



GIOVANI sì



Regione Toscana



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

DAGRI
DIPARTIMENTO DI SCIENZE
E TECNOLOGIE AGRARIE
E FORESTALI

**Partenariato Europeo per
l'Innovazione *in materia di
produttività e sostenibilità
dell'agricoltura***

**RELAZIONE finale progetto Aurumfolium
(01/01/2020-11/02/2023)**

1. Introduzione

Abstract italiano

La tutela della risorsa idrica in ambiente mediterraneo appare quanto mai vitale alla luce della siccità che sta caratterizzando vasti territori del nostro paese. In agricoltura, è quindi necessario valorizzare la coltivazione di specie neglette con ridotte richieste irrigue per la loro crescita. Il progetto AURUMFOLIUM ha avuto come principale obiettivo il trasferimento delle conoscenze scientifiche acquisite dall'Università di Firenze (DAGRI) e dal CNR (IPSP) sulla coltivazione di piante della macchia mediterranea per la produzione di fitoestratti e prodotti nutraceutici a tre aziende agricole toscane, Olive Grove Partners S.r.l. (OGP), Pianporcino e la Società Cooperativa Le Greppe del Giglio. Le piante di interesse sono state: *Cistus x incanus* (cisto rosso), *Myrtus communis* (mirto), *Pistacia lentiscus* (lentisco) e *Arbutus unedo* (corbezzolo). Il progetto ha coniugato attività aziendali di coltivazione applicando metodiche di agricoltura sostenibile e sensoristica di precisione con attività di laboratorio per la preparazione di fitoestratti arricchiti in metaboliti secondari con applicazione nutraceutica. Tutte le specie selezionate risultano particolarmente adatte alla coltivazione con bassi input agronomici, quali i terreni marginali delle zone costiere o insulari toscane. I fitoestratti ottenuti con metodiche di *green extraction* sono stati utilizzati nel progetto per la funzionalizzazione di prodotti caseari di scarto (siero) e produzione di *functional food* e proposti come ingredienti per integratori con attività antiossidante. Un altro importante risultato ottenuto nel progetto è stata la realizzazione di un corbezzoleto, in cui è stata individuata la miglior forma di allevamento e tecnica irrigua per massimizzare la resa in frutti, principi attivi accumulati nelle foglie e ottimizzazione della raccolta. In conclusione, la possibilità di produrre con bassi costi fitoestratti ricchi in polifenoli per applicazioni nutraceutiche e alimentari offre ricadute economiche importanti fornendo alle aziende agricole fonti di reddito alternative a quelle tradizionali e, in alcuni casi, permettendo di recuperare con efficacia i terreni agricoli "marginali".

Abstract inglese

The protection of water resources in the Mediterranean region is of vital importance considering the recurrent severe drought events that are affecting large areas of your country. In agriculture, it is therefore necessary to enhance the cultivation of neglected species with reduced irrigation demands for their growth. The main objective of the AURUMFOLIUM project was to transfer the scientific knowledge acquired by the University of Florence (DAGRI) and the CNR (IPSP) for the cultivation of Mediterranean plants for the production of phytoextracts and nutraceutical products to three Tuscan farms, Olive Grove

Partners S.r.l. (OGP), Pianporcino and la Società Cooperativa Le Greppe del Giglio. The plants of interest were: *Cistus x incanus* (red cistus), *Myrtus communis* (myrtle), *Pistacia lentiscus* (mastic) and *Arbutus unedo* (strawberry tree). This project has combined field activities of cultivation by applying methods of precision and sustainable agriculture with laboratory activities for the preparation of phytoextracts enriched in secondary metabolites with nutraceutical applications. All the selected species are particularly suitable for cultivation with low agronomic inputs, such as the marginal soils of the Tuscan coastal or island areas. Phytoextracts obtained with green extraction methods were used for the functionalization of waste dairy products (whey) and the production of functional foods and have been proposed as ingredients for supplements with antioxidant activity. Another important result obtained in the project was the establishment of a strawberry tree orchard, in which the best farming and irrigation techniques were applied to maximize fruit yield and accumulation of bioactive compounds in the leaves and to optimize the harvesting technique. In conclusion, the possibility of producing polyphenols-rich phytoextracts for nutraceutical and food applications from Mediterranean plants offers significant economic benefits to the farms, providing alternative sources of income and allowing to effectively recover the "marginal" agricultural land.

2. Il partenariato, ruoli e attività svolte

Il **partenariato del progetto** è composto dall'azienda Olive Grove Partners (OGP) (capofila), il Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) - Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante (IPSP), l'Università degli Studi di Firenze – DAGRI, l'Azienda Agricola Pianporcino, la Società Cooperativa Le Greppe del Giglio e CAICT in riferimento alle Sottomisura 16.2, 1.1, 1.2 e 1.3 inserite e approvata nell'ambito del **GO PEI - AGRI (PS-GO) – annualità 2017 – 8/2017 – AURUMFOLIUM**.

Partenariato, ruolo e attività:

ID	Denominazione del partner	Tipologia	Ruolo	Attività svolta
P1	Azienda Agricola Olive Grove Partners S.r.l.	Imprese agricole e forestali	Capofila	WP2
P2	Azienda Agricola Pian Porcino	Imprese agricole e forestali	Partner	WP3
P3	Cooperativa "le Greppe"	Imprese agricole e forestali	Partner	WP4

