


PROGETTO DI RICERCA / RESEARCH PROJECT
(max 5 pagine / max 5 pages)

Cognome/Surname	BELFIORE
Nome / Name	ELENA
Titolo del progetto / Project title	Utilizzo degli scarti della lavorazione dell'uva per lo sviluppo di materie prime e di prodotti cosmetici e/o farmaceutici per la salute del cavo orale.
Corso di dottorato / PhD	Oncologia e Chirurgia Sperimentali
Firma del candidato / Applicant's signature	

1 - Sommario / Abstract

La Sicilia è una delle regioni di più antica tradizione viticola e, oggi, tale attività si pone tra le principali in termini di valorizzazione delle risorse territoriali, grazie anche all'aumento delle produzioni biologiche. Obiettivo generale del progetto è la valorizzazione di un prodotto di scarto della lavorazione del mosto biologico, la bentonite esausta, utilizzata per il processo di chiarifica, al fine di produrre sia *materie prime seconde* destinate all'industria farmaceutica, cosmetica ed alimentare che *presidi medici e cosmetici* destinati specificatamente al cavo orale.

Attraverso idonei processi di estrazione dalle bentoniti con "solventi" green, ovvero sostanze biocompatibili ed ecocompatibili già impiegate come eccipienti farmaceutici, si otterranno materie prime "arricchite" di composti naturali antiossidanti in grado di rappresentare un valore aggiunto a qualunque prodotto farmaceutico o cosmetico che con esse si voglia realizzare. Tali materiali saranno già di per sé prodotti commercializzabili che potranno ampliare la produzione "di qualità" siciliana. Secondo step della ricerca è la progettazione e realizzazione di prodotti cosmetici e/o presidi medici innovativi destinati al cavo orale, a partire da tali estratti arricchiti. Per la loro realizzazione saranno utilizzate tecniche a basso impatto ambientale e facilmente sottoponibili a scale-up industriale come lo spray drying o il solvent casting. Uno o più prototipi di formulazione, una volta caratterizzati e standardizzati, saranno oggetto della definizione di un protocollo clinico che ne preveda l'utilizzo quale adiuvante nel trattamento di patologie odontostomatologiche correlate allo stress ossidativo.

2 - Descrizione del progetto / Project

La Sicilia è una delle regioni di più antica tradizione viticola e, oggi, l'attività vitivinicola si pone tra le principali in termini di valorizzazione delle risorse territoriali, grazie anche all'aumento delle produzioni biologiche. Infatti, nonostante l'emergenza sanitaria da COVID-19 abbia messo a dura prova in mercato enologico italiano, si è assistito ad un boom della produzione di vini biologici di cui la Sicilia è leader nella produzione, possedendo la più estesa superficie vitata biologica d'Italia (<http://www.sinab.it/>). Obiettivo generale del progetto è la valorizzazione della bentonite esausta, un prodotto di scarto della lavorazione del mosto biologico, al fine di produrre sia materie prime destinate all'industria farmaceutica, cosmetica ed alimentare che prodotti cosmetici e/o presidi medici

destinati specificatamente alla salute del cavo orale. La bentonite, infatti, viene largamente utilizzata per il processo di chiarifica del mosto, al fine di eliminare da esso tartrati, gomme e soprattutto proteine, responsabili d'instabilità colloidale del vino, poiché in grado di formare un sedimento che concorre a produrre una velatura sospesa ed indesiderabile prima o dopo l'imbottigliamento [1].

Tuttavia, seppur il trattamento con bentonite rimanga il più vantaggioso per la stabilizzazione del mosto, esso non risulta selettivo per le sole proteine, bensì è in grado di trattenere altre "preziose" componenti del mosto, come polifenoli e composti aromatici, la cui sottrazione può influire negativamente sulla qualità organolettica del vino. Inoltre, la bentonite esausta costituisce una parte non trascurabile dei rifiuti vitivinicoli da smaltire, rappresentando così un aggravio in termini di costi e di impatto ambientale [2].

