



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo



RELAZIONE ANNUALE SULL'ATTIVITA' SVOLTA

Nell'ambito della borsa di dottorato del Programma Operativo Nazionale Ricerca e Innovazione 2014-2020 (CCI 2014IT16M2OP005), risorse FSE REACT-EU, Azione IV.4 "Dottorati e contratti di ricerca su tematiche dell'innovazione" e Azione IV.5 "Dottorati su tematiche Green"

Dottorando	Andrea Lombardi
Tutor	Tutor Accademico: Prof.ssa Roberta Bernini Tutor Aziendale: Dott. Marco Papalini
Coordinatore	Prof.ssa Roberta Bernini
Corso di Dottorato in	Scienze delle Produzioni Vegetali e Animali
Ciclo	XXXVII
Annualità della borsa	Seconda (2023)
Codice borsa e n.	DOT1335834 n.4
CUP	J89J21017790001
Tipologia Green/Innovazione	Green
Titolo Progetto	Progettazione e sviluppo di materiali sostenibili polimerici e biopolimerici attivi per applicazioni industriali innovative

In piena coerenza con le attività previste dal progetto nell'ambito del quale è stata finanziata la borsa di dottorato, si presenta la relazione annuale dell'attività svolta.

Breve descrizione delle attività di ricerca:

L'attività di ricerca condotta durante il secondo anno di dottorato ha riguardato inizialmente il completamento delle indagini relative alla caratterizzazione quali-quantitativa del profilo polifenolico e delle proprietà antifungine degli estratti provenienti da matrici vegetali di scarto del settore agro-industriale.

Nel dettaglio, estratti provenienti da bucce di melograno (*Punica granatum* L. AL06 - PGP), scarti della lavorazione del legno di castagno (*Castanea sativa* Mill. AL02 - CSW), pasta de-oleata di olivo (*Olea europaea* L. AL08 - OEP) vinacce (AL05 - VVP) e vinaccioli (AL10 - VVS) (*Vitis vinifera* L.) sono stati selezionati per valutazioni approfondite.

Il profilo polifenolico è stato determinato attraverso un'indagine cromatografica utilizzando un sistema HPLC DAD-MS. L'identificazione dei composti fenolici è stata effettuata combinando dati cromatografici, spettrometrici e spettrofotometrici, mentre la quantificazione con dati spettrofotometrici utilizzando standard e opportuni fattori di correzione per i cambiamenti nel peso molecolare.

I risultati mostrano VVS (Vinaccioli) come l'estratto con maggiore tenore in polifenoli, 686±20 mg/g costituiti principalmente da oligomeri delle procianidine (tetrameri e trimeri), seguito da quello di VVP(vinacce) con 425±8 mg/g, caratterizzato oltre che da oligomeri delle procianidine anche da dimeri di epicatechina gallato (53,8±1,0 mg/g) e antocianine (3,1±0,1 mg/g). L'estratto di melograno PGP ha rivelato per un totale di 115±2 mg/g in composti fenolici possedere principalmente tannini idrolizzabili di cui 58,5±0,6 di β-Punicalagina e 27,1±0,3 mg/g di α-Punicalagina. 260±3 mg/g è invece il risultato della quantificazione dei composti fenolici presenti nell'estratto proveniente dagli scarti del legno di castagno CSW, costituiti in maggior parte da tannini condensati come la castalagina 97,7±0,9 mg/g e vescalagina 47,6±0,5 mg/g. Infine, OEP ha rivelato di possedere un contenuto in polifenoli di 173±5 mg/g, con idrossitirosolo (138±4 mg/g) e tirosolo (35,0±0,8 mg/g) tra i composti più rappresentativi.



