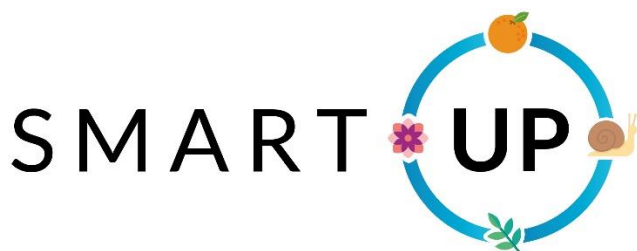


MANUALE DI INNOVAZIONE



UNIONE EUROPEA

FONDO EUROPEO AGRICOLO
PER LO SVILUPPO RURALE:
L'EUROPA INVESTE NELLE ZONE RURALI



MINISTERO DELL'AGRICOLTURA
DELLA SOVRANITÀ ALIMENTARE
E DELLE FORESTE



REPUBBLICA ITALIANA



REGIONE SICILIANA
ASSESSORATO REGIONALE
DELL'AGRICOLTURA, DELLO SVILUPPO
RURALE E DELLA PESCA MEDITERRANEA





UNIONE EUROPEA
FONDO EUROPEO AGRICOLO
PER LO SVILUPPO RURALE:
L'EUROPA INVESTE NELLE ZONE RURALI



SMART UP

Titolo del progetto: Miglioramento della competitività e Sostenibilità delle filiere Mediterranee Agroalimentari attraverso il Recupero di scarti e sottoprodotti, la Tutela della biodiversità e lo svilUppto di nuovi Prodotti (SMART-UP)

Decreto di finanziamento: 3092/2020 del 15/10/2020

PSR SICILIA 2014/2020 Sottomisura 16.1 – Bando 2018 – CUP G66D20000610009

PARTENARIATO:

Capofila: JUNGLE FARM SOCIETÀ SEMPLICE AGRICOLA

Partner- Aziende: 1) Azienda COSTANZA IGNAZIO, 2) Azienda PANEBIANCO SALVATORE MARIA, 3) AZIENDA AGRICOLA LA LUMACA MADONITA DI SANSONE GIUSEPPE, SANSONE MICHELANGELO E MERLINO DAVIDE SOCIETA' SEMPLICE, 4) MG TRADING Società a Responsabilità Limitata Semplicata

Partner – Soggetti della ricerca: DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO E DELLA SALUTE - UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA (DSFS-UNICT);

Responsabile Scientifico: Prof.ssa Valeria Sorrenti

INTRODUZIONE

OBIETTIVI DEL PROGETTO

Il progetto SMART UP ha avuto come scopo quello di migliorare la competitività e sostenibilità delle aziende agroalimentari partner del Gruppo Operativo (GO) che afferiscono a differenti filiere (agrumi, olive, fiori eduli, lumache), valorizzare gli scarti e sottoprodotti delle rispettive produzioni, implementare un'attenta politica di diversificazione dell'offerta e migliorare l'integrazione e l'interconnessione fra le rispettive filiere agroalimentari. La costituzione del GO-SMART UP ha permesso di mettere a frutto nuove sinergie tra le capacità imprenditoriali e pratiche degli agricoltori e le conoscenze sperimentali ed innovative provenienti dal mondo della ricerca, cogliendo pienamente le strategie di promozione della produttività e sostenibilità dell'agricoltura decise dal Partenariato Europeo per l'Innovazione (PEI). La realizzazione di nuovi prodotti ottenuti mediante il miglioramento della sostenibilità ambientale dei processi produttivi (sono state utilizzate a tal proposito tecniche di produzione a basso impatto ambientale con uso più efficiente di acqua, nutrienti e antiparassitari) e la produzione di soluzioni tecnologiche ed organizzative hanno contribuito a migliorare la redditività sostenibile nei processi produttivi. L'obiettivo del progetto è dunque stato quello di ridurre in modo significativo la quantità di scarti e di eccedenze produttive attraverso il loro reimpiego per l'estrazione di composti bioattivi ad alto valore aggiunto, andando nella direzione dei concetti di economia circolare applicati nelle aziende agricole. Il progetto mira alla valorizzazione degli scarti di tali produzioni che sono stati impiegati per l'ottenimento di nuove ed originali formulazioni cosmetiche e per l'ottenimento di un integratore alimentare con l'obiettivo comune di incrementare la redditività delle produzioni, diversificare l'offerta ed intercettare nuovi mercati. Per raggiungere questo obiettivo è stato necessario introdurre nelle aziende agricole innovazioni di tipo tecnologico e l'acquisizione di conoscenze tecnico-scientifiche collegate sia alla corretta gestione degli scarti e delle eccedenze produttive, sia agli aspetti di fattibilità e convenienza economica da intraprendere per la produzione di specifiche tipologie di prodotti nutraceutici a base di derivati di agrumi e foglie di ulivo e fiori eduli e bava di lumaca. Nello specifico per il raggiungimento di tali obiettivi sono state ottimizzate le condizioni di processo, è stata effettuata una corretta gestione e stoccaggio degli scarti e delle eccedenze, sono stati individuati gli scarti adatti ad essere utilizzati per le varie fasi di estrazione dei composti ad alto valore aggiunto.

INNOVAZIONI INTRODOTTE NELLE AZIENDE PARTNER

L'azienda agricola **Jungle Farm** ha partecipato al progetto con lo scopo di valorizzare lo scarto di produzione dei fiori eduli in quanto soltanto la prima scelta di ogni produzione può essere destinata all'uso culinario, dovendo rispettare rigorosi standard qualitativi e di freschezza. Attraverso l'utilizzo di **serre mobili** l'azienda ha migliorato la qualità delle produzioni poiché è stato completamente eliminato l'impiego di piretroidi. Inoltre mediante l'utilizzo dell'**impianto idroponico**, di cui si è dotata l'azienda, non si è fatto ricorso a nessun tipo di erbicida migliorando di conseguenza, sia la qualità, che la quantità delle produzioni con un notevole risparmio di fertilizzanti e di acqua, accorciando i tempi di crescita delle specie coltivate e razionalizzando gli spazi. Lo scarto derivante dalla coltivazione dei fiori eduli è stato impiegato per la produzione di estratti naturali che possono essere integrati in formulazioni per uso cosmetico.

L'azienda agricola **Costanza** ha focalizzato la sua attenzione sul materiale di scarto della potatura di foglie ed altri residui verdi di potatura che risultano essere ricchi di componenti quali l'oleuropeina, l'acido elenolico, l'idrossitirosolo, il tirosolo e la rutina, che presenti all'interno della struttura della foglia, sono in grado di esercitare un'importante azione antiossidante. Per tale motivo durante la raccolta delle olive e la successiva fase di molitura sono stati recuperati le foglie e altri residui verdi che sono stati impiegati per la formulazione di un nuovo integratore alimentare.

L'azienda agricola **Panebianco** ha puntato alla valorizzazione del principale scarto di lavorazione degli agrumi, il pastazzo (insieme di scorze, polpe e semi), ricco di zuccheri, acidi organici, pectine, ecc.; ed altre sostanze con spiccate proprietà biologiche quali antocianine, flavanoni e acidi idrossicinnamici ad elevata attività antiossidante. L'azienda si è dotata di un **prototipo** per la spremitura dei frutti in grado di fornire uno scarto di lavorazione privo di oli essenziali e quindi più adatto per le successive fasi di estrazione dei principi attivi che hanno consentito di ottenere un estratto da impiegare per la formulazione di un nuovo integratore alimentare.

L'azienda agricola **La Lumaca Madonita** ha implementato mediante l'innovazione introdotta, ovvero l'utilizzo di **reti di copertura**, la produzione di bava di lumaca di buona qualità; l'impiego di tali dispositivi da un lato

serve a non far disperdere le lumache e tenerle all'interno dell'area di allevamento, dall'altro a proteggere le lumache dai raggi ultravioletti.

La bava di lumaca di buona qualità è ottenuta da lumache della specie *Helix Aspersa Muller Madonita* in grado di fornire bava pura ricchissima di mucopolisaccaridi, allantoina, elastina ed acido glicolico. Il metodo di Estrazione utilizzato impiega il sistema Cruelty Free che mediante la macchina "EXTRACTA", senza l'utilizzo né di acqua né di agenti chimici irritanti, riduce al minimo la sofferenza degli animali, producendo una bava purissima ricca di mucopolisaccaridi e di proteine stabili a pH compreso tra 5 e 7 e quindi di facile utilizzo per l'uso cosmetico o farmaceutico.

L'azienda commerciale **MG Trading** si è dotata di un **software gestionale Retail** per la gestione del magazzino, degli ordini e delle vendite con lo scopo di supportare le aziende partner per una eventuale distribuzione commerciale delle nuove formulazioni.

Le innovazioni di prodotto e di processo conseguite hanno permesso di accrescere la competitività delle imprese siciliane coinvolte nei mercati nazionali ed esteri con la possibilità di acquisire nuove fette di mercato. In particolare si sono ottenuti come risultati:

- la valorizzazione delle sostanze bioattive estratte dagli scarti con la produzione di due nuove formulazioni, uno da destinare all'integrazione alimentare e uno in ambito cosmetico;
- la riduzione dell'impatto ambientale attraverso la trasformazione degli scarti;
- la creazione di nuovo reddito per l'impresa dall'estrazione di sostanze ad alto valore aggiunto dai materiali di scarto;
- nuovi canali di collaborazione tra aziende ed enti di ricerca.



Jungle Farm



Azienda agricola Costanza



Azienda agricola Culicchi di Salatore Parebianco



Lumaca Madonita



MG Trading

PARTE PRIMA

ATTIVITA' SVOLTA DURANTE IL I ANNO del PROGETTO SMART UP e risultati intermedi raggiunti

Il Soggetto della ricerca, DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO E DELLA SALUTE - UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA (DSFS-UNICT) rappresentato dalla prof.ssa Valeria Sorrenti, in qualità di Responsabile Scientifico e dal Prof. Luca Vanella, in qualità di componente, nella fase iniziale si è occupato della coordinazione delle attività progettuali relative al Progetto SMART-UP mediante riunioni di progetto che hanno consentito un costante monitoraggio delle attività svolte dai partner.

L'azienda capofila si è anche avvalsa della collaborazione in qualità di *innovation broker*; del dott. Rosario Timpone che vanta esperienza pluriennale sui temi oggetto della proposta progettuale SMART UP. Colloqui con i consulenti scelti dall'Azienda Capofila e dai singoli partner sono stati utili ad individuare le condizioni ottimali per effettuare i campionamenti. I partner si sono attenuti al Piano di Campionamento comunicato loro nella riunione di insediamento del GO-SMART UP per far pervenire presso il Dipartimento di Scienze del Farmaco e della Salute i campioni delle matrici da utilizzare.

Nei mesi di marzo ed aprile 2021 sono state svolte due visite aziendali presso l'Azienda Capofila *Jungle Farm* e presso l'azienda *La Lumaca Madonita*. Il DSFS UNICT ha conferito un incarico di consulenza tecnica alla Società MEDINUTREX per la preparazione di estratti da ottenere dalle matrici degli scarti, sottoprodotti ed eccedenze produttive, delle aziende partner del Progetto SMART UP, per la loro caratterizzazione e successiva formulazione. Le attività di consulenza sono state avviate, presso il laboratorio dell'unità locale operativa di Medinutrex (Barcellona Pozzo di Gotto - ME). La prima fase dell'attività di consulenza (Attività 1) ha previsto la messa a punto di nuovi processi estrattivi.

1) Sono state eseguite prove di adsorbimento su resina del liquor di scarto, ottenuto dal processo di lavaggio e pressatura di bucce e polpe d'arancia rossa del pastazzo industriale derivante da agricoltura biologica di arance rosse ottenuto dai processi di trasformazione dell'Azienda Panebianco, previa enzimazione e successiva filtrazione. Il pastazzo industriale ottenuto dai processi di trasformazione dell'azienda è stato messo a confronto con quello ottenuto dal prototipo già progettato e in fase di realizzazione. Sono state effettuate delle prove preliminari per verificare l'abbattimento del "fouling" dovuto alla presenza di olio essenziale, residuo dei processi di trasformazione e quindi l'ottenimento di un residuo di spremitura con un basso tenore in oli essenziali che possono interferire sulle prestazioni delle resine adsorbenti. L'estratto ottenuto dalla matrice di partenza costituita da bucce e polpe derivanti dal processo industriale di spremitura dei frutti, ottenuta con il prototipo, è stato quindi concentrato e caratterizzato analiticamente rispetto al contenuto in antociani e flavanoni.

