

INNOVAZIONE IN

# BOTANICALS

1•2023

CEC  
EDITORE

DAL 1933  
ESTRATTI BOTANICI  
DI ALTA QUALITÀ

  
90 YEARS Anniversary

ESTRATTI  
CON RAZIONALE  
SCIENTIFICO

  
PER IL RILASSAMENTO ED IL SONNO

  
PER LE NATURALI DIFESE  
DELL'ORGANISMO

  
FUNZIONALITÀ DELLA PROSTATA

  
BENESSERE DEL SISTEMA DIGERENTE

  
METABOLISMO DEI LIPIDI  
E DEL COLESTEROLO

  
PER L'EUBIOSI DEL CAVO ORALE

  
ANTINFIAMMATORIO  
PER IL SISTEMA RESPIRATORIO

  
BENESSERE DI NASO E GOLA,  
ESPETTORANTE, DIGESTIVO



ESTRATTI  
PIANTE  
OFFICINALI

EPO S.R.L Via Stadera 19, 20141 Milano (Italia)  
Tel: +39 02 895571 - Fax: +39 02 89557490 - E-mail: epo@eposrl.com

WWW.EPOSRL.COM 

## Editoriale

- 3 Scienza nutrice • *E. Sgaravatti*
- 4 Guida alla lettura • *D. Benelli*
- 6 Hanno scritto per noi

## ARTICOLI

- 8 In che modo gli oli algali cambieranno il mercato degli omega-3? • *A. Sehl, E. Caderby, S. Bouhouda, H. Griffiths, S. Da Rocha Gomes*
- 20 La riscoperta dell'Officina: dal campo all'esperienza • La ricerca di estratti vegetali antimicrobici dell'Istituto per i Sistemi Biologici-CNR  
*F. Mariani*
- 30 TOMATO! Buono, sicuro, nickel-free • Nuove prospettive per una filiera controllata del pomodoro  
*C. Conte, M. Tiso, G. Fenoglio, M. Mariotti, P. Minale, E. Nicosia, P. Pensa, E. Tommaselli, E. Rocciotiello*

## AGGIORNAMENTI

### ABS: risorse genetiche, diritti, condivisione

- 40 Utilizzo di informazioni genetiche digitali e Access and Benefit Sharing  
I risultati della CBD-COP15 e il Post-2020 Global Biodiversity Framework  
*V. Veneroso*

### Analisi genetiche

- 45 Autenticare gli estratti vegetali tramite le analisi del DNA: è possibile? Limiti, pro e contro e prospettive future dell'identificazione genetica sui prodotti finiti • *V. Mezzasalma, J. Frigerio, P. Re*

### Botanicals in action

- 52 "Crescere" aria pulita in città è possibile? • Il verde tecnico per il miglioramento della qualità atmosferica • *E. Rocciotiello*

## AZIENDE

### Ingredienti

- 56 BeramChol® • Estratto di Amaranto e Bergamotto per la salute metabolica  
NATING ITALIA
- 59 Estratto di Limone Wellemon® • Flavonoidi biodisponibili per la salute cardiovascolare  
C.F.M. CO. FARMACEUTICA MILANESE
- 65 Delphinol® • Maqui-Berry (*Aristotelia chilensis*): il tesoro della Patagonia, la soluzione anti-invecchiamento per una pelle più sana e luminosa  
DKSH ITALIA • ANKLAM EXTRAKT

### Innovazione di prodotto

- 68 Estratti protettivi cosmetici da specie mediterranee • I co-prodotti della filiera olivicola rivalorizzati in chiave di sostenibilità, innovazione ed efficacia • BIONAP

### Company news

- 72 Dall'Università di Pavia gli studi di assorbimento della bromelina Nutratrade
- 74 Notizie
  - Lancio della collaborazione EUROSYN e GIVAUDAN a Cosmopack Worldwide di Bologna
  - La certificazione Non-GMO Project Verification assegnata ai prodotti di punta di BGG World

## PROSPETTIVE

### Ricerca

- 76 Dal DISAFA di Torino un biostimolante innovativo per le produzioni vegetali in ambienti aridi  
Progetto di ricerca ENEA sui prodotti secondari della produzione del Melograno

### Tendenze

- 78 Integratori alimentari: in Europa consumatori attenti alle etichette per un utilizzo responsabile dei prodotti

### Corsi e congressi

- 79 A Gennaio 2024, a Bologna, il terzo Workshop Internazionale sull'Agricoltura Verticale

**Direttore responsabile**

Francesco Redaelli - fr@ceceditore.com

**Direttore scientifico**

Elena Sgaravatti - elenasgaravatti@plantareibiotech.it

**Direttore editoriale**

Demetrio Benelli - demetrio.benelli@gmail.com

**Coordinatore editoriale**

Tiziana Mennini - tm@ceceditore.com

**Redazione**

Anna Iannitelli - ai@ceceditore.com

**Progetto grafico e impaginazione**

Serena Dori - sd@ceceditore.com

Giulia Gilardi - gg@ceceditore.com

**Marketing assistant**

Matteo Olgiati - mo@ceceditore.com

**Stampa e fotolito:** Faenza printing industries Spa**Spedizione:** Poste Italiane Spa - spedizione in abbonamento postale D.L. 353/2003 (conv. in 27/02/2004 n.46) art. 1, comma 1, LO/MI**IVA assolta dall'editore****Copyright CEC Editore - Milano**

Tutti i diritti sono riservati. La riproduzione dei contenuti, totale o parziale, è soggetta a preventiva approvazione della CEC Editore.

**Legge sulla privacy** - L'editore garantisce la massima riservatezza dei dati in suo possesso, forniti dagli abbonati, fatto diritto, in ogni caso, per l'interessato di richiederne gratuitamente la rettifica o la cancellazione ai sensi del D.lgs 196/03. L'editore non assume responsabilità per le opinioni espresse dagli Autori e per eventuali errori riportati negli articoli. Il materiale pubblicitario si intende essere conforme a standard etici: la stampa di tale materiale non costituisce la garanzia della qualità del prodotto e della veridicità dei claim.**Autorizzazione - Tribunale di Milano n.33 del 28/02/2022**

ISSN 2785-373X N°ROC CEC Editore 24649 del 20/06/2014.

**CEC Editore pubblica anche:**

MakeUp Technology - L'Integratore Nutrizionale

Cosmetic Technology - Legislazione Cosmetica

Libri scientifici nell'area cosmetica, nutrizionale ed erboristico



Via Primaticcio, 165 - 20147 Milano

tel 02 4152 943 - fax 02 416 737

info@ceceditore.com - www.ceceditore.com

# COMITATO SCIENTIFICO

**BARBARA BALDAN** • Professore ordinario, Botanica Generale, Dipartimento di Biologia Università di Padova**SELENE BASCHIERI** • Ricercatrice ENEA, Laboratorio Biotecnologie, Centro Ricerche di Casaccia**ANNA RITA BILIA** • Professore ordinario, Dipartimento di Chimica Ugo Schiff dell'Università degli Studi di Firenze**GIOACCHINO CALAPAI** • Professore ordinario, Farmacologia e Tossicologia, Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Messina**ANNA CALDIROLI** • Consulente, direttore scientifico-editoriale Cosmetic Technology, CEC Editore**LAURA CORNARA** • Professore Associato di Botanica Generale, DISTAV Università degli Studi di Genova**VINCENZO DE FEO** • Professore ordinario, Biologia Farmaceutica, Università di Salerno; responsabile Gruppo Piante Officinali Società Botanica Italiana; esperto OMS Medicine Tradizionali e Piante Medicinali**FLAVIA GUZZO** • Professore associato, Botanica Generale, Dipartimento di Biotecnologie, Università di Verona**RENATO IGUERA** • Botanico, presidente ASSOERBE**ALBERTO MANZO** • Agronomo, funzionario tecnico Ministero Politiche Agricole Alimentari e Forestali**BARBARA RUFFONI** • Dirigente di ricerca CREA, responsabile sede di Sanremo

# ELENCO INSERZIONISTI

<b>COSMOFARMA</b> www.cosmofarma.com	<b>5</b>
<b>COSMOPACK</b> www.cosmoprof.com	<b>71</b>
<b>EPO</b> www.eposrl.com	<b>II Cop</b>
<b>IN-VITALITY</b> www.in-vitality.it	<b>29</b>
<b>MAKING PHARMACEUTICALS</b> www.makingpharma.it	<b>39</b>
<b>NUTRATRADE</b> www.nutratradesrl.com	<b>IV Cop</b>

# Scienza nutrice

Non me vorranno i Lettori che ci seguono se torno su un tema che nello scorso numero ho già avuto modo di citare, ovvero gli Obiettivi di Sviluppo sostenibile delle Nazioni Unite (i cosiddetti Sustainable Development Goals), ma sono davvero molti e impegnativi e mi danno, anzi ci daranno, l'occasione di accompagnarci anche nei prossimi numeri.

Partiamo dal secondo: *sconfiggere la fame*.

Teniamo presente pochi dati: la vita sul nostro pianeta è costituita per quasi il 98% da biomassa vegetale mentre noi, la specie umana, rappresentiamo solo lo 0,01% della biomassa terrestre. Tuttavia, come sappiamo, ma forse non abbastanza, siamo stati capaci di fare danni enormi: abbiamo ormai modificato il 75% degli ecosistemi terrestri e il 66% di quelli oceanici. "I tassi di estinzione attuali delle specie sono da decine a centinaia di volte superiori a quelli medi degli ultimi dieci milioni di anni, con una diminuzione media del 68% delle popolazioni di numerose specie di animali vertebrati dagli anni Settanta."

E lo scorso luglio è stato pubblicato il 2022 Revision of World Population Prospects, report annuale delle Nazioni Unite che guarda alla situazione attuale e futura della popolazione mondiale. Si stima che il numero mondiale di abitanti arriverà a 8,5 miliardi nel 2030. I Paesi che contribuiranno maggiormente alla crescita della popolazione globale sono quelli dell'Africa subsahariana, dove si concentrerà oltre la metà dei nuovi abitanti della terra fino al 2050. In generale, la tendenza è di crescita per i Paesi meno sviluppati (dove i tassi di fertilità sono molto maggiori) e di decrescita per quelli più ricchi.

E tornando agli SDGs il secondo obiettivo delle Nazioni Unite affronta l'urgente sfida di migliorare la disponibilità di cibo, di combattere tutte le forme di malnutrizione e di assicurare la diversità genetica di semi, piante coltivate, animali da allevamento e domestici.

Fra gli strumenti citati: la riduzione degli impatti ambientali della produzione alimentare con particolare riferimento all'applicazione di pratiche agricole resilienti che aumentino la produttività e la produzione, che aiutino a conservare gli ecosistemi, che rafforzino la capacità di adattamento ai cambiamenti climatici, alle condizioni meteorologiche estreme, alla siccità, alle inondazioni e agli altri disastri, e che migliorino progressivamente il terreno e la qualità del suolo.

Ora se è chiaro che sarà necessario adottare urgentemente tutte le soluzioni disponibili dall'agricoltura 4.0 al vertical farming è altrettanto chiaro che si chiede una vera rivoluzione rispetto ai comportamenti fino a oggi adottati e che impone un netto allontanamento da preconcetti oscurantisti del passato e l'impiego urgente di tutti gli strumenti che la scienza e la tecnologia ci mettono a disposizione. Con piacere, per appartenenza di genere, ricordo che nel 2020 a due donne, Emmanuelle Charpentier e Jennifer A. Doudna, è stato assegnato il premio Nobel per la scoperta e messa a punto di due tecniche la cisgenesi e il genome editing che consentono di indirizzare modifiche genetiche in modo controllato e in punti



ELENA SGARAVATTI

[elenasgaravatti@plantareibotech.it](mailto:elenasgaravatti@plantareibotech.it)

precisi del genoma permettendo di introdurre nuovi caratteri senza dover ricorrere all'inserimento di geni da altre specie. Proprio perché in grado di modificare un solo carattere, il genome editing consente di rendere un organismo resistente ad un parassita o più resiliente a un cambiamento ambientale, o capace di fornire un prodotto più nutriente mantenendo inalterato il patrimonio genetico della varietà originaria.

Si tratta inoltre di una tecnologia semplice, economica e facilmente applicabile al sistema produttivo italiano attuale ricco di colture antiche, di nicchia e piccole imprese.

In questo modo è possibile sviluppare cibi dagli alti valori nutrizionali; attraverso l'incremento della biodisponibilità dei micronutrienti per soddisfare le carenze nutrizionali e sradicare il rischio di malnutrizione così come contribuire alla formulazione di ingredienti con potenziali effetti funzionali che includono il mondo della nutraceutica. Inoltre, si propone di rendere disponibili risorse proteiche alternative a minore impatto ambientale ma anche processi di supporto al sistema di produzione agricolo come bio-fertilizzanti e biostimolanti. Due donne, premio Nobel, che avranno il merito di poter rendere disponibili nuove varietà colturali per contribuire, grazie alle biotecnologie, a sconfiggere la fame nel mondo. Insomma, ancora una volta sono le donne che nutrono e salvano il pianeta? Alla prossima ...

# INNOVAZIONE IN BOTANICALS

## GUIDA ALLA LETTURA

**P**er innovare non basta una buona idea, e neppure un dato scientifico nuovo. Quello è solo l'inizio di un percorso, di un progetto da realizzare. Ce lo racconta, questo percorso, l'articolo sugli oli algali di Anthony Sehl e dei suoi coautori.

L'idea è molto originale: cercare acidi grassi polinsaturi nelle alghe. Una sorgente poco conosciuta, proveniente dall'ambiente oceanico come la più comune fonte di queste sostanze alimentari, il pesce. In effetti, è proprio risalendo nella catena alimentare che si è compreso come la vera origine autotrofica degli acidi grassi polinsaturi siano le microalghe. Ma questa intuizione non bastava: non è così semplice trasferire quello che in natura è un passaggio primario in un sistema produttivo stabile, che possa raggiungere una dimensione industriale. E anche una volta creato un ambiente di crescita delle microalghe in grado di assicurare una adeguata produttività di biomassa, il prodotto ricavato poneva una serie di problemi di conservazione e purificazione. Un caso davvero esemplificativo del processo di creazione di un nuovo prodotto che richiede molte competenze, dalla botanica alla microbiologia, alla tecnologia della fermentazione, per arrivare a sfidare un mercato con un grande potenziale di crescita.

La botanica permette di ottenere un prodotto selezionato in senso salutistico anche solo attraverso il controllo della filiera. È il caso del progetto di ricerca di realizzato da un partenariato tra produttori agricoli e l'Università di Genova per assicurare al mercato un pomodoro Nickel-free, ampliando così la platea dei possibili fruitori di un alimento di uso comune ma ancora tutto da valorizzare sotto il profilo della salute. Un lavoro che si colloca nel quadro del contrasto alle allergie alimentari, un fenomeno emerso con molta evidenza e di interesse generale.

Altrettanto di attualità, e preoccupante, è la crescita dell'antibiotico-resistenza con le sue drammatiche conseguenze soprattutto in ambito ospedaliero.

La riscoperta di piante della pratica erboristica italiana, ma soprattutto di alcune specie selvatiche entrate nell'uso alimentare nelle tradizioni di alcuni territori italiani, è la linea guida del paziente lavoro di screening condotto dall'Istituto per Sistemi Biologici del CNR, che ha per scopo finale proprio la valutazione del potenziale antibiotico e antibatterico di queste specie.

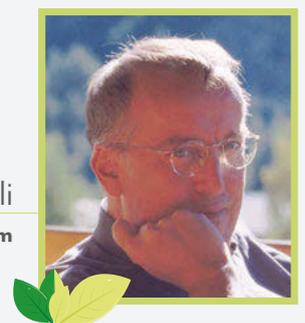
L'attualità della protezione ambientale e della biodiversità entra in questo numero con il resoconto, in tempo reale, della conferenza internazionale appena conclusa in Canada, che ha portato a una rivalutazione dei criteri di approccio alla salvaguardia delle risorse genetiche come patrimonio appartenente ai contesti geografici e sociali in cui esse sono generate. Una valutazione che abbiamo visto si sta spostando anche sul fronte della custodia digitale dei dati biologici che ne derivano e sulla relativa definizione delle modalità per un'equa condivisione dei potenziali benefici derivanti dal loro utilizzo.

L'approfondimento dei sistemi di analisi dei prodotti botanici tramite il DNA inizia con questo numero a trattare la questione dirimente della determinazione dell'origine degli estratti; un orizzonte che si va chiarendo con l'introduzione di nuovi passaggi intermedi, attraverso i quali sarà via via sempre più ampia la gamma delle possibilità di riconoscere anche queste matrici.

Il verde ci avvolge nell'ambiente in cui abitiamo, non solo in campagna, anche nelle città. L'interazione con le piante, casuale o preordinata da interventi sull'edilizia e sugli arredi urbani, non solo non è una componente minimale dei nostri stili di vita, ma diventa sempre di più un fattore attivo del nostro benessere o, al contrario, del diffondersi di varie patologie.

Lo studio delle modalità di gestione del "verde tecnico", come viene definito nel nostro spazio dedicato ai *Botanicals in action*, è la base per una nuova consapevolezza del modo di vivere moderno.

Demetrio Benelli  
demetrio.benelli@gmail.com





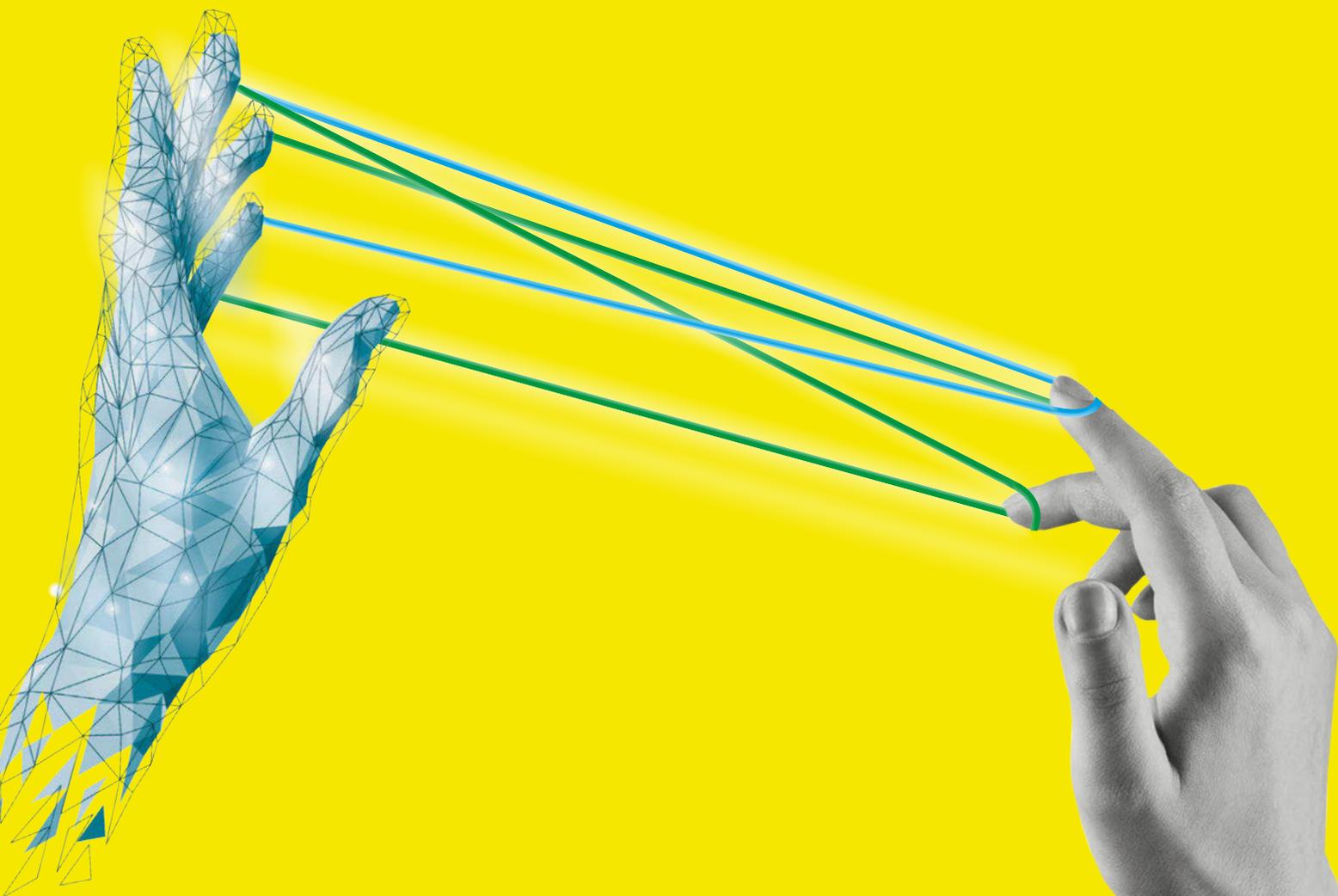
**COSMOFARMA®**  
EXHIBITION  
SMART & GREEN

GRUPPOVENTO.IT

# INTERCONNESSIONI SOSTENIBILI

## BOLOGNA

5 - 7 MAGGIO 2023



Progetto e direzione

**BOS**  
Bolognafiere | Senaf

In collaborazione con

 **Bologna Fiere**



**tecniche nuove**



**COSMETICA ITALIA**

associazione nazionale imprese cosmetiche



**IQVIA™**



**REGISTRATI  
A COSMOFARMA**

[www.cosmofarma.com](http://www.cosmofarma.com) • [info@cosmofarma.com](mailto:info@cosmofarma.com)   



## Clara Conte

clara.conte.15@gmail.com

Clara Conte è dottoranda in Scienze e Tecnologie per l'Ambiente e il Territorio (STAT), curriculum Biologia applicata all'Agricoltura e all'Ambiente presso l'Università di Genova con borsa di studio finanziata nell'ambito del DM 351 del 09.04.2022 (Azione Dottorati per il patrimonio culturale). Ha conseguito il Master di Primo Livello in Economia Circolare 4.0: Energia, Tecnologia e Ambiente (DM 270/2004). Ha sviluppato esperienze nei diversi ambiti della botanica applicata e attualmente lavora sui possibili utilizzi della componente vegetale nelle Nature-based Solutions in città con applicazione di metodi sostenibili di rimedio su matrici inquinate.



## Enrica Roccotiello

enrica.roccotiello@unige.it

Enrica Roccotiello è ricercatrice in Botanica Ambientale e Applicata presso il Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV) dell'Università degli Studi di Genova. È docente nel corso di laurea magistrale in Conservazione e Gestione della Natura e nel corso di laurea in Architettura del Paesaggio Sostenibile.

I principali ambiti di ricerca riguardano i meccanismi di tolleranza e accumulo di metalli in piante (da *phytoremediation* o eduli), la bonifica di inquinanti mediante tecniche ecosostenibili di *bioremediation* integrata, la biodiversità di habitat estremi, la risposta delle piante agli stress abiotici nell'ecosistema urbano e l'impiego della componente vegetale nelle *Nature-Based Solutions*. È autrice di numerose pubblicazioni nazionali e internazionali.



## Violetta Insolia

info@bionap.com

Violetta Insolia è laureata in Biologia, ha conseguito un PhD in Genetica e Biologia Molecolare e due Master per specializzarsi nel campo della Nutraceutica e del Marketing Management. Da tempo lavora nel settore nutraceutico, occupandosi di estratti vegetali e delle loro applicazioni, curandone la protezione brevettuale, il razionale scientifico e il marketing. Ricopre attualmente il ruolo di Innovation Manager presso Bionap.



## Anthony Sehl

asehl@fermentalg.com

Anthony Sehl, dopo un master in Nutrizione Umana ha proseguito gli studi con un dottorato di ricerca sulla biodisponibilità del DHA presso l'ITERG (Institut des Corps Gras) e il CBMN (Institut de Chimie et de Biologie des

Membranes et des Nano-objets) dell'Università di Bordeaux, in Francia. Ha pubblicato articoli in varie riviste scientifiche come *Food Chemistry*, *British Journal of Nutrition* e *Food & Function*.

Attualmente è ingegnere R&S e project manager presso Fermentalg, dove si occupa di aspetti chimici e nutrizionali degli acidi grassi polinsaturi. Oltre alle sue attività in azienda, insegna in diverse scuole di ingegneria per aumentare la consapevolezza dei benefici degli oli algali per le generazioni future.



## Francesca Mariani

francesca.mariani@cnr.it

Francesca Mariani, biologa, è ricercatrice presso l'Istituto per i Sistemi Biologici del CNR. L'Istituto, con sede a Montelibretti (Roma) studia le proprietà terapeutiche delle piante medicinali, a partire dalle condizioni di crescita della pianta, passando per la preparazione di diversi tipi di estratti, la loro analisi chimica, per arrivare a determinarne gli effetti antimicrobici e immunomodulanti.



## Valerio Mezzasalma

valerio.mezzasalma@fem2ambiente.com

Valerio Mezzasalma in FEM2-Ambiente ricopre il ruolo di responsabile scientifico con l'obiettivo di coordinare le attività scientifiche alla base dei servizi offerti, dei progetti ideati e partecipati, e del comparto R&D sempre pronto ad accogliere nuove sfide, ma anche a lanciarne di nuove. Inoltre, è grazie alla costante comunicazione con i clienti, con i partner di progetto e con le università e i centri di ricerca che ha la possibilità di avvicinarsi alle richieste ed esigenze di mercato, e di essere sempre aggiornato sulle ultime novità in materia di innovazione e opportunità.



## Valentina Veneroso

avv.veneroso@gmail.com

Valentina Veneroso, avvocato, specializzata in diritto dell'ambiente, con un'esperienza consolidata nella materia dell'*Access and Benefit Sharing*. È stata docente presso la Facoltà di Biotecnologie dell'Università

di Siena, dove ha insegnato Diritto in Biotecnologie. Ha collaborato con il Ministero dell'Ambiente fornendo assistenza alla Direzione competente nelle attività finalizzate alla ratifica e all'implementazione del Protocollo di Nagoya a livello nazionale e a livello europeo nella scrittura del Regolamento ABS e atti derivati, partecipando nella qualità di esperto ai relativi lavori in Commissione UE.

Durante il semestre di Presidenza Italiana del Consiglio UE (2014) ha fatto parte del team della Presidenza per il coordinamento europeo partecipando al primo Meeting delle Parti del Protocollo di Nagoya. È autrice di articoli e pubblicazioni, nonché relatrice in corsi e convegni sull'argomento presso enti di ricerca e università italiani.

# LE NOSTRE RIVISTE...

## COSMETIC TECHNOLOGY

Riferimento indispensabile per il settore della cosmetica e del personal care, esamina la funzionalità e la sicurezza dei nuovi ingredienti cosmetici, le materie prime, gli aggiornamenti sulle novità, le attività regolatorie nel mondo, le tendenze di mercato e le tecnologie di produzione e packaging.  
Disponibile anche on-line sul sito [www.ceceditore.com](http://www.ceceditore.com)

**Periodicità:** bimestrale  
**Uscite:** n. 6  
**Formato:** cartaceo e online

## L'INTEGRATORE NUTRIZIONALE

Rivista tecnico-scientifica del settore nutraceutico e dell'integrazione alimentare. La Rivista pubblica lavori scientifici eseguiti sugli integratori alimentari per valutare la loro efficacia e il loro meccanismo d'azione, oltre che la loro sicurezza. Oltre ad offrire interessanti informazioni sulle tendenze di mercato e sullo sviluppo di nuovi prodotti per l'integrazione, dal 2014, sono state introdotte nuove sezioni dedicate ai Dispositivi Medici, ai prodotti finiti e ai derivati botanici.  
Disponibile anche on-line sul sito [www.ceceditore.com](http://www.ceceditore.com)

**Periodicità:** bimestrale  
**Uscite:** n. 6  
**Formato:** cartaceo e online

## ABBONATI SUBITO

### Tariffa Abbonamenti

Italia/Estero annuo (cartaceo + online) € 80.00  
Italia/Estero biennale (cartaceo + online) € 150.00  
Italia/Estero annuo (online) € 40.00  
Italia/Estero biennale (online) € 70.00

### Modalità di pagamento:

- carta di credito su [www.ceceditore.com](http://www.ceceditore.com)
- B/B Banca Popolare di Sondrio  
IT 88 T 05696 01630 000009520X29



## SFOGLIA LE RIVISTE GRATUITAMENTE

## MAKEUP TECHNOLOGY

Make Up Technology è una rivista tecnico-scientifica che presenta studi, approfondimenti e nuovi ingredienti nel campo della cosmetica decorativa; la rivista offre inoltre sezioni di aggiornamento su tendenze, mercato, terziario e packaging. E infine interviste, comunicati stampa e must have di stagione, per una panoramica a 360° sulle ultime evoluzioni del settore.

**Periodicità:** semestrale  
**Uscite:** n. 2  
**Formato:** cartaceo e online

## INNOVAZIONE IN BOTANICALS

Innovazione in Botanicals è una rivista scientifica che vuole lanciare un ponte tra il mondo scientifico e accademico e quello industriale e professionale, realizzando una comunicazione efficace nelle due direzioni, per favorire lo scambio tra le acquisizioni e le evidenze scientifiche da un lato e le competenze e il know how dall'altro.

**Periodicità:** quadrimestrale  
**Uscite:** n. 3  
**Formato:** cartaceo e online



CEC Editore  
Via Primaticcio, 165  
20147 Milano  
tel +39 02 4152 943  
info@ceceditore.com



[www.ceceditore.com](http://www.ceceditore.com)



NOVITÀ EDITORIALE

## Autori

A. SEHL

E. CADERBY

S. BOUHOUDA

H. GRIFFITHS

S. DA ROCHA GOMES

FermentalG, Libourne (France)

asehl@fermentalG.com

# In che modo gli oli algali cambieranno il mercato degli omega-3?

## Riassunto

Gli effetti salutistici di una dieta ricca di acidi grassi polinsaturi a catena lunga omega-3 (n-3 LC-PUFA) non hanno più bisogno di essere dimostrati. Tuttavia, mentre le autorità sanitarie tentano di promuovere il consumo degli n-3 LC-PUFA acido eicosapentaenoico (EPA) e acido docosaesaenoico (DHA), i dati delle ultime indagini sull'assunzione dimostrano che il consumo di EPA e DHA è ancora troppo basso. Una spinta verso una maggiore sostenibilità e un aumento del vegetarianismo, stanno spingendo i produttori a passare dai tradizionali oli di pesce verso fonti alternative. Gli oli di microalghe forniscono una fonte di n-3 LC-PUFA con un minore impatto ambientale e vengono prodotti utilizzando processi che limitano i danni agli oli stessi.

Questa review vuole illustrare i ceppi di microalghe oleaginose disponibili per la produzione di n-3 LC-PUFA, i processi utilizzati per la loro crescita e i processi di estrazione e raffinazione dei loro oli. Vengono inoltre affrontate le difficoltà inerenti a questi prodotti e alla loro produzione, nonché alcune caratteristiche inedite degli oli microalgali, tra cui l'altissimo contenuto di n-3 LC-PUFA e la struttura chimica dei trigliceridi, che portano a interessanti opportunità di utilizzo come ingredienti alimentari funzionali.

## INTRODUZIONE

A partire dal principale studio epidemiologico osservazionale condotto sulle popolazioni eschimesi della Groenlandia negli anni Settanta, numerose indagini medico-cliniche hanno dimostrato i benefici nutrizionali di una dieta ricca di acidi grassi polinsaturi n-3 a catena lunga (n-3 LC-PUFA) come gli acidi eicosapentaenoico (EPA) e docosaesaenoico (DHA) (1). In effetti, EPA e DHA sono coinvolti in tutte le fasi della vita, dallo sviluppo pre- e post-natale all'invecchiamento in buona salute, e nel corso della vita in generale, attraverso il mantenimento di un

## Parole chiave

DHA

Olio di alghe

Thraustochytriaceae

Schizochytrium

Acidi grassi polinsaturi N-3

Contributo a "Lipidi degli ambienti acquatici/Lipides issus des milieux aquatiques".

Modificato da: Sehl A, Caderby E, Bouhouda S et al. How do algae oils change the omega-3 polyunsaturated fatty acids market?. OCL. 2022;29:20.

© A. Sehl et al., Published by EDP Sciences, 2022

sistema immunitario efficace, delle funzioni neurologiche e cardiache. Inoltre, il loro consumo riduce il rischio di sviluppare diverse patologie come malattie neurodegenerative, cardiovascolari, infiammatorie e tumori (2-5).

Nei mammiferi, anche se il fegato è in grado di produrre n-3 LC-PUFA dal loro precursore n-3 acido  $\alpha$ -linolenico (ALA), il livello di bioconversione è molto basso, cosicché per EPA e DHA la sintesi endogena non può coprire le esigenze fisiologiche dell'organismo (6-8). Pertanto, gli n-3 LC-PUFA devono essere forniti dalla dieta, motivo per cui EPA e DHA sono entrambi classificati come acidi grassi condizionalmente essenziali.

La Francia raccomanda che EPA e DHA siano forniti ciascuno nella dieta in livelli di almeno 250 mg al giorno, ma i risultati dell'ultima indagine epidemiologica francese (9) hanno dimostrato che nella popolazione adulta se ne consumano in media rispettivamente solo 117 e 169 mg al giorno; rispetto alle linee guida questa assunzione è inferiore di almeno il 32% (10,11). Il deficit sale al 70% se consideriamo il consumo medio, il che indica che la maggior parte della popolazione non riceve EPA o DHA sufficienti per mantenersi in buona salute. L'assunzione di lipidi totali, il 34% dell'apporto energetico totale, è in linea con le raccomandazioni e quindi la vera sfida è aumentare il consumo di EPA e DHA senza aumentare quello dei lipidi totali.

È in questo contesto che possono essere di particolare interesse gli oli molto ricchi di n-3 LC-PUFA.

Le principali fonti alimentari di n-3 LC-PUFA sono i pesci grassi e gli estratti di oli di pesce. Tuttavia, per motivi associati a impatti ecologici negativi legati alla pesca eccessiva, a problemi di salute dovuti alla possibile contaminazione da metalli pesanti presenti nell'ambiente, a problemi sensoriali dovuti al forte odore e sapore del pesce, e recentemente a un progressivo allontanamento dai prodotti di origine animale, il mercato degli LC-PUFA n-3 sta subendo un vero e proprio cambiamento a favore degli oli microbici, come quelli estratti dalle microalghe. La coltura di microrganismi oleaginosi per la produzione di oli ricchi in n-3 LC-PUFA fa parte della più ampia ricerca di fonti sostenibili e alternative di nutrienti di interesse; ricerca che sta portando a nuovi prodotti che allo stesso tempo fanno bene alla salute umana e risultano meno dannosi per il pianeta.

Nel 2018, gli oli microbici rappresentavano circa l'1,8% del volume del mercato mondiale n-3 LC-PUFA e il 15% del suo valore (12). Tra il 2018 e il 2019, il volume mondiale di oli di alghe è aumentato da 2009 a 2109 tonnellate, un incremento del 5%, e gli operatori del mercato indicano che questa tendenza sta accelerando. L'innovazione è forte in questo ambito, e ciò sta contribuendo ad aumentare l'attrattiva di que-

sti prodotti sul mercato, aumentando la qualità, riducendo i costi e migliorando la sostenibilità. Questa innovazione è dimostrata dal gran numero di pubblicazioni annuali di brevetti depositati che, tra il 2010 e il 2021, hanno registrato un aumento di oltre il 175%.

Una caratteristica particolare degli oli di microalghe, che ne sta incoraggiando l'utilizzo, è l'elevato livello di n-3 LC-PUFA rispetto agli oli di pesce tradizionali. Di solito, gli oli di pesce naturali contengono dal 10 al 30% di EPA e DHA combinati tra loro, e il loro contenuto può essere migliorato solo attraverso processi di esterificazione e distillazione molecolare degli oli, con successiva riesterificazione in molecole di trigliceridi (TG) (13) che coinvolgono solventi e intermedi chimici. Il cambiamento climatico e il riscaldamento degli oceani potrebbero persino avere un lieve impatto al ribasso del contenuto di n-3 LC-PUFA degli oli di pesce naturali, aggravando il problema (14). Al contrario, le microalghe sono in grado di produrre livelli molto elevati di EPA e DHA nel loro pool lipidico, con alcune specie che arrivano a produrre oltre il 60% degli acidi grassi totali come omega-3. Pertanto, la produzione di tali oli non solo ha un interesse dal punto di vista della sostenibilità, ma consente anche nuovi approcci nutrizionali per incorporare n-3 LC-PUFA nella dieta.

Lo scopo di questa review è informare il lettore sullo stato dell'arte

dei processi utilizzati nella produzione di oli di microalghe ricchi di n-3 LC-PUFA: in particolare quegli oli ricchi di DHA che attualmente dominano il mercato. Ciò include la scelta dei ceppi, la scelta di come questi microrganismi vengono coltivati e lavorati fino alla raffinazione degli oli grezzi, tenendo conto delle esigenze dei clienti e della sensibilità di tali oli all'ossidazione.