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo



REACT EU



Oltre alla caratterizzazione chimica sono approfondite le valutazioni delle attività antimicrobiche in vitro degli estratti nei confronti di patogeni fungini del settore agro-alimentare, ambientale e biomedico come *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404), *Rhizopus stolonifer* (ATCC 14037), *Alternaria* sp. (ATCC 20084) e *Trichophyton interdigitale* (ATCC 9533). Per quanto concerne i risultati per il patogeno *Aspergillus brasiliensis* le prove hanno confermato quanto emerso nelle valutazioni preliminari, con un'assenza di effetto per quasi tutti gli estratti ad eccezione di VVP, con un'attività di inibizione della crescita del patogeno del $48.0 \pm 0.3\%$ alla concentrazione dell'1% m/v. Un'inibizione totale è stata invece registrata per quanto concerne i due controlli positivi, acido benzoico (BA) e sorbato di potassio (SK). VVP si è mostrato attivo anche nei confronti di *Alternaria* sp., dove CSW e PGP hanno dimostrato un'inibizione totale con performance paragonabili ai controlli. In aggiunta, PGP ha mantenuto la sua capacità antifungina totale fino ad una concentrazione dello 0,1% m/v, con un valore di EC₅₀ dello 0,026%, corrispondente a 260 mg/L di estratto e a 29.2 mg/L di polifenoli.

PGP si è rivelato anche il più performante anche contro *Rhizopus stolonifer* con una buona attività antifungina mantenuta fino alla concentrazione di 0.1% m/v. L'estratto di castagno CSW ha mostrato un comportamento simile. Contro il dermatofita umano *Trichophyton interdigitale*, alla concentrazione dell'1%, tutti gli estratti hanno dimostrato una totale inibizione della crescita del patogeno, ad eccezione di OEP che ha comunque raggiunto un valore di $66,5 \pm 2,9\%$. L'attività è stata mantenuta anche a concentrazioni inferiori, con PGP e CSW ancora risultati gli estratti con migliore performance, rivelando dei valori di EC₅₀ rispettivamente di 0,014% e 0,0063%. L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il software RStudio Desktop (Posit Software, PBC, Boston, MA, USA). I risultati ottenuti hanno posto le basi per la pubblicazione di un articolo nella rivista internazionale *Molecules*.

Lo screening delle attività antimicrobiche ha permesso di selezionare PGP e CSW per una loro valutazione come per la formulazione di materiali bioplastici attivi a base di acido polilattico (PLA).

Con l'obiettivo di selezionare il metodo più adatto per la formulazione dei materiali, gli estratti sono stati sottoposti ad indagini termogravimetriche TGA, dove CSW ha mostrato una stabilità termica maggiore rispetto a PGP, suggerendo la possibilità di un'estrusione diretta con il PLA. In aggiunta, sono state condotte anche indagini per verificare la struttura degli estratti tramite microscopia a scansione. Questi risultati hanno permesso di iniziare a lavorare sulla formulazione di materiali bio-polimerici attivi a base PLA contenente CSW o PGP tramite tecnologie scalabili a livello industriale come l'estrusione.

Pubblicazioni scientifiche:

Lombardi, A.; Campo, M.; Vignolini, P.; Papalini, M.; Pizzetti, M.; Bernini, R. Phenolic-Rich Extracts from Circular Economy: Chemical Profile and Activity against Filamentous Fungi and Dermatophytes. *Molecules* 2023, 28, 4374. <https://doi.org/10.3390/molecules28114374>

Comunicazioni a congressi:

Lombardi A.; Campo, M.; Vignolini, P.; Papalini M.; Pizzetti, M.; Bernini R. Chemical profiling and antifungal activity of sustainable phenolic-rich plant extracts. International conference on polyphenols, Nantes (Francia), 3-6 Luglio 2023. Poster

Vignolini, P.; Campo, M.; Urcioli, S.; Lombardi, A.; Bernini, R. Selezione di Estratti Naturali Da Economia Circolare Come potenziali Ingredienti Attivi per la Produzione di Polimeri Per il Food Packaging. Convegno Accademia Italiana di Scienze Merceologiche AISME 2023, 16-16 Novembre, Roma. Poster