2) Prove di estrazione (precedute da vari step di pretrattamento) dei composti bioattivi contenuti nelle foglie di ulivo derivanti da agricoltura biologica fornite dall'Azienda Costanza, sono state eseguite attraverso l'uso di estrattori solido/liquido operanti a bassa temperatura. Gli estratti ottenuti sono stati quindi concentrati e caratterizzati analiticamente. La determinazione spettrofotometrica del contenuto in polifenoli totali presenti nell'estratto, è stata condotta con il saggio di Folin-Ciocalteu.

3) Prove di estrazione (precedute da vari step di pretrattamento) dei composti bioattivi contenuti nelle seguenti specie floricole (*Acmella oleacera*, *Centaurea Cyanus*, *Targetes erecta*, *Calenda officinalis*, *Moringa Oleifera*) fornite dall'Azienda Jungle Farm sono state eseguite attraverso l'uso di estrattori solido/liquido operanti a bassa temperatura. Gli estratti ottenuti sono stati quindi concentrati e caratterizzati analiticamente. La determinazione del contenuto in polifenoli totali e del contenuto in carotenoidi totali presenti nell'estratto è stata eseguita

spettrofotometricamente.

4) Prove di estrazione (precedute da vari step di pretrattamento) dei composti bioattivi contenuti nella bava di lumaca fornita dall'Azienda La Lumaca Madonita sono state eseguite attraverso l'uso di estrattori solido/liquido operanti a bassa temperatura. Gli estratti ottenuti sono stati quindi concentrati e caratterizzati analiticamente. La determinazione del contenuto in antiossidanti totali presenti nell'estratto è stata eseguita spettrofotometricamente.

Gli estratti ottenuti sono stati utilizzati per le valutazioni successive previste dalle attività progettuali del secondo anno nelle quali sono stati utilizzati modelli cellulari di steatosi ed adipogenesi e modelli cellulari di danno indotto alle cellule della pelle. A tal proposito il DSFS UNICT, durante il primo anno ha messo a punto le tecniche più idonee per trovare le condizioni ottimali di tali modelli cellulari, utilizzando cheratinociti umani esposti ad agenti infiammatori o a raggi UV e marker di danno indotto da tali agenti stressogeni al fine di individuare le concentrazioni ottimali. Le condizioni ottimali da utilizzare per i modelli di steatosi ed adipogenesi sono state valutate in linee di cellule epatiche di origine murina ed umana (AML12, HepG2), in preadipociti di origine murina (3T3L1) e in cellule staminali umane indifferenziate derivanti dal tessuto adiposo.

In relazione alle attività sopra descritte si è resa necessaria una rimodulazione del cronoprogramma per quanto attiene l'azione 6 e l'azione 7 riportate nel Progetto in quanto, come esplicitato, sono state valutate diverse metodiche di estrazione, al fine di individuare le condizioni di estrazione ottimali da impiegare per ottenere estratti nutraceutici ricchi in composti bioattivi. Tale processo ha richiesto l'impiego di un considerevole intervallo di tempo e non ha consentito durante il primo anno la caratterizzazione degli estratti. Considerato che, affinché gli estratti possano essere utilizzati nelle formulazioni finali è indispensabile la loro caratterizzazione, è stato necessario prevedere prima della preparazione delle due formulazioni, la caratterizzazione degli estratti sia dal punto di vista chimico (assenza di residui di fitofarmaci, solventi e metalli pesanti) che dal punto di vista microbiologico (muffe e lieviti, carica batterica mesofila aerobia totale, coliformi totali, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*).

Tale attività è stata svolta dal consulente di DSFS UNICT (Medinutrex srls) durante il secondo anno di attività progettuali al fine di standardizzare gli estratti ottenuti ed a rilasciare i certificati di analisi per il successivo utilizzo degli estratti nelle due formulazioni.

La rimodulazione del cronoprogramma ha richiesto lo spostamento dal 2° al 3° anno del periodo di n.10 mesi previsto dal 1° al 2° anno per le attività dell'AZIONE 6.

Relativamente all'AZIONE 7 ci si è resi conto che era necessario un periodo di attività di ricerca più lungo di quello inizialmente previsto per l'attività di DSFS UNICT che riguarda la “Valutazione dell'attività biologica sia degli estratti che di nuove formulazioni a base di bava di lumaca arricchita in composti bioattivi ottenuti dagli scarti di fiori eduli ed a base di pastazzo di agrumi arricchite in estratti di foglie di olivo”. Per la realizzazione di tale attività è stato previsto un periodo di 18 mesi anziché 10 mesi per poter svolgere in maniera esaustiva l'attività riportata nel progetto. I risultati attesi riguardavano la valorizzazione delle sostanze bioattive estratte dagli scarti e sottoprodotti delle rispettive produzioni (agrumi, olive, fiori eduli, lumache) mediante la produzione di nuove formulazioni da destinare all'integrazione alimentare e all'industria cosmetica. Le variazioni di cronoprogramma apportate non hanno comportato alcuna variazione in termini finanziari.

VISITA AZIENDALE AZIENDA Jungle FARM



RACCOLTA FOGLIE AZIENDA COSTANZA



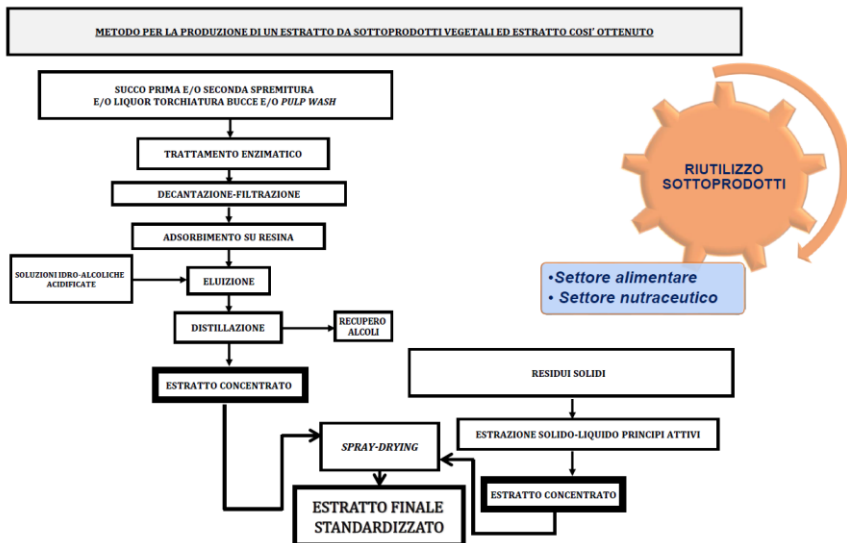
VISITA AZIENDALE AZIENDA “LA LUMACA MADONITA”



AZIENDA AGRICOLA PANEBIANCO: PRODUZIONE DI PASTAZZO



ATTIVITA' SVOLTA DAL CONSULENTE DEL DSFS: MEDINUTREX



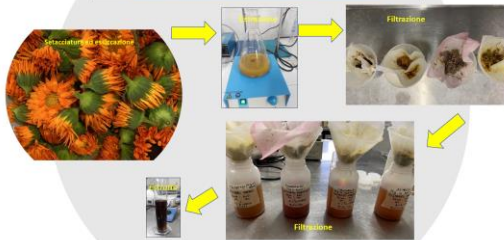
FASI PER LA PRODUZIONE DI UN ESTRATTO DA FOGLIE DI LULIYO



FLOW SHEET PRODUZIONE DI UN ESTRATTO DA SCARTI DI ARANCE ROSSE



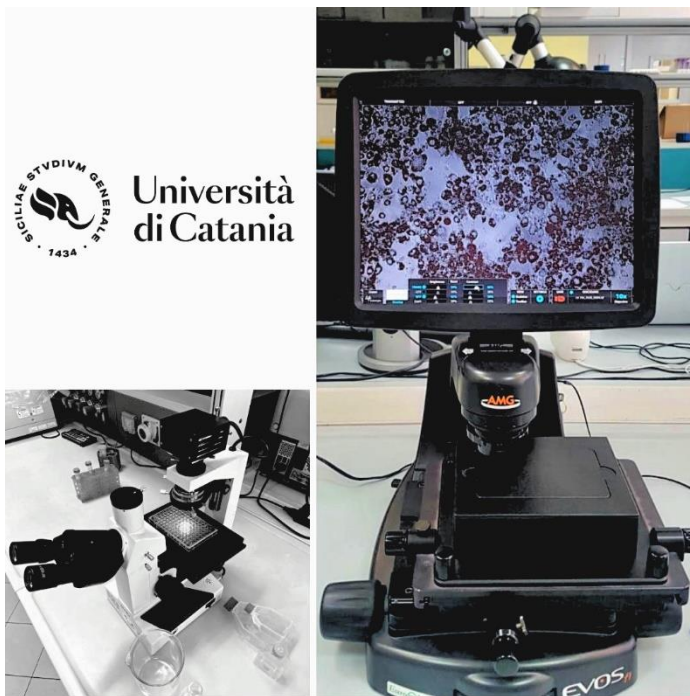
FASI PER LA PRODUZIONE DI UN ESTRATTO DA FIORI EDULI



FASI PER LA PRODUZIONE DI UN ESTRATTO DA BAVA DI LUMACA



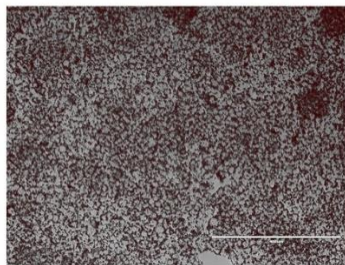
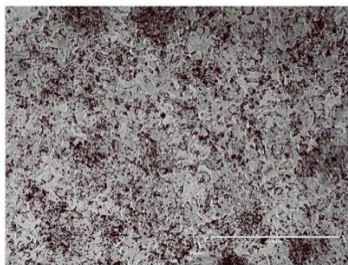
LABORATORIO BIOCHIMICA E BIOLOGIA AVANZATA-DSFS



Modello cellulare di steatosi epatica in cellule epatiche umane (HepG2) non trattate (CTRL) e trattate (FFA 0.5mM) con acidi grassi (mix ac.oleico e ac. Palmitico)

CTRL

FFA 0.5 mM



PARTE SECONDA

ATTIVITÀ SVOLTE NEL II ANNO DEL PROGETTO SMART UP e risultati intermedi raggiunti

Il DSFS UNICT durante il secondo anno di attività progettuali relative al Progetto SMART-UP ha continuato ad occuparsi della coordinazione mediante riunioni di progetto che hanno consentito un costante monitoraggio delle attività svolte dai partner.

L'azienda capofila grazie alla collaborazione dell'*innovation broker* ha mantenuto i contatti con i consulenti scelti dai singoli partner per monitorare i campionamenti previsti dal cronoprogramma che è stato comunicato loro nella prima riunione del II anno del GO-SMART UP.

E' stata svolta una visita aziendale presso l'azienda PANEBIANCO durante la quale è stato effettuato il collaudo della Pelatrice. Il DSFS UNICT ha conferito un secondo incarico di consulenza tecnica alla Società MEDINUTREX per la preparazione di estratti da ottenere dalle matrici degli scarti, sottoprodotti ed eccedenze produttive, delle aziende partner del Progetto SMART UP, per la loro caratterizzazione e successiva formulazione.

Le attività di consulenza durante il II anno sono state svolte, presso il laboratorio dell'unità locale operativa di Medinutrex (Barcellona Pozzo di Gotto - ME).

