La nostra filosofia: ricerche semplici, analisi dettagliate

La ricerca inizia sempre con una domanda

Thermal desorber for gas chromatography
TurboMatrix 100 TD



Stiamo conducendo sia ricerche di base, sia applicate

Background

**Elevate
intensità
luminose**

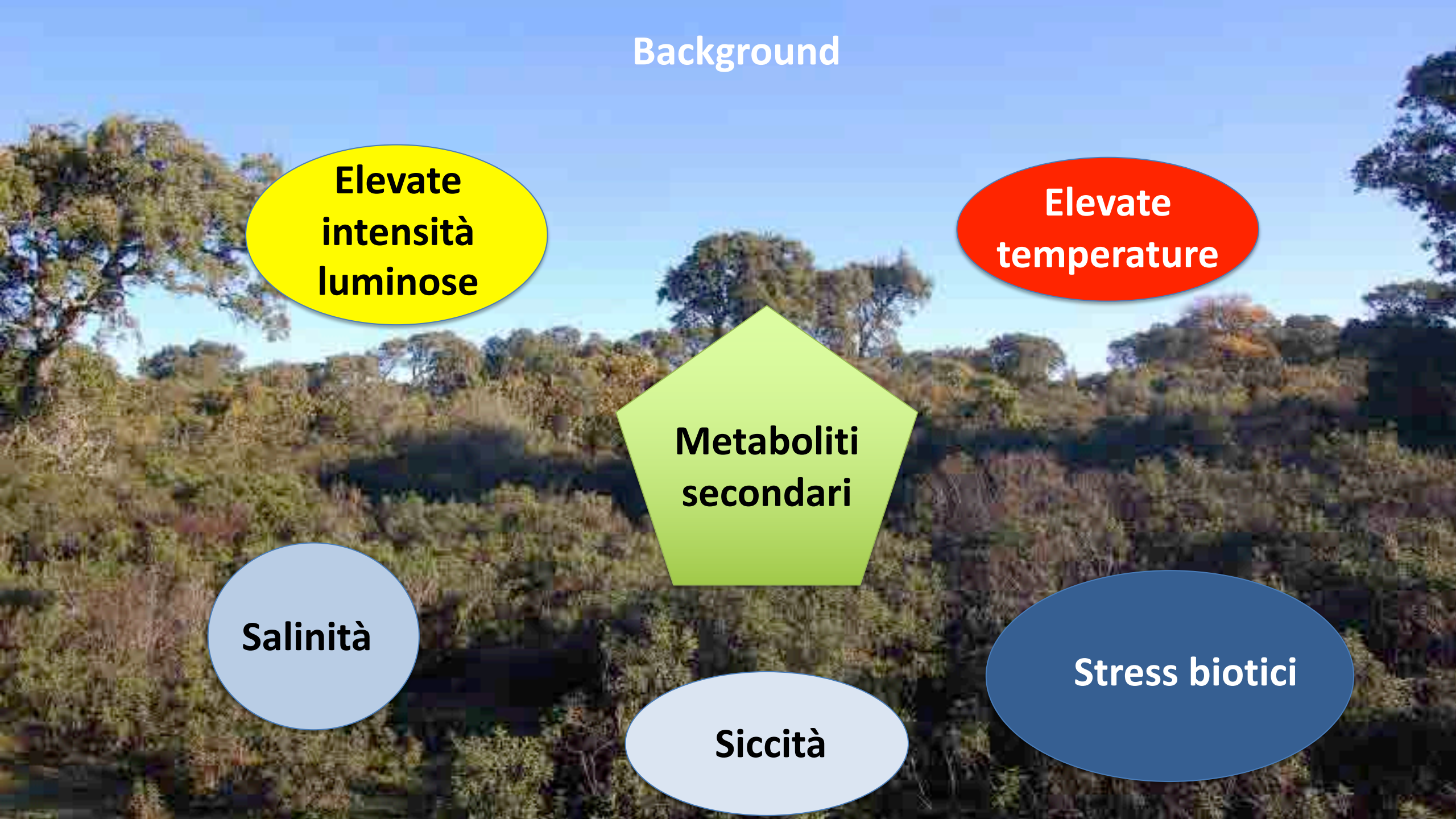
**Elevate
temperature**

**Metaboliti
secondari**

Salinità

Siccità

Stress biotici



Metaboliti secondari

Attrattori di
impollinatori e
disseminatori

Struttura
chimica

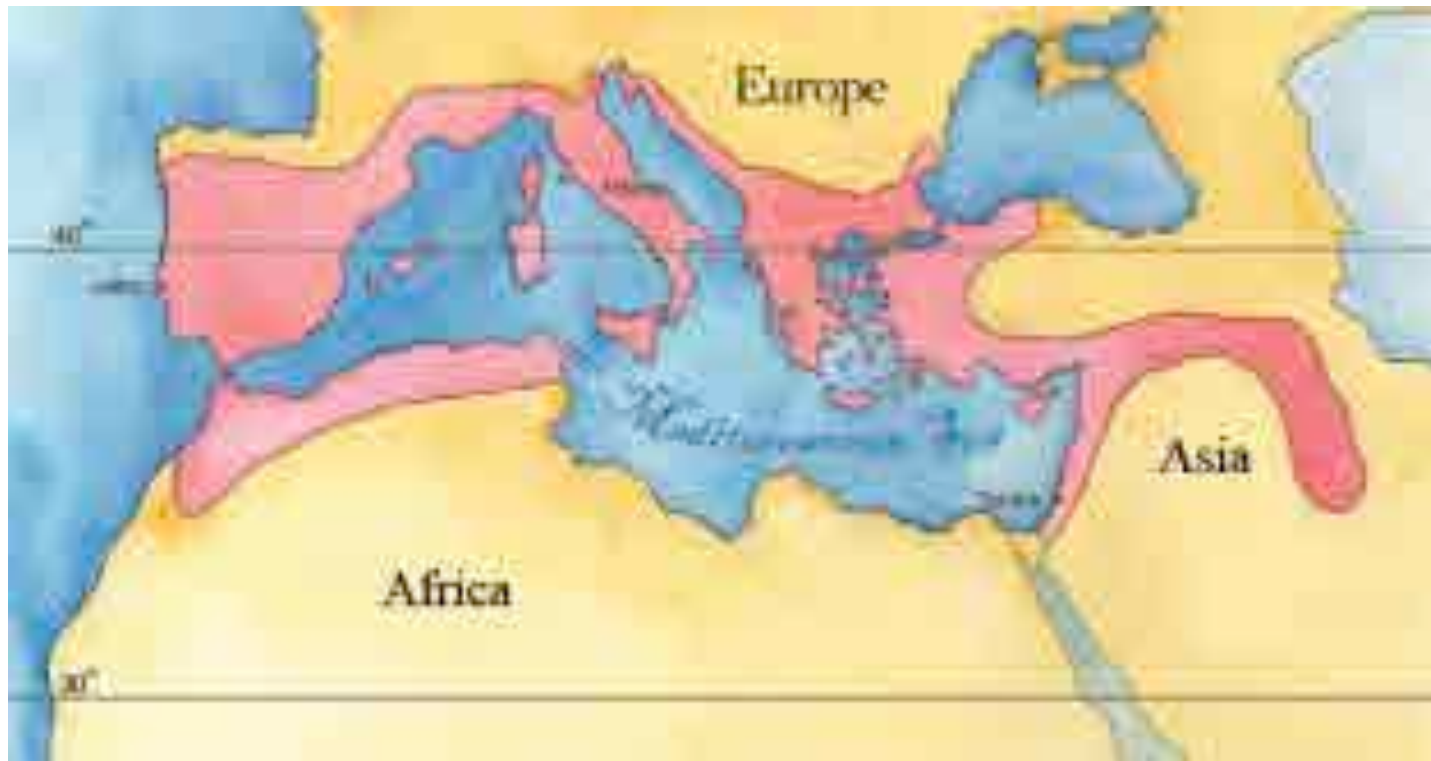
- **Proteggere la pianta da erbivori e da attacchi di microorganismi fitopatogeni;**
- **Attrarre gli impollinatori e gli animali** che, nutrendosi dei frutti, contribuiscono alla dispersione dei semi e alla diffusione delle piante;
- **Mantenere una competizione tra una pianta e quelle adiacenti e tra una pianta e microorganismi simbiotici.**

Marelli Irene
novembre 2020

Piante della macchia mediterranea

La flora del bacino del Mediterraneo comprende circa 25000 specie
di cui circa 22500 endemiche

HOTSPOT BIODIVERSITÀ



Piante mediterranee come biofattorie:

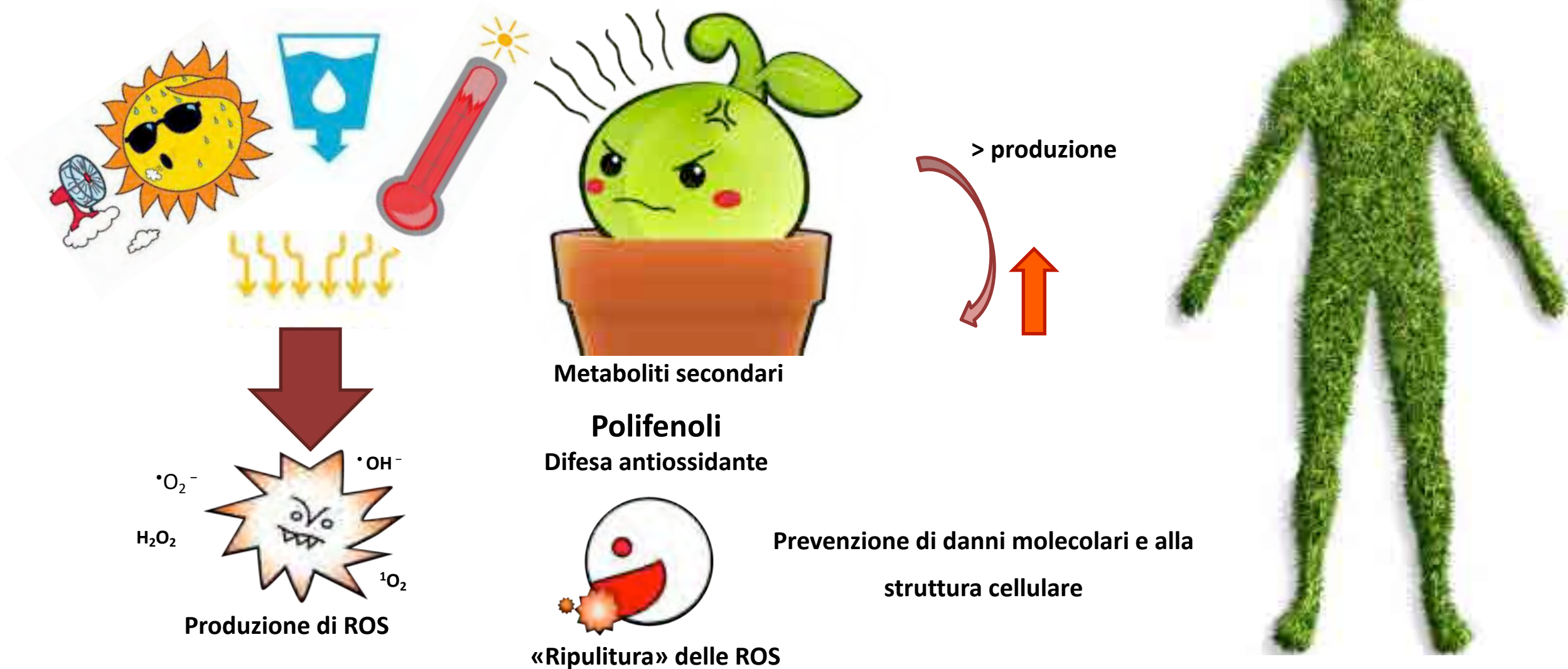
Le specie mediterranee NUS ("Neglected and Underutilized Species") ricche in polifenoli possono rappresentare una nuova risorsa di prodotti nutraceutici, cosmetici e prodotti farmacologici



In collaborazione con IPSP-CNR

Piante mediterranee come biofattorie:

Stress abiotici



Studio degli effetti dello stress idrico ricorrente legato al cambiamento climatico a livello di singola pianta e di ecosistema.



LIVELLO
ECOLOGICO



LIVELLO
ECOFISIOLOGICO



COMPOSTI ORGANICI
VOLATILI (BVOC_s)

Obiettivo



Studiare specie spontanee mediterranee che potrebbero fornire estratti polifenolici che utilizzabili per scopi farmaceutici, cosmetici e nutraceutici

Mettere a punto una tecnica di estrazione verde dei polifenoli presenti nelle foglie delle specie selezionate e condurre una sperimentazione sul campo per trovare le migliori condizioni agronomiche per aumentare la resa dei fitocomplessi



AURUMFOLIUM

AURUMFOLIUM

Macchia mediterranea e aziende agricole in Toscana

Il Progetto

Il progetto AURUMFOLIUM prevede il trasferimento delle conoscenze scientifiche acquisite dal DAGRI sulla coltivazione di piante della macchia mediterranea a due aziende agricole che si stanno proponendo come obiettivo l'ottenimento di materiale vegetale ricco in metaboliti secondari ad azione nutraceutica attraverso pratiche agronomiche a basso input ambientale. Le piante di interesse, selezionate in accordo con le aziende agricole, sono:



CISTUS INCANUS

cisto



**MYRTUS
COMMUNIS**

mirto



**PISTACIA
LENTISCUS**

lentisco



ARBUTUS UNEDO

corbezzolo



OLEA EUROPAEA

oliva

I Partner

Al fine di sviluppare quelle che sono le linee guida del progetto sono state selezionate da **DAGRI** e **CNR – IPSP** due aziende agricole e una cooperativa. Ecco quali sono tutti i soggetti coinvolti nel progetto:



ETRURIO - SOCIETÀ
AGRICOLA OLIVE
GROVE PARTNERS



AZIENDA AGRICOLA
PIANPORCINO



COOPERATIVA LE
GREPPE



DAGRI



CNR-IPSP



OBIETTIVI DEL PROGETTO

Il progetto AURUMFOLIUM prevede il trasferimento delle conoscenze scientifiche acquisite dal DAGRI sulla coltivazione di piante della macchia mediterranea.



RISULTATI DEL PROGETTO

Ampliare la coltivazione di piante mediterranee e di ottimizzarne la standardizzazione del contenuto di metaboliti secondari di interesse nutracutico.



DOCUMENTI DEL PROGETTO

Una raccolta di articoli, video e documenti riguardanti Aurumfolium di facile consultazione per approfondire l'idea del progetto e la sua realizzazione.



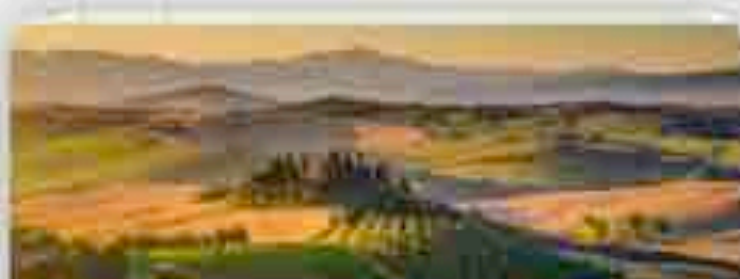
AURUMFOLIUM

EIP-AGRI e AURUMFOLIUM

Apr 20, 2021

In Europa si parla di AURUMFOLIUM. Sul sito ufficiale dell'Unione Europea EIP-AGRI viene...

[LEGGI TUTTO](#)



AURUMFOLIUM



AURUMFOLIUM sul sito del DAGRI

Feb 18, 2021

Il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari, Ambientali e Forestali (DAGR)...

[LEGGI TUTTO](#)



Il Progetto AURUMFOLIUM sul sito di AgroNotizie

Feb 8, 2021

AgroNotizie pubblica un interessante articolo sul progetto AURUMFOLIUM e le innovazioni della...