## SELEZIONE DEI CEPPI E MODALITÀ DI CRESCITA: I PRIMI PASSI NELLA COSTRUZIONE DI UNA PIATTAFORMA PUFA MICROBICA

### Microalghe che producono omega-3

Gli oceani sono le risorse quasi esclusive di n-3 LC-PUFA destinati al consumo umano. Dagli anni Ottanta è stato riconosciuto che i pesci grassi acquisiscono principalmente n-3 LC-PUFA dalla loro dieta e non per sintesi endogena. La maggior parte di EPA e DHA è sintetizzata da molte specie diversificate di microalghe che si trovano alla base della catena alimentare (15,16) che vengono poi consumate e concentrate dal pesce. È evidente che le microalghe rappresentano un'interessante fonte alternativa e vegana di n-3 LC-PUFA. Tuttavia, restano da affrontare diverse criticità per garantire che questi oli

possano essere prodotti in quantità sufficienti, a un prezzo sufficientemente basso e in una forma di alta qualità per fornire una valida alternativa agli oli di pesce. Negli ultimi tempi, i consumatori sono diventati più attenti all'ambiente e le aziende hanno elaborato programmi di responsabilità sociale che tengono in considerazione questioni ecologiche e sociali accanto a quelle economiche, il che ha facilitato la scelta di oli ricchi di n-3 LC-PUFA prodotti dalle microalghe.

È noto che un'ampia varietà di specie di microalghe è in grado di produrre n-3 LC PUFA. Dalle attività di screening, sono state identificate molte candidate per la capacità di crescere in condizioni di laboratorio e con almeno il potenziale per essere industrializzate.

Tra queste, Dinoflagellate e Thraustochytriacee, rappresentate rispettivamente da *Cryptocodinium* e *Schizochytrium/Aurantiochytrium*, sono note per il loro contenuto in DHA più elevato e il contenuto di EPA relativamente basso. Infatti, il livello di DHA può raggiungere fino al 60% degli acidi grassi totali (17). Queste cellule accumulano anche forme non polari di lipidi (TG) come riserva di energia e possono immagazzinarle in una proporzione significativa della massa cellulare totale (18). Mentre la maggior parte delle microalghe utilizza percorsi di sintesi degli acidi grassi simili a quelli precedentemente descritti nelle spe-

cie vegetali e animali, nelle Thraustochytriacee sono stati identificati due percorsi metabolici indipendenti: i percorsi della sintasi degli acidi grassi (FAS) e della polichetide sintasi (PKS). Il grado di utilizzo e la composizione di questi percorsi varia di specie in specie e con le diverse condizioni ambientali - alcuni li hanno entrambi, alcuni hanno l'uno o l'altro - e nelle specie in cui sono presenti entrambi, le vie di segnalazione di controllo che determinano quale percorso metabolico intraprendere sono spesso complesse e non ancora completamente comprese.

Il percorso FAS, comune alla maggior parte delle microalghe, è talvolta descritto come aerobico mentre il percorso PKS è definito come anaerobico in quanto non richiede la presenza di O<sub>2</sub> per effettuare le desaturazioni che portano ai prodotti LC-PUFA (19). Nei ceppi in cui sono presenti entrambi, sembra che la via FAS sia implicata nella produzione di FA a catena corta e media, mentre la via PKS è responsabile della maggior parte della sintesi di LC-PUFA (20).

### Strategia di sviluppo e scalabilità

Questa varietà di microalghe produttrici di n-3 LC-PUFA ha destato grande interesse e nel corso degli anni ha portato a un'ampia raccolta di conoscenze scientifiche. Tuttavia, per essere competitivo con i processi a base di pesce e soddisfare

la crescente domanda del mercato, un processo a base di microalghe richiede un'elevata produttività complessiva e un certo grado di scalabilità.

Ovviamente, uno dei fattori più importanti perché abbia successo è la capacità del ceppo di accumulare EPA o DHA; alcuni ceppi possono accumulare lipidi fino al 70% della loro massa secca, a seconda delle condizioni di coltura. In natura questo accumulo di lipidi nelle microalghe rappresenta un metodo per immagazzinare energia in risposta agli stimoli dell'ambiente, spesso un qualche tipo di stress. Ciò significa che in un contesto industriale, il processo produttivo deve essere progettato con lo stesso tipo di stimolo. Il che di solito può essere ottenuto attraverso uno stress dell'organismo in coltura e, sebbene possano essere utilizzati diversi stress come la limitazione dei fosfati o lo stress salino, la limitazione dell'azoto è la più comunemente usata in quanto è relativamente facile da implementare e porta ad apporti lipidici più alti (21,22). Precedentemente è stato ipotizzato che l'assenza di azoto nel mezzo interrompa il processo di divisione cellulare e reindirizzi il flusso di carbonio dalle sintesi proteica e della membrana verso la produzione e l'accumulo di lipidi (20).

Il terreno di coltura contiene i nutrienti di cui le microalghe hanno bisogno per crescere e per produrre lipidi, ma fornisce anche un ambiente

che imita l'habitat naturale di questi organismi.

Molte microalghe sono di origine marina ed è necessario prestare attenzione alla progettazione dei terreni di coltura affinché mantengano le esigenze ambientali delle cellule, ma che al tempo stesso non danneggino le apparecchiature o influenzino le fasi successive del processo. I processi a monte (USP) devono tenere conto anche delle esigenze dei processi a valle (DSP) e ancora, la presenza di cloruro è deleteria quando si sottopongono gli oli altamente insaturi a deodorizzazione a causa del loro effetto catalitico e dell'elevato rischio di sintesi di monocloropropandiole (MCPD). Pertanto, i mezzi per ottenere i parametri fisiologici che hanno un impatto critico sulla qualità del prodotto devono anche essere compatibili con il funzionamento industriale dell'intero processo di produzione dell'olio. A differenza della produzione fotosintetica, la produzione eterotrofa, utilizzando una fonte di carbonio organico in ambiente axenico, consente un maggiore controllo di processo e permette di raggiungere densità cellulari e produttività elevate, con la conseguenza che l'output dei processi a monte è molto più facile da trattare a valle, essendo più coerente nella composizione e richiedendo una minore disidratazione. Anche la scalabilità della produzione eterotrofa (nota in qualche modo erroneamente come fermenta-

zione) è un processo consolidato già dimostrato in molti processi biotecnologici, e in molte aree del mondo esistono siti di fermentazione di grandi dimensioni, anche dove la luce solare non è sufficiente per la produzione fotosintetica. Sebbene sia stato dimostrato che le microalghe crescono utilizzando varie fonti di carbonio come glicerolo, etanolo, acetato o anche fonti a basso costo come la melassa (23), il glucosio rimane il substrato più facilmente metabolizzabile, massimizzando le prestazioni di crescita e la produzione di lipidi.

Riassumendo, i criteri per la compatibilità di un ceppo di microalghe con un processo industriale di produzione di n-3 LC-PUFA da utilizzare come integratore o ingrediente dietetico includono:

- elevata produttività di biomassa;
- accumulo di quantità significative di LC-PUFA in condizioni realizzabili su scala industriale;
- produzione e composizione della biomassa compatibili con i requisiti a valle per l'estrazione e la raffinazione;
- capacità produttiva potenziale disponibile per centinaia o migliaia di tonnellate di prodotto all'anno.

L'utilizzo di una piattaforma di fermentazione ha permesso di ripensare l'intera catena di produzione degli oli microbici per evitare alcuni dei processi meno sostenibili dal

punto di vista ambientale, utilizzati nella produzione di oli di pesce o vegetali. Per esempio, i processi di estrazione senza solventi possono essere utilizzati per liberare l'olio dalla biomassa, evitando l'uso di solventi organici.

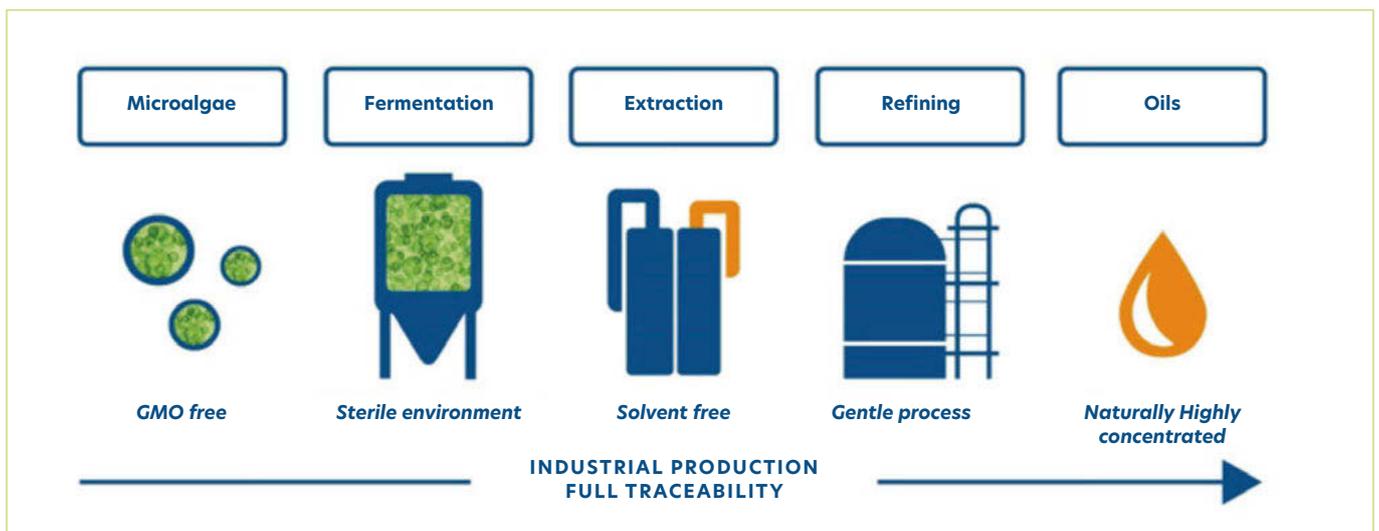
La **Figura 1** rappresenta un classico processo green per la produzione di olio microalgale ricco di n-3 LC-PUFA, che può essere suddiviso in tre fasi sequenziali:

- fermentazione dei ceppi di microalghe (processo a monte), che aumenta la densità cellulare, il contenuto di grassi e la concentrazione di n-3 LC-PUFA;
- estrazione dei grassi (processo a valle) per il recupero dell'olio grezzo, attraverso un processo di estrazione efficiente ed economico;
- raffinazione degli oli grezzi per soddisfare i requisiti dei clienti e delle normative.

Per esempio, per produrre gli oli della linea DHA ORIGINS®, Fermentalg utilizza un ceppo eterotrofo proprietario FCC3204, appartenente al genere *Aurantiochytrium*. Questo ceppo è stato isolato da un ecosistema di mangrovie ed è il risultato di anni di selezione e adattamento non OGM in laboratorio per mettere a punto le sue prestazioni di crescita, l'accumulo di lipidi e il profilo degli acidi grassi. Ha una temperatura di crescita ottimale a circa 30 °C, che consente tassi di crescita di circa 0,45 h<sup>-1</sup> durante la fase di crescita esponenziale.

Sia l'energia sia la fonte di carbonio vengono fornite dallo sciroppo di glucosio durante il processo di produzione fed-batch. Il ceppo è stato adattato a crescere con concentrazioni di cloruro molto basse e, alla fine, è stato possibile eliminare completamente il NaCl dal terreno di coltura, evitando così il

rischio di corrosione delle apparecchiature in acciaio inossidabile utilizzate nel processo di produzione e riducendo i rischi di reazioni chimiche indesiderate durante la raffinazione. Come avviene in molti processi di fermentazione, abbiamo scelto di separare il nostro processo in due parti principali. La prima consiste nell'aumentare la concentrazione della biomassa catalitica (con un livello di lipidi relativamente basso). Durante questa fase, le condizioni di coltura applicate, che comprendono nutrienti non limitanti, elevato apporto di ossigeno e temperature più calde, favoriscono un elevato consumo di glucosio e tassi di accumulo di biomassa. Quando la concentrazione di biomassa è soddisfacente, si applica una carenza di azoto per innescare l'accumulo di lipidi intracellulari sotto forma di TG fino alla fine della fermentazione. Durante le ultime ore di fermenta-



**Figura 1** • Rappresentazione di un processo green legato alla produzione di olio da microalghe. La produzione di oli microalgali raffinati prevede diverse fasi. Il primo passo è la coltura del ceppo di microalghe tramite fermentazione, che comprende una fase di crescita e l'accumulo di lipidi e n-3 LC-PUFA. Al termine della fermentazione, l'olio grezzo viene estratto con un processo senza solventi. L'olio grezzo ottenuto viene poi raffinato con processi delicati per proteggerlo.

zione la temperatura può anche essere diminuita per ottimizzare i livelli di DHA. Combinando il nostro ceppo e le condizioni ottimizzate del nostro processo di fermentazione, è stato possibile raggiungere una produttività complessiva della biomassa di oltre  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , con il DHA che costituisce circa il 70% degli acidi grassi totali (FA); di conseguenza, gli oli contengono anche bassi livelli di acidi grassi saturi.

## PROCESSO DI ESTRAZIONE: DAL BRODO DI FERMENTAZIONE ALL'OLIO GREZZO

### L'ossidazione dell'olio grezzo: una considerazione primaria

Poiché gli oli di microalghe sono molto ricchi di LC-PUFA, presentando una densità molto più elevata di doppi legami, sono anche molto sensibili ai fenomeni di ossidazione. Di conseguenza, il rischio di inizio dell'ossidazione e la cinetica delle fasi di propagazione sono notevolmente aumentati rispetto agli oli vegetali o anche ai normali oli di pesce (24,25). In effetti, con nostro grande disappunto, abbiamo osservato che l'ossidazione dei residui di olio può generare un calore sufficiente a far sì che anche piccole quantità di scarti di lavorazione possano prendere fuoco spontane-

amente! Se non controllate, le reazioni dell'olio durante la lavorazione possono portare a un aumento degli indici ossidativi (valore dei perossidi e della para-anisidina) e alla formazione di sapori indesiderati di pesce e di rancido.

È quindi fondamentale che, durante tutto il processo di estrazione e raffinazione degli oli microalgali, si presti particolare attenzione alla limitazione e al controllo dell'ossidazione e, se necessario, all'integrazione di fasi di processo volte a rimuovere i composti indesiderati, senza danneggiare la qualità dell'olio.

Per i processi di fermentazione, il controllo è tale da poter iniziare dal momento in cui la crescita è completa e le cellule non hanno più bisogno di ossigeno. L'uso di azoto e antiossidanti fin dalle prime fasi del raccolto ha un effetto benefico sulla qualità dell'olio, mentre il vuoto può essere utilizzato anche durante la raffinazione per evitare il contatto con l'ossigeno. Queste precauzioni sono ancora più rilevanti quando sono presenti fattori pro-ossidativi, come nel caso di un processo di estrazione acquosa. In questo caso, l'olio grezzo sarà a contatto con il terreno di coltura contenente tutti i composti utilizzati per la crescita della biomassa microalgale, ma mentre numerosi ceppi necessitano di ferro o tracce di rame per la crescita, questi metalli sono anche noti per avviare le reazioni di ossidazione degli n-3 LC-PUFA.

### Disidratazione per facilitare l'estrazione dell'olio

A causa delle loro dimensioni, dell'ambiente di crescita e della miscela di diversi lipidi, le microalghe presentano sfide uniche quando si tratta dell'estrazione dei loro oli e i classici processi di semi oleosi (per esempio, pressatura o estrazione solido/liquido) non possono essere applicati. Sono state così sviluppate nuove tecniche specifiche per le alghe.

Al momento della raccolta, la biomassa microalgale ha un contenuto di acqua molto elevato proveniente dal mezzo di coltura (che può essere superiore al 90% del totale) e quindi, una volta prodotta una biomassa ricca di lipidi con tutti i parametri desiderati (per esempio, peso delle cellule secche, contenuto di grassi, concentrazione di n-3 LC-PUFA), la prima fase del recupero dell'olio grezzo è spesso una riduzione del contenuto di acqua.

Per aumentare la densità delle cellule e facilitare l'ulteriore recupero dell'olio si possono utilizzare diversi metodi, tra cui la flocculazione, la filtrazione e la centrifugazione (26). L'essiccazione completa utilizzando un essiccatore a tamburo, un essiccatore sottovuoto o un essiccatore a spruzzo, per esempio, può essere un prerequisito per l'estrazione con solvente dei lipidi, ma il fabbisogno energetico rappresenta un importante costo aggiuntivo e spesso aumenta significativamente l'im-

patto ambientale del processo riducendone la sostenibilità a causa dell'influenza della produzione di energia (27).

Inoltre, i lipidi ricchi di LC-PUFA, che sono il motivo principale della produzione delle alghe, sono molto sensibili all'ossidazione. Le alte temperature richieste per l'evaporazione dell'acqua, spesso in un flusso d'aria, impongono un rischio aggiuntivo di ossidazione e i lipidi estratti dopo l'essiccazione tendono ad avere una qualità inferiore.

### La lisi cellulare come ausilio nell'estrazione dell'olio

La parete cellulare o la membrana delle microalghe possono rappresentare una barriera significativa all'estrazione dell'olio e la lisi cellulare è spesso parte integrante del processo di estrazione, anche quando si utilizzano solventi (28). Le dimensioni microscopiche delle microalghe sono notevolmente inferiori a quelle dei semi di girasole o di colza e rendono inadatte le tradizionali apparecchiature di tritatura e spremitura; sono necessarie altre tecniche per rompere le cellule e liberare l'olio.

Per rompere la parete cellulare e liberare i lipidi racchiusi nella biomassa si utilizzano tecniche meccaniche come la macinazione con le sfere, la disgregazione assistita da microonde, gli ultrasuoni e l'omogeneizzazione ad alta pressione, oppure la lisi chimica o enzimatica.

L'estrazione con tecniche delicate, come quella enzimatica, è spesso la pratica più efficiente in assoluto, poiché la disgregazione meccanica può spesso portare alla creazione di emulsioni la cui destabilizzazione rappresenta una problematica (29) che può portare a una riduzione della resa e a un aumento dell'ossidazione dell'olio.

Poiché le membrane cellulari delle microalghe sono composte principalmente da proteine e polisaccaridi, le proteasi e le carboidrasi vengono ampiamente utilizzate in letteratura e su scala industriale, grazie appunto alla loro capacità di idrolizzare le strutture macromolecolari all'interno della parete cellulare e della membrana (30) e al loro costo relativamente basso.

La scelta dell'enzima(i) e le condizioni di reazione vengono adattate al tipo di alga, per ottenere la massima efficacia contro i tipi di strutture che si trovano nella cellula. Per esempio, i lipidi di *Scenedesmus* sp. sono stati estratti ad alta velocità (86%) a 30-50 °C e pH 3,5-4,5 utilizzando una miscela di cellulasi, pectinasi ed emicellulasi. Il controllo del contenuto di sostanza secca, della temperatura e della concentrazione di enzimi sono stati fondamentali per ottenere rese elevate (31).

L'utilizzo di cellulasi e proteasi ha reso possibile l'estrazione di un terzo o della metà dei lipidi da *Chlorella vulgaris*, *Nannocloropsis* sp. e *Scenedesmus dimorphus*, ma è stato

necessario ridurre il pH, ottimizzare la velocità dell'enzima e prolungare la durata della lisi (32).

Alcuni tipi di cellule possono essere lisate solo con le proteasi, per esempio l'olio da *Schizochytrium* sp. può essere estratto utilizzando una proteasi alcalina (3%), a 55 °C per 9 ore (30).

### Recupero dei lipidi tramite solvente: un processo di estrazione solido/liquido

I processi convenzionali per il recupero dei lipidi intracellulari mediante solventi organici sono ampiamente descritti in letteratura (29,33,34). Tuttavia, queste tecniche presentano problemi di sicurezza che richiedono zone specializzate a prova di esplosione e l'energia richiesta per l'essiccazione e il recupero del solvente è elevata. Le tracce di esano, etanolo o altri solventi negli estratti di olio a uso alimentare, pur non essendo in genere mai a livelli dannosi, sono comunque non ben percepiti dai consumatori e i processi "senza solventi" conferiscono ai prodotti un ulteriore vantaggio sul mercato. Laddove possibile, quindi, il mercato si sta allontanando dall'estrazione con solventi, anche se per alcune miscele ricche di lipidi polari questa operazione è ancora inevitabile.

Un metodo alternativo di estrazione con solventi è l'uso di fluidi supercritici. Spesso si utilizza la CO<sub>2</sub> come solvente primario, e questo tipo di estrazione è considerato più "verde"

e “senza solventi”, poiché non lascia residui nel materiale estratto.

La CO<sub>2</sub> supercritica è già utilizzata per molti tipi di piante aromatiche, frutti esotici e spezie, il più delle volte per estrarre molecole antiossidanti, a dimostrazione del fatto che questo tipo di processo è applicabile a molecole sensibili (35). Potrebbe essere necessario l'uso di un co-solvente come l'etanolo per estrarre molecole più polari e la coestrazione con scCO<sub>2</sub>/etanolo può essere applicate al residuo vegetale per recuperare l'olio che ha resistito al tradizionale processo di estrazione a monte (36). A causa delle elevate pressioni in gioco, i costi di capitale delle attrezzature per l'estrazione supercritica sono elevati e quindi questo processo è attualmente riservato a molecole di valore molto elevato, ma alcuni gruppi stanno studiando altri solventi supercritici al fine di ridurre i costi e rendere le tecniche più accessibili (37).

La produzione di oli ricchi di LC-PUFA da microalghe fa parte di un passaggio verso un approvvigionamento più sostenibile e l'uso di solventi organici per l'estrazione microbica dell'olio, percepito come contrario a questo approccio, viene gradualmente eliminato ove possibile.

### **Recupero dei lipidi senza essiccazione: un processo di estrazione liquido/liquido**

Per le biomasse ricche di lipidi non polari, un'alternativa è quella di

rompere le cellule in un ambiente acquoso e separare l'olio rilasciato. L'ambiente acquoso della miscela cellulare lisata è complesso e contiene molecole sia derivate dal terreno di coltura sia dal contenuto della cellula.

Sebbene sia noto che olio e acqua non si mescolano tra loro, questa complessa miscela comprende peptidi, lipidi polari e non polari e carboidrati, molti dei quali possono agire per stabilizzare le emulsioni, inibendo la facile separazione ed estrazione delle goccioline di olio dalle cellule.

Fortunatamente, in alcuni casi queste sembrano essere stabilizzate principalmente da proteine e residui proteici e le proteasi possono contribuire alla destabilizzazione dell'emulsione. Per esempio, in un recente studio (38), l'aumento del rapporto liquido-solido, della concentrazione dell'enzima e del tempo di reazione aumenta l'attività della papaina sulle cellule di *Schizochytrium* sp. e migliora il rapporto tra olio non emulsionato ed emulsionato, favorendo di conseguenza la disponibilità di olio per l'estrazione. Fermentalg, insieme ad altri produttori leader di oli da *Thraustochytriaceae*, ha sviluppato un proprio metodo di lisi enzimatica seguita da risoluzione dell'emulsione, che ora viene utilizzato di routine a livello industriale per separare l'olio da colture di decine o centinaia di migliaia di litri alla volta.

L'estrazione in ambiente acquoso significa anche che l'olio si trova in una condizione di stretto contatto con diversi composti pro-ossidativi, come ioni metallici o ossigeno disciolto.

Come accennato in precedenza, gli LC-PUFA sono particolarmente sensibili all'ossidazione e la presenza di questi composti potrebbe innescare reazioni di ossidazione che porterebbero alla produzione di un olio ossidato, non conforme ai requisiti dei clienti e alle normative, e con qualità organolettiche compromesse. Pertanto, dopo il rilascio dei lipidi, il tempo di contatto tra olio e acqua deve essere ridotto al minimo per proteggere i LC-PUFA nel miscela grezza grezzo dall'ossidazione.

La separazione tra olio e acqua viene generalmente effettuata con i classici metodi liquido/liquido, come la centrifugazione. Durante questi processi, il contatto con l'ossigeno dell'aria deve essere evitato utilizzando un gas inerte, tipicamente azoto, o riempiendo i serbatoi e i contenitori con procedimenti sotto vuoto (39).

In alcuni casi, soprattutto se l'estratto è ricco di lipidi polari, la forma finale del prodotto può essere un estratto grezzo.

Tuttavia, per altri oli, soprattutto quelli a prevalenza di trigliceridi, si ricorre a una fase di raffinazione per migliorare ulteriormente la qualità dell'olio e garantirne la stabilità a lungo termine.

## RAFFINAZIONE DELL'OLIO DI ALGHE GREZZO: UNA FASE DI PURIFICAZIONE DELL'OLIO

Tutti gli oli grezzi (vegetali, animali o algali), a eccezione degli oli vergini e delle miscele lipidiche ad alto contenuto di lipidi polari, vengono raffinati per migliorare le proprietà organolettiche (aspetto, odore, sapore) e la sicurezza degli oli commestibili. In particolare, i processi di raffinazione sono utilizzati per rimuovere i contaminanti chimici (per esempio, pesticidi, metalli pesanti, molecole ad alto peso molecolare), le molecole che possono influenzare il processo di raffinazione (acidi grassi liberi, fosfolipidi (PL), monoglicerolo) o che influiscono sull'aspetto visivo dell'olio (cere, esteri di cera, TG altamente saturi). Il livello di raffinazione richiesto può essere determinato dalle aspettative del mercato o dalle normative relative all'uso finale (come alimenti per l'infanzia, alimenti e bevande o integratori alimentari). Il processo di raffinazione di un olio di alghe grezzo inizia con una fase di sbiancamento in cui gli agenti sbiancanti (terre e/o carboni attivi) rimuovono alcuni pigmenti, prodotti di ossidazione secondaria e tracce di PL e metalli, mediante reazioni di adsorbimento molecolare (40). Grazie alla loro attivazione, le terre sbiancanti acide possono decomporre anche i perossidi in molecole

più piccole (per esempio, aldeidi, chetoni, acidi) (41,42), che possono essere rimossi in seguito per mezzo dell'assorbimento su argille, riducendo ulteriormente l'indice ossidativo dell'olio. Gli agenti sbiancanti vengono rimossi a loro volta con una semplice fase di filtrazione condotta sotto azoto.

Non tutti i composti colorati devono essere rimossi. L'olio grezzo estratto dalle alghe può spesso essere altamente pigmentato a causa dell'accumulo di elevate quantità di carotenoidi. Per alcune specie di *Thraustochytriaceae* si tratta principalmente di astaxantina e  $\beta$ -carotene che possono essere mantenuti nell'olio durante il processo di estrazione. I carotenoidi sono importanti antiossidanti naturali che reagiscono come scavenger di ossigeno e radicali reattivi e come attenuanti dell'irradiazione UV (43,44). È stato ipotizzato che durante la fermentazione i carotenoidi aumentino nella fase di accumulo dei lipidi cellulari, per proteggere i PUFA dalle reazioni di ossidazione (20). La conservazione di questi composti durante la decolorazione è quindi un ulteriore espediente per proteggere gli oli ricchi di PUFA dall'ossidazione. Utilizzando diversi parametri di raffinazione è possibile produrre, a partire da un unico olio grezzo di alghe, oli raffinati di colori diversi (Figura 2). Così, il DHA ORIGINS® 550-O (olio raffinato arancio; Fermentalg) viene prodotto con un processo di raffina-

zione delicato, che garantisce una qualità elevata e un'ottima esperienza sensoriale, pur conservando i pigmenti. All'estremo opposto, il processo di produzione di DHA ORIGINS® 550-Y (olio giallo raffinato; Fermentalg) consiste nella rimozione totale dei carotenoidi durante la fase di sbiancamento, pur garantendo gli stessi obiettivi qualitativi e sensoriali.

Diversi gruppi di ricerca hanno dimostrato che i ceppi di *Thraustochytriaceae* sono in grado di produrre steroli e squalene durante la fase esponenziale della fermentazione (20), in particolare stigmasterolo, colesterolo ed ergosterolo. Questi steroli, insieme ai TG con alti livelli di FA saturi, possiedono un elevato punto di fusione e quindi rischiano di cristallizzare a temperatura ambiente, con conseguente riduzione della limpidezza dell'olio. Per le applicazioni in cui la limpidezza dell'olio è importante, questi composti ad alto punto di fusione vengono rimossi mediante un processo di frazionamento, che consiste nel raffreddamento graduale per controllare la cristallizzazione di questi componenti nell'olio, seguito dalla loro rimozione mediante filtrazione a bassa temperatura.

Il processo di raffinazione dell'olio da alghe termina con una fase di deodorazione il cui scopo è rimuovere i composti volatili a basso peso molecolare, mediante distillazione in corrente di vapore ad alta temperatura (180-200 °C) e sotto vuoto molto

elevato (<5 mbar). Durante questa fase finale, i composti che causano cattivi sapori (per esempio, aldeidi, chetoni) derivanti dalla degradazione di lipidi e proteine, gli FFA residui e i pigmenti rimanenti vengono volatilizzati, migliorando così le proprietà organolettiche dell'olio raffinato. Per facilitare l'approvazione da parte dei consumatori, l'olio deodorato ottenuto deve avere la minore intensità possibile sia di odore sia di sapore, poiché una delle principali critiche che riguardano gli integratori di omega-3, è la percezione di un retrogusto di pesce o di esalazioni di pesce.

Nel caso di oli altamente ricchi di LC-PUFA, come gli oli da microalghe, è necessario prestare particolare attenzione alla temperatura di deodorazione. A temperature superiori a 200 °C molti composti sensibili, tra cui EPA, DHA e antiossidanti (tocoferoli, carotenoidi), vengono degradati per ciclizzazione, decomposizione e polimerizzazione (45) e quindi la deodorazione idealmente

dovrebbe essere effettuata a temperature più basse. In questo modo si riduce anche il rischio di formazione di MCPD e di esteri glicidici (GE) durante il processo.

Al termine del processo di raffinazione, l'olio raffinato può essere integrato con diversi antiossidanti, come tocoferoli, ascorbil palmitato ed estratto di rosmarino, per migliorarne la conservazione e garantire la migliore esperienza sensoriale dell'olio per tutta la sua validità.

## CONCLUSIONI

Le microalghe sembrano essere la soluzione migliore per garantire la crescente domanda di integrazione di acidi grassi omega-3 nell'alimentazione umana e animale. I processi di produzione sono ormai ampiamente riconosciuti come in grado di fornire omega 3 di alta qualità e sicurezza, con un basso impatto sull'ambiente. Gli studi scientifici e il know-how alla base delle microal-

ghe stanno aprendo la strada verso un pianeta più sostenibile, preservando le forme di vita sott'acqua e la biodiversità degli oceani.

**Conflitto di interessi:** Anthony Sehl, Emma Caderby, Sammy Bouhouda, Hywel Griffiths e Sonia Da Rocha Gomes sono dipendenti di Fermentalg.

## BIBLIOGRAFIA

1. Dyerberg J, Bang HO, Hjorne N. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am J Clin Nutr.* 1975;28:958-966.
2. Dyllal SC, Michael-Titus AT. Neurological benefits of omega-3 fatty acids. *NeuroMol Med.* 2008;10:219-235.
3. Riediger ND, Othman RA, Suh M, Moghadasian MH. A systemic review of the roles of n-3 fatty acids in health and disease. *J Am Diet Assoc.* 2009;109:668-679.
4. Calder PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man. *Biochem Soc Trans.* 2017;45:1105-1115.



**Figura 2** • Oli grezzi e raffinati della gamma DHA ORIGINS® 550 (Fermentalg). Da un unico olio grezzo è stato possibile ottenere oli raffinati diversi in termini di colore: (A) olio algale grezzo; (B) olio arancione raffinato (DHA ORIGINS® 550-O); (C) olio decolorato raffinato (DHA ORIGINS® 550-Y).

5. Saini RK, Keum Y-S. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: dietary sources, metabolism, and significance - A review. *Life Sci.* 2018;203:255-267.
6. Burdge GC, Wootton SA. Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. *Br J Nutr.* 2002;88:411-420.
7. Arterburn LM, Hall EB, Oken H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr.* 2006;83:1467S-1476S.
8. Blanchard H, Pédrone F, Boulier-Monthéan N et al. Comparative effects of well-balanced diets enriched in  $\alpha$ -linolenic or linoleic acids on LC-PUFA metabolism in rat tissues. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2013;88:383-389.
9. Dubuisson C, Carrillo S, Dufour A et al. The French dietary survey on the general population (INCA3) - French Agency on Food, Environmental and Occupational Health and Safety (ANSES) (External scientific report No. EFSA-Q-2011-01277). European Food Safety Authority. 2017.
10. Astorg P-O, Bognoux P, Calvarin J. Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras - Version intégrant les modifications apportés par l'erratum du 28 juillet 2011. 2011.
11. Avis et rapport de l'Anses sur la troisième étude individuelle nationale des consommations alimentaires - INCA 3 (Rapport d'expertise collective No. Saisine 2014-SA-0234). Paris: ANSES. 2017.
12. GOED Omega-3. 2020 Global EPA and DHA Omega-3 Ingredient MARKET Report - 2018 and 2019 data and forecasts through 2022. 2020.
13. Sehl A. Impact de la forme moléculaire et supramoléculaire de vectorisation des acides gras polyinsaturés n-3 sur leur biodisponibilité : étude physico-chimique et in vivo chez le rat. Thèse de doctorat, Bordeaux. Kang JX. 2011. Omega-3: a link between global climate change and human health. *Biotechnol Adv.* 2019;29:388-390.
14. Kang JX. Omega-3: a link between global climate change and human health. *Biotechnol Adv.* 2011;29:388-390.
15. Doughman SD, Krupanidhi S, Sanjeevi CB. Omega-3 fatty acids for nutrition and medicine: considering microalgae oil as a vegetarian source of EPA and DHA. *Curr Diabetes Rev.* 2007;3:198-203.
16. Harwood JL, Guschina IA. The versatility of algae and their lipid metabolism. *Biochimie.* 2009;91:679-684.
17. Chang G, Luo Z, Gu S et al. Fatty acid shifts and metabolic activity changes of *Schizochytrium* sp. S31 cultured on glycerol. *Bioresour Technol.* 2013;142:255-260.
18. Fan K-W, Jiang Y, Faan Y-W, Chen F. Lipid characterization of mangrove thraustochytrid - *Schizochytrium mangrovei*. *J Agric Food Chem.* 2007;55:2906-2910.
19. Hu F, Clevenger AL, Zheng P et al. Low-temperature effects on docosahexaenoic acid biosynthesis in *Schizochytrium* sp. TIO01 and its proposed underlying mechanism. *Biotechnol Biofuels.* 2020;13:172.
20. Morabito C, Bournaud C, Maës C. The lipid metabolism in Thraustochytrids. *Prog Lipid Res.* 2019;76:101007.
21. Ren L-J, Sun L-N, Zhuang X-Y et al. Regulation of docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp.: effect of nitrogen addition. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2014;37:865-872.
22. Sun X-M, Ren L-J, Zhao Q-Y, Ji X-J, Huang H. Microalgae for the production of lipid and carotenoids: a review with focus on stress regulation and adaptation. *Biotechnol Biofuels.* 2018;11:272.
23. Ren L-J, Sun L-N, Zhuang X-Y et al. Regulation of docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp.: effect of nitrogen addition. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2014;37:865-872.
24. Frankel EN, Satué-Gracia T, Meyer AS, German JB. Oxidative stability of fish and algae oils containing long-chain polyunsaturated fatty acids in bulk and in oil-in-water emulsions. *J Agric Food Chem.* 2002;50:2094-2099.
25. Jacobsen C. Challenges when developing omega-3 enriched foods. *OCL.* 2010;17:251-258.
26. Molina Grima E, Belarbi E-H, Acien Fernández FG et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnol Adv.* 2003;20:491-515.
27. Lardon L, Hélias A, Sialve B et al. Life-cycle assessment of biodiesel production from microalgae. *Environ Sci Technol.* 2009;43:6475-6481.
28. Halim R, Harun R, Danquah MK, Webley PA. Microalgal cell disruption for biofuel development. *Appl Energy.* 2012;91:116-121.
29. Vian MA, Tanzi CD, Chemat F. Techniques conventionnelles et innovantes, et solvants alternatifs pour l'extraction des lipides de micro-organismes. *OCL.* 2013;20:D607.
30. Lin Y, Xie X, Yuan B. Optimization of enzymatic cell disruption for improving

- lipid extraction from *Schizochytrium* sp. through response surface methodology. *J Oleo Sci.* 2018;67:215-224.
31. Huo S, Wang Z, Cui F et al. Enzyme-assisted extraction of oil from wet microalgae *Scenedesmus* sp. G4. *Energies.* 2015;8:8165-8174.
32. Liang K, Zhang Q, Cong W. Enzyme-assisted aqueous extraction of lipid from microalgae. *J Agric Food Chem.* 2012;60:11771-11776.
33. Medina AR, Grima EM, Giménez AG, González MJ. Downstream processing of algal polyunsaturated fatty acids. *Biotechnol Adv.* 1998;16:517-580.
34. Dvoretzky D, Dvoretzky S, Temnov M et al. Enhanced lipid extraction from microalgae *Chlorella vulgaris* – Biomass: experiments, modelling, optimization. *Chem Eng Trans.* 2016;49:175-180.
35. Herrero M, Cifuentes A, Ibañez E. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae: A review. *Food Chem.* 2006;98:136-148.
36. Bardeau T, Savoie R, Cansell M, Subra-Paternault P. Recovery of oils from press cakes by CO<sub>2</sub>-based technology. *OCL.* 2015;22:D403.
37. Catchpole OJ, Tallon S, Dyer PJ. Integrated supercritical fluid extraction and bioprocessing. *Am J Biochem Biotechnol.* 2012;8:263-287.
38. Xue Z, Wan F, Yu W et al. Extraction and evaluation of edible oil from *Schizochytrium* sp. using an aqueous enzymatic method. *Front Agric Sci Eng.* 2021;8:623-634.
39. Winwood RJ. Recent developments in the commercial production of DHA and EPA rich oils from micro-algae. *OCL.* 2013;20:D604.
40. Vaisali C, Charanyaa S, Belur PD, Regupathi I. Refining of edible oils: a critical appraisal of current and potential technologies. *Int J Food Sci Technol.* 2015;50:13-23.
41. Zschau W. Bleaching of edible fats and oils. *Eur J Lipid Sci Technol.* 103: 505-551.
42. Silva SM, Sampaio KA, Ceriani R. 2014. Effect of type of bleaching earth on the final color of refined palm oil. *LWT – Food Sci. Technol.* 10th SLACA – Food Science Impact on Nutrition and Health. 2001;59:1258-1264.
43. Subagio A, Morita N.. Instability of carotenoids is a reason for their promotion on lipid oxidation. *Food Res Int.* 2001;34:183-188.
44. Guerin M, Huntley ME, Olaizola M. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends Biotechnol.* 2003;21:210-216.
45. Fournier V, Destailhats F, Juanéda P. Thermal degradation of long-chain polyunsaturated fatty acids during deodorization of fish oil. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2006;108:33-42.