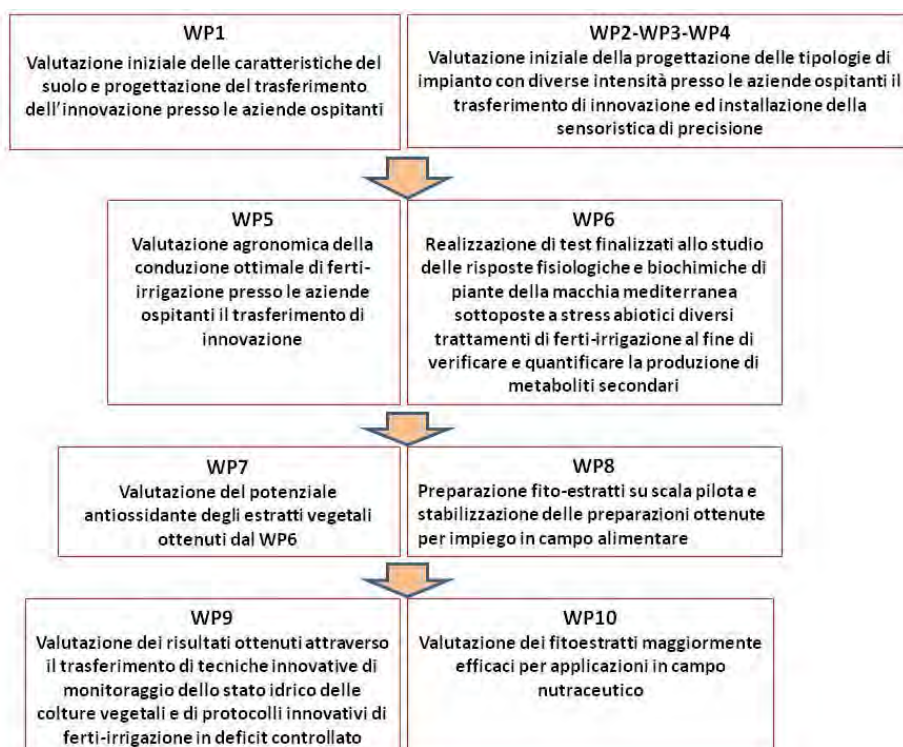
P4	Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari, Ambientali e Forestali (DAGRI) Università degli Studi di Firenze	Ente di ricerca pubblico	Partner	WP6, WP8, WP10, WP11, WP12, WP13, WP14,
P5	Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto per la Produzione Sostenibile delle Piante (IPSP)	Ente di ricerca pubblico	Partner	WP1, WP5, WP7, WP9
P6	Centro Assistenza Imprese Coldiretti Toscana (CAICT srl)	Soggetto erogante servizi di formazione	Partner	WP15

Di seguito vengono riportate divise nei vari WP le metodologie applicate, i prodotti e i risultati conseguiti e il quadro delle attività di trasferimento delle conoscenze acquisite.

La programmazione delle attività è stata effettuata tramite riunioni ad hoc fra i partner partecipanti al progetto:

- prima riunione organizzativa in data 11 novembre 2019 presso DAGRI, Sesto Fiorentino;
- seconda riunione organizzativa in data 26 febbraio 2020 presso DAGRI, Sesto Fiorentino.

Inoltre, per le varie attività previste dal progetto, sono state effettuate un totale di 74 missioni da DAGRI-UNIFI e un totale di 17 missioni da parte CNR-IPSP presso le varie aziende coinvolte.



3. Innovazioni messe a punto e trasferite

Le innovazioni messe a punto nel progetto sono state:

- 1) **Messa a punto e applicazione di tecniche agronomiche e irrigue per la coltivazione intensiva di corbezzolo.** Le innovazioni agronomiche consistono nella forma di allevamento del corbezzolo come arbusto monocaule tramite potature ripetute.
- 2) **Produzione di fitoestratti arricchiti in composti bioattivi da piante spontanee e coltivate della macchia mediterranea (lentisco, cisto e mirto).** L'innovazione tecnica del progetto riguarda la produzione di fitoestratti utilizzando un basso contenuto di etanolo e una bassa temperatura di estrazione con rese elevate in polifenoli. Questa tipologia di estrazione, proposta nel progetto su scala semipreparativa, è facilmente realizzabile nelle aziende con bassi costi di produzione.
- 3) **Creazione di un nuovo prodotto alimentare funzionale (functional food).** L'innovazione tecnica consiste nella funzionalizzazione di un prodotto di scarto dell'azienda casearia (siero di latte) con estratti ottenuti da frutti di mirto e corbezzolo.

4. Metodologie eseguite e tempistiche

Nel **WP1** (soggetto attuatore: CNR) sono state effettuate le analisi del suolo e la definizione delle aree di campionamento al giglio e nelle aziende. I dati ottenuti sono risultati fondamentali per 1) comprendere le condizioni pedo-climatiche che portano all'accumulo di metaboliti secondari nelle piante coltivate; 2) per identificare le aree adatte alla coltivazione di specie mediterranee per massimizzare le rese in principi attivi. Il terreno delle aziende OGP e Pianporcino è risultato essere molto povero di azoto e fosforo assimilabile, la cui disponibilità potrebbe essere ulteriormente limitata dal ridotto contenuto di sostanza organica.

Anche sull' Isola del Giglio l'analisi ha rivelato differenze di sostanza organica, contenuto di calcio e scambiabilità di potassio tra le tre località: Olivello, Monticello e Le Porte (Fig. 1):



Fig. 1. Località selezionate per la raccolta delle piante (*Cistus x incanus* (cisto rosso), *Myrtus communis* (mirto), *Pistacia lentiscus* (lentisco) e *Arbutus unedo* (corbezzolo)) all'Isole del Giglio (A: Monticello; B:

Olivello; C: Le Porte).

In contemporanea, il partner OGP ha realizzato l'impianto di corbezzolo (**WP2**) con sesto d'impianto 6x3 e l'utilizzo di diverse tipologie di allevamento (policaule e monocaule) per incrementare la produzione dei frutti e migliorarne la raccolta (Fig. 2)



Fig. 2. Piante di corbezzolo allevate a policaule (464 piante, a sinistra) e piante a monocaule (295 piante, a destra).

Gli impianti di *Myrtus communis*, *Cistus incanus* e *Pistacia lentiscus* hanno un sesto di impianto 4 x 1.5. In totale gli impianti comprendono 74 piante di cisto, 87 piante di lentisco e 125 piante di mirto (Fig. 3).