[LEGGI TUTTO](#)

1) Valutazione di una possibile coltivazione a basso impatto di Specie della macchia Mediterranea: COLTIVAZIONE VS SPONTANEE

Campi sperimentali Azienda Olive Grove Partners Srl

Arbutus unedo, sesto d'impianto 6x3 m

Monocaule



Policaule

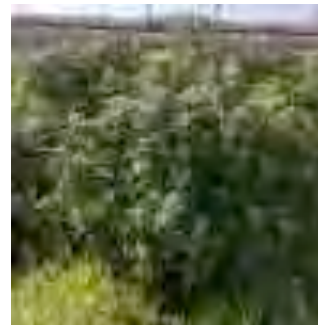


Myrtus communis

Cistus incanus

Pistacia lentiscus

sesto d'impianto 4x2 m



Isola del Giglio

Specie spontanee selvatiche
dell'ambiente Mediterraneo



3 Località

Mulattiera per castello

Loc. Olivello

Loc. Le porte

(versante Est)

(versante Ovest)

(versante Ovest)



AURUMFOLIUM

Macchia Mediterranea: una risorsa
da valorizzare e da proteggere



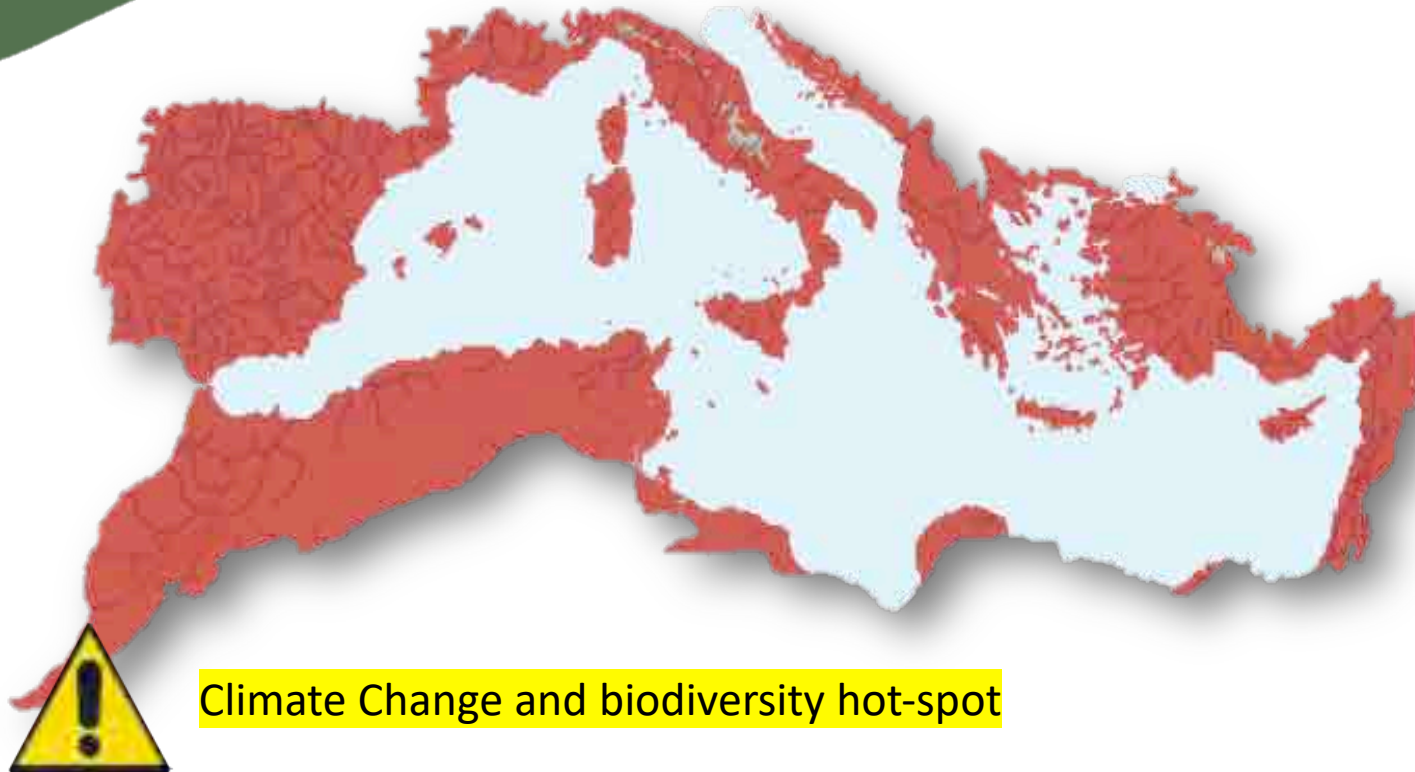
Regione Toscana



Il Bacino del Mediterraneo e il suo clima

Il clima mediterraneo è caratterizzato da estati calde e secche e da inverni miti e piovosi. La piovosità totale annua è di circa 250-500 millimetri e interessa soprattutto i mesi invernali.

Talvolta, il clima mediterraneo, è considerato come un regime di transizione fra i climi temperati e i climi tropicali-aridi.

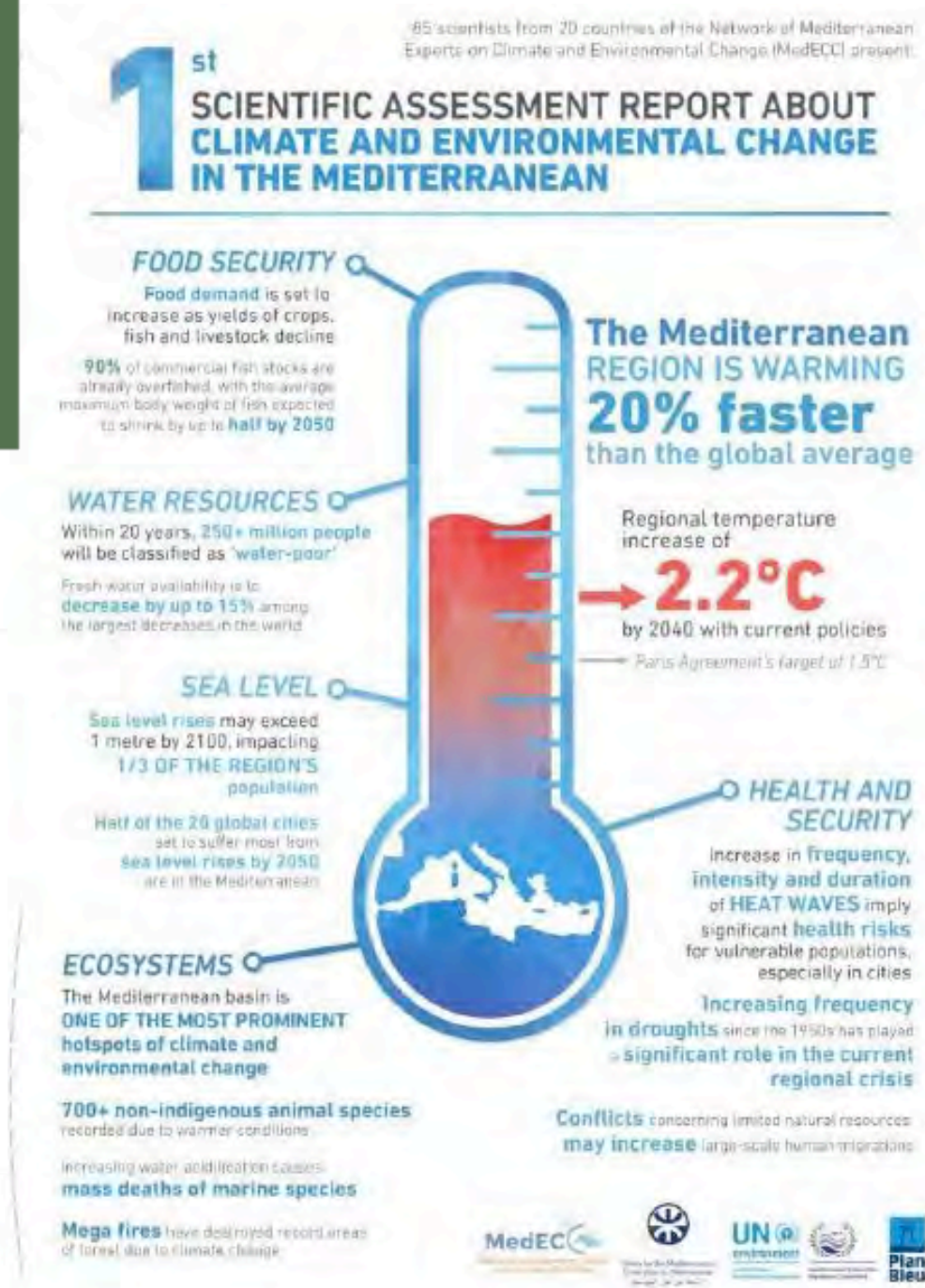


Climate Change and biodiversity hot-spot

Aree con clima mediterraneo:

- la California,
- la zona centrale del Cile,
- le regioni meridionali dell'Africa,
- l'Australia sud-occidentale,
- Il Bacino del Mediterraneo.

Il Bacino del Mediterraneo come hot-spot il del cambiamento climatico



- Nelle aree che si affacciano sul Bacino del Mediterraneo si è registrato un aumento di temperatura da 1.5 a 4 °C negli ultimi anni.
 - Aumento delle aree aride nelle regioni del Bacino del Mediterraneo.
 - Aumento delle precipitazioni estreme.
- +
- Aumento della pressione demografica

<https://ipccitalia.cmcc.it/impatti-adattamento-e-vulnerabilita/>

Aiuto!



Il Bacino del Mediterraneo come hot-spot di biodiversità

Il Bacino del Mediterraneo è un hot-spot di biodiversità.
Il 10% delle piante del mondo si trova in un'area che rappresenta solo ~ 2% della superficie terrestre, con alti livelli di endemismo.

(Myers et al. 2000, *Nature*, 403: 853)

Stress abiotici in ambiente Mediterraneo



Meccanismi di resistenza:

Morfologia

Fisiologia

Biochimica



Prodotti del metabolismo
secondario:
terpeni, polifenoli...



I composti terpenici e polifenolici svolgono molteplici funzioni nelle piante:

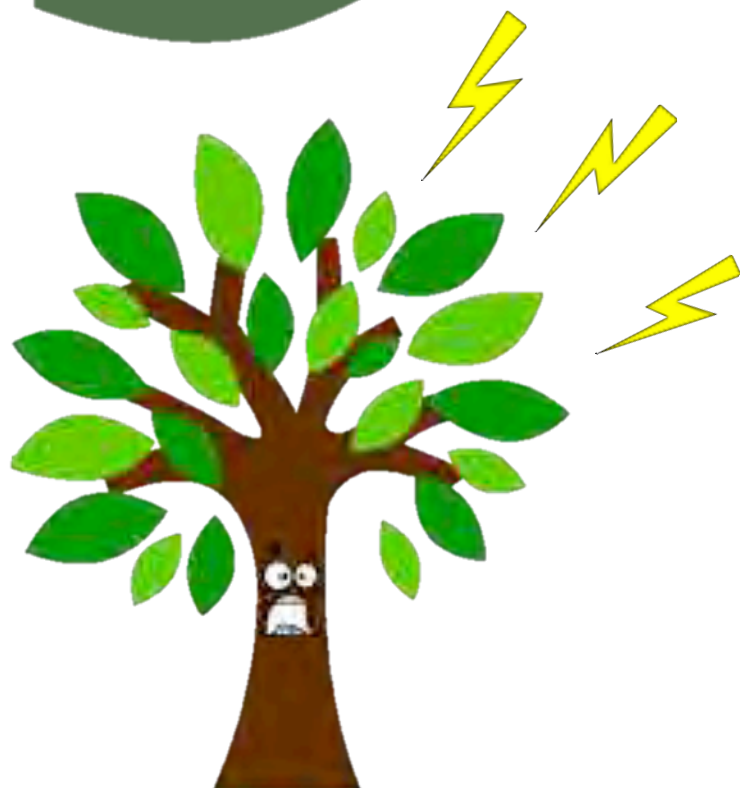
- antiossidante, migliorando la tolleranza all'ozono e alla siccità,
- attrazione di impollinatori,
- repellenti per insetti erbivori.

Questi composti forniscono benefici anche all'uomo:

- Applicazione nell'industria farmaceutica, nutraceutiche e cosmetiche.

Terpeni e polifenoli possono essere considerati componenti innovativi e chiave in diverse applicazioni tecnologiche

(Pasquini *et al.* 2021, *Italus Hortus*, 28:3)



Adattamenti morfo-anatomici delle piante mediterranee agli stress abiotici

Spesso nelle piante il singolo adattamento morfologico, fisiologico o biochimico è in grado di fornire protezione a stress multipli.



Modificazioni morfologiche a
livello ipogeo:
Apparato radicale profondo per
garantire l'assorbimento di acqua
e nutrienti anche nei periodi
siccitosi

(Lefi *et al.* 2004 *Annals of Applied Biology*, 144(3), 299-307)

**Adattamenti
morfo-anatomici
delle piante
mediterranee agli
stress abiotici**



Spesso nelle piante il singolo adattamento morfologico, fisiologico o biochimico è in grado di fornire protezione a stress multipli.

La sclerofillia delle foglie è una caratteristica molto comune nelle piante Mediterranee. Consiste nell'elevato spessore delle foglie allo scopo di ridurre le perdite di acqua per traspirazione

(Cervelli *et al.* 2005, *Collana Sicilia Foreste*, suppl, 26, 181)

Strategie idriche delle piante mediterranee

siccità



Specie che sfuggono

Spostamento delle fasi
fenologiche

Specie che la evitano

- *Risparmiando acqua:*
Pronta chiusura stomatica
per sprecare meno acqua
possibile



- *Utilizzando molta acqua:*
Uso meno oculato della
risorsa idrica per la presenza
di un apparato radicale che
permette di raggiungere le
riserve di acqua più
profonde



Specie che la tollerano

- *Tolleranti la disidratazione:* Sopportano
ridotti livelli di idratazione dei tessuti
- *Che evitano la disidratazione:* riescono ad
estrarre acqua dal terreno anche nei periodi
aridi e mantenere buoni livelli di idratazione

AURUMFOLIUM

La diffusione delle piante della Macchia allo stato spontaneo in molti ecosistemi costieri congiuntamente alla possibilità di estrarre le molecole d'interesse offre alle aziende agricole toscane di individuare fonti di reddito alternative a quelle tradizionali con ricadute economiche importanti oltre alla possibilità di recuperare in modo sostenibile i terreni agricoli "marginali".

Le piante
selezionate per il
progetto



Pistacia lentiscus L.
(lentisco)



Olea europaea L.
(olivo)



Myrtus communis
L. (mirto)



Arbutus unedo L.
(corbezzolo)



Cistus incanus L.
(cisto)

Campo
sperimentale
presso ETRURIO –
Olive Grove
Partners Srl Società
Agricola



Il *Cistus incanus* L. (cisto rosso)
appartiene alla flora mediterranea
autoctona

il beneficio medicinale di *C.
incanus* è noto sin dal 4°
secolo a.C.

Applicazioni degli estratti di cisto:

- Cura della pelle e problemi gastrici.
- Azione antibatterica, infiammatoria, antiossidante, antimicotica e antiinfluenzale.
- Inibizione immunodeficienza umana da HIV in vitro.

**Campo
sperimentale
presso ETRURIO –
Olive Grove
Partners Srl Società
Agricola**

- Prima azienda a produrre pistacchi in Toscana
- Primo corbezzoleto in Italia



Nell'azienda il corbezzolo viene coltivato in due forme di allevamento:



monocaule



policaule

In più vengono somministrate due trattamenti idrici:



Irrigato



non irrigato

Confrontare stagionalmente le risposte fisiologiche e biochimiche del corbezzolo sottoposto a stress idrico e coltivato in diverse forme di allevamento

AURUMFOLIUM

Macchia Mediterranea: una risorsa
da valorizzare e da proteggere

Grazie per la vostra attenzione



Regione Toscana



Isola del Giglio come esempio di ambiente naturale in cui le piante massimizzano la produzione dei metaboliti in risposta a stress ambientali



*Campionamento fogliare all'isola del Giglio in **4 punti** dell'anno su base stagionale:*

Primavera (Maggio), Estate (Luglio), Autunno (Ottobre) ed Inverno (Febbraio)

Per paragonare il migliore periodo di raccolta dei polifenoli con le piante coltivate in azienda

Loc. Le porte
42.3548897 Nord 10.9032722 Est



Località Monticello
42.3644728 Nord 10.9123779 Est



Loc. Olivello
42.2223 Nord 10.53373 Est



2. Coltivazione di *Arbutus unedo* in deficit irrigation su base stagionale

Campionamento in **4 punti** dell'anno su base stagionale:

Primavera (Maggio), Estate (Luglio), Autunno (Ottobre) ed Inverno (Febbraio),
per trovare il migliore momento di raccolta dei polifenoli dalle foglie di piante di Corbezzolo (*Arbutus unedo*), tramite strategie a basso impatto con un esperimento di stress idrico

