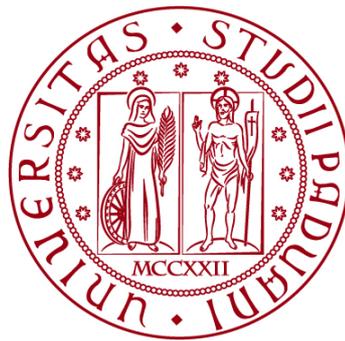


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biologia



ELABORATO DI LAUREA

***Morus alba e Morus nigra: studio sulle proprietà
e i possibili utilizzi come cibo funzionale***

**Tutor: Prof.ssa Elide Formentin
Dipartimento di Biologia**

Laureanda: Anna Richelli

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

INDICE

1. Introduzione	Pag. 3
2. Informazioni generali	Pag. 4
3. Usi nella medicina tradizionale	Pag. 5
4. Composti bioattivi	Pag. 6
4.1 Frutti	Pag. 6
4.2 Foglie	Pag. 7
4.3 Rami	Pag. 7
4.4 Semi	Pag. 8
5. Casi di studio	Pag. 8
5.1 Proprietà antiossidanti	Pag. 8
5.2 Interazioni con il metabolismo dei lipidi.....	Pag.12
6. Prospettive future e conclusioni	Pag. 16

1. Introduzione

Il concetto di cibo funzionale, termine coniato in Giappone nella metà degli anni ottanta del secolo scorso, si basa sulla capacità di certi cibi di influenzare diverse funzioni fisiologiche. Sebbene non esista una definizione unica del termine, i principali gruppi internazionali che si occupano di dietetica e nutrizione, come l'International Life Sciences Institute, l'International Food Information Council, l'European Commission, l'American Dietetic Association, e l'Accademy of Nutrition and Dietetics, concordano che i cibi funzionali apportano benefici alla salute, oltre alla basica nutrizione.

I cibi funzionali possono essere suddivisi in tre classi diverse in base alla loro preparazione: alimenti tradizionali, alimenti modificati e ingredienti singoli. Gli alimenti tradizionali contengono naturalmente composti bioattivi che conferiscono benefici sulla salute, come verdure, frutta, pesce, latticini e cereali. Gli alimenti modificati sono normali cibi che sono stati fortificati, arricchiti o potenziati con degli elementi di cibi funzionali. Alcuni esempi sono i succhi di frutta con l'aggiunta di calcio o bevande con estratti di piante. La fortificazione di un alimento comporta l'aggiunta di componenti alimentari, sia nutrienti che non-nutrienti, per migliorarne le sue proprietà. L'ultima classe comprende gli ingredienti alimentari che possono venire aggiunti alla preparazione di diversi cibi (Egbuna C. e Dable-Tupas G., 2020). È importante precisare la differenza tra cibo funzionale e nutraceutici o composti funzionali; mentre il primo termine si riferisce all'alimento completo, il secondo indica i composti presenti nei cibi con attività biologica, quindi polifenoli, fenoli, terpenoidi, alcaloidi, steroli, pigmenti e acidi grassi insaturi (Alkhatib et al., 2017). Il gelso (*Morus L.*) è una pianta ricca di nutraceutici ed ha quindi un ottimo potenziale per essere usata nella preparazione di cibi funzionali.

L'albero di gelso è originario della Cina e appartiene alla famiglia delle Moraceae, ma nel corso dei secoli si è diffuso in molte aree temperate del pianeta (Fig. 1).

In questo elaborato verranno prese in considerazione le specie più studiate: *Morus alba* L. e *Morus nigra* L. Verranno prima presentate le loro caratteristiche, quali la loro morfologia e il profilo molecolare di composti biologicamente attivi delle varie parti della pianta, successivamente verranno presi in considerazione due casi di studio: il primo riguarda le proprietà antiossidanti, mentre il secondo si concentra sull'interazione con il metabolismo dei lipidi. Infine, si tratteranno i possibili utilizzi delle varie parti della pianta come cibi funzionali e verranno presentate delle previsioni future.

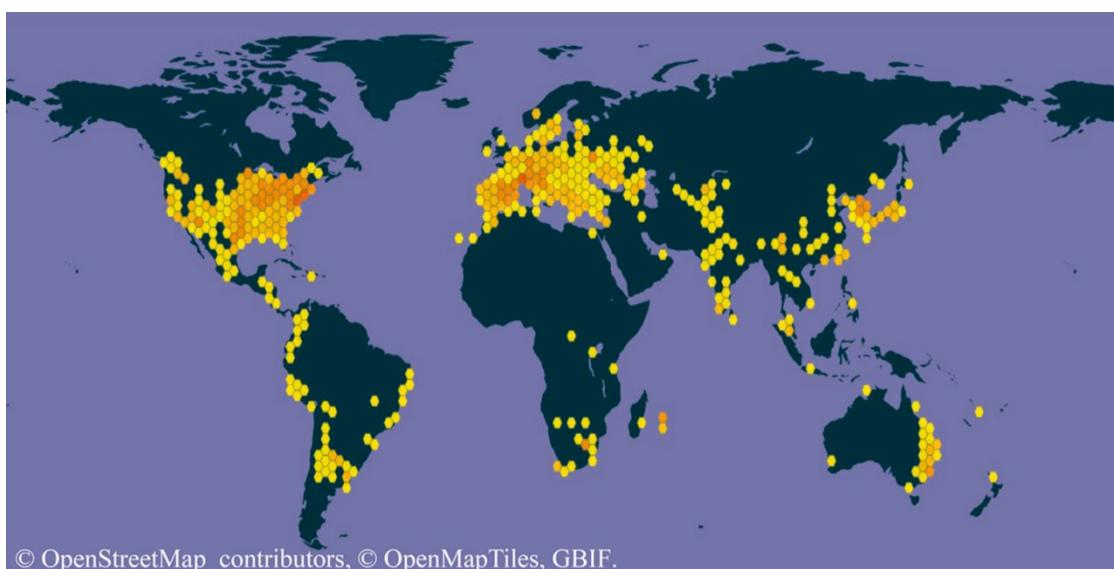


Figura 1. Osservazioni e rilevamenti della distribuzione di *Morus alba* L. dal 2001 al 2021 (Zhang et al., 2022)

2. Informazioni generali

Al genere *Morus* appartengono molte specie diverse che crescono in climi tropicali o temperati. Le più comuni sono *M. rubra* (gelso rosso), *M. nigra* (gelso nero) e *M. alba* (gelso bianco). Queste specie hanno origini diverse: *M. rubra* è originario degli Stati Uniti, *M. nigra* dell'Asia occidentale mentre *M. alba* della Cina, dove le sue foglie vengono usate da millenni come nutrimento per i bachi da seta.