Il progetto si pone quindi lo scopo di dare nuova vita a questo scarto proveniente dalla chiarificazione del mosto, portando alla realizzazione di materie prime seconde e di prodotti destinati all'*oral care*, grazie all'utilizzo delle bentoniti esauste quale ricca fonte di sostanze polifenoliche antiossidanti dalle ben note proprietà salutistiche per l'individuo [3-5]. Ulteriore scopo del progetto è quello di utilizzare tali materie prime "arricchite" per la realizzazione di prodotti cosmetici e/o a valenza sanitaria destinati alla salute del cavo orale. È infatti noto che alcune patologie del cavo orale come mucositi e Lichen Planus Orale sono strettamente correlate allo stress ossidativo. Pertanto la somministrazione topica di sostanze antiossidanti naturali, quali appunto i polifenoli, potrebbe contribuire ad inibire la formazione di lesioni con DNA potenzialmente mutageno, principale causa dello sviluppo del cancro orale [6].

Il progetto si articola, quindi, in due fasi: 1) realizzazione e caratterizzazione di materie prime "arricchite" in polifenoli ottenute a partire dagli scarti provenienti dalla lavorazione del succo d'uva biologico (opportunamente recuperati e trattati) e destinate all'industria farmaceutica, cosmetica e nutraceutica; 2) sviluppo di presidi medici e/o cosmetici, contenenti le succitate materie prime, e destinati al mantenimento del buono stato di salute e più in generale al benessere del cavo orale. Tali prodotti saranno destinati sia al mercato dell'*oral care*, che al mercato parafarmaceutico, per la prevenzione e la terapia odontostomatologica delle affezioni da stress ossidativo, come mucositi e Oral Lichen Planus [7].

Per l'ottenimento delle materie prime "arricchite" verrà utilizzato uno specifico scarto dell'industria vitivinicola: la bentonite esausta utilizzata per i processi di chiarificazione del mosto ed altrimenti destinata allo smaltimento. Saranno messi a punto i migliori processi di estrazione green dei polifenoli intrappolati nella bentonite esausta, in termini sia di efficienza del processo estrattivo che di scelta degli opportuni solventi di estrazione. Saranno, quindi, valutati metodi estrattivi come l'estrazione ultrasuono- e microonde- assistita [8,9] e solventi o miscele di essi dalle comprovate caratteristiche di atossicità, biocompatibilità, ed ecocompatibilità e già correntemente utilizzati come eccipienti per forme farmaceutiche e cosmetiche.

Ottimizzato il processo di estrazione, i solventi "arricchiti", verranno caratterizzati in termini di contenuto di attivi, sicurezza e biocompatibilità, utilizzando tecniche analitiche quali-quantitative, come l'HPLC-MS e la determinazione di Folin-Ciocalteu, nonché modelli in vitro (linee cellulari HaCaT e Caco-2) ed ex vivo (tessuti epiteliali porcini) al fine di confermarne i requisiti di atossicità. Saranno condotte, inoltre, analisi microbiologiche finalizzate a valutare la conformità delle nuove materie prime prodotte alle normative vigenti nei settori farmaceutico e cosmetico. Il "valore aggiunto" di tali materie prime sarà, quindi, provato valutandone il potere antiossidante complessivo mediante test ORAC e DPPH.

In questa fase del percorso dottorale potrebbe essere estremamente formativo svolgere il periodo presso una Impresa del settore della produzione di materie prime destinate all'uso farmaceutico e cosmetico. In particolare, in linea con le attività del progetto, un'Azienda specializzata nella produzione di estratti vegetali potrebbe essere la scelta più appropriata affinché il dottorando possa avere la possibilità di approfondire le sue conoscenze sullo scale-up industriale dei processi estrattivi

e sulla gestione dei fattori critici per la produzione. L'esperienza in Azienda gli permetterà inoltre di acquisire il know-how essenziale per un suo futuro inserimento nel mondo imprenditoriale, grazie allo studio dei protocolli analitici e delle attività da svolgersi nel rispetto delle GMP e dell'ambiente secondo le più recenti certificazioni ISO. L'insieme di queste conoscenze permetterà al dottorando di delineare quale sia il percorso migliore per lo scale-up industriale della produzione degli estratti "arricchiti" e per la loro certificazione di qualità.