- **Stress idrico**

Su entrambe le
forme di allevamento
Monocaula e Policaule

Ben Irrigate



NO irrigazione
Stress severo

- **Misure Biometriche di accrescimento**

- **e Biomassa delle piante**

Altezza, Larghezza
Diametro, Leaf mass per Area



- **Misure di fisiologia e dello status idrico delle piante**

Fotosintesi, Fluorescenza, Conduttanza stomatica



- **Campionamento del materiale per analisi dei polifenoli**

Misure non distruttive e distruttive per analisi in laboratorio

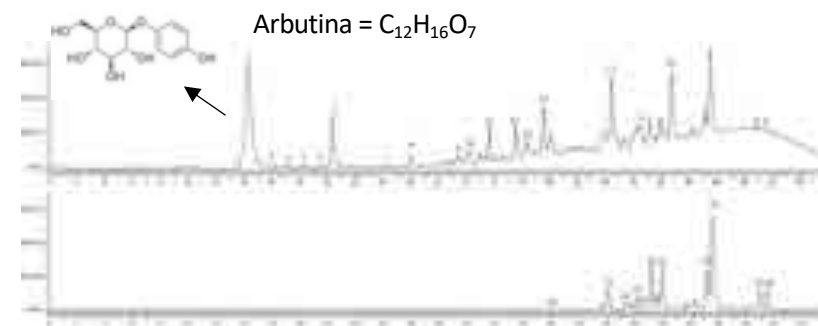
Dualox



Analisi con HPLC-DAD



n=12 piante per trattamento



Da una caratterizzazione tramite HPLC-DAD delle foglie di *A. unedo* erano ricche di Arbutina e dei suoi derivativi (picchi 1-3,6) acido galloil chinico (5), gallotannini (picchi 8,12,17) Catechini derivativi (4,7,9,10,11,13,14,21,24) e Flavonoidi, principalmente derivati della miricetina (picchi 16,18,19,22) e delle quercetina (picchi 15,26) e kaempferolo (picchi 25,27,28)

3. Utilizzo di *Myrtus communis* (A), *Cistus incanus* (B) e *Pistacia lentiscus* (C)

*Campionamento fogliare in 4 punti dell'anno su base stagionale:
Primavera (Maggio), Estate (Luglio), Autunno (Ottobre) ed Inverno (Febbraio)
Per identificare il migliore periodo di raccolta dei polifenoli*



*Estrazione dei polifenoli dalle foglie e analisi di caratterizzazione e quantificazione
con HPLC-DAD per trovare una eventuale applicazione come **integratori alimentari***



4. Estratti polifenolici dei frutti di *Myrtus communis* e *Arbutus unedo* e loro inclusione nel siero di latte: valorizzazione di un comune scarto caseario come alimento funzionale



Scopi



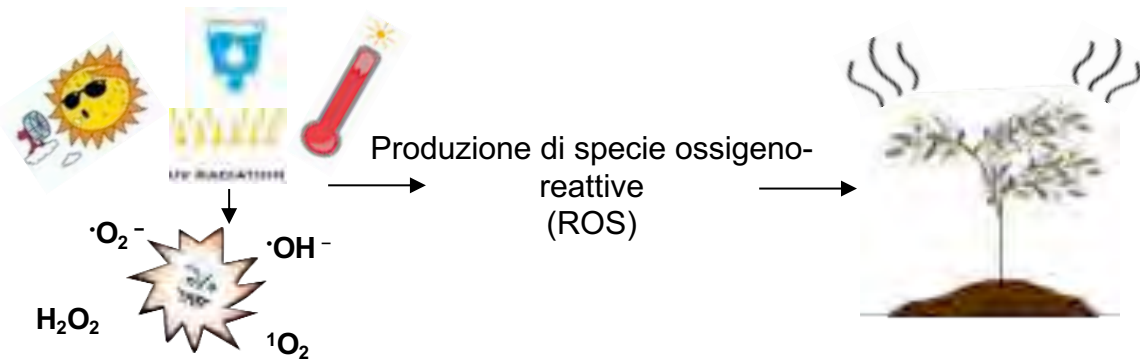
Trovare il miglior processo di estrazione “verde” (estrazione assistita da ultrasuoni UAE o decotto) dei frutti di queste due specie per massimizzare le loro quantità di polifenoli da includere ulteriormente nel siero di latte



Trovare il miglior tipo di inclusione (liquida o in polvere)



Valutare le stabilità chimiche del prodotto finale (inclusione)



***Myrtus communis* L.**



Aumenta la produzione di
antiossidanti
metaboliti secondari
(Polifenoli)



Scavenging ROS
Prevenzione di danni a livello
molecolare e sulla struttura
cellulare

***Arbutus unedo* L.**





Usi

Scopi culinari



Celikel et al., 2008; Sumbul et al., 2012

Cosmetici

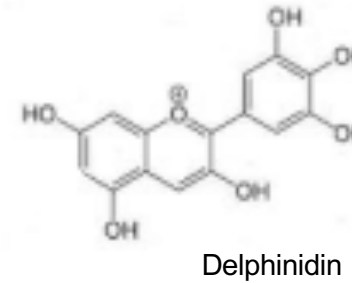
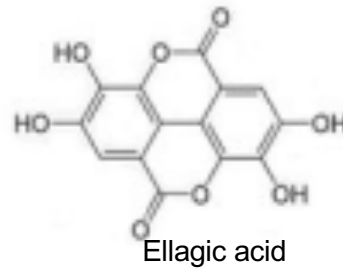
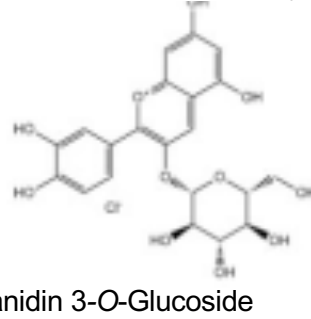
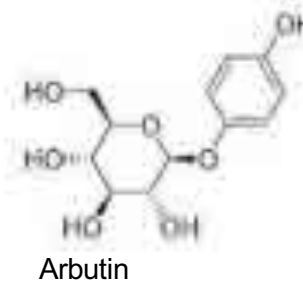
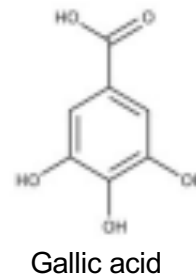
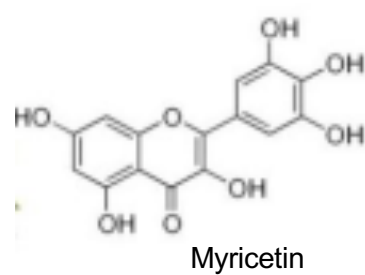


Correddu et al., 2019; Anunciato et al., 2012

Medicina popolare



Frutti di *M. communis* e *A. unedo* e loro potenziali benefici



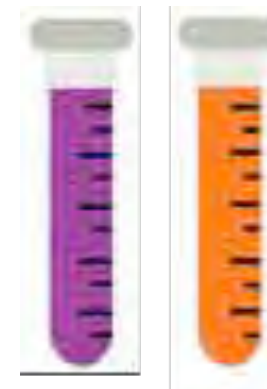
(Montoro et al., 2006; Pallauf et al., 2008; Tuberoso et al., 2010; Barros et al., 2010)



Proprietà che promuovono la salute

- antibatterica, antivirale
- anti-infiammatoria
- anti-allergica
- Anti-trombotica

Forti
antiossidanti



Industria alimentare e
nutraceutica



Ingredienti funzionali

(Montoro et al., 2006; Brunetti et al., 2013; Tenuta et al., 2018)

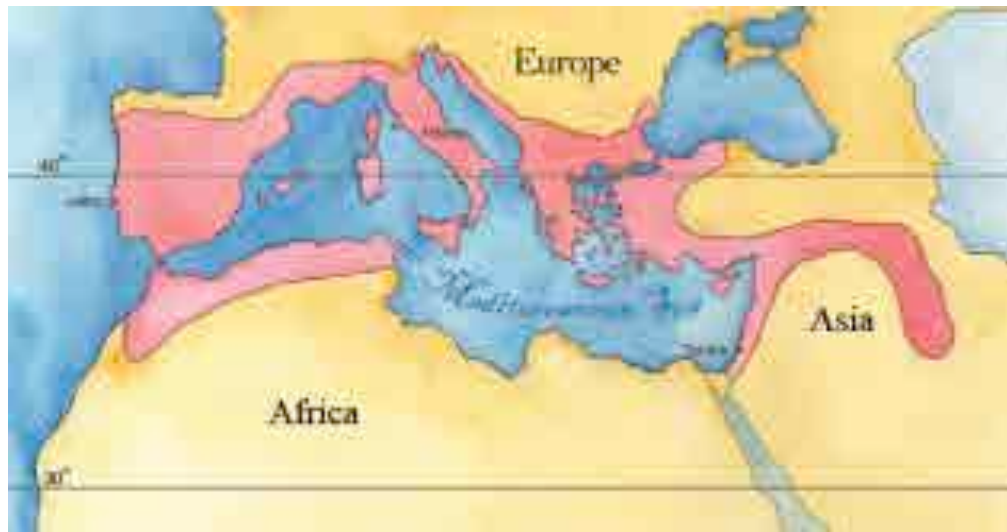
Piante della nella macchia mediterranea

La flora del bacino del Mediterraneo include all'incirca 25000 specie
Molte delle quali sono endemiche (22500 specie)

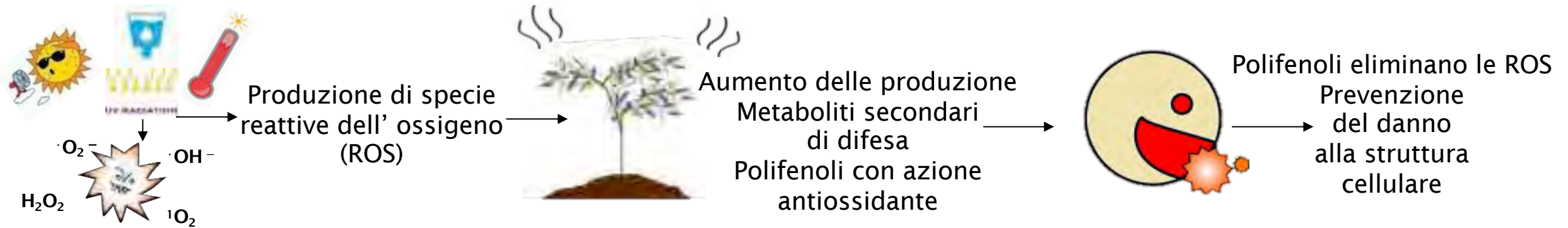
Filippetti, A., & Ricciardi, L. (2000).

HOTSPOT di BIODIVERSITA'

questa regione è quindi una delle più ricche nella
diversità vegetale



Due piante tipiche della nella macchia mediterranea!



***Myrtus communis* L. – Mirto**



***Arbutus unedo* L. – Corbezzolo**



Mirto, classificazione e distribuzione



Distribuzione

In Italia è presente principalmente nelle regioni centrali, sud e isole.

E' un arbusto sempreverde di altezza compresa tra 1 e 3 metri.

(Sumbul *et al.*, 2012).

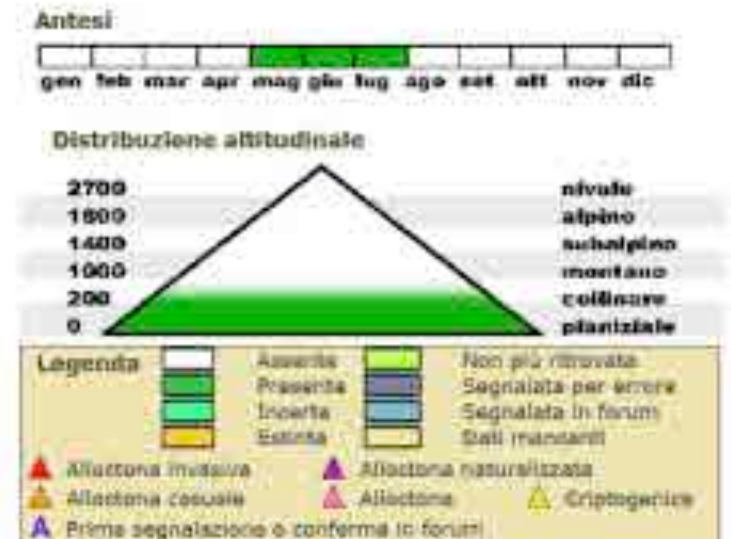
Classificazione:

Ordine: Myrtales

Famiglia: Myrtaceae

Genere: *Myrtus*

Specie: *M. communis*



Mirto, descrizione delle foglie, fiori e frutto



Le foglie di **lunghezza 2-5 cm.**
Di **forma ovata a lanceolata** con
struttura rigida, **margine intero.**
Aromatiche dopo la frantumazione



I fiori sono a **forma di stella,**
La fioritura da maggio a giugno
Sono **molto profumati** di un
bianco brillante



I frutti sono bacche,
subglobose,
di solito blu-nere a maturità.
Le bacche maturano da **ottobre**
a **febbraio.**

Corbezzolo, classificazione e distribuzione



Classificazione:

Ordine: Ericales

Famiglia: Ericaceae

Genere: *Arbutus*

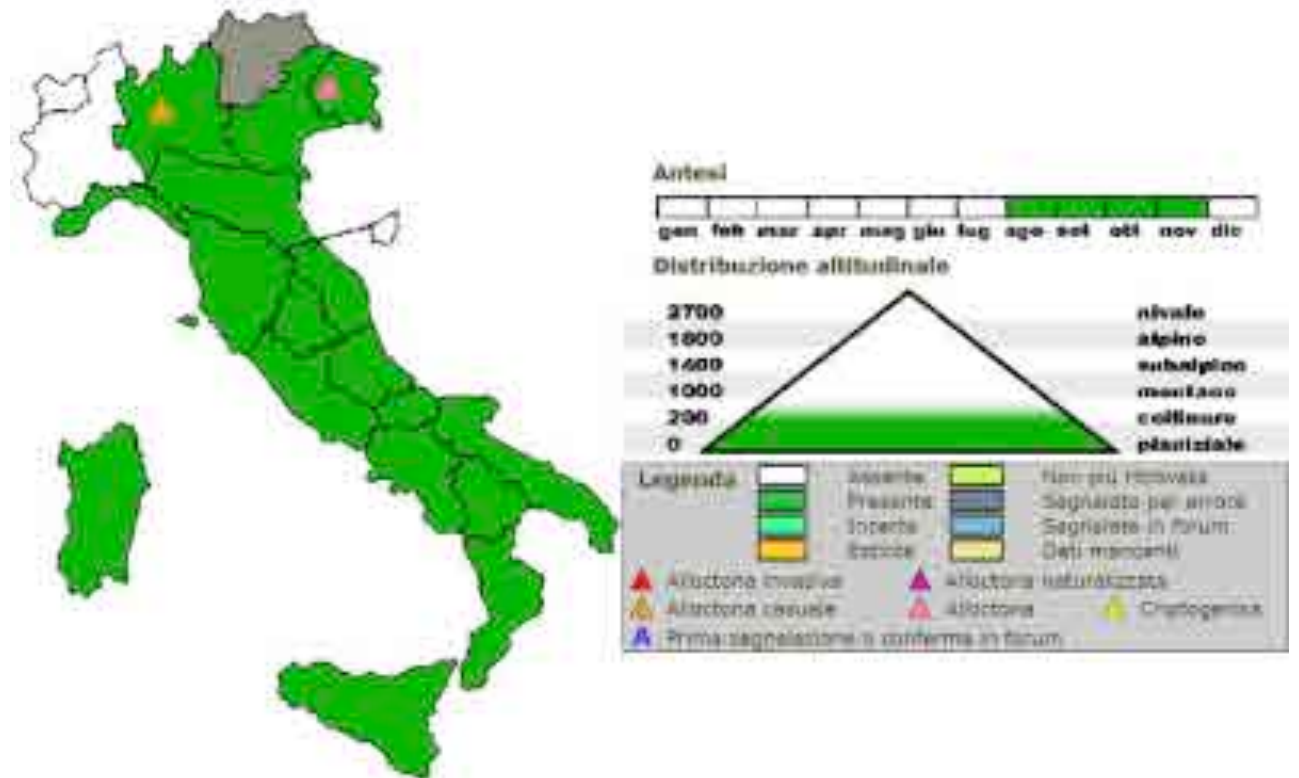
Specie: *A. unedo*

Distribuzione

In Italia l'albero è presente soprattutto nelle regioni meridionali, ma lo si incontra anche al Centro-Nord

È un arbusto o piccolo albero sempreverde alto normalmente tra 1,5- 3 m.

(Morgado *et al.*, 2018).



Corbezzolo descrizione delle foglie, fiori e frutto



Le foglie, di forma **oblanceolata** e di colore **verde scuro** con **marginie seghettato**, **picciolo di 10 mm**



I fiori, sono **campanulati**, lunghi **8-9 mm**, di **colore bianco**.