Il gelso è un albero deciduo con stelo cilindrico che può arrivare fino a 13 m di altezza. Le sue foglie presentano un elevato polimorfismo: nella maggior parte dei casi hanno una forma ovato-acuta, asimmetrica alla base, in altri casi si

riconosce una forma cuoriforme, in altri ancora una forma intermedia tra le due (Figura 2). I margini portano una dentatura triangolare. Il gelso è prevalentemente dioico, con poche eccezioni e la fioritura avviene tra maggio e giugno. I fiori maschili sono amenti di forma cilindrica allungata, mentre quelli femminili sono globosi e più corti. Il frutto, la mora di gelso, è più propriamente un sorosio, un'infruttescenza formata da nocule ricoperte da un falso frutto, la polpa; l'insieme delle due forme delle sferule che si fondono insieme durante il loro sviluppo. La pianta cresce nella maggior parte dei suoli ad eccezione dei suoli fangosi, salini o acidi. Tuttavia le condizioni ideali per la crescita della pianta, e per una migliore qualità delle foglie e dei frutti, sono un suolo ricco di nutrienti, sufficientemente umido e poco acido o neutro, e una buona esposizione al sole, in quanto è necessaria molta luce per uno svolgimento ottimale dei vari processi fisiologici (Jan et al., 2021).

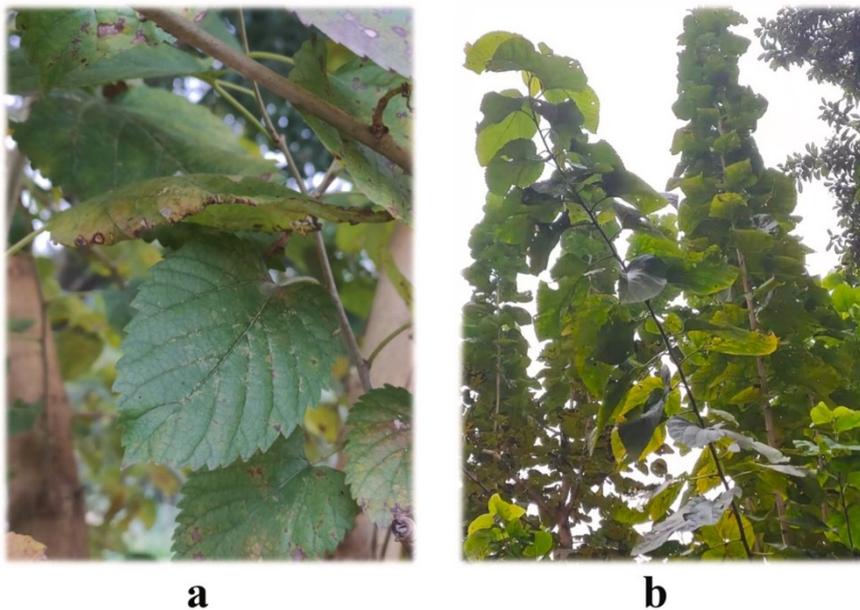


Figura 2. Esempi di foglie di gelso. (a) Foglie di *Morus alba* L., (b) Vista aerea di *Morus alba* L. (Zhang et al., 2022)

3. Usi nella medicina tradizionale

Le proprietà delle varie parti della pianta del gelso sono riconosciute dalle medicine tradizionali cinese, Unani e Ayurveda; le medicine tradizionali comprendono tutte quelle pratiche mediche tramandate dai vari popoli,

instaurate prima dell'avvento della medicina industriale, che si basano sulle tradizioni più che sul metodo scientifico. Nelle varie medicine tradizionali venivano usati foglie, frutti, radici e persino la corteccia (Chen et al., 2021). Nella medicina tradizionale cinese le foglie venivano usate come espettorante, anti-tosse, contro mal di gola, febbre, bronchite, mal di testa, giramenti di testa e come lassativo, ma anche per aiutare i pazienti affetti da diabete, in quanto le foglie, in un preparato erboristico, abbassano i livelli di zucchero nel sangue (Ma et al., 2022). In quella coreana, con il gelso, venivano trattati i gonfiori del corpo, il beriberi, il diabete e l'edema (Mahboubi et al., 2019). In Egitto, tradizionalmente, le foglie di gelso nero venivano usate per curare il diabete in quanto miglioravano lo stato redox e la risposta glicemica nel fegato (Memete et al., 2022). In generale, nel corso della storia, il gelso è stato considerato una pianta preziosa date le sue proprietà benefiche per la salute umana.

4. Composti bioattivi

Nelle varie parti della pianta si trovano diversi composti con attività biologiche, i più comuni dei quali sono i flavonoidi, con concentrazioni maggiori nell'epidermide delle foglie, nella buccia dei frutti e nella corteccia. Le concentrazioni dei vari composti dipendono dalle diverse condizioni topografiche, climatiche e pedologiche della zona dove la pianta cresce (Memete et al., 2022).

4.1 Frutti

Le more di gelso sono dei frutti contenenti poche calorie e ricchi di nutrienti e antiossidanti, inoltre contengono elementi minerali essenziali, sia macroelementi, Potassio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg) e Sodio (Na), sia microelementi, Ferro (Fe), Zinco (Zn) e Nickel (Ni). I frutti sono anche un'ottima fonte di amminoacidi e di proteine, presentano infatti 18 amminoacidi diversi, di cui 9 di quelli essenziali e, guardando il rapporto proteico, sono comparabili a cibi ricchi di proteine come il latte e il pesce. Similmente a questi ultimi, nei frutti, la quantità di acidi grassi polinsaturi (PUFA) è superiore alla quantità di acidi grassi saturi e monoinsaturi.

Le more di gelso contengono anche riboflavina, tiamina, folato, niacina, vitamine A, B-6, E e K, acido ascorbico, tocoferoli e diversi acidi organici.

I frutti sono fonte di molti composti polifenolici, la cui concentrazione varia in base alle diverse cultivar e allo stadio di maturazione. Tali composti includono flavonoidi, flavanoli, flavonoli, antocianine, acidi fenolici, oltre a fibre, β -carotene, antrachinone, glicosidi, e acido oleico. I flavonoidi sono dei polifenoli non-nutritivi con capacità antiossidante, di cui la quercetina ne compone la parte più importante. I derivati di kaempferolo e quercetina sono i componenti principali dei sottogruppi dei flavonoidi, flavanoli e nei flavonoli. Le antocianine sono pigmenti responsabili della colorazione del frutto, ma hanno anche un effetto benefico sulla salute umana agendo da antiossidanti, antibatterici e antinfiammatori: cyanidin-3-O-glucoside e cyanidin-3-rutinoside sono i più diffusi.

Gli acidi fenolici presenti sono derivati dell'acido benzoico, di cui il più abbondante è l'acido clorogenico. Inoltre, nei frutti, si trovano polisaccaridi con attività antiossidante e ipoglicemica (Manzoor et al., 2022).