Il secondo anno dell'attività di consulenza ha previsto la caratterizzazione, sia dal punto di vista chimico, sia dal punto di vista microbiologico degli estratti ottenuti nel corso del primo anno. Questi ultimi sono stati infine standardizzati e sono stati rilasciati i relativi certificati di analisi per l'utilizzo degli estratti nelle due formulazioni finali.

Caratterizzazione e standardizzazione del pastazzo di arancia rossa

La caratterizzazione chimico-fisica dell'estratto di arance rosse ottenuto e la successiva standardizzazione dello stesso è stata effettuata utilizzando il pastazzo fornito dall'Azienda Panebianco, partner del progetto.

L'estratto concentrato è stato caratterizzato rispetto al contenuto di antociani, flavanoni e acidi idrossicinnamici, determinati tramite metodi HPLC. Di seguito sono riportati i risultati della analisi sull'estratto standardizzato *lab-scale*:

- Antocianine totali 1,02% w/w
- Flavanoni totali 14,4%w/w
- Acidi idrossicinnamici 1,03%w/w

Caratterizzazione e standardizzazione dell'estratto ottenuto dalle foglie di ulivo

La caratterizzazione chimico-fisica dell'estratto di foglie di ulivo ottenuto e la successiva standardizzazione dello stesso è stata effettuata utilizzando le foglie di ulivo fornite dall'Azienda Costanza, partner del progetto. L'estratto è stato caratterizzato rispetto al contenuto di polifenoli totali (dosata tramite saggio di Folin-Ciocalteu, metodo spettrofotometrico) e di oleuropeina (quantificata tramite HPLC).

seguito sono riportati i risultati della analisi sull'estratto standardizzato *lab-scale*:

- Polifenoli totali 3,82%w/w
- Oleuropeina 0,40%w/w

Caratterizzazione e standardizzazione dell'estratto ottenuto da scarti di produzione di fiori edibili

Presso il laboratorio dell'unità locale operativa di Medinutrex (Barcellona Pozzo di Gotto - ME), è stata determinata la concentrazione di polifenoli totali e carotenoidi presenti nell'estratto di fiori, forniti dall'Azienda Jungle Farm. La determinazione di polifenoli totali è stata eseguita con il saggio di Folin-Ciocalteu (metodo spettrofotometrico), la concentrazione dei carotenoidi è stata determinata tramite tecnica HPLC. Di seguito sono riportati i risultati della analisi sull'estratto standardizzato *lab-scale*:

- Polifenoli totali 1,47%w/w
- Carotenoidi totali 0,003%w/w

Caratterizzazione e standardizzazione dell'estratto ottenuto da bava di lumaca

Presso il laboratorio dell'unità locale operativa di Medinutrex (Barcellona Pozzo di Gotto - ME), sono state determinate le concentrazioni di allantoina e acido glicolico, oltre che dei polifenoli totali presenti nell'estratto di bava di lumaca, fornita dall'Azienda Agricola La Lumaca Madonita. La determinazione analitica di allantoina e acido glicolico è stata effettuata tramite tecnica HPLC, il dosaggio dei polifenoli totali è stato eseguito con il saggio di Folin-Ciocalteu (metodo spettrofotometrico). Di seguito sono riportati i risultati della analisi sull'estratto standardizzato *lab-scale*:

- Polifenoli totali 0,55%w/w

-Allantoina 0,04%w/w

-Acido glicolico 0,33%w/w

Il DSFS UNICT ha attivato una Borsa di ricerca della durata di mesi 9 che è stata vinta dalla Dott.ssa Ilaria Burò che ha partecipato alle attività di ricerca progettuali del secondo anno. Gli estratti caratterizzati e standardizzati sono stati utilizzati in modelli cellulari di steatosi epatica ed in modelli cellulari di danno indotto alle cellule della pelle le cui condizioni ottimali sono state messe a punto durante il primo anno di attività. Nel modello cellulare di steatosi epatica ottenuto utilizzando linee di cellule epatiche di origine umana (HepG2) è stato valutato l'effetto benefico dell'estratto ottenuto dal pastazzo e dell'estratto ottenuto dalle foglie di ulivo.

I risultati conseguiti hanno evidenziato che gli estratti ottenuti dal pastazzo e dalle foglie di ulivo, sono ricchi di polifenoli, hanno una buona capacità antiossidante, sono in grado di ridurre l'accumulo di acidi grassi liberi e potrebbero agire come agenti ipocolesterolemizzanti.

L'effetto sinergico evidenziato dal co-trattamento delle cellule HepG2 con i due estratti permette di ipotizzare la preparazione di una nuova formulazione nutraceutica derivante dalla combinazione dell'estratto ottenuto dal pastazzo arricchito con estratti ricavati dalle foglie di ulivo. Questa combinazione ne rafforzerà la loro azione antiossidante e potrebbe essere utile nella prevenzione della steatosi epatica. I risultati conseguiti sono stati oggetto di una pubblicazione scientifica.

Gli estratti ottenuti dai fiori eduli e dalla bava di lumaca sono stati utilizzati per trattare i cheratinociti umani esposti a raggi UV al fine di individuare le concentrazioni ottimali capaci di avere un effetto protettivo. I risultati in tale modello erano preliminari e sono stati oggetto di approfondimento durante il III anno di attività progettuale.

Gli estratti ottenuti dai fiori eduli e dalla bava di lumaca sono stati utilizzati per trattare i cheratinociti umani esposti a raggi UV al fine di individuare le concentrazioni ottimali capaci di avere un effetto protettivo. I risultati ottenuti hanno dimostrato che i polifenoli dell'estratto di fiori eduli hanno potenziato l'attività antiossidante della bava di lumaca fornendo effetti citoprotettivi nei cheratinociti esposti alle radiazioni UVB. Abbiamo dimostrato che gli scarti dei fiori eduli possono essere considerati validi candidati per applicazioni cosmeceutiche per arricchire i prodotti anti-età a base di bava di lumaca già presenti sul mercato.

VISITA AZIENDA AGRICOLA PANEBIANCO



Durante la visita aziendale svolta presso l'Azienda Panebianco è stato collaudato il prototipo, appositamente progettato e realizzato da una appropriata Ditta produttrice. Durante il primo anno di attività progettuali la messa a punto del prototipo ha richiesto diverse prove effettuate con campioni di pastazzo fornito dall'azienda Panebianco. Il **Prototipo** è dotato di una particolare pelatrice che, grattando la buccia delle arance che successivamente saranno sottoposte a spremitura, elimina tutti gli oli essenziali che interferiscono nella fase di estrazione poiché bloccano il funzionamento delle resine assorbenti. Il pastazzo pertanto ottenuto da arance precedentemente "grattate" dalla pelatrice ha un ridotto contenuto in oli essenziali e pertanto è più idoneo ad essere utilizzato per ottenere un estratto ricco in composti bioattivi da impiegare per la formulazione di un **nuovo integratore alimentare**.

LABORATORIO BIOCHIMICA E BIOLOGIA AVANZATA-DSFS

Il DSFS UNICT ha svolto le attività relative al secondo anno del Progetto SMART-UP utilizzando gli estratti preparati dalla Ditta MEDINUTREX. Le valutazioni biochimiche sono state eseguite nei modelli cellulari di steatosi epatica messi a punto durante il primo anno.

ATTIVITA' SVOLTA DA MEDINUTREX

FLOW SHEET PRODUZIONE DI UN ESTRATTO DA SCARTI DI ARANCE ROSSE



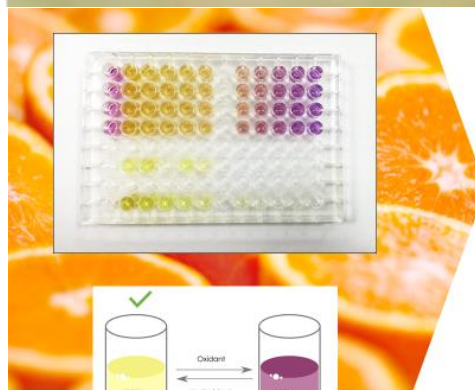
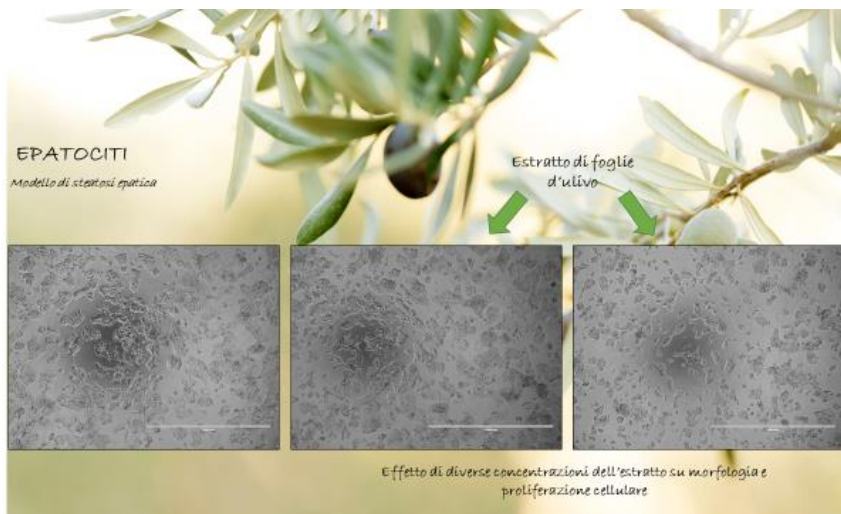
ATTIVITA' SVOLTA DA MEDINUTREX

FASI PER LA PRODUZIONE DI UN ESTRATTO DA FOGLIE DI ULIVO



Università
di Catania





Saggio utile per la valutazione dell'attività antiossidante dell'estratto ottenuto dagli scarti di arance



I risultati ottenuti sono stati oggetto di una pubblicazione scientifica e sono stati presentati con un poster all'evento PHARMADAY 2022, IL DIPARTIMENTO INCONTRA LE AZIENDE 2^a EDIZIONE che si è svolto a Catania il 1 giugno 2022 presso il Dipartimento di Scienze del Farmaco e della Salute, Edificio 2, Città Universitaria, viale A. Doria, 6 – Catania.

PARTE TERZA

ATTIVITÀ SVOLTE NEL III ANNO E NEL PERIODO DI PROROGA CONCESSO AL PROGETTO SMART UP e risultati raggiunti

Prima di descrivere le attività progettuali del III anno è necessario fare alcune premesse.

- In data 23/11/2022 il dott. Rosario Timpone per sopravvenuti impegni professionali e personali non preventivabili al momento della stipula del contratto di incarico a ricoprire il ruolo di “Innovation Broker” a supporto del GO SMART-UP” è stato costretto a rinunciare all’incarico stesso. A seguito di tale comunicazione l’azienda capofila ha provveduto alla sottoscrizione della scioglimento del suddetto contratto la cui risoluzione è stata sottoscritta in data 03/12/2022 e quindi in accordo con il responsabile scientifico del progetto, ha provveduto a ricercare un nuovo consulente che presentasse le stesse caratteristiche professionali e curriculari dal professionista dimissionario ed ha individuato con tali caratteristiche, il Dott. Paolo Rapisarda che ha accettato la proposta e ha dato la sua disponibilità a proseguire l’attività di “Innovation Broker”.
- Durante l’arco temporale che è intercorso tra l’inizio del primo anno delle attività progettuali e quello del terzo anno sono intervenute problematiche che hanno generato, enormi ritardi a causa delle difficoltà di reperimento e approvvigionamento di materiali e beni di consumo che si sono registrati in periodo pandemico e post, ma soprattutto uno sproporzionato aumento dei prezzi delle materie prime che non ha permesso ai fornitori di mantenere invariati i prezzi dei preventivi presentati in fase di istanza iniziale. Per tale motivo, le attività progettuali hanno subito un rallentamento che ha generato anche delle variazioni finanziarie che hanno imposto la richiesta di una variante finanziaria che è stata concessa *con D.D.S. n. 3379 del 20/07/2023*, che non muta alcuna condizione iniziale in riferimento agli obiettivi progettuali ed alle attività da svolgere. Tali problematiche, inevitabilmente, hanno generato variazioni al cronoprogramma del progetto che pertanto ha necessitato la richiesta di una proroga per aumentare i mesi necessari

per la totale realizzazione delle attività progettuali (proroga concessa al 11/08/2024 secondo il *D.D.S. n. 2977 del 30/06/2023*)

Il DSFS UNICT durante il terzo anno di attività progettuali relative al Progetto SMART-UP ha continuato ad occuparsi della coordinazione mediante riunioni di progetto che hanno consentito un costante monitoraggio delle attività svolte dai partner.