I frutti sono **bacche di 2 cm** di diametro, colore prevalentemente **rosso a maturità**.
I frutti impiegano circa **12 mesi** per maturare. **Si possono trovare frutti e fiori maturi contemporaneamente**

(Maleš et al., 2006; Olivera et al., 2011; Takroun et al., 2012; Malheiro et al., 2012)

Utilizzo dei frutti di Mirto e Corbezzolo e le loro applicazioni



Frutti del Mirto



Frutti del Corbezzolo

Usi

Alimentare



Celikel et al., 2008; Sumbul et al., 2012

Cosmetici



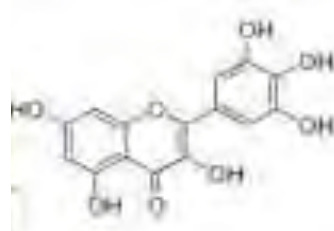
Correddu et al., 2019; Anunciato et al., 2012

Medicina popolare

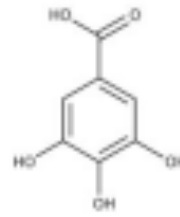


I frutti di Mirto e Corbezzolo e i loro potenziali benefici

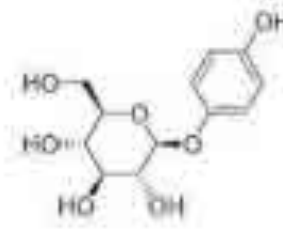
Polifenoli



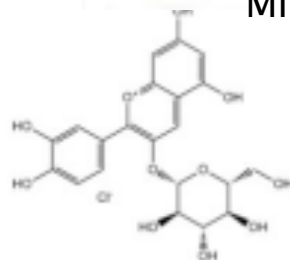
Miricitina



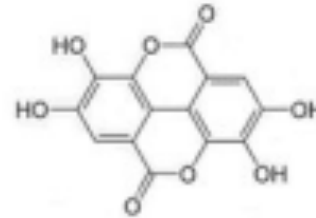
Acido gallico



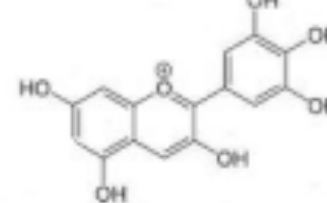
Arbutina



Cianidina 3-O-Glucoside



Acido ellagico



Delfinidina

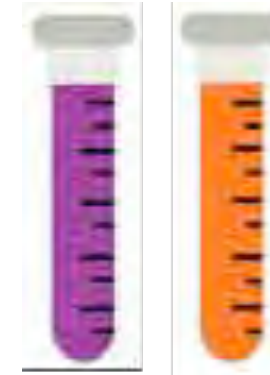
(Montoro et al., 2006; Pallauf et al., 2008; Tuberose et al., 2010; Barros et al., 2010)



Proprietà che promuovono la salute

- antibatterico, antivirale
- antinfiammatorio
- antiallergico
- antitrombotico

Forte attività antiossidante



(Montoro et al., 2006; Brunetti et al., 2013; Tenuta et al., 2018)

Industria nutraceutica e alimentare



Functional ingredients

Estratti dei frutti di Mirto e Corbezzolo e loro applicazione nell'industria alimentare e nutraceutica e farmacologica



Esempi di incorporazione nelle formulazioni di nuovi prodotti funzionali



(Sallawi et al., 2017, Jiménez López et al., 2019)



Masmoudi *et al.*, 2020

Industria casearia, prodotti e sotto prodotti



I prodotti lattiero-caseari più noti

Yogurt

Formaggio



Burro e panna

Ricotta

I principali sottoprodotti

Siero del latte: lavorazione del latte

Scotta: principale sottoprodotto della produzione della ricotta

Latticello: principale sottoprodotto della produzione del burro

(Petros Maragkoudakis et al., 2015; Abdelmoneim H Ali 2018; Anil Panghal & Rakesh Patidar 2018)

Industria casearia sotto prodotti, risorsa o scarto?



Definiti rifiuti o scarti perché l'eventuale **smaltimento** rappresenta un **costo per i produttori** e vengono spesso impiegati per l'alimentazione animale

Parametri e componenti (g/L)	Siero di Latte	Scotta
pH	6.5	6.4
Ceneri	3.4	4.4
Grassi	0.1	0.5
Lattosio	44.0	45-52.2
Proteine	11.5-12.0	8.5

Parametri e componenti %	Laticello
Grassi	0.30-0.50
Lattosio	4.0-4.50
Proteine	3.10-3.60
Sali minerali	0.70-0.82

Per la loro composizione posso essere riutilizzati

Industria casearia sotto prodotti, risorsa o scarto?



Altri utilizzi del Siero di Latte

Proteine per uso sportivo



produzione di
bevande fermentate
(bevanda proteica)



Bevanda Svizzera
creata da Robert Barth nel 1952,
è prodotta a partire
dal siero di latte bovino.
Contiene fra i suoi
componenti lattosio,
acido lattico e sali minerali .



Il siero di latte in polvere,
industria alimentare



Per uso cosmetico

Valorizzazione del siero di latte con estratti polifenolici di mirto e corbezzolo

Sottoprodotto

Siero del latte



ricchi di proteine
e minerali



Valorizzazione di
questo **sottoprodotto** con
estratti di frutti di **piante mediterranee** ad
azione antiossidante



Scopi del Lavoro, possibile valorizzazione del Siero di Latte !



Trovare il migliore processo di estrazione “verde” (estrazione assistita da ultrasuoni UAE o decotto) dei frutti di queste due specie per massimizzare la quantità dei loro polifenoli da includere ulteriormente nel siero di latte



Per trovare il migliore tipo di inclusione (tra la forma liquida o in polvere)

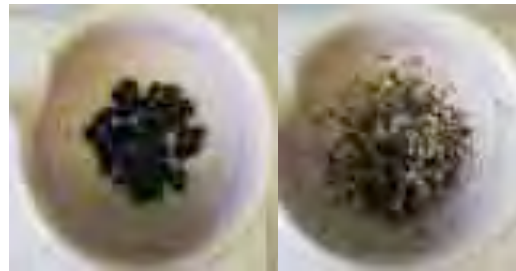


Valutare le stabilità chimica del prodotto finale (inclusione)

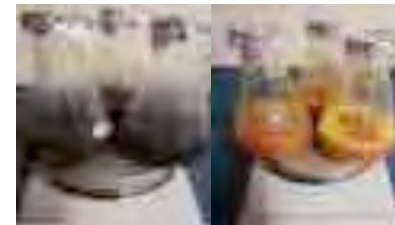
Metodologia di estrazione degli estratti dei frutti

3 diverse tipologie di frutto: Fresco, Secco e Liofilizzato

sono stati pesati (50 g) macinati (mortaio e pestello) ed estratti in due diversi processi di estrazione, con lo stesso tempo di estrazione



Decotto
Utilizzando
solo acqua



Estrazione assistita da ultrasuoni (UAE)
Soluzione al 75% di etanolo



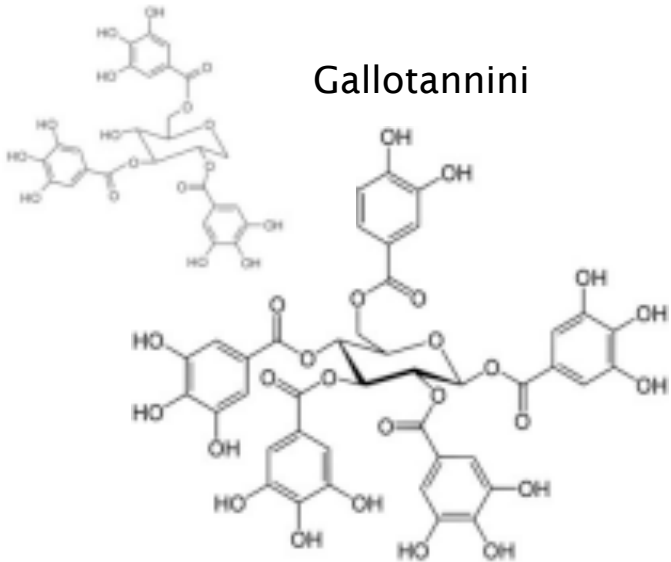
**Analisi HPLC-DAD per la
quantificazione**

Classi di composti rilevati all'interno dei frutti di mirto



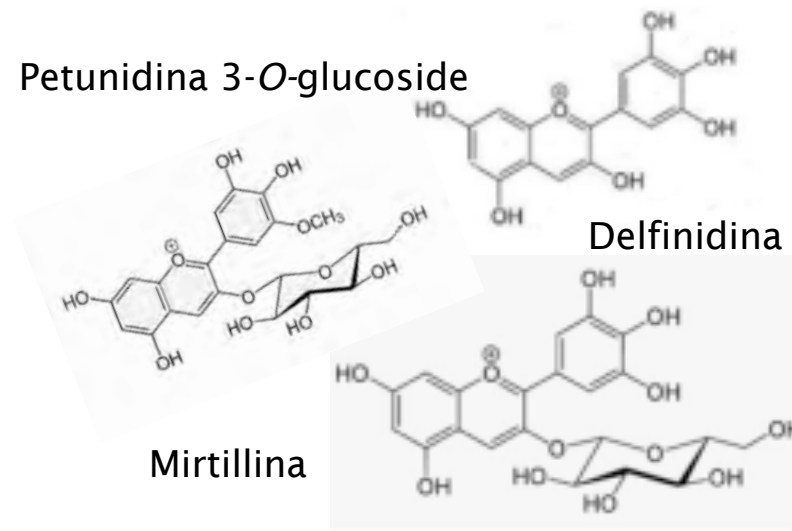
Tannini

Gallotannini



Antociani

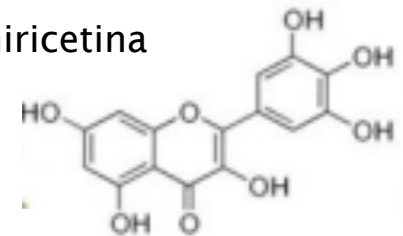
Petunidina 3-O-glucoside



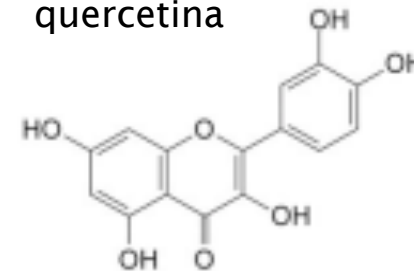
Delfinidina

Flavonoidi

derivati della miricetina



derivati della quercetina



Quantità dei composti ottenuti con i due metodi di estrazione (UAE vs Decotto) per le tre tipologie di frutti di mirto



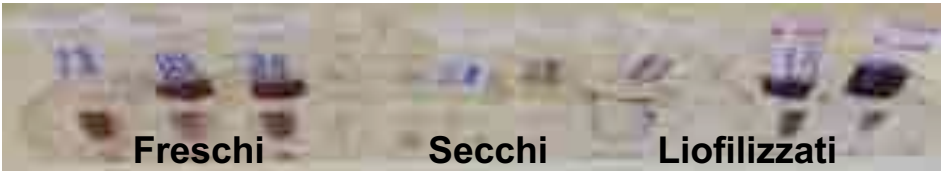
Myrtus communis estratto		Polifenoli
Tipo di frutto	Metodo di estrazione	Contenuto in mg/g FW
Freschi	Decotto (acqua)	3.40 ± 0.20 ^{a*}
	UAE (etanolico)	3.00 ± 0.07 ^b
Secchi	Decotto (acqua)	0.45 ± 0.03 ^{b*}
	UAE (etanolico)	0.08 ± 0.03 ^c
Liofilizzati	Decotto (acqua)	3.01 ± 0.53 ^a
	UAE (etanolico)	4.38 ± 0.79 ^{a*}

(*) Gli asterischi rappresentano differenze tra tipo di estrazione = $p < 0.001$ (a) La lettera rappresenta differenza tra tipo di frutti = $p < 0.001$

Decotto



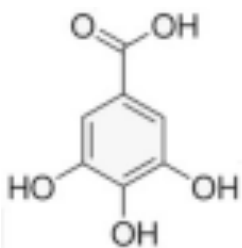
Estrazione con EtOH



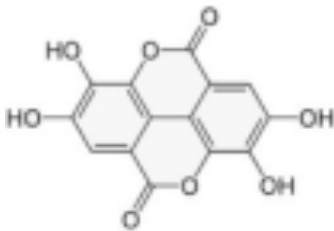
Classi di composti rilevati all'interno dei frutti di corbezzolo



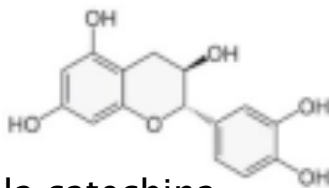
Tannini



derivati
dell'acido
gallico

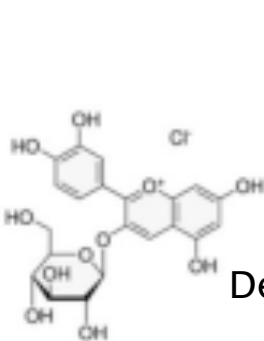


Derivati dell'acido ellagico

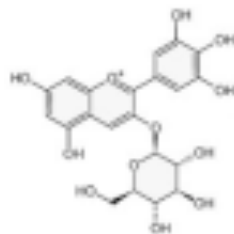


derivati della catechina

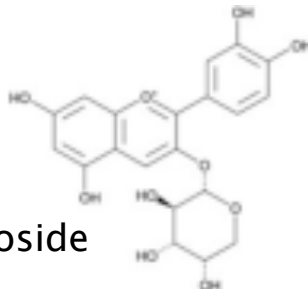
Antociani



Kuromanina



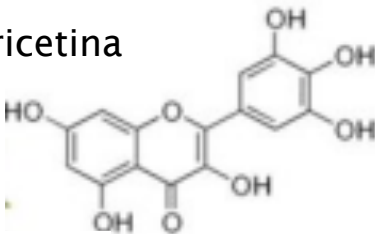
Delfinidina 3-O-galactoside



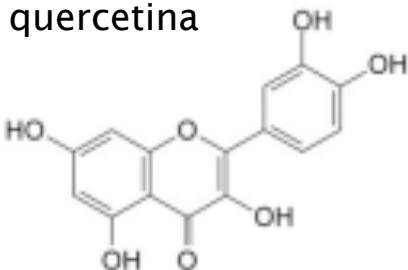
Cianidina 3-O-arabinoside

Flavonoidi

derivati della miricetina



derivati della
quercetina



Diversi metodi di estrazione (UAE vs decotto) per i frutti del corbezzolo



<i>Arbutus unedo</i> estratto		<i>Polifenoli</i>
<i>Tipo di frutto</i>	<i>Metodo di estrazione</i>	<i>Contenuto in mg/g FW</i>
<i>Freschi</i>	<i>Decotto (acqua)</i>	$1.20 \pm 0.14^{a*}$
	<i>UAE (etanolico)</i>	0.18 ± 0.01^b
<i>Secchi</i>	<i>Decotto (acqua)</i>	$0.74 \pm 0.08^{b*}$
	<i>UAE (etanolico)</i>	0.20 ± 0.02^b
<i>Liofilizzati</i>	<i>Decotto (acqua)</i>	1.00 ± 0.06^a
	<i>UAE (etanolico)</i>	0.85 ± 0.11^a

(*) Gli asterischi rappresentano differenze tra tipo di estrazione = $p < 0.001$ (a) La lettera rappresenta differenza tra tipo di frutti = $p < 0.001$

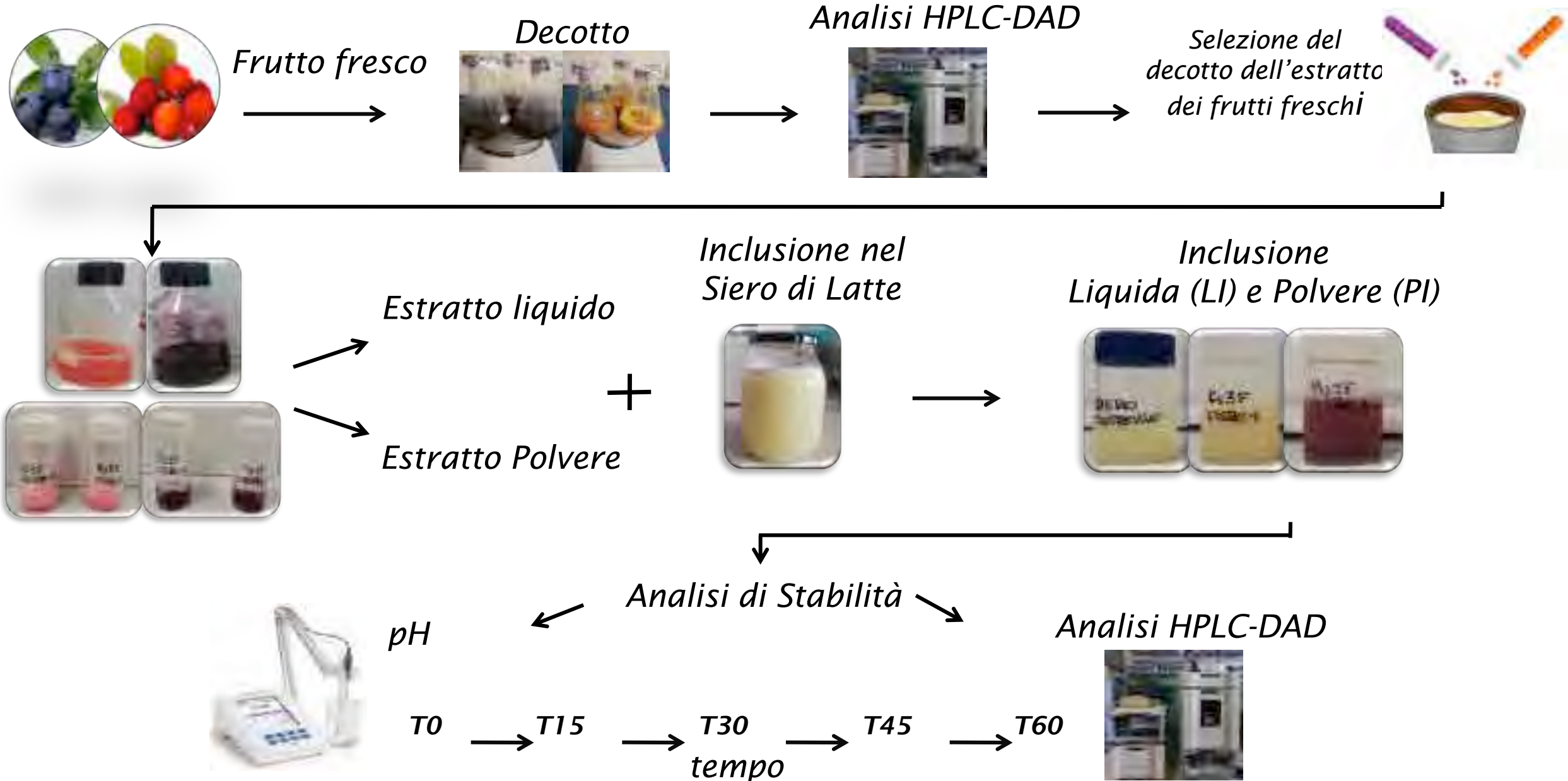
Decotto



Estrazione con EtOH



Scelta dell'estratto e inclusione nel siero di latte



Risultati: pH dell'inclusione liquida e in polvere del mirto e corbezzolo nel siero di latte