## Autori

F. MARIANI

Istituto per i Sistemi Biologici-  
CNR, Area della Ricerca Roma1,  
Montelibretti (Roma)

francesca.mariani@cnr.it

# La riscoperta dell'Officina: dal campo all'esperimento

La ricerca di estratti vegetali  
antimicrobici dell'Istituto  
per i Sistemi Biologici-CNR

## Riassunto

L'Istituto per i Sistemi Biologici studia, con un approccio multidisciplinare, le proprietà terapeutiche delle piante medicinali. Per svolgere queste ricerche abbiamo deciso di dare vita a un Orto dei Semplici. Una porzione dell'Orto è dedicata alla crescita delle specie spontanee commestibili, o fitoalimurgiche. In campo, per la domesticazione delle piante selvatiche, la gestione prevede interventi minimi, per simulare al meglio le condizioni che esse incontrano negli habitat naturali. È proprio in risposta agli stress che affrontano in natura, infatti, che le piante producono i metaboliti secondari che si sono rivelati così ricchi di proprietà terapeutiche per l'uomo. Oggi l'Orto ospita più di cento specie medicinali e partecipa alla rete di collezioni biologiche del CNR denominata "Biomemory". Le piante, o le loro parti, vengono raccolte nel periodo in cui è noto che siano più ricche di principi attivi. Tali matrici vegetali vengono quindi macerate in diversi solventi (acquoso, alcolico, idroalcolico) o sottoposte a distillazione in corrente di vapore, ricavandone gli oli essenziali (OE). Tali estratti vengono poi analizzati per la composizione metabolica e per le proprietà antimicrobiche.

Nell'articolo verranno illustrati i principali protocolli sperimentali adottati nelle nostre ricerche e alcuni esempi degli studi condotti sulle proprietà antimicrobiche di piante medicinali cresciute nell'Orto dei Semplici.

## INTRODUZIONE

L'antibiotico-resistenza (ABR) batterica è una minaccia emergente **(1)**. I batteri patogeni e opportunisti, sempre più spesso associati alle infezioni nosocomiali, causano complicazioni nel corso postoperatorio. Ciò è ancora più preoccupante se si considerano gli approcci della medicina moderna che inducono la soppressione immunitaria, l'uso massivo, negli ultimi cinquant'anni, di antibiotici e lo sbilanciamento di nutrienti nella dieta occidentale.

## Parole chiave

Piante medicinali

Estratti idroalcolici

Oli essenziali

*Staphylococcus aureus*

Antibiotico-resistenza

D'altra parte, nel corso degli ultimi venti anni, molte persone nei Paesi occidentali stanno riscoprendo la fitoterapia, che sfuma il confine tra alimenti e medicine - un confine che, in molte culture di Paesi terzi, non è mai stato tracciato definitivamente. Le Piante Aromatiche e Medicinali (PAM) e le Piante Selvatiche Commestibili (PSC) e le loro proprietà antimicrobiche, nel nostro Paese sono note fin dall'antichità e oggi un numero crescente di persone le riscopre come rimedi naturali alle infezioni più comuni (2).

Ciononostante, ancora oggi, uno dei problemi che ostacola la maggiore diffusione del loro uso è l'eterogeneità degli studi scientifici sulle PSC e sulle PAM (3). Eterogeneità che riguarda i protocolli utilizzati nella comunità scientifica, sia per estrarne i principi attivi, sia per analizzare le proprietà antimicrobiche di questi ultimi.

La scelta dell'ISB di seguire la crescita delle PAM, sia coltivate sia selvatiche, dando vita all'Orto dei Semplici, ha coniugato il piacere di godere della bellezza e degli aromi delle piante, con l'opportunità di incrementare la biodiversità nell'Area RM1 del CNR, e la possibilità di controllare le condizioni di crescita delle piante stesse. L'Orto ci permette di prelevare le parti della pianta contenenti i principi attivi nel periodo balsamico, in cui ne sono più ricche, e di conservarne il germoplasma, per la successiva propagazione della specie.

È importante comunque sottolineare che la gestione agronomica prevede interventi minimi, per simulare al meglio le condizioni che le piante incontrano negli habitat naturali.

I Paesi mediterranei sono caratterizzati da una enorme biodiversità e le piante fitoalimurgiche ne costituiscono una larga parte.

Tali piante rappresentano una importante eredità culturale a livello regionale, e, in periodi di carestia, hanno rappresentato per le popolazioni un cruciale complemento alimentare (4), così ricche di micronutrienti importanti per il mantenimento della salute umana e così resilienti ai cambiamenti climatici come studi recenti hanno rivelato (5).

Al prelievo del materiale vegetale segue la produzione degli estratti, seguendo i protocolli della Farmacopea Francese (per le matrici vegetali fresche) e Italiana (per le matrici vegetali secche) e adottando criteri di sostenibilità per i solventi utilizzati.

L'ISB ha finora collezionato una banca di 200 estratti di PAM e PSC, tra i quali estratti alcolici e oli essenziali. Su tali estratti stiamo procedendo con le diverse analisi sul potere antimicrobico delle specie vegetali con cui sono stati prodotti.

In prospettiva, contiamo di allargare la collezione botanica dell'Orto dei Semplici, già consultabile nel sito di Biomemory (<https://biomemory.cnr.it/collections/CNR-ISB-MGH>) e di incrementare le collaborazioni scientifiche sulle importanti proprietà anti-

microbiche di queste piante, ancora troppo poco studiate (3).

## MATERIALI E METODI

### Materiale vegetale

Coltivazione delle Piante nell'Orto dei Semplici, Montelibretti (RM, altitudine: 232 m s.l.m., coordinate geografiche: 42.10548, 12.63750) con interventi agronomici ridotti al minimo: innaffiamento solo nei periodi estivi molto siccitosi, con frequenza ogni 48-72 ore; sfalcio in primavera ogni 10-15 giorni; raccolta del materiale vegetale nel periodo balsamico; collezione dei semi a fine estate (settembre-ottobre).

### Estratti

#### Estratti idroalcolici

Il materiale vegetale di interesse (foglie, fiori, parte aerea, radici o semi) viene pesato, sminuzzato in un mortaio, in presenza di azoto liquido, e messo a macerare in etanolo al 60% per 21 giorni, al buio.

Il rapporto tra pianta e solvente è di 1:5 (20 g in 100 mL). A fine macerazione l'estratto viene filtrato e conservato a -20/-80 °C fino al momento dell'uso, riportando a volume, se necessario, il solvente eventualmente assorbito dalla matrice vegetale.

#### Oli essenziali

Il materiale vegetale di interesse (foglie, fiori o parte aerea) viene ta-

gliato in piccole parti e sottoposto a distillazione in corrente di vapore (con estrattore di oli essenziali Albrigi Spring 12 L) per circa due ore, fino a che la quantità di olio essenziale smette di aumentare in modo significativo.

L'olio essenziale viene quindi conservato a +4 °C in contenitore scuro e con tappo ermetico.

### Specie batteriche

Su batteri ambientali sono stati condotti alcuni studi preliminari per verificare il potere antimicrobico di diversi oli essenziali da utilizzare per la disinfezione delle mani.

I primi esperimenti su batteri patogeni sono stati condotti sul Gram positivo *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) wild type (ATCC 25923) e *S. aureus* Meticillina Resistente (MRSA, ATCC 33591).

Ogni specie batterica è conservata, come stock titolato (Unità Formanti Colonia per millilitro, UFC/mL), a -80 °C, fino al momento dell'uso.

### Saggi antimicrobici

Analisi delle proprietà sanificanti di oli essenziali sulla crescita dei batteri e funghi ambientali.

Saggio su piastra di terreno di crescita Luria-Bertani (LB)-agar. Controllo positivo: indice, medio e anulare della mano destra dopo aver toccato diverse superfici vengono premuti leggermente su una piastra di LB-agar. Dopo 24 e 72 ore a 37 °C si controlla la crescita di batteri e funghi am-

bientali. Campione sperimentale: indice, medio e anulare della mano destra, dopo aver toccato diverse superfici, vengono bagnati con diversi OE, in prove distinte, e poi premuti leggermente su una piastra di LB agar. Dopo 24-72 ore a 37 °C si controlla la crescita di batteri e funghi ambientali.

### Disk-diffusion agar

Misura del diametro dell'area di inibizione della crescita di 24 ore di batteri patogeni, a partire da un dischetto contenente antibiotici (antibiogramma, dischetti Kairo-Safe, contenenti i relativi antibiotici alla MIC - Minimal Inhibitory Concentration) o estratti vegetali (estratti su dischetti sterili Kairo-Safe) (6).

### Inibizione del biofilm

Colture di 96 ore di *S. aureus* in terreno di coltura liquido Mueller-Hinton (MH) vengono effettuate in piastra da 96 pozzetti a fondo piatto. Nelle ultime 24 ore vengono aggiunti, in triplicato, gli estratti vegetali, l'etanolo al 60% e gli antibiotici gentamicina e rifampicina. Alla fine del quarto giorno di coltura la piastra viene sottoposta a tre lavaggi in PBS per rimuovere i batteri planctonici (cresciuti in forma libera nel terreno, e non come biofilm) nel supernatante, e il biofilm viene colorato con Crystal Violet per 10 minuti a temperatura ambiente. Dopo altri tre lavaggi in acqua, il colorante incorporato nel biofilm viene disciolto con etanolo

al 98%, e la densità ottica (OD) letta allo spettrofotometro tra 540 e 600 nm. I rapporti tra le relative OD consentono di quantificare le proprietà inibenti il biofilm dei diversi estratti.

### Analisi della composizione metabolica degli estratti

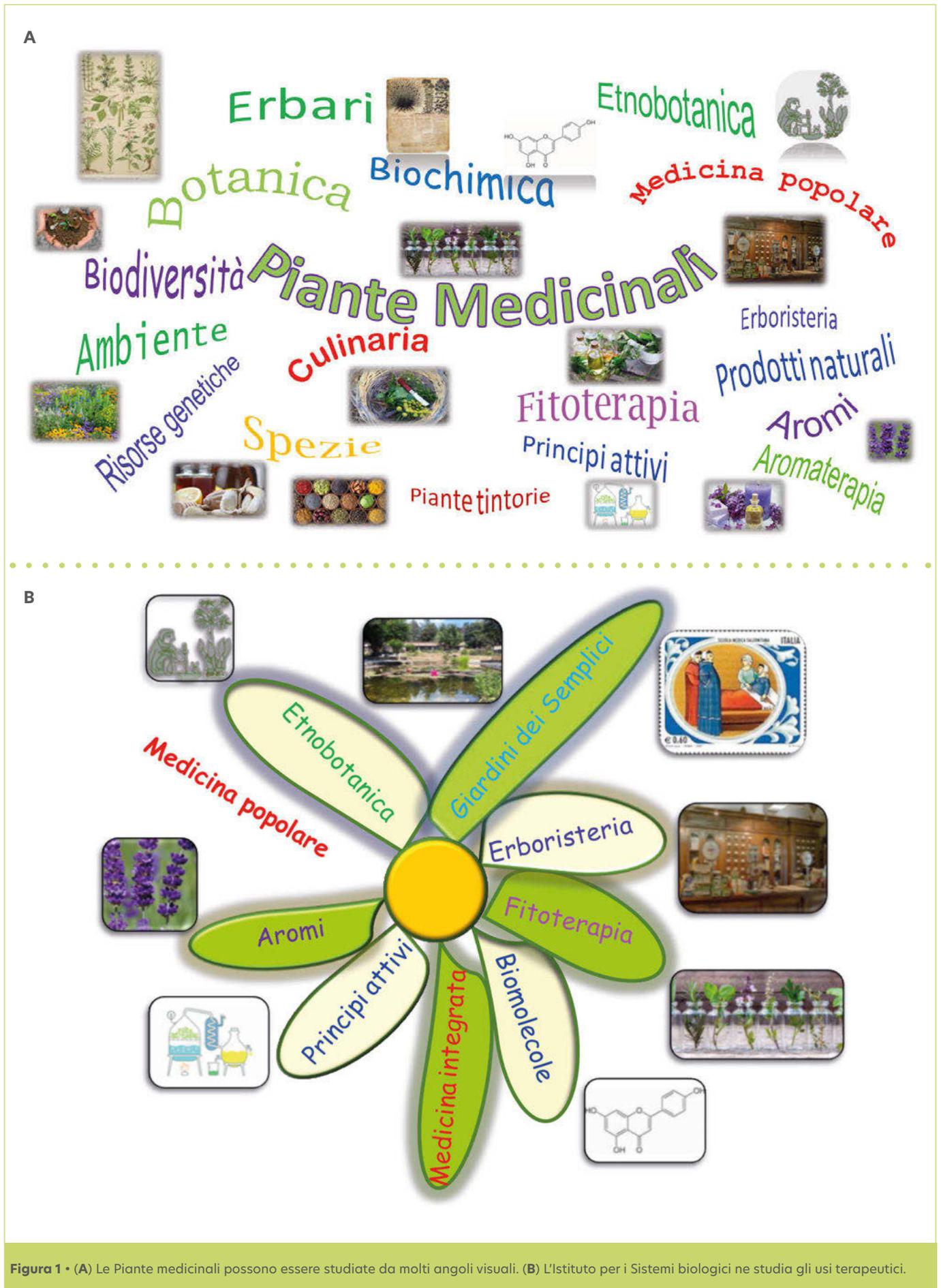
Gli estratti più antimicrobici vengono in seguito caratterizzati per la loro composizione in metaboliti primari e secondari con tecniche di risonanza magnetica nucleare (RMN) e di cromatografia liquida (HPLC) (7).

## RISULTATI

### Creazione Orto dei Semplici (marzo 2020)

La costruzione dell'Orto dei semplici dell'ISB-CNR è iniziata nel febbraio 2020, poco prima della deflagrazione della pandemia mondiale da SARS-CoV-2. Oggi la collezione ospita più di cento specie di piante medicinali aromatiche e fitoalimurgiche, appartenenti a 85 generi e a 37 famiglie botaniche (Figura 1). L'intera collezione vegetale è consultabile nel sito di Biomemory (<https://biomemory.cnr.it/collections/CNR-ISB-MGH>), che viene aggiornato ogni sei mesi.

L'Orto è strutturato in diverse aree (Figura 2A), dedicate alla PAM, alle fitoalimurgiche (Figura 2B), e a una zona di accoglienza per i visitatori (Figura 2C) che ospita anche un laghetto con piante e animali acquatici.





**Figura 2 • (A)** Creazione di un Orto dei Semplici (Istituto Sistemi Biologici, Area RM1 CNR). Collezione di più di 100 specie di piante medicinali, raccolte nel periodo balsamico, quando sono più ricche di principi attivi. Particolare cura viene prestata alle condizioni di crescita delle piante selvatiche della tradizione mediterranea e la gestione della domesticazione viene ridotta al minimo per simulare al meglio le condizioni degli habitat originari. **(B)** Orto selvatico per le specie fitoalimurgiche. **(C)** A sinistra, dettaglio di una zona di accoglienza riservata alla divulgazione scientifica, per scuole primarie e secondarie; a destra, dettaglio del fiore di *Crocus sativus* (Zafferano), da cui sono stati raccolti i tre stigmi rossi per la preparazione di un estratto.

## Raccolta piante per preparazione estratti

Per la maggioranza delle specie ospitate nell'Orto è noto il periodo balsamico, cioè l'intervallo di tempo in cui la pianta produce la maggiore quantità di principi attivi. Il surriscaldamento globale cui assistiamo gioca sicuramente un ruolo importante in tale processo e, per questo, spesso decidiamo di prelevare le parti interessate della pianta in diversi periodi dell'anno, e in diversi anni, data la grande variabilità delle condizioni climatiche che si succedono. Quella che si definisce la matrice vegetale raccolta viene quindi utilizzata per la preparazione dei diversi estratti.

Gli oli essenziali vengono prodotti per distillazione della matrice vegetale in corrente di vapore e costituiscono, nelle piante aromatiche, la porzione dei composti volatili (come i terpeni e le aldeidi).

Gli estratti alcolici, o idroalcolici, vengono preparati facendo macerare la matrice vegetale in etanolo, a diverse concentrazioni (dal 99,8% al 60%). Tali estratti sono molto ricchi di una grande famiglia di composti definiti nel loro insieme polifenoli (i cui principali componenti sono acidi fenolici, cumarine, flavonoidi, stillbeni e lignani) caratterizzati dalla presenza di molteplici gruppi fenolici.

A ogni estratto prodotto viene assegnato un codice univoco, e viene annotato nel file di gestione della bio banca di fitocomplessi, che viene

conservata da +4 °C a -20/-80 °C, a seconda del tipo di estratto. Tali estratti vengono analizzati per le loro proprietà antimicrobiche (virus, batteri e funghi) e immunomodulanti, in diversi modelli sperimentali (Figura 3).

### Analisi del potere antimicrobico

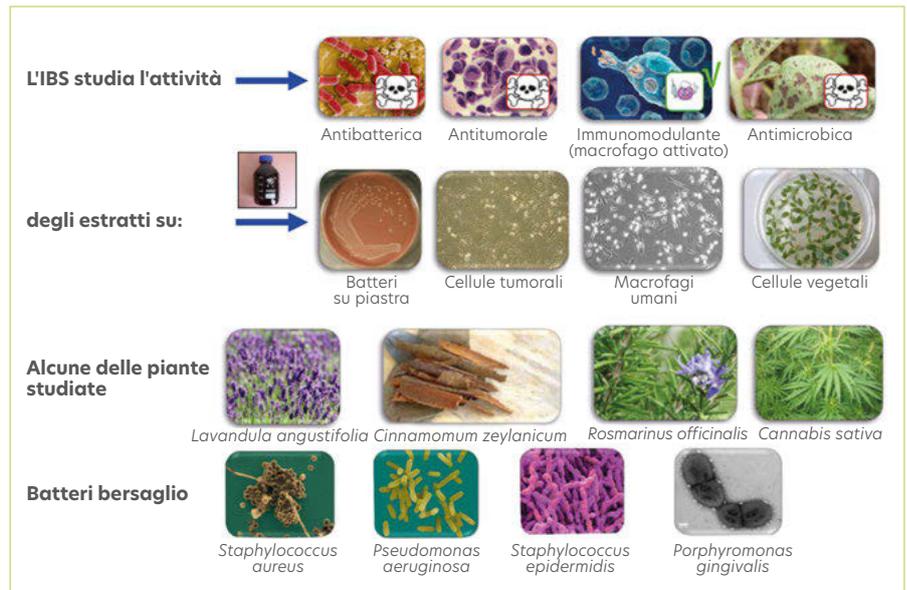
#### Batteri ambientali

Un gruppo di oli essenziali è stato utilizzato per verificarne il potere sanificante su tre dita del palmo della mano destra. Nella Figura 4 viene mostrato il potere antibatterico e antifungino di tutti gli OE analizzati, estratti dalle specie seguenti: *Cinnamomum zeylanicum* (foglie o corteccia), *Pelargonium graveolens*, *Cannabis sativa*, *Citrus lemon*.

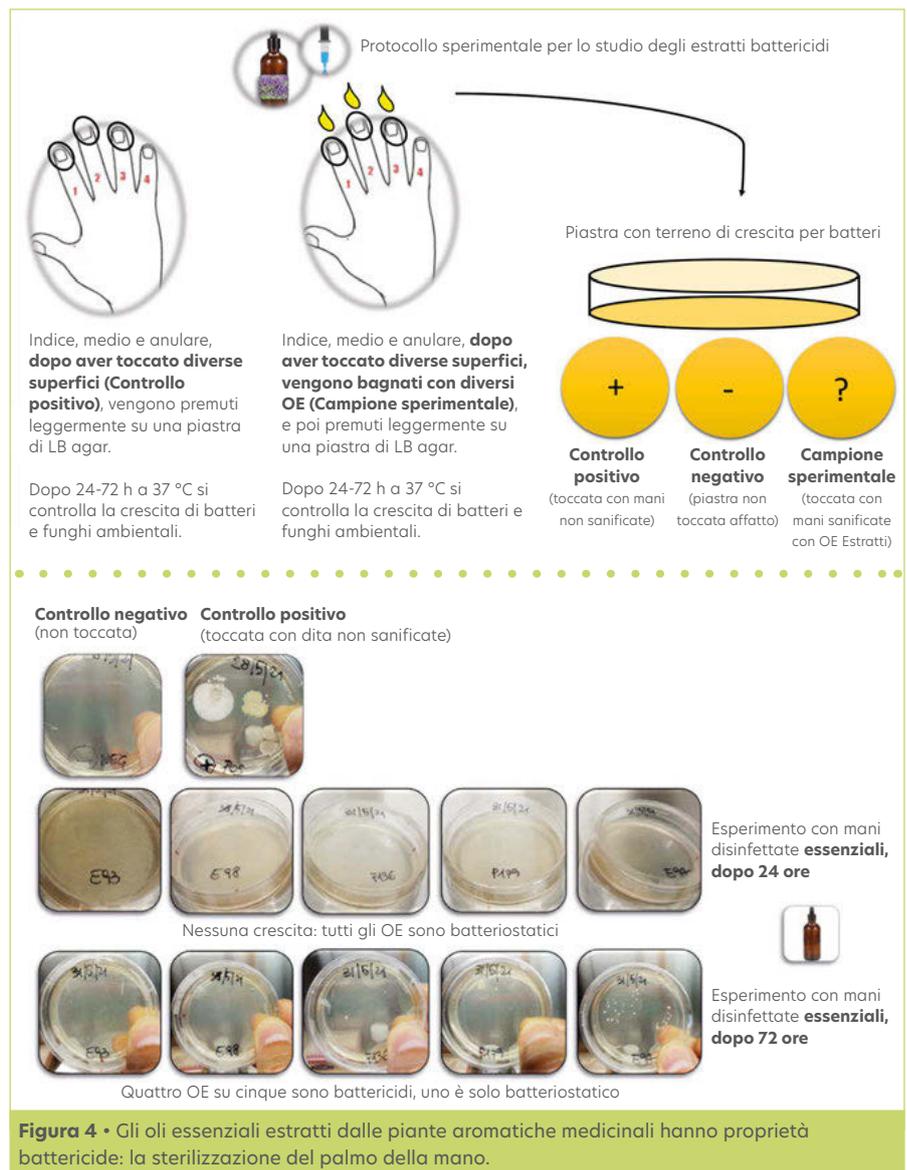
#### Batteri patogeni wild type e antibiotico-resistenti

Nella Figura 5 viene mostrato il principio del saggio di disk-diffusion agar per la determinazione del diametro di inibizione della crescita di batteri patogeni.

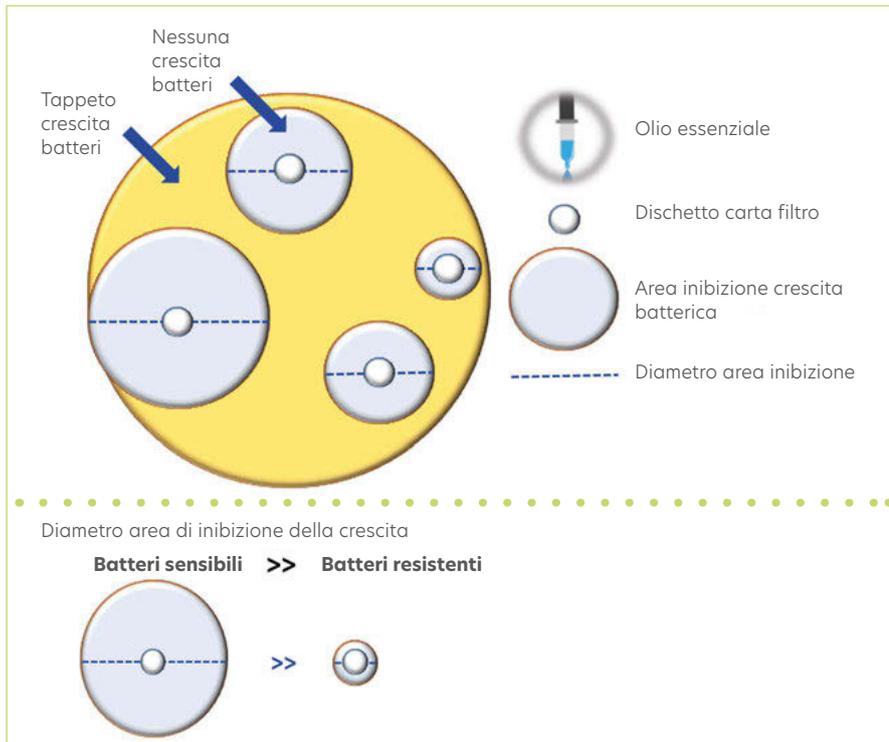
Le due specie patogene in esame sono state sottoposte ad antibiogramma (Figura 6) con sei antibiotici normalmente utilizzati su tali specie batteriche. È importante sottolineare che abbiamo utilizzato due ceppi di collezione (American Type Culture Collection, ATCC) e non isolati clinici da pazienti. Questo conferma quanto le specie batteriche, anche coltivate in terreno sintetico in labo-



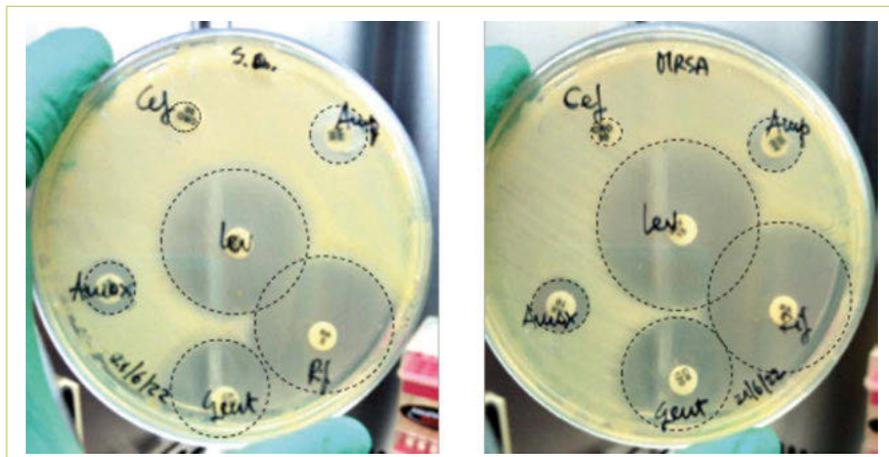
**Figura 3** • Analisi delle proprietà antimicrobiche e immunoadjuvanti delle piante aromatiche medicinali (PAM) e selvatiche commestibili. L'Istituto per i Sistemi Biologici dispone di una biobanca di 200 estratti di PAM e di piante selvatiche commestibili. Gli estratti vengono analizzati per le loro proprietà antimicrobiche e immunoadjuvanti in diversi modelli sperimentali.



**Figura 4** • Gli oli essenziali estratti dalle piante aromatiche medicinali hanno proprietà battericide: la sterilizzazione del palmo della mano.



**Figura 5** • Oli essenziali versus antibiotici. Il vantaggio dell'utilizzo di oli essenziali per debellare le infezioni batteriche risiede proprio nella loro complessa composizione, che non permette ai batteri patogeni di sviluppare resistenze, come nel caso degli antibiotici convenzionali, costituiti prevalentemente da una singola molecola. Maggiore è il potere antibatterico di un OE e maggiore sarà il diametro di inibizione della crescita su una piastra con terreno solido.



Batteri	Amoxicillin 10 (30 mm)	Amoxicillin 30 (36 mm)	Ceftriaxone 30 (23 mm)	Gentamicin 120 (23 mm)	Levofloxacin 15 (28 mm)	Rifampicin 5 (29 mm)
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	12,4	13,8	0	22	33	31,1
MRSA (ATCC 33591)	12,7	12	0	24,5	36,2	32,2

**Figura 6** • Per ciascun antibiotico, viene indicato il diametro di inibizione della crescita atteso per *S. aureus* ATCC 25923. In rosso sono indicati i risultati associati alla resistenza del batterio al relativo antibiotico; in verde sono indicati i risultati associati alla suscettibilità del batterio al relativo antibiotico.

ratorio, nel tempo siano in grado di sviluppare resistenze agli antibiotici più comuni.

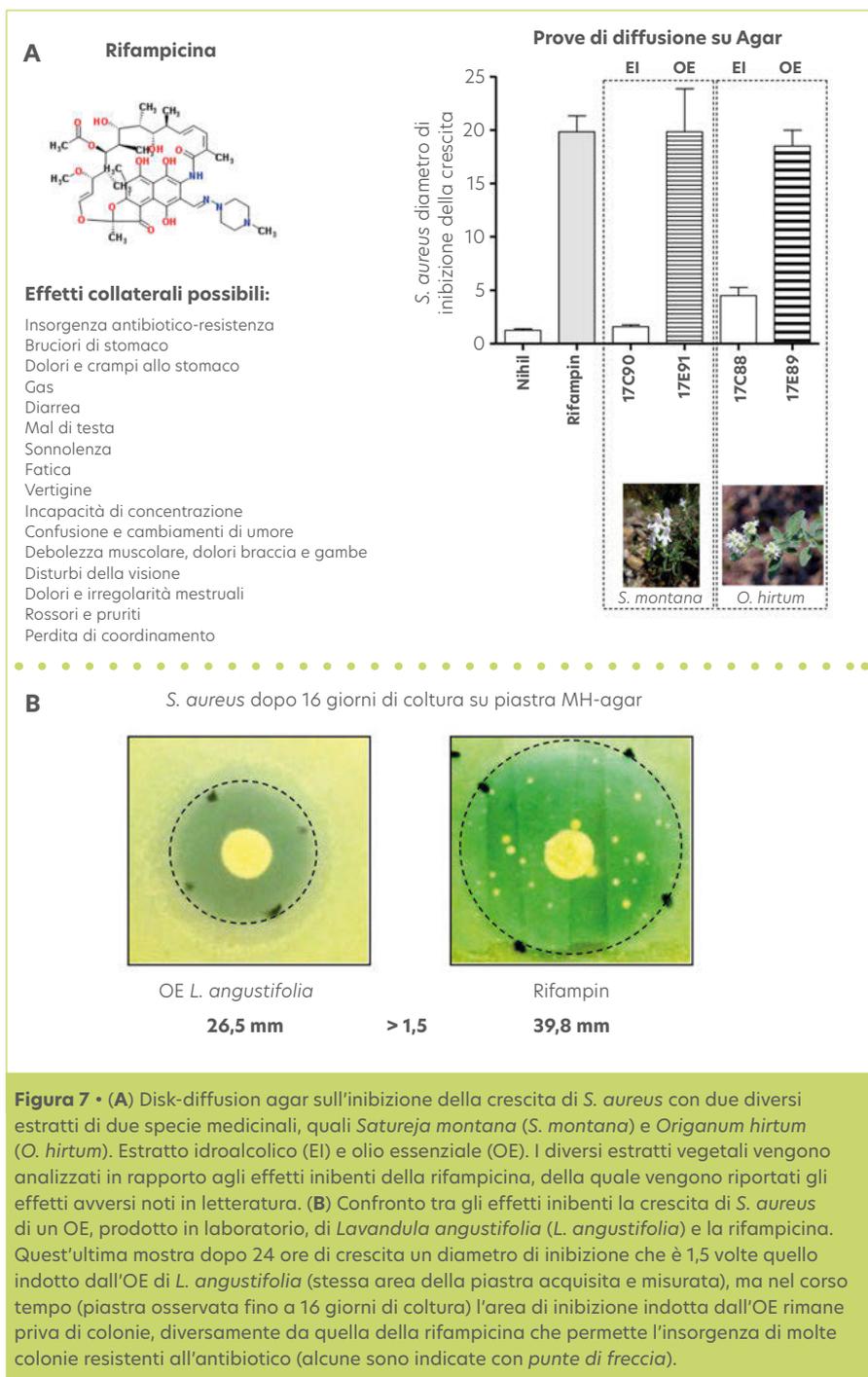
Due specie di PAM sono state utilizzate per paragonarne le attività inibenti dell'estratto idroalcolico

e dell'OE all'antibiotico rifampicina, della quale vengono riportati sulla sinistra gli effetti avversi noti in letteratura, *Satureja montana* e *Origanum hirtum*. Gli OE sono molto più potenti nell'inibizione della crescita di *S. aureus* in confronto agli estratti, per entrambe le specie *S. montana* e *O. hirtum* (dato non pubblicato), come mostrato in **Figura 7A**.

È importante sottolineare che, come mostrato in **Figura 7B** con un OE di *Lavandula angustifolia*, l'effetto inibente degli OE non permette al batterio di sviluppare colonie resistenti, diversamente da quanto succede nella piastra con la rifampicina che, dopo 48-72 ore, mostra la comparsa di diverse colonie resistenti nell'iniziale area di inibizione, pur maggiore di 1,5 volte quella indotta dall'OE (piastra osservata fino a 16 giorni di coltura) (**8**).

## INIBIZIONE DELLA FORMAZIONE DEL BIOFILM

I batteri patogeni che crescono in forma libera nel terreno sintetico di coltura, o nei liquidi biologici durante le infezioni del corpo umano, sono suscettibili agli antibiotici più utilizzati nella pratica clinica. Diversamente, quando gli stessi batteri crescono come una patina compatta sulle superfici, come succede per esempio nei cateteri ospedalieri, definita biofilm, la loro suscettibi-



duzione del biofilm di almeno il 50% nei confronti del solo solvente utilizzato per la preparazione dell'estratto (etanolo al 60%), come mostrato in **Figura 8** (Ramundi et al., Manoscritto in preparazione per la rivista *Foods*).

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il dibattito a proposito dei criteri che la comunità scientifica internazionale dovrebbe adottare per attribuire ai composti vegetali, o Botanicals, la qualità di Generally Recognized As Safe (GRSA), o persino quella di Generally Recognized As Beneficial (GRAB), cioè tali da poterli ritenere generalmente sicuri e benefici, è un dibattito molto vivace. In un suo intervento recente Francesco Visioli riassume bene ciò che meglio caratterizza la specifica attività benefica dei Botanicals nell'uomo (9), che alcuni vorrebbero documentare con criteri farmacologici classici, mentre altri ritengono che, per consentirne l'uso, sia sufficiente la loro storia etnobotanica. Nel suo intervento egli chiarisce bene quanto un composto naturale sia diverso dal farmaco di sintesi, che interagisce con un solo target e che, teoricamente, dovrebbe produrre un solo effetto. I Botanicals sono invece in grado di indurre nell'organismo umano una generale risposta allo stress ossidativo, che riesca a ristabilire l'omeostasi iniziale, l'equilibrio metabolico e la

lità agli stessi antibiotici diminuisce drasticamente e spesso diventa antibiotico-resistenza a uno o più diversi farmaci.

