**Valorizzazione di matrici vegetali da scarti industriali e piante spontanee dell’Emilia-Romagna. Studio metabolomico e di bioattività.**

**1. Descrizione del progetto**

Il presente progetto è finalizzato allo studio fitochimico e delle attività biologiche di matrici vegetali provenienti da materiali di scarto agricolo e/o industriale. L’obiettivo principale di questa ricerca è la valorizzazione di scarti e/o sottoprodotti industriali di origine vegetale individuando, in queste matrici, metaboliti dotati di attività biologiche di interesse in diversi ambiti, tra cui quello cosmetico, nutraceutico e agricolo. Il perseguimento di questo obiettivo permetterà di ottenere ingredienti funzionali da materiale facilmente reperibile e a basso costo; inoltre, contribuirà ad affrontare il problema economico e ambientale dello smaltimento di tali scarti promuovendone il riciclo o riutilizzo, favorendo così lo sviluppo dell’economia circolare. Considerando che nell’ambito della sostenibilità è di grande importanza anche la valorizzazione della biodiversità, in fase di screening, saranno analizzate anche piante della flora locale.

Una delle caratteristiche innovative del progetto è rappresentata dall’impiego della metabolomica accoppiata all’analisi chemometrica per il perseguimento degli obiettivi. Questo approccio innovativo, di tipo induttivo, si basa sul confronto di un elevato numero di campioni e permette di costruire modelli di analisi multivariata, a carattere predittivo, in grado di associare un dato chimico (profilo fitochimico di un estratto) ad un dato biologico/farmacologico o di qualità del prodotto. Questo rappresenta un’opportunità di affrontate con successo le maggiori sfide imposte della ‘plant science’, come ad esempio la coesistenza di un numero elevatissimo di metaboliti nella stessa matrice, che rende spesso tortuose e infruttuose le procedure per l’identificazione dei principi attivi responsabili dell’attività biologica di una pianta e/o lo stesso controllo qualità di un prodotto erboristico. L’approccio metabolomico sarà quindi il perno chiave di questo progetto e permetterà anche di sviluppare protocolli di analisi chimica ad ampio spettro, ottimizzati al fine di ridurre al minimo l’impatto ambientale delle analisi che, infatti, richiederanno microvolumi di solventi e piccolissime quantità di materiale vegetale.

Un elevato numero di campioni (matrici vegetali) derivati da scarti agricoli, sottoprodotti o rifiuti di industrie e piante spontanee o coltivate verrà selezionato e sottoposto ad estrazione con opportuni solventi. Quindi, gli estratti ottenuti saranno sottoposti ad un ampio screening di attività biologiche e contemporaneamente analizzati chimicamente mediante 1H NMR (*fingerprinting*). In questa fase preliminare, le attività biologiche dei campioni saranno esaminate attraverso diversi saggi *in vitro* che forniranno indicazioni riguardo potenziali applicazioni in ambito cosmetico, nutraceutico e agricolo. Saranno eseguiti saggi di inibizione enzimatica, di attività biostimolante, test per valutare capacità allelopatiche ed antiossidanti. Parallelamente sarà svolta l’analisi metabolomica tramite 1H NMR, al fine di ottenere una prima panoramica dei profili fitochimici. Completate queste due fasi sperimentali, i dati verranno quindi trattati tramite analisi chemometrica (PCA, OPLS, PLS-DA, ecc.) che permette anche di correlare i dati di bioattività con i profili fitochimici.

In fine, l’identificazione e la caratterizzazione dei principi attivi richiederanno ulteriori esperimenti, tra cui la parziale o totale purificazione e la caratterizzazione completa (mediante NMR, MS, ed ulteriori tecniche analitiche). Anche i dati di attività biologica saranno approfonditi tramite modelli di studio più complessi (es. linee cellulari) ed indagando i meccanismi di azione.

Una volta selezionati i rifiuti più promettenti, ed individuati i metaboliti attivi, si potrà ricercare una collaborazione con le aziende produttrici locali per studiare, ad esempio, le variazioni della qualità del rifiuto durante le varie fasi di produzione e stoccaggio.