Sono presenti anche degli alcaloidi, il più attivo dei quali è una piperidina polimerica composta da DNJ (1- deoxymonopramycin), un inibitore della glicosidasi. La struttura di DNJ è simile a quella del glucosio, con un azoto al posto dell'ossigeno nell'anello piranosio che inibisce l'attività dell'enzima (Zhang et al., 2022).

4.2 Foglie

I composti funzionali principali che si trovano nelle foglie di gelso sono fenoli, polisaccaridi, steroidi, amminoacidi, lignani e composti volatili. I composti fenolici sono dei forti antiossidanti e compongono la maggior parte dei nutraceutici presenti. I livelli di polifenoli variano in base alla varietà, coltivazione, maturazione e processamento delle foglie. Sono stati identificati altri composti con attività biologica, come flavonoidi, alcaloidi (tra cui DNJ), acidi fenolici, benzofurani, cumarine, chalconi e stilbeni (Ma et al., 2022).

4.3 Rami

I rami di *Morus* contengono arabinosio, glucosio, fruttosio, maltosio, stachiosio e tannini e venivano usati nelle medicine tradizionali per curare diverse malattie. Nella corteccia, infatti, si trovano principalmente flavonoidi prenilari, come morusin, mulberrin e kuwanon G, composti che rendono la corteccia responsabile di effetti benefici contro diverse malattie (Memete et al., 2022).

4.4 Semi

I semi sono poco studiati singolarmente, di solito sono incorporati nell'analisi del frutto in quanto hanno dimensioni molto ridotte e sono difficili da separare. Nei semi si trovano grandi concentrazioni di polifenoli che donano un'alta capacità antiossidante; inoltre, sono ricchi di carboidrati, acidi grassi, proteine, e sono state riportate quantità significative di tocoferoli. L'olio di semi di *M. alba* ha un grande contenuto di acidi grassi essenziali e, data la sua composizione, ha un grande potenziale come sostituto del grasso in applicazioni alimentari e non (Chen et al., 2021).

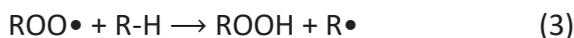
5. Casi di studio

I vari composti funzionali, presenti nelle varie parti della pianta di gelso, hanno diverse proprietà benefiche sulla salute, come spiegato in precedenza, e il loro utilizzo è documentato in diverse culture. I composti bioattivi possono essere assunti in diversi modi, come infusi, estratti, essiccati, parte di preparazioni più complesse, come nel caso dei frutti, in paste, marmellate e sciroppi. Le foglie e i frutti sono le parti più studiate, nonché le parti più facilmente reperibili della pianta. In questa analisi verranno illustrate solo due delle varie proprietà della pianta: l'attività antiossidante e l'effetto sul metabolismo lipidico.

5.1 Proprietà antiossidanti

Il nostro corpo produce naturalmente radicali liberi e antiossidanti, ma questi ultimi vengono anche assunti con la dieta e svolgono un importante ruolo di protezione delle cellule (Memete et al., 2022). I radicali liberi sono delle specie reattive, che derivano da diversi processi metabolici, ma anche da cause esterne, come radiazioni UV o raggi-X, sono presenti nell'atmosfera come inquinanti e vengono prodotti dal corpo in uno stato di infiammazione; possono venire divisi in due gruppi: le specie reattive dell'ossigeno (ROS) e le specie reattive dell'azoto (RNS). Questi composti hanno un duplice effetto, in basse concentrazioni fungono da messaggeri, mentre in alte concentrazioni sono dannosi per la struttura della cellula. Questi effetti dannosi vengono contrastati dagli antiossidanti (Valko et al., 2006), il cui ruolo è quello di risanare i danni ossidativi causati dai radicali liberi, o di prevenirli. Lo stress ossidativo corrisponde ad uno spostamento dell'equilibrio tra i radicali liberi e gli antiossidanti, verso i primi. Un alto livello di radicali liberi ha, infatti, ripercussioni sull'intero organismo, contribuendo allo sviluppo di un ampio numero di malattie. È quindi fondamentale per una buona salute avere un rapporto di antiossidanti e radicali ottimale. La capacità antiossidante di un composto può venire misurata con diversi metodi ed è importante usare più di un metodo per ottenere dei risultati rilevanti (Memete et al., 2022). I più comuni sono basati sul meccanismo del single electron transfer (SET), tra cui i saggi ABTS, DPPH e FRAP (Xiang et al., 2021). I primi due saggi prendono il nome dai composti utilizzati; 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) per il primo e 2,2-di-(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl per il secondo (Hu et al., 2022); il nome del terzo, invece, corrisponde ad una sigla derivante dal composto usato e dalle sue proprietà, ferric reducing/antioxidant power (Polunackanycz et al., 2021). Questi metodi si basano sul monitoraggio spettrofotometrico della capacità dei campioni di ridurre un radicale colorato o un composto redox. Il saggio DPPH mostra la capacità del campione di trasferire elettroni o atomi di idrogeno, mentre il saggio ABTS di scavenging radicalico dimostra la capacità di apportare idrogeno e di rompere la catena ossidativa (Xiang et al., 2021). Se un radicale R•

(Equazione (1)) si forma in presenza di ossigeno, avviene velocemente una reazione che porta alla formazione di un radicale perossilico ROO• (Equazione (2)). I radicali perossilici reagiscono con le molecole organiche dando origine a idroperossidi ROOH e ad un nuovo radicale R• (Equazione (3)). Questa catena di reazioni può essere interrotta dal legame di due radicali diversi, o dal legame di un radicale con un antiossidante (Viglianisi e Menichetti, 2019).



Le diverse parti della pianta di gelso hanno diverse concentrazioni di antiossidanti a seconda delle quantità dei diversi composti con capacità antiossidante presente. I principali composti nei frutti sono gli acidi fenolici, i flavonoidi e le antocianine, nella corteccia delle radici è la morusina, mentre nelle foglie sono la quercetina e il kaempferolo. I semi, grazie alla presenza di rutina, isoquercitina, quercitina, diidroquercitina e acido clorogenico, hanno una capacità antiossidante in DPPH superiore all'acido L-ascorbico e all' α -tocoferolo (Chen et al., 2021).

L'estratto etanolic dei rami contiene ossiresveratrolo (Oxr), un composto che ha dimostrato una forte attività antiossidante (Xiang et al., 2021).

I frutti di *M. nigra* hanno mostrato una capacità antiossidante maggiore di quelli di *M. alba*, nei saggi ABTS, DPPH e nel saggio del potere riducente (Memete et al., 2022). Le stesse parti della pianta, ma di specie diverse (*M. alba* e *M. nigra*), hanno differenze significative nella quantità di polifenoli e flavonoidi estratti; varia di conseguenza anche la capacità antiossidante delle varie parti (Xiang et al., 2021). La concentrazione di antiossidanti nel prodotto finale è influenzata anche dalla temperatura di essiccazione dei frutti e delle foglie (Chen et al., 2021).