Disporre quindi di estratti vegetali in grado di inibire la formazione del biofilm, con pochi effetti avversi nel paziente, diventa quindi un obiettivo molto rilevante.

Sei specie di PSC o fitoalimurgiche, appartenenti a diverse famiglie botaniche (Asteraceae, Brassicaceae, Lamiaceae, Amaranthaceae e Caryophyllaceae) sono state analizzate per verificarne le proprietà inibenti la formazione del biofilm di *S. aureus*. Tutti gli estratti idroalcolici di tali specie hanno mostrato una ri-

risposta antinfiammatoria. Come a suggerire che i principi attivi delle piante, che esse producono per difendersi dai predatori e dagli stress biofisici, attivano anche nell'uomo una risposta innata alla rottura dell'omeostasi, senza scatenare una reazione incontrollata nell'organismo.

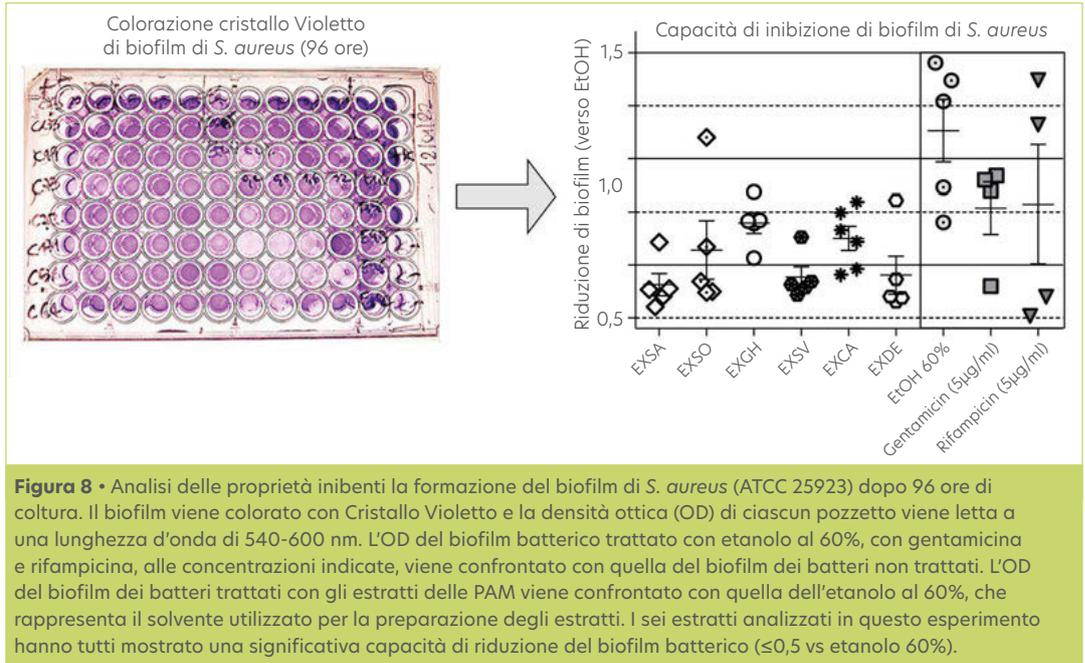
Dobbiamo anche am-

mettere che sappiamo ancora troppo poco di tali composti, e che i dati prodotti sono ancora troppo eterogenei. Il 10% di tutte le piante vascolari sono usate come piante medicinali e si stima che ce ne siano dalle 350.000 alle 500.000 (10). Nello stesso tempo però dobbiamo sottolineare che quello che sappiamo è assolutamente significativo e ci deve spingere ad approfondirne lo studio. Le piante medicinali sono in grado di inibire i batteri sia Gram-negativi sia i Gram-positivi, come anche i funghi. Le loro comuni proprietà antiossidanti esercitano un effetto positivo sul nostro sistema immune, aiutandolo a combattere le infezioni (3). Siamo convinti che proporre la coltura in campo e lo studio sperimentale di molte altre specie medicinali contribuirà all'aumento della biodiversità vegetale, al miglioramento delle abitudini alimentari, e rappresenterà un ulteriore strumento per contra-

stare l'insorgenza di antibiotico-resistenza nei batteri patogeni.

### BIBLIOGRAFIA

- O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. The Review on Antimicrobial Resistance. 2016. Wellcome Trust and HM Government. [https://amr-review.org/sites/default/files/160525\\_Final%20paper\\_with%20cover.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf)
- Heinrich M, Prieto JM. Diet and healthy ageing 2100: will we globalise local knowledge systems?. *Ageing Res Rev.* 2008;7(3):249-274.
- Cappelli G, Mariani F. A Systematic Review on the Antimicrobial Properties of Mediterranean Wild Edible Plants: We Still Know Too Little about Them, but What We Do Know Makes Persistent Investigation Worthwhile. *Foods.* 2021;10(9):2217.
- Zuin MC, Zanin G. Il Giardino Fitoalimurgico per la valorizzazione delle piante spontanee. *Agribusiness Paesaggio e Ambiente.* 9(1);2005.
- Bacchetta et al. *J Ethnopharmacology.* 2016;191:180-187.
- Kirby-Bauer. Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. ASM Conference for Undergraduate Educators 2009. American Society for Microbiology 2016.
- Žampachová L, Aturki Z, Mariani F, Bednář P. A Rapid Nano-Liquid Chromatographic Method for the Analysis of Cannabinoids in Cannabis sativa L. Extracts. *Molecules.* 2021; 26(7):1825.
- Giovannini D, Gismondi A, Basso A et al. Lavandula angustifolia Mill. Essential Oil Exerts Antibacterial and Anti-Inflammatory Effect in Macrophage Mediated Immune Response to Staphylococcus aureus. *Immunological Investigations.* 2016;45:1;11-28.
- Visioli F. Science and claims of the arena of food bioactives: comparison of drugs, nutrients, supplements and Nutraceuticals. *Food Funct.* 2022;13:12470.
- Salmerón-Manzano E, Garrido-Cardenas JA, Manzano-Agugliaro F. Worldwide Research Trends on Medicinal Plants. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(10):3376.





**V**  
in-Vitality

Break  
Through  
Wellness!

[WWW.IN-VITALITY.IT](http://WWW.IN-VITALITY.IT)

22-23 novembre 2023  
Allianz MiCo, Gate 5, Hall 4, Milano

L'unico evento in Italia dedicato al settore nutraceutico, della salute e della parafarmacia

con il sostegno di:



## Autori

C. CONTE<sup>1</sup>

M. TISO<sup>2</sup>

G. FENOGGIO<sup>3</sup>

M. MARIOTTI<sup>1</sup>

P. MINALE<sup>4</sup>

E. NICOSIA<sup>5</sup>

P. PENSA<sup>6</sup>

E. TOMMASELLI<sup>2</sup>

E. ROCCOTIELLO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita, Università di Genova

<sup>2</sup>MICAMO LAB, Genova

<sup>3</sup>Federazione Regionale Coldiretti Liguria, Genova

<sup>4</sup>Clinica Montallegro, Genova

<sup>5</sup>Regione Liguria, Dipartimento Salute e Servizi Sociali, Settore Tutela della Salute negli Ambienti di Vita e di Lavoro, Genova

<sup>6</sup>Studio di consulenza agraria Pietro Pensa, Albenga (SV)

[clara.conte.15@gmail.com](mailto:clara.conte.15@gmail.com)

## Parole chiave

Pomodoro

(*Solanum lycopersicum* L.)

Nickel-free

Dermatite allergica

Disciplinare di produzione di filiera

# TOMATO! Buono, sicuro, nickel-free

## Nuove prospettive per una filiera controllata del pomodoro

### Riassunto

Il progetto PSR TOMATO "Towards a Market of Ni-free Tomato" misura 16.1 fase 2 (Figura 1), ha valutato la risposta del Pomodoro al nichel (Ni) sulla resa agronomica in termini di biomassa dei frutti e resa produttiva, applicando pratiche agronomiche volte a ridurre la captazione di Ni dal suolo e la sua concentrazione nei frutti. Per definire i requisiti necessari a stabilire un pomodoro a basso contenuto di Ni è stato redatto un disciplinare di produzione in cui si delineano le modalità di produzione e di controllo per assicurare la fruizione di tale prodotto anche ai consumatori allergici.

## IL POMODORO E LA DIETA MEDITERRANEA

Il Pomodoro, *Solanum lycopersicum* L., è una specie appartenente alle Solanacee, una delle famiglie di maggior interesse alimentare, originaria del Centro-Sud America e importata successivamente in Europa dagli Spagnoli nel XVI secolo. Sebbene venisse inizialmente impiegata come pianta ornamentale, oggi rappresenta una delle principali componenti della dieta alimentare nel mondo (Figura 2),



Figura 1 • Progetto TOMATO "Towards a Market of Ni-free Tomato" misura 16.1 fase 2.

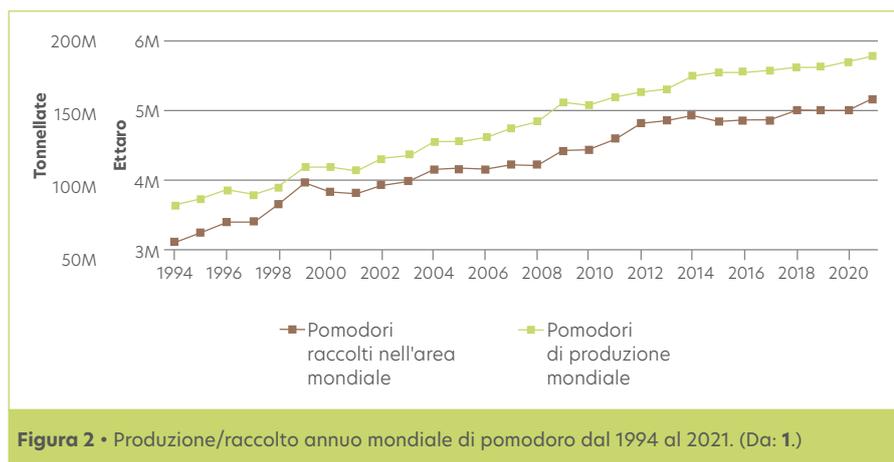


Figura 2 • Produzione/raccolto annuo mondiale di pomodoro dal 1994 al 2021. (Da: 1.)

con un'incidenza variabile a seconda delle diverse aree geografiche e della popolazione. Secondo quanto riportato dalla FAO, attualmente, la produzione di pomodoro è al settimo posto nel mondo dopo le colture di mais, grano, riso, patate, soia e manioca (1). L'Italia è il Paese leader per la produzione di conserve e trasformati di pomodoro (Figura 3): ben il 13% della produzione mondiale complessiva, nonché il 50% della produzione europea (www.universofood.net/2019).

Rispetto alla dieta mediterranea, il Pomodoro rientra tra gli alimenti es-

senziali e il cui consumo è da prediligere. È infatti dimostrato che un consumo regolare di Pomodori e di prodotti a base di Pomodoro è associato a una minore incidenza di alcune malattie cardiovascolari e alla prevenzione di diversi tipi di cancro, quali quello ai polmoni, allo stomaco e alla prostata (2,3). Tali effetti benefici sono correlati alla presenza di alcuni micronutrienti, tra cui i carotenoidi, l'acido ascorbico, i tocoferoli, i fenilpropanoidi (monofenoli e polifenoli) e i folati.

L'elevata resistenza del Pomodoro a diverse condizioni climatiche ne faci-

lita sia lo sviluppo sia la maturazione dei frutti, anche in presenza di climi caldi e aridi. Inoltre, numerosi studi evidenziano la risposta specifica di pomodoro a diversi stress ambientali, tra cui la tolleranza allo stress salino (4,5) e alla presenza di inquinanti, in particolare metalli pesanti quali il Ni (6,7). È anche noto che, in presenza di un eccesso di metalli nel suolo, il Pomodoro sia in grado di trasferire tali metalli ai frutti (8-12).

Nel caso specifico del Ni, l'assorbimento di tale metallo dal suolo non altera la vitalità della pianta né in termini di biomassa, né in termini di produttività (13). In assenza di un'evidente sofferenza della pianta, non risulta possibile individuare i frutti ricchi di Ni, e ciò rappresenta un elemento di criticità per i consumatori allergici.

## IL NICHEL

Il Ni è un elemento chimico appartenente ai metalli di transizione ed è presente naturalmente nei suoli. Esso rappresenta uno tra i nutrienti essenziali utilizzati dagli organismi viventi. Per batteri, piante e animali è una componente fondamentale per il corretto funzionamento dell'enzima ureasi (14), necessario per l'idrolisi dell'urea.

La presenza di Ni nel suolo non è sempre strettamente legata a fonti naturali; infatti, può essere immesso nell'ambiente anche attraverso fonti antropiche: produzione di acciaio

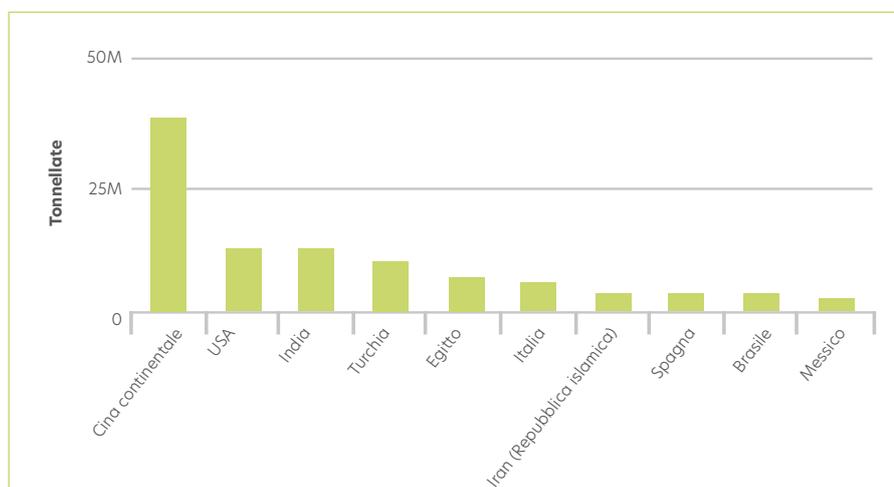


Figura 3 • Produzione di pomodoro: i primi 10 maggiori produttori al mondo, dati medi relativi agli anni 1994-2021. (Da: 1.)

inossidabile e superleghe; produzione e uso di batterie e prodotti chimici (compresi i fertilizzanti); combustione dei combustibili e produzione di gas di scarico provenienti dalle industrie (produzione di energia, raffinerie), riscaldamento domestico, traffico veicolare e acque reflue (15,16).

Questo metallo viene assorbito direttamente da piante e animali in quanto fattori come il pH (17), la salinità, la capacità di scambio cationico, la dimensione delle particelle, gli ossidi di alluminio, ferro e manganese (18), lo rendono facilmente biodisponibile.

I metalli presenti nel suolo, tra cui il Ni, entrano dunque nella catena alimentare dopo esser stati assorbiti e traslocati nei tessuti vegetali (19), causando gravi danni alla salute umana (20). Tuttavia, il contenuto di Ni negli alimenti può risultare estremamente variabile sia in relazione alla concentrazione nel suolo e nell'acqua, che dipende a sua volta dalle attività antropiche e dalle

pratiche agricole quali l'uso di fertilizzanti, ammendanti e prodotti fitosanitari (Figura 4), sia per la capacità costitutiva di alcuni alimenti di concentrare tale metallo in grande quantità nei propri tessuti. Infatti, alcuni alimenti quali cacao e derivati, pomodoro concentrato, lenticchie, avena, mandorle, arachidi e noci presentano quantità di Ni maggiori di 500 mg/kg (21,22). Tali quantità possono variare sulla base dell'influenza di fattori esogeni, tra cui la presenza di Ni nel suolo.

### L'allergia al nichel

I soggetti particolarmente sensibili al Ni manifestano principalmente reazioni allergiche a livello cutaneo, come la dermatite allergica da contatto (DAC); in alcuni soggetti anche l'ingestione di alimenti contenenti Ni scatena reazioni cutanee. In una piccola percentuale di essi possono verificarsi reazioni a livello sistemico inquadrare come sindrome sistemica da allergia al Ni (SNAS)

(23). Quest'ultima è caratterizzata da disturbi generalizzati a carico di organi e apparati, che interessano il sistema gastrointestinale (vomito, diarrea o stipsi, gonfiore addominale), il sistema respiratorio (asma o rinite), il sistema neurologico (cefalee o disturbi neuroastenici). Uno studio statistico condotto dall'ESSCA (European Surveillance System of Contact Allergy) ha rilevato che circa il 20% della popolazione europea è sensibile al Ni, mentre l'Italia è il Paese in cui ci sono più soggetti affetti da allergia al Ni (32,1%; F:M = 3:1-14:1) (24). L'approccio terapeutico utilizzato è principalmente dietetico e, molto spesso, gli individui che presentano queste patologie escludono tanti alimenti dalla loro dieta, tra cui anche il Pomodoro, con conseguenze sulla qualità di vita.

In particolare, nel Pomodoro fresco si stimano concentrazioni di questo metallo superiori a 1 mg/kg che possono variare in base alle caratteristiche fisico-chimiche del suolo, al suo livello di inquinamento, all'ambiente e dall'acqua, alle pratiche colturali anche in relazione a concimazioni e trattamenti fitosanitari utilizzati. Oltretutto, le concentrazioni di Ni possono anche differire in base alla cultivar, al terreno di coltivazione, alla stagionalità e al grado di maturazione del frutto (25-27).

Secondo le normative vigenti in materia di Ni, vengono riportati alcuni limiti soglia da rispettare in riferimento alla matrice ambientale in cui

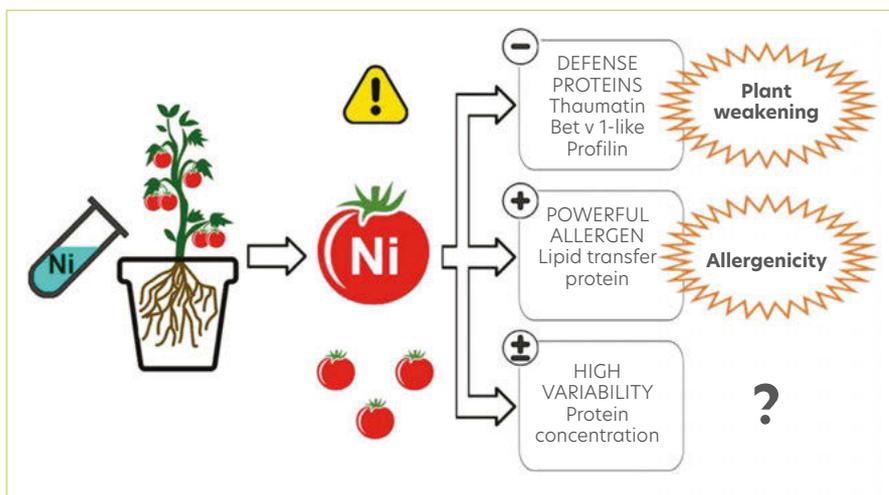


Figura 4 • Effetti di applicazioni esogene di Ni in condizioni colturali controllate. (Da: 13.)

esso è presente. La direttiva 86/278/CEE stabilisce i limiti relativi alla presenza di tale metallo nei terreni agricoli, i quali sono compresi tra 30 a 75 mg/kg, con un pH del terreno rispettivamente di 6 e 7 (28). Per gli ammendanti, correttivi e matrici organiche destinate alla produzione di concimi organo-minerali, il D. Lgs n. 75 del 29 aprile 2010 (29) definisce un valore limite di Ni totale per sostanza secca pari a 100 mg/kg, a esclusione dell'ammendante compostato misto per agricoltura biologica dove in un caso specifico il limite scende a 25 mg/kg, riconfermato dal D.M. 10 ottobre 2022 (30). Per le acque, invece, i valori limite relativi alla concentrazione di Ni variano in base alla destinazione d'uso.

Il limite ammesso dalla legislazione europea (98/83/CE (31), seguita dal D. Lgs. 31/2001 (32), riguarda l'acqua potabile con un livello massimo di 20 µg/L. Quest'ultimo valore è da considerarsi come limite anche per le acque sotterranee (D. Lgs n. 152/2006) (33), mentre per le acque di irrigazione a uso agricolo non esiste a oggi una legislazione specifica, ma solo un valore consigliato corrispondente a 200 µg/L e riportato nel DM 23 maggio 2000 (34).

Per i prodotti alimentari, infine, il regolamento 1881/2006/CE (35) definisce le concentrazioni massime accettabili di alcuni contaminanti, tra cui i metalli, ma nello specifico manca una legislazione ad hoc per la presenza di Ni negli alimenti.

L'unico valore soglia a oggi riconosciuto per gli alimenti è quello proposto da EFSA che definisce una dose giornaliera tollerabile per peso corporeo uguale a 13 µg Ni/kg (36). Attualmente, non esistono linee guida standardizzate utili a definire in maniera univoca un alimento Ni-free. Gli alimenti a basso contenuto di nichel reperibili in commercio, in particolare ortaggi, vengono dichiarati tali sulla base di una certificazione volontaria.

## IL PROGETTO TOMATO

Rispetto al contesto di riferimento, il progetto TOMATO fornisce una base conoscitiva e operativa completa per sostenere una filiera per la produzione di pomodoro Ni-free che, oltre a consentire alla popolazione allergica al Ni di reintrodurre questo alimento nella dieta, consente agli agricoltori di ottenere prodotto ad alto valore aggiunto (Figura 5).

### Il partner di progetto

Il progetto TOMATO è stato sviluppato grazie alla collaborazione tra Coldiretti Liguria (capofila), il Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita dell'Università degli Studi di Genova, l'azienda MICAMO LAB e cinque aziende agricole della provincia di Savona.

### Obiettivi

I principali obiettivi del progetto sono stati:

- sviluppare una metodologia per produrre un pomodoro Ni-free destinato a una popolazione con esigenze particolari come quella degli allergici;
- valutare il contributo dei diversi input di Ni e del loro impatto sulle condizioni di crescita e sulla produttività, compresa la loro influenza sul potenziale allergenico del pomodoro;
- definire una concentrazione limite che consentisse di stabilire un pomodoro a basso contenuto di Ni;



Figura 5 • Pomodoro Cuor di Bue coltivato in serra.

- redigere un disciplinare di produzione per il pomodoro Ni-free.

### Fasi del progetto

Al fine di garantire una produzione primaria di pomodoro Ni-free e assicurarne ai soggetti allergici un consumo sicuro, è stato di fondamentale importanza delineare una serie di azioni, caratterizzate da relative metodologie, attuate poi nel corso del progetto.

### Caratterizzazione delle matrici e valutazione degli input di Ni

Sono stati esaminati tutti i potenziali input responsabili dell'accumulo di Ni nella pianta e ne è stato definito il contributo. Tra questi, i più significativi sono il suolo/substrato, gli ammendanti, i concimi organici, i concimi minerali e le acque irrigue. Ciascun campione è stato prelevato da quattro aziende agricole partner di progetto altamente rappresentative e



**Figura 6** • Analisi in sito tramite l'utilizzo di uno spettrometro a raggi X da campo di Geospectra.

situate nel territorio savonese, ognuna delle quali differisce per estensione della superficie produttiva, produzione delle diverse specie orticole, cultivar di pomodoro utilizzate e modalità di produzione (in serra e in fuori suolo). Un primo screening eseguito su ogni matrice ha permesso di valutare la concentrazione iniziale dei diversi metalli, incluso il Ni. Per una prima analisi dei suoli, dei substrati, degli ammendanti e dei concimi organo-minerali è stato utilizzato

uno spettrometro portatile a raggi X (X-MET7500 FP-EDXRF Analyser, Oxford strumenti) (**Figura 6**), in dotazione presso Geospectra spin-off dell'Università di Genova, utile a eseguire analisi non invasive e non distruttive e poter risalire alla composizione della matrice. In seguito, gli stessi campioni e campioni di acque irrigue e soluzioni di fertirrigazione utilizzate nelle aziende sono stati analizzati all'ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry), con limite rilevabilità di 0,01 mg/kg.

### Caratterizzazione del contenuto di Ni nei frutti

In parallelo all'analitica delle matrici, sono stati prelevati ed esaminati anche i campioni di pomodoro ed è stata eseguita una caratterizzazione del contenuto di Ni al tempo zero (**Figura 7**). La varietà scelta per le analisi è il Cuor di Bue (**Figura 8**), coltivata in tutte le quattro aziende e particolarmente utilizzata in Liguria



**Figura 7** • Preparazione dei campioni di pomodoro per la fase analitica e la caratterizzazione del contenuto di Ni.



**Figura 8** • Raccolta di pomodoro Cuor di Bue. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:TomateCuorediBuePiemonte.jpg>

come pomodoro da mensa. È stata eseguita una pesatura a fresco e poi a secco, previa essiccazione in stufa a 60 °C. I pomodori sono stati polverizzati e analizzati all'ICP-MS, con limite di rilevabilità per il Ni = 0,01 mg/kg su massa secca.

### Valutazione di pratiche agronomiche Ni-free

L'analitica eseguita e la disamina dei dati finali hanno permesso di implementare nuove tecniche colturali con lo scopo di immobilizzare il Ni a livello del suolo e limitare il suo accumulo nella pianta.

Nello specifico è stato utilizzato un ammendante, la leonardite, sia in forma solida sia in forma liquida, poiché un alto contenuto di sostanza organica permette di immobilizzare i metalli nel suolo (37).

In parallelo, per il pomodoro allevato a terra, è stata praticata una calcitazione con correttivo calcareo (carbonato di calcio) per rendere meno mobile il Ni a livello della rizosfera.

### Individuazione dei limiti

Lo studio bibliografico e normativo e la consulenza con esperti hanno consentito di individuare come limite un valore di Ni inferiore o uguale a 0,01 mg/kg su peso fresco utile a definire un pomodoro Ni-free, rispetto al quale confrontare e validare i risultati ottenuti.

Per l'individuazione di questo limite, è stata di estrema importanza la collaborazione con enti quali ARPAL e il



Figura 9 • Campo prova con produzione di pomodoro Cuor di Bue.

supporto fornito dalla Dott.ssa Minale specialista in Allergologia, responsabile scientifico dell'Associazione Ligure Allergici (ALA).

### Sperimentazione in campi prova

I "trattamenti" (ammendanti e correttivi) selezionati sono stati applicati nelle aree produttive dislocate nelle aziende agricole partner, in particolare all'interno di campi prova (Figura 9), con lo scopo di eseguire un monitoraggio in parallelo rispetto alle colture non trattate e valutare eventuali variazioni del contenuto di Ni nei frutti.

### Redazione di un disciplinare di produzione

Le pratiche necessarie a una produzione Ni-free e le linee guida da seguire per la corretta gestione delle procedure da adottare sono state riportate in un disciplinare di produzione. Tale documento è utile ad

avviare una campagna produttiva secondo i protocolli stabiliti e arrivare a consolidare un modus operandi che possa gestire in modo efficace una produzione Ni-free assicurando la fruizione del prodotto da parte dei soggetti allergici. Nonostante la sperimentazione sia stata eseguita in un contesto territoriale definito, le procedure riportate nel disciplinare potranno essere utilizzate in tutte quelle aziende che intenderanno coltivare pomodoro Cuore di Bue Ni-free.

Il risultato è stato ottenuto attraverso la creazione di un tavolo tecnico di lavoro, composto da partner di progetto, un esperto agronomo, un esperto di sistemi di gestione e audit, un esperto di procedure di sicurezza agroalimentare, un'allergologa, un esperto di protezione e prevenzione della salute umana e da ricercatori universitari. Il lavoro in team ha permesso di elaborare le procedure e i manuali attraverso l'analisi e l'interpretazione dei risultati delle analisi di laboratorio, delle procedure agronomiche diverse a seconda dell'azienda presa in considerazione e della gestione della filiera agroalimentare del pomodoro, massimizzando così i benefici e la rilevanza pratica della sua applicazione.

### Risultati

Le prime attività di campionamento sono state effettuate in due diverse stagioni produttive, e in particolare durante il mese di giugno e dicembre 2021, per verificare eventuali dif-

ferenze nella concentrazione del metallo dovute alla stagionalità. I dati ottenuti dalla prima analitica, precedenti all'utilizzo delle pratiche agricole selezionate, sono stati analizzati e confrontati con i limiti definiti dalla normativa vigente in riferimento alle concentrazioni di Ni.

Tra i principali risultati emersi dalle analisi dei campioni di suolo/substrato, concimi organo-minerali e ammendanti, le concentrazioni rilevate risultano al di sotto dei limiti normativi e, dal confronto tra le aziende, le differenze relative alla concentrazione di Ni sono legate alla modalità colturale fuori suolo o in pieno campo. I valori medi del metallo presente nei frutti sono al di sotto dell'unità in tutti gli scenari produttivi esaminati, con valori minori rilevati per la biomassa fresca rispetto alla biomassa secca data la presenza di un fattore di diluizione.

La presenza di Ni nella pianta può essere giustificata dai diversi livelli riscontrabili nel suolo, come è emerso da una correlazione statisticamente significativa tra le concentrazioni di Ni nel suolo e nei frutti. Anche le acque utilizzate per irrigare le colture potrebbero figurare tra gli input di Ni per la pianta: nonostante questo, dalle analisi eseguite sui campioni prelevati nelle aziende agricole, le concentrazioni ritrovate rientrano nei valori normati.

Ulteriori variazioni nei campioni potrebbero anche essere attribuite all'utilizzo di diverse cultivar tra le

aziende, ai diversi fertilizzanti o anche alla stagione produttiva.

Per ovviare a tali problematiche, durante la seconda fase del progetto, sono state impiegate pratiche agronomiche volte a limitare la captazione di Ni da parte della pianta. Pur consapevoli che in condizioni colturali standard siano difficilmente reperibili piante di pomodoro Ni-free, la forte influenza che le pratiche agricole possono avere sulle caratteristiche del prodotto ha consentito di mettere a punto strategie di mitigazione necessarie a ridurre la presenza di Ni nel frutto, per consentirne il consumo da parte dei consumatori allergici.

Gli ultimi campionamenti sono stati eseguiti durante il mese di giugno 2022 e sono state nuovamente prelevate aliquote di suoli e substrati, acque e frutti. Dalle analisi successive all'attuazione delle nuove pratiche colturali, i risultati hanno mostrato una netta diminuzione del contenuto di Ni nei frutti delle piante provenienti dai campi prova in confronto al testimone e rispetto a quello rilevato nella precedente analitica, in particolare per le piante coltivate in fuori suolo.

Sulla base delle evidenze emerse nell'ambito del progetto PSR TOMATO e dei risultati ottenuti al termine della sperimentazione, è stato redatto un disciplinare di produzione all'interno del quale sono illustrati i requisiti necessari a stabilire un pomodoro Ni-free e anche i criteri e le modalità di produzione e di controllo in risposta alla crescente richiesta

dei consumatori di un prodotto salutisticamente sicuro, tracciato lungo la filiera e organoletticamente apprezzato. Il disciplinare di produzione messo a punto fornisce le basi per rendere replicabile e di alto valore aggiunto il pomodoro da mensa Ni-free, per quanti abbiano interesse aderire a tale filiera produttiva.

## CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

L'approccio alla produzione primaria di pomodoro da mensa Ni-free potrebbe essere applicato anche ad altre tipologie colturali con l'obiettivo di introdurre sul mercato prodotti alimentari dichiarati Ni-free sulla base di un disciplinare di produzione.

Gli esiti del progetto TOMATO aprono la strada a una produzione sicura chiaramente disciplinata con grande potenziale di mercato, comportando importanti ripercussioni sulla filiera della produzione orticola che potrà trarre vantaggio da nuove forme di innovazione arricchendo e differenziando l'offerta. A beneficiare di tali innovazioni sarà anche la popolazione dei consumatori allergici al Ni che potranno introdurre nella loro alimentazione anche un pomodoro buono, controllato e Ni-free.

## BIBLIOGRAFIA

1. FAO, <http://www.fao.org> [WWW Document], n.d. Food Agric. Organ. U. N. URL <http://www.fao.org/home/en/> (accessed 11.19.17).

2. Giovannucci E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91(4):317-331.
3. Riccioni G. Carotenoids and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep.* 2009;11(6):434-439.
4. Maggio A, Raimondi G, Martino A et al. Salt stress response in tomato beyond the salinity tolerance threshold. *Environmental and Experimental Botany.* 2007;59(3):276-282.
5. Amjad M, Ameen N, Murtaza B et al. Comparative physiological and biochemical evaluation of salt and nickel tolerance mechanisms in two contrasting tomato genotypes. *Physiol Plant.* 2020;168(1):27-37.
6. Li Q, Cai S, Mo C et al. Toxic effects of heavy metals and their accumulation in vegetables grown in a saline soil. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2010;73(1):84-88.
7. Eid EM, Shaltout KH, Alamri SAM et al. Prediction models based on soil properties for evaluating the uptake of eight heavy metals by tomato plant (*Lycopersicon esculentum* Mill.) grown in agricultural soils amended with sewage sludge. *J Environ Chem Eng.* 2021;9(5):105977.
8. Wiczorek J, Pietrzak M, Osowski A et al. Determination of lead, cadmium, and persistent organic pollutants in wild and orchard-farm-grown fruit in northeastern Poland. *J Toxicol Environ Health A.* 2010;73(17-18):1236-1243.
9. Hadayat N, De Oliveira LM, Da Silva E et al. Assessment of trace metals in five most-consumed vegetables in the US: Conventional vs. organic. *Environ Pollut.* 2018;243(PtA):292-300.
10. Nawab J, Farooqi S, Xiaoping W et al. Levels, dietary intake, and health risk of potentially toxic metals in vegetables, fruits, and cereal crops in Pakistan. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018;25(6):5558-5571.
11. Hattab S, Bougattass I, Hassine R et al. Metals and micronutrients in some edible crops and their cultivation soils in eastern-central region of Tunisia: A comparison between organic and conventional farming. *Food Chem.* 2019;270:293-298.
12. Ikechukwu UR, Okpashi VE, Oluomachi UN et al. Evaluation of Heavy Metals in Selected Fruits in Umuahia Market, Nigeria: Associating Toxicity to Effect for Improved Metal Risk Assessment. *J Appl Biol Biotechnol.* 2019;7:39-45.
13. Rocciotiello E, Nicosia E, Pierdonà L et al. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) accumulation and allergenicity in response to nickel stress. *Sci Rep.* 2022;12:5432.
14. Dixon NE, Gazzola TC, Blakeley RL et al. Letter: Jack bean urease (EC 3.5.1.5). A metalloenzyme. A simple biological role for nickel?. *J Am Chem Soc.* 1975;97(14):4131-4133.
15. Van Hyfte A. (edit.). 2015. European Union Environmental Risk Assessment of Nickel. Fact Sheet 7. Arcadis, Nickel Institute & NIPERA. 8 pp. <https://nickelinstitute.org/science/environmental-science-fact-sheets/fact-sheet-7-diffuse-emissions/> (accessed december 2019).
16. Reimann C, de Caritat P. GEMAS Project Team; NGS Project Team. New soil composition data for Europe and Australia: demonstrating comparability, identifying continental-scale processes and learning lessons for global geochemical mapping. *Sci Total Environ.* 2012;416:239-252.
17. Pinto E, Aguiar AA, Ferreira IM. Influence of soil chemistry and plant physiology in the phytoremediation of Cu, Mn, and Zn. *Crit Rev Plant Sci.* 2014;33:351-373.
18. Pinto E, Almeida AA, Ferreira IM. Assessment of metal(loid)s phytoavailability in intensive agricultural soils by the application of single extractions to rhizosphere soil. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2015;113:418-424.
19. Dar MI, Khan FA, Green ID et al. The transfer and fate of Pb from sewage sludge amended soil in a multi-trophic food chain: a comparison with the labile elements Cd and Zn. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2015;22(20):16133-16142.
20. Liu X, Song Q, Tang Y et al. Human health risk assessment of heavy metals in soil-vegetable system: a multi-medium analysis. *Sci Total Environ.* 2013;463-464:530-540.
21. Sharma AD. Low nickel diet in dermatology. *Indian J Dermatol.* 2013;58:240.
22. Di Gioacchino M, Ricciardi L, De Pità O et al. Nickel oral hyposensitization in patients with systemic nickel allergy syndrome. *Ann Med.* 2014;46(1):31-37.
23. Ricciardi L, Arena A, Arena E et al. Systemic nickel allergy syndrome: epidemiological data from four Italian allergy units. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2014;27(1):131-136.
24. ESSCA Writing Group, 2008. The European Surveillance System of Contact Allergies (ESSCA): results of patch testing the standard series. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2004;22:174-181.
25. Bressy FC, Brito GB, Barbosa IS et al. 2013. Determination of trace element concentrations in tomato samples at different stages of maturation by ICP OES and ICP-MS following microwave-assisted digestion. *Microchem J.* 2013;109:145-149.
26. Kumar P, Roupael Y, Cardarelli M et al. Effect of nickel and grafting combination

- on yield, fruit quality, antioxidative enzyme activities, lipid peroxidation, and mineral composition of tomato. *J Plant Nutr Soil Sci.* 2015;178(6):848-860.
27. Poulik Z. Influence of nickel contaminated soils on lettuce and tomatoes. *Sci Hortic.* 1999;81:243-250.
28. Council Directive 86/278/EEC of 12 June 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:31986L0278&from=PL>. (accessed April 2018).
29. Decreto Legislativo 29 aprile 2010, n. 75 Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della legge 7 luglio 2009, n. 88 pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 121 del 26 maggio 2010 - suppl. ord. n. 121 (<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2010/05/26/010G0096/sg>).
30. Decreto 10 ottobre 2022. Aggiornamento degli allegati 1, 6, 7, 8, 9, 13 e 14 al decreto legislativo n. 75 del 29 aprile 2010, recante: «Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della legge 7 luglio 2009, n. 88» pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 303 del 29-12-2022.
31. Direttiva (UE) del Consiglio del 3 novembre 1998, n.83 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano, pubblicato nella Gazzetta ufficiale delle Comunità europee L.330 del 5 dicembre 1998 (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:31998L0083&from=RO>).
32. Decreto Legislativo 2 febbraio 2001, n. 31 Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 52 del 3 marzo 2001 - suppl. ord. n. 52. (<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2010/05/26/010G0096/sg>).
33. Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152 Norme in materia ambientale pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 88 del 14 aprile 2006 - suppl. ord. n. 96. (<https://www.gazzettaufficiale.it/dettaglio/codici/materiaAmbientale>).
34. Decreto Ministeriale 23 marzo 2000. n. 60. Approvazione dei "Metodi ufficiali di analisi delle acque per uso agricolo e zootecnico" pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 87 del 26 aprile 2000 - suppl. ord. n. 87 (<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/gu/2000/04/13/87/so/60/sg/pdf>).
35. Regolamento (CE) del 19 dicembre 2006, n. 1881 della Commissione, che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale L.364 del 20 dicembre 2006 (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1881&from=IT>).
36. European Food Safety Authority. Update of the risk assessment of nickel in food and drinking water. *EFSA Journal.* 2020;18:6268.
37. Hernandez-Soriano MC, Jimenez-Lopez JC. Effects of soil water content and organic matter addition on the speciation and bioavailability of heavy metals. *Sci Total Environ.* 2012;423:55-61.



makingpharmaitaly

# Making

Pharmaceuticals

# 28-29 marzo 2023

NH Milano Congress Centre

**Esposizione & Conferenza**

## I NOSTRI ESPOSITORI



## Registrati Ora!

Visita [www.makingpharma.it](http://www.makingpharma.it) per ricevere il tuo badge gratuito



Media Partners:



Con il supporto di:



Organizzato da:



[www.makingpharma.it](http://www.makingpharma.it)

[AlessandraSoldani@step-exhibitions.com](mailto:AlessandraSoldani@step-exhibitions.com)

+39 333 816 2570

# Utilizzo di informazioni genetiche digitali e Access and Benefit Sharing

## I risultati della CBD-COP15 e il Post-2020 Global Biodiversity Framework

**V. VENEROSO**

Avvocato • [avv.veneroso@gmail.com](mailto:avv.veneroso@gmail.com)

Il 19 Dicembre 2022 si è conclusa a Montreal (Canada) la seconda e ultima sessione della 15<sup>a</sup> Conferenza delle Parti della Convenzione sulla Diversità Biologica (CBD-COP15)<sup>1</sup>. Contestualmente, si è anche conclusa la seconda sessione del IV Meeting delle Parti del Protocollo di Nagoya (NP-MOP4) sull'Accesso alle risorse genetiche e l'equa condivisione dei benefici derivanti dal loro utilizzo "ABS"<sup>2</sup>.