**2. Obiettivi del progetto**

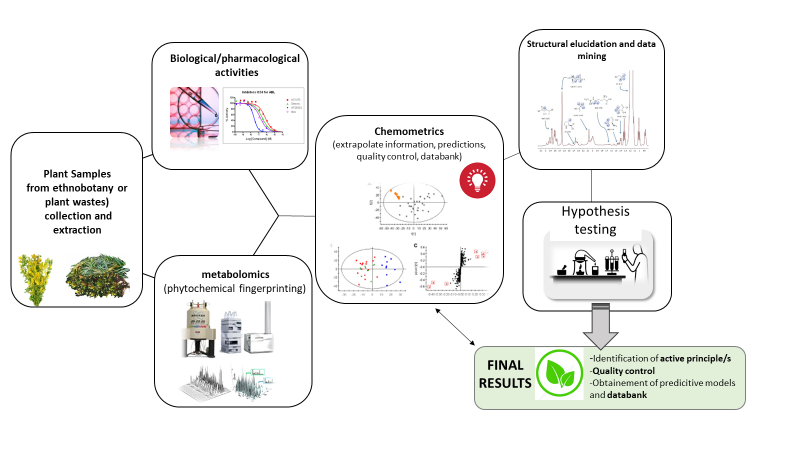
Il progetto prevede, attraverso lo screening iniziale, di individuare matrici vegetali (da scarti agricoli, aziendali o da piante della flora locale) dotate di attività biologiche di interesse cosmetico, nutraceutico o agricolo.

In questa fase si prevede di selezionare le matrici più interessanti dotate di promettenti attività biologiche. Ci si attende quindi di mettere a punto protocolli di analisi metabolomica-chemometrica con cui ottenere informazioni preliminari riguardo il metaboloma di queste matrici, e ricavare importanti informazioni riguardo i metaboliti, o le classi di metaboliti, potenzialmente coinvolti nelle attività biologiche registrate. Inoltre, l’acquisizione di questi dati potrà contribuire alla creazione di una banca dati ‘in house’, importante anche per le ricerche successive grazie all’attesa capacità predittiva dei modelli di analisi multivariata, che potrebbe permettere di individuare più facilmente matrici bioattive sulla base del loro metaboloma (Fig. 1).

Raggiunti questi primi obiettivi saranno svolti studi più approfonditi. In particolare, l’isolamento delle molecole attive e l’approfondimento dei loro meccanismi di azione. L’identificazione dei metaboliti attivi permetterà un valido controllo di qualità dei prodotti e l’eventuale possibilità di individuare nuovi *scaffolds* molecolari dotati di attività biologica.

Infine, l’obiettivo ultimo che si prevede di raggiungere è quello di valorizzare le matrici vegetali risultate attive al fine di incentivarne il loro riciclo e riutilizzo, nel caso si tratti di scarti, o di promuovere la tutela della biodiversità, nel caso delle specie locali.

Eventualmente, i protocolli sviluppati potranno essere applicati per valutare la qualità del rifiuto nelle sue fasi aziendali di produzione e di stoccaggio. Questo dato sarà importante per i processi che seguiranno, quali: il riutilizzo, il riciclo o la simbiosi industriale.

****

**Fig. 1. Rappresentazione schematica dello svolgimento del progetto con approccio metabolomico ed analisi chemometrica.**

**3. Risultati attesi**

La ricerca oggetto di questo progetto scientifico si ripropone di incrementare le conoscenze nell’ambito della ‘plant science’ e di mettere appunto metodiche analitiche innovative che permettano di studiare più agevolmente matrici biologiche complesse come le piante e i loro prodotti. I risultati attesi riguardano in particolare l’identificazione di metaboliti bioattivi da matrici vegetali derivanti da scarti aziendali, favorendone il riciclo e l’economia circolare. Tuttavia una componente del progetto sarà anche focalizzata sulla valorizzazione delle piante spontanee dell’Emila-Romagna.

Tali dati, oltre a portare a pubblicazioni di carattere scientifico, potrebbero avere anche delle ricadute economiche sul territorio con collegamenti a piccole aziende del settore agricolo, erboristico, cosmetico ecc.

Nel campo sociale le informazioni potranno favorire la salvaguardia ambientale e l’economia circolare, e contemporaneamente contribuire alla valorizzazione delle piante spontanee della zona.

