Università degli Studi di Roma "La Sapienza"

Domanda di finanziamento ricerca di Ateneo Anno 2006 - prot. C26A06MNEC

1. Dati Generali

1.1 Durata della ricerca

24 mesi

1.2 Responsabile della ricerca

BRAVI Marco (cognome) (nome)

10/09/1963 Prof. Associato (qualifica) (data di nascita)

NESSUNA AFFERENZA (dip/istit) (facoltÃ)

(indirizzo)

+39-0644585587 +39-064827453 (telefono) (fax)

> marco.bravi@uniroma1.it (e-mail)

1.4 Titolo della ricerca

PRODUZIONE SU LARGA SCALA DI RESVERATROLO E CATECHINE DA VITIS VINIFERA MEDIANTE BIOREATTORI E SISTEMI DI SEPARAZIONE PER ADSORBIMENTO

2. Informazione sull'attività di ricerca

2.1 Parole chiave

- $1.\ BIOREATTORE$
- 2. RESVERATROLO
- 3. VITIS VINIFERA
- 4. SCALE-UP 5. FED-BATCH

2.2 Ambito della ricerca \hat{A} \hat{A} \hat{A} \hat{A} \hat{A} 2.3 Tipologia Interistituto/Interdipartimento

Nuova ricerca

2.4 Componenti il gruppo di ricerca (escluso il responsabile) Personale docente dell'Ateneo

nº	Cognome	Nome	Qualifica	Facoltà	Ist./Dip.
1.	BIANCHI	Giovanni	RU	SCIENZE MATEMATICHE FISICHE e NATURALI	DIP. BIOLOGIA VEGETALE
2.	DE DOMINICIS	Raffaele Ilio	PA	SCIENZE MATEMATICHE FISICHE e NATURALI	DIP. BIOLOGIA VEGETALE
3.	MAZZAROTTA	Barbara	PO	INGEGNERIA	DIP. IINGEGNERIA CHIMICA MATERIALI AMBIENTE
4.	PASQUA	Gabriella	PO	SCIENZE MATEMATICHE FISICHE e NATURALI	DIP. BIOLOGIA VEGETALE
5.	VARIALI	Galliano	PA	INGEGNERIA	DIP. IINGEGNERIA CHIMICA MATERIALI AMBIENTE

Altro personale dell'Università di Roma "La Sapienza"

In questo spazio non inserire personale docente e tecnici laureati dell'Ateneo

nº	Cognome	Nome	Qualifica	Facoltà	Ist./Dip.	Note
1.	. D'URSO ALESSIO		Dottorando			
2.	SANTAMARIA ANNA RITA		Dottorando			
3.	FIORILLO	FULVIO	Contrattista di ric.			

Personale di altre Università/Istituzioni

nº Cognome	Nome	Qualifica	Universita'/Istituzione	Ist./Dip.	Note	Ì
1. MULINACCI	NADIA	Prof. associato	Università di Firenze	Dip. di Scienze Farmaceutiche		

2.5 Inquadramento della ricerca proposta (in ambito nazionale ed internazionale)

Le piante rappresentano una grande fonte di molecole biologicamente attive, le quali, oltre a costituire una difesa chimica da stress biotici ed abiotici per la pianta stessa, possono svolgere attività preventiva e terapeutica nei confronti di numerose patologie nell'uomo e negli animali. Tra queste, particolarmente interessanti sono il resveratrolo, le catechine ed i loro derivati (molecole target: MT).

Il resveratrolo appartiene alla famiglia degli stilbeni e costituisce il principale gruppo di fitoalessine nelle Vitaceae. È prodotto dalla pianta in risposta ad infezioni fungine o a stress abiotici (come ozono, metalli pesanti, radiazioni UV). Negli ultimi dieci anni molta attenzione è stata rivolta agli effetti benefici del resveratrolo sulla salute umana: ha proprietà antiossidanti, chemiopreventive e chemioterapeutiche verso diverse forme tumorali (Savouret e Quesne, 2002); è un efficace fitoestrogeno nelle terapie ormonali sostitutive della postmenopausa e nei tumori del cervello e della prostata ormone-dipendenti; recentemente, è stato dimostrato che il resveratrolo inibisce la replicazione del virus A dell'influenza.

Il resveratrolo è contenuto nelle radici di Polygonum cuspidatum, pianta ampiamente usata nella medicina tradizionale cinese e giapponese. Ad oggi questa specie rappresenta la principale fonte commerciale di resveratrolo anche se è stata riportata nell'estratto presenza di ioni metallici (Cu2+ etc) potenzialmente tossici all'uso terapeutico.

Anche Vitis vinifera accumula resveratrolo, in particolare nei raspi, nelle foglie, nelle bacche e nel vino, anche se in piccola quantità. Questi ritrovamenti sono di grande interesse data l'estensione della sua coltivazione e l'importanza dell'uva e del vino nella dieta mediterranea.

Le catechine rappresentano i principali flavanoli presenti in natura. Tra le catechine, le epigallocatechine gallate (EGCG), e le epigallocatechine (EGC) sono tra le più rare, ma biologicamente più attive. Le catechine presentano proprietà chemiopreventive e antiproliferative nei confronti di diverse forme neoplastiche (Rosengren, 2003).

La principale foníe commerciale di catechine è, al momento, il tè verde (Camellia sinensis); per quanto riguarda V. vinifera, variabili quantità di catechine, a seconda della cultivar, si riscontrano nella bacca.

Le MT sono attualmente oggetto di grande attenzione per la formulazione di prodotti farmaceutici e nutraceutici; considerando l'importanza economica di queste molecole, i problemi legati alla loro variabile e spesso scarsa concentrazione nelle piante e i danni derivanti dallo sfruttamento intensivo delle risorse vegetali, risulta sempre più importate sperimentare metodi biotecnologici per la loro produzione su larga scala e da fonti naturali con caratteristiche più controllate. Tuttavia, a fronte di un ampio dibattito sugli effetti biomedici delle MT, gli studi sulle vie alternative per la produzione di questi metaboliti su larga scala sono comparativamente relativamente scarsi.

I sistemi in vitro e, tra questi, le colture cellulari, costituite da una popolazione cellulare uniforme e in rapida crescita, possono permettere una produzione di metaboliti in continuum, indipendentemente da molti fattori quali: a) tipo di organo, b) grado di sviluppo raggiunto dalla pianta c) clima e stagionalità (Pasqua et al. 2004) evitando, nel contempo, i problemi legati al potenziale inquinamento da pesticidi ed erbicidi, metalli pesanti e micotossine.

L'industria ha già sfruttato le colture cellulari per ottenere importanti molecole antitumorali come tassolo (nome commerciale Paclitaxel), podofillotossina, vinbalstina e vincristina. Ad oggi, sono stati allestiti con successo bioreattori contenti colture di Digitalis per la produzione di digitossina, colture di Catharanthus per la produzione di alcaloidi indolici (Roberts e Shuler 1997) e colture di Lithospermum per la produzione di shikonina.