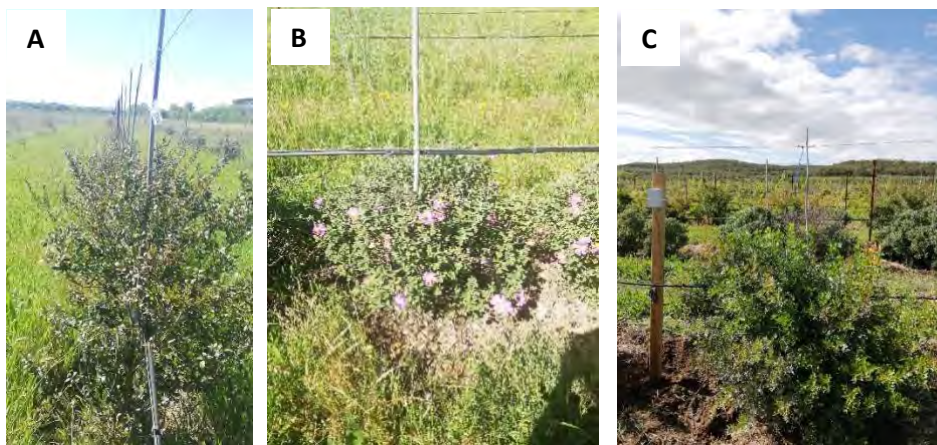


Fig. 3. Coltivazione di *M. communis* (A), *C. incanus* (B) e *P. lentiscus* (C) presso l'azienda OGP.

Nel 2021 e 2022 sono stati eseguiti i campionamenti stagionali di foglie delle specie d'interesse del progetto da piante coltivate presso l'azienda OGP per l'analisi quantitativa dei polifenoli totali. Sono state campionate foglie adulte, esposte al sole, e visibilmente sane. Il materiale vegetale è stato conservato in una borsa frigo per il trasporto in laboratorio e conservato a -20°C fino al momento dell'estrazione. Nell'azienda agricola Olive Grove Partners (OGP) sono stati installati dei sensori dell'umidità del suolo WaterScout SM100 (prodotti da Spectrum Technologies, Inc., Plainfield, IL, USA) e datalogger Sens

(noleggiati da CNR) per monitorare l'umidità del suolo durante l'ultimo anno di progetto in filari di corbezzolo bene irrigati (*full-irrigation*, FI) e filari sottoposti ad irrigazione deficitaria (DI). L'installazione di questa sensoristica ha permesso di relazionare l'irrigazione con il contenuto di acqua nel suolo e la fisiologia della pianta (Fig. 4).



Fig. 4. Installazione della sensoristica per monitorare l'umidità del suolo.

Nell'oliveta dell'azienda OGP sono stati installati anche 6 sensori per il monitoraggio degli insetti dannosi (dispositivi SpyFly, Fig. 5). Feromoni e richiami sessuali attirano gli insetti nocivi nella SpyFly, dove rimangono intrappolati e fotografati più volte al giorno. Da un'indagine preliminare è stato possibile osservare che gli insetti dannosi non attaccano le piante di corbezzolo, mirto, lentisco e cisto; quindi, la sensoristica in grado di monitorare gli attacchi è stata installata solo nell'oliveta.

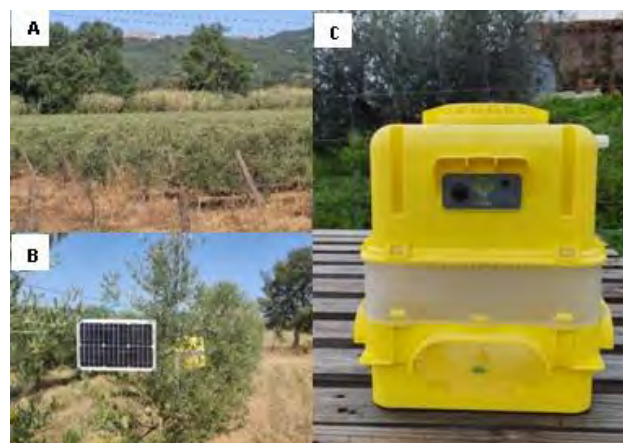


Fig. 5. Oliveta dell'azienda OGP (A) e trappole SpyFly installate presso l'azienda per la cattura degli insetti nocivi (B, C).

Nell'azienda Pianporcino è stato realizzato un orto privilegiando la messa a dimora di piante di corbezzolo e mirto per la produzione dei frutti con il sesto d'impianto di 5x5 su 1000mq (**WP 3**) (Fig. 8).



Fig. 8. Piante di *Arbutus unedo* e *Myrtus communis* coltivate presso l'azienda Pianporcino.

Inoltre l'azienda Pianporcino ha contribuito in modo sostanziale allo svolgimento delle attività degli altri partner, fornendo in maniera continuativa campioni di siero del latte di pecora, prodotti di scarto dell'azienda, per creare un nuovo prodotto funzionale arricchito con gli estratti dei frutti di mirto e corbezzolo.

La Cooperativa Le Greppe del Giglio ha provveduto a installare due centraline meteo presso le località Le Porte (Fig. 9 A) e Monticello (Fig. 9 B) dell'Isola del Giglio (**WP4**).



Fig. 9. Installazione di una centralina meteo presso la località giligiese Le Porte (A) e Monticello (B).

Nel 2021 e 2022 la Cooperativa ha raccolto i campioni di foglie delle specie d'interesse del progetto su piante spontanee dell'isola del Giglio per l'analisi quantitativa dei polifenoli totali.

Le rilevazioni periodiche effettuate da UNIFI e CNR presso l'azienda OGP hanno riguardato diversi aspetti della coltivazione del corbezzolo, fra cui calcolo della resa a ettaro in frutti e misure degli accrescimenti delle piante (**WP 5**). I principali risultati ottenuti sono stati:

- **Resa delle piante**: le piante di corbezzolo coltivate a singolo fusto (monocauli) hanno mostrato una resa più elevata rispetto alle piante coltivate nella forma di allevamento policaule, sia per le piante ben irrigate che per quelle sottoposte a irrigazione deficitaria. In particolare, le piante monocauli ben irrigate hanno ottenuto una resa superiore del 50% rispetto alle piante policaule ben irrigate, mentre le piante monocauli sottoposte a irrigazione deficitaria hanno ottenuto una resa superiore dell'86% rispetto alle piante policaule sottoposte a irrigazione deficitaria. All'interno di ciascun

gruppo di piante con la stessa forma di allevamento, le piante ben irrigate hanno mostrato una resa maggiore rispetto alle piante sottoposte a irrigazione deficitaria. In particolare, le piante ben irrigate hanno registrato un aumento del rendimento del 11% rispetto alle piante sottoposte a irrigazione deficitaria nella forma di allevamento monocaule, e un aumento del 51% nella forma di allevamento policaule.