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo



REACT EU



Attività Formative:

- Frequenza di corsi:
 - Corso di Formazione per Lavoratori Rischio Alto Ai sensi degli Artt. 36 e 37 D.Lgs. 81/2008 e s.m.i. Accordo Stato Regioni 221/2011 G.U. n° 8 del 11/01/2012 e s.m.i.) (2 CFU) - presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 23/2/23-03/3/23
 - Europrogettazione (1 CFU) – presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 17/03/23-21/04/23
 - Approccio metabolomico per la caratterizzazione e la valorizzazione dei prodotti agroalimentari (1 CFU) – presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 13-21/6/23
 - Caratterizzazione della sequenza amminoacidica con tecniche di spettrometria di massa (1CFU) - presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 14-22/6/23
 - Tecniche di ingegneria genetica e proteica abbinate alle produzioni animali e vegetali (1CFU)- presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 13-23/6/23

- Partecipazione a seminari:
 - EUROPEAN GREEN DEAL AND FARM TO FORK STRATEGY. WHAT SHORT-TERM IMPACTS FOR ITALIAN FARMS, AND WHAT STRATEGIES IN THE MEDIUM-LONG TERM? 14/04/23
 - THE ROLE OF ENDOGENOUS ENZYMES IN THE EVOLUTION OF SENSORIAL CHARACTERISTICS OF PLANT-BASED FOODS - presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 17/04/2023
 - MODELLING PEST AND DISEASES: AN OVERVIEW FROM THEORETICAL TO PRACTICAL ASPECTS presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 19/04/2023
 - Point-of-care tools for plant pathogens detection presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 21/04/2023
 - PROTOPLAST TECHNOLOGY FOR DNA-FREE GENOME EDITING presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 27/04/2023
 - ENHANCING THE NUTRITIONAL QUALITY OF MAJOR FOOD CROPS THROUGH CLASSICAL AND NEW BREEDING TECHNIQUES presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 28/04/2023
 - PLANT CELL CULTURES: BACK TO THE FUTURE presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 10/05/2023
 - THE TWO-FACED PLANT VIRUSES: FROM PLANT PATHOGEN TO SMART NANOPARTICLES presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 15/05/2023
 - HIGH PERFORMANCE MOLECULAR DYNAMICS SIMULATIONS TO ASSESS THE IMPACT OF THE ENVIRONMENT ON HUMAN HEALTH AND FOR THE DESIGNING OF NEW THERAPEUTIC APPROACHES presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 17/05/2023
 - PLANT-BASED PRODUCTION OF VETERINARY VACCINES AND DIAGNOSTICS presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 22/05/2023



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo



Ministero dell'Università
e della Ricerca



REACT EU



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DELLA
TUSCIA

- PRECLINICAL RESEARCH MODELS AND THEIR APPLICATIONS IN DRUG DISCOVERY
presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo – date: 24/05/2023
- Partecipazione a convegni, workshop, scuole/Partecipation in workshop, schools:
 - Introduction to Circular Economy Management. Analisi economica e casi studio sulla gestione aziendale della sostenibilità ambientale e sul miglioramento di processi in ottica di circolarità delle risorse. Scuola. 28/06/2023 – 22/09/2023

Attività di didattica integrativa/Teaching activity

Seminari in corsi di laurea

- “L’impiego di ingredienti naturali attivi (IA) per la formulazione di materiali innovativi sostenibili”.
Corso di Chimica delle Sostanze Organiche Naturali. Laurea Magistrale in Biotecnologie per la Sicurezza e la Qualità Agro-Alimentare (BioSiQuAl). presso: DAFNE, UNITUS, Viterbo 19/05/2023

Firma dottorando

Firma tutor accademico

Firma tutor aziendale

BIORICERCHE S.R.L.
LOC. FERRO DI CAVALLI, SNC
59034 CASTELLAZZARA (GR)
P.IVA e COD. FISC. 01390890539