Per la specie Vitis vinifera, la metodologia delle colture cellulari, già sperimentata per alcune cultivar, fa ben sperare ad una più vasta applicazione. Limitandosi ai principali risultati di letteratura, colture cellulari della cv. Gamay Freaux hanno mostrato produzione di catechine gallate e derivati glicosilati degli stilbeni

Per la specie Vitis vinifera, la metodologia delle colture cellulari, già sperimentata per alcune cultivar, fa ben sperare ad una più vasta applicazione. Limitandosi ai principali risultati di letteratura, colture cellulari della cv. Gamay Freaux hanno mostrato produzione di catechine gallate e derivati glicosilati degli stilbeni (Decendit et al. 2002) mentre resveratrolo è stato prodotto da colture cellulari della cv. Barbera in condizioni di stress abiotico come l'acido giasmonico ed i suoi sali, l'ortovanadato di sodio e il chitosano (Tassoni et al. 2005). Inoltre, è stato dimostrato che i protoplasti ottenuti per digestione enzimatica di foglie di Vitis vinifera producono resveratrolo durante il periodo seguente il loro isolamento (Commun et al. 2003).

Colture cellulari e protoplasti di V. vinifera sembrano, pertanto, essere sistemi in vitro ideali per incrementare la produttività delle MT.

In questa ottica, è utile ricordare le soluzioni tecnologiche che sono state sperimentate nel corso della ricerca sperimentale finalizzata alla messa a punto di un processo industrializzabile per la produzione del tassolo (Roberts e Schuler; 1997).

Il passaggio dalla scala di laboratorio a quella industriale richiede di affrontare in modo combinato problemi di natura biochimica e ingegneristica. Lo scale-up della produzione chiama in gioco pH, temperatura, aerazione, concentrazione dei nutrienti, presenza di sforzi di taglio, caratteristiche dell'inoculo e la sterilità della

coltura. Nella ricerca sulle condizioni operative per la crescita delle cellule, la relativa produzione dei metaboliti target e la stabilità di questi ultimi si trovano condizioni di ottimo non coincidenti e si è costretti a ricorrere a sofisticate soluzioni tecnologiche per evitare soluzioni di compromesso subottimali. In letteratura sono discussi bioreattori di diverse tipologie, caratterizzati dallo sviluppo di sforzi di taglio limitati e pertanto idonei alle sensibili colture cellulari (di tipo Rushton, centrifugo, Wilson e airlift).

La coltura richiede la disponibilità di diversi componenti, che devono essere appovvigionati, mentre ne produce altri che devono essere allontanati. In particolare, deve essere tenuto in considerazione il ruolo sul metabolismo cellulare di alcuni gas (ossigeno, CO2, etilene nel suo ruolo ormonale); la dipendenza dell'efficienza del trasferimento di questi gas dal volume della coltura richiede la messa a punto di sistemi di controllo della composizione della fase gassosa. Anche la concentrazione dei nutrienti e degli elicitori in soluzione richiede di essere controllata, facendo propendere per una coltura condotta in fed-batch. Infine, il prodotto deve essere rimosso e la migliore efficienza si ottiene realizzando questa rimozione in situ.

Riferimenti bibliografici

- Net inhelit biolografici

 Commun K., Mauro M.C., Chupeau Y., Boulay M., Burrus M., Jeanet P.: Phytoalexin production in grapevine protoplasts during isolation and culture. Plant Physiology and Biochemistry, 2003. 41, 317-323.

 Decendit A., Waffo-Teguo P., Richard T., Krisa S., Vercauteren J., Monti J. P., Deffieux G., Mérillon J. M.: Galloylated catechins and stilbene diglucosides in Vitis vinifera cell suspension cultures. Phytochem. 2002. 60: 795-798.
- Pasqua G., Monacelli B., Valletta A.: Cellular localisation of the anti-cancer drug campothecin in Camptotheca acuminata Decne (Nyssaceae). Eur. J. Histochem.
- Roberts S. C., Shuler M. L.: Large-scale plant cell culture. Curr. Op. Biotech.1997. 8: 154-159.

- Rosengren R. J.: Catechins and the treatment of breast cancer: possible utility and mechanicistic targets. Drugs 2003. 6: 1073-1078.
 Savouret J. F., Quesne M.: Resveratrol and cancer: a review. Biomed. Pharmacother. 2002. 56: 84-87.
 Tassoni A., Fornale S., Franceschetti M., Musiani F., Michael A. J., Perry B., Bagni N.: Jasmonates and Na-orthovanadate promote resveratrol production in Vitis vinifera cv. Barbera cell cultures. 2005. New Phytologist 166: 895-905.

2.6 Sintesi del programma di ricerca e descrizione dei compiti dei singoli partecipanti

Lo scopo della ricerca proposta è sviluppare strategie biotecnologiche innovative per ottenere da colture cellulari e da protoplasti di Vitis vinifera, una produzione su larga scala di molecole bioattive: resveratrolo e derivati glicosilati, catechine e derivati gallati (nel seguito indicati come molecole target, MT).

Le colture cellulari in sospensione ed i protoplasti di Vitis vinifera possono offrire diversi vantaggi rispetto alla pianta; infatti, le prime consistono di una popolazione cellulare uniforme, che può produrre metaboliti in continuum, indipendentemente dal clima, dalla stagione e dal grado di sviluppo della pianta. I secondi, i protoplasti, cellule private della parete mediante degradazione enzimatica, rappresentano un sistema in vitro facilmente condizionabile è sensibile ai trattamenti esterni. Inoltre possono essere facilmente ed in grande quantità recuperati dalle foglie, che rappresentano l'organo di scarto del processo vitivinicolo. Tanto le colture cellulari in sospensione di Vitis vinifera quanto le colture di protoplasti possono essere opportunamente stimolate ad iperprodurre le MT mediante l'ottimizzazione del sistema di coltura e l'utilizzo di elicitori. E' inoltre possibile incrementare la produzione di un composto o di più prodotti contemporaneamente, eventualmente ricorrendo a reazioni di biotrasformazione di precursori a basso costo, aggiunti alle colture.