Messe appunto e validate in laboratorio il/i prototipo/i di materie prime "arricchite", queste verranno utilizzate per la formulazione di presidi medici e/o cosmetici finalizzati al mantenimento del buono stato di salute del cavo orale. Per la loro realizzazione saranno utilizzate tecniche a basso impatto ambientale e scalabili come lo spray drying [10] o il *solvent casting* [11]. Le formulazioni prototipo saranno sottoposte a studi di stabilità chimico-fisica (analisi SEM, FTIR, XRD), valutazione del comportamento in termini di disintegrazione e dissoluzione, nonché abilità nel promuovere la penetrazione/permeazione dei polifenoli all'interno dei tessuti mucosali orali (mediante test ex vivo impiegando mucosa orale porcina) [11], portando alla definizione dei prodotti migliori. Infine, verrà stilato un protocollo clinico per la valutazione dell'impiego di tali formulazioni come coadiuvanti nel trattamento delle patologie orali da stress ossidativo (mucositi o Lichen Planus Orale), al fine di valutarne l'efficacia anche in termini di ripristino delle condizioni fisiologiche del cavo orale [6].

Il presente progetto potrà realizzarsi grazie all'interscambio di competenze tra il mondo della ricerca e quello produttivo, concretizzato dalla figura del dottorando. Attraverso il percorso dottorale potrà essere infatti formata una figura altamente specializzata, in grado di riunire le conoscenze scientifiche più recenti nei campi delle metodiche estrattive green di sostanze naturali, dei requisiti delle materie prime ad uso farmaceutico e cosmetico, delle innovazioni riguardanti le forme farmaceutiche e cosmetiche al fine di trasferirle al tessuto imprenditoriale del territorio per favorire lo sviluppo di nuovi business e/o efficientare quelli esistenti.

Inoltre, l'obiettivo di dare nuova vita ai rifiuti provenienti dalla lavorazione dell'uva, che non vengono considerati più come scarti, bensì come risorse da riutilizzare per produrre nuovi beni, (prodotti farmaceutici e/o cosmetici per la salute del cavo orale) potrà essere in grado di fornire benessere ai cittadini sia in termini di sbocchi occupazionali che di prodotti ad essi offerti. In un contesto di crisi economica da COVID-19, in cui si è comunque osservato un forte incremento di produzione di vini biologici siciliani, l'ulteriore implementazione di questa "ripresa verde" mediante la valorizzazione dei prodotti di scarto non potrà, infatti, che supportare il superamento di tale periodo.

Il dottorando, pertanto, sarà in grado di: a) interagire con le aziende vitivinicole, per sensibilizzarle ed orientarle verso la valorizzazione dello scarto di produzione, guidandole ed affiancandole per l'ottimizzazione della sua selezione, lavorazione e stoccaggio; b) interagire con le aziende specializzate in estratti vegetali, per suggerire nuovi approcci efficienti ed ecocompatibili per l'ottenimento di prodotti di qualità e rispettosi dell'ambiente; c) essere un potenziale ricercatore (o imprenditore) specializzato nel campo della progettazione di forme farmaceutiche e cosmetiche. Infine, l'esperienza presso un'Impresa consentirà un'integrazione delle capacità di "laboratory researcher" con competenze di progettazione di spin-off universitari, start-up o, più in generale, con conoscenze orientate all'inserimento in contesti industriali specializzati.