L'azienda capofila, grazie alla collaborazione dell'*innovation broker* dott. Paolo Rapisarda, ha mantenuto i contatti con i consulenti scelti dai singoli partner per monitorare i campionamenti previsti dal cronoprogramma che è stato comunicato loro nella prima riunione del III anno del GO-SMART UP.

Il DSFS UNICT ha attivato una Borsa di ricerca della durata di mesi 8 che è stata vinta dalla Dott.ssa Maria Gulisano che ha partecipato alle attività di ricerca progettuali del terzo anno. Inoltre a partire dal 1 Dicembre 2022 la Dott.ssa Valeria Consoli, Dottoranda UNICT è stata inserita come componente del progetto SMART UP per supportare le attività progettuali del soggetto di ricerca DSFS UNICT.

Durante il terzo anno, nel mese di marzo 2023, sono state svolte dal nuovo *innovation broker*, dott. Paolo Rapisarda, visite aziendali presso l'azienda *La Lumaca Madonita* e l'azienda *Panebianco*.

All'inizio del III anno di attività progettuali il DSFS UNICT ha conferito un terzo incarico di consulenza tecnica alla Società MEDINUTREX per la preparazione di estratti da ottenere dalle matrici degli scarti, sottoprodotti ed eccedenze produttive, delle aziende partner del Progetto SMART UP, per la loro caratterizzazione e successiva formulazione.

Gli estratti ottenuti dai fiori eduli e dalla bava di lumaca sono stati utilizzati per trattare i cheratinociti umani esposti a raggi UV al fine di individuare le concentrazioni ottimali capaci di avere un effetto protettivo. I risultati ottenuti hanno dimostrato che i polifenoli dell'estratto di fiori eduli hanno potenziato l'attività antiossidante della bava di lumaca fornendo effetti citoprotettivi nei cheratinociti esposti alle radiazioni UVB. Abbiamo dimostrato che gli scarti dei fiori eduli possono essere considerati validi candidati per applicazioni cosmeceutiche per arricchire i prodotti anti-età a base di bava di lumaca già presenti sul mercato.

Durante i primi mesi del terzo anno di attività progettuali sono stati ottenuti

prototipi di formulazioni utilizzando, sia l'estratto a base di pastazzo e di foglie di olivo, che l'estratto a base di bava di lumaca e di fiori eduli i cui campioni sono stati presentati durante il CONVEGNO INTERMEDIO di diffusione dei risultati che si è svolto il 3 Maggio 2023 presso il Di3A.

Le attività svolte nei primi mesi del terzo anno hanno permesso la caratterizzazione, sia dal punto di vista chimico che dal punto di vista microbiologico, degli estratti ottenuti precedentemente. Le attività in laboratorio hanno continuato per definire al meglio la formulazione e superare le criticità riscontrate nella fase di *ramp-up* iniziale.

E' stata effettuata la caratterizzazione del pastazzo fornito dall'Azienda Panebianco partner del progetto e successivamente la sua standardizzazione. Tuttavia tale attività non è stata del tutto ultimata poiché si è reso necessario un adattamento all'impianto prototipale di estrazione di cui si è dotata l'azienda Panebianco e sono state effettuate nuove prove nel corso della successiva campagna agrumaria, su pastazzo fresco di agrumi.

È stata anche realizzata la caratterizzazione chimico-fisica dell'estratto di foglie di olivo ottenuto e la successiva standardizzazione dello stesso è stata effettuata utilizzando le foglie di ulivo fornite dall'Azienda Costanza, partner del progetto. Tale attività è stata quasi del tutto completata ma si successivamente sono state effettuate nuove estrazioni per poter aver a disposizione del materiale "fresco" per le formulazioni con pastazzo e bava di lumaca.

Presso il laboratorio dell'unità locale operativa di Medinutrex (consulente del progetto per DSFS UNICT), è stata determinata la concentrazione di polifenoli totali e carotenoidi presenti nell'estratto di fiori, forniti dall'Azienda Jungle Farm, per la caratterizzazione e standardizzazione dell'estratto ottenuto da scarti di produzione di fiori edibili. Anche tale attività ha scontato un ritardo dovuto all'organizzazione delle strutture produttive della Capofila, ove produrre i fiori eduli.

Presso il laboratorio dell'unità locale operativa di Medinutrex (Barcellona Pozzo di Gotto - ME), sono state determinate le concentrazioni di allantoina e acido glicolico, oltre che dei polifenoli totali presenti nell'estratto di bava di lumaca, fornita dall'Azienda Agricola *La Lumaca Madonita* per la prima caratterizzazione e standardizzazione dell'estratto ottenuto da bava di lumaca. Quest'ultima è l'attività che ha scontato il maggior ritardo,

conseguente al ritardo legato al montaggio della serra di allevamento delle lumache.

Per gli estratti caratterizzati e standardizzati preliminari, utilizzati nei primi mesi del terzo anno in vari modelli cellulari si sono resi necessari successivamente ulteriori approfondimenti per l'ottenimento delle nuove ed originali formulazioni cosmetiche e dell'integratore alimentare che hanno richiesto di proseguire le attività oltre il termine naturale di scadenza.

E' stato comunicato ai partner che le attività progettuali potevano proseguire grazie alla Proroga concessa secondo il seguente cronoprogramma:

CRONOPROGRAMMA PER PROROGA

Azione n°	Quarta annualità											
	nov-23	dic-23	gen-24	feb-24	mar-24	apr-24	mag-24	giu-24	lug-24	ago-24	set-24	ott-24
1. Coordinamento												
2. Estrazione di composti bioattivi dagli scarti della trasformazione delle arance												
3. Estrazione di composti bioattivi dalle foglie di olivo												
4. Estrazione di composti bioattivi da scarti di produzione di fiori edibili												
5. Recupero di composti bioattivi da bava di lumaca												
6. Sviluppo di nuove formulazioni di bava di lumaca arricchite in estratti di fiori eduli e di pastazzo di agrumi arricchite in estratti di foglie di olivo												
7. Validazione dell'attività biologica di nuove formulazioni a base di bava di lumaca arricchita in composti bioattivi ottenuti dagli scarti di fiori eduli ed a base di pastazzo di agrumi arricchite in estratti di foglie di olivo												
8. Distribuzione dei formulati												
9. Divulgazione												

Durante il periodo di proroga è stato preparato un estratto di fiori con maggior percentuale di carotenoidi e di polifenoli totali, variando le proporzioni degli scarti di fiori eduli ed è stato messo a punto il metodo di estrazione del pastazzo utilizzando il prototipo per la spremitura dei frutti. Il prototipo è stato in grado di fornire uno scarto di lavorazione privo di oli essenziali e ha permesso di migliorare il processo con maggior durata delle resine

Gli estratti sono stati caratterizzati sia dal punto di vista chimico (assenza di residui di fitofarmaci, solventi e metalli pesanti) sia dal punto di vista microbiologico (muffe e lieviti, carica batterica mesofila aerobia totale, coliformi totali, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*). Sono stati determinati la resa del processo, il contenuto % in principi attivi, l'umidità residua e sono stati quindi rilasciati i certificati di analisi. Durante l'ultimo anno di consulenza, gli estratti precedentemente standardizzati e caratterizzati sono stati assemblati nella **Formulazione 1**, utilizzando le seguenti proporzioni: Estratto di arancia rossa 20%, Estratto di foglie di olivo 60%; con la rimanente parte costituita da eccipienti. Come risultato sono state ottenute delle compresse da 500 mg ciascuna ad uso nutraceutico. Per la **Formulazione 2** gli estratti sono stati assemblati utilizzando le seguenti proporzioni: Estratto di bava di lumaca 22%, Estratto di fiori eduli 1%; con la rimanente parte costituita da eccipienti. Il prodotto finito è stato una crema viso anti-age. Sono stati quindi rilasciati i certificati di analisi, per l'impiego nell'industria farmaceutica, cosmetica e dell'integrazione alimentare, delle formulazioni finali ottenute dagli estratti.

Negli ultimi mesi di attività progettuali DSFS UNICT mediante il consulente MEDINUTREX, ha provveduto alla preparazione e successiva caratterizzazione di un nuovo estratto di fiori eduli, particolarmente ricco in carotenoidi poiché ottenuto solo da due specie di fiori (50% *Spilanthes acmella*; 50% *Tagetes patula*) che presentano un elevato contenuto in carotenoidi rispetto alle altre specie utilizzate per la preparazione del primo estratto di fiori. Tale estratto nella proporzione dell'1%, è stato utilizzato per la preparazione della **Formulazione 3** che contiene anche estratto di bava di lumaca nella proporzione del 22% ed eccipienti. Il prodotto finito è stato una crema viso anti-age con elevato contenuto di carotenoidi. Sono stati quindi rilasciati i certificati di analisi, per l'impiego nell'industria farmaceutica, cosmetica e dell'integrazione alimentare, delle formulazioni finali ottenute dagli estratti.

Le attività progettuali effettuate nel periodo della proroga hanno riguardato la valutazione degli effetti indotti dagli estratti in modelli cellulari di adipogenesi, per l'estratto a base di pastazzo e di foglie di olivo ed in un modello di infiammazione dei cheratinociti indotta da LPS per l'estratto a base di bava di lumaca e di fiori eduli. Inoltre, l'estratto di bava di lumaca è stato utilizzato per sviluppare nanoformulazioni innovative.

Nei modelli cellulari di adipogenesi, quali la differenziazione degli adipociti o gli adipociti maturi infiammati e ipertrofici, è stato dimostrato il potenziale terapeutico degli estratti di pastazzo e foglie di olivo. In particolare il trattamento combinato ha mostrato un effetto sinergico nel ridurre l'accumulo di goccioline lipidiche confermando la capacità degli estratti di influenzare l'adipogenesi e suggerendo promettenti proprietà antinfiammatorie ed anti-obesità. Per potenziare l'attività antiossidante la bava di lumaca è stata estratta in soluzione idroalcolica e successivamente liofilizzata. L'estratto di bava di lumaca ha mostrato una elevata attività antiossidante in modelli *cell-free*, tuttavia non è stato possibile testare i suoi effetti in modelli cellulari poiché crea una pellicola spessa sulla superficie cellulare. Pertanto, al fine di migliorare gli effetti benefici della bava di lumaca ed estenderne il potenziale utilizzo, l'estratto è stato utilizzato per sviluppare nanoparticelle d'oro rivestite con estratto di bava di lumaca in un modello di infiammazione dei cheratinociti umani indotto da LPS. Le nanoformulazioni possono avere potenziali applicazioni cosmeceutiche poiché hanno mostrato proprietà antiossidanti, antinfiammatorie e di protezione solare e possono essere impiegate per ottenere prodotti anti-age e solari a base di muco più innovativi rispetto a quelli a base di bava di lumaca già presenti sul mercato. Inoltre, le nanoformulazioni hanno mostrato la capacità di inibire selettivamente la crescita di due linee cellulari di melanoma umano senza influenzare la vitalità dei cheratinociti e pertanto possono essere potenzialmente utilizzate per il trattamento di specifiche neoplasie cutanee.

Durante gli ultimi mesi di attività progettuali, DSFS UNICT ha saggiato il nuovo estratto di fiori eduli, particolarmente ricco in carotenoidi poiché ottenuto solo dalle due specie di fiori (50% *Spilanthes acmella*; 50% *Tagetes patula*) che presentano un elevato contenuto in carotenoidi rispetto alle altre specie utilizzate per la preparazione del primo estratto di fiori. Tale estratto ha mostrato una significativa attività antiossidante in modelli *cell-free*, anche a basse concentrazioni, e ha mostrato la capacità di inibire selettivamente la crescita di una linea cellulare di melanoma umano senza influenzare la vitalità dei cheratinociti. Tale estratto potrebbe essere utilizzato per potenziare la stessa attività riportata per le nanoformulazioni a base di bava di lumaca.