- **Crescita delle piante**: Le piante monocaule (sia ben irrigate che in irrigazione deficitaria) sono cresciute maggiormente in altezza rispetto alle piante policaule. Le piante ben irrigate hanno mostrato anche un maggiore incremento del diametro del fusto e dell'ampiezza della chioma rispetto alle piante irrigate in maniera deficitaria. A fine sperimentazione, le piante policaule ben irrigate hanno sviluppato una chioma significativamente più voluminosa rispetto alle piante monocaule.
- **Misure di fisiologia**: le piante che hanno ricevuto la piena irrigazione hanno mostrato una migliore attività fotosintetica, indipendentemente dalla forma di allevamento utilizzata. Le maggiori differenze nella fotosintesi netta sono state osservate ad ottobre 2021 tra le piante ben irrigate e quelle sottoposte a irrigazione deficitaria. Tuttavia, le piante monocaule non irrigate hanno mostrato valori di fotosintesi netta simili a quelle ben irrigate nei campionamenti di maggio 2022 e luglio 2022. Non sono state invece riscontrate differenze significative tra i trattamenti per quanto riguarda l'efficienza fotochimica delle foglie. Il contenuto relativo di acqua delle foglie ha mostrato tendenze simili in tutti i trattamenti. Tuttavia, ad ottobre 2021, le piante ben irrigate hanno mostrato valori di contenuto idrico fogliare nettamente superiori rispetto alle piante sottoposte a irrigazione deficitaria, con valori più elevati per le piante monocaule. A luglio 2022, le piante policaule sottoposte a irrigazione deficitaria hanno mostrato maggiori livelli di disidratazione fogliare rispetto alle piante monocaule sottoposte allo stesso trattamento. Le misure di potenziale idrico e potenziale osmotico hanno mostrato un andamento stagionale, con un aumento da ottobre 2021 a febbraio 2022 seguito da una diminuzione a maggio 2022 e luglio 2022. Le piante monocaule ben irrigate hanno presentato il miglior stato idrico, mentre le piante policaule sottoposte a irrigazione deficitaria hanno mostrato il peggiore stato idrico. In conclusione, i risultati indicano che le piante ben irrigate hanno ottenuto le migliori prestazioni in termini di attività fotosintetica e stato idrico. Le differenze nella fotosintesi netta tra le piante irrigate e quelle sottoposte a irrigazione deficitaria sono state più evidenti ad ottobre 2021. Non sono emerse differenze significative tra i trattamenti per quanto riguarda l'efficienza fotochimica.

Sono state condotte anche analisi preliminari per la valutazione dei composti bioattivi (metaboliti secondari) presenti nelle foglie e nei frutti delle piante selezionate raccolte presso Azienda OGP e le località scelte all'Isola del Giglio. Per l'estrazione, le foglie fresche sono state macinate finemente utilizzando azoto liquido e il materiale vegetale così ottenuto è stato estratto utilizzando un bagno ad ultrasuoni con una

soluzione di etanolo e acqua. Dopo l'estrazione, l'estratto è stato centrifugato per rimuovere i composti lipofili. La fase etanolica rimanente è stata essiccata, pesata e risospesa in una soluzione acidificata metanolo/acqua per l'analisi cromatografica (Fig.10)



Fig. 10. Macinazione dei campioni in azoto liquido (A); estratti etanolici e acquosi delle foglie campionate presso l'azienda OGP (B); essiccamento della fase etanolica tramite l'utilizzo di un Multivapor (C); campioni pronti per l'analisi HPLC-DAD (D).

Anche i frutti di mirto e corbezzolo, campionati tra novembre e dicembre 2021 presso l'azienda OGP, sono stati estratti in modo analogo. Sono state utilizzate tre tipologie di frutto: freschi, secchi e liofilizzati. Sono state eseguite due tipologie di estrazione: un decotto e un'estrazione assistita da ultrasuoni utilizzando etanolo come solvente (Fig. 11).



Fig. 11. Frutti di mirto liofilizzati interi (A); frutti di mirto liofilizzati e macinati (B); frutti di corbezzolo liofilizzati interi (A), frutti di corbezzolo liofilizzati e macinati (B); Decotto di frutti liofilizzati (E) di mirto e di corbezzolo (F).

Per la caratterizzazione e la quantificazione dei composti polifenolici degli estratti, è stato utilizzato un cromatografo liquido ad alte prestazioni (HPLC) con rivelatore a serie di diodi (DAD). Sono stati identificati e quantificati polifenoli delle diverse classi, come derivati dell'acido gallico, galletannini e flavonoidi. Sono stati anche rilevati antociani negli estratti dei frutti. In sintesi, il progetto ha permesso di caratterizzare i profili polifenolici delle foglie e dei frutti delle quattro specie di piante selezionate. Questi composti possono contribuire alle proprietà benefiche delle piante.

Il passaggio successivo è stata la standardizzazione, la validazione e ottimizzazione della condizione di estrazione e analisi dei metaboliti secondari (**WP 6**). È importante notare che tutti gli estratti sono stati ottenuti seguendo i principi della *green chemistry*, quindi sono ecosostenibili e non tossici per l'uso umano.

In particolare, per l'ottimizzazione delle condizioni di estrazione dei metaboliti è stato utilizzato un metodo precedentemente sviluppato presso L'Università di Firenze (modello Box-Behnken Design (BBD) a tre fattori e tre livelli). Le migliori condizioni operative per il processo di estrazione sono risultate le seguenti:

- ✓ Per *P. lentiscus*, è stato dimostrato che il rapporto solvente ha avuto il maggiore effetto sull'estrazione dei polifenoli, seguito dalla percentuale di etanolo. La temperatura è risultata essere la variabile meno influente. Le condizioni ottimali di estrazione per ottenere i migliori contenuti di polifenoli, tannini e flavonoidi sono state: 18 mL di etanolo al 40% a 50 °C.
- ✓ Per *C. incanus*, le condizioni ottimali di estrazione per ottenere il massimo contenuto di polifenoli sono state: 0,1 mL di solvente per 60 minuti con una percentuale inferiore di etanolo.
- ✓ Per *A. unedo*, sono state identificate due diverse condizioni ottimali di estrazione per l'arbutina e il contenuto polifenolico totale (TPC).
- ✓ Per *M. communis*, durante lo screening, nessun fattore ha influenzato significativamente il contenuto di polifenoli. Tuttavia, confrontando i metodi di estrazione, è emerso che 0,041 mL di etanolo al 62,5% a 22,5 °C per 15 minuti hanno determinato il maggior contenuto di polifenoli totali, flavonoidi e tannini.

