

LA RIVALUTAZIONE DELL'AMARO: OTTIMIZZAZIONE DEL PROCESSO ESTRATTIVO DEI COMPOSTI AMARICANTI DALLA RADICE DI GENZIANA LUTEA L.

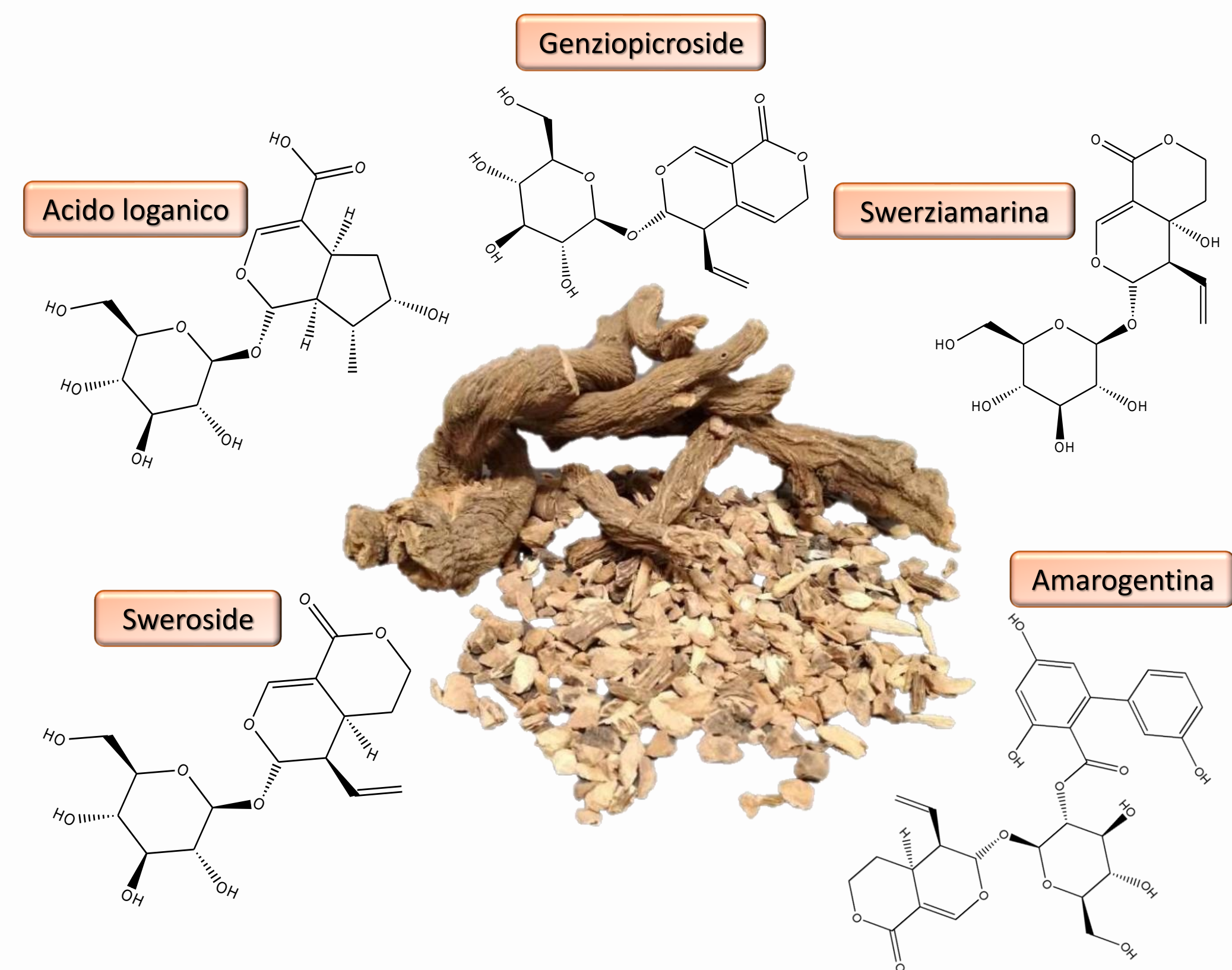
Ponticelli Maria¹, Lela Ludovica¹, Genovese Lucia¹, Labanca Fabiana¹, Genovese Giulia¹, Russo Daniela^{1,2}, Milella Luigi¹

¹ Dipartimento di Scienze, Università degli Studi della Basilicata, Viale dell'Ateneo Lucano 10, 85100 Potenza, Italia;