MATICI



ESTRATTI

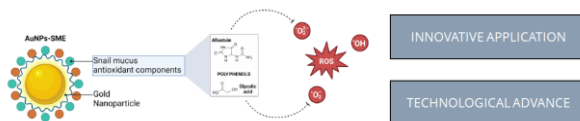


FORMULAZIONE 1

FORMULAZIONE 2



FORMULAZIONE 3



NANOFORMULAZIONI

CERTIFICATE OF ANALYSIS

 Registered office: VIA VINCENZO GIUFFRIDA, 202 95128 CATANIA – ITALY Production site: CONTRADA GIROTTA, SNC 95051 BARCELLONA POZZO DI GOTTO (ME) – ITALY VAT NUMBER: 05333560677 www.medinutrex.com	Product: <h3>Red orange extract</h3>
E-mail: info@medinutrex.com	Compilation date: 01.07.2022 Last review: 18.05.2023

Batch n°	3/22
Manufacture date	4 July 2022
Expiry date	4 July 2025
Storage	Keep container unopened in cool, dry place
Country of origin	Italy
Botanical name	<i>Citrus Sinensis</i> (L.) Osbeck
Plant part used	fruit

PHYSICAL/CHEMICAL TEST

Analysis	Specification	Results
Anthocyanins (w/w)	> = 1.00	1.02
Hydroxycinnamic acids (w/w)	> = 1.00	1.02
Flavanones (w/w)	> = 10.00	10.10
Form	Powder	Conform
Color	Red	Conform
Taste	Acid	Conform
Smell	Typical of orange	Conform
pH	> 2.0	Conform
Solubility	Moderately soluble in water	Conform

CERTIFICATE OF ANALYSIS

 <p>Registered office: VIA VINCENZO GIUFFRIDA, 202 95128 CATANIA – ITALY</p> <p>Production site: CONTRADA GIROTTA, SNC 98051 BARCELONA POZZO DI GOTTO (ME) – ITALY</p> <p>VAT NUMBER: 05333560877 www.medinutrex.com</p>	<p>Product:</p> <p>OLIVE LEAF EXTRACT</p>
<p>E-mail: info@medinutrex.com</p>	<p>Compilation date: 10.01.2022 Last review: 19.01.2022</p>

Batch n°	E21/2691
Manufacture date	30.11.2021
Expiry date	30.11.2024
Storage	Keep container unopened in cool, dry place
Country of origin	Italy
Botanical name	Olea Europaea L.
Plant part used	leaf

PHYSICAL/CHEMICAL TEST

Analysis	Specification	Results
Total polyphenols (w/w)	> = 3.00	3.82
Oleuropein (w/w)	> = 0.2	0.40
Form	Powder	Conform
Color	Yellow/Green	Conform
Taste	Typical of olive	Conform
Smell	Typical of olive	Conform
pH	> 2.0	Conform
Solubility	Moderately soluble in water	Conform
Lead (Pb)	< 3ppm	Conform

CERTIFICATE OF ANALYSIS	
 <p>Registered office: VIA VINCENZO GIUFFRIDA, 202 95028 CATANIA – ITALY Production site: CONTRADA GROTTA, SNC 98051 BARCELLONA POZZO DI GOTTO (ME) – ITALY</p> <p>VAT NUMBER: 05333560877 www.medinutrex.com</p>	<p>Product:</p> <p>Formulazione a base di estratto di arancia rossa e foglie d'olivo-compresse</p>
E-mail: info@medinutrex.com	<p>Compilation date: 30.03.2023 Last review: 15.04.2023</p>

Batch n°	T-23
Manufacture date	April 2023
Expiry date	April 2025
Storage	Keep container unopened in cool, dry place
Country of origin	Italy

PHYSICAL/CHEMICAL TEST

Analysis	Specification	Results
Total polyphenols (w/w)	> = 2,0	2,29
Oleuropein (w/w)	> = 0.1	0.24
Anthocyanins (w/w)	> = 0.1	0,204
Hydroxycinnamic acids (w/w)	> = 0.1	0,204
Flavonones (w/w)	> = 2	2,02
Form	Compresse	Conform
Color	Yellow/Green	Conform
Taste	Typical of olive/orange	Conform
Smell	Typical of olive/orange	Conform
pH	> 2.0	Conform
Solubility	Moderately soluble in water	Conform

FORMULAZIONE 1

CERTIFICATE OF ANALYSIS

 <p>Registered office: VIA VINCENZO GIUFFRIDA, 202 95128 CATANIA – ITALY Production site: CONTRADA GIROTTA, SNC 98051 BARCELLONA POZZO DI GOTTO (ME) – ITALY</p> <p>VAT NUMBER: 05333560877 www.medinutrex.com</p>	Product: EDIBLE FLOWER EXTRACT
E-mail: info@medinutrex.com	Compilation date: 11.03.2023 Last review: 11.04.2023

Batch n°	1/23
Manufacture date	11.04.2023
Expiry date	11.04.2026
Storage	Keep container unopened in cool, dry place
Country of origin	Italy
INCI denomination	Spilanthes acmella extract (20%) Centaurea cyanus flower extract (20%) Calendula officinalis flower extract (20%) Tagetes patula flower/leaf/stem extract (20%) Moringa oleifera leaf extract (20%)
CAS number	90131-24-1 84012-18-0 84776-23-8 91722-29-1 93165-54-9

PHYSICAL/CHEMICAL TEST

Analysis	Specification	Results
Total polyphenols (w/w)	> = to define %	0.132
Total carotenoids (w/w)	> = to define ppm	0.247

CERTIFICATE OF ANALYSIS

 <p>Registered office: VIA VINCENZO GIUFFRIDA, 202 95128 CATANIA – ITALY Production site: CONTRADA GROTTA, SNC 98051 BARCELLONA POZZO DI GOTTO (ME) – ITALY</p> <p>VAT NUMBER: 05333560677 www.medinutrex.com</p>	Product: SNAIL SECRETION EXTRACT
E-mail: info@medinutrex.com	Compilation date: 10.01.2022 Last review: 22.01.2022

Batch n°	V22
Manufacture date	17.01.2022
Expiry date	17.01.2025
Storage	Keep container unopened in cool, dry place
Country of origin	Italy

PHYSICAL/CHEMICAL TEST

Analysis	Specification	Results
Total polyphenols (w/w)	> = 0.3	0.55
Allantoin (w/w)	> = 0.02	0.04
Glycolic acid (w/w)	> = 0.1	0.33
Form	Powder	Conform
Color	Yellow/Brown	Conform
pH	> 2.0	Conform
Solubility	Moderately soluble in water	Conform
Lead (Pb)	< 3ppm	Conform
Arsenic (As)	< 3ppm	Conform
Cadmium (Cd)	< 1ppm	Conform
Mercury (Hg)	< 0.1ppm	Conform

CERTIFICATE OF ANALYSIS	
 <p>Registered office: VIA VINCENZO GIUFFRIDA, 202 95128 CATANIA – ITALY Production site: CONTRADA GROTTA, SNC 98051 BARCELLONA POZZO DI GOTTO (ME) – ITALY</p> <p>VAT NUMBER: 05333560677 www.medinutrex.com</p>	<p>Product:</p> <p>Crema viso anti-age con bava di lumaca ed estratto di fiori</p>
E-mail: info@medinutrex.com	<p>Compilation date: 30.03.2023 Last review: 26.04.2023</p>


Batch n°	1/23
Manufacture date	April 2023
Expiry date	6 months (after opening)
Storage	Keep container unopened in cool, dry place
Country of origin	Italy

PHYSICAL/CHEMICAL TEST

Analysis	Specification	Results
Total polyphenols (w/w)	> = 0,1	0,1379
Total carotenoids (ppm)	> = 20 ppm	24,7
Allanthoin (w/w)	> = 0,01	0,0154
Gilcolic acid (w/w)	> = 0,07	0,077
Form	Cream	Conform
Color	White	Conform
pH	> 2.0	Conform
Solubility	Moderately soluble in water	Conform
Lead (Pb)	< 3ppm	Conform
Arsenic (As)	< 3ppm	Conform
Cadmium (Cd)	< 1ppm	Conform

FORMULAZIONE 2

CERTIFICATE OF ANALYSIS

 <p>VIA VINCENZO GIUFFRIDA, 202 95128 CATANIA – ITALY VAT NUMBER: 05333560877 www.medinutrex.com</p>	<p>Product:</p> <p>EDIBLE FLOWER EXTRACT</p>
<p>E-mail: info@medinutrex.com</p>	<p>Compilation date: 25.01.2024 Last review: 25.01.2024</p>

Batch n°	1/24
Manufacture date	25.01.2024
Expiry date	25.01.2027
Storage	Keep container unopened in cool, dry place
Country of origin	Italy
INCI denomination	<p>Spilanthes acmella extract (50%) Tagetes patula flower/leaf/stem extract (50%)</p>
CAS number	<p>90131-24-1 91722-29-1</p>

PHYSICAL/CHEMICAL TEST

Analysis	Specification	Results
Total polyphenols (w/w)	> = to define %	3,65
Total carotenoids (w/w)	> = to define %	0.007
Form	Powder	Conform

CERTIFICATE OF ANALYSIS

 <p style="font-size: small;">: VIA VINCENZO GIUFFRIDA, 202 95128 CATANIA – ITALY</p> <p style="font-size: x-small;">VAT NUMBER: 05333560877 www.medinutrex.com</p>	<p style="text-align: center;">Product:</p> <p style="text-align: center; font-weight: bold; font-size: 1.2em;">Crema viso anti-age con bava di lumaca ed estratto di fiori</p>
E-mail: info@medinutrex.com	Compilation date: 5.06.2024 Last review: 5.06.2024

Batch n°	1/24
Manufacture date	April 2024
Expiry date	6 months (after opening)
Storage	Keep container unopened in cool, dry place
Country of origin	Italy

PHYSICAL/CHEMICAL TEST

Analysis	Specification	Results
Total polyphenols (w/w)	≥ 0.1	0,1575
Total carotenoids (ppm)	≥ 20 ppm	47
Allanthoin (w/w)	≥ 0,01	0,0154
Glicolic acid (w/w)	≥ 0,07	0,077
Form	Cream	Conform
Color	White	Conform
pH	> 2.0	Conform
Solubility	Moderately soluble in water	Conform
Lead (Pb)	< 3ppm	Conform
Arsenic (As)	< 3ppm	Conform
Cadmium (Cd)	< 1ppm	Conform

FORMULAZIONE 3

DIVULGAZIONE DEI RISULTATI

➤ PRIMO ANNO

L'Azienda Capofila si è occupata della creazione di un apposito sito web (<https://www.progettosmartup.it/>) da utilizzare per la divulgazione e la valorizzazione di risultati raggiunti. Inoltre sono stati utilizzati canali di comunicazione mediatici (1. <https://www.facebook.com/Smartup-106433334839304/>; 2. <https://qds.it/smart-up-estratti-benefici-unict/>; 3. <https://www.facebook.com/MedicalExcellenceTv/videos/2375126669297707/>;
4. <https://wisesociety.it/economia-e-impresa/progetto-smart-up-nutraceutici-fiori-eduli-e-bava-di-lumaca/>;
5. <https://www.cronacaoggiquotidiano.it/2021/04/07/progetto-smart-up-antiossidanti-e-antinfiammatori-per-creme-cosmetiche-e-integratori/>;
6. <https://www.facebook.com/106433334839304/videos/1089904388196740>
7. [La seconda vita \(eco\) degli scarti. A cura di Anna Fregonara. Natural Style, Volume 216, p. 132, Giugno 2021, Cairo Editore](#))

ed è stato realizzato un logo che rappresenta il GO SMART-UP. Le strategie di divulgazione sono mirate a specifici target di destinatari. Il Responsabile Scientifico, Prof.ssa Sorrenti ed il Prof. Vanella hanno partecipato all'incontro organizzato dalla Regione Siciliana/ASSESSORATO REGIONALE DELL'AGRICOLTURA, DELLO SVILUPPO RURALE E DELLA PESCA MEDITERRANEA DIPARTIMENTO REGIONALE DELL'AGRICOLTURA SERVIZIO 5° - RICERCA, ASSISTENZA TECNICA, DIVULGAZIONE AGRICOLA ED ALTRI SERVIZI ALLE AZIENDE/ "Il trasferimento delle innovazioni della ricerca in agricoltura: la Sottomisura 16.1 del PSR 2014/22", che si è tenuto a Catania Venerdì 19 Novembre 2021. Il progetto SMART UP, presentato con un poster e, insieme ad altri progetti nella relazione orale del Prof. S. Barbagallo, ha ricevuto ampio riconoscimento per l'importanza degli obiettivi progettuali nell'ambito dell'utilizzo degli scarti agroalimentari.