Il gruppo di ricerca proponente ha già allestito ed ottimizzato colture cellulari in continuum di diverse cultivar di Vitis vinifera (Alphonse Lavallée, Italia, Malvasia, Sauvignon Blanc, Cabernet Sauvignon, Cesanese d'Affile) ottenute da espianti prelevati da piante coltivate nei campi dell'Istituto Sperimentale per l'Enologia di Velletri (MIPAF). Per queste cultivar è stata ottimizzata la produzione di biomassa cellulare, variando la composizione dei mezzi di coltura e dei regolatori di crescita. Linee cellulari selezionate, con un ciclo di crescita di 15-20 giorni, sono attualmente propagate in coltura liquida (temperatura 26°C, agitazione 100 rpm, luce continua). Le linee cellulari ottenute hanno mostrato un alto grado di variabilità nella produzione delle molecole target, dipendente dalle diverse cultivar saggiate. Uno studio preliminare (dati non pubblicati) ha evidenziato che la stimolazione con il metilgiasmonato ha indotto, in alcune linee cellulari di specifiche cultivar, una maggiore produzione di resveratrolo rispetto ai controlli, con livelli che variano da 0.2 a 0.4 mg per g di peso secco di cellule. Parallelamente, in seno al medesimo gruppo di ricerca sono stati ottenuti risultati preliminari (non ancora pubblicati) riguardanti promettenti condizioni per lo sviluppo di un processo di produzione del t-resveratrolo da protoplasti ottenuti da foglie di Vitis vinifera cv. Pinot Noir (Scuola Enologica e CIRVE di Conegliano, TV), individuando un processo di produzione di una sospensione ad alta densità in protoplasti vitali (comprende condizionamento, frammentazione non distruttiva, infiltrazione sotto vuoto e idrolisi) ed ha preliminarmente valutato la capacità di tali condizioni di assicurare una resa in resveratrolo superiore a quelle riportate in letteratura (concentrazione di t-resveratrolo di 106 microg/g di materiale fogliare sospeso; miglior risultato: 180 microg/g).

Nell'ambito del progetto si intende utilizzare colture cellulari e protoplasti ottenuti da diverse cultivar di Vitis vinifera. Le cultivar Alphonse Lavallée, Italia, Malvasia, Sauvignon Blanc, Cabernet Sauvignon, Cesanese d'Affile, Pinot Noir e Raboso Piave, prevalentemente a bacca rossa, producono sia uve da tavola sia uve destinate alla vinificazione e sono state selezionate perchè di interesse nazionale ed internazionale.

Gli obiettivi della presente proposta di ricerca si possono riassumere nei seguenti punti:

- 1. Ottimizzazione della produzione di biomassa cellulare in colture in sospensione, che sarà raggiunta variando opportunamente mezzi di coltura e regolatori di crescita a partire da espianti fogliari e caulinari delle diverse cultivar.

 2. Ottimizzazione in batch (scala di laboratorio) della produzione dei metaboliti secondari target mediante elicitori (metilgiasmonato, chitosano, acido salicilico),
- usati singolarmente o in combinazione;
- 3. Scale-up in bioreattore del processo di produzione dei metaboliti target delle colture più produttive;
- 4. Produzione di molecole target, o di precursori, da protoplasti, ottenuti mediante idrolisi enzimatica della parete, da materiale di scarto (foglie) della filiera vitivinicola mediante il contributo di azioni di pre- e post-elicitazione con mezzi fisici, chimici, biotici e combinati.
- 5. Ottimizzazione delle procedure estrattive per il recupero delle molecole target

La prima fase della ricerca consisterà nell'individuare le condizioni sperimentali ottimali alla crescita di biomassa cellulare di tutte le otto cv. di Vitis vinifera prese in considerazione nel progetto.

La seconda fase della ricerca si propone di individuare le modalità ottimali di produzione di MT da sospensioni di cellule effettuando una esplorazione, mediante sperimentazione fattoriale, sulle otto cultivar e sulle modalità di elicitazione prese in considerazione dal progetto. I risultati di questa sperimentazione, congiuntamente a quelli ottenuti nella attività precedente, consentiranno di selezionare la cv più prometiente, in termini di risultati quali-quantitativi rispetto alle MT: su quest'ultima si svilupperà il passaggio di scala della coltura in fermentatore descritto al prossimo punto.

Durante questa fase verrà anche valutata l'efficacia per il miglioramento della produttività determinata dall'aggiunta di precursori delle MT al terreno di coltura. A questo scopo verranno utilizzati fenilalanina, acido 4-idrossicumarico ed acido gallico (come precursore delle catechine gallate).

Nella terza fase della ricerca si effettuerà il passaggio di scala della coltura cellulare più stabile e produttiva in MT aumentandone il volume utile sino a 1.5 L in fermentatore. Lo scale-up del processo dal livello di laboratorio a quello pre-industriale sarà condotto considerando le interazioni tra le problematiche biochimiche (metabolismo cellulare) ed ingegneristiche (controllo delle condizioni ambientali di coltura).

I principali punti che verranno presi in considerazione per l'indagine sono: l'aerazione (portata e composizione della fase aeriforme), la velocità e le modalità di aĝitazione (tipologia di impulsore), l'età e la concentrazione della biomassa vegetale.

Considerato che l'inoculo deve costituire una proporzione significativa del volume della coltura, si intende effettuare la coltivazione in modalità fed-batch, per consentire l'avvio con un inoculo di volume limitato e mantenere in soluzione una concentrazione ottimale dei nutrienti. Quando il fermentatore sarà colmo, si provvederà allo scarico parziale non omogeneo della coltura e all'analisi, separatamente, della biomassa e del terreno di coltura per la valutazione della produttività in MT. Il residuo di sospensione di biomassa costituirà l'inoculo per una nuova fase di fed-batch (fed-batch ripetuto), che permetterà di valutare il mantenimento, oltre che della sterilità, della vitalità e della produttività della coltura; questa condizione di lavoro a ripetizione periodica, che verrà protratta sino a quando i risultati di produzione da essa offerti saranno giudicati interessanti, fornirà elementi di valutazione per il passaggio ad una (eventuale) coltura semi-continua mediante filtrazione in situ semi-continua, da realizzarsi successivamente alla conclusione di questo progetto di ricerca.

La quarta fase della ricerca consisterà nel valutare se il recupero e trattamento della foglia della vite, l'unica frazione del processo vitivinicolo ad oggi scartata, sia promettente per ottenerne MT. Questa ricerca, per la quale è necessario disporre di foglie fresche, verrà svolta grazie alla disponibilità del materiale fornito dalla

SE/CIRVE di Conegliano durante la stagione estiva. Per una continuità del progetto, durante la stagione invernale si ricorrerà a materiale vegetale cresciuto in serra (già predisposta dall'unità di ricerca).

La metodica messa a punto nel corso dell'analisi preliminare prevede, in successione, il condizionamento del materiale fogliare, la sua infiltrazione con un mezzo di idrolisi opportuno e la sua digestione; durante quest'ultima fase la parete della cellula viene degradata e questo stress induce la cellula stessa a produrre resveratrolo come risposta di difesa. Le MT vengono recuperate in parte dalla biomassa ed in parte dal mezzo di sospensione.