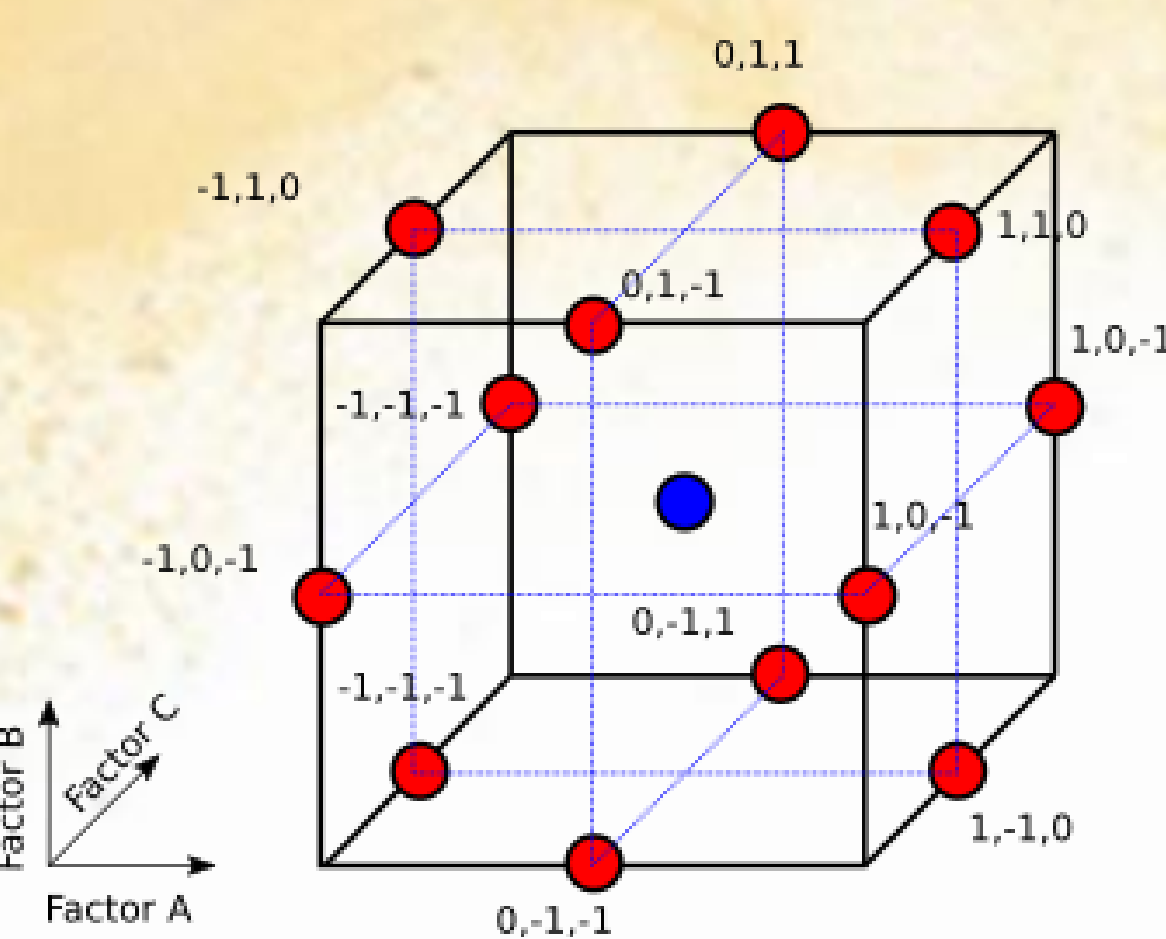
² Spinoff Bioactiplant s.r.l., Viale dell'Ateneo Lucano 10, 85100 Potenza, Italia.

INTRODUZIONE

I composti provenienti da risorse naturali sono da sempre stati parte integrante della medicina tradizionale. Negli ultimi anni la ricerca ha focalizzato l'attenzione sull'obesità e i rischi ad essa associati e quindi sui composti amaricanti in grado di dare un senso di sazietà. Tali molecole sono in grado di legare i recettori dell'amaro (T2R) espressi nel cavo orale, a livello gastrointestinale e nel sistema nervoso centrale dove sono responsabili di un'attività antinfiammatoria e anti-obesogena. La *Gentiana lutea* L. è tra le specie vegetali maggiormente ricche di composti amaricanti, quali amarogentina, gentiopicroside, sweroside, swerziamarina ed acido loganico. Queste molecole sono accomunate dalla presenza nella loro struttura del gruppo β-D-glucopiranosidico il quale è responsabile dell'attivazione di alcune isoforme dei T2R [1]. Il presente studio, in accordo con il concetto di estrazione green basato sull'utilizzo di metodiche economiche, non inquinanti e facilmente scalabili a livello industriale, è stato improntato sull'ottimizzazione del processo estrattivo dei composti amaricanti presenti nella radice di genziana mediante l'utilizzo della *Response Surface Methodology* (RSM).