La Conferenza internazionale è stata al centro di grande interesse principalmente per l'atteso obiettivo della definizione di un nuovo piano strategico della Convenzione e l'adozione di un Quadro globale per la Biodiversità Post-2020.

La Conferenza è così approdata all'approvazione del "Kunming-Montreal Global Biodiversity Framework" (d'ora in avanti anche "Accordo Kunming-Montreal per il 2050", "Post-2020 GBF")<sup>3</sup>, importante risultato, salutato dai media come «l'accordo di Parigi sulla natura»<sup>4</sup>, fati-

cosamente raggiunto dopo un percorso durato 4 anni e reso ancora più complesso dalla pandemia di Covid-19, che ha causato molti ritardi e complessità logistiche e organizzative.

L'Accordo individua 4 macro-obiettivi (Goal) e 23 obiettivi specifici (Target) per fermare e invertire il declino della biodiversità per il 2030<sup>5</sup>.

Uno dei temi più delicati e "scottanti" al centro del negoziato per il Post-2020 GBF ha riguardato l'accesso alle "informazioni genetiche digitali" (Digital Sequence Information, DSI) e la condivisione dei benefici derivanti dal loro utilizzo, questione strettamente connessa al riconoscimento dei diritti sovrani degli Stati sulle proprie risorse naturali e genetiche e alla regolamentazione dell'ABS disegnata dal Protocollo di Nagoya.

Sul numero 2/2022 di questa Rivista<sup>6</sup>, cui si rinvia, si è illustrato sinteticamente il contesto nel quale il dibattito intorno alle DSI è nato a livello internazionale e i principali

<sup>1</sup> La prima sessione si è tenuta dall'11 al 15 ottobre 2021 con modalità di partecipazione mista - limitata in presenza in Kunming (China) e virtuale - a causa della emergenza sanitaria globale dovuta alla pandemia da Covid-19.

<sup>2</sup> I documenti rilevanti e le decisioni di entrambe le conferenze possono essere reperiti alla pagina web: [www.cbd.int/conferences/2021-2022](http://www.cbd.int/conferences/2021-2022). Si evidenzia che in punto DSI le decisioni della NP-MOP4 si limitano a un richiamo a quelle della CBD-COP15.

<sup>3</sup> Decisione n. CBD/COP/15/L.25.

<sup>4</sup> [www.ft.com/content/5edf7c0b-f399-4d85-8c89-324e8caae2a0](http://www.ft.com/content/5edf7c0b-f399-4d85-8c89-324e8caae2a0).

<sup>5</sup> Per una sintesi dei contenuti dell'Accordo: [enb.iisd.org/un-biodiversity-conference-oewg5-cbd-cop15-summary](http://enb.iisd.org/un-biodiversity-conference-oewg5-cbd-cop15-summary); [www.theguardian.com/environment/2022/dec/19/cop15-key-points-of-nature-deal-at-a-glance-aoe](http://www.theguardian.com/environment/2022/dec/19/cop15-key-points-of-nature-deal-at-a-glance-aoe).

<sup>6</sup> V. Veneroso, Utilizzo di informazioni genetiche digitali - Impatto su Access and Benefit Sharing e Protocollo di Nagoya, in Questa Rivista, 2/2022, pp. 32-35.

orientamenti sostenuti dalle parti della CBD intorno alla questione se l'utilizzo di DSI fosse da considerarsi equiparabile all'utilizzo di "risorse genetiche" intese in senso materiale ai fini del loro assoggettamento al Protocollo di Nagoya e all'ABS.

Di seguito, quindi, si illustrano gli esiti della Conferenza sul tema.

## **ABS e DSI nel Post 2020 Global Biodiversity Framework: i risultati della COP15**

La centralità del tema dell'ABS e dell'utilizzo di DSI in questo contesto è visibilmente rappresentata dal fatto che oggi l'Accordo Kunming-Montreal annovera l'Access and Benefit Sharing tra i 4 long-term goals per il 2050 (Goal C) e inserisce esplicitamente l'utilizzo di digital sequence information come fattore generativo di benefici da condividere in modo "giusto ed equo" secondo i principi dell'ABS.

“ GOAL C - The monetary and non-monetary benefits from the utilization of genetic resources, and digital sequence information on genetic resources, and of traditional knowledge associated with genetic resources, as applicable, are shared fairly and equitably, including, as appropriate with indigenous peoples and local communities, and substantially increased by 2050, while ensuring traditional knowledge associated with genetic resources is appropriately protected, thereby contributing to the conservation and sustainable use of biodiversity, in accordance with internationally agreed access and benefit-sharing instruments. ”

L'estensione dell'ABS all'utilizzo delle DSI ritorna esplicitamente nel Target 13 dell'Accordo, nel quale le parti della CBD si impegnano a porre in essere, a ogni livello, misure amministrative, legislative e di policy efficaci e a sviluppare attività di *capacity-building* per assicurare

un'effettiva implementazione dell'ABS («to ensure the fair and equitable sharing of benefits that arise from the utilization of genetic resources and from digital sequence information on genetic resources, as well as traditional knowledge associated with genetic resources»), impegnandosi inoltre ad agevolare un incremento dei benefici condivisi per il 2030.

“ TARGET 13 - Take effective legal, policy, administrative and capacity-building measures at all levels, as appropriate, to ensure the fair and equitable sharing of benefits that arise from the utilization of genetic resources and from digital sequence information on genetic resources, as well as traditional knowledge associated with genetic resources, and facilitating appropriate access to genetic resources, and by 2030 facilitating a significant increase of the benefits shared, in accordance with applicable international access and benefit-sharing instruments. ”

Insieme all'Accordo sul Post-2020 GBF le parti della CBD, nella stessa conferenza, hanno adottato una decisione specifica in merito alla condivisione dei benefici derivanti dall'utilizzo di DSI, cui le parti riconoscono un ruolo fondamentale nell'implementazione dello stesso Accordo, nonché una sostanziale parità di rango normativo («decision of equal standing to the Kunming-Montreal global biodiversity framework»): la decisione CBD/COP/15/L.30. Tale decisione può essere definita come "storica" per almeno due motivi.

Innanzitutto, stabilisce che i benefici derivanti dall'utilizzo di DSI debbano essere condivisi in modo giusto ed equo («The Conference of the Parties [...] agrees that the benefits from the use of digital sequence information on genetic resources should be shared fairly and equitably») e quindi che un meccanismo di ABS vada esplicitamente adottato in questo ambito («agrees to develop a solution for the sharing of benefits arising from the use of digital

sequence information on genetic resources»). Tale affermazione è già di per sé di centrale importanza, in quanto supera qualsiasi orientamento teso a escludere le DSI dall'ambito di applicazione della CBD (soluzione inizialmente caldeggiata da più parti). Tale risultato, in altri termini, sgombera il campo da dubbi sul fatto che l'utilizzo di DSI non possa essere considerato un fattore generativo di obblighi di condivisione di benefici per l'assenza del requisito della "materialità" della risorsa genetica.

In secondo luogo, in questa decisione viene anche evidenziato come le peculiari pratiche in uso nella comunità scientifica di deposito delle DSI di accesso e di utilizzo richiedano una soluzione alternativa per il benefit-sharing rispetto al meccanismo bilaterale fondato su PIC e MAT del Protocollo di Nagoya, inadeguato per questo particolare contesto. Le parti sottolineano inoltre come il deposito di DSI nelle banche dati pubbliche vada incoraggiato, con l'adeguato supporto di altre informazioni e metadati quali l'origine geografica della risorsa genetica materiale dalle quali sono state estratte, ma riconoscono altresì che il tracciamento di tutte le DSI relative alle risorse genetiche non sia praticabile.

Sulla base di tali osservazioni tale decisione prevede che, per la condivisione dei benefici derivanti dall'utilizzo di DSI, sia sviluppato un meccanismo multilaterale, più adeguato al contesto e praticabile, che risponda ad alcuni criteri e requisiti concordemente elaborati (**Box 1**) e istituito un relativo Fondo globale per la gestione del meccanismo di "benefit sharing".

Altri passaggi significativi della decisione riguardano il riconoscimento del fatto che il tema dell'ABS e delle DSI è oggetto di negoziato anche in altri contesti internazionali<sup>7</sup>, ai quali le parti debbono guardare nello sviluppo degli strumenti. Le parti riconoscono, inoltre, la legittimità di eventuali approcci e meccanismi alternativi che potrebbero essere sviluppati per uno specifico contesto di settore.

**BOX 1**

**Utilizzo di DSI - Criteri per lo sviluppo di un meccanismo multilaterale per l'ABS: il testo approvato**

CBD/COP/15/L.30 Paragraph 9 «A solution for fair and equitable benefit-sharing on digital sequence information on genetic resources should, inter alia:

- a) Be efficient, feasible and practical;
- b) Generate more benefits, including both monetary and non-monetary, than costs;
- c) Be effective;
- d) Provide certainty and legal clarity for providers and users of digital sequence information on genetic resources;
- e) Not hinder research and innovation;
- f) Be consistent with open access to data;
- g) Not be incompatible with international legal obligations;
- h) Be mutually supportive of other access and benefit-sharing instruments;
- i) Take into account the rights of indigenous peoples and local communities, including with respect to the traditional knowledge associated with genetic resources that they hold».

«The digital sequence information on genetic resources is under consideration in other United Nations bodies and instruments; [...] any solution for fair and equitable sharing of benefits from the use of digital sequence information on genetic resources should be mutually supportive of and adaptable to other instruments and for a while recognizing that other for may develop specialized approaches.»

Questo punto della decisione si ricollega al testo dell'Ac-

<sup>7</sup> Per esempio, in ambito FAO e WHO.

cordo di Kunming-Montreal, che al Goal C e al Target 13, appunto, richiede che la condivisione dei benefici avvenga sulla base di "strumenti per l'ABS concordati a livello internazionale" («in accordance with internationally agreed access and benefit-sharing instruments»).

Il nuovo contesto del Post-2020 GBF sembra quindi collocare il Protocollo di Nagoya, con il suo meccanismo bilaterale e negoziato di scambio attraverso PIC e MAT tra Paese fornitore e utilizzatore, in un ventaglio di strumenti possibili per l'ABS unitamente "agli altri": quelli già esistenti e già in vigore per specifici settori<sup>8</sup>, il nuovo meccanismo (o i nuovi meccanismi?) da sviluppare per le DSI, altri sistemi alternativi da immaginare per ambiti che - per esempio - richiederebbero l'elaborazione di soluzioni ad hoc per l'ABS<sup>9</sup>.

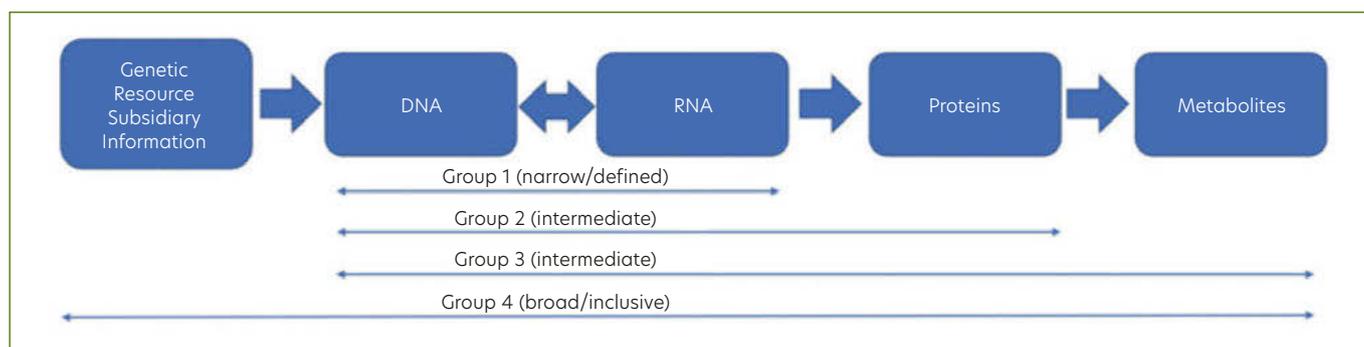
Da ultimo è opportuno sottolineare come la decisione evidenzi l'importanza delle DSI nel contributo che il loro utilizzo può dare agli obiettivi della CBD e allo sviluppo sostenibile e il ruolo cruciale delle iniziative di capacity-building, di cooperazione scientifica e del trasferimento tecnologico per ridurre le disuguaglianze a livello globale e favorire l'accesso e l'utilizzo di DSI.

## CBD-COP15 e DSI: più che un traguardo, la prima tappa di un percorso ancora in salita

Al di là degli importanti esiti della Conferenza sopra sintetizzati, nel contesto delle DSI, l'ambizioso traguardo di un meccanismo di condivisione dei benefici che sia efficiente, pratico e applicato in modo omogeneo a livello globale, sembra ancora lontano e il percorso piuttosto accidentato. Innanzitutto, va evidenziato che il concetto stesso di digital sequence information resta ancora privo di definizione e tuttora utilizzato come un "semplice" place-holder per lo sviluppo del negoziato e nella redazione dei testi ufficiali della Conferenza.

La mancanza di chiarezza sull'ambito di applicazione delle decisioni che riguardano l'ABS in questo specifico settore rappresenta il primo elemento di "fragilità" di questa pur sempre storica decisione della CBD.

Di seguito si propone (Figura 1) una rappresentazione grafica delle possibili estensioni del concetto di DSI elaborata dal Ad Hoc Technical Expert Group on Digital Sequence Information on Genetic Resources (AHTEG) istituito nel 2018 nell'ambito CBD per fornire supporto



**Figura 1** • Rappresentazione grafica delle possibili estensioni del concetto di DSI. Raggruppamenti di argomenti proposti per dati/informazioni che potenzialmente costituiscono il DSI per facilitare le discussioni sull'ambito e la terminologia del DSI. Il gruppo 1 include solo i dati sulle sequenze di DNA e RNA, mentre il gruppo 2 include anche dati/informazioni sulle sequenze proteiche. Il gruppo 3 si estende ai dati/informazioni riguardanti i metaboliti e il gruppo 4 è la categoria più ampia che si estende ulteriormente a valle oltre i metaboliti per includere anche tutte le informazioni sussidiarie. (Da: CBD/DSI/AHTEG/2020/1/3, Montreal (Canada), 17-20 Marzo 2020 - Digital Sequence Information On Genetic Resources: Concept, Scope And Current Use.)

<sup>8</sup> Sistema multilaterale del Trattato FAO sulle risorse fitogenetiche per l'alimentazione e l'agricoltura del 2004 (FAO-ITPGRFA <https://www.fao.org/plant-treaty/en/>) e il Pandemic Influenza Preparedness Framework del 2011 adottato in ambito WHO per l'accesso al virus H5N1 e altri virus influenzali con potenziale pandemico (WHO-PIP Framework <https://www.who.int/initiatives/pandemic-influenza-preparedness-framework>).

<sup>9</sup> Si è sviluppato, per esempio, un ricco dibattito relativo all'opportunità di assoggettare l'accesso ai patogeni a negoziazioni bilaterali con i Paesi fornitori, la cui complessità è fatalmente rimessa alle variegate e soggettive visioni di ciascun Paese sull'estensione della propria "sovranità" ("viral sovereignty") - Viral Sovereignty, Technology Transfer, and the Changing Global System for Sharing Pathogens for Public Health Research, By Sam Halabi and Rebecca Katz, Cambridge University Press, 2020.

tecnico scientifico alle parti della CBD nella specifica materia (per riferimenti sul mandato, la composizione e i lavori dell'AHTEG si veda il Report CBD/DSI/AHTEG/2020/1/7).

In secondo luogo, molte incognite restano aperte sulla costruzione e il funzionamento di questo meccanismo multilaterale e, non da ultimo, su come questo meccanismo andrà a dialogare con il sistema del Protocollo di Nagoya e quindi con le normative nazionali implementate negli anni dai vari Paesi parte della CBD. Come noto, infatti, l'estrema ampiezza di alcuni concetti e definizioni base del Protocollo di Nagoya ha agevolato, negli anni, il fiorire di un variegato e complesso panorama di normative, prassi e procedure sull'accesso a livello nazionale, il cui ambito di applicazione è totalmente rimesso all'interpretazione soggettiva di ciascun Paese.

Un recente studio del 2019 presentato dall'AHTEG, per esempio, ha identificato l'esistenza di almeno 16 Paesi parte della CBD con normative in materia di ABS in essere che includono nel proprio ambito di applicazione le DSI e almeno 18 altri Paesi nei quali sono in corso processi per introdurre misure anche per l'accesso alle DSI; in altri casi, anche in assenza di specifiche misure la regolamentazione delle DSI avviene a livello dei Mutually Agreed Terms di volta in volta negoziati<sup>10</sup>.

Sarà quindi interessante osservare i prossimi sviluppi e vedere se il nuovo meccanismo multilaterale per l'ABS nelle DSI riuscirà a proporsi come unico strumento pratico ed efficace su scala globale in grado di superare l'articolato mosaico di prassi e approcci alla materia, oppure si proporrà come strumento debole reso nei fatti sussidiario da una moltitudine di eccezioni.

<sup>10</sup>CBD/DSI/AHTEG/2020/1/5 29 January 2020 - Fact-Finding Study On How Domestic Measures Address Benefit-Sharing Arising From Commercial And Non-Commercial Use Of Digital Sequence Information On Genetic Resources And Address The Use Of Digital Sequence Information On Genetic Resources For Research And Development.

# Autenticare gli estratti vegetali tramite le analisi del DNA: è possibile?

Limiti, pro e contro e prospettive future dell'identificazione genetica sui prodotti finiti

V. MEZZASALMA, J. FRIGERIO E P. RE

FEM2-Ambiente, Milano • [valerio.mezzasalma@fem2ambiente.com](mailto:valerio.mezzasalma@fem2ambiente.com)

Le piante sono utilizzate in tutto il mondo per scopi medicinali grazie al loro potenziale terapeutico nella cura di malattie o per il mantenimento dello stato di salute. Attualmente, oltre al loro uso implementato nella medicina tradizionale, principalmente sotto forma di infusi, tinture e decotti di erbe, le piante medicinali e i loro prodotti vengono sempre più utilizzati come ingredienti in formulazioni vendute come integratori alimentari a base vegetale (1) o estratti vegetali. Il mercato degli integratori alimentari botanici è cresciuto in modo esponenziale negli ultimi anni e si prevede che questa tendenza verrà mantenuta. Più di recente, l'HerbalGram Herb Market Report dell'American Botanical Council (2) ha dichiarato che nel

2017 negli Stati Uniti le vendite al dettaglio di integratori alimentari a base di erbe hanno raggiunto per la prima volta gli 8 miliardi di dollari, con una crescita dell'8,5% rispetto al 2016, la crescita più forte che la categoria abbia registrato in oltre 15 anni. Al crescente mercato dei prodotti botanici corrisponde però una crescente necessità di produrre prodotti di qualità e garantire un'adeguata autenticazione delle specie. Infatti, i prodotti a base di erbe sono stati e sono tuttora oggetto di pratiche di adulterazione, pertanto l'accurata identificazione delle sostanze botaniche nei prodotti erboristici ha la massima importanza per tutelare la salute e le aspettative dei consumatori. In particolare, nel caso degli estratti botanici e degli integratori alimentari, che possono



non avere diversi tipi di formulazioni, l'identificazione del materiale vegetale utilizzato nella loro produzione è spesso una sfida per la ricerca. Confermare l'autenticità degli ingredienti botanici infatti può essere difficile a causa della diversità delle piante, della natura complessa delle sostanze fitochimiche naturali e dei processi di lavorazione utilizzati. L'autenticità di un prodotto a base di piante è un elemento fondamentale per i consumatori, i produttori, i trasformatori e le auto-

rità alimentari. Pertanto, per garantire la sicurezza e la qualità degli estratti e degli integratori alimentari, è di primaria importanza l'identificazione corretta e accurata delle specie vegetali lungo la catena di produzione, dai botanici freschi fino ai prodotti finiti. Le diverse tecniche di chimica analitica attualmente utilizzate nel settore per identificare gli ingredienti vegetali includono la cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC), la cromatografia su strato sottile ad alte prestazioni (HPTLC), la risonanza magnetica nucleare (NMR) e la spettrometria di massa (MS). Attualmente, queste tecniche sono utili nella profilazione della composizione chimica di un integratore botanico. Gli scienziati traggono conclusioni sull'identità delle specie abbinando i profili chimici misurati a standard noti.

Tuttavia, il profilo di un estratto o di un integratore alimentare a base vegetale può essere difficile da analizzare e autenticare utilizzando queste tecniche analitiche, per una serie di motivi. Alcuni costituenti del prodotto di destinazione possono essere i medesimi in molte altre specie botaniche e vi è spesso una notevole sovrapposizione nella composizione chimica tra piante di specie diverse. Per questo motivo, potrebbe essere necessaria un'altra tecnica analitica per un'autenticazione più accurata di una specie botanica.

## Analisi del DNA

Uno strumento comunemente associato alle metodologie chimiche utile per confermare le specie botaniche dichiarate è l'analisi del DNA. Più nello specifico, l'approccio utilizzato per identificare una specie botanica viene definito DNA barcoding. La tecnica del DNA barcoding è una metodologia genetica che si basa sull'analisi di specifici segmenti di DNA capaci di identificare in maniera univoca una specie, proprio come un codice a barre identifica unicamente un determinato prodotto.

Mentre il DNA barcoding è una tecnica untarget, ci sono diverse tecniche adatte per rilevare in modo mirato particolari specie adulteranti o verificare la presenza di specie di interesse, anche in modo semi/quantitativo.

In generale, le tecniche basate sul DNA sono state suggerite come le più adatte ai fini dell'identificazione delle specie botaniche, essendo già applicate per l'autenticazione di diversi prodotti. Queste sfruttano l'elevata stabilità termica delle molecole di DNA e la loro presenza ubiquitaria in tutti i tessuti (3). Pertanto, rispetto ai marcatori fenotipici e chimici, i metodi basati sul DNA possono fornire strumenti specifici, sensibili ed economici, indipendenti dalle condizioni ambientali, vegetative e fisiologiche, adatti a prodotti erboristici, anche in forme elaborate e complesse (4-9).

Nonostante il successo del DNA barcoding nell'identificazione di specie a partire da materiali botanici freschi, sorgono tuttavia problemi quando si tenta di autenticare ingredienti botanici trasformati, come quelli in un integratore finito o di un estratto. L'ampia lavorazione delle materie prime, inclusi il trattamento termico convenzionale, la filtrazione e l'estrazione di fluidi rimuove gran parte del DNA e riduce la dimensione del frammento del DNA rimanente, influenzando le caratteristiche genomiche su cui effettuare un'identificazione.

## Estrazione del DNA

Il successo dei metodi basati sul DNA si basa quindi sull'efficiente estrazione del materiale genetico, un passaggio che diviene arduo quando il materiale vegetale viene lavorato e/o mescolato con altri componenti. Generalmente, il DNA della migliore qualità si ottiene da tessuti vegetali appena raccolti e giovani mentre i materiali vegetali sotto forma di droghe vegetali, estratti, infusi di erbe o integratori alimentari sono sottoposti a stoccaggio e possono subire lavorazioni intense come la macerazione o la cottura o l'uso di solventi, che portano a una degradazione del materiale genetico. Inoltre, gli integratori alimentari contengono spesso eccipienti farmaceutici nelle loro formulazioni, come diluenti, riempitivi, leganti, lubrificanti, pigmenti e stabilizzanti. Tra questi possiamo trovare talco, silice, ossido di ferro e biossido di titanio che hanno dimostrato di influenzare l'estrazione del DNA per la presenza di fenomeni di adsorbimento

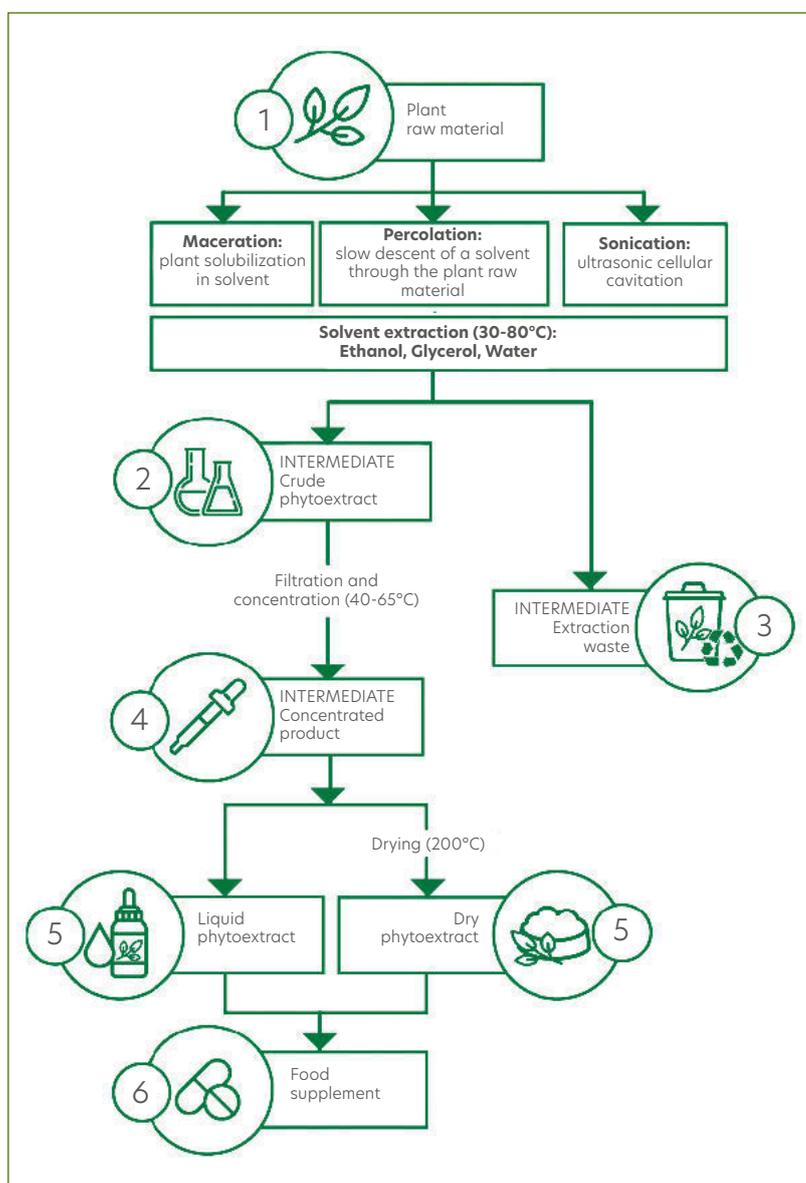
(4). Inoltre, anche i composti vegetali, come polisaccaridi e polifenoli, possono ostacolare l'isolamento del DNA. I polisaccaridi e alcuni metaboliti secondari potrebbero co-precipitare con il DNA, impedire il rilascio di acidi nucleici e inibire l'attività enzimatica richiesta per un'ulteriore amplificazione (10). Pertanto, l'estrazione del DNA di farmaci a base vegetale e in particolare di integratori alimentari è messa a dura prova dalle basse rese di DNA, dalla bassa integrità del DNA e dalla presenza di contaminanti inibitori della PCR (amplificazione del DNA).

A oggi sono numerosissimi i protocolli sperimentali e i kit commerciali che si possono utilizzare, ma anche i reagenti che permettono di far fronte alle diverse difficoltà. In FEM2-Ambiente abbiamo le competenze e conoscenze per ottimizzare e sperimentare i diversi protocolli.

## Gli effetti della lavorazione sul DNA

Per indagare sull'influenza che la lavorazione industriale ha sulla qualità e la quantità di DNA del materiale botanico, una nota azienda produttrice di integratori ha collaborato con l'Università di Guelph valutando l'accuratezza dell'utilizzo del DNA barcoding per autenticare l'estratto di tè verde prodotto (11) (Figura 1). I ricercatori hanno osservato una significativa riduzione del DNA lungo la filiera di produzione all'interno del campione. La dimensione del frammento di DNA si è notevolmente ridotta quando la materia prima è passata dal campo (raccolta di foglie di tè fresche, appassimento di foglie di tè fresche, laminazione di foglie fresche, essiccazione di foglie fresche) alla lavorazione che ha avuto luogo negli impianti di produzione. La perdita di DNA più significativa si è verificata durante le fasi di trattamento ad alta temperatura: forno a 300 °C per 30 secondi e forno a 150 °C per 10 minuti,

rispettivamente. Ciò è coerente con la comprensione che abbiamo della denaturazione del DNA, secondo cui temperature così elevate possono spezzare i legami covalenti delle molecole di DNA, rompendole e degradandole. Ciò suggerisce che i trattamenti di routine ad alte temperature nella produzione di estratti botanici sono tra i più dannosi per il DNA. Nello studio è stata osservata una diminuzione del 41,1% dalla concentrazione media di DNA genomico nelle foglie di tè fresche al materiale di tè verde essiccato e un'ulteriore diminuzione del 99,7% della concentrazione di DNA nel prodotto finale della lavorazione.



**Figura 1** • Diagramma del flusso industriale della produzione degli integratori alimentari. Sono numerate le fasi intermedie del processo industriale per le quali è stata verificata l'efficacia del DNA barcoding. (Da:11.)

I restanti frammenti di DNA sono stati degradati a una dimensione che le tecnologie convenzionali non sono in grado di rilevare.

Con l'obiettivo di valutare se l'analisi del DNA fosse applicabile per tracciare le specie vegetali dalla materia prima di partenza ai prodotti commerciali finiti, FEM2-Ambiente e i ricercatori dell'Università Milano Bicocca hanno condotto uno studio simile a quello precedente (12). Sono stati considerati ben 28 fitoestratti ottenuti attraverso tre diversi metodi di estrazione (per esempio, macerazione, percolazione e sonicazione) con diversi solventi (etanolo, acqua deionizzata e glicerolo) (Tabella 1). Inoltre, sono state selezionate sei specie vegetali per le quali sono stati raccolti e analizzati tutti gli intermedi della produzione industriale.

Sono state sequenziate e valutate la variabilità della sequenza nelle regioni dei marcatori del DNA barcoding (psbA-trnH, ITS) e del minibarcoding (rbcL1-B). Fitoestratti ottenuti mediante trattamento idroalcolico, a minore percentuale di etanolo (<40%) e l'estrazione acquosa, alla temperatura più bassa, hanno avuto un tasso maggiore di successo di sequenziamento e identificazione.

**Tabella 1** • Elenco dei campioni di integratori analizzati con i dettagli relativi alla loro lavorazione industriale per ottenere i fitoestratti finali (Da:12.)

Specie	Solvente	Metodo	Temperatura	DNA ID
<i>Echinacea purpurea</i>	Acqua	Percolazione	70/80 °C	X
<i>Echinacea purpurea</i>	Acqua	Percolazione	70/80 °C	X
<i>Malva sylvestris</i>	Acqua	Percolazione	70/80 °C	X
<i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	Acqua	Percolazione	70/80 °C	X
<i>Epilobium angustifolium</i>	Acqua	Percolazione	70/80 °C	X
<i>Cetraria islandica</i>	Acqua	Percolazione	70/80 °C	X
<i>Melissa officinalis</i>	Etanolo 32%	Percolazione	60 °C	X
<i>Melissa officinalis</i>	Etanolo 70%	Percolazione	60 °C	X
<i>Melissa officinalis</i>	Acqua	Estrazione in controcorrente	50 °C	X
<i>Foeniculum vulgare</i>	Acqua	Estrazione in controcorrente	50 °C	X
<i>Aesculus hippocastanum</i>	Etanolo 40%	Estrazione in controcorrente	50 °C	X
<i>Passiflora incarnata</i>	Etanolo 60%	Estrazione in controcorrente	50 °C	X
<i>Echinacea angustifolia</i>	Etanolo 55%	Macerazione	RT	X
<i>Arctium lappa</i>	Etanolo 60%	Macerazione	RT	X
<i>Taraxacum officinale</i>	Etanolo 45%	Macerazione	RT	X
<i>Passiflora incarnata</i>	Etanolo 60%	Macerazione	RT	X
<i>Thymus vulgaris</i>	Etanolo 60%	Macerazione	RT	X
<i>Melissa officinalis</i>	Etanolo 55%	Macerazione	RT	X
<i>Echinacea angustifolia</i>	50% Glicerolo	Macerazione	RT	X
<i>Arctium lappa</i>	Glicerolo 50%	Macerazione	RT	X
<i>Taraxacum officinale</i>	Glicerolo 50%	Macerazione	RT	X
<i>Passiflora incarnata</i>	Glicerolo 50%	Macerazione	RT	X
<i>Thymus vulgaris</i>	Glicerolo 50%	Macerazione	RT	X
<i>Melissa officinalis</i>	Glicerolo 50%	Macerazione	RT	X
<i>Echinacea pallida</i>	Etanolo 30%	Ultrasuoni	40 °C	X
<i>Tilia platyphyllos</i>	Etanolo 20%	Ultrasuoni	40 °C	X
<i>Mentha x piperita</i>	Etanolo 20%	Ultrasuoni	40 °C	X
<i>Rosa canina</i>	Etanolo 20%	Ultrasuoni	40 °C	X
<i>Achillea millefolium</i>	Etanolo 20%	Ultrasuoni	40 °C	X
<i>Harpagophytum procumbens</i>	Etanolo 20%	Ultrasuoni	40 °C	X

In generale, l'elevata concentrazione di etanolo utilizzato nelle fasi di lavorazione industriale porta alla precipitazione del DNA e al suo allontanamento; infatti DNA

residuo è stato rilevato proprio negli scarti di estrazione piuttosto che nel fitoestratto. Per questo motivo, sia l'estrazione del DNA sia l'identificazione genetica falliscono quando applicate ai successivi prodotti intermedi della lavorazione industriale e nei prodotti finiti. Allo stesso modo, le alte temperature dell'acqua durante l'estrazione acquosa, seguite da una fase di essiccazione (circa 200 °C) portano probabilmente alla frammentazione e degradazione del DNA (13). Al contrario, l'uso di acqua più tiepida (cioè, <55 °C) consente di ottenere l'estrazione del DNA, amplificazione e sequenziamento di marcatori molecolari con successo. Per quanto riguarda gli estratti di glicerolo, sebbene questo solvente non agisca direttamente sulle molecole di DNA, di solito contiene etilglicerina e fenossietanolo, che sono tipicamente usati come additivi. Secondo Langsrud et al (14) questi agenti antibatterici potrebbero essere responsabili della perdita di DNA, impedendo l'analisi del DNA negli estratti glicerici. Per quanto riguarda i trattamenti industriali, la sonicazione sembra mantenere più intatto il DNA delle materie prime rispetto agli altri processi (macerazione e percolazione) consentendo così l'amplificazione e il sequenziamento del DNA.