<i>Inclusione</i>	<i>T0</i>	<i>T15</i>	<i>T30</i>	<i>T45</i>	<i>T60</i>
Controllo	4.39	4.43	4.44	4.435	4.37
Mirto (LI)	4.42	4.39	4.31	4.01	4.02
Mirto (PI)	4.38	4.33	4.22	4.16	3.90



<i>Inclusione</i>	<i>T0</i>	<i>T15</i>	<i>T30</i>	<i>T45</i>	<i>T60</i>
Controllo	4.39	4.43	4.44	4.435	4.37
Corbezzolo (LI)	4.35	4.32	4.24	4.09	4.14
Corbezzolo (PI)	4.32	4.20	4.07	3.99	3.87

Il **pH** delle inclusioni in forma liquida (**LI**) e polvere (**PI**) di entrambe le specie ha mostrato un andamento decrescente per tutto il tempo di analisi rispetto al controllo (siero puro)

Risultati: Inclusione dell'estratto di mirto in forma liquida e polvere nei campioni di siero di latte



Mirto

Tannini

Picchi rilevati:
Acido galloil chinico
Acido digalloil chinico;
Derivativi dell'acido
galloil chinico

Flavonoidi

Picchi rilevati:
Miricetina-3-O-galactoside
Miricetina-3-O-rhamnoside
Derivativo della Miricetina

Antociani

Picchi rilevati:
Mirtillina,
Curomanina,
Petunidina 3-O-glucoside
Oenina



Liquido e Polvere all'inizio
dell'esperimento; T0

Liquido e Polvere fino alla fine
dell'esperimento; T60



Nessuna differenza tra forma
liquida e polvere
stabili per 60 gg



Risultati: Inclusione dell'estratto di corbezzolo in forma liquida e polvere nei campioni di siero di latte



Corbezzolo



Liquido e Polvere all' inizio
dell'esperimento; T0

Liquido e Polvere fino alla fine
dell'esperimento; T60



Forma liquida
stabile per 60 gg
Forma polvere
stabile per 45 gg



Conclusioni



Il **decotto** dei frutti freschi di mirto e corbezzolo è il metodo di estrazione più efficiente per ottenere alte quantità di polifenoli



Le inclusioni con l'estratto di **Mirto in forma liquida e polvere** sono chimicamente stabili fino a 60 giorni.

Per il **corbezzolo** l'**estratto in forma liquida** si è rivelato una scelta migliore per l'inclusione nel siero rispetto a quello in polvere

Questi risultati sono importanti per una possibile valorizzazione del siero di latte come ingrediente funzionale per formulare nuovi prodotti con potenziale applicazione nelle industrie nutraceutiche e alimentari



**proprietà
antiossidanti con il
test DPPH**



**analisi microbiologica
batteri probiotici**



Pistacia lentiscus: dalla tradizione
etnobotanica alle nuove applicazioni
farmacologiche

Lucrezia Muti, PhD
Dottoranda in Scienze Agrarie e Ambientali
«**Sfruttamento delle piante spontanee mediterranee a fini
farmacologici e nutraceutici: specie tradizionali per nuove
esigenze di salute**»
Università di Firenze

Pistacia lentiscus L.

Il lentisco



Pistacia lentiscus L.

Famiglia delle
Anacardiaceae

Specie arborea
o arbustiva,
sempreverde

Cresce
spontanea
nella macchia
Mediterranea
fino a 700m
s.l.m.

Dioica (specie
maschile e
femminile su
individui separati)



Pistacia vera L.



Pistacia terebinthus L.

ELIOFILA



TERMOFILA



XEROFILA



COME RICONOSCERE IL LENTISCO



FOGLIE

Alterne, composte
paripennate, glabre,
margine intero,
coriacee, verde
cupo



FIORI

Unisessuali
Infiorescenze a pannocchia
rossi, ascellari
Marzo-Maggio



FRUTTI

Settembre-Novembre
Drupe globose, carnose,
rossastre, tendente al nero
a maturità , contenenti 1
seme.

Etnobotanica

Farmacognosia
Botanica
Medicina

Chimica
Ecologia

Antropologia
Sociologia

PERSONE



AMBIENTE



SPECIE VEGETALI



PIANTE OFFICINALI e MEDICINALI



PREPARAZIONI DEL LENTISCO



fumenta



cataplasmi



Foglie e rami

Decotti e infusi (con ginger, miele, propoli) per cura di ipertensione e disturbi gastrointestinali

I rami direttamente applicati sulla pelle vengono usati per alleviare i dolori da **geloni**

Le foglie, masticate, hanno proprietà **disinfettanti e antisettiche** per la cavità orale

Cataplasmi con polvere di foglie di lentisco proprietà **cicatrizzanti, antisettiche e lenitive**





Frutti



Tal quali, olio e
oli essenziali



Uso alimentare:
insaporire e
conservare le
carni); colorante
alimentare)



Cosmetico (olio
per massaggi,
saponi)



Olio essenziale
per reumatismi



Proprietà
balsamiche,
antinfiammatori
e antisettiche
delle mucose



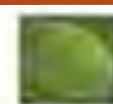
In passato l'olio
veniva usato
come
combustibile
per le lampade

Pistacia lentiscus var. Chio



- ❖ Resina aromatica (ricca di oli essenziali)
- ❖ Luglio e Agosto
- ❖ Usata fin dai tempi dell'Età Classica (Dioscoride, Galeno, Plinio il Vecchio)
- ❖ Spezia, cosmetico, fitoterapico, industriale
- ❖ Proprietà antisettiche per il cavo orale
- ❖ Commercializzata come un prodotto **DOP** (denominazione di origine protetta) in EU





plants



Article

Optimization of a Green Ultrasound-Assisted Extraction of Different Polyphenols from *Pistacia lentiscus* L. Leaves Using a Response Surface Methodology

Cassandra Detti ¹, Luana Beatriz dos Santos Nascimento ^{1,*}, Cecilia Brunetti ^{1,2},
Francesco Ferrini ^{1,2} and Antonella Gori ^{1,2,*}

¹ Department of Agriculture, Food, Environment and Forestry (DAGRI), University of Florence, Sesto Fiorentino, 50019 Florence, Italy; cassandra.detti@unifi.it (C.D.); cecilia.brunetti@psp.unifi.it (C.B.); francesco.ferrini@unifi.it (F.F.)

² National Research Council of Italy, Institute for Sustainable Plant Protection (ISPP), Sesto Fiorentino, 50019 Florence, Italy

* Correspondence: luana.beatriz.dos.santos@unifi.it (L.B.d.S.N.); antonella.gori@unifi.it (A.G.)



EUROPEAN MEDICINES AGENCY
SCIENCE MEDICINES HEALTH

2 February 2016
EMA/HMPC/46758/2015
Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC)

European Union herbal monograph on *Pistacia lentiscus* L., resina (mastic)

Final

4. Clinical particulars

4.1. Therapeutic indications

Well-established use	Traditional use
	Indication 1) Traditional herbal medicinal product used in mild dyspeptic disorders. Indication 2) Traditional herbal medicinal product used for the
	symptomatic treatment of minor inflammations of the skin and as an aid in healing of minor wounds. The product is a traditional herbal medicinal product for use in the specified indications exclusively based upon long-standing use.

2014

https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-european-union-herbal-monograph-pistacia-lentiscus-l-resin-mastic_en.pdf

PROPRIETÀ TERAPEUTICHE

ANTIBATTERICO

USI

ANTINFIAMMATORIO

PROBLEMI GASTROINTESTINALI

ANTIMICOTICO

INFIAMMAZIONI TOPICHE

ANTIPIRETICO

INFIAMMAZIONI
CAVO ORALE

ASTRINGENTE
CICATRIZZANTE

ASMA E BRONCHITE

ESPETTORANTE

ALLERGIE

PROBLEMI CARDIOCIRCOLATORI



FITOCOMPLESSO

POLIFENOLI

ANTOCIANI

Miscela chimicamente complessa ricavata da una droga vegetale



Che contiene molteplici composti chimici, anche molto diversi fra loro



TERPENI

TANNINI

Che **insieme** hanno un'azione biologica **sinergica maggiore** rispetto all'azione che i singoli composti separati avrebbero sulla nostra salute

VITAMINE

SALI MINERALI

PECTINE

SAPONINE

ANTIOSSIDANTI

Molecole che prevengono l'ossidazione

La perdita di un elettrone è chiamata ossidazione

Generazione di radicali liberi → danno cellulare



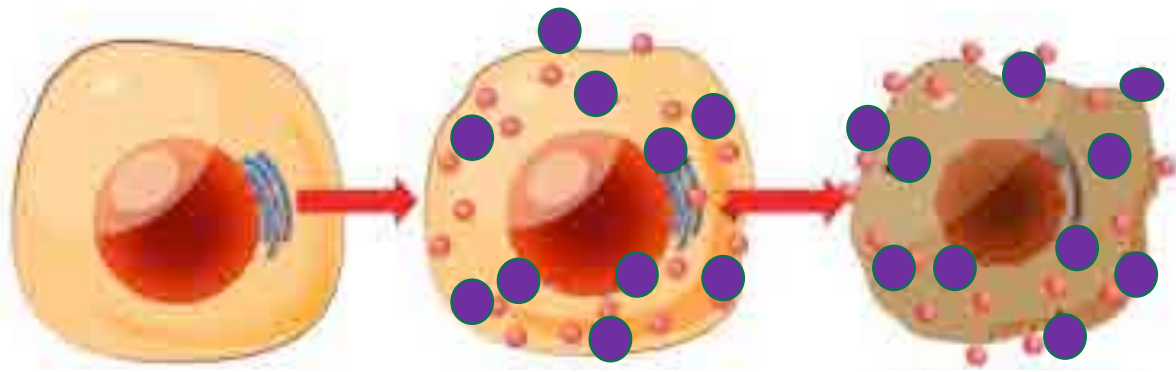
Antiossidante



Radicale libero



Cellula sana



Cellula sana

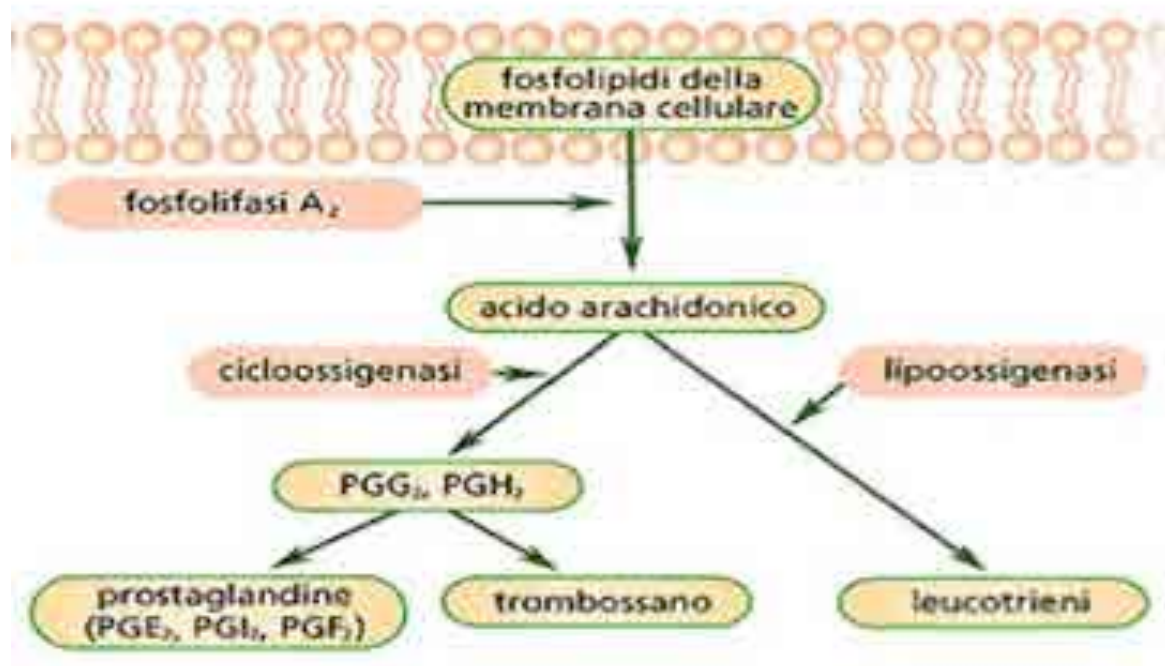
I radicali liberi
danneggiano la
cellula

Danno o morte
cellulare



PATOLOGIE A BASE INFIAMMATORIA:

- Cardiovascolari
- Neurodegenerative
- Oncologiche
- Diabete
- Artriti e ulcere

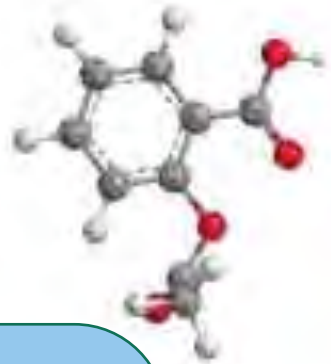
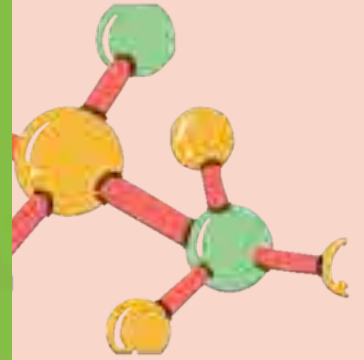


Quando prepariamo una tisana
stiamo facendo un'estrazione
acquosa



1. Resa
2. Qualità
3. Costi
4. Consumo
5. Energia
6. Spreco

ESTRAZIONI VERDI



TTI

tà
a
ali
dly



Frutti e
foglie
secchi o
freschi

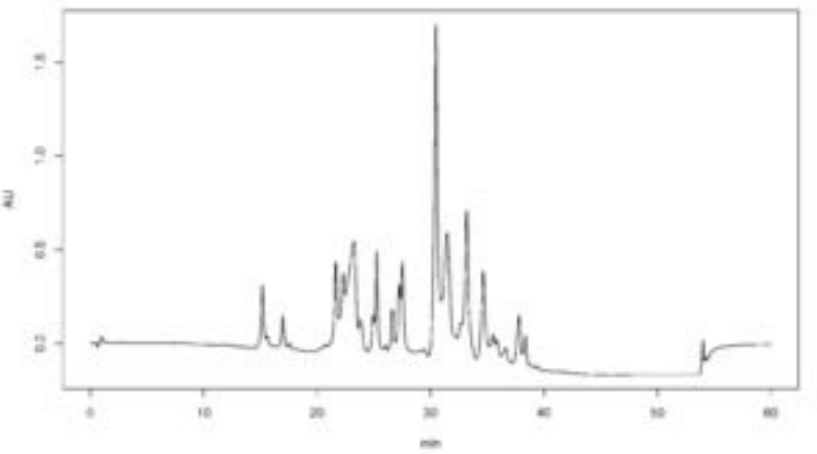


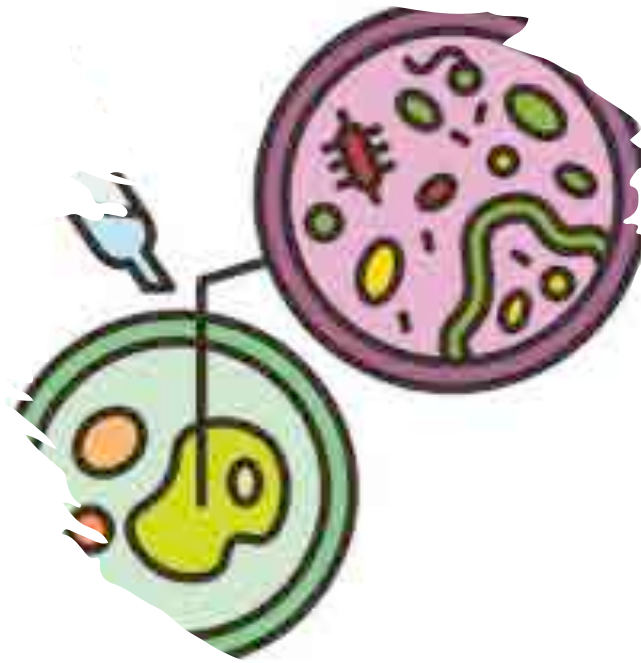
Estrazione
con
ultrasuoni
in solvente
«green»

➤ ESTRAZIONE DI POLIFENOLI DA *Pistacia lentiscus* L.