Box-Behnken Design



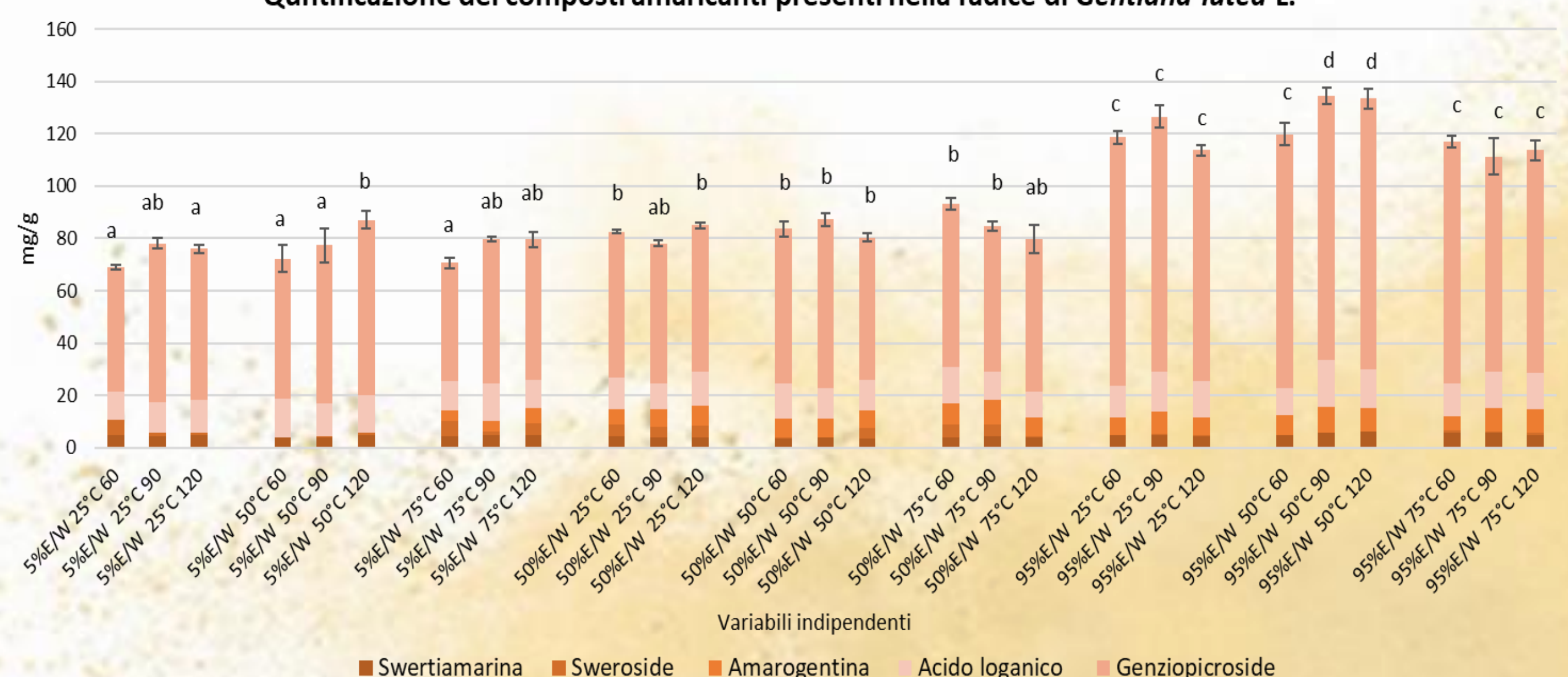
Variabili indipendenti			Variabili dipendenti
Temperatura (X ₁)	Tempo (X ₂)	Solvente (X ₃)	
25°C (-1)	60min (-1)	5%EtOH/H ₂ O (-1)	Amarogentina
50°C (0)	90min (0)	50%EtOH/H ₂ O (0)	Genziopicroside
75°C (+1)	120min (+1)	95%EtOH/H ₂ O (+1)	Composti amari totali

