



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE
ALIMENTARI E AMBIENTALI
Corso di Laurea Triennale
in Scienze e Tecnologie Agrarie

ANALISI DELLA COMPOSIZIONE BOTANICA E DEL CONTENUTO
FENOLICO DI POLLINI D'APE MULTIFLORALI PROVENIENTI DA DIVERSE
ZONE DELLE MARCHE

Palynological analysis and phenolic content of Multifloral Bee Pollen loads from
Marche region.

Tesi di Laurea di
Alessia Carradorini

Relatore
Patricia Carloni
Correlatore
Sara Castiglioni

SOMMARIO

1.	ABSTRACT.....	1
2.	INTRODUZIONE.....	2
3.	CLASSIFICAZIONE DELLE PIANTE.....	3
3.1.	PTERIDOFITE.....	4
3.2.	SPERMATOFITE.....	4
3.2.1.	Le gimnosperme.....	5
3.2.2.	Le angiosperme.....	5
3.3.	IL FIORE.....	6
3.3.1.	Impollinazione.....	7
3.4.	Il Polline.....	8
3.5.	SPECIE BOTANICHE.....	9
3.5.1.	<i>Acer</i> (<i>Acer campestre</i> L. - Loppo).....	9
3.5.2.	<i>Castanea</i> (<i>Castanea sativa</i> Mill., 1768 - Castagno).....	10
3.5.3.	<i>Cercis</i> (<i>Cercis siliquastrum</i> , L. 1758 - Albero di Giuda).....	11
3.5.4.	<i>Cistus incanus</i> (<i>Cistus × incanus</i> L., 1753 - Cisto Rosso).....	12
3.5.5.	<i>Cistus salviifolius</i> (<i>Cistus salviifolius</i> L., 1753 - Cisto Femmina).....	13
3.5.6.	<i>Clematis</i> (<i>Clematis vitalba</i> L. - Vitalba).....	13
3.5.7.	Cruciferae (<i>Brassica napus</i> L., 1753 - Colza).....	14
3.5.8.	<i>Erica</i> (<i>Erica arborea</i> L., 1753 - Erica).....	15
3.5.9.	<i>Fraxinus Ornus</i> (<i>Fraxinus Ornus</i> L. -Orniello).....	16
3.5.10.	<i>Genista</i> f. (<i>Spartium junceum</i> L. – Ginestra Odorosa).....	16
3.5.11.	<i>Malus</i> f. (<i>Malus domestica</i> Borkh., 1803 – Melo).....	17
3.5.12.	<i>Olea</i> f. (<i>Olea europaea</i> L., 1753 – Ulivo).....	18
3.5.13.	<i>Onobrychis</i> (<i>Onobrychis</i> Mill. - Lupinella).....	19
3.5.14.	<i>Papaver</i> (<i>Papaver rhoeas</i> L. - Papavero).....	20
3.5.15.	<i>Prunus</i> f. (<i>Prunus spinosa</i> L. - Prugnolo).....	20
3.5.16.	<i>Pyrus</i> f. (<i>Pyrus communis</i> L. - Pero).....	21
3.5.17.	<i>Quercus ilex</i> gr. (<i>Quercus ilex</i> L., 1753 - Leccio).....	22
3.5.18.	<i>Quercus robur</i> gr. (<i>Quercus robur</i> L., 1753 – Farnia, Quercia).....	23
3.5.19.	<i>Robinia</i> (<i>Robinia pseudoacacia</i> L. – Acacia).....	23
3.5.20.	<i>Rubus</i> f. (<i>Rubus ulmifolius</i> Schott, 1818 - Rovo).....	24
3.5.21.	<i>Salix</i> (<i>Salix</i> – Salice).....	25