Analisi quali-quantitativa con
HPLC-DAD e HPLC-MS/MS





- Studio in campo di piante coltivate (irrigate e non irrigate) di *P. lentiscus*
- Studio delle attività biologiche attraverso test *in-vitro*
- Formulazione farmaceutica e applicazione

Prospettive ed applicazioni

FITOFARMACI



COSMETICI

INTEGRATORI
ALIMENTARI



CIBI
ARRICCHITI

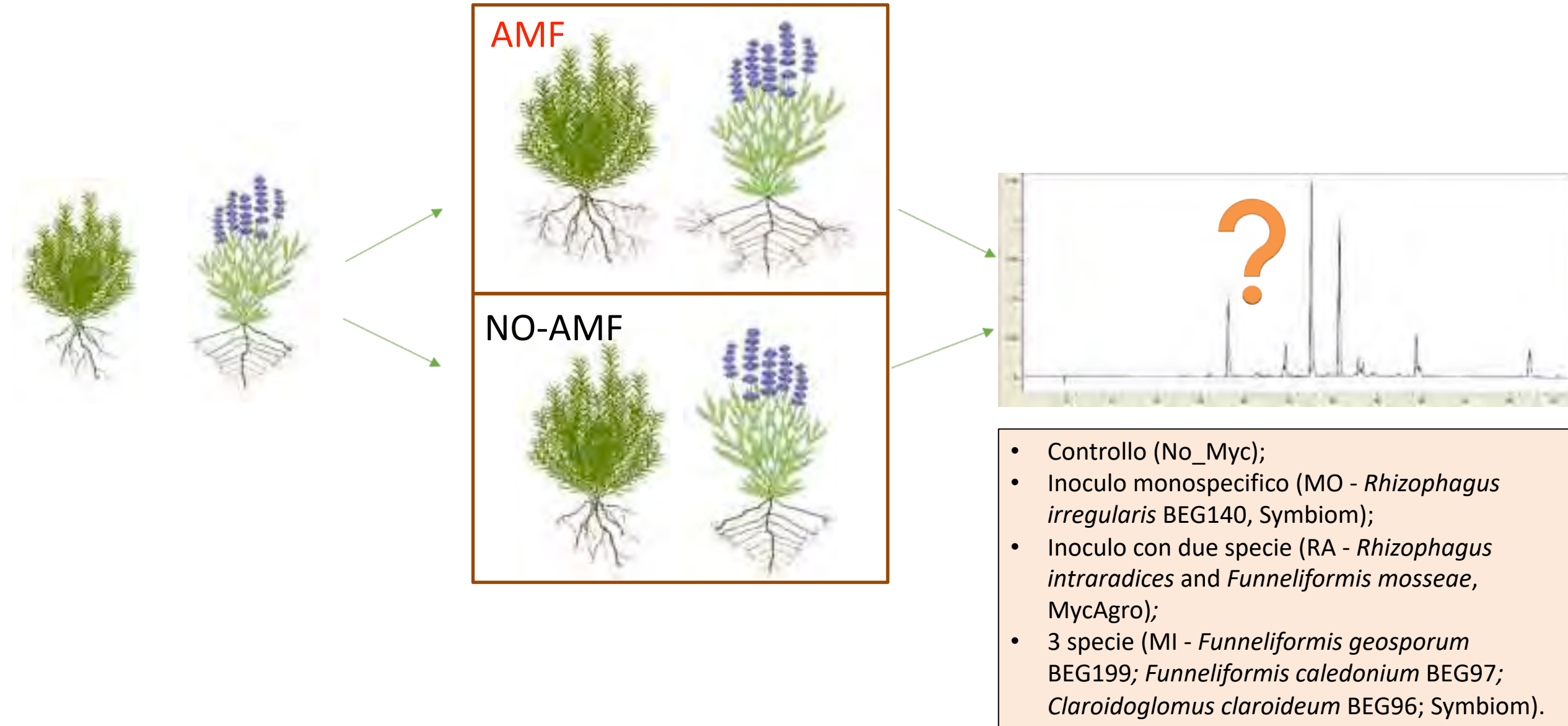
DISPOSITIVI MEDICI



5. Profilo polifenolico di *Rosmarinus officinalis* e *Lavandula angustifolia* inoculati funghi micorrizici VAM



Lo scopo di questo lavoro è quello di valutare il potenziale impatto dei funghi micorrizici arbuscolari (AMF) sui profili polifenolici nelle due specie selezionate: *Rosmarinus officinalis* e *Lavandula angustifolia*.





Le impronte polifenoliche di *Rosmarinus officinalis* e *Lavandula angustifolia* sono risultate significativamente differenti tra piante non inoculate e piante inoculate:

Rosmarinus officinalis

L'acido carnosico, potenziale neuro protettore antalgico (Mannelli Di Cesare L, Ghelardini C. Neurorestoration from medicinal plants: an opportunity to treat painful neuropathies. Neural Regen Res 2017, 12,3, 403-4) è risultato chiaramente correlato a campioni di piante di rosmarino micorrizzato, mentre altri composti del gruppo flavonoidi, come luteolina e derivati della rutina, erano presenti in maggiore nelle piante non inoculate rispetto a quelle inoculate.

Tutti e tre i composti hanno forti proprietà antiossidanti, ma hanno vie metaboliche differenti

A close-up photograph of a lavender plant with numerous small, purple, tubular flowers arranged in dense, elongated spikes. The background is a soft-focus green, suggesting foliage.

Lavandula angustifolia

Diversi acidi idrossicinnamici, derivati dell'acido clorogenico, caffeico e rosmarinico, sono risultati chiaramente correlati a campioni di piante di lavanda non micorrizate, mentre i derivati dell'acido cinnamico, hanno un contenuto maggiore nelle piante micorrizate rispetto a quelle non micorrizate.

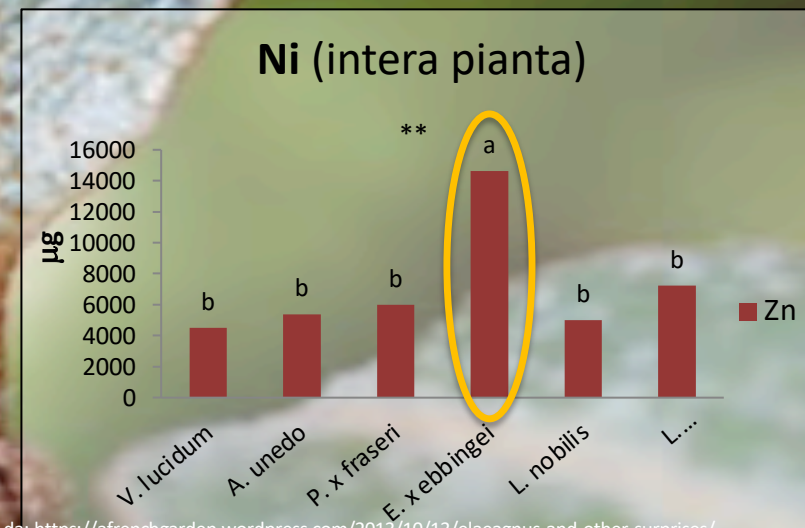
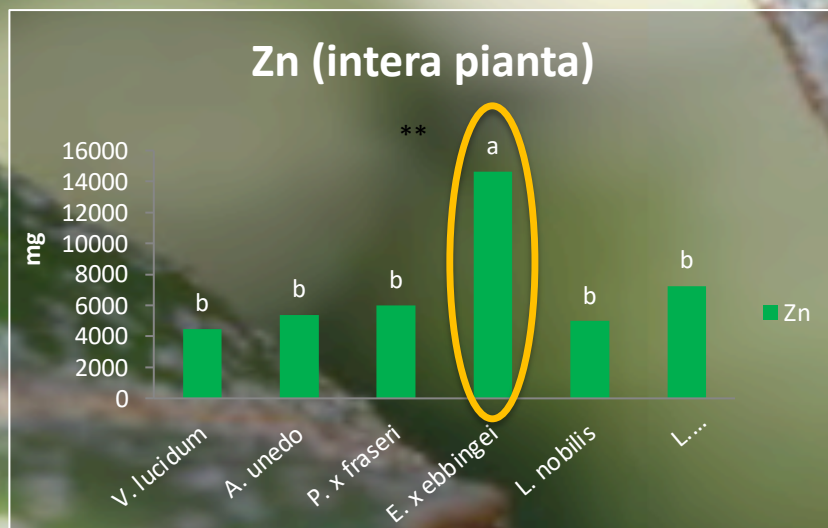
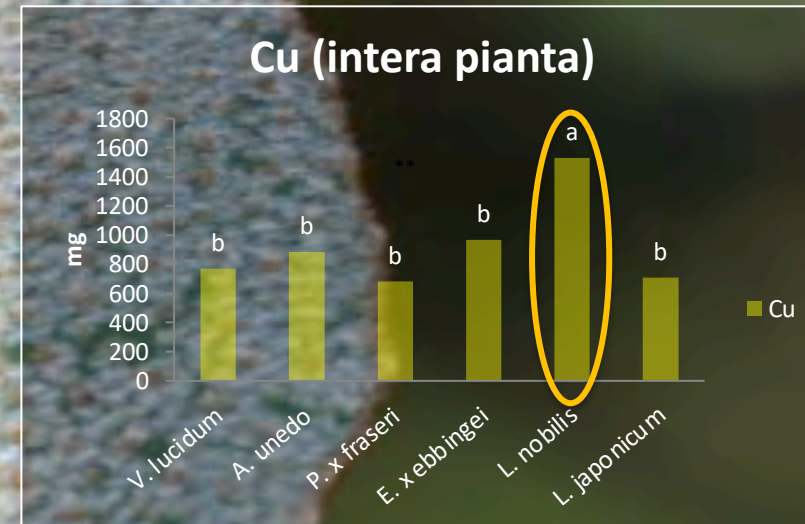
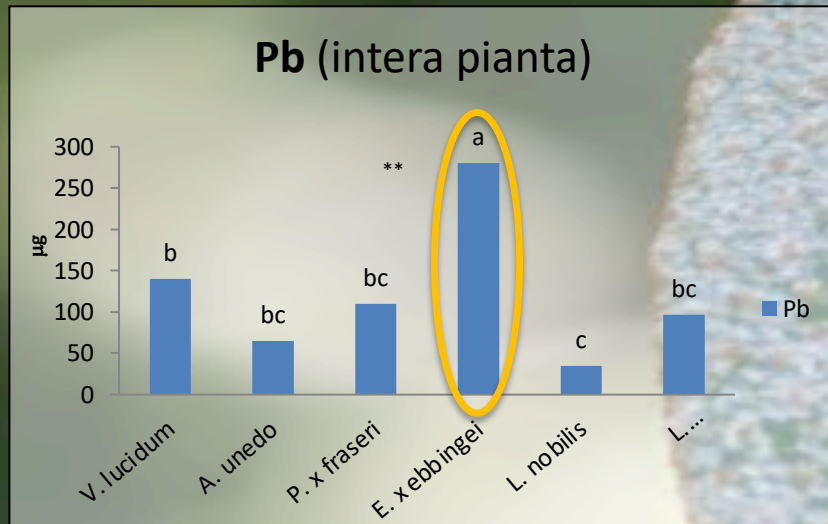
L'inoculazione con funghi micorrizici arbuscolari modifica quantitativamente l'accumulo di metaboliti secondari, sebbene siano necessarie ulteriori analisi per verificare un ruolo dell'inoculazione di AMF per migliorare la difesa contro gli stress biotici e/o abiotici.

Sviluppi futuri:

- Effettuare analisi durante le diverse fasi fenologiche delle piante e sottoporre le stesse a diversi stress abiotici;
- Effettuare ulteriori analisi

Assorbimento di metalli dell'intera pianta (2016)

L'area fogliare è risultata diversa tra le specie: *E. x ebbingei* ha, in media, un'area fogliare due o tre volte più grande rispetto alle altre specie





1. Confronto tra diverse metodologie per quantificare l'accumulo di particolato sulle foglie delle piante

Metodi di quantificazione del PM_x:

- Analisi microscopica
- Metodi di filtrazione

Tratti fogliari:

- Area fogliare (LA)
- Area fogliare specifica (SLA)
- indice di dissezione fogliare (LDI Leaf Dissection Index)
- Indice di rotondità fogliare (Leaf Roundness)

Grazie per l'attenzione



Il potere curativo delle piante: quali sono i composti coinvolti?

Antonella Gori (DAGRI-UNIFI)



Piante medicinali- una lunga tradizione

L'utilizzo di prodotti naturali vegetali con proprietà terapeutiche è antico quanto la civiltà umana e per molto tempo le piante sono state le principali medicine per l'uomo. Ingredienti in pozioni e veleni.



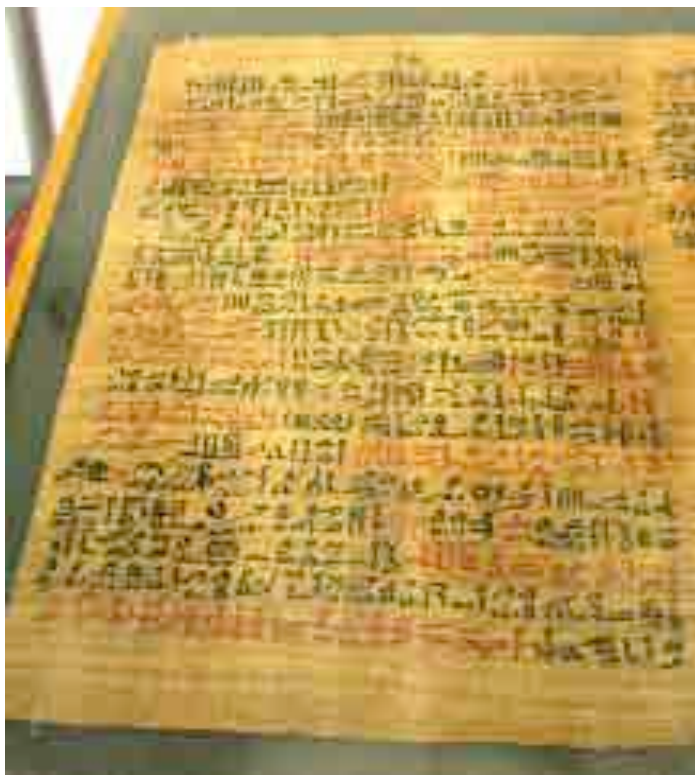
Poison

Nel 399 a.C. il filosofo Socrate bevve un estratto di *Conium maculatum* contenente cicuta



Potion

La regina Cleopatra utilizzava estratti di *A. belladonna* che contengono atropina, per dilatare le sue pupille e apparire più attraente ai suoi rivali politici



Erbes Papyrus
Antico Egitto - 1550 a.C.
 descrive 850 piante medicinali

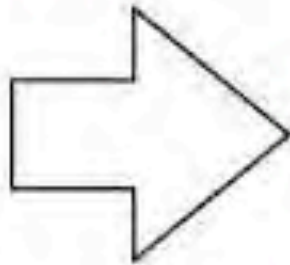


***De materia medica* (Dioscoride)**
Roma - c.50 d.C.
 Descrive 1000 ricette per i farmaci
 che utilizzano oltre 500 piante



Erbari medievali
 (es. *Hortus medicus* o *Hortus simplicium*, l'orto delle cosiddette "semplici", ovvero delle erbe medicinali)

Lo sviluppo della medicina moderna



Sviluppo della chimica organica

Preferenza dei prodotti farmaceutici di sintesi

Aumento del potere economico delle case farmaceutico

Tuttavia, al giorno d'oggi, le medicine sintetiche sono diventate inadeguate

Sviluppo di nuove malattie e resistenze ai farmaci sintetici, proliferazione del cancro..