Per quanto riguarda la qualità del materiale genetico estratto, la purezza del DNA è più importante della resa di estrazione per ottenere una buona amplificazione e quindi un'identificazione affidabile (15). Va anche considerato che i metaboliti secondari, come i polifenoli e i polisaccaridi, che vengono normalmente estratti insieme al DNA, possono interferire con l'amplificazione PCR (16). Queste molecole potrebbero legarsi covalentemente al DNA e rendere impuri i prodotti di estrazione, con non pochi problemi per le successive analisi molecolari. Per esempio, gli acidi tannici potrebbero legare e inattivare la Taq polimerasi (17).

## **Approcci avanzati basati sul genoma**

Nell'ultimo decennio, con le crescenti preoccupazioni sulla sicurezza e l'autenticità degli integratori alimentari e delle piante medicinali, ci sono stati notevoli progressi

nello sviluppo di nuovi metodi basati sul genoma applicati all'identificazione dell'origine botanica.

Questi avanzamenti si sono basati su metodi alternativi di amplificazione del DNA, vale a dire l'amplificazione isoterma mediata da loop (LAMP) e l'amplificazione elicasi-dipendente (HDA), e su tecnologie di sequenziamento nuove e migliorate per superare i limiti del sequenziamento di prima generazione (di Sanger), denominato come NGS. La combinazione di tecnologie ad alto rendimento e del DNA barcoding, nota come DNA metabarcoding, è recentemente emersa come uno strumento con la capacità di identificare ogni singola specie in complesse miscele multi-ingrediente e processate (18).

Il DNA metabarcoding ha mostrato un potenziale superiore rispetto a quello del DNA barcoding per autenticare gli integratori alimentari a base di erbe.

Quest'ultimo infatti è limitato all'identificazione del singolo ingrediente e al materiale vegetale non trasformato, prima che la pianta subisca fasi di lavorazione che portino alla perdita, al degrado o alla miscelazione del DNA (18).

## **Limiti dei metodi basati sull'analisi del DNA**

L'applicazione di metodi basati sull'analisi del DNA per l'autenticazione degli integratori alimentari dipende dall'ottenimento di DNA di qualità soddisfacente, un passaggio cruciale per garantire che la sequenza o le sequenze bersaglio siano amplificate e identificate. Sebbene sia ora possibile isolare il DNA da quasi ogni tipo di prodotto (inclusi materiali grezzi/freschi, essiccati, in polvere e altamente lavorati), è importante prendere in considerazione gli effetti sia della matrice sia della lavorazione, che possono interferire con la resa finale, la purezza e l'integrità del DNA estratto.

A seconda delle specie botaniche e della porzione di pianta in analisi, la quantità di materiale da estrarre può variare sensibilmente, così come il metodo di estrazione, che potrebbe richiedere modifiche o addirittura essere completamente diverso. Il metodo di estrazione deve es-

sere sufficientemente efficace nella rimozione dei composti della matrice, come proteine, grassi, polisaccaridi e composti fenolici, che potrebbero inibire l'amplificazione PCR. Lo stoccaggio e qualsiasi tipo di lavorazione, come l'essiccazione e la macinazione che portano alla degradazione del materiale genetico, dovrebbero essere presi in considerazione insieme alla frequente aggiunta di diversi eccipienti farmaceutici che influenzano l'estrazione del DNA a causa di fenomeni di adsorbimento. In particolare nel caso di integratori alimentari che potrebbero contenere DNA degradato e/o eccipienti che ostacolano l'estrazione del DNA, l'applicazione di qualsiasi ulteriore metodo potrebbe essere irrealizzabile. Per ovviare alla presenza di DNA degradato si raccomanda l'utilizzo di sequenze target con lunghezza inferiore a 200 bp.

Tuttavia, questo potrebbe limitare i polimorfismi e, di conseguenza, la capacità di identificare una specie. In tali casi, potrebbero essere necessarie altre sequenze e/o tecniche per aumentare il livello di accuratezza nell'identificazione di specie. Per quanto riguarda i fenomeni di adsorbimento dovuti agli eccipienti, sono ancora necessari ulteriori sforzi, sfruttando nuove strategie per l'estrazione del DNA. Nel caso di integratori alimentari contenenti estratti vegetali che potrebbero contenere tracce o addirittura nessuna molecola di DNA, l'applicazione di metodi basati sul DNA potrebbe risultare impraticabile. In entrambe le situazioni, l'uso di metodi chimici (come LC-MS, GC-MS, NMR) e metabolomica può certamente fornire indizi o integrare i risultati di autenticazione richiesti.

Inoltre, i metodi basati sul DNA non forniscono informazioni identificative o quantitative sui composti chimici attivi nei prodotti botanici grezzi o nei prodotti erboristici derivati, che possono essere forniti utilizzando metodi chimici. Pertanto, essendo nell'era dell'"omica", i progressi sulla proteomica e sui metodi basati sulla metabolomica dovrebbero integrare le risposte non fornite dalla genomica, consentendo la piena autenticazione di un'ampia gamma di prodotti erboristici complessi come estratti e integratori alimentari.

## Conclusioni

Per quanto di interesse globale, riuscire a effettuare la tracciabilità dell'intera filiera erboristica resta tutt'oggi una sfida ancora accesa. Se per le materie prime fresche o in taglio tisana non ci sono grosse difficoltà nel riconoscimento genetico di specie, lungo le complesse filiere produttive ci sono dei passaggi di lavorazione che tendono a frammentare, degradare o allontanare il materiale genetico. In queste condizioni purtroppo la riuscita dell'analisi di identificazione genetica diventa piuttosto ardua.

Gli studi descritti hanno evidenziato come diverse lavorazioni hanno effetti differenti sulla possibilità di isolare il DNA dai prodotti di interesse.

Questo è sicuramente un buon punto di partenza per valutare la fattibilità dell'analisi sulla base del processo produttivo. In ogni caso un approccio esplorativo, come quello messo a punto da FEM2-Ambiente, permette di valutare con passaggi rapidi e semplici la presenza di DNA analizzabile nel prodotto prima di procedere all'intera analisi. Inoltre, un insieme di protocolli applicabili sviluppati nel tempo permette di far fronte alle diverse difficoltà dovute ai processi industriali, per poter così aumentare le chance di ottenere DNA di buona qualità e sufficiente quantità e di analizzare anche frammenti di piccole dimensioni senza compromettere la riuscita di identificazione.

## BIBLIOGRAFIA

1. Lu Z, Rubinsky M, Babajanian S et al. Visualization of DNA in highly processed botanical materials. *Food Chem.* 2018;245:1042-1051.
2. Smith T, Kawa K, Eckl V et al. Herbal supplement sales in US increased 8.5% in 2017, topping \$8 billion HerbalGram. *The Journal of the American Botanical Council.* 2018;119:62-71.
3. Grazina L, Amaral JS, Mafra I. Botanical origin authentication of dietary supplements by DNA-based approaches. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2020;19(3):1080-1109.
4. Costa J, Amaral JS, Fernandes TJR et al. DNA extraction from plant food supplements: Influence of different pharmaceutical excipients. *Mol Cell Probes.* 2015;29(6):473-478.

5. Costa J, Oliveira MBPP, Mafra I. Novel approach based on single-tube nested real-time PCR to detect almond allergens in foods. *Int Food Res J*. 2013;51(1):228-235.
6. Ganie SH, Upadhyay P, Das S, Prasad Sharma M. Authentication of medicinal plants by DNA markers. *Plant Gene*. 2015;4:83-99.
7. Mafra I, Ferreira IMPLVO, Oliveira MBPP. Food authentication by PCR-based methods. *Eur Food Res Technol*. 2008;227(3):649-665.
8. Soares S, Amara JS, Oliveira MBPP et al. Improving DNA isolation from honey for the botanical origin identification. *Food Control*. 2015;48:130-136.
9. Techen N, Parveen I, Pan Z, Khan IA. DNA barcoding of medicinal plant material for identification. *Curr Opin Biotechnol*. 2014;25:103-110.
10. Porebski S, Bailey LG, Baum BR. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter*. 1997;15(1):8-15.
11. Faller AC, Ragupathy S, Shanmughanandhan D et al. DNA Quality and Quantity Analysis of *Camellia sinensis* Through Processing from Fresh Leaves to a Green Tea Extract. *J AOAC Int*. 2019;102(6):1798-1807.
12. Frigerio J, Gorini T, Galimberti A et al. DNA barcoding to trace Medicinal and Aromatic Plants from the field to the food supplement. *J Appl Bot Food Qual*. 2019;92:33-38.
13. Karni M, Zidon D, Polak P et al. Thermal degradation of DNA. *DNA Cell Biol*. 2013;32(6):298-301.
14. Langsrud S, Steinhauer K, Lüthje S et al. Ethylhexylglycerin impairs membrane integrity and enhances the lethal effect of phenoxyethanol. *PLOS ONE*. 2016;11(10):e0165228.
15. Song M, Dong GQ, Zhang YQ et al. Identification of processed chinese medicinal materials using DNA mini-barcoding *Chin. J Nat Med*. 2017;15(7):481-486.
16. Sahu SK, Thangaraj M, Kathiresan K. DNA Extraction protocol for plants with high levels of secondary metabolites and poly-saccharides without using liquid nitrogen and phenol ISRN. *Mol Biol*. 2019;1-6.
17. Opel KI, Chung D, McCord BR. A Study of PCR Inhibition mechanisms using real time PCR *J. Forensic Sci*. 2010;55(1):25-33.
18. Raclariu AC, Heinrich M, Ichim MC, de Boer H. Benefits and Limitations of DNA Barcoding and Metabarcoding in Herbal Product Authentication. *Phytochem Anal*. 2018;29(2):123-128.

# “Crescere” aria pulita in città è possibile?

Il verde tecnico per il miglioramento della qualità atmosferica

**E. ROCCOTIELLO**

Dipartimento di Scienze della Terra dell'Ambiente e della Vita, Università degli Studi di Genova

[enrica.roccotiello@unige.it](mailto:enrica.roccotiello@unige.it)

## Le polveri sottili: una pandemia silenziosa

Salute e qualità dell'aria in città costituiscono sempre più un binomio inscindibile nel contesto urbano, specialmente se si considera che l'inquinamento atmosferico rappresenta una delle principali cause di mortalità al mondo (1), tanto da definire questo fenomeno come “pandemia silenziosa”.

Le fonti principali in città sono rappresentate dal traffico veicolare, dal riscaldamento e dall'attività industriale (2) che hanno come risultato la formazione di “nebbie” inquinanti (Figura 1). A questo contesto si aggiunge l'effetto del cambiamento climatico che, aumentando le temperature e diminuendo le precipitazioni su larga scala, può influenzare in particolare la concentrazione delle polveri sottili (3), troppo spesso oltre i limiti normativi (4).

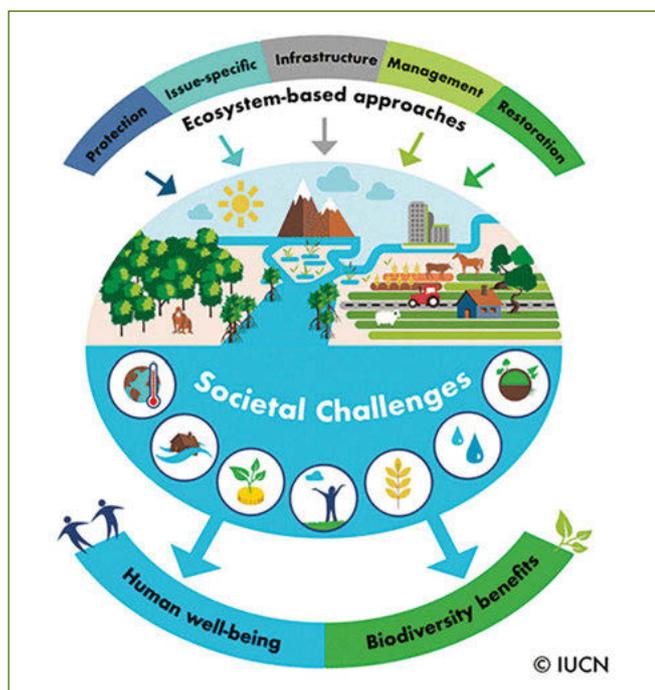
## Le Nature-based Solution nel contesto urbano per il miglioramento della qualità dell'aria

Nell'ambito del piano d'azione del Green Deal europeo, la Commissione Europea ha prefissato l'obiettivo di diminuire del 55% il numero di morti premature causate dal particolato fine (PM2,5) entro il 2030 (5). Di conse-

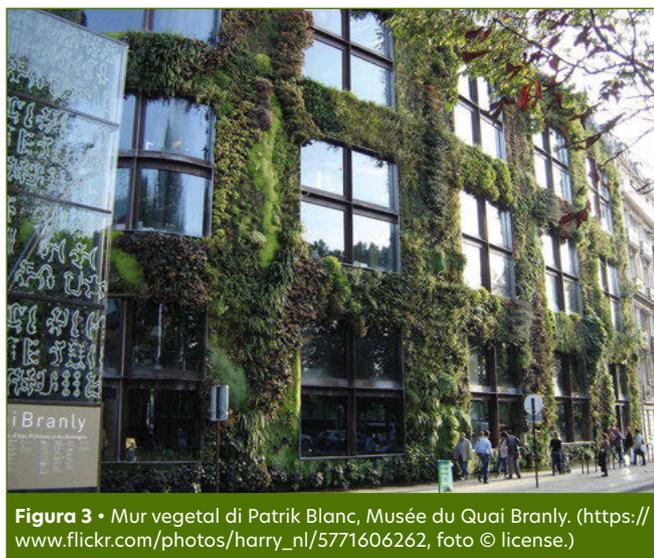


**Figura 1** • La città di Fanhe (Cina), intensamente inquinata a livello atmosferico, fotografata nel 2019 in un intervallo di 10 giorni con diverse condizioni meteorologiche. (Foto Tomsyhaha, © license.)

guenza, è obbligatorio sia ridurre le emissioni sia mitigare l'inquinamento atmosferico per migliorare la qualità della vita nelle aree urbane. Tuttavia, lo spazio al suolo nel contesto urbano risulta spesso limitato. Come fare? Un aiuto può arrivare da alcuni tipi di Nature-based Solution (NbS, Figura 2) (6), e in particolare dal verde tecnico come, per esempio, i tetti verdi e le facciate verdi che possono contribuire in modo significativo al miglioramento della qualità dell'aria. Infatti, se l'uso di aree



**Figura 2** • Le soluzioni basate sulla natura sono azioni per proteggere, gestire in modo sostenibile e ripristinare la natura e gli ecosistemi artificiali, affrontando le sfide della società in modo efficace e adattativo, e fornendo benefici alle persone e alla biodiversità. (Da: 6.)



**Figura 3** • Mur vegetal di Patrik Blanc, Musée du Quai Branly. ([https://www.flickr.com/photos/harry\\_nl/5771606262](https://www.flickr.com/photos/harry_nl/5771606262), foto © license.)

verdi ad alta densità arborea è da preferire nel contesto urbano, tuttavia, il verde tecnico può fornire un contributo significativo al miglioramento della qualità di vita dei cittadini (7). Questo grazie all'azione delle piante, in grado di fornire numerosi servizi ecosistemici, tra cui il miglioramento della qualità dell'aria, attraverso la cattura di inquinanti atmosferici come le polveri sottili sulla propria superficie fogliare (8). Tali NbS, oltre ad avere un elevatissimo impatto estetico e psico-fisico sulla popola-

zione, rappresentano anche un'applicazione tecnologica del verde impiegabile su vasta scala, in particolare dove lo spazio al suolo risulta ridotto a causa dell'alta densità del costruito (Figura 3).

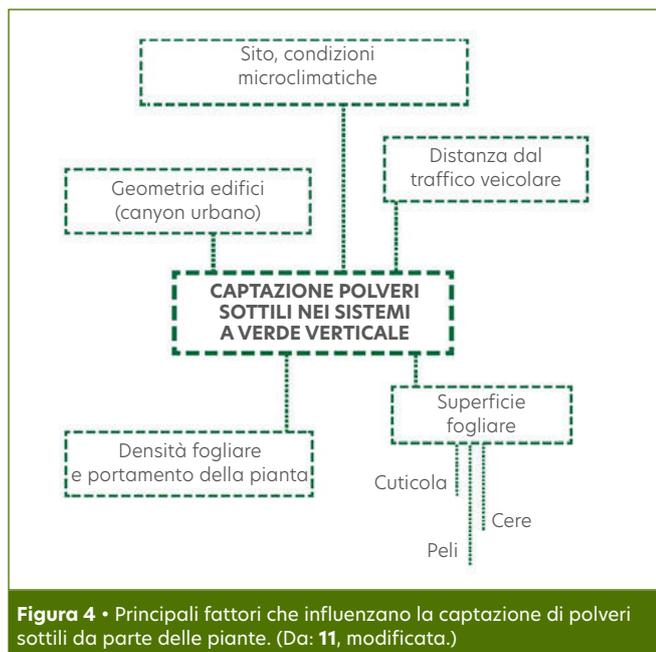
## Quanto è efficace il verde tecnico?

Diversi parametri determinano le prestazioni del verde tecnico e, in particolare, di quello verticale nel miglioramento della qualità dell'aria, quali per esempio la vitalità (uso di specie coerenti con il contesto bioclimatico di riferimento) e il portamento della pianta (che determina l'angolo di incidenza rispetto al flusso d'aria), il fogliame deciduo o sempreverde (con diversa captazione durante l'anno), la densità fogliare (più efficace se elevata) e morfologia e micromorfologia della superficie fogliare (presenza di peli o cere fogliari) (9,10) (Figura 4).

L'uso di facciate verdi non costituisce un ostacolo rispetto alle masse d'aria contenenti inquinanti, poiché consente la libera circolazione dei flussi d'aria all'interno dei canyon urbani (8).

Inoltre, la localizzazione spaziale delle facciate verdi, ovvero la vicinanza alla strada e alle sorgenti di emissioni veicolari, e la scelta di specie vegetali idonee possono consentire una buona capacità di assorbimento delle polveri sottili (10-12).

Quanto possono assorbire le piante? Diversi modelli di deposizione degli inquinanti, tra cui quello sui tetti verdi di Chicago (13) hanno dimostrato che 20 ettari di tetto verde rimuovono 1675 chili di inquinanti atmosferici in un anno e in particolare ozono (52%), ossidi di azoto (27%), polveri sottili come il PM10 (14%) e anidride solforosa (7%), mentre altri studi hanno documentato che un aumento delle coperture a verde tecnico del 10-20% nella città di Toronto aumenterebbe in maniera economicamente apprezzabile la qualità di vita dei cittadini con minore impatto sul sistema sanitario (14). Se pensate che ci vogliano grandi estensioni per ottenere questi benefici è utile sapere che un metro quadro di tetto a semplice copertura a prativa può rimuovere fino a 0,5 chili di PM2,5 all'anno (15)!



## Quanto costa e perché farlo?

Diversi studi hanno già dimostrato che le attuali facciate verdi sul mercato presentano diversi aspetti che ne limitano la diffusione in ambito urbano, quali costi e manutenzione elevati (16). In generale, un tetto verde ha un costo di installazione che varia tra i 100 e i 250 euro al metro quadro (17), mentre per una facciata verde i costi possono essere ancora più variabili a seconda della tipologia, della scelta di specie, del sistema di irrigazione, oscillando da un minimo di 80 a un massimo di 450 euro al metro quadro ([www.ambienteitalia.it](http://www.ambienteitalia.it)). Va però considerato che questo tipo di installazioni comporta una molteplicità di benefici, oltre a quelli già citati sulla salute umana. Un involucro verde può infatti aumentare la longevità di un tetto anche dai 20 ai 40 anni (18). Da notare che l'installazione di un involucro verde, come anche la presenza di aree verde circostanti, può aumentare il valore dell'immobile dal 6 al 15% (19).

## Quali potrebbero essere le applicazioni su vasta scala?

Molteplici superfici, ben oltre quelle degli edifici pubblici e privati, si prestano alle applicazioni di verde tecnico; basti pensare all'inverdimento di superfici verticali, di dif-

ferenti tipologie, che fiancheggiano strade carrabili, con la finalità di assorbimento di polveri sottili e di mitigazione del fenomeno isola di calore.

Da notare però che gli incentivi fiscali giocano un ruolo importante per la sostenibilità economica dei sistemi di inverdimento tecnico, impattando in modo significativo sui risultati economici globali e risultando pertanto essenziali alla promozione di queste soluzioni (16).

Per rendere i costi più concorrenziali, occorre dunque lavorare per la progettazione di sistemi leggeri e a ridotto spessore, per facilitare l'applicazione su vasta scala nel tessuto urbano anche su costruzioni preesistenti e su superfici che vadano oltre quelle degli edifici.

Oltre a ridurre le emissioni alla fonte, occorre dunque cambiare il modo in cui concepiamo il verde a scala urbana, andando ben oltre il concetto di arredo, pensando che le piante possano essere integrate e co-crescere con la città, e contribuire alla qualità della nostra vita, rappresentando un modo efficace di rendere le nostre città più adattive, salubri, vivibili.

## BIBLIOGRAFIA

1. Egerstrom N, Rojas-Rueda D, Martuzzi M et al. Health and economic benefits of WHO air quality guidelines. 2022 Western Pacific Region Bulletin of the World Health Organization; BLT.22.288938
2. Karagulian F, Belis CA, Dora CFC et al. Contributions to cities' ambient particulate matter (PM): a systematic review of local source contributions at global level. *Atm. Environ.* 2015;120:475-83.
3. Doherty RM, Heal MR, O'Connor FM. Climate change impacts on human health over Europe through its effect on air quality. *Environ. Health.* 2017;16(1):118.
4. European Environment Agency. Air Quality in Europe 2019 – European Environment Agency. 2019; <https://www.eea.europa.eu/publications/air-quality-in-europe-2019>.
5. European Commission. 2021; Register of Commission Documents - COM(2021)400: 12 May 2021. [https://ec.europa.eu/transparency/documents-register/detail?ref=COM\(2021\)400&lang=en](https://ec.europa.eu/transparency/documents-register/detail?ref=COM(2021)400&lang=en).
6. Cohen-Shacham E, Janzen WG, Maginnis S. (eds.) Nature-based Solutions to address global societal challenges. Gland, Switzerland: IUCN. xiii + 97pp; 2016.

7. Perini K, Ottel  M, Giulini S et al. Quantification of fine dust deposition on different plant species in a vertical greening system. *Ecol. Engin.* 2017;100:268-76.
8. Ysebaert T, Koch K, Samson R et al. Green walls for mitigating urban particulate matter pollution—a review'. *Urban Forestry & Urban Greening* 2021;59:127014.
9. Janhall S. Review on urban vegetation and particle air pollution, deposition and dispersion. *Atmos. Environ.* 2015;105:130-137.
10. Perini K, Ottel  M, Giulini S et al. Quantification of fine dust deposition on different plant species in a vertical greening system. *Ecol. Eng.* 2017;100:268-276.
11. Perini K, Roccotiello E. Vertical greening systems for pollutants reduction. In: *Nature Based Strategies for Urban and Building Sustainability*. Elsevier; 2018;131-140.
12. Wuyts MSK, Samson R. Atmospheric net particle accumulation on 96 plant species with contrasting morphological and anatomical leaf characteristics in a common garden experiment. *Atmos. Environ.* 2019;202: 328-344.
13. Yang J, Yu Q, Gong P Quantifying air pollution removal by green roofs in Chicago *Atmos. Environ.* 2008;42:7266-7273.
14. Currie BA, Bass B. Estimates of air pollution mitigation with green plants and green roofs using the UFORE model. *Urban Ecosyst.* 2008;11:409-422.
15. Irga PJ, Fleck R, Arsenteva E et al. Biosolar green roofs and ambient air pollution in city centres: mixed results. *Build. Environ.* 2022;226:109712.
16. Rosasco P, Perini K. Selection of (green) roof systems: a sustainability-based multi-criteria analysis. *Buildings* 2019;9(5).
17. Perini K, Rosasco P. Is greening the building envelope economically sustainable? An analysis to evaluate the advantages of economy of scope of vertical greening systems and green roofs. *Urban For. Urban Green.* 2016;20:328-337.
18. Clark C, Talbot B, Bulkley J et al. Optimization of green roofs for air pollution mitigation. In: *Proceedings of the Third North American Green Roof Conference: Greening Rooftops for Sustainable Communities*, Washington, DC, USA, 4-6 May 2005;482-497.
19. Peck SW, Callaghan C, Kuhn ME et al. Greenbacks from green roofs: forging a new industry in Canada; status report on benefits, barriers and opportunities for green roof and vertical garden technology diffusion; Environmental Adaptation Research Group: Toronto, ON, Canada, 1999.

# BeramChol®

## Estratto di Amaranto e Bergamotto per la salute metabolica

Nating Italia, grazie all'esclusivo sistema tecnologico DEFS®, produce un ingrediente funzionale senza l'utilizzo di maltodestrina formulato con il frutto di Bergamotto (*Citrus bergamia*) e Amaranto (*Amaranthus caudatus*) di origine italiana dal nome BeramChol®.

Si tratta di un estratto funzionale a basso indice glicemico, senza glutine e privo di lattosio. Questa nobile risorsa naturale ricca di flavonoidi e glicosidi è ottima nella gestione della sindrome metabolica in quanto abbassa i marker dell'infiammazione epatica, migliora la sensibilità all'insulina e previene l'insorgenza di malattie cardiovascolari con numerosi benefici per cuore, sangue e arterie.

Prodotto completamente italiano, completo dal punto di vista nutrizionale e sicuro grazie alle certificazioni, agli studi e alla sperimentazione. Un frutto dal sapore intenso e profumato che può essere utilizzato sia come ingrediente singolo sia in combinazione con altri estratti per creare un nutraceutico efficace e innovativo.

### COMPOSIZIONE E SPECIFICHE TECNICHE

Le caratteristiche tecniche di BeramChol® sono illustrate nella **Tabella 1**.

### MECCANISMO D'AZIONE

Studi scientifici suggeriscono un potenziale ruolo protettivo dei flavonoidi e glicosidi contenuti nel Bergamotto nella gestione di diversi aspetti della sindrome metabolica e nella riduzione dell'infiammazione epatica. Il Bergamotto, infatti, agisce sui livelli di citochine e apporta un miglioramento della sensibilità all'insulina accompagnato da perdita di peso. In particolare, i flavonoidi, tra cui naringina, neoesperidina e neohesperidina, sono utili per contrastare lo stress ossidativo **(1)**. La naringina, infatti, in uno studio condotto su conigli maschi della Nuova Zelanda che erano stati nutriti con una alimentazione ricca di colesterolo,

G. BARBAGLIO

gloria.barbaglio@natingitalia.it

NATING è una giovane e dinamica azienda italiana nata nel 2018, leader nel settore della nutraceutica. Si occupa della lavorazione di materie prime naturali ed è riconosciuta come punto di riferimento a livello internazionale, facendosi spazio nel mercato europeo, soprattutto in Francia, Germania e Inghilterra ma anche oltreoceano, stringendo sinergie e raccogliendo partner e committenti in Corea, Australia e nel vasto mercato statunitense. Mercati tanto lontani quanto diversi, ma accomunati tutti da un'attenzione particolare per l'alta qualità. Nating è un punto di riferimento per le materie prime, dove scienza, salute e natura si mescolano per offrire prodotti Made in Italy 100% BIO. Una qualità certificata grazie a ingredienti funzionali innovativi prodotti secondo i più aggiornati standard qualitativi europei: ISO 9001, ISO 14001, ISO 22000, ISO 45001, GMP, IFS, GFSI, Organic, Kosher, Vegan. Nating è un interessante modello di sviluppo aziendale dove tecnologia e sicurezza si sposano a una gestione oculata sul piano finanziario e di investimento.

aveva ottenuto risultati eclatanti rispetto ai conigli trattati con placebo e lovastatina, ossia aveva ridotto significativamente la formazione di strisce di grasso e l'infiltrazione di macrofagi nelle cellule endoteliali, oltre a registrare un'azione epato-protettiva **(2)**. Mollace et al **(3)** hanno dimostrato che la frazione polifenolica del Bergamotto ha ridotto il co-

**Tabella 1 • Caratteristiche tecniche di BeramChol®**

<b>Caratteristiche organolettiche</b>	
Aspetto	Polvere
Odore	Caratteristico
Colore	Pallido, leggermente giallastro
<b>Caratteristiche chimico-fisiche</b>	
pH	4-6
Densità	0,5 g/mL
Solubilità	100% solubile
<b>Contaminanti</b>	
Metalli pesanti	≤10 ppm
Piombo (Pb)	<3 ppm
Cadmio (Cd)	<1 ppm
Mercurio (Hg)	<0,1 ppm
Conservanti antimicrobici	Assenti
Residui pesticidi	Assenti
<b>Caratteristiche microbiologiche</b>	
Microrganismo aerobico	≤5 × 10.000 UFC/g
Muffe-Lieviti	≤5 × 100 UFC/g
Enterobacteriaceae*	≤100 UFC/g
<i>Escherichia coli</i> (1 g) *	Assente
Salmonella (25 g)*	Assente
Aflatossine B1*	<5 ppb
Somma di B1, B2, G1, G2*	<10 ppb
<b>Stabilità e Conservazione</b>	
Conservare nella confezione originale chiusa a temperatura ambiente (5-25 °C), lontano da fonti di calore, luce diretta e umidità. Shelf-life: 3 anni.	
*Analisi effettuata sulla base di uno specifico piano di autocontrollo.	

lesterolo totale da 262 mg/dL a 196 mg/dL, il colesterolo LDL da 175 mg/dL a 116 mg/dL e i trigliceridi da 252 mg/dL a 170 mg/dL. Inoltre, la presenza di terpeni, caroteni e cumarine è responsabile delle forti attività antiossidanti e antimicrobiche (4). Studi in vitro hanno evidenziato come la componente polifenolica del Bergamotto sia in grado di attivare la funzione dell'AMPK, enzima con un ruolo chiave nell'omeostasi cellulare.

Come dimostrato BeramChol® risulta avere proprietà ipocolesterolemizzanti, antiossidanti, antibatteriche ed epatoprotettive.

## EFFICACIA

### Studi in vitro e in vivo

Il Bergamotto ha mostrato un'elevata attività antiossidante in vitro e in vivo e un'attività antibatterica contro i batteri patogeni; inoltre l'Amaranto vanta health claim per il metabolismo del colesterolo (vedi *Allegato 1-Botanicals* del DM 10 agosto 2018) e questo potenzia l'efficacia di BeramChol®.

La stessa è stata dimostrata attraverso uno studio clinico osservazionale condotto in soggetti sovrappeso e con intolleranza glucidica apportando benefici quali riduzione del peso e del BMI, riduzione dei valori di colesterolo totale e dell'emoglobina glicata e soprattutto una riduzione della glicemia post-prandiale (*Dati disponibili su richiesta*).

In un articolo pubblicato nel 2018 è stato condotto uno studio pilota su pazienti schizofrenici dove la frazione polifenolica del Bergamotto ha dimostrato evidente efficacia nei pazienti affetti da sindrome metabolica migliorando il profilo lipidico, glicemico e l'alterata vasodilatazione endotelio-mediata (5).

## SICUREZZA

L'estratto è ottenuto mediante estrazione con sola acqua, senza l'impiego di solventi, grazie alla tecnologia DEFS® che permette di mantenere inalterate le proprietà nutritive. Una tecnologia all'avanguardia in grado di garantire oltretutto una flessibilità produttiva azzerando sprechi e puntando a un sempre più crescente risparmio energetico. Il prodotto non contiene alcun ingrediente/sostanza classificata come pericolosa.

## APPLICAZIONI E MODALITÀ D'USO

BeramChol® può essere utilizzato sia come ingrediente singolo che in combinazione con altri estratti per creare un integratore alimentare a basso indice glicemico per soggetti con insulino-resistenza o malattie metaboliche. BeramChol® è adatto per celiaci, vegani e vegetariani ed è consigliato per la prevenzione e la gestione della sindrome metabolica.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Wang Y, Liu XJ, Chen JB et al. Citrus flavonoids and their antioxidant evaluation. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2022;62(14):3833-3854.
2. Nauman MC, Johnson JJ. Clinical application of bergamot (*Citrus bergamia*) for reducing high cholesterol and cardiovascular disease markers. *Integr Food Nutr Metab.* 2019;6(2):10.15761/IFNM.1000249.
3. Mollace V, Scicchitano M, Paone S et al. Hypoglycemic and Hypolipemic Effects of a New Lecithin Formulation of Bergamot Polyphenolic Fraction: A Double Blind, Randomized, Placebo- Controlled Study, *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2019;19(2):136-143.
4. Dosoky NS, Setzer WN. Biological Activities and Safety of Citrus spp. Essential Oils. *Int J Mol Sci.* 2018;19(7):1966.
5. Bruno A, Zoccali RA, Pandolfo G et al. Frazione polifenolica del bergamotto per il trattamento della sindrome metabolica nella schizofrenia: uno studio pilota. *Riv Psichiatr.* 2018; 53(5): 256-260.

## C.F.M. CO. FARMACEUTICA MILANESE

# Estratto di Limone Wellemon®

F. ZERILLI

francesco.zerilli@cofamispa.it

www.cofamispa.it

## Flavonoidi biodisponibili per la salute cardiovascolare

Disturbi e patologie metaboliche e cardiovascolari, inclusi eventi acuti, rimangono tra le cause più frequenti di malattia e morte, quantomeno nelle aree sviluppate del Pianeta; i farmaci deputati al trattamento o alla prevenzione di tali condizioni sono tra i più comunemente prescritti, ma vi sono altri approcci efficaci di contenimento del rischio e della gravità degli effetti della malattia che includono interventi sulla dieta e sullo stile di vita, e soprattutto l'impiego di molecole attive di origine naturale. Studi epidemiologici, metanalisi ed evidenze date dall'uso tradizionale sia di diverse specie vegetali sia dei loro estratti hanno evidenziato come il consumo di agrumi e dei flavonoidi, di cui essi sono ricchi, sia correlabile a una riduzione dell'incidenza di patologie come quelle sopra accennate. Diversamente da polifenoli e flavonoidi in senso lato, piuttosto diffusi nel regno vegetale, la sotto-classe dei flavanoni è specifica degli agrumi e di poche altre piante. I flavanoni sono derivati aromatici del flavone e si trovano nella fonte vege-

tale per lo più nella forma glicosilata, ovvero lo stato in cui l'aglicone è legato a un disaccaride, in molte combinazioni possibili.