Il gruppo di ricerca intende indagare le possibilità di ottenere risultati economicamente interessanti da questo processo agendo nelle direzioni descritte di seguito: a) semplificazione del mezzo di digestione ed elicitazione (sostituendo il tampone MES con uno più convenzionale ed economico);

b) riduzione della concentrazione dell'enzima (studiandone ed ottimizzandone le condizioni di stabilità in relazione al pH, agli sforzi di taglio, alla presenza di interfacce austinuido):

interfacce gas-liquido);
c) ottimizzazione del funzionamento del digestore rotativo in relazione al rapporto solido/liquido, alla velocità di rotazione, al rapporto di snellezza ed alla dotazione

di frangiflutti e di specifici dispositivi di ossigenazione e di illuminazione;
d) ottimizzazione delle condizioni di elicitazione indagando l'effetto degli elicitori proposti, sia in termini di composizione, sia in termini di ottimale somministrazione (prima o durante la fase di digestione del materiale fogliare).

La quinta fase della ricerca consisterà nella valutazione dell'idoneità di tecniche di adsorbimento su resina al recupero delle MT.

A tal fine sarà necessario identificare l'adsorbente ed il solvente più adatti a realizzare l'estrazione. Lo screening dei possibili candidati verrà eseguito valutando sperimentalmente il potere adsorbente, la selettività rispetto ad eventuali composti indesiderati presenti in soluzione, l'efficacia del recupero tramite desorbimento. Una volta identificati il materiale adsorbente ed il solvente per il recupero, verranno caratterizzate le cinetiche di adsorbimento e di desorbimento, monitorando la variazione di concentrazione del TC in piccoli volumi di soluzione in cui siano presenti quantità note di adsorbente in sospensione. Successivamente le particelle contenenti l'adsorbato verranno separate dalla soluzione e sospese nel solvente per l'estrazione: il monitoraggio delle variazioni della concentrazione del TC consentirà di valutare la cinetica del desorbimento.

Qualora i risultati ottenuti risultassero premettenti, sarà realizzata una colonna di adsorbimento in scala di laboratorio.

Sarà inoltre valutato: a) il tenore in MT delle sospensioni di biomassa ottenute, determinato facendo ricorso ad analisi HPLC; b) la vitalità delle cellule e protoplasti in coltura, mediante emocitometria con colorazione; c) l'attività antiossidante complessiva dei prodotti ottenuti, valutata come acido gallico equivalente, mediante il metodo FRAP.

Programmazione temporale del lavoro

Il primo anno sarà dedicato alle indagini preliminari riguardanti entrambi i processi (cellule in sospensione, di cui ai punti 1, 2 e 3 e protoplasti, punto 4. In particolare verrà ottenuta biomassa cellulare in coltura stabilizzata da Pinot Nero e Raboso Piave; verranno valutate le migliori condizioni di produzione mediante elicitazione delle cellule in coltura già ottimizzate, verificando anche l'efficacia della disponibilità di precursori delle MT; e verranno valutate le condizioni ottimali di scale-up in fermentatore per la coltura al momento presente più produttiva, con riferimento a aerazione e agitazione. Verrà messa a punto la conduzione in batch e fed-batch, eventualmente dando luogo ad alcune ripetizioni di quest'ultimo. Per quanto riguarda la coltura di protoplasti, verranno ottimizzate le condizioni di digestione e di elicitazione e la ottimale collocazione spazio/temporale di quest'ultima nel processo.

Nel secondo anno, l'attività di ricerca si concentrerà sulla linea cellulare che presenterà la maggiore produttività in MT, e per tale coltura si darà luogo a produzioni in fed-batch ripetuto. Per quanto riguarda l'uso di protoplasti, come metodologia alternativa alla produzione delle MT, si cercherà di ottimizzare struttura e condizioni di esercizio dell'impianto.

Compiti dei partecipanti alla ricerca

Prof. Marco Bravi: Il proponente sarà responsabile dell'intera organizzazione del lavoro e, in aggiunta, si occuperà personalmente: della progettazione dell'impianto sperimentale di digestione della materia vegetale per la produzione ed elicitazione dei protoplasti; della progettazione delle modifiche da apportare al fermentatore di cui il laboratorio sotto la sua responsabilità è dotato; della messa a punto della strumentazione per le prove in fermentatore e dell'interfacciamento del fermentatore stesso con un sistema software di suo sviluppo per il controllo ed il monitoraggio remoto. Inoltre metterà a punto personalmente i modelli matematici fenomenologici relativi alla digestione del materiale foliare e della crescita della biomassa sospesa/produzione dei metaboliti.

Prof.ssa Gabriella Pasqua: sarà responsabile delle prove esplorative in piccola scala su sospensioni cellulari e del trasferimento di know-how per il loro scale-up in fermentatore.

Prof. Galliano Variali: sarà responsabile delle determinazioni analitiche di routine on-site sulla base della sua grande esperienza e titolarietà trentennale del corso di Strumentazione dell'Ingegneria Chimica.

Prof. Barbara Mazzarotta: sarà responsabile dell'analisi dimensionale delle apparecchiature di digestione e delle valutazioni di costo dei processi messi a punto.

Prof. Raffaele Ilio De Dominicis: sarà responsabile delle determinazioni attinenti la vitalità cellulare per microscopia e colorazione.

Dott. Giovanni Bianchi: sarà responsabile della preparazione del materiale espianti (elicitazione e precursori).

Dott.ssa Nadia Mulinacci: sarà responsabile delle determinazioni analitiche di riferimento ed a largo spettro.

Dott. Alessio D'Urso (Dottorando di Ricerca): sarà responsabile della conduzione delle prove sperimentali nei bioreattori in scala pilota,

Dott.ssa Anna Rita Santamaria: sarà responsabile della conduzione delle prove esplorative in scala di laboratorio.

Dott. Fulvio Fiorillo: sarà responsabile della conduzione delle attività di estrazione dei metaboliti e delle analisi chimiche relative alle prove in scala di laboratorio.