Durante lo studio delle proprietà antiossidanti è importante tenere in considerazione che diversi metodi di estrazione portano a diverse concentrazioni

di antiossidanti nell'estratto finale (Memete et al., 2022). Nella tabella 1 vengono riportati i valori dei composti fenolici presenti nei diversi estratti delle foglie di gelso bianco e gelso nero. Gli estratti idrometanolici sono stati preparati tramite la sonicazione di 1 g di campione e 4 mL di miscela metano-acqua (80:20, v/v). Le infusioni sono state ottenute aggiungendo 1g di campione a 200 mL di acqua bollente (100°C), la miscela è stata poi lasciata a temperatura ambiente per 10 minuti. I decotti sono stati ottenuti aggiungendo 200 mL di acqua distillata ad 1 g di campione, è stato fatta bollire la miscela per 5 min, e poi è rimasta a temperatura ambiente per altri 5 min. Per ottenere le tinture sono stati fatti macerare, per 7 giorni, 3 g di campione con 50 mL di miscela etanolo-acqua (70:30, v/v), occasionalmente la tintura è stata agitata per massimizzare l'estrazione. Nella tabella 2 vengono riportati i risultati dei saggi DPPH e FRAP di diversi metodi di estrazione dei vari composti dalle foglie di *M. alba* e *M. nigra*. Nella maggior parte dei casi il gelso bianco dimostra una capacità antiossidante superiore al gelso nero. Si può pertanto chiaramente notare come diversi metodi di estrazione portano a potenziali antiossidanti diversi; durante la preparazione di un possibile cibo funzionale con estratti di foglie di gelso è quindi importante scegliere il più opportuno. Per chiarire la relazione tra i composti fenolici e l'attività antiossidante degli estratti, si è usato il coefficiente di correlazione di Pearson. I risultati mostrano che le proprietà antiossidanti sono fortemente correlate al contenuto totale di polifenoli, flavonoidi e di acido ascorbico ($r > 0,94$) per *M. nigra*, e al contenuto totale di polifenoli, flavonoidi e acidi fenolici ($r > 0,92$) per *M. alba*. Per quanto riguarda i singoli composti fenolici e l'attività antiossidante, i valori di FRAP sono fortemente correlati ($r > 0.90$) con l'acido ferrulico e l'acido rosmarinico per *M. alba*, e l'acido gallico, l'acido ferrulico e la mricetina per *M. nigra*. (Polumackanycz et al., 2021).

Nelle foglie sono presenti flavonoidi, che inibiscono la perossidazione lipidica, agendo quindi da antiossidanti (Chen et al., 2021), e polisaccaridi, che, in vitro, hanno dimostrato un significativo potere di quenching radicalico. Gli oligopeptidi presenti nelle foglie di *M. alba* possiedono, infatti, un'alta capacità di scavenging,

dimostrata attraverso i saggi DPPH, ABTS, ossido nitrico e FRAP (Maqsood et al., 2022).

Tabella 1. Contenuto di composti fenolici nei diversi estratti di foglie di gelso bianco e di gelso nero (Polumackanycz et al., 2021).

	Infusions	Decoctions	Tinctures	Hydromethanolic extracts
<i>Morus alba</i> L	mg/g	mg/g	µg/g	µg/g
gallic acid	4.34 ± 0.56 ^b	2.00 ± 0.12 ^a	179.35 ± 2.54 ^c	151.69 ± 5.37 ^d
caffeic acid	3.75 ± 0.34 ^c	0.58 ± 0.04 ^{ab}	169.91 ± 2.67 ^d	277.18 ± 2.67 ^e
<i>p</i> -coumaric acid	1.57 ± 0.27 ^b	0.92 ± 0.13 ^{ab}	227.92 ± 4.65 ^c	105.13 ± 2.53 ^d
ferulic acid	1.56 ± 0.54 ^a	1.41 ± 0.54 ^a	269.26 ± 5.48 ^d	353.94 ± 4.54 ^f
sinapinic acid	8.95 ± 1.73 ^a	0.11 ± 0.03 ^a	136.32 ± 3.76 ^b	169.12 ± 1.65 ^b
rosmarinic acid	3.44 ± 1.35 ^a	4.14 ± 0.97 ^a	778.65 ± 7.65 ^e	199.47 ± 4.54 ^c
chlorogenic acid	2.26 ± 0.87 ^c	ND	271.83 ± 5.12 ^e	ND
rutin	7.96 ± 2.75 ^c	0.22 ± 0.05 ^a	219.65 ± 5.67 ^e	461.64 ± 4.89 ^f
myricetin	3.41 ± 0.75 ^b	1.01 ± 0.43 ^a	335.11 ± 3.76 ^f	143.66 ± 2.52 ^e
naringenin	1.59 ± 0.32 ^a	1.12 ± 0.17 ^b	737.06 ± 7.23 ^f	122.46 ± 2.85 ^d
<i>Morus nigra</i> L	mg/g	mg/g	µg/g	µg/g
gallic acid	1.60 ± 0.07 ^a	2.05 ± 0.10 ^a	87.57 ± 3.46 ^c	260.47 ± 4.32 ^f
caffeic acid	1.20 ± 0.12 ^b	0.51 ± 0.01 ^a	471.19 ± 0.63 ^g	336.17 ± 1.98 ^f
<i>p</i> -coumaric acid	0.17 ± 0.02 ^a	0.73 ± 0.02 ^a	228.91 ± 4.65 ^c	184.12 ± 2.34 ^e
ferulic acid	1.43 ± 0.09 ^a	1.79 ± 0.54 ^b	167.81 ± 5.86 ^c	287.39 ± 3.57 ^e
sinapinic acid	0.99 ± 0.01 ^a	1.32 ± 0.56 ^a	797.49 ± 5.76 ^d	110.47 ± 3.56 ^c
rosmarinic acid	0.39 ± 0.03 ^a	2.53 ± 0.93 ^a	250.42 ± 5.78 ^d	111.44 ± 1.97 ^b
chlorogenic acid	0.21 ± 0.04 ^a	1.73 ± 0.36 ^b	48.82 ± 1.74 ^d	291.78 ± 4.75 ^f
rutin	0.38 ± 0.01 ^a	1.55 ± 0.43 ^b	522.06 ± 5.11 ^g	115.21 ± 1.41 ^d
myricetin	0.89 ± 0.02 ^a	1.09 ± 0.43 ^a	51.31 ± 3.87 ^c	65.55 ± 2.59 ^d
naringenin	1.44 ± 0.11 ^a	1.51 ± 0.14 ^a	139.24 ± 2.64 ^e	109.61 ± 2.97 ^c

Tabella 2. Contenuto di polifenoli totale (TPC), flavonoidi (TFC), acidi fenolici (TPAC), e valori di DPPH e FRAP di foglie di gelso bianco e di gelso nero. I risultati sono presentati come media aritmetica ± deviazione standard (SD).