In Occidente, il flavanone più diffuso e più comunemente consumato è l'esperidina, in virtù del contenuto di questo flavonoide nel frutto dell'arancio e in misura minore nel suo succo; l'esperidina è anche disponibile commercialmente in forma pura attraverso sintesi chimica o per estrazione e successiva purificazione. Viceversa, appaiono molto meno diffusi altri importanti flavonoidi, quale per esempio l'eriocitrina, il flavanone caratteristico del Limone.

I flavonoidi degli agrumi svolgono svariate attività biologiche nei confronti dell'organismo: possiedono potenziale antiossidante e capacità di scavenging dei radicali, oltre a una funzione antinfiammatoria, tutte con importanti implicazioni salutistiche dato l'acclarato ruolo dello stress ossidativo e dell'infiammazione nell'eziologia di obesità e dislipidemie, diabete e resistenza insulinica, e patologie cardiovascolari

C.F.M. CO. FARMACEUTICA MILANESE distribuisce materie prime per l'industria farmaceutica, nutrizionale e cosmetica, proponendo ai propri clienti prodotti sicuri e ricercando per loro fonti e opportunità in qualsiasi parte del mondo. Il know-how tecnico, il sistema di assicurazione qualità certificato ISO 9001:2015 e la capillare rete di fornitori selezionati da anni in tutto il mondo fanno di C.F.M. un punto di riferimento per le aziende che cercano materie prime di qualità e un servizio veloce.

connesse. Ampi studi epidemiologici in Paesi come la Finlandia e il Giappone hanno osservato che il consumo di flavanoni correla inversamente con il rischio di ischemia cerebrale (20% di riduzione del rischio nei soggetti a maggior consumo). Da metanalisi di letteratura si è anche osservata una capacità ipotensiva e di riduzione della circonferenza addominale, e ulteriori evidenze si sono avute nell'ambito della riduzione della sindrome metabolica: una condizione patologica multifattoriale che coinvolge contemporaneamente il metabolismo di grassi e zuccheri, la pressione sanguigna e l'obesità addominale. Un ulteriore ambito in cui si sono raccolte numerose evidenze è quello della disfunzione endoteliale

le: una condizione di compromissione dell'endotelio vascolare e del suo tono, legata all'ipertensione e alla progressione dell'aterosclerosi. Studi clinici hanno rilevato come il consumo di flavonoidi degli agrumi abbia una funzione vasodilatatoria e di miglioramento della funzione endoteliale (connessa con la sintesi di mediatori come NO) e dell'elasticità vascolare. Flavonoidi degli agrumi espressi come esperidina sono impiegati, congiuntamente con diosmina semisintetica, per esempio nel trattamento farmacologico in casi di problematiche del microcircolo e insufficienza venosa, e sono in grado di migliorare i sintomi alle gambe, l'edema e la qualità della vita nei casi di malattia venosa cronica. Nonostante queste evidenze, non sono stati ottenuti da EFSA claim salutistici relativi al "mantenimento della fisiologica permeabilità venoso-capillare" per integratori a base di flavonoidi.

Le ragioni di queste difficoltà sono probabilmente da ricercare in parte nella variabilità della risposta ai polifenoli dei soggetti partecipanti agli studi e in parte nella scarsa biodisponibilità di questi flavonoidi, che conduce a livelli inferiori circolanti dei vari metaboliti dei flavonoidi stessi; gli effetti per la salute riconducibili ai flavonoidi come l'esperidina sono stati in buona parte attribuiti, infatti, ai diversi metaboliti di questi polifenoli.

In termini generali, l'assorbimento dei flavonoidi che sono assunti con

la dieta come molecole glicosilate avviene sempre a seguito della rimozione della porzione glicosidica da parte del microbiota intestinale (1); l'esperidina ha mostrato di essere resistente alla degradazione nello stomaco e nell'intestino tenue, mentre una volta raggiunto il colon l'aglicone attivo (esperetina) si forma per deconiugazione della porzione di rutinosio da parte di enzimi batterici e viene poi variamente riconiugato principalmente a livello epatico con altre molecole e gruppi chimici a produrre una serie di metaboliti circolanti di fase II, con funzione antinfiammatoria e cardioprotettiva. Tuttavia, la scarsa solubilità dell'esperidina, dovuta principalmente alla presenza di un gruppo metossi (-OCH<sub>3</sub>) in posizione 4' dell'anello B, riduce la biodisponibilità e il metabolismo da parte della microflora, dando luogo a una risposta fisiologica mediamente più modesta e largamente variabile tra diversi individui. Al contrario, nell'eriocitrina dal Limone i gruppi idrossile nelle posizioni 3' e 4' nell'anello B conferiscono a questo flavanone una solubilità e una biodisponibilità significativamente maggiori, oltre a un superiore potenziale antiossidante rispetto all'esperidina.

EUROMED, azienda spagnola leader nella produzione di estratti botanici, ha recentemente sviluppato un innovativo estratto di Limone, prodotto con una tecnologia proprietaria, denominato Wellemon®.

L'estratto contiene flavonoidi degli agrumi e loro metaboliti, ed è particolarmente ricco in eriocitrina, flavanone in cui è anche standardizzato. Wellemon® e gli altri estratti a marchio Euromed sono distribuiti in Italia da C.F.M. CO. FARMACEUTICA MILANESE.

Proprio con la finalità di approfondire i dettagli del metabolismo e del destino dell'eriocitrina, a confronto con quanto avviene per l'esperidina, è stato recentemente condotto e pubblicato uno studio clinico di tipo farmacocinetico (2); lo studio prevedeva il consumo da parte di soggetti volontari di due estratti, di Limone o di arancia, ricchi nell'uno o nell'altro flavanone, e la successiva osservazione dei livelli di vari metaboliti, oltre alla valutazione dei livelli postprandiali di alcuni marker dopo un pasto a elevato tenore di zuccheri e grassi. Questa pubblicazione affronta gli aspetti principali dello studio e ne sintetizza i risultati più importanti.

## COMPOSIZIONE E SPECIFICHE TECNICHE

Wellemon® è un estratto idrosolubile del frutto del Limone *Citrus limon* (L.) Osbeck, prodotto da Euromed, le cui principali caratteristiche tecniche sono riportate in **Tabella 1**. La standardizzazione al 10% in eriocitrina, il flavanoide caratteristico di questo agrume, è condotta mediante meto-

**Tabella 1 • Caratteristiche tecniche di Wellemon®**

<b>Caratteristiche organolettiche</b>	
Aspetto	Polvere fine
Colore	Da verdastro a marrone
Odore	Aromatico
<b>Caratteristiche chimico-fisiche</b>	
Perdita all'essiccazione (%)	≤6
Granulometria	≥97% attraverso mesh 180
Solubilità	Solubile in acqua
<b>Caratteristiche produttive</b>	
Solvente di estrazione	Acqua
Composizione (%)	≥88 estratto nativo 0-10 maltodestina 0-2 silice colloidale anidra
<b>Caratteristiche microbiologiche</b>	
Test microbiologico	Conforme a limiti di Farmacopea Europea
<b>Contaminanti</b>	
Pesticidi	Conforme a limiti di Eur. Ph. (pianta)
Metalli pesanti	Conforme a limiti di Eur. Ph. (pianta)
Aflatossine	Conforme a limiti di Eur. Ph. (pianta)
<b>Stabilità e Conservazione</b>	
Conservare in contenitori ben chiusi, in luogo fresco e asciutto Shelf-life: 3 anni	

dica HPLC. L'estrazione è effettuata mediante processo proprietario Pure-Hydro™, che si avvale di acqua purificata e filtrazione tangenziale garantendo sostenibilità ambientale e un prodotto che non presenta residui potenzialmente dannosi.

## EFFICACIA

### Studio clinico

Lo studio clinico qui illustrato, condotto in modalità cross-over su un totale di 16 soggetti volontari, era finalizzato a comprendere se e come

la superiore idrosolubilità dell'erio-citrina rispetto all'esperidina potesse incrementare il metabolismo del flavanone caratteristico del Limone, conducendo a metaboliti di fase II con superiore attività antiossidante. Il protocollo dello studio prescriveva che i soggetti assumessero una singola dose di estratto di arancia o di Limone e, dopo il periodo di osservazione e di wash-out, che i due gruppi invertissero i trattamenti.

In entrambi i casi era prevista la somministrazione di 260 mg di flavanone attivo (esperidina oppure eriocitrina). L'estratto di arancia, di cui è stata fornita una dose da 1,95 g, era standardizzato a una concentrazione di esperidina del 15%. Come estratto di Limone è stato invece utilizzato Wellemon®, l'estratto recentemente sviluppato da Euromed e standardizzato in eriocitrina. Nel caso dello studio clinico sono stati necessari 3,1 g di estratto di limone per fornire 260 mg di flavanone richiesti dal test.

L'endpoint primario dello studio era la valutazione nel tempo della biodisponibilità e del metabolismo di esperidina ed eriocitrina attraverso un approccio farmacocinetico; come endpoint secondario è stata invece valutata la variazione di alcuni marker biochimici, metabolici, infiammatori e ossidativi a seguito di un pasto a elevato contenuto di zuccheri e grassi, anch'esso parte del protocollo clinico.

I 16 soggetti sono stati divisi in due gruppi, a ciascuno dei quali è sta-

to somministrato uno dei due trattamenti previsti (in capsule dure che impedivano il riconoscimento del contenuto). Dopo una giornata di test in cui sono stati effettuati diversi prelievi sanguigni (dopo il T0 a 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 ore) e delle urine (a 4, 8, 10 e 24 ore), e in cui sono stati forniti pasti standard, è stato fatto trascorrere un periodo di wash-out di 2 settimane, dopo il quale un'identica procedura è stata seguita dopo lo scambio dei trattamenti nei due gruppi. Durante il wash-out e prima dello studio è stato vietato il consumo di cibi (agrumi, pomodori, peperoni, mandorle) che potessero alterare i livelli fisiologici dei flavonoidi.

Le analisi dei flavanoni presenti nei campioni biologici (sangue e urine) sono state condotte mediante UPLC accoppiata con spettrometria di massa QTOF, seguendo un protocollo precedentemente validato per composti fenolici che includono i possibili metaboliti dei flavanoni.

È stata elaborata una specifica strategia di screening per individuare i metaboliti dei flavonoidi; la lista includeva i composti direttamente presenti negli estratti, esperidina ed eriocitrina (rutinosidi dei flavanoni), i loro agliconi esperidina ed eriodictiolo, oltre a possibili molecole coniugate di fase II (glucuronidi, solfati, sulfoglucuronidi). Alcuni metaboliti sono stati direttamente quantificati contro i rispettivi standard sintetici, mentre gli altri sono stati inferiti con metodi di ricerca già definiti e per

confronto con la massa molecolare del polifenolo da cui derivavano. Mentre nel caso dell'estratto d'arancia l'analisi del prodotto rivelava la presenza solo di questo flavonoide, l'estratto di Limone risultava contenere, oltre al flavanone principale eriocitrina (circa 83 mg/g), un range di altri flavonoidi derivati, simili o metaboliti dell'eriocitrina. Tra i principali: un diverso glicoside dell'eriodictiolo (a una concentrazione 2,5 volte più bassa rispetto all'eriocitrina), un flavonolo e un glicoside dell'acido ferulico. Gli autori hanno quindi osservato e riconosciuto che la complessità dell'estratto di limone era superiore rispetto a quello di arancia, fornendo un bouquet di polifenoli superiore, incrementando anche il dosaggio complessivo di polifenoli assunto dai

soggetti (circa 230 mg/g per estratto di Limone contro circa 134 mg/g per l'estratto di arancia). La ricerca di 14 metaboliti derivati da flavonoidi degli agrumi nel plasma dei volontari (**Tab. 2**) ha evidenziato che al T0 nessuno ne presentava a livelli misurabili; in termini assoluti la somministrazione di Wellemon® ha permesso di rilevare nel plasma tutti i metaboliti tranne 1 (esperetina sulfoglucuronide) in almeno un soggetto, mentre meno metaboliti erano rilevabili nel plasma dei soggetti che avevano assunto estratto di arancia. Come atteso, l'assunzione di estratto di Limone ha elevato in modo particolare i livelli dei metaboliti dell'eriodictiolo e dell'omoeriodictiolo, ma anche dell'esperetina, l'aglicone dell'esperidina.

Al contrario, i metaboliti derivati di eriodictiolo e omoeriodictiolo non sono apparsi, se non in alcuni time-point e in pochi soggetti, nei volontari che hanno assunto l'estratto di arancia. È stato particolarmente significativo osservare che i principali metaboliti dell'esperetina (esperetina 7-O-glucuronide, esperetina 3'-O-glucuronide, esperetina 3'-O-solfato) hanno raggiunto concentrazioni massime nel plasma più elevate (dalle 2 alle 3,5 volte circa) quando l'estratto assunto era quello di Limone rispetto all'arancia, sebbene l'esperetina sia molto più elevata in quest'ultimo agrume, nel quale è il flavonoide di riferimento. Da un punto di vista della cinetica dell'assorbimento, è stato anche

**Tabella 2 • Parametri farmacocinetici nel plasma dei metaboliti quantificati dopo consumo di estratto di Limone Wellemon® o di arancia**

	Metaboliti	T <sub>max</sub> (h)		C <sub>max</sub> (nM)		AUC <sub>0-t</sub> (nM·h)	
		Limone	Esperidina	Limone	Esperidina	Limone	Esperidina
<b>M1</b>	Eriodictyol glucuronide-1	5,9±2,4	-	103,9±85,8	-	282,6±271,3	-
<b>M2</b>	Eriodictyol glucuronide-2	5,9±2,4	-	871,3±868	-	3222±4118	-
<b>M3</b>	Naringenin 7-O-glucuronide	5,4±2,5*	7,3±2,2	56,7±44,2***	4,7±3,6	202,7±187,1***	18,8±19
<b>M4</b>	Eriodictyol glucuronide-3	5,9±2,6	-	638,6±801,8	-	2291±3491	-
<b>M5</b>	Naringenin 4'-O-glucuronide	5,7±2,3*	7,7±2,0	35,8±25,9***	7,3±5,9	129,4±124***	26,7±27,7
<b>M6</b>	Homoeriodictyol glucuronide	6,1±2,4	-	780,5±863,2	-	3133±4170	-
<b>M7</b>	Hesperetin 7-O-glucuronide	6,3±2,0*	8,3±1,6	169,1±109,4***	49,6±51,7	703,3±590,5***	176,7±249,5
<b>M8</b>	Hesperetin 3'-O-glucuronide	6,4±2,0*	8,4±1,6	198,5±103,7*	106,8±128,5	802,8±568,8*	408,9±643,2
<b>M10</b>	Homoeriodictyol sulfate	6,5±2,2	-	479,4±524,0	-	1778±2257	-
<b>M13</b>	Eriodictyol sulfate	5,7±2,5	-	1706±1510	-	6120±6631	-
<b>M14</b>	Hesperetin 3'-O-sulfate	6,5±1,9***	8,4±1,5	527±357,8***	177,9±285,8	2037±1809***	635,3±1167
			<b>Totale</b>	<b>5724±5432*</b>	<b>347±475</b>	<b>21060±24531*</b>	<b>1266±2106</b>

–: non determinato; T<sub>max</sub>: tempo per raggiungere la concentrazione massima; C<sub>max</sub>: valore della concentrazione massima; AUC<sub>0-t</sub>: area sotto la curva dal momento del dosaggio alla concentrazione finale quantificabile; gli asterischi indicano una differenza significativa tra il consumo di estratto di Limone e di arancia (\*p<0,05, \*\*\*p<0,001)

osservato che i picchi massimi delle concentrazioni dei vari metaboliti si sono misurati tra le 5,4 e le 6,5 ore dal T0 in coloro che avevano assunto Wellemon®; nei volontari che hanno assunto estratto di arancia i massimi sono stati invece osservati tra le 7,3 e le 8,4 ore, a indicare una cinetica di formazione dei metaboliti più rapida per l'estratto di Limone, con una media di circa 6 ore contro le 8 dell'arancia.

Con estratto di Limone, inoltre, sono stati registrati dati di concentrazione massima più elevati e maggiori valori medi di area sotto la curva (indice dell'andamento complessivo nel tempo, AUC) relativi al profilo di formazione nel tempo dei vari metaboliti. Calcolando la somma delle aree sotto la curva di tutti i metaboliti rilevati, è risultato un valore ben 16,6 volte superiore dopo la somministrazione di estratto di limone rispetto a quanto osservato dopo l'assunzione di estratto di arancia.

Per quanto riguarda la presenza di metaboliti nei campioni di urine, anche in questo caso, come risulta in *Tabella 3* dove è indicata la quantificazione dei diversi metaboliti riscontrati come somma dei livelli in tutte le diverse frazioni prelevate, la somministrazione di estratto di Limone ha prodotto livelli circa 12 volte superiori di derivati di flavonoidi rispetto all'estratto di arancia.

Nessuno dei metaboliti in questione era rilevabile al T0 nei volontari che hanno partecipato allo studio.

Seguendo la comparsa dei vari metaboliti, oltre a verificare che la maggiore solubilità dell'eriodictina spinge una superiore azione idrolitica da parte del microbiota e del relativo corredo enzimatico (risultando in una maggiore biodisponibilità), è stata inoltre effettuata per la prima volta un'interessante osservazione: la comparsa di esperetina dopo consumo di eriodictina, in tutta probabilità grazie alla metilazione dell'eriodictolo (aglicone dell'eriodictina) in posizione 4' per opera dell'enzima catecolo-O-metiltransferasi. Nonostante l'ipotesi iniziale che i flavonoidi forniti alcune ore prima di un pasto metabolicamente impegnativo potesse contrastare alcuni degli effetti deleteri di quest'ultimo, non si sono osservate variazioni di

rilievo nei parametri biochimici, metabolici e infiammatori, come atteso anche in ragione della somministrazione in singola dose di entrambi gli estratti; non mancano, tuttavia, studi in cui anche una dose acuta di flavonoidi come l'esperidina può influire su endpoint come la performance sportiva e lo stato ossidativo (3).

In conclusione, lo studio ha rilevato che l'assunzione di Wellemon®, un estratto di Limone ricco in eriodictina, ha incrementato significativamente la concentrazione dei vari metaboliti coniugati di fase II dei flavanoni rispetto all'esperidina. Nella consapevolezza che la complessità compositiva dei due estratti era differente, è risultato particolarmente interessante osservare che il consumo di Wellemon®, contenente principalmente

**Tabella 3 • Metaboliti quantificati nelle urine (somma delle 4 frazioni sul totale delle 24 ore)**  
Valori espressi come µg/mg creatinina

	<b>Metaboliti</b>	<b>Estr. di limone</b>	<b>Estr. di arancia</b>
<b>M1</b>	Eriodictyl glucuronide-1	18,0±28,4	0,6±0,4
<b>M2</b>	Eriodictyl glucuronide-2	46,6±53,6**	2,5±4,9
<b>M3</b>	Naringenin 7-O-glucuronide	5,7±6,9***	0,7±1,5
<b>M4</b>	Eriodictyl glucuronide-3	75,1±128*	3,4±6,2
<b>M5</b>	Naringenin 4'-O-glucuronide	4,2±5,0***	1,0±1,5
<b>M6</b>	Homoeriodictyl glucuronide	106±171	-
<b>M7</b>	Hesperetin 7-O-glucuronide	8,5±9,2***	5,6±13,2
<b>M8</b>	Hesperetin 3'-O-glucuronide	24,2±23,7***	9,9±18,9
<b>M10</b>	Homoeriodictyl sulfate	9,6±11,3	-
<b>M13</b>	Eriodictyl sulfate	32,6±36,5***	0,6±0,9
<b>M14</b>	Hesperetin 3'-O-sulfate	9,0±9,1*	3,8±7,3
	<b>Escrezione totale (24 h)</b>	<b>339±482***</b>	<b>28±55</b>

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001

eriocitrina, ha prodotto livelli dei metaboliti derivati dall'altro flavanone (esperetina) notevolmente superiori, nell'ordine delle 11 volte, rispetto a quanto osservato dopo il consumo di estratto di arancia, che era titolato in esperidina. Ciò suggerisce che le criticità connesse con la scarsa biodisponibilità dell'esperidina possono essere risolte fornendo estratto di Limone, perché la sinergia tra organismo umano e corredo microbico intestinale è evidentemente in grado di produrre comunque derivati e coniugati dell'esperetina passando per l'aglicone eriodictiolo come intermedio. Il consumo di un estratto come Wellemon® potrebbe quindi condurre a livelli fisiologici di derivati di flavonoidi tali da produrre, per consumo sul lungo termine, benefici salutistici significativi anche in soggetti cosiddetti "basso-produttori" a causa di variabilità metabolica e nella composizione del microbiota intestinale.

## SICUREZZA

Wellemon® è un estratto sicuro perché ottenuto mediante estrazione unicamente acquosa, con acqua ultrapura, dal Limone (*Citrus limon* (L.) Osbeck.), un alimento con una consolidatissima storia di impiego alimentare e in medicina tradizionale.

La lista ministeriale menziona per la pianta del Limone molte parti ammesse per l'uso e per l'estrazione (foglie, fiori, frutti, corteccia dai rami, pericarpo, olio essenziale), a ulteriore conferma dell'elevato grado di sicurezza di questo botanico.

## APPLICAZIONI E MODALITÀ D'USO

Wellemon® è un estratto in polvere, standardizzato nel flavanone caratteristico del Limone e impiegabile in integratori alimentari in ogni ti-

po di formulazione. L'ambito salutistico in cui esercita i suoi benefici è quello della salute cardiovascolare e dell'insufficienza venosa e del microcircolo.

Il dosaggio suggerito è compreso tra 100 e 300 mg.

## BIBLIOGRAFIA

1. Mahmoud AM, Hernández Bautista RJ, Sandhu MA, Hussein OE. Beneficial Effects of Citrus Flavonoids on Cardiovascular and Metabolic Health. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:5484138.
2. Ávila-Gálvez MÁ, Giménez-Bastida JA, González-Sarriás A, Espín JC. New Insights into the Metabolism of the Flavanones Eriocitrin and Hesperidin: A Comparative Human Pharmacokinetic Study. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(3):435.
3. Martínez-Noguera FJ, Marín-Pagán C, Carlos-Vivas J et al. Acute Effects of Hesperidin in Oxidant/Antioxidant State Markers and Performance in Amateur Cyclists. *Nutrients.* 2019;11(8):1898.

## DKSH ITALIA • ANKLAM EXTRAKT

# Delphinol®

C. ORLANDIN

cristian.orlandin@dksh.com

Maqui-Berry (*Aristotelia chilensis*):  
il tesoro della Patagonia,  
la soluzione antinvecchiamento  
per una pelle più sana e luminosa

L'invecchiamento della pelle è un processo fisiologico degenerativo caratterizzato da una progressiva diminuzione delle funzioni e degli elementi della matrice cellulare del derma e dell'epidermide: fattori ambientali quali l'esposizione ai raggi solari, l'inquinamento e abitudini legate allo stile di vita (alimentazione, sedentarietà, fumo) influiscono negativamente aumentando lo stress ossidativo e generando uno stato cronico di infiammazione, iperpigmentazione e riduzione della tonicità nei tessuti cutanei.

La perdita progressiva di collagene, causata dall'aumento dell'espressione delle metalloproteasi, è accelerata anche dalla menopausa: osservata fino al 30% in più nei primi 5 anni, seguita da una perdita annuale dell'1-2%, durante la quale la pelle diventa più sottile, spenta e si rigenera con più difficoltà (1).

Delphinol® è un ingrediente innovativo estratto da Maqui-Berry (*Aristotelia chilensis*), che rappresenta la soluzione naturale dall'interno per

una pelle dall'aspetto sano e vivido. Analisi condotte sulla bacca Maqui, originaria delle foreste della Patagonia (Cile e Argentina), dimostrano che è estremamente ricca in nutrienti fra cui alcaloidi, minerali, vitamine, acido cinnamico, acido benzoico e flavonoidi. I benefit di questa bacca sono dovuti proprio a questi ultimi e in particolare al gruppo delle antocianine fra le quali spiccano le delphinidine, responsabili del colore viola intenso e dell'elevato potere antiossidante.

Prodotto in Germania da *Anklam Extrakt GmbH* è distribuito in Italia da *DKSH Italia*.

## COMPOSIZIONE E SPECIFICHE TECNICHE

Delphinol® è l'unico estratto standardizzato di bacche di Maqui (*Aristotelia chilensis*) titolato in delphinidine totali (min 25%) e antocianine totali (min 35%) (HPLC).

DKSH, storica multinazionale svizzera leader nei Market Expansion Services, conta una rete globale di 870 sedi in 36 Paesi, ed è attiva in Italia nella distribuzione di materie prime per l'industria alimentare, farmaceutica, cosmetica e chimica dal 1997. La divisione Food Supplements Nutrition distribuisce e commercializza ingredienti e specialties per il mondo nutraceutico. Grazie alla nostra competenza ed expertise nel settore, rappresentiamo un partner durante tutte le fasi del supporto al cliente: dal sourcing ai servizi post-vendita, dalla personalizzazione di formulazioni innovative al supporto tecnico e regolatorio al fine di realizzare integratori alimentari di massima qualità.



ANKLAM EXTRAKT è una società specializzata nella ricerca, sviluppo, produzione e marketing di ingredienti vegetali estratti standardizzati di alta qualità per l'industria farmaceutica, nutrizionale, delle bevande e cosmetica. ANKLAM EXTRAKT è una società tedesca, certificata GMP e HACCP, il cui focus è da sempre basato sul servizio fornito a client e partner, caratterizzato da innovazione tecnica ed esperienza.

Delphinol® si ottiene da bacche fresche selezionate, mediante estrazione con acqua ed etanolo, in condizioni GMP controllate. Il prodotto è certificato Kosher e Halal, è completamente solubile in acqua e mostra una biodisponibilità clinicamente provata dei componenti chiave.

Inoltre è non irraggiato, allergen-free, BSE-TSE free, GMO free, conforme ad alti standard qualitativi in termini di residui di pesticidi, metalli pesanti e contaminanti.

Le caratteristiche tecniche di Delphinol® sono riportate in **Tabella 1**.

<b>Tabella 1 • Caratteristiche tecniche di Delphinol®</b>	
<b>Identificazione</b>	
Fonte botanica	<i>Aristolochia chilensis</i> (Molina) Stuntz
Origine geografica del frutto	Patagonia (Cile-Argentina)
Origine geografica dell'estratto	Europa
Parte utilizzata	Bacche intere
Solvente di estrazione	Etanolo e acqua
<b>Caratteristiche organolettiche</b>	
Aspetto	Polvere
Colore	Viola intenso
<b>Contaminanti</b>	
Metalli pesanti (ppm)	<20
Piombo (ppm)	<3
Arsenico (ppm)	<2
Mercurio (ppm)	<0,1
Cadmio (ppm)	<1
<b>Caratteristiche microbiologiche</b>	
Conta batterica totale (UFC/g)	<3000
Lieviti e muffe (UFC/g)	<100
<i>Escherichia coli</i>	Assente/g
<i>Salmonella</i> spp.	Assente/25 g

## MECCANISMO D'AZIONE

L'azione delle delfinidine è associata all'inibizione dell'attività dell'enzima NADPH ossidasi, anche conosciuto come enzima NOX, la cui funzione primaria è proprio la produzione di ROS (radicali liberi): ciò suggerisce che Delphinol® contrasta e previene gli effetti del fotoinvecchiamento, aiutando a mantenere la vitalità e la capacità rigenerativa cellulare (5).

## EFFICACIA

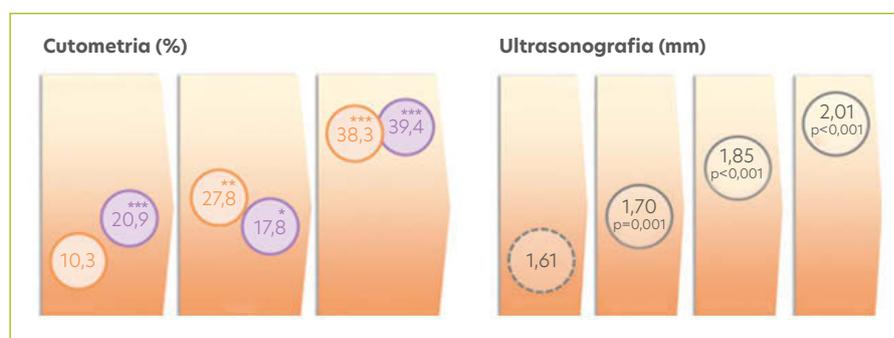
### Studi pre-clinici

Delphinol® è stato testato in vitro per verificare gli effetti sui principali marker cutanei. In particolare modo è stato dimostrato che il trattamento con Delphinol® inibisce significativamente l'espressione della metalloproteasi MMP-1 indotta dai raggi UVB, in colture primarie di fibroblasti cutanei umani (HDF). Delphinol® agisce in maniera dose-dipendente riducendo

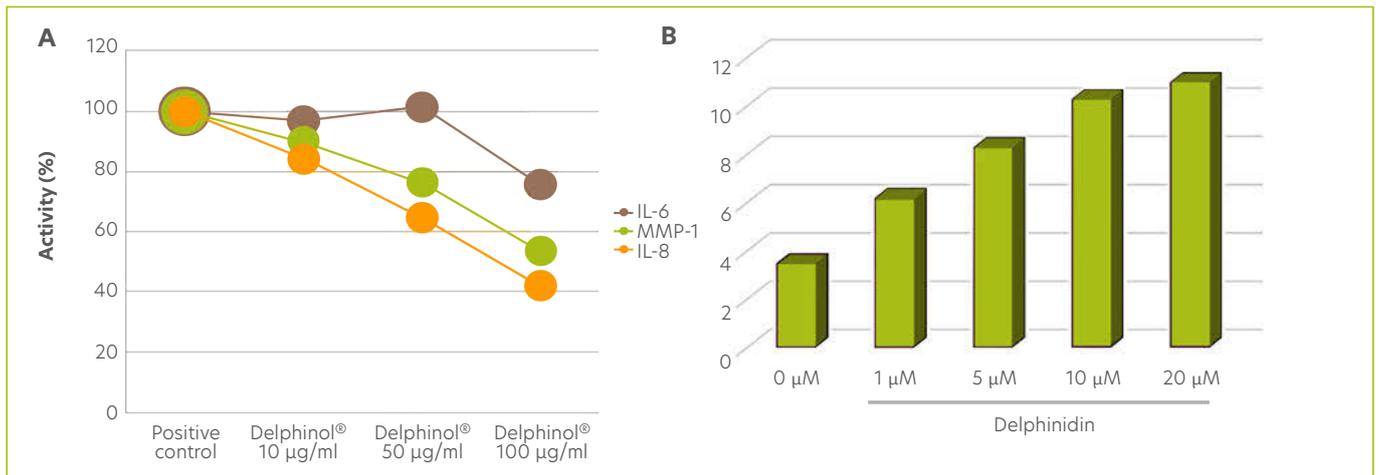
i marker proinfiammatori IL-6/IL-8 (Interleuchina 6-8) (Figura 1), diminuendo l'attività di MMP-1 nei cheratinociti (Figura 2) e aumentando l'uptake di glucosio nelle cellule: il risultato è una pelle che si mantiene più elastica nel tempo grazie alla riduzione della degradazione delle fibre collagene (3). Un altro studio in vitro ha rivelato la potente capacità antiossidante delle delfinidine nei cheratinociti umani (HaCaT), espressa come equivalente di Trolox (TE); l'indice risulta significativamente aumentato nelle cellule trattate con le delfinidine, in maniera dose-dipendente (Figura 2) (4).

### Studi clinici

Diversi sono gli studi clinici che dimostrano l'efficacia del Delphinol® nel contrastare l'invecchiamento cutaneo, ne citiamo due particolarmente significativi. Il primo studio in vivo è stato condotto su 31 donne di età compresa fra 35 e 65 anni che hanno segnalato un rilassamento cutaneo dell'ovale del viso. Dopo l'assunzione orale di un integratore alimen-



**Figura 1 • Effetti del Delphinol® sui marker cutanei, in vitro. (A) Effetto dose-dipendente di Delphinol su IL-6 e IL-8, citochine proinfiammatorie prodotte dai fibroblasti; MMP-1: enzima secreto dai cheratinociti che è in grado di degradare le fibrille di collagene. (B) Misurazione della capacità antiossidante dei lisati cellulari di cheratinociti dopo 24 ore di trattamento con delfinidine: queste ultime si accumulano nelle cellule cutanee andando a potenziare la difesa intracellulare contro i radicali liberi.**



**Figura 2** • L'assunzione di un integratore contenente Delphinol® migliora i parametri dermici nella pelle invecchiata. **(A)** Risultati dell'analisi cutometrica su tonicità cutanea (in arancione) ed elasticità (in viola): si osserva un miglioramento percentuale in termini di compattezza della pelle rispettivamente del 10,3% e del 20,9% dopo 30 giorni e del 38,3% e del 39,4% al termine dello studio, ovvero dopo 90 giorni l'assunzione di un integratore contenente Delphinol®. **(B)** Risultati derivati dalla valutazione tramite ultrasonografia sullo spessore del derma (mm): si osserva un valore di base di spessore cutaneo pari a 1,61, che raggiunge il valore di 2,01 con un p value <0,001 dopo 90 giorni di trattamento con Delphinol®.

tare contenente Delphinol® (50 mg) per 12 settimane, si è ottenuto un miglioramento delle proprietà viscoelastiche della pelle (elasticità, compattezza, tonicità) e dello spessore dermico, valutati mediante cutometria e ultrasonografia per valutare direttamente le proprietà meccaniche e morfologiche della pelle, all'inizio dello studio e poi ogni mese fino a 12 settimane (1).

Il secondo studio in vivo è stato condotto su soggetti di età compresa fra i 27 e i 57 anni e ha valutato parametri della pelle quali pigmentazione, arrossamento, tono della pelle, rughe, consistenza, oleosità, contenuto e perdita di acqua transepidermica (TEWL), score del collagene, elasticità e spessore dermico. I risultati di questo studio, durato 8 settimane, hanno dimostrato che a seguito dell'assunzione di Delphinol® (60 mg), si è registrato un aumento della luminosità della pelle e del contenuto di collagene con conseguente miglio-

ramento della tonicità e del grado di rossore cutaneo (eritema facciale o rosacea). Su questi parametri agiscono le proprietà antiossidanti e fotoprotettive di Delphinol®, dovute al contenuto di antocianine che regolano la risposta infiammatoria agli stimoli esterni e riducono il danno ossidativo, contribuendo a diminuire l'età visivamente percepita (2). Questi risultati dimostrano che l'assunzione orale giornaliera dell'estratto di bacche di Maqui Delphinol® può aiutare a mantenere la pelle sana, migliorando compattezza e texture.

## SICUREZZA

Le indagini relative alla sicurezza di Delphinol® hanno confermato l'assenza di rischi per la salute legati al consumo regolare di questo estratto di bacche di Maqui. Negli Stati Uniti Delphinol® è stato dichiarato Generally Recognized As Safe (GRAS).

## BIBLIOGRAFIA

1. Addor FAS, Cotta Vieira J, Abreu Melo CS. Improvement of dermal parameters in aged skin after oral use of a nutrient supplement. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2018;11:195-201.
2. Norihito S, Yamada W, Kenchi M et al. Ameliorating Effects of Delphinol®. Anthocyanin Standardized Maqui Berry Extract, on Skin Brightness and Redness in Japanese Females: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Pilot Study. *J Cosmetics Dermatol Sci Applications.* 2020;10:149-162.
3. Data by VivaCell Biotechnology GmbH, Germany, February 2019.
4. Afaq F, Syed DN, Malik A et al. Delphinidin, an Anthocyanidin in Pigmented Fruits and Vegetables, Protects Human HaCaT Keratinocytes and Mouse Skin Against UVB-Mediated Oxidative Stress and Apoptosis. *J Invest Dermatol.* 2007;127(1):222-232.
5. Lim TG, Jung SK, Kim JE et al. NADPH oxidase is a novel target of delphinidin for the inhibition of UVB-induced MMP-1 expression in human dermal fibroblasts. *Exp Dermatol.* 2013;22:428-430.

# Estratti per la protezione di pelle e capelli da specie mediterranee

I co-prodotti della filiera olivicola rivalorizzati in chiave di sostenibilità, innovazione ed efficacia

La sostenibilità, la filiera corta ed etica, il business trasparente e solidale sono solo alcuni dei valori su cui Bionap si fonda e opera insieme a due aziende agricole, Boniser e Exentiae. Ogni giorno lavoriamo insieme per ridurre il nostro impatto ambientale e crediamo che avere un'attenzione particolare al pianeta e all'ambiente possa restituire valore al territorio e alla comunità in cui viviamo. È per questo che ci siamo posti come obiettivo quello di elaborare tecniche di coltivazione, recupero di materie prime, che sono co-prodotti di altre filiere produttive, e processi estrattivi innovativi costruiti ad hoc per rilavorare ogni parte della pianta affinché si riduca o si azzeri lo scarto finale.