➤ SECONDO ANNO

L'Azienda Capofila ha continuato ad aggiornare l'apposito sito web (<https://www.progettosmartup.it/>) utilizzato per la divulgazione e la valorizzazione dei risultati raggiunti per i quali sono stati utilizzati anche canali di comunicazione mediatici (<https://www.facebook.com/100064973621714/videos/491049229321924/?>)

[so =permalink;](#)
[https://www.facebook.com/100064973621714/videos/346460057437059?](https://www.facebook.com/100064973621714/videos/346460057437059?_so =permalink)
[so =permalink\)](#)

Il Responsabile Scientifico, Prof.ssa Sorrenti ed il Prof. Vanella hanno partecipato con uno spazio espositivo dedicato al Progetto SMART UP, agli eventi: 1) ECOMED che si è svolto presso il centro fieristico “Le Ciminiere” di Catania dal 6 all’8 Aprile 2022

[\(https://www.facebook.com/100064973621714/videos/1034541533936342?](https://www.facebook.com/100064973621714/videos/1034541533936342?_so =permalink)
[so =permalink\)](#)

e 2) MEDITERRARIA che si è svolto presso il Centro fieristico “MAAS” di Catania dal 21 al 23 Aprile 2022 (<https://www.facebook.com/Smartup-106433334839304/videos/il-progetto-smartup-al-salone-mediterraria/1126238248157409/>).


La Prof.ssa Sorrenti il 7 Aprile 2022 ha presentato il Progetto SMART UP nell’ambito della comunicazione orale tenuta nel convegno sull’economia circolare svolto all’interno del Programma di Ecomed (<https://www.facebook.com/100064973621714/videos/lintervento-della-professoressa-valeria-sorrenti-al-convegno-sulleconomia-circol/1394989237616916/>).

Il Prof. Vanella e la Prof.ssa Sorrenti hanno presentato il Progetto SMART UP con un Poster dal titolo “*Beneficial effects of extracts obtained from by-product and processing waste of the main agri-food products typical of the Mediterranean area*” nell’ambito dell’evento PHARMADAY 2022 , IL DIPARTIMENTO INCONTRA LE AZIENDE 2^ EDIZIONE che si è svolto a Catania il 1 giugno 2022 presso il Dipartimento di Scienze del Farmaco e della Salute, Edificio 2, Città Universitaria, viale A. Doria, 6 –Catania.


Beneficial effects of extracts obtained from by-product and processing waste of the main agri-food products typical of the Mediterranean area

Valeria Sorrenti¹, Valeria Consoli¹, Ilaria Burò¹, Luca Vanella¹

¹Department of Drug and Health Sciences, Section of Biochemistry, University of Catania





Università di Catania



DSFS PHARMA DAY 2022

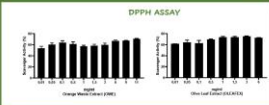
INTRODUCTION

The awareness of the large amount of waste produced along the food chain starting from the agricultural sector, from industrial transformation to the domestic context, in recent years has arisen strong concern in public opinion, which wonders about the possible consequences that this could have on environmental sustainability, resources-waste and human health. The aim of the present research is the recovery of substances with high added value from waste, by products typical of the Mediterranean area such as **passiflora** (seed of citrus peels, pulp and seeds), particularly rich in anthocyanins, flavonoids and hydroxybenzoic acids, endowed with numerous nutraceutical properties (1, 2) and the **olive leaves**, which are rich in components such as oleuropein, oleic acid, hydroxytyrosol, tyrosol and rosm. (3) Preparation of optimized natural extracts from these matrices, thanks to the effect of antioxidants naturally present, can be useful for preventing, counteracting or obviating the onset of the complications of fatty liver disease, such as Hepatic steatosis.

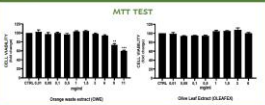



RESULTS

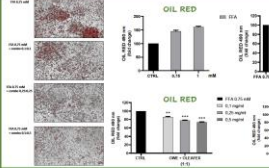
DPPH ASSAY



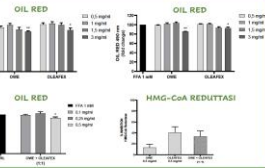
MTT TEST



OIL RED



HMG-CoA REDUTTASI




MATERIALS & METHODS

The dry powdered orange waste extract (OWE) and olive leaf extract (OLEAFEX) object of this study, were prepared from Mediterranean Nutraceutical Extracts (MedNutrae Catania, Italy). OWE and OLEAFEX scavenger activity was evaluated by DPPH assay using the reagent 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. MTT assay was used to evaluate cell viability in presence or absence of different concentrations of OWE and OLEAFEX. HepG2 cells (Hepatocarcinoma cell lines) were grown in DMEM supplemented with 10% Fetal Bovine Serum (FBS), 1% streptomycin-penicillin and 1% gentamicin. In order to create an *in vitro* model of hepatic steatosis, accumulation of lipid droplets was induced in HepG2 cells by adding a mix of three fatty acids (FA) at chosen concentrations (0.75–1 mM). Oil red O staining assay was used to evaluate lipid droplets accumulation in presence of different concentrations of OWE and OLEAFEX, tested alone or in combination with each other. *In vitro* evaluated, individually and in combination, the capacity of the two extracts to modulate activity of purified HMG-CoA reductase. HMG-CoA Reductase Activity Assay Kit, which is a colorimetric method based on the consumption of NADPH by the enzyme, was used to measure extracts effect.

CONCLUSIONS

Today, due to the importance of a vegetarian diet, many people around the world are consuming more vegetables and agricultural products. The concept of the circular economy should be considered a mandatory approach for waste management, because it is the sustainable solution for using these available wastes as valuable materials (4). Recently, extracts derived from fruit waste have captured the attention of many researchers as a new method of using these wastes (5,7). The extracts obtained in the present research from food waste, such as passiflora and olive leaves, are rich in polyphenols, have a good antioxidant capacity to reduce the accumulation of free fatty acids and could act as cholesterol-lowering agents. The synergistic effect highlighted by the co-treatment of HepG2 cells with the two extracts allows us to hypothesize that the preparation of a new nutraceutical formulation deriving from the combination of the extract obtained from "passiflora" enriched with extracts obtained from olive leaves shall enhance their antioxidant effect and can be useful in the prevention of hepatic steatosis.



DSFS PHARMA DAY, II - Dipartimento di Scienze del Farmaco e della Salute incontra le Aziende - Seconda Edizione - Catania, 1 Giugno 2022

- **TERZO ANNO e proroga**
 L'Azienda Capofila ha continuato ad aggiornare l'apposito sito web (<https://www.progettosmartup.it/>) utilizzato per la divulgazione e la valorizzazione dei risultati raggiunti per i quali sono stati utilizzati anche canali di comunicazione mediatici ([https://www.facebook.com/100064973621714/videos/491049229321924/?so=permalink](https://www.facebook.com/100064973621714/videos/491049229321924/?so=permalink;); <https://www.facebook.com/100064973621714/videos/346460057437059/?so=permalink>)
 Il Responsabile Scientifico, Prof.ssa Sorrenti ed il Prof. Vanella hanno partecipato con uno spazio espositivo dedicato al Progetto SMART UP agli eventi: **1) ECOMED** che si è svolto presso il centro

fieristico Siciliafiera (Misterbianco-CT) dal 19 al 21 Aprile 2023 **2)** e **MEDITERRARIA** che si è svolto presso Centro fieristico LE CIMINIERE, Catania dal 27 al 29 Aprile 2023.

La Prof.ssa Sorrenti ha presentato i risultati ottenuti con il Progetto SMART UP **1)** al **Convegno NUTRACEUTICI ED ECCELLENZE REGIONALI, MEDITERRARIA EXPO** con una relazione dal titolo “Da scarti agroalimentari a risorse per il benessere: pastazzo e foglie di olivo nuovi alleati contro la steatosi epatica” che si è svolta il 27 Aprile 2023, presso il Centro fieristico LE CIMINIERE, Catania; e **2)** al **Convegno di presentazione dei risultati intermedi del Progetto SMART UP” VALORIZZAZIONE DEGLI SCARTI AGROALIMENTARI: DALLA RACCOLTA ALLA PRODUZIONE DI PRODOTTI PER LA SALUTE**”, con la relazione “Valorizzazione degli scarti agroalimentari: Possibili applicazioni ed Effetti sulla Salute” Catania, 3 Maggio 2023 (<http://www.agenda.unict.it/18438-valorizzazione-degli-scarti-agroalimentari-dalla-raccolta-alla-produzione-di-prodotti-per-la-salute.htm>).

Sono stati utilizzati diversi canali di divulgazione mediatici:

1. (<https://www.blogsicilia.it/comunicati-stampa/progetto-smart-up-da-scarti-estratti-per-creme-dermatologiche-ed-integratori/861225/amp/>)
2. (<https://ennapress.it/progetto-smart-up-da-scarti-estratti-per-creme-dermatologiche-ed-integratori/>)
3. (<https://www.cronacaoggiquotidiano.it/2023/04/17/progetto-smart-up-da-scarti-estratti-per-creme-dermatologiche-ed-integratori/>)
4. INTERVISTA PER ARTICOLO “LA SICILIA” “Sicilia: innovazione per il rilancio dell’agricoltura” Economia: 18 Aprile 2023
5. INTERVISTA PER ARTICOLO “LA SICILIA” “Antiinfiammatori ed antiossidanti naturali ricavati dagli scarti di lavorazione agricola” Sanità: 1 Maggio 2023
6. INTERVISTA PER ARTICOLO “LA SICILIA” Cronaca di Catania: “Progetto SMART UP, da scarti ad estratti per creme ed integratori” 3 Maggio 2023
7. (<https://terra.regione.sicilia.it/valorizzazione-degli-scarti-agroalimentari-dalla-raccolta-alla-produzione-di-prodotti-per-la-salute/>)

8. (<https://terra.regione.sicilia.it/creme-e-integratori-i-primi-campioni-sperimentali-del-progetto-smart-up/>)
9. (<https://newsicilia.it/catania/cronaca/progetto-smart-up-da-scarti-a-estratti-per-creme-dermatologiche-e-integratori-presentati-i-campioni-sperimentali/868996/amp>)
10. (<https://amp.guidasicilia.it/rubrica/lo-scarto-che-scarto-non-e-i-risultati-del-progetto-smart-up/3018706>)
11. (<https://www.cronacaoggiquotidiano.it/2023/05/08/progetto-smartup-da-scarti-ad-estratti-per-creme-dermatologiche-e-integratori/>)
12. (https://www.siciliarurale.eu/bava-di-lumaca-ingrediente-principale-per-creme-dermatologiche_7286/amp/)
13. (<https://ennapress.it/progetto-smart-up-da-scarti-ad-estratti-per-creme-dermatologiche-e-integratori-presentati-i-campioni-sperimentali/amp/>)

La prof.ssa Sorrenti, il prof. Vanella, la dott.ssa Consoli e la dott.ssa Gulisano hanno presentato il Progetto SMART UP con un Poster dal titolo “*SNAIL EXTRACTED MUCUS AND COSMECEUTICAL APPLICATIONS: STRATEGIES TO INCREASE ITS BENEFICIAL EFFECTS*” al **62° Congresso SIB**, che si è svolto a Firenze dal 7 al 9 Settembre 2023.