3. Elenco delle migliori pubblicazioni negli ultimi 5 anni

A) Pubblicazioni su riviste scientifiche

- 1. BRAVI M.; SPINOGLIO F.; VERDONE N.; ADAMI M.; ALIBONI A.; D'ANDREA A.; DE SANTIS A.; FERRI; D. (?). Improving the Extraction of alpha -Tocopherol-Enriched Oil from Grape Seeds by Supercritical CO2. Optimisation of the Extraction Conditions. JOURNAL OF FOOD ENGINEERING ISSN: 0260-8774 In press
- 2. BRAVI M., DI CAVE S., MAZZAROTTA B., VERDONE N. (2003). Relating the attrition behaviour of crystals in a stirred vessel to their mechanical properties. CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL. vol. 94, pp. 223-229 ISSN: 1385-8947.
- 3. BONADONNA G.; BRAVI M.; CHIANESE A.; BACKX T.; VAN BREMPT W. (2005). Inferential control of a dextrose column crystallizer based on an Extended Kalman Filter
 VDI-BERICHTE pp. 1063-1068 ISSN: 0083-5560
- 4. M. STOLLER; BRAVI M.; A. CHIANESE (2005). The Effect of Scaling on the Performances of a DTB Crystallizer by means of a Compartmental Simulation Model
 CHEMICAL ENGINEERING RESEARCH & DESIGN vol. 83 (A2) pp. 126-132 ISSN: 0263-8762

- BRAVI M.; CHIANESE A. (2003). Neuro-Fuzzy Control of a Continuous Cooled MSMPR Crystallizer CHEMICAL ENGINEERING & TECHNOLOGY vol. 26 (3) pp. 262-266 ISSN: 0930-7516 1002212
- 6. BRAVI M.; BUBBICO R.; MANNA F.; VERDONE N. (2002). Process Optimisation in Sunflower Oil Extraction by Supercritical CO2 CHEMICAL ENGINEERING SCIENCE vol. 57 pp. 2753-2764 ISSN: 0009-2509
- 7. ANTONUCCI S.; BRAVI M.; BUBBICO R.; DI MICHELE A.; VERDONE N. (2001). Selectivity in Citric Acid Production by Y. Lipolytica ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY vol. 28 2-3 pp. 189-205 ISSN: 0141-0229 1000846 (DB)
- 8. PASQUA G., SILVESTRINI A., MONACELLI B., MULINACCI N., MENENDEZ P., BOTTA B. (2006). Triterpenoids and ellagic acid derivatives from in vitro cultures of Camptotheca acuminata Decaisne. PLANT PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY. ISSN: 0981-9428. (IN STAMPA).
- 9. BARBARA MONACELLI, ALESSIO VALLETTA, NICOLETTA RASCIO, ISABELLA MORO, PASQUA G. (2005). Laticifers in Camptotheca acuminata Decne: Distribution and Structure. PROTOPLASMA. vol. 226 (3-4), pp. 155-161 ISSN: 0033-183X.
- 10. FRANCO FERRARI, PASQUA G., BARBARA MONACELLI, PAOLA CIMINO, BRUNO BOTTA. (2005). Xanthones from calli of Hypericum perforatum subsp. perforatum. NATURAL PRODUCT RESEARCH. vol. 19, pp. 171-176 ISSN: 1478-6419.
- 11. PASQUA G., B MONACELLI, F FIORILLO, AR SANTAMARIA, A VALLETTA. (2005). biosintesi ed accumulo di metaboliti secondari in planta e in sistemi in vitro. INFORMATORE BOTANICO ITALIANO. vol. 37, pp. 664-665 ISSN: 0020-0697.
- 12. PASQUA G., MONACELLI B., MULINACCI N., RINALDI S, GIACCHERINI C., INNOCENTI M, VINCERI F.F. (2005). The effect of growth regulators and sucrose on anthocyanin production in Camptotheca acuminata cell cultures. PLANT PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY. vol. 43, pp. 293-298 ISSN: 0981-9428
- 13. PASQUA G., MONACELLI B., VALLETTA A., SANTAMARIA A.R., FIORILLO F. (2005). Synthesis and or accumulation of bioactive molecules in the in vivo and in vitro root. PLANT BIOSYSTEMS. vol. 139 (2), pp. 180-188 ISSN: 1126-3504.
- 14. PASQUA G., MONACELLI B., VALLETTA A. (2004). Cellular localisation of the anti-cancer drug campothecin in Camptotheca acuminata Decne (Nyssaceae). EUROPEAN JOURNAL OF HISTOCHEMISTRY. vol. 48, pp. 321-328 ISSN: 1121-760X.
- 15. PALOCCI C., SORO S., CERNIA E., FIORILLO F., BELSITO C., MONACELLI B., DELLE MONACHE G., PASQUA G. (2003). Lipolytic isoenzymes from Euphorbia latex. PLANT SCIENCE. vol. 165, pp. 577-582 ISSN: 0168-9452.
- 16. PASQUA G., MONACELLI B., SILVESTRINI A. (2003). Accumulation of essential oils in relation to root differentiation in Angelica archangelica L. EUROPEAN JOURNAL OF HISTOCHEMISTRY. vol. 47, pp. 87-90 ISSN: 1121-760X.
- 17. MONACELLI, PASQUA G., BOTTA B., VINCIGUERRA V., DELLE MONACHE. (2002). Abietane diterpenoids from callus cultures of Taxus baccata. PLANTA MEDICA. vol. 68, pp. 764-766 ISSN: 0032-0943.
- 18. PASQUA G., MANES F., MONACELLI B., NATALE L., ANSELMI S. (2002). Effects of the culture medium pH and ion uptake in in vitro vegetative organogenesis in thin cell layers of tobacco. PLANT SCIENCE. vol. 162, pp. 947-955 ISSN: 0168-9452.
- 19. PASQUA G., MONACELLI B., MANFREDINI C., LORETO F., PEREZ G. (2002). The role of isoprenoid accumulation and oxidation in sealing wounded needles of mediterranean pines. PLANT SCIENCE. vol. 163, pp. 355-359 ISSN: 0168-9452.
- SILVESTRINI A., PASQUA G., BOTTA B., MONACELLI B., VAN DER HEIJDEN R., VERPORTE R. (2002). Effects of alkaloid precursor feeding on a Camptotheca acuminata cell line. PLANT PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY. vol. 40(9), pp. 749-753 ISSN: 0981-9428.
- GIAGNACOVO G., PASQUA G., MONACELLI B., VAN DER ESCH S. A., MACCIONI O., VITALI F. (2001). Plant regeneration from callus cultures of Azadiracta excelsa (Jack) via organogenesis and embryogenesis. PLANT BIOSYSTEMS. vol. 135, pp. 13-18 ISSN: 1126-3504.
- PASQUA G., MONACELLI B., CUTERI A., MANES F., LORETO F. (2001). Histochemical study of secretory structures in Quercus L. and other isoprenoid-emitting plant species. PLANT BIOSYSTEMS. vol. 135, pp. 19-24 ISSN: 1126-3504.
- PASQUA G., MONACELLI B., SILVESTRINI A., MANGANARO R. (2001). In vitro root differentiation and essential-oil accumulation in Angelica archangelica. IN VITRO CELLULAR & DEVELOPMENTAL BIOLOGY-PLANT. vol. 37, pp. 763-766 ISSN: 1054-5476.
- 24. BIANCHI G., PEPE D'AMATO E., BIANCHI G. (2001). Didattica della Biodiversità. Le Famiglie della Flora d'Italia. INFORMATORE BOTANICO ITALIANO. ISSN: 0020-0697
- 25. WINFIELD M.O., D'AMATO G.F., DE DOMINICIS R., SALIMBENI P., TUCCI G.F. (2006). A cytological and molecular study of the genera Scorzonera L. and Podospermum (L.) DC (Asteraceae). CARYOLOGIA. ISSN: 0008-7114. In press.
- 26. TUCCI G.F., M.O.WINFIELD, G.F. D'AMATO, C. GREGORI, B. TROMBETTA, DE DOMINICIS R. (2004). Genetic diversity in Narcissus poeticus L. and N. radiiflorus Salisb. (Amaryllidaceae) in two different populations: AFLP and karyological studies. CARYOLOGIA. vol. 57, pp. 405-411 ISSN: 0008-7114.
- 27. DE DOMINICIS R., D'AMATO G.F., TUCCI G.F. (2002). On the hybrid origin of Narcissus biflorus (Amaryllidaceae): analysis of C-banding and rDNA structure. CARYOLOGIA. vol. 55,2, pp. 129-134 ISSN: 0008-7114.
- 28. G.BOCCARDI, R.BUBBICO, G.P.CELATA, MAZZAROTTA B. (2005). Two-phase flow through safety valves. Experimental investigation and model prediction. CHEMICAL ENGINEERING SCIENCE. vol. 60, pp. 5284-5293 ISSN: 0009-2509.
- 29. LIUZZO G.; VERDONE N.; BRAVI M. (?). The recirculation of Fumes in the Incinerator Combustion Chamber Facilitates Compliance with Limits on Emissions WASTE MANAGEMENT In press