Questo progetto è ben in linea con le traiettorie del SNSI dell'Area 5.4.2 *Industria intelligente e sostenibile, energia e ambiente* del SNSI che focalizza l'interesse verso lo sviluppo di nuovi beni/servizi ecologicamente sostenibili e che creino nuovi business coerenti con le realtà produttive regionali e nazionali. Infatti, esso si pone come obiettivo il recupero di prodotti di scarto derivanti dai processi di chiarificazione del mosto/vino, ovvero le bentoniti esauste, per ottenere materie prime seconde ricche in composti naturali antiossidanti da utilizzare per la realizzazione di prodotti cosmetici/farmaceutici destinati alla cavità orale. Il progetto, pertanto, si propone di conciliare le

esigenze di un settore produttivo agroalimentare già fiorente, quale quello vinicolo biologico siciliano, con le sopraggiunte necessità di sostenibilità ambientale ed economia circolare favorendo contestualmente la creazione di nuovi business imprenditoriali.

Trasversalmente il progetto centra anche le tematiche dell'Area 5.4.3 *Salute, alimentazione, qualità della vita* mirate allo sviluppo di prodotti utili a contrastare l'invecchiamento, le patologie croniche degenerative ed a migliorare la qualità della vita della popolazione.

L'estrazione dei polifenoli dalle bentoniti esauste e la produzione di materie prime arricchite di qualità, poiché provenienti da uve biologiche siciliane, rappresenta un avanzamento della capacità produttiva del territorio. Infatti, la costituzione di una filiera capace di trasformare lo scarto in un prodotto ad elevato valore aggiunto dimostra competenza nella gestione "smart" dei rifiuti e spiccato orientamento verso strategie di sviluppo sostenibile e di riduzione dei costi di smaltimento mediante riprogettazione integrata del flusso di lavoro e di materiale, che contribuiscono, nel loro complesso, ad aumentare la competitività nazionale e regionale. Inoltre, la realizzazione di nuovi prodotti farmaceutici e/o cosmetici destinati alla cavità orale permette di sviluppare un'ulteriore filiera specializzata in grado di fornire benessere ai cittadini sia in termini di sbocchi occupazionali che di prodotti/servizi ad essi offerti. Tali obiettivi rientrano nel concetto di "ripresa resiliente" della riprogrammazione del PON R&I 2014-20 e centrano perfettamente le priorità green del *PNR 2021-27 AMBITO 5.6. Area d'intervento 5.6.2 Scienze e tecnologie alimentari - Articolazione 6. Tendenze emergenti nelle tecnologie alimentari ed efficientamento dei processi di trasformazione- Priorità di ricerca 6.f: riduzione e valorizzazione dei sottoprodotti* attraverso l'integrazione e l'intersezione dell'industria alimentare, cosmetica e farmaceutica.

Il tema di questa ricerca risulta essere anche fortemente coerente con il Dottorato in Oncologia e Chirurgia Sperimentali e in particolare con le tematiche di ricerca: "Carcinoma squamo cellulare del cavo orale" e "Studi sull'assorbimento dei farmaci attraverso la cavità orale", permettendone così l'espansione verso la ricerca traslazionale e con il Collegio dei Docenti essendo in essi presenti professori del settore farmaceutico tecnologico applicativo e del settore delle Malattie Odontostomatologiche le cui ricerche vertono sul *Drug Delivery* attraverso le mucose orali per la prevenzione e la cura delle patologie odontostomatologiche.

Il risultato del progetto è la creazione di un profilo altamente specializzato nel Mezzogiorno d'Italia avente un approccio aperto all'innovazione ed in grado di adattare i modelli di ricerca alle esigenze di innovazione e competitività del sistema imprenditoriale attraverso l'integrazione e l'intersezione dell'industria alimentare, cosmetica e farmaceutica. Tale risultato è in linea con gli obiettivi dell'**Asse IV - ID 13.3** *Ampliare e valorizzare il capitale umano attraverso la formazione specialistica e l'inserimento in attività di ricerca orientate ai temi della transizione verde, del digitale e dell'innovazione* e la priorità d'investimento **13i - (FSE) Promuovere il superamento degli effetti della crisi nel contesto della pandemia di COVID-19 e preparare una ripresa verde, digitale e resiliente dell'economia**

Indicatori di risultato del progetto consisteranno nella pubblicazione e disseminazione dei risultati sia nell'ambito della comunità scientifica del settore (sia accademica che industriale) che nell'ampia platea di pubblico potenzialmente fruitore (stakeholders) come produttori e distributori del settore farmaceutico e cosmetico. Ciò si realizzerà mediante la partecipazione a congressi, meeting, webinar e Fiere nazionali ed internazionali, quale occasione di confronto sull'avanzamento delle conoscenze delle politiche green del settore.