Sugli estratti ottenuti di frutti di mirto e corbezzolo sono state effettuate le misure dell'attività antiossidante mediante l'utilizzo dei saggi DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazile) e FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) (**WP 7**). Le analisi confermano l'elevato valore nutrizionale e nutraceutico dei frutti di mirto e corbezzolo e degli estratti ottenuti. Su questa base sono stati utilizzati come ingredienti funzionali del siero del latte, per aumentarne la capacità antiossidante e la conservazione.

In particolare, è quindi stato possibile formulare una nuova preparazione alimentare a base di estratti di frutti di corbezzolo e mirto, inclusi in due forme (estratto liquido e polvere) nel principale prodotto di scarto dell'azienda casearia Pianporcino (siero di latte) (**WP 8**). Sono state condotte analisi per valutare la stabilità dei prodotti nel tempo. Sia il pH che la composizione polifenolica sono stati monitorati durante un periodo di conservazione di 60 giorni (Fig. 12). È stato osservato un decremento del pH per entrambi gli estratti aggiunti al siero di latte, sia nella forma liquida che in polvere. I valori di pH per l'estratto di corbezzolo sono risultati inferiori rispetto all'estratto di mirto. Le quantità di polifenoli sono rimaste stabili nel tempo per l'estratto di mirto, mentre per l'estratto di corbezzolo si è osservata una diminuzione a partire dal giorno 45. Inoltre, sono state condotte analisi per valutare l'attività antibatterica e la stabilità microbiologica dei prodotti. Sono stati osservati effetti antibatterici contro i patogeni *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ed *Escherichia coli*. È stato anche eseguito un controllo microbiologico per valutare la presenza di batteri lattici, e i campioni hanno mostrato un'assenza di tali batteri.

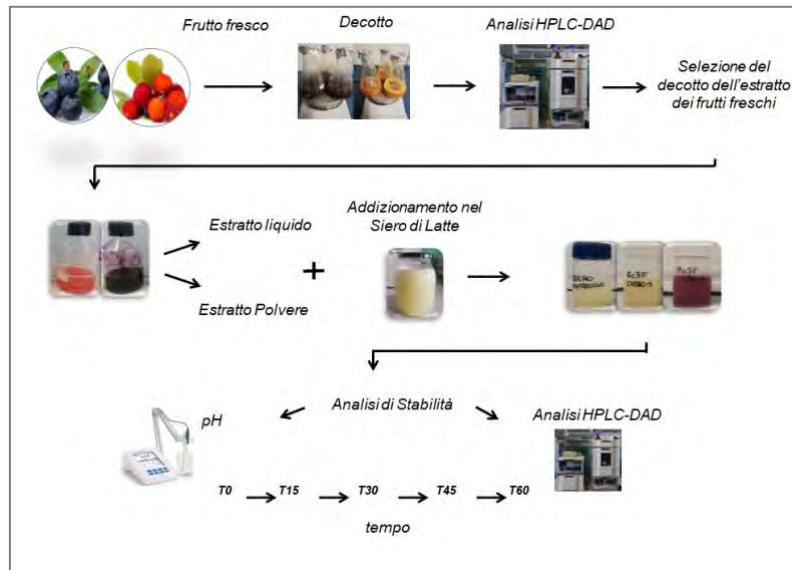


Fig. 12: Schema generale della metodologia eseguita per l'aggiungere gli estratti acquosi di *M. communis* e *A. unedo*, in forma liquida e di polvere nel siero di latte. La stabilità polifenolica (analizzata mediante HPLC-DAD) e il pH sono state analizzate ogni 15 giorni, per un totale di sessanta giorni (da T0 a T60).

In conclusione, è stato dimostrato che l'applicazione di metodologie estrattive per la preparazione di fito-estratti a base di mirto e corbezzolo può essere efficace per la creazione di un nuovo prodotto nutraceutico. Il prodotto ottenuto ha mostrato stabilità nel tempo, contenuto significativo di polifenoli e attività antibatterica. Questi risultati indicano il potenziale di valorizzazione dei sottoprodotti dell'industria casearia attraverso l'utilizzo di estratti di piante mediterranee ad alto contenuto di polifenoli. Il nuovo prodotto può essere utilizzato nel settore alimentare come integratore dietetico o per atleti, grazie alla sua stabilità nel tempo e al contenuto di antiossidanti fornito dagli estratti di mirto e corbezzolo. Inoltre, il prodotto può trovare applicazioni nel settore cosmetico, ampliando il mercato dei prodotti a base di siero di latte.

I dati raccolti con le metodologie descritte sono stati elaborati nel **WP9** e **WP10**.

1. Prodotti e risultati conseguiti

Dalle attività condotte e dall'elaborazione dei dati raccolti con le metodologie precedentemente descritte siamo giunti ai seguenti risultati :

2. **Coltivazione di piante di corbezzolo:** Le piante coltivate nella forma di allevamento monocaule hanno mostrato maggiori rese rispetto a quelle coltivate nella forma policaule. Inoltre, all'interno di ciascun gruppo di piante, quelle ben irrigate hanno fornito una maggiore resa rispetto a quelle sottoposte a irrigazione deficitaria. La raccolta dei frutti potrebbe essere ottimizzata utilizzando

scuotitori alla base del tronco e teli per la raccolta dei frutti da terra, soprattutto per le piante coltivate come monocaule.