Riscoperta di prodotti naturali e delle piante medicinali

Piante medicinali e utilizzo nelle medicina moderna

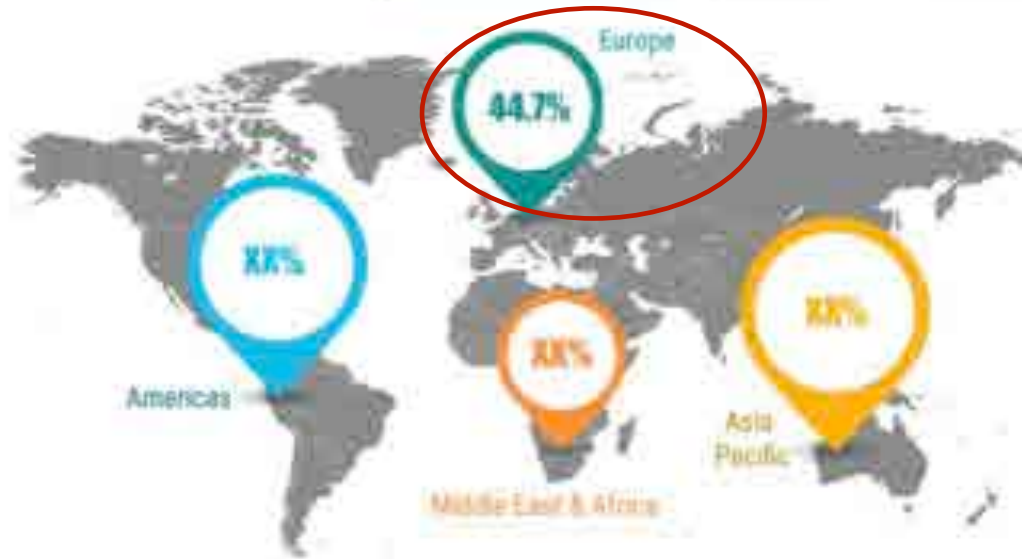
Una pianta medicinale è qualsiasi pianta che, in uno o più dei suoi organi, contiene sostanze che possono essere utilizzate a scopo terapeutico o che sono precursori per la sintesi di farmaci utili (OMS)



GLOBAL HERBAL MEDICINE MARKET



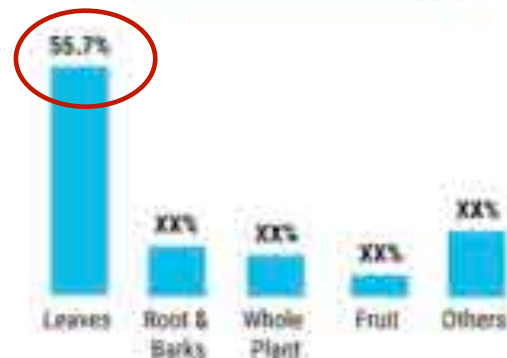
BY REGION 2017 (%)



BY PRODUCT TYPE 2017 (%)



BY SOURCE 2017 (%)



25% dei farmaci prescritti in tutto il mondo provengono dalle piante (80% dei farmaci ha applicazioni correlate con il loro utilizzo etnobotanico)

~850 piccole molecole



Quali sono i composti coinvolti nel potere curativo delle piante?



Piante e metaboliti secondari

Le piante sono un laboratorio di biosintesi



Metaboliti primari

Carboidrati
Proteine
Grassi
Acidi nucleici

**Essenziali per la vita
presenti in elevate
quantità**



Metaboliti secondari

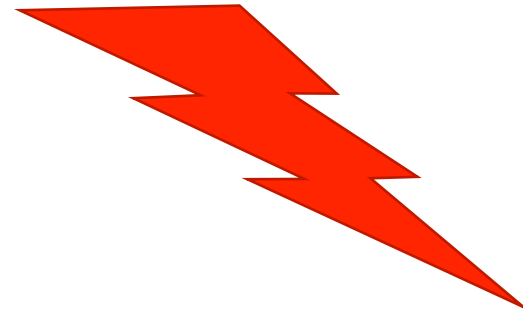
Polifenoli
Alcaloidi
Terpeni

**Essenziali per l'interazione delle
piante con l'ambiente e altri
organismi (elevato valore
ecologico)**

<1% del peso secco

Piante e metaboliti secondari

Stress



Es. Deficit idrico
Elevate radiazioni
Alte/ basse temperature



Produzione di
ROS



> produzione



Metaboliti secondari

Metaboliti di difesa contro lo
stress foto-ossidativo



ROS Scavenging

Prevencono il danno
foto-ossidativo

E negli esseri umani?



Metaboliti secondari: notevoli attività biologiche. Sono i principali responsabili dell'effetto medicinale delle piante. Alcune piante sono utilizzate nella produzione di medicinali fitoterapici, altri come tè o impacchi



Quali sono i metaboliti secondari?



Terpeni (BVOCs)



Alcaloidi



Fenoli



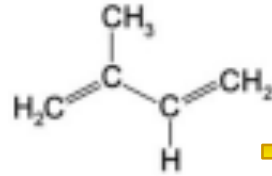
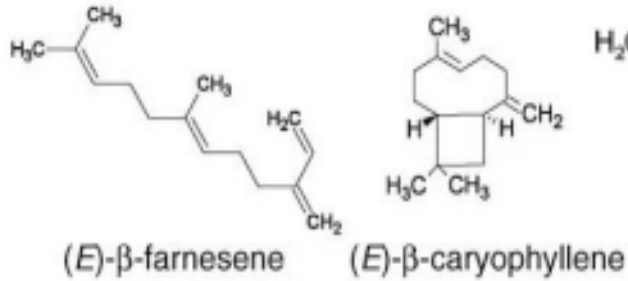
Terpeni (BVOCs): costituenti principali degli oli essenziali

Agrumi e spezie: piante aromatiche



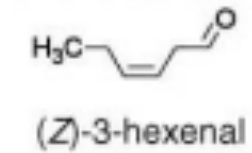
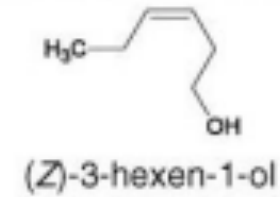
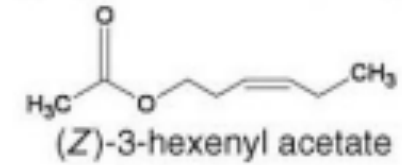
isoprene

Sesquiterpenes (C10)

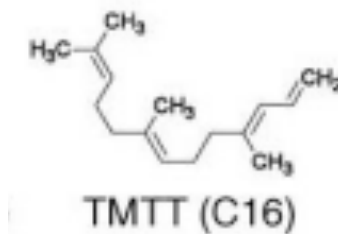
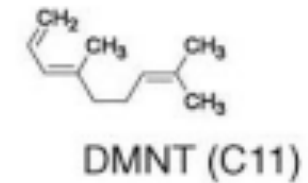


**TERPENI
(BVOCs)**

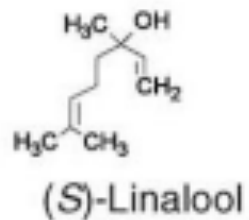
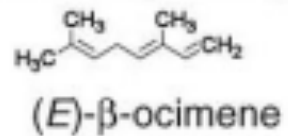
C6 LOX-products
(Green Leaf Volatiles)



Homoterpenes



Monoterpenes (C5)



Più di 1700
molecole!

BIOGENIC VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS

Terpeni: i profumi caratteristici delle piante



Benessere degli oli essenziali



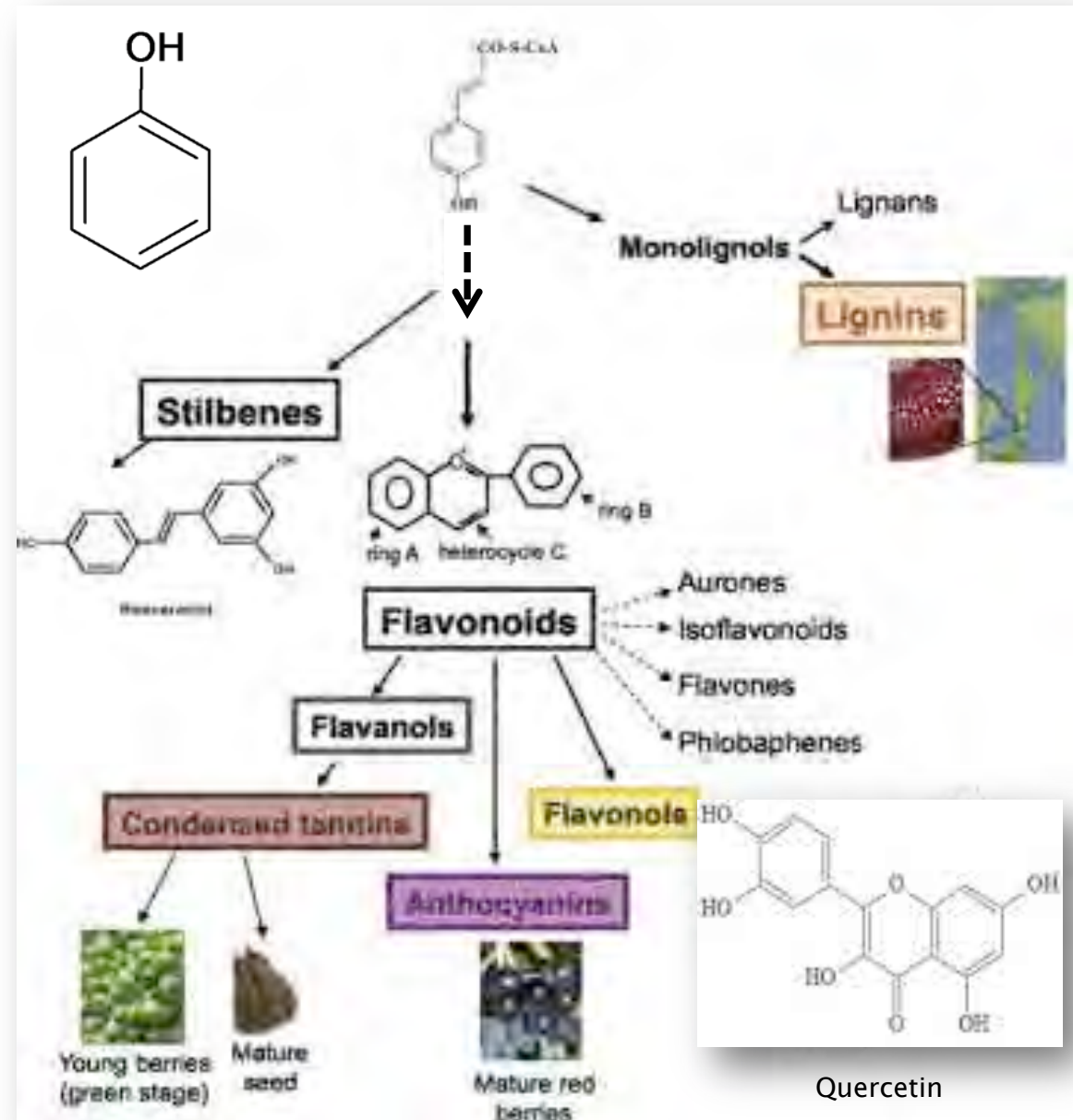
I Polifenoli

Gruppo più diversificato di sostanze attive dei vegetali.

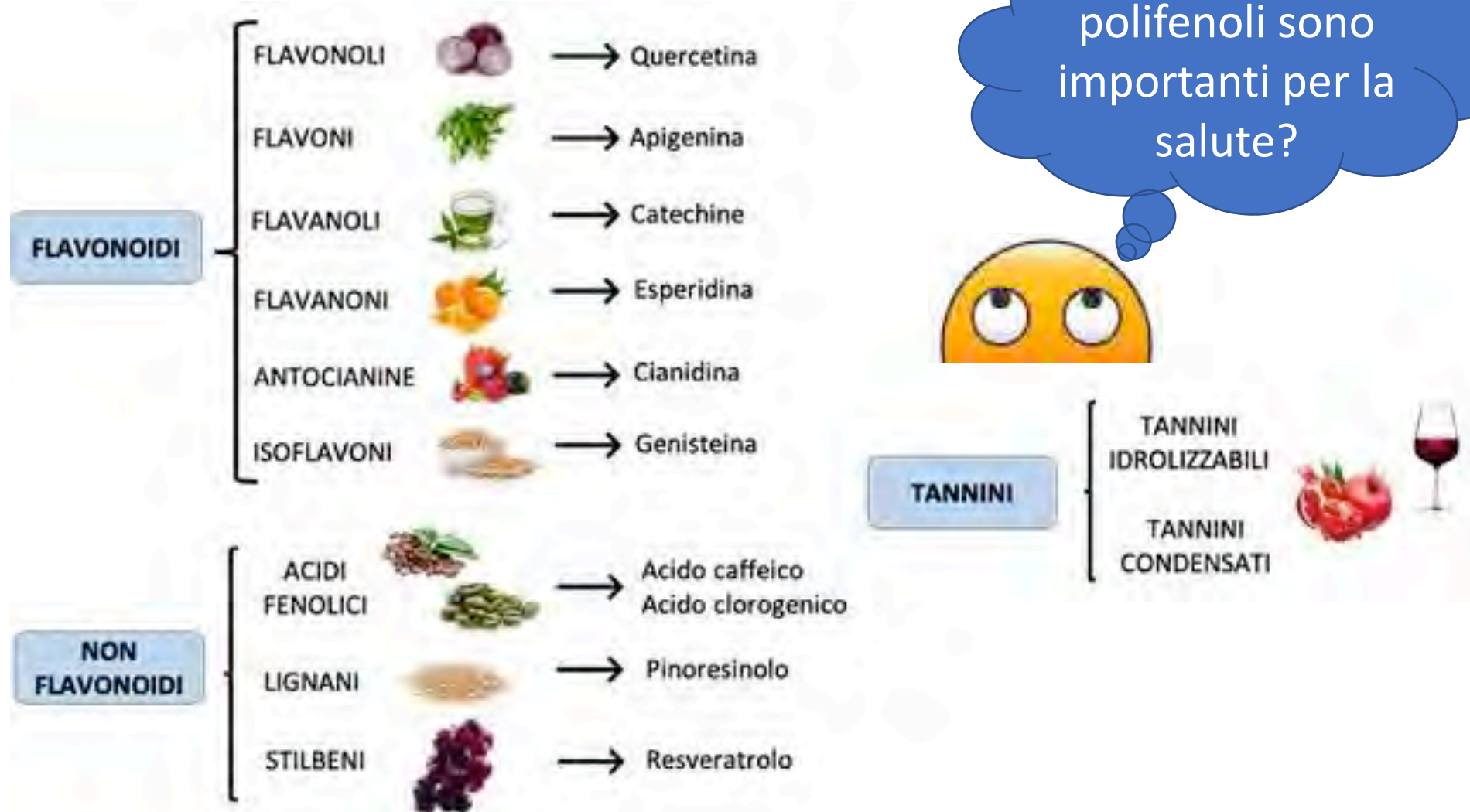
Sono caratterizzati dalla presenza di molteplici gruppi fenolici associati in strutture più o meno complesse.

Il numero e le caratteristiche di tali strutture fenoliche sottolineano le uniche proprietà chimiche e biologiche di membri particolari della classe di polifenoli.