Snail Extracted Mucus and Cosmeceutical Applications: Strategies To Increase Its Beneficial Effects

Authors

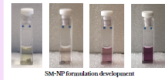
Sorrenti V.^{1,3}, Consoli V.^{1,3}, Gulisano M.¹, Petralia S.¹, Maugeri L.¹, Castellano A.², Vanella L.^{1,3}

¹ Department of Drug and Health Sciences, University of Catania, 95025 Catania, Italy;
² Mediterranean Nutraceutical Extracts (MedNutEx), Via Vincenzo Galfranca 202, 95028 Catania, Italy;
³ CERNUIT - Research Centre for Nutraceuticals and Health Products, University of Catania, 95025 Catania, Italy.



Introduction

Nowadays, several studies have highlighted the ability of snail mucus in maintaining healthy skin conditions due to its emollient, regenerative and protective properties. In particular, mucus derived from *M. aspersa muller* has already been reported to have beneficial properties such as antimicrobial activity and wound healing capacity. In order to enhance beneficial effects of snail mucus two different approaches were exploited: enrichment with antioxidant compounds derived from edible flowers wastes (edibility discards), Centaurea Cyanus, Foeniculum, Galium officinale, Moringa Oleifera) and development innovative nanoparticles with added therapeutic value.

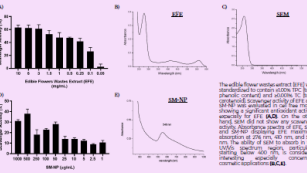


Methodology

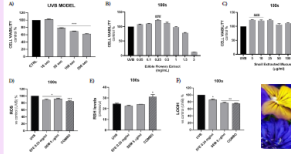
UVB-damage (λ = 280-300 nm) and LPS-induced inflammation were used as models to investigate in vitro the cytoprotective effects of edible flowers wastes extract (EFE), snail extracted mucus (SEM), and nanoparticles in keratinocytes (NCTC_2444 cells). Edible flowers wastes extract's polyphenols were used to boost antioxidant activity of snail mucus providing cytoprotective effects in previously described models. Cellular antioxidant response was evaluated by measuring GSH content, ROS and LDH4 levels. Snail mucus and edible flowers wastes extract were tested alone and in combination. Additionally, in order to enhance antioxidant activity of snail mucus, an extract was obtained by dehydration and used to develop snail mucus-coated gold nanoparticles (SM-NP) which were tested for their potential anti-inflammatory and antioxidant properties, through qRT-PCR analysis.

Results

Edible Flowers Wastes Extract, Snail Mucus and SM-NP characterization

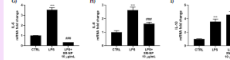


In vitro cytoprotective effect of EFE and SEM against UVB-damage



The in vitro antioxidant response showed no significant effect of EFE and SEM on ROS levels and LDH4 activity. However, the combination of EFE and SEM showed a synergistic effect, resulting in a further reduction of ROS and LDH4 activity. The combination of EFE and SEM showed a synergistic effect, resulting in a further reduction of ROS and LDH4 activity.

SM-NP anti-inflammatory activity on keratinocytes



Conclusions

In this work we demonstrated that flowers wastes can be considered valid candidates for cosmeceutical applications to enrich the snail mucus based anti-age products as they showed valid antioxidant properties. Moreover, we proved that snail mucus is suitable for creating innovative formulations as SM-NP which exhibited effective anti-inflammatory activity.

Il 19 marzo 2024 presso il Palacongressi di Taormina (ME) il Progetto SMART UP ha avuto uno spazio espositivo nella seconda edizione di **Taurmé Day**, organizzato da Giuseppe Miuccio, titolare dell'Azienda MG Trading, partner del Progetto SMART UP.

Il Progetto SMART UP ha presentato un *Application form* per partecipare al **EU CAP Network Conference 'EIP-AGRI Operational Groups: Innovation in practice'**. Il Progetto è stato selezionato e la Dott.ssa VALERIA CONSOLI, componente del team DSFS UNICT ha ricevuto un TRAVEL AND ACCOMODATION GRANT ed ha partecipato alla Conferenza che si è svolta ad Estoril (Portogallo) dal 6 al 8 Maggio 2024.

Il Progetto SMART UP è stato selezionato come esempio di Buone Pratiche di economia circolare dal Dipartimento dell'Agricoltura che con il supporto del CREA, è Partner del progetto Interreg Europe "3F Green Model", avente come tematica le sfide legate all'adattamento della strategia di economia

circolare dell'UE, nei settori agroalimentare e forestale. La dott.ssa Consoli ha presentato al **3rd Meeting del progetto Interreg Europe "3F Green Model**, che si è svolto il 15 Maggio 2024 presso il CREA di Acireale (Catania), i risultati ottenuti con il Progetto SMART UP con una relazione dal titolo "*Valorization of mediterranean agri-food waste: nutraceutical and cosmeceutical applications*"

La Prof.ssa Sorrenti, il prof. Vanella, la dott.ssa Consoli e la dott.ssa Gulisano hanno partecipato all' incontro "**SICILIA INNOVATION DAY 2024**", organizzato dalla REGIONE SICILIANA-ASSESSORATO AGRICOLTURA, SVILUPPO RURALE E PESCA MEDITERRANEA DIPARTIMENTO AGRICOLTURA Area3 Coordinamento e Gestione Generale Programmi Agrobiodiversità e Cooperazione, che si è svolto a Catania il 30 maggio 2024. L'incontro era rivolto a tutti i gruppi operativi PEI Sottomisure 16.1 e 16.2 PSR Sicilia 2014-2022 che hanno partecipato con Poster che riportavano gli obiettivi e i risultati raggiunti e presentando anche le diverse tipologie di prodotti ottenuti nel corso delle attività progettuali.

Il Progetto SMART UP ha organizzato, per presentare i risultati raggiunti, il **CONVEGNO DI PRESENTAZIONE DEI RISULTATI FINALI** "*DAGLI SCARTI AGROALIMENTARI AI PRODOTTI INNOVATIVI PER LA SALUTE ED IL BENESSERE: APPLICAZIONI BIOTECNOLOGICHE*". Tale convegno viene svolto a Catania il 25 Giugno 2024 ed i relatori sono l'*innovation broker* ed il *Responsabile scientifico* del progetto, componenti del team DSFS UNICT, esperti nella tematica di economia circolare e rappresentanti di alcune aziende del territorio.

PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE

I risultati raggiunti con il progetto sono stati oggetto di n. 3 pubblicazioni scientifiche:

RSC Advances



PAPER



Cite this: RSC Adv., 2024, 14, 7655

Innovative snail-mucus-extract (SME)-coated nanoparticles exhibit anti-inflammatory and anti-proliferative effects for potential skin cancer prevention and treatment†

Consoli Valeria,^{1b} Petralia Salvatore,^{1c} Vanella Luca,^{1b} Gulisano Maria,^{1b} Maugeri Ludovica,¹ Satriano Cristina,¹ Montenegro Lucia,^{1b} Castellano Angela¹ and Sorrenti Valeria^{1a,b}



International Journal of
Molecular Sciences

an Open Access Journal by MDPI

Standardized Extract from Wastes of Edible Flowers and Snail Mucus Ameliorate Ultraviolet B-Induced Damage in Keratinocytes

Luca Vanella; Valeria Consoli; Ilaria Burò; Maria Gulisano; Manuela Stefania Giglio; Ludovica Maugeri; Salvatore Petralia; Angela Castellano; Valeria Sorrenti

Int. J. Mol. Sci. 2023, Volume 24, Issue 12, 10185



antioxidants

an Open Access Journal by MDPI

Beneficial Effects of Standardized Extracts from Wastes of Red Oranges and Olive Leaves

Ilaria Burò; Valeria Consoli; Angela Castellano; Luca Vanella; Valeria Sorrenti

Antioxidants 2022, Volume 11, Issue 8, 1496



e di un articolo scientifico sottomesso per la pubblicazione:

Article

Red oranges and olive leaves waste-derived bioactive extracts promote adipocytes functionality *in vitro*

Maria Gulisano ^{‡1}, Valeria Consoli ^{‡1,2}, Valeria Sorrenti ^{1,2*}, Luca Vanella ^{1,2}

¹ Department of Drug and Health Sciences, University of Catania, 95125 Catania, Italy;

² CERNUT-Research Centre for Nutraceuticals and Health Products, University of Catania, 95125 Catania Italy;

* Correspondence: sorrenti@unicat.it

[‡]Co-first authors

Di seguito i principali risultati raggiunti:

Da *Antioxidants* **2022**, *11*,1496

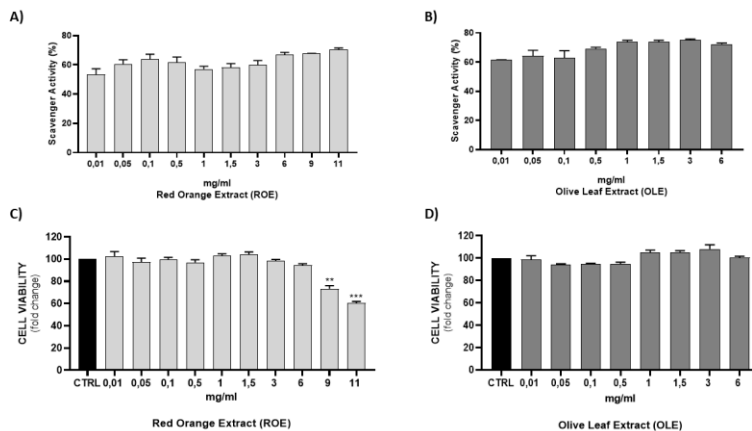


Figure 1. DPPH radical scavenging activity of (A) ROE and (B) OLE at different concentrations. Results are expressed as percentage of inhibition. Evaluation of HepG2 cell viability in absence or presence of (C) ROE and (D) OLE at different concentrations for 72 h. Results are expressed as mean \pm SEM. Significant vs CTRL: ** $p < 0,005$; *** $p < 0,0005$.

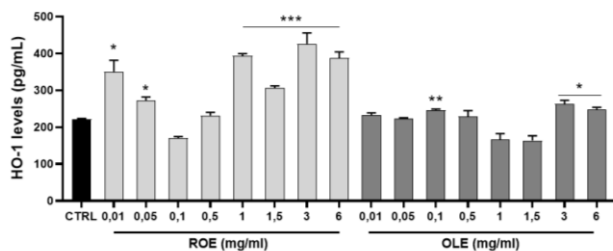


Figure 2. Measurement of HO-1 levels after 24 h of treatment with ROE and OLE at different concentrations. Results are expressed as mean \pm SEM. Significant vs CTRL: * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,0005$.

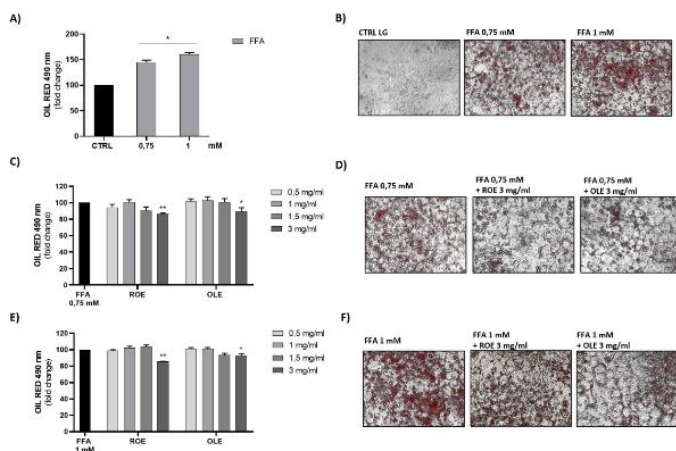


Figure 3. (A) Evaluation of lipid droplets formation after 72 h of treatment with FFA (0,75 - 1 mM) and (B) representative images of Oil Red O' staining on steatosis model. Results are expressed as mean \pm SEM. Significant vs CTRL: * $p < 0,05$. (C, E) Effect of ROE and OLE treatments on lipid droplets accumulation in presence of FFA 0,75 mM and 1 mM. Results are expressed as mean \pm SEM. Significant vs FFA (0,75 mM): * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$. Significant vs FFA (1 mM): * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$. (D, F) Representative images of Oil Red O' staining on HepG2 treated for 72 h with FFA 0,75 Mm and 1 mM in absence or in presence of higher concentration (3mg/ml) of each extract.