Livelli: -1 basso, 0 medio, 1 alto

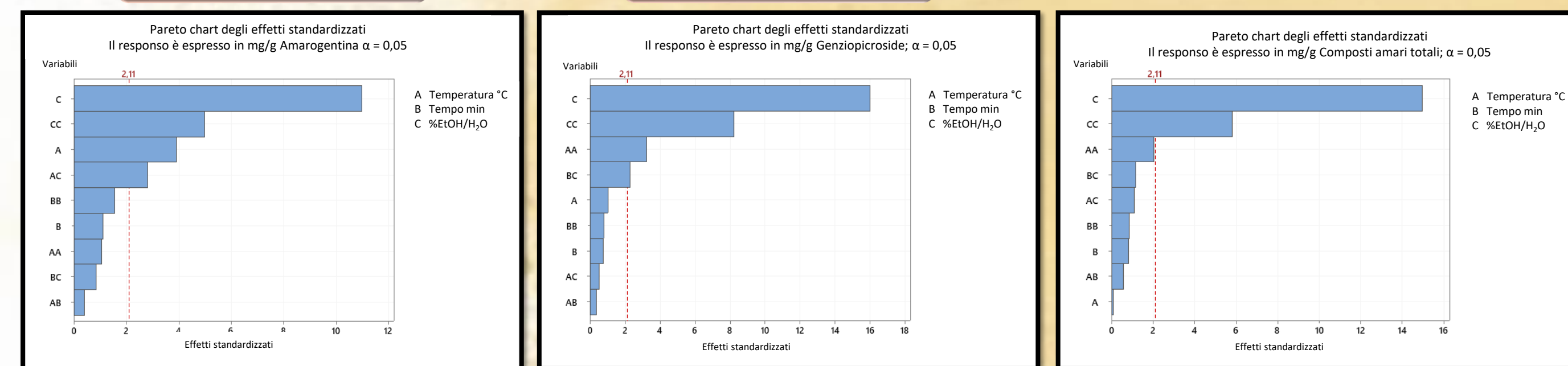
MATERIALI E METODI

Al fine di ottimizzare il processo estrattivo è stata analizzata l'influenza che tre diversi parametri quali temperatura (25-50-75°C), tempo (60-90-120min) e percentuale di etanolo (5-50-95% EtOH/H₂O), esercitano sulla resa estrattiva delle molecole amare. Il modello è stato costruito sulla base del *Box-Behnken Design* che analizza l'influenza dei parametri presi singolarmente e delle loro interazioni. La RSM è stata invece effettuata sulla base dell'analisi quali-quantitativa effettuata mediante HPLC accoppiata a rivelatore a diodi [2].

Quantificazione dei composti amaricanti presenti nella radice di *Gentiana lutea* L.



Amarogentina, Genziopicroside, Composti amari totali



Pareto chart indicanti l'influenza che le singole variabili indipendenti e le loro interazioni esercitano sulla resa finale dei composti amaricanti

RISULTATI

Sulla base dell'RSM si è notato che in tutti i casi il parametro che presenta un'influenza maggiore sulla resa estrattiva dei composti amaricanti è la percentuale di etanolo; all'aumentare di quest'ultima si ha infatti un incremento del contenuto delle molecole amare. Inoltre, per l'amarogentina incide anche l'interazione fra percentuale di etanolo e temperatura, mentre per il gentiopicroside hanno un impatto significativo le interazioni fra le percentuali di etanolo e la temperatura nonché le percentuali di etanolo ed il tempo. Sulla base di tali risultati è stata effettuata un'ottimizzazione multipla che ha permesso di definire le condizioni ottimali di estrazione per tutti i responsi contemporaneamente quali 47,71°C, 91,52 minuti, 95% EtOH/H₂O. Applicando tali parametri si ottiene una resa di 8,19; 99,18; 126,09 mg/g peso secco di amarogentina, gentiopicroside e composti amari totali, rispettivamente. Valori questi che sono superiori rispetto a quelli riscontrati in letteratura [3].

CONCLUSIONI

Dai dati ottenuti si evince che l'utilizzo dei seguenti parametri estrattivi 47,71°C, 91,52 minuti, 95% EtOH/H₂O permette di ottenere una resa massima di composti amaricanti dalla radice di *Gentiana lutea* L.. Tale studio fornisce le basi non solo per un abbattimento dei costi di produzione delle aziende produttrici, ma anche per l'ottenimento di estratti maggiormente ricchi di composti amaricanti da poter utilizzare per la formulazione di fitoterapici che, opportunamente formulati potrebbero essere dotati di attività saziante ed impiegabili in pazienti con problemi di obesità, diabete e patologie connesse all'alimentazione.

Bibliography
 [1] Sakurai, Takanobu, *et al.* "Characterization of the β-d-glucopyranoside binding site of the human bitter taste receptor hTAS2R16." *Journal of Biological Chemistry* 285.36 (2010): 28373-28378
 [2] Mennella, Ilario, *et al.* "Microencapsulated bitter compounds (from *Gentiana lutea*) reduce daily energy intakes in humans." *British Journal of Nutrition* 116.10 (2016): 1841-1850.
 [3] Mustafa, Ahmed M., *et al.* "Comparative HPLC/ESI-MS and HPLC/DAD study of different populations of cultivated, wild and commercial *Gentiana lutea* L." *Food Chemistry* 174 (2015): 426-433.