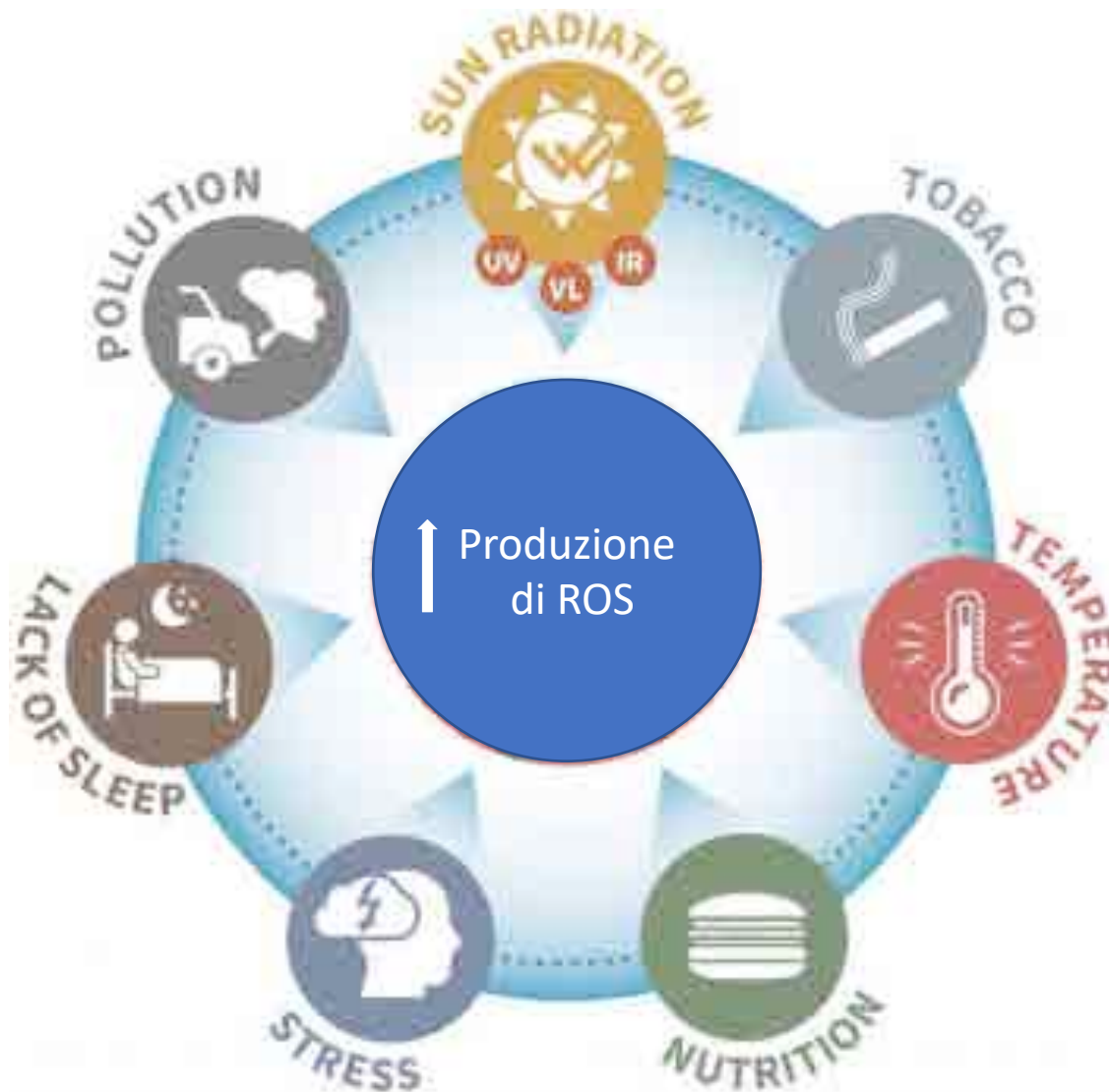
oltre
8000
molecole!!



Principali polifenoli conosciuti



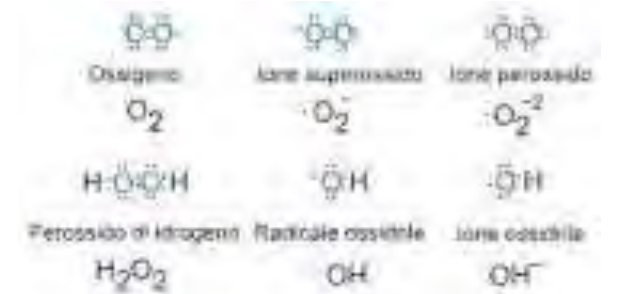
Azione antiossidante



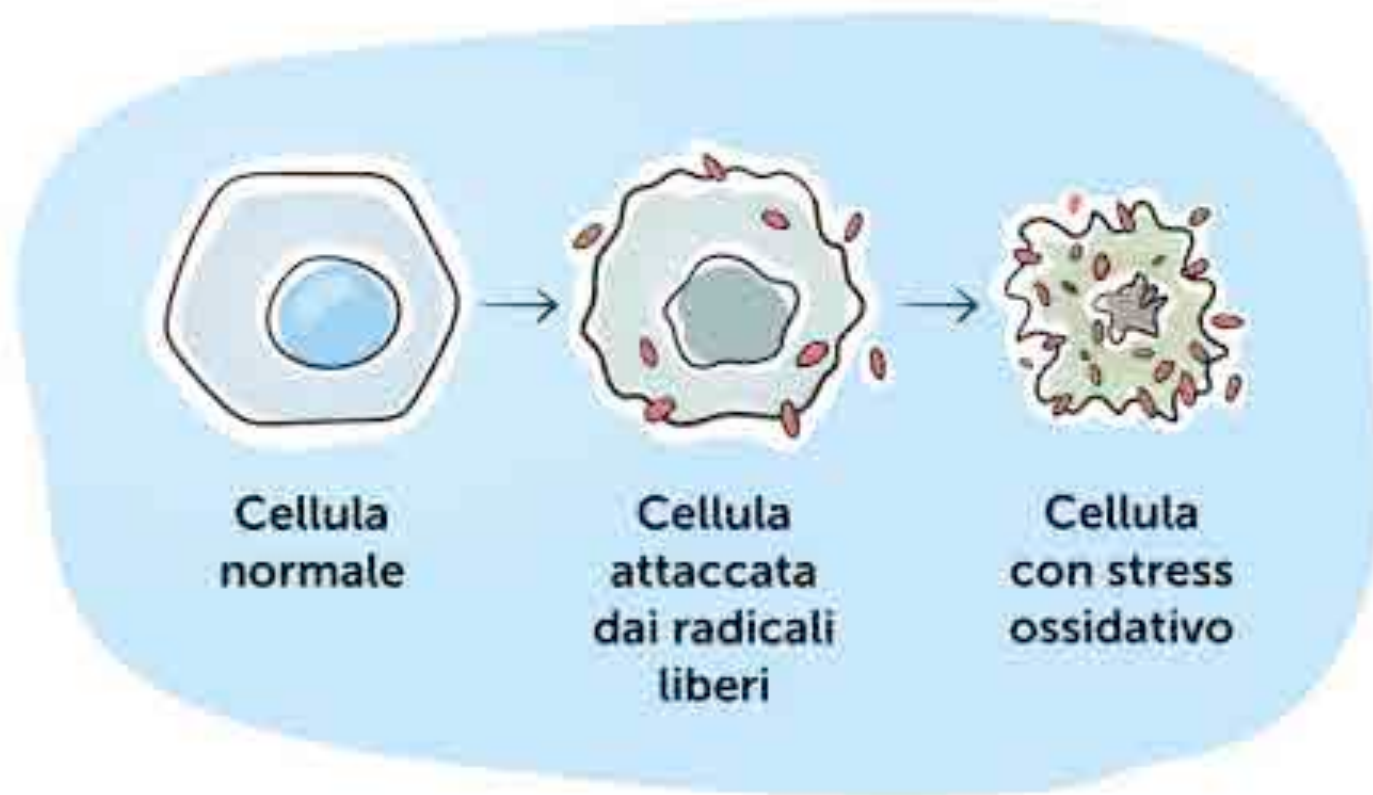
ROS

(Reactive oxygen species)

RADICALI LIBERI

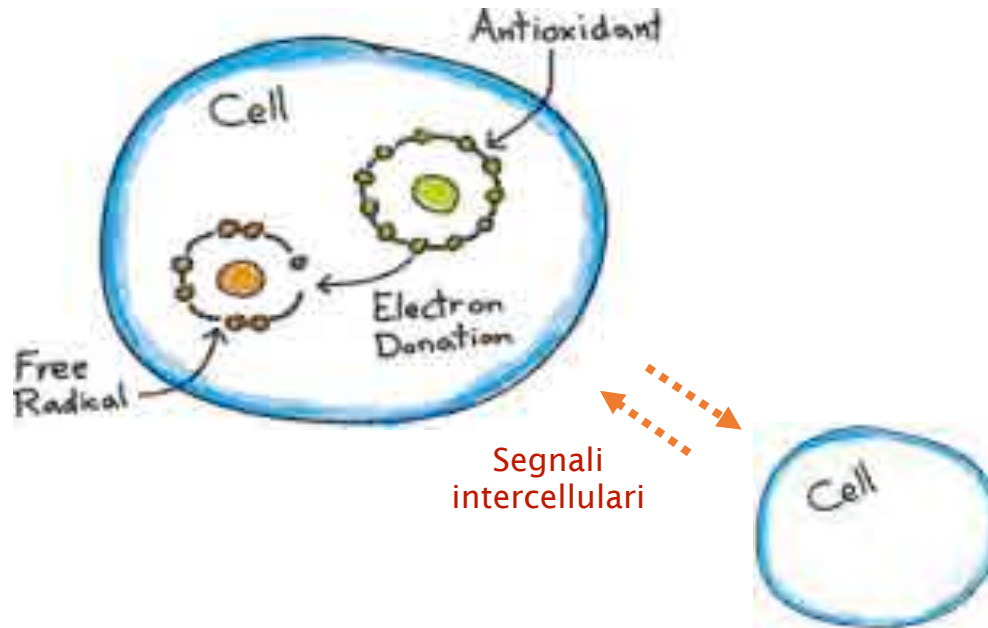


Stress ossidativo



..... Ma come agiscono i polifenoli?

Funzione antiossidante dei polifenoli



**Azione su differenziazione
e proliferazione cellulare
(azione indiretta)**

Infiammazioni

carcinogenesi

aterosclerosi

Metaboliti
secondari



Le piante della macchia mediterranea

Clima mediterraneo



Macchia mediterranea

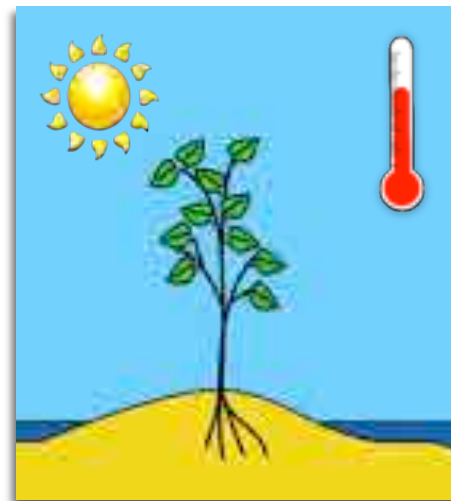


“Ambiente stressante”

Alte temperature

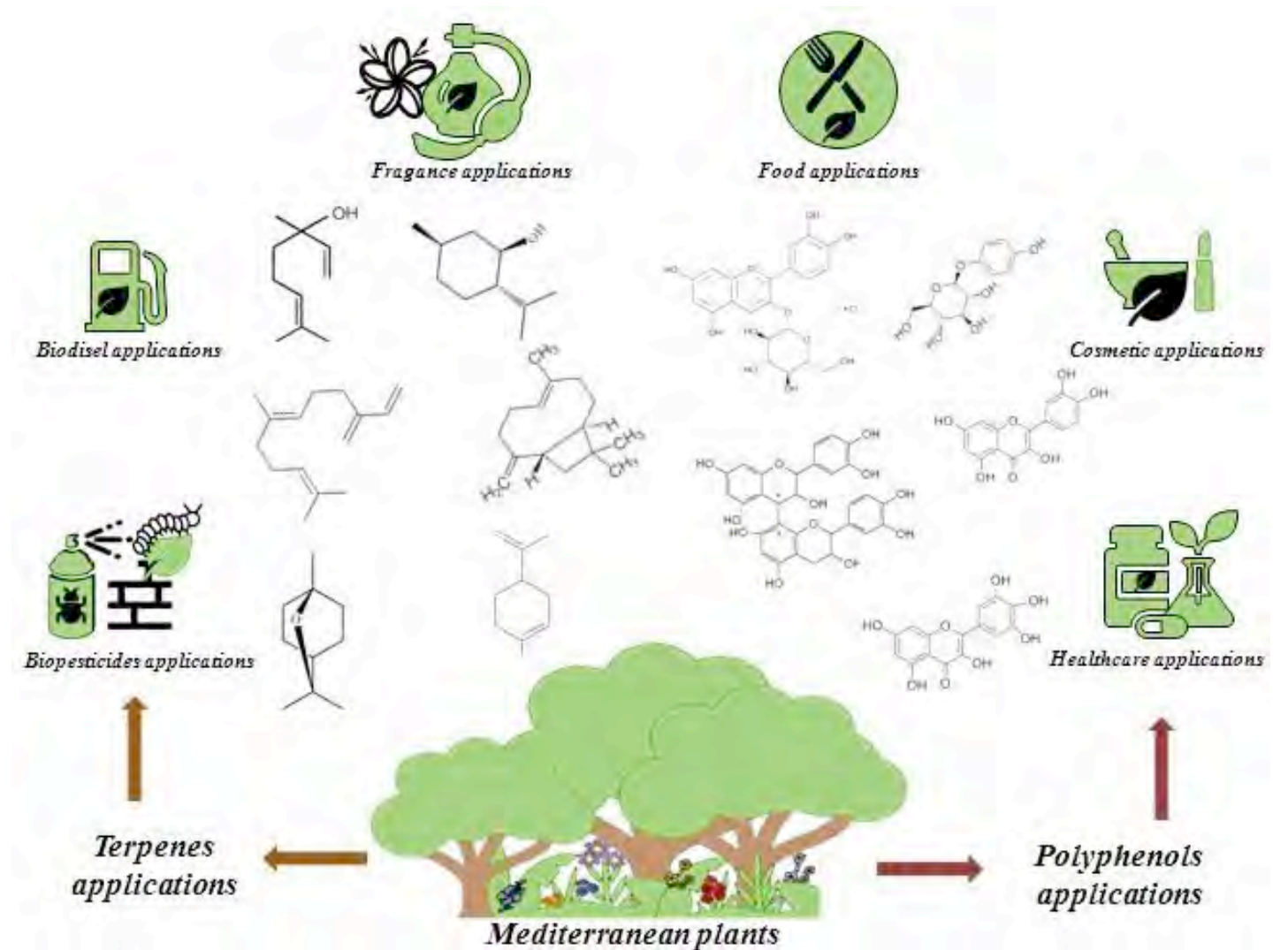
Alta radiazione solare

Carenza idrica etc.



**Grande investimento in
metaboliti secondari**

Le piante della macchia mediterranea



Pistacia lentiscus



Obiettivi del progetto

produzione di **estratti da foglie**
(ricche in tannini idrolizzabili e flavonoidi) e
frutti (ricchi in antociani)

Possibili applicazioni

estratti da foglie/frutti ricchi in antiossidanti ad uso
nutraceutico e farmacologico
olio dai frutti per uso olio alimentare e aromatic



Impacchi di foglie per il trattamento delle infiammazioni della gola, bruciature e problemi gastrointestinali. I frutti erano utilizzati in passato come coloranti naturali. L'olio di lentisco era utilizzato al posto dell'olio di oliva in cucina ma anche per curare le punture d'insetto, cicatrizzare le ferite e combattere i dolori muscolari. Effettuando incisioni sul tronco si ottiene una resina (mastice, «mustik tree») utilizzata ad uso masticatorio per l'azione antinfiammatoria e antisettica e per il sapore gradevole (ricca in oli essenziali).



Arbutus unedo



Obiettivi del progetto

- Realizzazione di un corbezzuolo a coltivazione intensiva per produzione di frutti
- Preparazione di estratti arricchiti in polifenoli da foglie e frutti per industria cosmetica e nutraceutica

Possibili applicazioni

- Valorizzazione dei frutti in preparazioni alimentari (es. prodotti caseari e loro sottoprodotti come siero e scotta)
- Estratti fogliari in preparazioni cosmetiche e prodotti nutraceutici.



I decotti fogliari sono utilizzati sin dal Medioevo per il trattamento di problemi gastrointestinali (in particolar modo per aiutare il lavoro epatico e biliare) e urologici (trattamento di cistiti). I frutti erano utilizzati come lassativi.



Cistus incanus



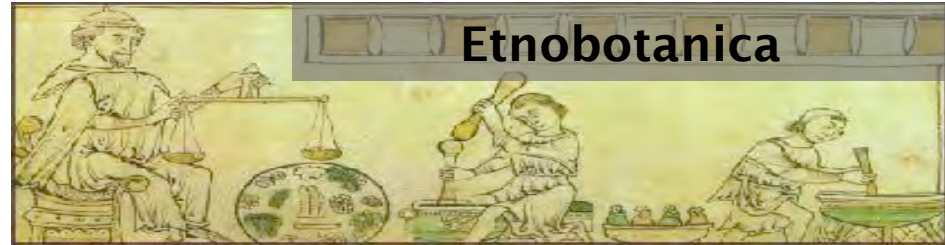
Obiettivi del progetto

produzione di foglie essiccate ricche in tannini condensati e flavonoidi

Possibili applicazioni

Foglie secche come additivi alimentari (es. Fortificazione del pane)

Thè con forti proprietà antiossidanti



Decotto di foglie (thè) utilizzato per infiammazioni della pelle, problemi gastrici e febbre



Gruppo di lavoro

- **Francesca Alderotti**
- **Cecilia Brunetti**
- **Cassandra Detti**
- **Luana B. Dos Santos Nascimento**
- **Francesco Ferrini**
- **Antonella Gori**
- **Barbara Baesso Moura**
- **Lucrezia Muti**
- **Dalila Pasquini**





DAGRI
Dipartimento di
Scienze
e Tecnologie
Agrarie, Alimentari
Ambientali
e Forestali