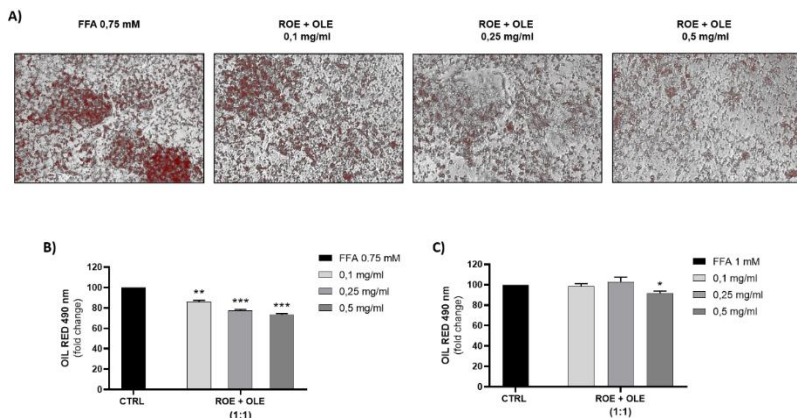


Figure 4. (A) Representative images of Oil Red O' staining on HepG2 treated for 72 h with FFA 0,75 mM and different 1:1 combination of ROE and OLE (B,C). Effect of 1:1 combinations of ROE and OLE on lipid droplets accumulation in presence of FFA 0,75 mM and 1mM. Significant vs CTRL: * $p < 0,05$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,0005$.

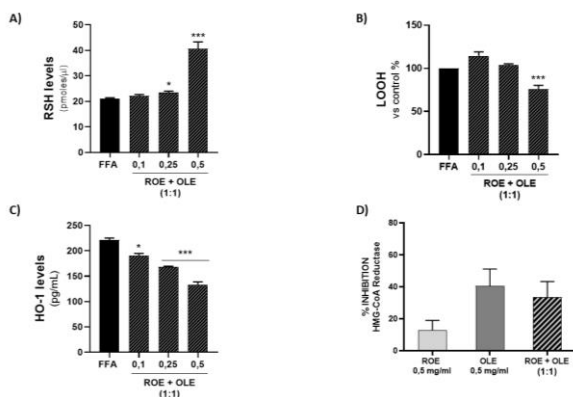


Figure 6. Evaluation after 72h of different 1:1 combination of ROE and OLE effect on (A) RSH levels; (B) LOOH; (C) HO-1 levels. Significant vs FFA: * $p < 0,05$; *** $p < 0,0005$. (D) Measurement of HMG-CoA reductase inhibiting activity of ROE and OLE (0,5 mg/ml) and 1:1 combination of them. Results are expressed as mean \pm SEM.

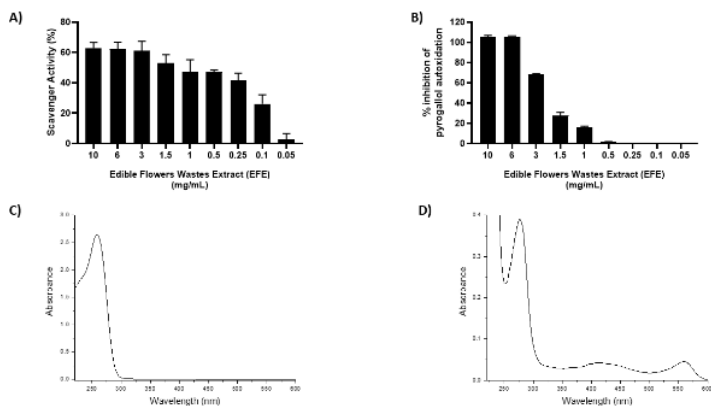


Figure 1. Evaluation of EFE antioxidant activity in a cell-free method (A-B). Optical absorption spectra ($l=1$ mm) for aqueous solution of SEM ($5 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) (C) and EFE ($0.25 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) (D).

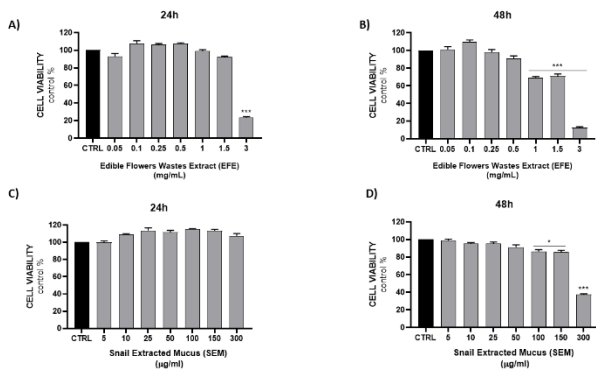


Figure 2. Evaluation of cell viability after 24-48h of treatment with different concentrations of EFE (A-B) and SEM (C-D). Results are expressed as mean \pm SEM. (* $p < 0.05$; *** $p < 0.0005$ vs CTRL).

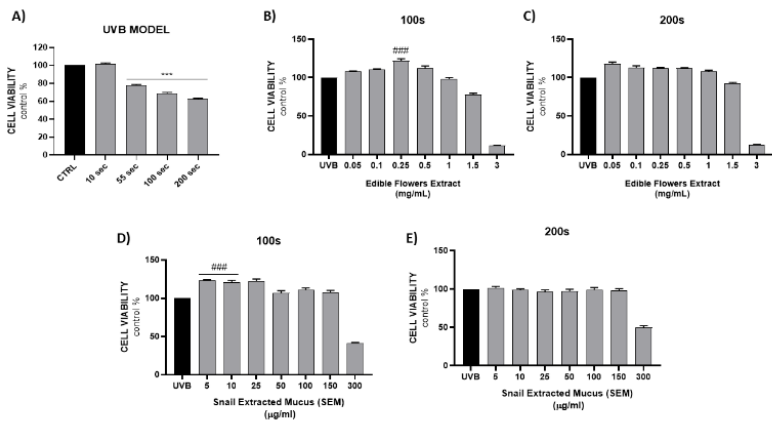


Figure 3. Assessment of cell viability following UVB model establishment (A). Evaluation of EFE and SEM protective effects on NCTC 2544 cells after UVB exposure (100-200 sec) (B-E). Results are expressed as mean \pm SEM. (* $p < 0.05$; *** $p < 0.0005$ vs CTRL; ### $p < 0.0005$ vs UVB).

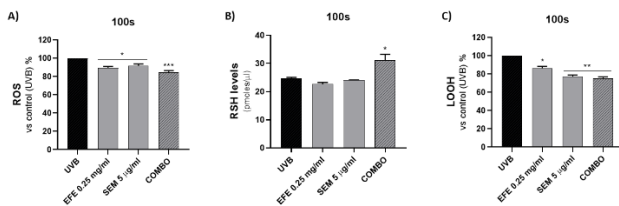


Figure 4. *In vitro* evaluation of EFE and SEM antioxidant activity alone and in combination on NCTC 2544 cells after UVB exposure (100 sec) (COMBO: SEM 5 ug/ml + EFE 0,25 mg/ml). Results are expressed as mean \pm SEM. (* $p < 0.05$; ** $p < 0.005$; *** $p < 0.0005$ vs CTRL)

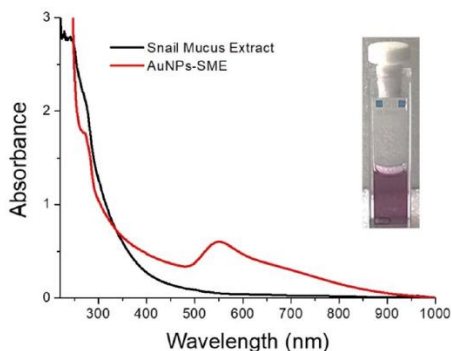


Fig. 1 Optical absorption spectrum of AuNPs-SME and snail-mucus in water. Insets the water dispersion of AuNPs-SME.

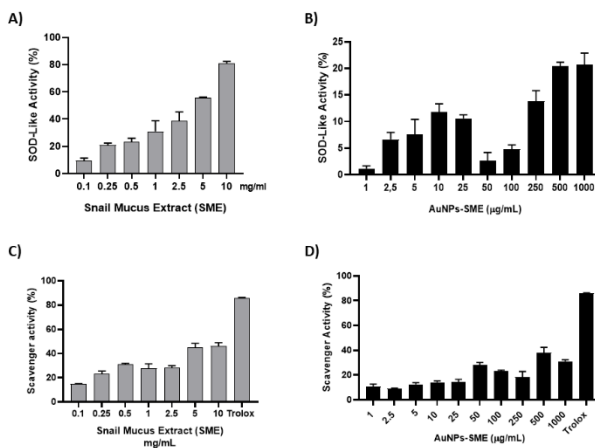


Fig. 6 Evaluation of SME and AuNPs-SME ability of inhibiting superoxide anion formation (A and B) and radical scavenging activity (C and D) in cell-free assays. (Trolox 100 mM was used as positive control for scavenger activity) Results are expressed as mean \pm SEM.

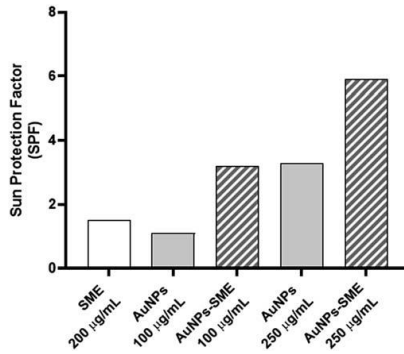


Fig. 8 Sun protection factor (SPF) of snail-mucus-extract (SME), uncoated gold nanoparticles (AuNPs) at different concentrations (100 and 250 mg mL⁻¹) and SME coated AuNPs at different concentrations (100 and 250 mg mL⁻¹).

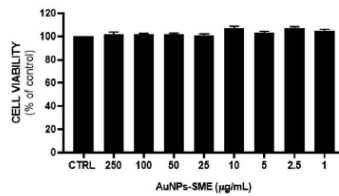


Fig. 9 AuNPs-SME effect on keratinocytes viability after 48 h treatment. Results are expressed as mean \pm SEM.

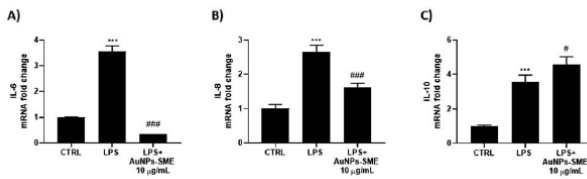


Fig. 10 Evaluation of AuNPs-SME protective effect on a LPS-induced inflammatory model through mRNA levels quantification of interleukins as IL-6 (A), IL-8 (B) and IL-10 (C). Results are expressed as mean \pm SEM. (***) p < 0.0005 vs. CTRL; # p < 0.05, ### p < 0.0005 vs. LPS-treated group).

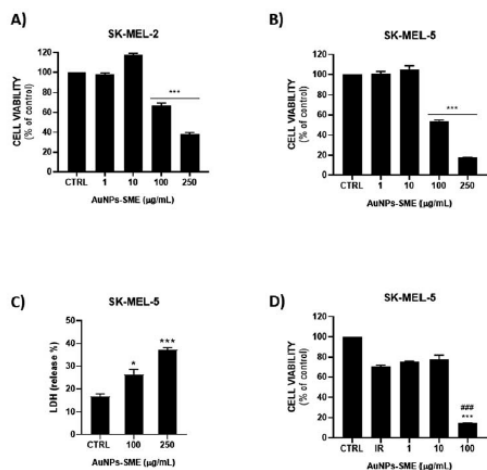


Fig. 11 AuNPs-SME effect on human melanoma cells viability (A and B), measurement of LDH release after treatment with AuNPs-SME highest concentrations (C) and evaluation of NPs potential for PTT (D) Results are expressed as mean \pm SEM. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.0005$ vs CTRL; ### $p < 0.0005$ vs. IR group: laser irradiated cells).