TPC è espresso in mg GAE/g DW; TFC in µg QE/g DW; TPAC in µg CAE/g DW; ASA in mg ASA/g DW; DPPH in mg TE/g DW e FRAP in mmol Fe²⁺/g DW.

	Infusions	Decoctions	Tinctures	Hydromethanolic extracts
<i>Morus alba</i> L				
TPC	2.14 ± 1.15 ^c	5.36 ± 0.60 ^f	0.26 ± 0.03 ^a	0.31 ± 0.03 ^a
TFC	1.37 ± 0.07 ^b	4.21 ± 0.10 ^d	0.16 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.05 ^a
TPAC	1.13 ± 0.38 ^b	1.06 ± 0.16 ^b	0.25 ± 0.01 ^a	0.13 ± 0.01 ^a
ASA	0.54 ± 0.10 ^a	0.48 ± 0.04 ^a	0.17 ± 0.08 ^a	0.55 ± 0.02 ^a
DPPH	1.46 ± 0.03 ^c	3.96 ± 0.78 ^b	0.09 ± 0.01 ^a	0.19 ± 0.04 ^a
FRAP	15.79 ± 0.23 ^b	16.68 ± 1.59 ^b	1.06 ± 0.06 ^a	1.34 ± 0.87 ^a
<i>Morus nigra</i> L				
TPC	3.26 ± 0.75 ^c	5.19 ± 1.068 ^f	0.17 ± 0.04 ^a	0.54 ± 0.02 ^{ab}
TFC	21.10 ± 0.60 ^d	26.21 ± 0.94 ^d	0.98 ± 0.03 ^{bc}	0.43 ± 0.01 ^{ab}
TPAC	14.92 ± 0.18 ^c	11.75 ± 0.22 ^{bc}	7.74 ± 0.05 ^f	2.53 ± 0.06 ^d
ASA	0.58 ± 0.24 ^{ab}	1.29 ± 0.18 ^c	0.13 ± 0.06 ^a	0.26 ± 0.05 ^a
DPPH	4.31 ± 0.87 ^b	2.29 ± 0.21 ^d	0.16 ± 0.13 ^a	0.09 ± 0.01 ^a
FRAP	6.42 ± 0.65 ^c	10.75 ± 1.06 ^d	1.10 ± 0.53 ^a	1.18 ± 0.07 ^a

La media aritmetica seguita dalla stessa lettera nella stessa fila indica un'assenza significativa ($p < 0.05$) nel Turkey test

DW = peso secco; GAE = acido gallico equivalenti; TE = Trolox equivalenti; CAE = acido caffeico equivalenti; ASA = acido ascorbico; QE = quercetina equivalenti (Polumackanycz et al., 2021).

5.2 Regolazione del metabolismo dei lipidi

Con obesità si intende la situazione nella quale l'apporto energetico del corpo supera il consumo, questo squilibrio causa un accumulo di grasso. Questa condizione è dovuta ad una combinazione di fattori, sia genetici che ambientali, e presenta un forte legame con la comunità batterica intestinale (Li et al., 2019). L'obesità aumenta il rischio di diverse malattie, quali il diabete di tipo 2, ipertensione, dislipidemia, malattie delle coronarie, alcuni tipi di cancro e l'osteoartrite. L'adipogenesi, il processo di differenziamento dei preadipociti in adipociti maturi, ha un ruolo importante nello sviluppo dell'obesità, in quanto il tessuto adiposo possiede un ruolo centrale nell'immagazzinamento di trigliceridi e nel mantenimento dell'omeostasi dei lipidi (Mahboubi et al., 2019). Durante l'adipogenesi, le cellule mostrano un cambiamento nell'espressione genica, i livelli di espressione dei fattori di trascrizione adipogenici cambia a seconda del processo di differenziamento (Lee e Kim, 2020). I geni PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) codificano per dei recettori nucleari con funzione di fattori di trascrizione. Questi recettori agiscono principalmente sui geni coinvolti nel metabolismo dei lipidi e del glucosio, PPAR- α agisce principalmente sull'ossidazione degli acidi grassi, mentre PPAR γ è associato all'accumulo di lipidi e alla sensibilizzazione all'insulina. L'estratto di foglie o di frutti di gelso ha degli effetti sul metabolismo dei lipidi, anche interagendo con i PPAR (Carneiro et al., 2022). Per verificare se l'estratto dei frutti di *M. alba* (MFE) riduce l'accumulo di lipidi, attraverso un meccanismo di regolazione dei geni correlati all'adipogenesi negli adipociti 3T3-L1, le cellule sono state incubate per 7 giorni in diverse concentrazioni, 0 (controllo trattato con DM, differentiation medium, contenente 3-isobutil-1-metilxantina (IBMX; 0.5 mM)), 50, e 100 ng/mL di MFE. Alla fine del periodo di incubazione sono stati misurati i livelli di tre diversi mRNA (Fig. 3), il recettore- γ proliferatore-attivato (PPAR γ), il CCAAT/attivatore che lega la proteina- α (Cebp- α) e la proteina degli adipociti 2 (Ap2). I primi due sono importanti regolatori trascrizionali, con un ruolo importante nel processo di differenziamento degli adipociti, e il segnalatore adiposo-specifico Ap2 è regolato dall'azione di PPAR γ e Cebp- α .

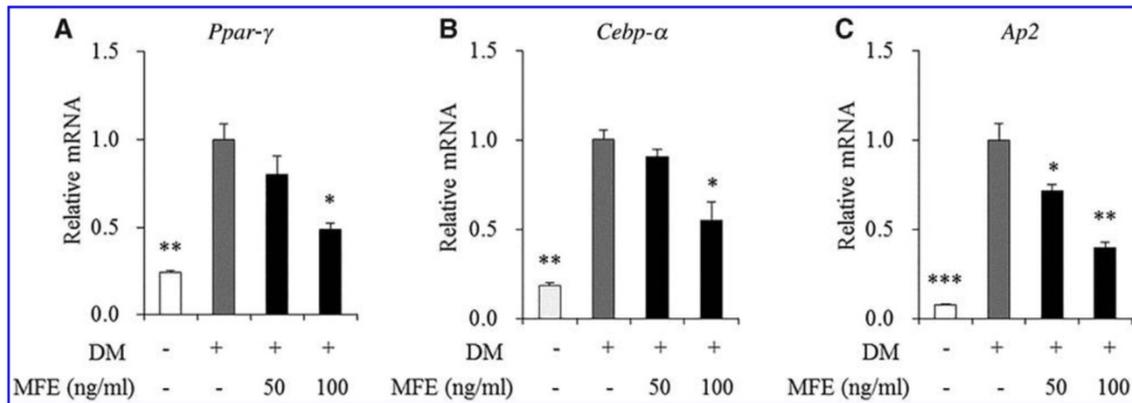


Figura 3. Effetti di MFE sull'espressione dei geni coinvolti nell'adipogenesi degli adipociti. Le cellule 3T3-L1 sono state trattate con 0 (controllo DM), 50, e 100 ng/mL di MFE, e incubate per 7 giorni. I livelli di PPAR γ (A), Cebp- α (B), e Ap2 (C) sono stati determinati tramite qRT-PCR.