3. **Effetti dell'irrigazione deficitaria:** Le piante di corbezzolo coltivate come policaule non hanno mostrato un compromesso significativo nell'accrescimento rispetto al trattamento di irrigazione deficitaria. Tuttavia, le piante monocaule hanno evidenziato un tasso di crescita inferiore nel trattamento di irrigazione deficitaria rispetto al trattamento ben irrigato.
4. **Fisiologia delle piante di corbezzolo:** Non sono state riscontrate grandi differenze nella fisiologia delle piante di corbezzolo sottoposte ai due trattamenti irrigui. Complessivamente, quindi, il trattamento di irrigazione deficitaria non ha compromesso in modo sostanziale la vitalità delle piante e la loro capacità fotosintetica.
5. **Caratteristiche dei frutti di corbezzolo:** Le piante coltivate come monocaule hanno mostrato una maggiore produttività in termini di resa ad ettaro, sia con irrigazione che con irrigazione deficitaria, rispetto alle piante coltivate come policaule. Tuttavia, i frutti provenienti dalle piante coltivate come policaule sono risultati di maggior pezzatura e peso specifico. Sono state osservate differenze nelle qualità organolettiche dei frutti in base alla forma di allevamento e al regime irriguo applicato (Fig. 13).

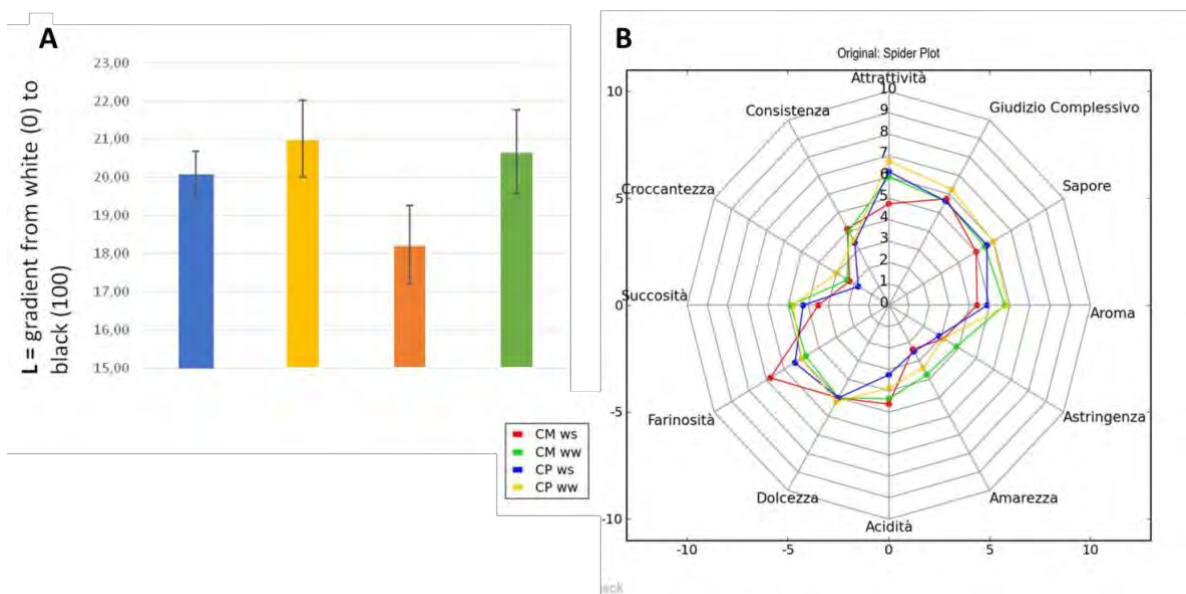


Fig. 13. Misura della chiarezza (*lightness*, L) attraverso l'uso di un colorimetro (A); risultati del panel test condotto assaggiando frutti di *A. unedo* coltivato nella forma di allevamento monocaule (cm) e policaule (cp) e attraverso la somministrazione di due trattamenti irrigui (ben irrigato, FI; e irrigazione deficitaria DI) presso l'azienda OGP.

6. **Foglie di corbezzolo come fonte di arbutina e tempo balsamico per la raccolta:** I risultati mostrano che le piante coltivate a irrigazione deficitaria hanno mostrato valori significativamente più alti di arbutina rispetto alle piante ben irrigate. Tra le piante pienamente irrigate, queste hanno mostrato valori più elevati di arbutina durante l'estate e l'autunno rispetto agli altri periodi di campionamento. Il contenuto totale di polifenoli (TPC) ha anche mostrato differenze significative tra i trattamenti irrigui solo nell'ultimo punto di campionamento, con valori più elevati di TPC nelle piante sottoposte ad irrigazione deficitaria.
7. **Utilizzo delle foglie di cisto come fonte di polifenoli:** I risultati confrontano il contenuto di polifenoli nelle foglie di cisto coltivate presso l'azienda OGP e quelle cresciute in ambiente naturale all'Isola del Giglio. Non sono state riscontrate differenze significative tra le stagioni primaverili ed estive per le piante raccolte all'Isola del Giglio, mentre le foglie raccolte presso l'azienda OGP presentavano valori di TPC più elevati in primavera rispetto all'estate. Anche le foglie raccolte in primavera nelle condizioni di coltivazione avevano valori più alti di TPC rispetto a quelle raccolte in campo. Sono state osservate differenze significative nelle diverse classi di composti rilevate negli estratti, a seconda dell'epoca di raccolta e delle condizioni di coltivazione.

I nostri risultati indicano un contenuto polifenolico più elevato nelle piante coltivate rispetto a quelle raccolte in condizioni naturali, il che potrebbe essere importante per l'utilizzo di queste piante come fonte di composti bioattivi. Inoltre, i fito-estratti fogliari arricchiti in arbutina delle foglie di corbezzolo possono trovare impiego nel settore nutraceutico, sostituendo l'uso di arbutina sintetica nell'industria cosmetica. Allo stesso modo, i fito-estratti di cisto possono essere utilizzati come integratori e additivi alimentari, mentre le foglie di mirto possono avere proprietà curative per disturbi della pelle e infezioni, nonché essere utilizzate per la produzione di *functional foods*.