Pertanto, i **target** saranno:

- Definizione di almeno **1** prototipo di materia prima "arricchita"
- Definizione di almeno **1** prototipo di formulazione per la cavità orale
- n. **18** Report Bimestrali
- almeno **2** pubblicazioni su riviste scientifiche peer reviewed internazionali

-Partecipazione ad almeno 3 tra Convegni, Workshop, webinar, Meeting nazionali ed internazionali.

3 - Bibliografia / References

1. Sauvage, F.-X.; Bach, B.; Moutounet, M.; Vernhet, A. Proteins in white wines: Thermo-sensitivity and differential adsorption by bentonite. *Food Chem.* **2010**, *118*, 26–34, doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.080>.
2. Majewski, P.; Barbalet, A.; Waters, E.; \$1 billion hidden cost of bentonite fining. *Aust. New Zeal. Grapegrow. Winemak.* **2011**, 58–62.
3. Goh, S.P.; Goh, D.M.; Vickers, E.R. Clinical Assessment of a Pharmaceutical Polyphenol Fruit Extract Gel to Inhibit Dental Plaque. *Pharmacol. & Pharm.* **2021**, *12*, 177–189, doi:10.4236/pp.2021.129016.
4. Petti, S.; Scully, C. Polyphenols, oral health and disease: A review. *J. Dent.* **2009**, *37*, 413–423, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jdent.2009.02.003>.
5. Zillich, O. V.; Schweiggert-Weisz, U.; Eisner, P.; Kerscher, M. Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2015**, *37*, 455–464, doi:10.1111/ics.12218.
6. Rivarola de Gutierrez, E.; Di Fabio, A.; Salomón, S.; Lanfranchi, H. Topical treatment of oral lichen planus with anthocyanins. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* **2014**, *19*, e459–e466, doi:10.4317/medoral.19472.
7. Martins, I.C.F.; Raposo, N.R.B.; Mockdeci, H.R.; Polonini, H.C.; de Oliveira Ferreira, A.; Fabri, G.M.C.; das Gracas Afonso Miranda Chaves, M. Delivering Resveratrol on the Buccal Mucosa Using Mucoadhesive Tablets: A Potential Treatment Strategy for Inflammatory Oral Lesions. *Curr. Drug Deliv.* **2018**, *15*, 254–259, doi:10.2174/1567201814666170726102558.
8. Chemat, F.; Rombaut, N.; Sicaire, A.-G.; Meullemiestre, A.; Fabiano-Tixier, A.-S.; Abert-Vian, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrason. Sonochem.* **2017**, *34*, 540–560, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>.
9. Moret, S.; Conchione, C.; Srbinovska, A.; Lucci, P. Microwave-based technique for fast and reliable extraction of organic contaminants from food, with a special focus on hydrocarbon contaminants. *Foods* **2019**, *8*, doi:10.3390/foods8100503.
10. Di Prima, G.; Angellotti, G.; Scarpaci, A.G.; Murgia, D.; D’agostino, F.; Campisi, G.; De Caro, V. Improvement of resveratrol permeation through sublingual mucosa: Chemical permeation enhancers versus spray drying technique to obtain fast-disintegrating sublingual mini-tablets. *Pharmaceutics* **2021**, *13*, doi:10.3390/pharmaceutics13091370.
11. De Caro, V.; Ajovalasit, A.; Sutera, F.M.; Murgia, D.; Sabatino, M.A.; Dispenza, C. Development and characterization of an amorphous solid dispersion of furosemide in the form of a sublingual bioadhesive film to enhance bioavailability. *Pharmaceutics* **2017**, *9*, doi:10.3390/pharmaceutics9030022.