Boniser Az. Agricola e Bionap sono due aziende dello stesso gruppo che lavorano in sinergia in un sistema

integrato verticalmente: Boniser si occupa della coltivazione sostenibile delle materie prime che vengono poi trasformate da Bionap in estratti standardizzati di elevata qualità. La stretta collaborazione nasce dalla condivisione degli stessi principi ed esigenze: rilavorare co-prodotti con la volontà di costruire una filiera zero-waste che ri-valorizzi e impieghi tutte le parti della materia prima che proviene da campi limitrofi allo stabilimento di produzione.

Gli alberi di Ulivo caratterizzano la macchia mediterranea che può essere definita la più vasta area olivicola internazionale.

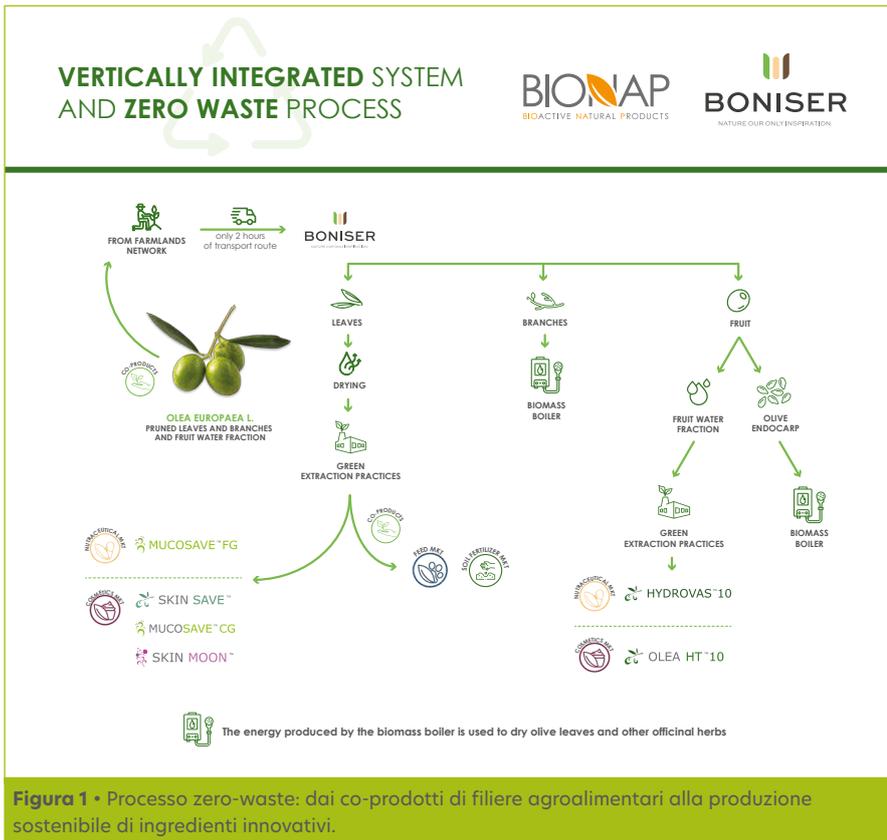
In Sicilia, grazie alle condizioni climatiche favorevoli unitamente alla tradizionale coltivazione di uliveti in più parti dell'isola, l'Ulivo e la sua filiera rappresentano una realtà produttiva ormai consolidata.

V. Insolia  
Innovation Manager, Bionap  
info@bionap.com  
www.bionap.com

Il valore economico principale è legato alla produzione delle olive per l'olio, prodotto alla base della dieta mediterranea con un elevato potere nutritivo. Anche i co-prodotti di questa filiera negli ultimi anni sono sempre più al centro dell'attenzione per il recupero di sostanze bioattive da impiegare in nutraceutica e cosmetica o a scopo energetico.

Tra questi possiamo menzionare le foglie derivanti dalla potatura degli alberi, la frazione acquosa del frutto separata durante la produzione di olio e il seme del frutto (endocarpo della drupa). In **Figura 1** viene riportata l'intersezione tra l'innovazione di Bionap e la tradizionale filiera di ogni parte di pianta che porta alla produzione di diversi prodotti a uso nutraceutico e cosmetico.

Per aumentare la resa produttiva delle olive, gli alberi vengono potati in alcuni momenti specifici dell'anno. Di conseguenza risulta essere elevata la quantità di residui di potatura e quindi di biomassa che si potrebbe utilizzare per altri scopi; basti pensare che solitamente la parte di fronda potata varia dal 10 al 35% della chioma. Riutilizzando la potatura viene eliminato anche il pro-



dei cladodi di Fico d'India (*Opuntia ficus-indica*), la frazione polifenolica delle foglie di Ulivo (*Olea europaea* L.) e dei flavonoidi del Cappero (*Caparis spinosa* L). Le foglie di Ulivo e i cladodi dell'*Opuntia* provengono dalla potatura delle stesse che viene rivalorizzata e rilavorata per la preparazione dell'estratto. I flavonoidi del Cappero siciliano sono estratti dai frutti, in particolare i capperi sono solitamente impiegati nella filiera agroalimentare ma, appena raccolti, hanno un sapore amaro per la presenza dei flavonoidi, pertanto per poter essere appetibili e apprezzabili vengono messi a bagno in acqua. È proprio durante questa fase che l'acqua estrae i flavonoidi che vengono recuperati e concentrati per la produzione di SKINSAVE™. Questo estratto è dermatologicamente testato e ne è stato valutato in vitro e in human (volontari) il profilo di sicurezza, inoltre ne è stata testata la sua efficacia grazie a 4 studi clinici randomizzati in doppio cieco e controllati con placebo. Grazie alle molecole bioattive che lo compongono, SKINSAVE™ è desensitizzante (contribuisce ad alleviare bruciore, pizzicore e prurito), lenitivo e antiarrossamento; queste attività sono state testate su cute irritata in seguito a a) radioterapia, b) stress meccanico come depilazione e rasatura, c) stress chimico indotto da capsaicina, d) stress da UVA-UVB.

OLEA HT10™ è un estratto derivante dalla frazione acquosa delle

blema ambientale dello smaltimento della biomassa. Le foglie di ulivo vengono da noi essiccate ed estratte per la produzione di estratti brandizzati nutraceutici (MUCOSAVE™ FG) e cosmetici (MUCOSAVE™ CG e SKINSAVE™). Inoltre, i rami da cui vengono eliminate le foglie sono una fonte energetica importante: vengono usati come combustibile nella caldaia a cippato a biomassa per la fase di essiccazione delle stesse foglie di Ulivo o di altre erbe officinali. Durante la produzione di olio e la spremitura delle olive, grazie a un processo di centrifugazione, la frazione acquosa dei frutti, viene recuperata. Questa frazione è ricca in polifenoli come tirosolo e idrositirosolo che hanno un effetto benefico sull'organismo ampiamente

dimostrato in letteratura. Inoltre, i semi dell'oliva vengono raccolti ed utilizzati anch'essi come combustibile nella caldaia a cippato a biomassa per la fase di essiccazione delle erbe officinali. Le materie prime in ingresso come le foglie di Ulivo e la frazione acquosa dei frutti hanno origine siciliana e provengono da una filiera corta controllata; i processi aziendali di lavorazione hanno lo scopo di mantenere inalterate le caratteristiche organolettiche e di standardizzare le sostanze attive, valorizzando il fitocomplesso con tecniche green.

### Due case study della filiera cosmetica

SKIN SAVE™ è un estratto nato dalla combinazione dei polisaccaridi

olive ricco in tirosolo e idrossitirosolo. Sin dai tempi antichi, l'Ulivo è considerato il simbolo di longevità e bellezza. Oggi questo frutto è impiegato in cosmetica in quanto aiuta la pelle a contrastare i segni di esposizione alla luce blu. HEV (High Energy Visible light) è la luce ad alta frequenza, con una lunghezza d'onda pari a 400-500 nm, meglio conosciuta come luce blu, rilasciata dai dispositivi elettronici ai quali ormai siamo sempre più esposti.

L'attenzione su questo argomento sta crescendo per diversi motivi: la maggiore frequenza e durata di esposizione alla luce blu, la spinta sempre più forte dei consumatori a voler rallentare l'invecchiamento cutaneo e di voler proteggere la propria pelle. La luce blu è in grado di penetrare la pelle profondamente causando effetti dannosi quali la sovrapproduzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), danno al DNA, ripristino lento della barriera cutanea, citotossicità e alterazione dei cicli di proliferazione

cellulare. L'attività dell'OLEA HT10™ è legata alla capacità di proteggere la cellula dal danno ossidativo e al DNA con una forte azione scavenger e anti-ossidante grazie al tirosolo e idrossitirosolo. Test in vitro su cheratinociti e fibroblasti hanno dimostrato l'efficacia fotoprotettiva di questo estratto contro la luce blu, l'attività antiossidante e protettiva dalla degradazione del collagene, promuovendone inoltre la biosintesi.

OLEA HT10™, come dimostrato anche in studi condotti sull'uomo, è capace di proteggere la pelle anche da radiazioni UV e di proteggere i capelli da inquinanti ambientali e dal calore, come l'utilizzo di piastre per capelli. L'esposizione dei capelli a umidità, inquinamento, luce solare e luce blu favoriscono lo stress ossidativo. Questi agenti esterni insieme ai radicali liberi portano alla carbonilazione delle proteine del capello. Questo processo comporta danneggiamento e destabilizzazione della cuticola con conseguente alte-

razione della superficie del capello. OLEA HT10™ riesce, attraverso la sua attività antiossidante, a proteggere la cuticola del capello e la struttura proteica prevenendo la carbonilazione proteica e donando uniformità alla struttura capillare.

### **Bibliografia**

1. Alecci U, Bonina F, Bonina A et al. Efficacy and Safety of a Natural Remedy for the Treatment of Gastroesophageal Reflux: A Double-Blinded Randomized-Controlled Study. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2016;2016:2581461.
2. Malfa GA, Di Giacomo C, Cardia L et al. A standardized extract of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill and *Olea europaea* L. improves gastrointestinal discomfort: A double-blinded randomized-controlled study. *Phytother Res.* 2021;35(7):3756-3768.
3. Bonina F et al. Biofenoli dell'ulivo: attività antiradicalica e fotoprotettiva in vivo dell'oleuropeina e dell'idrossitirosolo. *Cosmetic Technology.* 1999;2:18-22.
4. Bionap internal report. Photo-protective effects of OLEA-HT10. 2013.

# COSMOPACK

BEAUTY SUPPLY CHAIN SOLUTIONS

By  
**COSMOPROF**  
WORLDWIDE BOLOGNA



Heads Collective

IL PIÙ IMPORTANTE SALONE  
INTERNAZIONALE DEDICATO  
ALLA FILIERA PRODUTTIVA  
DELLA COSMETICA IN TUTTE  
LE SUE COMPONENTI:  
INGREDIENTS & RAW  
MATERIALS, PRIVATE LABEL  
& CONTRACT MANUFACTURING,  
MACHINERY, PACKAGING

COSMOPROF.COM

**BOLOGNA**  
QUARTIERE FIERISTICO

**16 - 18 MARZO 2023**



**ORGANIZZATO DA**  
BolognaFiere Cosmoprof S.p.a.  
Milano  
T +39 02 796 420  
F +39 02 795 036  
info@cosmoprof.it

**COMPANY OF**  
 **Bologna Fiere**

**IN COLLABORAZIONE CON**  
 **COSMETICA ITALIA**  
associazione nazionale imprese cosmetiche

**CON IL SUPPORTO DI**  
  

**A NEW WORLD FOR BEAUTY BOLOGNA, HONG KONG, LAS VEGAS, MUMBAI, BANGKOK, MIAMI**

# Dall'Università di Pavia gli studi di assorbimento della bromelina Nutratrade

NUTRATRADE

BROMADVANCE® 5000 PLUS è la bromelina con attività proteolitica pari a 5000 GDU/g nella versione gastro-protetta per contrastare le infiammazioni formulata e proposta da Nutratrade. Studi scientifici di gastroresistenza e di valutazione dell'assorbimento sia statico che in dinamico sono stati svolti in collaborazione con l'Università degli Studi di Pavia. I risultati della valutazione dell'attività enzimatica dopo processo statico di digestione in vitro sono riportati nella **Figura 1**.

La valutazione dell'assorbimento dinamico su cellule Caco-2 di estratto di gambo d'Ananas è stata condotta utilizzando un sistema millifluidico e monitorando a tempi prestabiliti l'attività enzimatica residua del campione nel medium circolante.

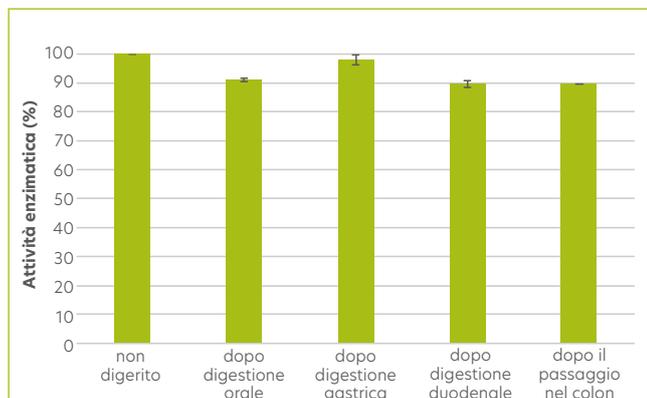
Per lo studio è stato utilizzato LiveFlow® (IVTECH), sistema dinamico che, grazie a una pompa peristaltica, spinge il medium di coltura cellulare (RPMI-1640) contenente il campione dal reservoir al bioreattore LiveBox2 nel quale cellule Caco-2 sono state piastrate su una

membrana di poliestere posta tra il circuito apicale e il circuito basale del bioreattore.

Sono stati solubilizzati 40 mg/mL di medium del campione. Tale soluzione è stata immediatamente testata per la valutazione dell'attività (considerata come pari al 100%). Tale concentrazione è stata scelta per uniformità con la soluzione di partenza (fase orale) sottoposta al sistema di digestione statico in precedenza.

Sono quindi stati eseguiti prelievi dopo 1, 2, 4, 6 e 24 ore. Il metabolismo da parte delle cellule Caco-2 in questo sistema è stato valutato monitorando la variazione di concentrazione di campione in ciascun prelievo; la concentrazione è stata espressa come attività enzimatica nei prelievi effettuati ai diversi tempi di monitoraggio. Il test di attività enzimatica applicato è lo stesso già applicato nella precedente valutazione dell'effetto della digestione statica in vitro sullo stesso campione.

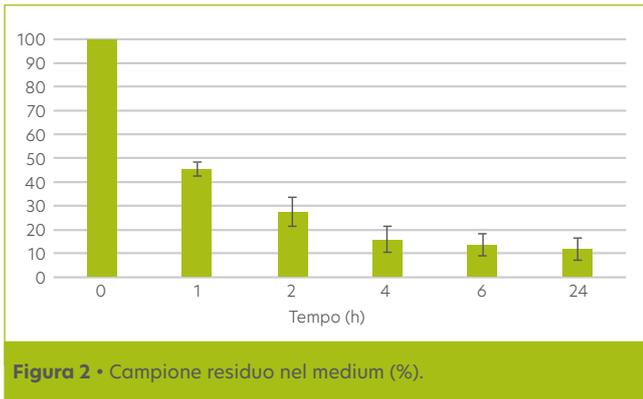
Ogni prelievo ai differenti tempi di monitoraggio è stato effettuato in doppio e su ciascuna di queste due ali-



**Figura 1** • Riassunto risultati attività enzimatica dopo processo statico di digestione in vitro statico.

**Tabella 1** • Risultati ottenuti

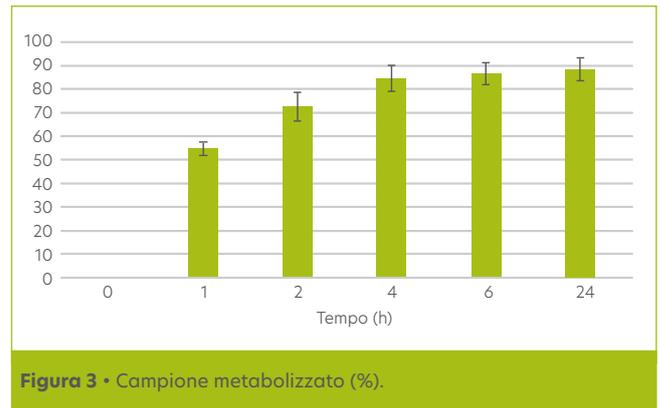
Campione	Attività enzimatica ( $\lambda$ 400 nm)	Campione residuo nel medium (%)	Campione metabolizzato da Caco-2 (%)
Iniziale	0,127 $\pm$ 0,01	100	-
Dopo 1h	0,074 $\pm$ 0,004	45,38 $\pm$ 2,93	54,62 $\pm$ 2,93
Dopo 2h	0,044 $\pm$ 0,007	27,46 $\pm$ 5,96	72,54 $\pm$ 5,96
Dopo 4h	0,025 $\pm$ 0,008	15,67 $\pm$ 5,54	84,33 $\pm$ 5,54
Dopo 6h	0,022 $\pm$ 0,006	13,60 $\pm$ 4,58	86,40 $\pm$ 4,58
Dopo 24h	0,019 $\pm$ 0,007	11,74 $\pm$ 4,78	88,26 $\pm$ 4,78



quote è stato condotto il saggio enzimatico in triplicato. Sono stati condotti in tempi diversi quattro differenti processi che hanno visto ogni volta l'impiego di una nuova preparazione del campione.

Per ogni processo è anche stato condotto parallelamente un processo utilizzando solo medium che ha visto i prelievi agli stessi tempi che sono stati utilizzati come bianco nel saggio enzimatico.

Dai risultati ottenuti utilizzando il sistema dinamico sopra riportato, è evidente che il campione viene in gran



parte metabolizzato dalle cellule Caco-2 già dopo 1h e che il processo continua in modo evidente fino alle 4 h trascorse le quali non si registrano più variazioni significative di metabolismo. I risultati sono riportati nella **Tabella 1** e nelle **Figure 2 e 3**.

Si può concludere che la capacità delle cellule Caco-2 di metabolizzare il campione è molto elevata nel sistema considerato.

PER INFORMAZIONI  
[www.nutratradesrl.com](http://www.nutratradesrl.com)



## Lancio della collaborazione EUROSYN e GIVAUDAN a Cosmopack Worldwide di Bologna

Eurosyn, fornitore leader di prodotti chimici speciali per l'industria cosmetica e della cura della persona, e Givaudan, leader mondiale nella creazione di aromi, fragranze e principi attivi naturali, annunciano una collaborazione per il prossimo evento Cosmopack Worldwide a Bologna.

La partnership riunirà l'esperienza di Eurosyn del mercato italiano e l'esperienza di Givaudan nella creazione di nuovi ingredienti per l'industria cosmetica. Insieme, le aziende presenteranno una gamma di prodotti all'avanguardia che dimostrano la collaborazione e la sinergia tra le due attività.

«Siamo entusiasti di lavorare con Givaudan a questo entusiasmante progetto» ha affermato Alessandro Fossati, Business Unit Manager of Personal Care, Detergents and Formulators di Eurosyn. «L'esperienza di Givaudan nella creazione di principi attivi completa il nostro catalogo e siamo fiduciosi che ciò che mostreremo al Cosmopack lascerà il pubblico stupito e affascinato».

Il direttore vendite di Givaudan W&E Europe, Emmanuel Roux, ha aggiunto: «Active Beauty sta costruendo la sua partnership in Europa nel corso degli anni. E siamo entusiasti di condividere la nostra esperienza con il mercato italiano con Eurosyn».

La partnership sarà in piena mostra a Cosmopack Worldwide, che si svolgerà dal 16 al 20 marzo 2023 a Bologna. I partecipanti avranno l'opportunità di vedere le ultime innovazioni di prodotto delle aziende e conoscere meglio la collaborazione e la sinergia che guidano la loro partnership.

Dal 1983 Eurosyn fornisce specialità chimiche al mercato italiano.

Grazie alle solide partnership con alcuni dei più importanti produttori di prodotti chimici in tutto il mondo, il portafoglio prodotti offre soluzioni tecnicamente avanzate a clienti di diversi mercati. Eurosyn non punta solo alla distribuzione; offre anche supporto tecnico, grazie al laboratorio interno presso la sede di Capralba, unitamente a supporto legislativo e logistico.

Givaudan Active Beauty crea attivi cosmetici d'avanguardia e specialità di alta gamma che fanno apparire e sentire bene le persone. Porta i doni più preziosi dalla natura all'arte della cura personale sotto forma di molecole biotecnologiche e botaniche ad alte prestazioni. L'ampia gamma di premiati ingredienti per la pelle e i capelli abbraccia una varietà di benefici per la bellezza. Sostenuti da un solido riconoscimento scientifico e dalla consapevolezza dei consumatori, si collocano all'avanguardia di proposte e servizi in un mercato in rapida espansione.

---

## La certificazione Non-GMO Project Verification assegnata ai prodotti di punta di BGG World

BGG World annuncia l'ottenimento della certificazione Non-GMO Project Verification (NGPV) anche per Applephenon® e TheraPrime®.

BGG faceva già parte di questo programma avendo già verificato altri prodotti in passato come, ad esempio, AstaZine® (astaxatina naturale).

Non-GMO Project è una organizzazione no profit, pioniera sul mercato e oggi leader nella protezione dei prodotti non OGM, che offre un programma di certificazione secondo gli standard attesi dai consumatori.

Una attestazione che viene sempre più richiesta da società internazionali per i loro più noti brand commercializzati nei più importanti mercati.

«Siamo estremamente contenti di aver ottenuto questo riconoscimento anche per Applephenon® e Theraprime®» ha affermato Christian Artaria, CEO di BGG Europe «C'è sempre più bisogno di trasparenza nella filiera alimentare e questi programmi e certificazioni sono un utile supporto per garantire ai nostri clienti la qualità dei prodotti BGG, totalmente naturali e privi di qualsiasi manipolazione genetica».

Con 25 anni di esperienza nel settore, BGG è una impresa leader nella produzione di estratti e derivati botanici di qualità per l'industria alimentare, cosmetica e nutraceutica. Alghe, frutti e piante sono alla base del vasto portafoglio prodotti della società che possiede sei siti produttivi, con filiali in Nord America, Giappone, Cina e Svizzera e vendite in più di 100 Paesi, e impiega circa 450 persone.

ApplePhenon® è un estratto di mela con un profilo fitochimico unico e completamente caratterizzato. Si tratta di un estratto ricco di proantocianine. È stato dimostrato che la frazione di proantocianine non assimila-

bili di ApplePhenon® migliora la biodisponibilità della frazione assorbibile e, inoltre, agisce nella modulazione del microbiota intestinale aumentando la proporzione di Akkermansia. ApplePhenon® dispone di letteratura clinica con 17 studi clinici nell'uomo ed è supportato da oltre 50 pubblicazioni in ben sette indicazioni salutistiche.

Theraprime® è una linea premium di miscele di tocotrienoli. Estratti da 3 fonti distinte (Annatto, Palma o crusca di Riso), ogni prodotto possiede un profilo fitochimico unico ed un'attività specifica. Mentre l'attività dell' $\alpha$ -tocopherol è ben nota, il ruolo biologico dei tocotrienoli è stato a lungo sottostimato nonostante vari studi provino le loro peculiari funzioni fisiologiche. Ricerche recenti suggeriscono che i tocotrienoli, congeneri meno noti della Vitamina E, mostrano un'attività antiossidante che è circa 40-60 volte superiore a quella dei tocoferoli e possiedono funzioni biologiche uniche non correlate con l'attività antiossidante, non condivise dal tocoferolo, e che supportano molti potenziali benefici per la salute dimostrati in più di 600 studi.

---

PER INFORMAZIONI  
[www.bggworld.com](http://www.bggworld.com)

## Dal DISAFA di Torino un biostimolante innovativo per le produzioni vegetali in ambienti aridi

La sostenibilità in agricoltura è un valore sempre più citato e ricercato, ma non sempre è facile identificare soluzioni che vadano in questa direzione mantenendo la soddisfazione dei consumatori. La riduzione dell'apporto di acqua e fertilizzanti è una componente essenziale della sostenibilità. Il cambiamento climatico ci pone di fronte a lunghi periodi di siccità in cui l'acqua diventa risorsa rara e costosa, mentre i fertilizzanti sono sempre meno disponibili per cause naturali e geopolitiche.

Il progetto di ricerca europeo BIOSUVEG, finanziato da EIT Food e coordinato da Andrea Schubert, docente del Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, e che vede la collaborazione del PlantStressLab dell'Università di Torino e della start-up StrigoLab, ha messo a punto un biostimolante innovativo che aiuta la crescita e la produzione delle piante, in particolare quella del pomodoro, in ambienti meno ricchi di acqua e sostanze fertilizzanti.

I biostimolanti sono prodotti di origine naturale, somministrati a basse concentrazioni, che favoriscono specifici processi biologici e aiutano la crescita delle piante. Il principio attivo del biostimolante sviluppato nel progetto BIOSUVEG viene ottenuto attraverso un procedimento innovativo, brevettato da StrigoLab, e contiene strigolattoni, ormoni di recente scoperta, con i quali è possibile controllare la crescita e la resistenza allo stress combinato da siccità e carenza di elementi nutritivi nelle piante.

I ricercatori dell'Università di Torino e di StrigoLab stanno svolgendo le prove sperimentali necessarie a ottimizzare la formulazione e le modalità d'uso, con la prospettiva di inserire sul mercato un prodotto innovativo ed ef-

ficace per l'agricoltura. L'obiettivo è di ottenere un incremento della produzione superiore al 10% in pomodoro e peperone in condizioni di ridotta disponibilità di acqua e di fosfato.

«La disponibilità di acqua - dichiara Andrea Schubert - sta diventando poco affidabile anche in zone temperate umide come la Pianura Padana, e i fertilizzanti fosfatici sono in via di esaurimento a livello mondiale. Sviluppare delle tecniche che mantengano la produzione anche quando queste risorse sono meno disponibili è una chiave della sicurezza alimentare per il futuro».

## Progetto di ricerca ENEA sui prodotti secondari della produzione del Melograno

ENEA, Laboratorio Biotecnologie • [gianfranco.diretto@enea.it](mailto:gianfranco.diretto@enea.it)

Estrarre molecole biofunzionali per produrre integratori e alimenti nutraceutici da foglie, radici e residui di lavorazione del Melograno. È questo l'obiettivo di NewTriPome, il nuovo progetto di ricerca ENEA che vedrà la collaborazione di professionalità e piattaforme tecnologiche di diversi laboratori presenti nel Dipartimento Sostenibilità dei sistemi produttivi e territoriali del Centro Ricerche Casaccia impegnati sui temi della salute e delle biotecnologie nel settore agroalimentare.

«Il Melograno è un "super food" per le sue proprietà antimicrobiche, antinfiammatorie e antitumorali, dimostrate in estratti ottenuti direttamente dal frutto. Ora, la novità che vogliamo introdurre con NewTriPome è quella di ricavare biomolecole attive per la protezione della salute umana dagli scarti della coltivazione o della lavorazione del frutto per produrre alimenti e succhi», spiega Gianfranco Diretto, responsabile del Laboratorio ENEA di Biotecnologie.

«Inoltre – prosegue – la valorizzazione dei sottoprodotti provenienti da attività agricole e agroindustriali avrebbe significative ricadute anche in termini di economia circolare, anche in considerazione del trend in crescita sia nella coltivazione del Melograno sia nel consumo del suo frutto».

«I quattro laboratori ENEA lavoreranno insieme per identificare le biomolecole attive presenti negli scarti della pianta e del frutto e, successivamente, per studiare la loro attività antinfiammatoria, antiossidante e antimicrobica in modelli sperimentali umani di epitelio intestinale, tessuto epatico e componente macrofagica» spiega Barbara Benassi, responsabile del Laboratorio ENEA di Salute e Ambiente.

Inoltre, il team di ricerca si avvarrà del supercomputer CRESCO6 per analisi di dinamica molecolare in grado di identificare i principi attivi utili per la definizione della formulazione specifica dei prodotti nutraceutici e degli integratori alimentari che potranno agire su stress ossidativo e infiammazioni, responsabili dell'insorgenza di diverse patologie cronico-degenerative e dell'invecchiamento dei tessuti. Questo nuovo progetto di ricerca segue una lunga tradizione di studi sulle proprietà bioattive e sulle potenzialità nutraceutiche di matrici vegetali, come per esempio la Nocciola, lo Zafferano, il Pomodoro, lo Zenzero, il Basilico, il Shiso e il Crescione, ma anche di scarto come le pale del Fico d'India e quelle provenienti dai fiori di *Melissa officinalis*.



## Integratori alimentari: in Europa consumatori attenti alle etichette per un utilizzo responsabile dei prodotti

[www.integratoriebenessere.it](http://www.integratoriebenessere.it)

La grande maggioranza dei cittadini europei si conferma attenta e responsabile. A dimostrarlo sono i dati di una recente ricerca Ipsos commissionata dall'Associazione europea Food Supplements Europe (FSE) di cui fa parte l'associazione italiana Integratori & Salute.

Secondo il sondaggio condotto nel 2022 su 13.200 adulti in 14 Paesi dell'Unione Europea (Belgio, Repubblica Ceca, Cipro, Danimarca, Finlandia, Francia, Germania, Italia, Paesi Bassi, Polonia, Romania, Slovenia, Spagna e Svezia) l'88% degli intervistati ha utilizzato un integratore alimentare nel corso della vita, e il 93% lo ha fatto negli ultimi 12 mesi. L'indagine rivela un alto livello di comprensione delle etichette dei prodotti: ben l'85% di coloro che hanno assunto integratori dichiara di seguire le istruzioni fornite dal produttore sulla confezione. Quasi lo stesso numero (82%) afferma di guardare sempre o abitualmente l'etichetta per verificare la dose e la frequenza d'uso raccomandate. Più di due terzi degli intervistati (69%), inoltre, ritiene che le informazioni relative agli ingredienti contenute nelle etichette siano comprensibili. Quasi tre quarti (72%), infine, dichiara di avere fiducia nella sicurezza e nella qualità degli integratori alimentari.

Il 52% degli utilizzatori di integratori nell'ultimo anno ha dichiarato di averlo fatto per mantenere il proprio stato di benessere, e il 45% per sostenere il sistema immunitario. Le ragioni di utilizzo più comunemente citate so-

no avere maggiore energia (29%), migliorare l'aspetto di pelle, capelli e unghie (17%), favorire la salute dell'intestino o dell'apparato digerente (17%) e sostenere il benessere cardiaco o mantenere sotto controllo la pressione sanguigna (14%).

Martina Simova, Presidente di FSE, afferma: «Talvolta viene espressa una certa preoccupazione sul fatto che gli integratori possano essere utilizzati in modo improprio, intenzionalmente o inavvertitamente. La ricerca IPSOS dimostra che tali preoccupazioni sono ingiustificate: in realtà i consumatori di integratori sono prevalentemente responsabili e attenti nel loro consumo.»

L'appartenenza a realtà dal respiro internazionale come FSE conferma l'interesse di Integratori & Salute per il contesto europeo, in cui si afferma come prima associazione in termini di fatturato e rilevanza di mercato. Il comparto italiano, il più grande in Europa, e guarda in maniera positiva al futuro, con la previsione di sfiorare i 5 miliardi di vendite nel 2025.

Riguardo alla ricerca IPSO, Germano Scarpa, Presidente di Integratori & Salute, afferma: «La fotografia del consumatore europeo è chiara. Parliamo di persone attente, che si informano attivamente leggendo e rispettando le indicazioni contenute nelle etichette. Lo stesso accade anche su piano nazionale, come confermato da una nostra ricerca commissionata a Kantar, dalla quale emerge che chi assume integratori alimentari in Italia adotta spesso un comportamento attento e responsabile».

E ricorda «la nostra associazione da sempre pone al centro del proprio impegno il consumatore, promuovendo una corretta informazione su questi prodotti e assicurandone la massima qualità e sicurezza».



## A Gennaio 2024, a Bologna, il terzo Workshop Internazionale sull'Agricoltura Verticale

<https://site.unibo.it/vertifarm2024>

VertiFarm2024, terzo Workshop Internazionale sull'Agricoltura Verticale, si svolgerà a Bologna il 16-19 gennaio 2024 e sarà organizzato dall'Università di Bologna sotto l'egida del Comune di Bologna e delle principali società scientifiche nazionali e internazionali del settore, ISHS (International Society for Horticultural Science) e SOI (Italian Society for Horticultural Science).

L'evento intende promuovere la diffusione della ricerca e l'incontro tra esperti di vertical farming e operatori tecnici. Nello specifico, durante il workshop, saranno esposti i più recenti progressi e risultati scientifici su vari argomenti le-

gati al vertical farming, tra cui l'ottimizzazione delle risorse di coltivazione, l'automazione, l'impatto socio-economico e l'impronta ambientale.

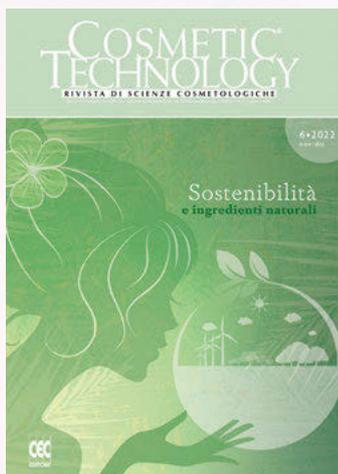
Il workshop coinvolgerà accademici, operatori tecnici, imprenditori e investitori del settore nel dialogo e nello scambio di innovazione.

Tra gli obiettivi dell'incontro promuovere la ricerca collaborativa, stimolare il networking tra gruppi di ricerca internazionali e professionisti del settore pubblico e privato, promuovere lo scambio di conoscenze e innovazione per aumentare l'efficienza dei sistemi di vertical farming, presentare e conoscere le ultime tecnologie nel campo dell'indoor, del vertical farming e dell'agricoltura integrata negli edifici, creare uno spazio di scambio tra il mondo accademico e il settore privato coinvolgendo tecnici, imprenditori e investitori, promuovere la conoscenza di sistemi di produzione all'avanguardia.

# RIVISTE DI SETTORE

**CREDIAMO  
NELL'IMPORTANZA  
DELL'INFORMAZIONE  
SCIENTIFICA**

Abbonati alle riviste e seguici  
sui nostri canali social  
per rimanere sempre  
aggiornato sulle ultime  
novità di settore



**COSMETIC<sup>®</sup>  
TECHNOLOGY**

**L'INTEGRATORE NUTRIZIONALE<sup>®</sup>**

# TRA CARTA E DIGITALE



[www.ceceditore.com](http://www.ceceditore.com)



@CosmeticTechnologyCEC

@IntegratoreNutrizionaleCEC



@cosmetictechnologycec

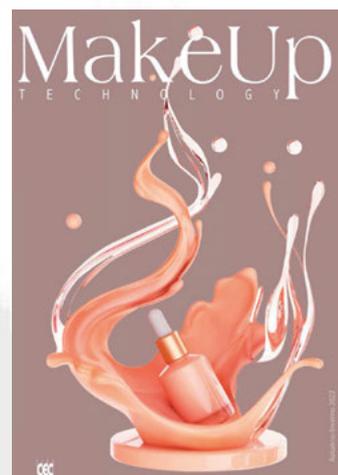
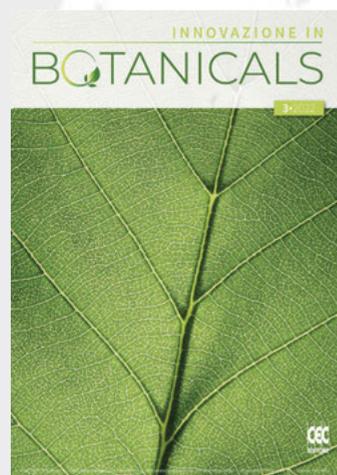
@makeuptechnology\_cec



CEC Editore

INNOVAZIONE IN  
BOTANICALS

MakeUp  
TECHNOLOGY





# Nutratrade

YOUR TRUST IS OUR SUCCESS®



## IL TUO PUNTO DI RIFERIMENTO PER LE MATERIE PRIME

BOTANICALS EXTRACTS  
ENZYMES  
VITAMINS  
PROBIOTICS AND PREBIOTICS  
FLAVONOIDS  
...AND MANY OTHERS!

**Innovazione, ricerca e qualità** sono i principi con cui puntiamo a essere il riferimento per i nostri clienti nella fornitura di materie prime necessarie per lo sviluppo e la creazione di prodotti del settore nutraceutico.

Forniamo sia le piccole/medie aziende che le multinazionali garantendo la distribuzione di **prodotti conformi alle normative di sicurezza, qualità ed efficacia**.

# Nutratrade

## FA LA DIFFERENZA