B) Pubblicazioni di volumi o saggi in volume

- 1. PASQUA G., P AVATO, N MULINACCI. (2006). High-Value metabolites from Hypericum perforatum: a comparison between the plant and in vitro systems. In JAIME A. TEIXEIRA DA SILVA. global science books. (vol. 1).: (JAPAN).
- 2. PALOCCI C., FIORILLO F., BELSITO C., CERNIA E., PASQUA G. (2005). Plant latex lipases: physiological role and applications. In VARI. Recent Research Developments Biochemistry. (vol. 6, pp. 87-99). ISBN: 81-7736-297-6. TRIVANDRUM: Research Signpost (INDIA).
- 3. LORETO F., GRAVERINI A., NASCETTI P., BRANCALEONI E., PASQUA G., MONACELLI B., MANES F. (2002). Analysis of metabolic control of emission and biosynthetic pathways of formation of isoprenoids in plants with or without isoprenoid reservoirs. In SEUFERT G., STEINBRECHER. EU Pubblication series.
- 4. BRAVI M., MAZZAROTTA B., VERDONE N. (2002). Influence of seeding modalities and vessel geometry on the CSD of citric acid from batch crystallization. In CHIANESE. Chemical Engineering Transactions. (vol. 1, pp. 1215-1220). Proceedings 15th Int. Symposium on Industrial Crystallization. MILANO: AIDIC (ITALY).
- 5. MARCHI P., PEPE D'AMATO E., BIANCHI G. (2003). Famiglie di piante vascolari italiane:31-60. (pp. 1-89). ISBN: 88-87242-30-5. ROMA: Università di Roma.
- 6. MARCHI P., PEPE D'AMATO E., BIANCHI G. (2002). Famiglie di piante vascolari italiane: 1-30. (pp. 121). ISBN: 88-87242-20-8. ROMA: Centro Stampa di Ateneo (ITALY).
- 7. BUBBICO R., MAZZAROTTA B. (2004). Studio dell'efflusso bifase attraverso valvole di sicurezza. In GRICU. Nuove frontiere di applicazione delle metodologie dell'ingegneria chimica. (vol. 1, pp. 525-528). Convegno GRICU 2004. PORTO D'ISCHIA: (ITALY).
- 8. MARCHI P., PEPE D'AMATO E., BIANCHI G. (2006). Famiglie di piante vascolari italiane: 61-90. in stampa. ROMA: Ed. Univ. La Sapienza (ITALY).