8. Ricadute economiche e ambientali

Le innovazioni messe a punto e trasferite alle aziende hanno permesso di raggiungere i seguenti prodotti con importanti ricadute economiche e ambientali:

- 1) E' stata migliorata l'efficienza produttiva e la raccolta meccanizzata dei frutti. Inoltre, l'abbinamento della coltivazione intensiva del corbezzolo con la tecnica colturale della *deficit irrigation* ha permesso di ottenere un risparmio idrico nella coltivazione di questo frutto nonché la possibilità di incrementare la resa in metaboliti secondari (composti bioattivi) nelle foglie. Questo permetterà in futuro di utilizzare gli scarti di potatura del corbezzolo allevato a monocoltura per la produzione di estratti arricchiti in arbutina per prodotti cosmetici.
- 2) L'utilizzo di tecniche di *green extraction* hanno permesso di ottenere fitoestratti arricchiti in polifenoli

dalle piante coltivate in azienda su scala semipreparativa. Le piante coltivate nelle aziende hanno dimostrato di avere un contenuto di principi attivi analogo a quello trovato nelle piante spontanee dell'Isola del Giglio, prese come standard di riferimento a livello quali/quantitativo. Per ogni specie (lentisco, cisto e mirto) è stato individuato il tempo balsamico per la raccolta del materiale vegetale (foglie e frutti). Per questi estratti sono state inoltre individuate numerose applicazioni nutraceutiche e cosmeceutiche in modo da indirizzare le aziende su possibili prodotti di interesse del mercato.

- 3) E' stato prodotto un nuovo alimento funzionale unendo il siero del latte (sottoprodotto dell'azienda casearia) con estratti ottenuti da frutti di mirto e corbezzolo coltivati nelle aziende agricole. Il prodotto ottenuto permette di combinare le proprietà nutrizionali del siero (elevato contenuto di proteine e sali minerali) con le sostanze bioattive (polifenoli) contenute nei frutti di mirto e corbezzolo. Questo nuovo prodotto funzionale, dalle proprietà organolettiche gradevoli, ha un elevato valore nutraceutico, elevata attività antiossidante e può essere utilizzato come prodotto salutistico. Il prodotto è risultato sicuro dal punto di vista microbiologico e stabile per almeno 60 giorni in frigo (+4°C).

Il progetto e le innovazioni tecniche proposte alle aziende sono stati realizzati seguendo i principi dell'economia circolare. Infatti, l'utilizzo di prodotti di scarto dell'azienda agricola (prodotti di potatura) e dell'azienda casearia (siero) che dovrebbero essere smaltiti con costi elevati sono stati valorizzati per produrre fitoestratti da utilizzare a scopo nutraceutico e cosmetico e prodotti alimentari funzionali. Sulla base delle innovazioni messe a punto e trasferite alle aziende, il progetto ha molteplici ricadute a livello economico. I benefici economici alle aziende permettendo una diversificazione e un incremento della produzione, e individuando fonti di reddito alternativo. Infine, e non meno importante, l'aspetto della sostenibilità dei nuovi processi produttivi dal punto di vista agronomico e della produzione dei fitoestratti. Le piante della macchia mediterranea non risultano attaccate da insetti dannosi che ne compromettono la produzione, possono essere coltivate in *deficit irrigation* (o comunque apportando minime quantità di acqua solo durante il periodo estivo) con resa elevata in frutti e foglie ricche di composti bioattivi in terreni marginali o comunque a basso contenuto di sostanza organica. Anche il processo estrattivo dei composti bioattivi è stato messo a punto seguendo i principi della sostenibilità ambientale (*green extraction*).

9. Spese sostenute per l'attuazione del PS-GO e adattamenti tecnici

Le attività del progetto AURUMFOLIUM sono state pesantemente rallentate causa delle restrizioni imposte dalla pandemia da Covid-19. Questo ha influito sulle missioni da effettuare in campo nel 2020 a causa delle restrizioni negli spostamenti e ha portato ad uno slittamento delle attività di divulgazione (misure 1.2 e 1.3). Poiché le modifiche per macrovoce di spesa sono inferiori al 25%, si riportano gli adattamenti tecnici

adottati dai diversi partner per necessità logistiche, economiche e tecnico-scientifiche:

ID	Denominazione del partner	Attività svolta	Adattamento tecnico
P1	Azienda Agricola Olive Grove Partners S.r.l.	WP2	L'investimento in trappole robotiche è stato minore in quanto preventivato e non sono state acquistate le centraline meteo mentre è stato maggiormente investito in ore uomo dedicate al progetto per poter seguire i diversi trattamenti di potatura e irrigazione nel corbezzoleto (318 ore nel 2020, 204 ore nel 2021, 198 ore nel 2022).
P2	Azienda Agricola Pian Porcino	WP3	Non è stato effettuato l'investimento in trappole robotiche e centraline per i rallentamenti dovuti alla pandemia Covid ed è stato privilegiato l'investimento in ore uomo dedicate alla messa a dimora di piante di corbezzolo e mirto.
P3	Cooperativa "le Greppe"	WP4	Le attività previste nel WP4 sono state effettuate in modo intensivo nel 2021 e 2022, portando a un maggior investimento in ore uomo dedicate al progetto.
P4	Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari, Ambientali e Forestali (DAGRI) Università degli Studi di Firenze	WP6, WP8, WP10, WP11, WP12, WP13, WP14,	L'investimento in consumabili di laboratorio è stato inferiore rispetto a quanto inserito nella DUA, poichè sono stati utilizzati materiali di laboratorio già in possesso del gruppo di ricerca DAGRI. Tuttavia, le attività di campo, essendosi concentrate nel 2021 e 2022, hanno richiesto un maggior investimento in ore uomo dedicate al Progetto, sia come personale dipendente e non.
P5	Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Istituto per la Produzione Sostenibile delle Piante (IPSP)	WP1, WP5, WP7, WP9	Le numerose attività di laboratorio e di campo concentrate negli anni 2021 e 2022 hanno fatto sì che fosse necessario un maggior investimento in ore uomo e consumabili dedicati al progetto. In particolare, sono state incrementate le ore uomo del personale dipendente. Inoltre, a causa della assenza di candidature idonee per il primo bando di concorso per il reclutamento di un assegnista postdoc, il bando è stato convertito in un assegno di ricerca base per personale laureato a minor costo lordo. Infine, il primo assegnista ha rinunciato all'assegno dopo 13 giorni e l'assegno è stato successivamente ribandito e completato nei dodici mesi successivi.
P6	Centro Assistenza Imprese Coldiretti Toscana (CAICT srl)	WP15	Descrizione dettagliata degli scostamenti riportati nel WP15