Nelle cellule incubate con la concentrazione di 100 ng/mL di MFE, i livelli di mRNA di PPAR γ , Cebp- α e di Ap2 si sono ridotti del 51.3%, 45.0%, e 60.3%, rispettivamente. Per misurare l'effetto di MFE sull'accumulo di lipidi durante il differenziamento degli adipociti è stata usata la colorazione Oil Red O. Le cellule sono state incubate per 7 giorni a concentrazioni di 0 ng/mL (controllo trattato con DM), 50, e 100 ng/mL di MFE. Al settimo giorno si sono riscontrate delle differenze nel differenziamento degli adipociti (Fig. 4A), il contenuto di lipidi in 50 e 100 ng/mL di MFE si è ridotto, rispettivamente, del 10.3% e del 20.7% (Fig. 4B). La misura del contenuto di trigliceridi (TG) si è ottenuta incubando le cellule per 4 o 7 giorni con 0 ng/mL (controllo trattato con DM) e 100 ng/mL di MFE. Dopo 7 giorni, si è riscontrato un calo del 20.6% del contenuto di TG, nelle cellule con MFE, rispetto al controllo (Fig. 4C). AMPK è un sensore di energia molto importante per la regolazione della produzione e del metabolismo dei lipidi. Quando è attivo, inibisce il differenziamento dei lipidi inibendo PPAR γ e Cebp- α . Gli adipociti incubati per 7 giorni con concentrazioni di 100 ng/mL di MFE, mostrano un incremento dell'attività di AMPK di 1.64 volte rispetto al controllo trattato con DM. Tutti questi risultati suggeriscono che MFE può avere un effetto benefico per inibire l'accumulo di grasso (Lee e Kim, 2020).

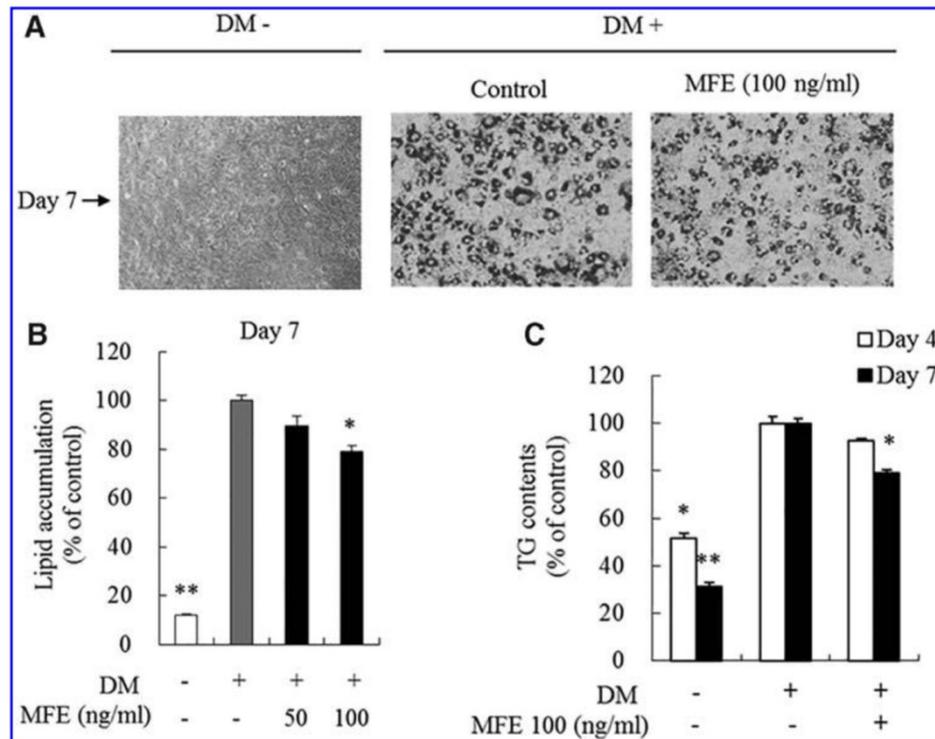


Figura 4. Effetti di MFE su i lipidi intracellulari e l'accumulo di TG durante il differenziamento adipocitico. (A) Cambiamenti osservati nel differenziamento degli adipociti al settimo giorno di incubazione, presentati con colorazione Oil Red O. Le immagini rappresentative delle cellule sono state prese con un ingrandimento 200x. (B) Il contenuto intracellulare di lipidi è stato tinto con la colorazione Oil Red O, e le goccioline di olio tinte sono state dissolte con isopropanolo e quantificate tramite un'analisi spettrofotometrica. (C) Il contenuto intracellulare di TG è stato determinato usando un metodo colorimetrico enzimatico. I valori espressi sono le medie \pm SEM (errore standard della media) (Lee e Kim, 2020).

Ulteriori studi sono stati condotti sull'effetto dell'estratto idroetanolico di foglie di *Morus nigra* (HEMNL) sull'attivazione dei recettori nucleari PPAR- γ e PPAR- α . Come confronto sono stati usati, per PPAR- γ , il rosiglitazone, uno stimolante, e GW 9662, un antagonista di PPAR- γ selettivo e irreversibile, e, per PPAR- α , WY 14642, per il controllo positivo, e GW 6471, un antagonista. Inoltre, è stata misurata l'attivazione dei due recettori da parte delle sostanze isoquercitrina e rutina per valutare il loro ruolo nel processo. Sono stati scelti questi due composti in quanto ad un'analisi HPLC (High Performance Liquid Chromatography) risultavano in quantità maggiore, con 3.74 $\mu\text{g}/\text{mg}$ per la rutina e 5.92 $\mu\text{g}/\text{mg}$ per l'isoquercetina. Le concentrazioni scelte corrispondono alle concentrazioni corrispondenti alla loro presenza nell'estratto. I risultati ottenuti vengono riportati in figura 5 per PPAR- γ , e in figura 6 per PPAR- α . HEMNL mostra

un aumento dell'attività di entrambi PPAR- γ e PPAR- α , superiore all'aumento dei rispettivi controlli positivi (rosiglitazone e WY 14642). Questo risultato è probabilmente dovuto ad un effetto sinergico dei composti presenti nell'HEMNL, i composti principali, rutina e isoquercetina, isolati non hanno mostrato un aumento significativo dell'attivazione dei recettori