**4. Piano Formativo**

Le principali competenze che verranno implementate nell’ambito del progetto saranno (i) preparazione di estratti da matrici vegetali (ii) analisi quali-quantitativa di metaboliti vegetali ed NMR-based metabolomic profiling (iii) trattamento dei dati tramite analisi multivariata, combinando risultati fitochimici e biologici (iv) messa a punto di nuove tecniche per il controllo di qualità di matrici vegetali.

I numerosi campioni derivanti da matrici diverse, saranno sottoposti allo screening biologico e attraverso tecniche di fitochimica classiche o l’impiego dell’analisi metabolomica-chemometrica si cercherà di risalire ai metaboliti responsabili dell’attività.

Il piano di formazione proposto intende fornire quindi l’opportunità di approfondire tematiche di ricerca e competenze pratiche importanti per lo studio delle piante soprattutto nell’ottica della ‘plant-based drug discovery’. In particolare, il piano di formazione descritto si fonda essenzialmente sull’apprendimento delle conoscenze e delle metodiche sperimentali necessarie per:

• Individuare matrici di scarto di interesse .

• Valutare il profilo fitochimico di un estratto vegetale (cromatografia, NMR, MS, ed altre tecniche sia analitiche che preparative necessarie)

• Individuare i principi attivi dalle piante

• utilizzare l’analisi multivariata per affrontare lo studio delle piante a differenti livelli di complessità. Sulla base delle conoscenze che sarà possibile approfondire ed espandere, il destinatario dell’assegno si impegnerà a sviluppare ricerche volte a valorizzare l’utilizzo di estratti vegetali per eventuale sviluppo di prodotti erboristici, functional foods ed a pubblicare i dati ottenuti su Riviste internazionali di carattere scientifico.

**5. Bibliografia**

­ CHIOCCHIO I., MANDRONE M., TOMASI P., MARINCICH L., POLI F., Plant secondary metabolites: an opportunity for circular economy. Molecules, 2021, 26, 495.

- MANDRONE M., MARINCICH L., CHIOCCHIO I., PETROLI A., GOĐEVAC D., MARESCA I., POLI F. NMR-based metabolomic approach for frauds detection and quality control of oregano samples. Food Controll. 2021

­ MANDRONE M., CHIOCCHIO I., BARBANTI L., TOMASI P., TACCHINI M., POLI F. Metabolomic profile of sorghum (S. bicolor) to interpret plant behavior under variable field conditions in view of smart agriculture applications. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2021,69, 1132−1145.

­ CHIOCCHIO I., PRATA C., MANDRONE M., RICCIARDIELLO F., MARRAZZO P., TOMASI P., ANGELONI C., FIORENTINI D., MALAGUTI M., POLI F., HRELIA S. Leaves and spiny burs of Castanea sativa from an experimental chestnut grove: metabolomic analysis and anti-neuroinflammatory activity. Metabolites 2020, 10,1-14.

­ LIANZA M., MANDRONE M., CHIOCCHIO I., TOMASI P., MARINCICH L., POLI F. Screening of ninety herbal products of commercial interest as potential ingredients for phytocosmetics. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry 2020, 35(1), 1287-1291.

­ CAPPADONE C.; MANDRONE M.; CHIOCCHIO I.; SANNA C.; MALUCELLI E.; BASSI V.; PICONE G.; POLI F., Antitumor potential and phytochemical profile of plants from Sardinia (Italy), a hotspot for biodiversity in the Mediterranean basin, Plants, 2020, 9, 1 – 23.

­ MANDRONE, M., BONVICINI, F., LIANZA, M., SANNA, C., MAXIA, A., GENTILOMI, G.A. AND POLI, F., Sardinian plants with antimicrobial potential. Biological screening with multivariate data treatment of thirty-six extracts 2019. Industrial Crops and Products, 137, 557-565.

­ CHIOCCHIO, I., MANDRONE, M., SANNA, C., MAXIA, A., TACCHINI, M., POLI, F. Screening of a hundred plant extracts as tyrosinase and elastase inhibitors, two enzymatic targets of cosmetic interest. Industrial Crops and Products, 122, 498-505, 2018.