C) Pubblicazioni su atti di convegni e congressi

- 1. BRAVI M.; DE FAVERI D. M.; LAMBRI; M.; SILVA; A.; VERDONE; N. (2005). Improving Red Winemaking through Process Modelling Chemical Engineering Transactions vol. 6 pp. 929-934 (2)
- 2. LE BOLAY N., PERUZZI M., MAZZAROTTA B. (2002). Kinetic study of poly(vynyl acetate) calcium carbonate co-grinding in a ball mill. Word Congress on Particle Technology. 21-25.7.2002. (pp. 269/1-269/8). ISBN 085-825-7947.
- 3. BRAVI M.; VERDONE N.; ADAMI M.; ALIBONI A.; D'ANDREA A.; DE SANTIS A.; FERRI D.; SPINOGLIO F. (2004). Extraction of oil enriched in alpha-tocopherol from grape seed (Vitis Vinifera) using Supercritical Carbon Dioxide
 7th Conference on Supercritical Fluids and Their Applications, Trieste, Italy. (13-16/6/2004) (2)
- 4. BRAVI M.; VERDONE N.; DI BIASE G.; BUBBICO R. (2003). Product Quality Modeling in Sunflower Oil Extraction by Supercritical CO2 IChEaP 6 (June 9-11, 2003)
- 5. N MULINACCI, A R SANTAMARIA, C GIACCHERINI, M INNOCENTI, M BIZZARRI, PASQUA G. (2006). Vitis vinifera cv Cesanese del Piglio: anthocyanins, stilbenes, and monomeric flavan 3-ols from grape and wine by HPLC/DAD/MS analysis. First Maga Circe Conference on Metabolic Systems Analysis.
- 6. PASQUA G., A VALLETTA, N MULINACCI, B BOTTA. (2006). Secondary metabolites in planta and in in vitro cultures of Camptotheca acuminata Decaisne. First Maga Circe Conference on Metabolic Systems Analysis.
- 7. A R SANTAMARIA, N MULINACCI, C GIACCHERINI, R CANIATO, B MONACELLI, PASQUA G. (2005). Hypericins and anthicyanis by in vitro cultures of Hypericum perforatum angustifolium. Summer School in Plant Development.
- 8. F FIORILLO, B MARAS, C PALOCCI, S SORO, PASQUA G. (2005). Latex lipases from Euphorbia characias and E. wulfenii: characterisation and biotechnological applications. Summer School in Plant Development.
- 9. N MULINACCI, GIACCHERINI C, CANIATO R, MONACELLI B, PASQUA G. (2005). Hypericum perforatum subsp. angustifolium: morphological, histological and phytochemical study in in vitro vegetative organogenesis. 53° Congresso della Società Italiana di Fitochimica.
- 10. PASQUA G., B MONACELLI, F FIORILLO, A R SANTAMARIA, A VALLETTA. (2005). Biosintesi e accumulo di metaboliti secondari in planta e in sistemi in vitro. 100° Congresso SBI.
- 11. A. VALLETTA, MONACELLI B., F. FERRARI, N. RASCIO, PASQUA G. (2004). Alcaloidi, fenoli e terpeni in Camptotheca acuminata Decne e loro localizzazione cellulare. S:B:I:. Torino.
- 12. FIORILLO F., MARAS B., PALOCCI C., SORO S., BELSITO C., MONACELLI B., PASQUA G. (2004). Lectine ad attività lipolitica in Euphorbia characias. Convegno Biologia Cellulare e molecolare. (Belgirate Varese).
- 13. VALLETTA A., MONACELLI B., LA ROCCA N., RASCIO N., PASQUA G. (2004). Laticiferi in Camptotheca acuminata Decne: distribuzione e struttura. Convegno Biologia Cellulare e molecolare. (Belgirate Varese).
- 14. FIORILLO F, PALOCCI C, SORO S, BELSITO C, MONACELLI B, PASQUA G. (2003). Isoenzimi lipolitici nel latice di alcune specie del genere Euphorbia. Convegno Biologia Cellulare e Molecolare (Falerna Catanzaro).
- 15. VALLETTA A, MONACELLI B, PASQUA G. (2003). Metaboliti secondari ad attività antitumorale in Camptotheca acuminata Decne, e loro localizzazione cellulare. Convegno Biologia Cellulare e Molecolare (Falerna Catanzaro).
- 16. AVATO P., ARGENTIERI M.P., PASQUA G., MONACELLI B. FERRARI F. (2002). Chemical analysis of extracts from cell cultures of Hypericum perforatum. 11° Congresso Nazionale Società Italiana di Fitochimica (RIOLO TERME).
- 17. FERRARI F., PASQUA G., MONACELLI B., BOTTA B. (2002). XANTHONES FROM CALLI OF HYPERICUM PERFORATUM SUBSP. PERFORATUM. 23RD INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE CHEMISTRY OF NATURAL PRODUCTS.
- 18. PASQUA G., MONACELLI B., VALLETTA A. (2002). CANALI SECRETORI IN CAMPTOTHECA ACUMINATA (NYSSACEAE). Convegno di Biologia Cellulare e Molecolare di Verona.
- 19. PASQUA G., MONACELLI B, FERRARI F, MARES D, SANTAMARIA A.R, ARGENTIERI M, AVATO P. (2002). PRODUZIONE DI METABOLITI SECONDARI DA COLTURE IN VITRO DI HYPERICUM PERFORATUM. 97° congresso della Società Botanica Italiana (Lecce).
- 20. FIORILLO F., PALOCCI C., SORO S., CERNIA E., MONACELLI B., PASQUA G. (2001). Caratterizzazione di enzimi lipolitici nel latice di alcune specie di Euphorbia. Convegno Biologia Cellulare e Molecolare (Roma).
- 21. MONACELLI B., LORETO F., MANFREDINI C., MANES F., PASQUA G. (2001). Accumulo ed emissione di isoprenoidi in foglie intatte e ferite di Pinus pinea. Convegno Biologia Cellulare e Molecolare (Roma).
- 22. PASQUA G., PASQUA G., RINALDI S., INNOCENTI M., GIACCHIRINI C., MULINACCI M., VINCIERI F. (2001). PRODUZIONE DI ANTOCIANI IN COLTURE CELLULARI DI CAMPTOTHECA ACUMINATA.
- 23. PEPE D'AMATO E., BIANCHI G. (2003). Figure di piante nei codici di Federico Cesi. Federico Cesi: un principe naturalista. Acquasparta. Accademia dei Lincei. in stampa.
- 24. G.F.TUCCI, M.O.WINFIELD, DE DOMINICIS R., P. SALIMBENI, G. D'AMATO. (2005). A study of the taxa Scorzonera L. and Podospermum D.C. (Asteraceae) in Italy using cytogenetical and molecular tools (sequencing of ribosomal ITS and ETS regions). XVII International Botanical Congress Wien Austria Abstracts. 17 23 July 2005. (pp. 457).
- 25. TUCCI G.F., WINFIELD M.O., D'AMATO G.F., GREGORI C., TROMBETTA B., DE DOMINICIS R. (2003). Diversità genetica in differenti popolazioni di Narcissus poeticus L. e N. radiiflorus Salisb. valutata con la tecnica degli AFPL. 98° Congresso SBI.
- 26. TUCCI G.F., WINFIELD M.O., D'AMATO G.F., GREGORI C., TROMBETTA B., DE DOMINICIS R. (2002). Indagini su popolazioni ed ibridi italiani del genere Narcissus L. (Amaryllidaceae) mediante AFPL. 97° CongressoSBI.
- 27. BOCCARDI G., BUBBICO R., CELATA G.P., CUMO M., DI TOSTO F., MAZZAROTTA B. (2004). Two phase pressure drop influence on pressure safety valve performance. 9-th International Conference Multiphase Flow in Industrial Plants. 20-21.9.2004. (pp. S5/P6/1-S5/P6/12).
- 28. BUBBICO R., MAZZAROTTA B., VERDONE N. (2002). Minimum suspension velocity for concentrated suspensions of large particles in aqueous solutions. 8-th Int. Conference on Multiphase Flow. 18-20/9/2002. (pp. 392-408).
- 29. BUBBICO R., MAZZAROTTA B., VERDONE N. (2002). Minimum suspension velocity for concentrated suspensions of large particles in aqueous solutions. 8-th International Conference Multiphase Flow in Industrial Plants. 18-20.9.2002. (pp. 392-408).
- 30. BRAVI M.; FARAGLIA A. R.; VERDONE N. (2004). Simultaneous Biochemical and Extractive Modelling of Macerative Winemaking Convegno GRICU 2004, Ischia (NA). (12-15 settembre 2004) (2)

D) Altro (pubblicazioni non previste nei punti precedenti)

4. Richiesta di finanziamento del progetto

Note (specificare in dettaglio le spese)

4.1 A) Totale spese per l'acquisto di apparecchiature scientifiche

€ Microscopio a fluorescenza (3000) 8.000 pompa per evaporatore KMF (1800) Bilancia analitica (3200)

4.2 B) Spese generali per la ricerca

€ mezzi di coltura, reagenti, solventi, colonne e precolonne HPLC, standard puri, costi di manutenzione 15.500 strumenti (HPLC, Spettrofotometro, microscopio, gascromatografo)

 \hat{A} \hat{A}

TOTALE A+B 28.000

4.3 C) Collaborazioni di ricerca (l'importo fisso Ã" di 1.550 â,¬ lorde al mese, per un max di 12 mesi)

€ Contratto A: "Messa a punto ed adattamento all'utilizzo in fed-batch del fermentatore
12.400 Braun Biotech Biostat in possesso dell'unità di ricerca"
Contratto B: "Ottimizzazione del sistema di coltura ed il mantenimento delle diverse linee cellulari"
SI PREGA DI MANTENERE LA DUPLICITA' DELLE DESTINAZIONI DELLE VOCI
CONTRATTUALI IN QUANTO SI TRATTA DI ATTIVITA' CHE RICHIEDONO
COMPETENZE DIFFERENT!!