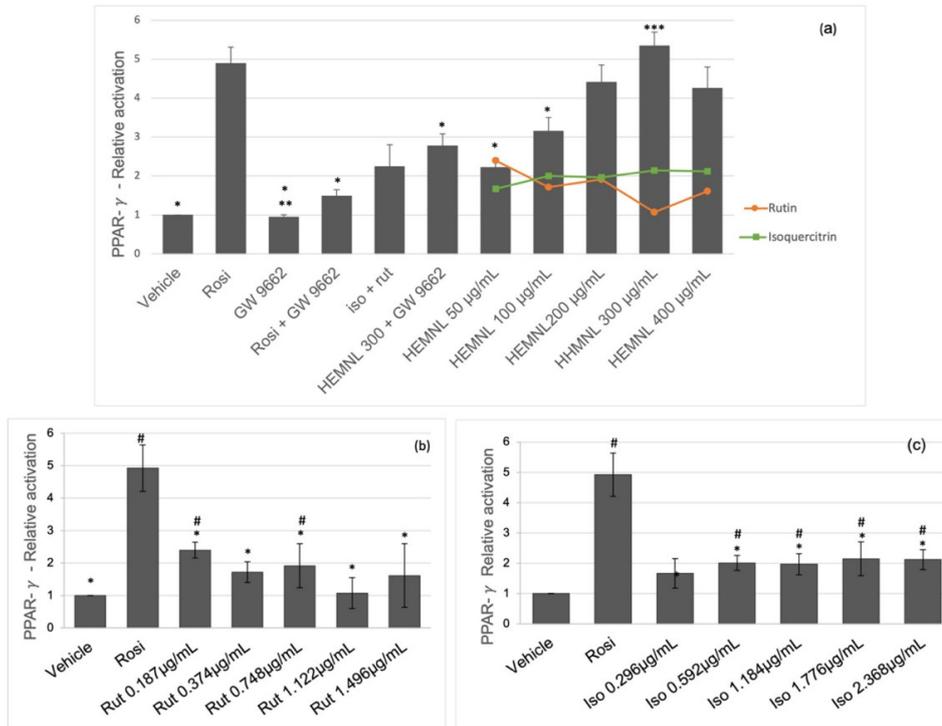


Figura 5. Attivazione di PPAR- γ valutata tramite Luciferase Report Assay. Rosi: Rosiglitazone 10^{-5} M—PPAR- γ stimolante; GW 9662 10^{-5} M—PPAR- γ antagonista. Iso + Rut: Isoquercetina 1.77 μ g/mL rutina 1.12 μ g/mL; HEMNL: estratto idrometanolico di foglie di *Morus nigra*; Vehicle: DMEM con 2% di etanolo. (a) Attivazione di PPAR- γ da HEMNL confrontato all'attivazione da rutina (linea arancione) o isoquercetina (linea verde) misurati separatamente in concentrazioni corrispondenti alla loro presenza nell'estratto. (b) Attivazione di PPAR- γ da rutina. (c) Attivazione di PPAR- γ da isoquercetina. I dati rappresentano la media \pm la deviazione standard (Carneiro et al., 2022).

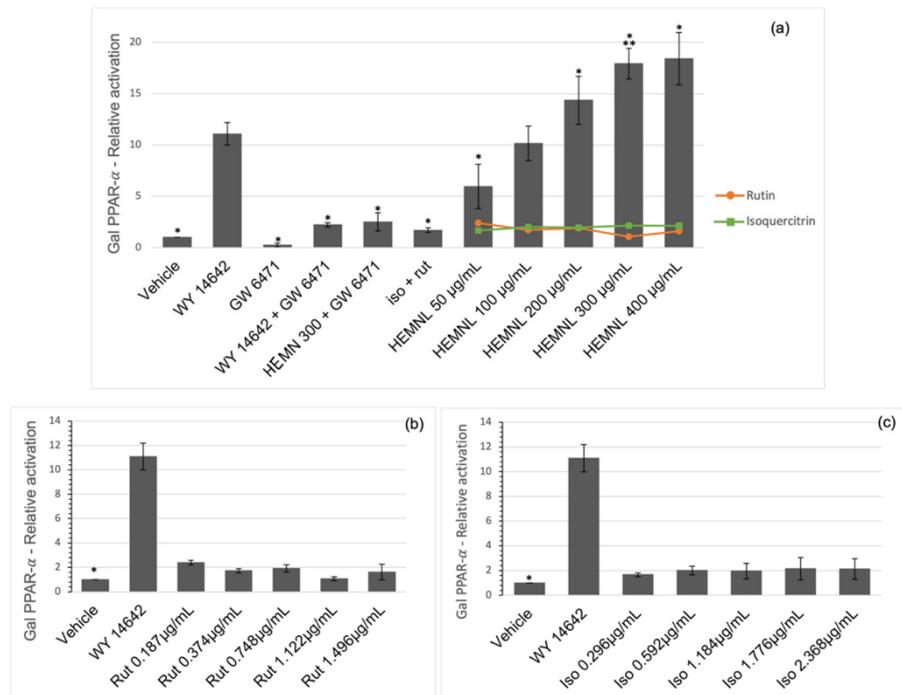


Figura 6. Attivazione di PPAR- α valutata da Luciferase Reporter Assay. WY 14642: 10^{-5} M—PPAR-PPAR- α stimolante; GW 6471 10^{-4} M—PPAR- α antagonista. Iso + Rut: Isoquercetina $1.77 \mu\text{g}/\text{mL}$ e rutina $1.12 \mu\text{g}/\text{mL}$; HEMNL: estratto idrometanolico di foglie di *Morus nigra*; Vehicle: DMEM con 2% di etanolo. (a) Attivazione di PPAR- α da HEMNL confrontato all'attivazione da rutina (linea arancione) o isoquercetina (linea verde) misurati separatamente in concentrazioni corrispondenti alla loro presenza nell'estratto. (b) Attivazione di PPAR- α da rutina. (c) Attivazione di PPAR- α da isoquercetina. I dati rappresentano la media \pm la deviazione standard (Carneiro et al., 2022).

6. Conclusioni e prospettive future

I vari organi del gelso sono ricche di composti funzionali utili per la salute umana e la pianta viene sfruttata da millenni nella medicina tradizionale in diverse aree del pianeta. Le condizioni che portano ad una crescita ottimale della pianta sono un'area soleggiata e un suolo ricco i nutrienti. Questo ne ha reso possibile una grande diffusione nelle aree temperate della Terra. Gli effetti benefici del gelso osservati nel passato sono oggi confermati da esperimenti scientifici e lo studio dei composti estratti dal gelso è ancora in corso.