Spese sostenute per l'attuazione del PS-GO – Sottomisura 16.2 –

OGP ETRURIO (P1, Capofila): 13.176 euro

PIANPORCINO (P2, Partner): 7.480 euro

COOPERATIVA LE GREPPE DEL GIGLIO (P3, Partner): 8.665,9 euro

DAGRI- UNIFI (P4, Partner): 97.667,96 euro

CNR-IPSP (P5, Partner): 87.648,50 euro

Spese sostenute per l'attuazione del PS-GO – Sottomisure 1.2 – 1.3 – 1.1 –

1.2 – DAGRI-UNIFI: 23.875,19 euro

1.3 – DAGRI-UNIFI: 8.923,77 euro

1.1 – CAICT: 10375,56 euro

10. Attività di trasferimento delle conoscenze

Durante il progetto sono stati realizzate diverse attività divulgative. In particolare, è stato creato il sito Web con le informazioni relative al progetto e ai partner: <https://www.aurumfolium.it/>. Per il progetto è stata realizzata anche una pagina Facebook per la divulgazione degli eventi: <https://www.facebook.com/people/Progetto-Aurumfolium/100066508968798/>. Nel canale YouTube dell'Università di Firenze è stato caricato il video riassuntivo del progetto con le interviste ai partner e le immagini delle aziende coinvolte nel progetto: <https://www.youtube.com/watch?v=2DJSPcgbVos&t=2s>.

Il progetto e i risultati raggiunti sono stati divulgati anche tramite altre interviste su siti e riviste online e sui siti web dei partner del progetto. Tutte le interviste e gli articoli sono consultabili tramite il sito <https://www.aurumfolium.it/>.

Sono inoltre stati realizzati due incontri tematici con sessioni pratiche realizzati in occasione delle mostre dei fiori tenutesi a Firenze il 26/04/2022 e a Portoferraio il 3/06/2022. Nello specifico, l'evento del 26 aprile 2022 si è tenuto presso il Tepidario Roster di Firenze, mentre quello del 3 giugno presso la sala della Gran Guardia a Portoferraio. Il convegno finale del progetto è stato realizzato il giorno 13 dicembre 2022 presso la sede di Villa Bardini, Firenze. Sono state registrate circa 100 partecipanti totali, la locandina, il programma e le foto dell'evento sono riportate sul sito <https://www.aurumfolium.it/>. Al termine del convegno tecnico è stato organizzato un seminario intitolato "passeggiata *Aurumfolium*" finalizzata al riconoscimento delle specie mediterranee e alla divulgazione delle loro applicazioni etnobotaniche (sessione pratica realizzata da due relatori del convegno, Prof. Francesco Ferrini e Dr. Alberto Giuntoli). E' stata realizzata anche una giornata dedicata alle visite delle aziende del progetto AURUMFOLIUM. I

partecipanti hanno visitato l'impianto di *Arbutus unedo* realizzato dall'azienda OGP Etrurio a Roccastrada (GR). Il seminario tenuto da Aleadro Ottanelli, tecnico dell'Università di Firenze, presso il corbezzoleto dell'azienda OGP Etrurio ha illustrato gli aspetti tecnico agronomici fondamentali per la gestione di un impianto da frutto quale quello realizzato presso l'azienda OGP Etrurio.



Visita al corbezzoleto nell'azienda OGP Etrurio a Roccastrada (GR)

Successivamente i partecipanti hanno visitato l'azienda agricola Pianporcino a Pienza (SI).

Durante la visita a Pianporcino i visitatori hanno appreso le fasi del processo produttivo della ricotta con conseguente ottenimento del siero del latte. Il Nel progetto AURUMFOLIUM, i fito-estratti ricavati da frutti delle piante della macchia mediterranea coltivate presso l'azienda agricola OGP Etrurio sono stati aggiunti al siero del latte prodotto da Pian Porcino per la formulazione di un nuovo *functional food* altamente proteico e ricco in polifenoli.



Visita all'azienda Pianporcino, Pienza (GR)

Alle visite aziendali hanno preso parte imprenditori agricoli e forestali e appassionati del settore agricolo e

dell'industria alimentare. Le visite aziendali sono state molto apprezzate dai visitatori a tal punto da aver espresso il desiderio di partecipare nuovamente ad iniziative del genere proprio perché guidati dall'interesse nel conoscere più approfonditamente gli aspetti tecnico/agronomici del settore agroalimentare.

L'attività di divulgazione corsi di formazione sono stati programmati in fase avanzata di realizzazione del progetto al fine di poter riportare gli sviluppi e le esperienze maturate in tale ambito. E' stata scelta la modalità di erogazione a distanza (piattaforma ZOOM) per facilitare la partecipazione di utenti collocati in aree territoriali differenti e disperse sul territorio toscano. Sono stati realizzati tre corsi **Le piante mediterranee di interesse nutraceutico: tecniche di coltivazione innovative e di estrazione per l'ottenimento di fitocomposti ad alto potere antiossidante**, calendarizzati nella seconda metà del 2022. La programmazione didattica attuata nei corsi è riportata sul sito <https://www.aurumfolium.it/>.

11. Considerazioni conclusive

Le importanti innovazioni ottenute dal progetto AURUMFOLIUM hanno evidenziato nuove applicazioni dei prodotti ottenuti dalle piante della macchia mediterranea, confermando che, grazie alla polifunzionalità di alcune classi di molecole presenti nelle foglie e nei frutti di *Arbutus unedo*, *Pistacia lentiscus*, *Myrtus communis* e *Cistus x incanus*, i derivati ottenuti possono essere sfruttati per scopi nutraceutici e cosmetici. Le pratiche agronomiche ed estrattive sviluppate nel progetto essendo di facile replicabilità potranno essere applicate in aziende toscane di piccole e medie dimensioni con immediate ricadute economiche e produttive. Inoltre, l'impiego delle specie selezionate nel progetto permette il recupero di terre marginali e abbandonate (in particolare costiere o insulari esposte a condizioni ambientali difficili) offrendo nuove opportunità di mercato al mondo agricolo senza entrare in conflitto con le produzioni alimentari e quindi riducendo il rischio di ulteriore abbandono delle superfici coltivate. Infine, la coltivazione delle specie della macchia mediterranea può avere importanti ricadute per la protezione e conservazione della biodiversità mediterranea limitando la diffusione di specie aliene invasive a favore della flora autoctona.

Firenze.....

Firma



Regione Toscana