4.4 Ultimi tre anni di finanziamenti ottenuti sulla quota 60% di Ateneo

2002: Nessun finanziamento

2003: Nessun finanziamento

	Anno	Fondo assegnato	Fondo non ancora utilizzato
4.4.3	2004	Voce AÂ Â 4.000	Voce AÂ Â 355
Â		Voce BÂ Â 5.000	Voce BÂ Â 267
Â		Voce CÂ Â 9.300	Voce CÂ Â 9.300

Il collaboratore esterno è attualmente in fase di selezione.

4.5 Consuntivo scientifico per l'ultimo anno di finanziamento ottenuto (risultati e pubblicazioni relative)

La ricerca svolta nell'ambito del programma "Controllo in linea dei processi alimentari mediante strumenti di analisi sensoriale artificiale" si è sinora incentrata sull'utilizzo del naso elettronico in un importante settori dell'industria alimentare: quello enologico. Essa aveva lo scopo di accertare come le caratteristiche dei nasi elettronici (i quali non forniscono come risposta un'analisi elementare del campione ma, piuttosto, una informazione di come i composti presenti nel campione concorrono a formare una "impronta aromatica") possano consentire la realizzazione di strumenti diagnostici intelligenti in grado di affiancare i panel di analisi sensoriale laddove le caratteristiche di questi ultimi non sono competamente adeguate e di sostituirili dove l'impiego di questi ultimi sarebbe troppo oneroso. La ricerca è stata condotta in tre fasi. Nella prima fase si intendeva caratterizzare la reazione dello strumento alle variazioni aromatiche del mosto-vino, allo scopo di identificarne l'idoneità all'uso come strumento rapido di diagnostica precoce delle derive sensoriali anomale occorrenti durante il processo di vinificazione; obiettivo di questa indagine era stabilire se il naso elettronico potesse consentire di valutare in tempo reale la necessità di interventi di correzione sul prodotto. Nella seconda fase si mirava a caratterizzare la risposta dello strumento alle variazioni di profilo aromatico occorrenti tra vini appartenenti alla stessa DOC; obiettivo di questa indagine era valutare se il naso elettronico potesse svolgere un ruolo nelle procedure di valutazione che accompagnano l'assegnazione della DOC e fornire un riferimento strumentale invariante alle indagini richieste dalla risoluzione di contenziosi.

Nella terza fase, si mirava a caratterizzare la variazione dell'impronta sensoriale percepita dallo strumento per vini caratterizzati dalla stesso profilo di composizione in componenti aromatici ma a differente intensità degli stessi; obiettivo di quest'ultima fase dell'indagine era indagare la stabilità della risposta dello strumento sensoriale artificiale in relazione alla tipologia dell'impronta e la capacità di evidenziarne la sola differenza di intensità.

I risultati della prima fase della ricerca hanno mostrato che il naso elettronico è agevolmente in grado di percepire l'evoluzione del mosto in vino e che, se gran parte della separazione tra mosto e vino è dovuta al differente tenore di etanolo (evidenziato dall'analisi delle componenti principali) essa può essere riferita anche alla differente acidità volatile e, in particolare, al grado di avanzamento della fermentazione malolattica.

I risultati della seconda fase della ricerca hanno mostrato che il naso elettronico è in grado di evidenziare la differenza tra vini della medesima cultivar e le derive sensoriali che questi vini subiscono a seguito dell'apertura; questi risultati, ottenuti su vino DOC "Verdicchio dei Castelli di Jesi", sono stati confermati anche su vini sintetici.

Nella terza fase della ricerca si è valutata la capacità del naso elettronico di evidenziare la diluizione di composizione di tutte le componenti del vino con l'esclusione di quella alcoolica. Anche in questo caso la risposta è stata positiva; il naso elettronico ha mostrato di riconoscere le differenze tra vini tal quali (dil. 100:0), vini diluiti in rapporto 80:20 e vini diluiti in rapporto 50:50. Per tutti i campioni di vino esaminati i risultati (analizzati mediante PCA) mostrano una curiosa fenomenologia: ossia che il naso elettronico percepisce una impronta aromatica globalmente più prossima tra i vini non diluiti e quelli diluiti in rapporto 50:50 piuttosto che quelli a diluizione intermedia 80:20 e quelli non diluiti o diluiti in rapporto 50:50. I risultati della ricerca sono attualmente in corso di analisi al fine di essere pubblicati.

La ricerca è attualmente in corso per la parte concernente l'analisi dell'immagine. E' stata messa a punto una piccola stazione sperimentale per la diagnostica per immagini dei prodotti alimentari con la possibilità di estenderne l'utilizzo anche ad altri settori, come ad esempio quello biotecnologico e quello del particle processing. À seguito della realizzazione della stazione è stato identificato (in ImageJ) il software ottimale per questo utilizzo in questo diversificato insieme di campi di utilizzo, una scelta che coniuga le prestazioni elevate e la funzionalità con l'economia determinata dall'essere Open Source.

Questa stazione è stata sinora utilizzata per la caratterizzazione della distribuzione dimensionale della pasta alimentare (rigatoni e fusilli) al fine di identificare un modello predittivo delle piastre di componsazione da utilizzare nelle trafile di estrusione. La stazione è in procinto di essere utilizzata per la identificazione delle cinetiche di degradazione di biomassa vegetale utilizzata per l'isolamento di protoplasti destinati alla produzione di fitoalessine con impiego previsto come additivi nutraceutici (destinati all'industria alimentare) e composti farmaceutici ad attività antitumorale (per l'industria farmaceutica).

A questa seconda parte della messa a punto della stazione sperimentale verrà destinata l'attività prevista del contrattista finanziato nell'ambito della ricerca e non ancora utilizzato.

<u>5.</u>

<u>. Parere del</u>	Dipartimento/Istituto	/Centro di appa	<u>artenenza de</u>	<u>l responsabile</u>	
ontestualmente O	e alla domanda di Ateneo, il	proponente sta pres	sentando anche o	domanda di Facoltà ʻ	? Â
Â	$\hat{A}~\hat{A}~\hat{A}~\hat{A}~\hat{A}~\hat{A}~$ Data delibera: 07/06/.	2006 Â Â Â Â Â Â Â Â Â Â	$\hat{A}\hat{A}\hat{A}\hat{A}\hat{A}\hat{A}$ Parere:	POSITIVO	
Firma					Data 09/06/2006 14:00