I frutti hanno un profilo nutrizionale ottimo, sono ricchi di proteine, amminoacidi, micro e macro elementi e antiossidanti. Da essi si possono ottenere diversi preparati che mantengono le proprietà benefiche degli stessi. I frutti, le foglie e i semi di *Morus alba* e *Morus nigra* hanno un forte potere antiossidante dovuto alla presenza di composti funzionali come polifenoli,

flavonoidi e polisaccaridi. Questi composti hanno attività di scavenging e quenching radicalico. Gli antiossidanti sono molto importanti per la salute umana, in quanto proteggono le cellule dai danni ossidativi e aiutano a prevenire diverse malattie. Possono quindi venire considerati come un cibo funzionale tradizionale.

Diversi studi sulla tossicità delle varie parti della pianta sono stati effettuati, e i risultati dimostrano che il gelso può essere usato in sicurezza. Si è osservato che, indipendentemente dal metodo di somministrazione o di estrazione, non ci sono cambiamenti significativi nei parametri ematologico, biochimico o istopatologico dei test sugli animali. Sono però necessari ulteriori studi in vivo per confermare i limiti tossicologici (Zhang et al., 2022).

Gli estratti di foglie e frutti di *M. nigra* e *M. alba* sono ricchi di composti bioattivi molto importanti per la salute umana. Questi composti hanno non solo proprietà antiossidante ma agiscono sul metabolismo lipidico, a livello dell'accumulo di colesterolo e lipidi. Sono però necessari ulteriori studi per una comprensione più accurata dei meccanismi di interazione tra i polifenoli del gelso con il metabolismo lipidico.

I frutti possono essere consumati sia freschi che essiccati, come marmellate, sciroppi o succhi, o possono essere usati per fortificare altri alimenti come yogurt, cioccolata fondente e prodotti di carne di maiale (Maqsood et al., 2022) Le foglie possono essere utilizzate per la preparazione di infusi, decotti o tinture (Polumackanycz et al., 2021). Le foglie e i frutti hanno quindi un grande potenziale per diventare dei cibi funzionali di grande valore.

Morus alba e *Morus nigra* possono quindi essere usati come fonte di molti composti fitochimici, sono però necessari ulteriori studi per lo sviluppo di strategie di preservazione ottimali, per poter aumentare la sicurezza dei prodotti e la loro qualità (Memete et al., 2022).

7. Bibliografia

- Egbuna C. e Dable-Tupas G., 2020, Functional Foods and Nutraceuticals: Bioactive Components, Formulations and Innovations. Germany: Springer International Publishing, eBook, pp 1-5
- Alkhatib A, Tsang C, Tiss A, Bahorun T, Arefanian H, Barake R, Khadir A, Tuomilehto J. Functional Foods and Lifestyle Approaches for Diabetes Prevention and Management. *Nutrients*. 2017 Dec 1, 9(12):1310
- Zhang R, Zhang Q, Zhu S, Liu B, Liu F, Xu Y. Mulberry leaf (*Morus alba* L.): A review of its potential influences in mechanisms of action on metabolic diseases. *Pharmacol Res*. 2022 Jan;175:106029. Epub 2021 Dec 8
- Jan B, Parveen R, Zahiruddin S, Khan MU, Mohapatra S, Ahmad S. Nutritional constituents of mulberry and their potential applications in food and pharmaceuticals: A review. *Saudi J Biol Sci*. 2021 Jul;28(7):3909-3921. Epub 2021 Mar 31.
- Chen C, Mohamad Razali UH, Saikim FH, Mahyudin A, Mohd Noor NQI. *Morus alba* L. Plant: Bioactive Compounds and Potential as a Functional Food Ingredient. *Foods*. 2021 Mar 23;10(3):689
- Ma G, Chai X, Hou G, Zhao F, Meng Q. Phytochemistry, bioactivities and future prospects of mulberry leaves: A review. *Food Chem*. 2022 Mar 15;372:131335. Epub 2021 Oct 5.
- Mahboubi M. *Morus alba* (mulberry), a natural potent compound in management of obesity. *Pharmacol Res*. 2019 Aug;146:104341. Epub 2019 Jul 2.
- Memete AR, Timar AV, Vuscan AN, Miere Groza F, Venter AC, Vicas SI. Phytochemical Composition of Different Botanical Parts of *Morus* Species, Health Benefits and Application in Food Industry. *Plants (Basel)*. 2022 Jan 6;11(2):152.
- Manzoor MF, Hussain A, Tazeddinova D, Abylgazinova A, Xu B. Assessing the Nutritional-Value-Based Therapeutic Potentials and Non-Destructive Approaches for Mulberry Fruit Assessment: An Overview. *Comput Intell Neurosci*. 2022 Mar 24;2022:6531483.

- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006 Mar 10;160(1):1-40. Epub 2006 Jan 23.
- Polumackanycz M, Wesolowski M, Viapiana A. *Morus alba* L. and *Morus nigra* L. Leaves as a Promising Food Source of Phenolic Compounds with Antioxidant Activity. *Plant Foods Hum Nutr.* 2021 Dec;76(4):458-465. Epub 2021 Sep 27.
- Viglianisi C, Menichetti S. Chain Breaking Antioxidant Activity of Heavy (S, Se, Te) Chalcogens Substituted Polyphenols. *Antioxidants (Basel).* 2019 Oct 16;8(10):487.
- Xiang W, Xia Z, Xu L. UPLC-MS/MS Profiling, Antioxidant, α -Glucosidase Inhibitory, Cholinesterase Inhibitory, and Cardiovascular Protection Potentials of Jialing 20 (*Morus multicaulis* Perr.) Mulberry Branch Extract. *Foods.* 2021 Nov 2;10(11):2659.
- Maqsood M, Anam Saeed R, Sahar A, Khan MI. Mulberry plant as a source of functional food with therapeutic and nutritional applications: A review. *J Food Biochem.* 2022 Nov;46(11):e14263. Epub 2022 May 31.
- Li Q, Liu F, Liu J, Liao S, Zou Y. Mulberry Leaf Polyphenols and Fiber Induce Synergistic Antiobesity and Display a Modulation Effect on Gut Microbiota and Metabolites. *Nutrients.* 2019 May 6;11(5):1017.
- Lee MS, Kim Y. Mulberry Fruit Extract Ameliorates Adipogenesis *via* Increasing AMPK Activity and Downregulating MicroRNA-21/143 in 3T3-L1 Adipocytes. *J Med Food.* 2020 Mar;23(3):266-272.
- Carneiro AA, Sinoti SBP, de Freitas MM, Simeoni LA, Fagg CW, Magalhães PO, Silveira D, Fonseca-Bazzo YM. Hydroethanolic Extract of *Morus nigra* L. Leaves: A Dual PPAR- α/γ Agonist with Anti-Inflammatory Properties in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW 264.7. *Plants (Basel).* 2022 Nov 17;11(22):3147.