3.5.22.	Trifolium alexandrinum (<i>Trifolium alexandrinum</i> L. - Trifoglio alessandrino)	26
3.5.23.	Trifolium repens gr. (<i>Trifolium repens</i> , L. 1753 – Trifoglio bianco),.....	26
3.5.24.	Umbelliferae forma A (<i>Coriandrum sativum</i> L. - Coriandolo).....	27
3.5.25.	Vitis (<i>Vitis vinifera</i> L., 1753 – Vite)	27
4.	LO STRESS OSSIDATIVO	29
4.1.	Gli antiossidanti	29
4.2.	Antiossidanti endogeni	30
4.2.1.	Glutazione	30
4.2.2.	Coenzima Q.....	31
4.3.	Antiossidanti esogeni.....	31
4.3.1.	Vitamina C o Acido Ascorbico	32
4.3.2.	Vitamina A (retinolo) e carotenoidi	32
4.3.3.	Vitamina E o α -Tocoferolo	33
4.3.4.	Polifenoli	34
4.3.5.	Acidi Fenolici.....	34
4.3.6.	Flavonoidi.....	36
4.4.	Metodi per la determinazione del potere antiossidante negli alimenti	36
4.4.1.	Metodo di Folin-Ciocalteu (TPC).	38
5.	IL POLLINE D'API.....	39
5.1.	Composizione del polline d'api.....	40
5.2.	Proprietà del polline d'api	41
5.2.1.	Proprietà Antinfiammatorie.....	41
5.2.2.	Proprietà Anticancerogene	42
5.2.3.	Proprietà antibatteriche e Antifungine	42
5.2.4.	Proprietà Epatoprotettive.....	42
5.2.5.	Proprietà Antiaterosclerotiche	42
6.	PARTE SPERIMENTALE	43
6.1.	Campioni.....	43
6.2.	ANALISI POLLINICA	45
6.3.	GRANULOMETRIA	47
6.4.	CONTENUTO FENOLICO TOTALE (TPA)	48
6.4.1.	Principio del metodo	48
6.4.2.	Preparazione estratti	48

6.4.3.	Test di Folin-Ciocalteu	49
6.4.4.	Elaborazione dati	50
7.	RISULTATI.....	51
8.	CONCLUSIONI.....	59
9.	BIBLIOGRAFIA	60
9.1.	CLASSIFICAZIONE DELLE PIANTE.....	60
9.2.	LO STRESS OSSIDATIVO	60
9.3.	IL POLLINE D’API	61
9.4.	PARTE SPERIMENTALE.....	61
9.5.	RISULTATI.....	61

1. ABSTRACT

Pollen is the fertilizing element of flowers. It is contained in the stamens of flowers and is composed of very small granules. Based on the flower of origin it presents the variable color: yellow, green, pink, white, red, brown. Pollen is collected by bees which, passing from flower to flower, favors pollination. The bees after collecting the pollen with their hind legs, equipped with a special grip, press the pollen grains with royal jelly, nectar and saliva, and carry them to the hive. Pollen is in fact the only protein food of bees. In the hive it has a fundamental role for the nutrition of the larvae, which can thus develop completely for metamorphosis. Bee pollen is collected daily by beekeepers through special traps placed at the entrance of the hives which then store it by drying it or keeping it in the freezers.

According to various users, pollen is a complete and precious food for humans, at any age, since it contains many energetic, nutritional and therapeutic substances. It is part of the superfoods of biopharmaceuticals and its consumption is continuously growing. In recent years, various scientific researches have proven some of the traditional medicinal and food uses of this matrix, and the number of scientific papers concerning pollen and its health properties has significantly increased.

Considering that antioxidants, are some of the bee pollen components promoting their beneficial effects, the purpose of this thesis is the quantitative investigation of the antioxidant activity of different types of multifloral bee pollen collected in different periods and in different places of Marche region (Italy).

2. INTRODUZIONE

Il polline è l'elemento fecondatore dei fiori. È contenuto negli stami dei fiori ed è composto da granuli piccolissimi. In base al fiore di provenienza presenta colore variabile: giallo, verde, rosa, bianco, rosso, marrone.

Il polline viene raccolto dalle api che, passando di fiore in fiore, favoriscono l'impollinazione. Le api dopo aver raccolto il polline con le loro zampe posteriori, munite di un apposito appiglio, impastano i granuli pollinici con la pappa reale, il nettare e la saliva, e lo portano nell'alveare. Il polline è infatti l'unico alimento proteico delle api. Nell'alveare ha un ruolo fondamentale per la nutrizione delle larve, che possono così svilupparsi completamente per la metamorfosi.

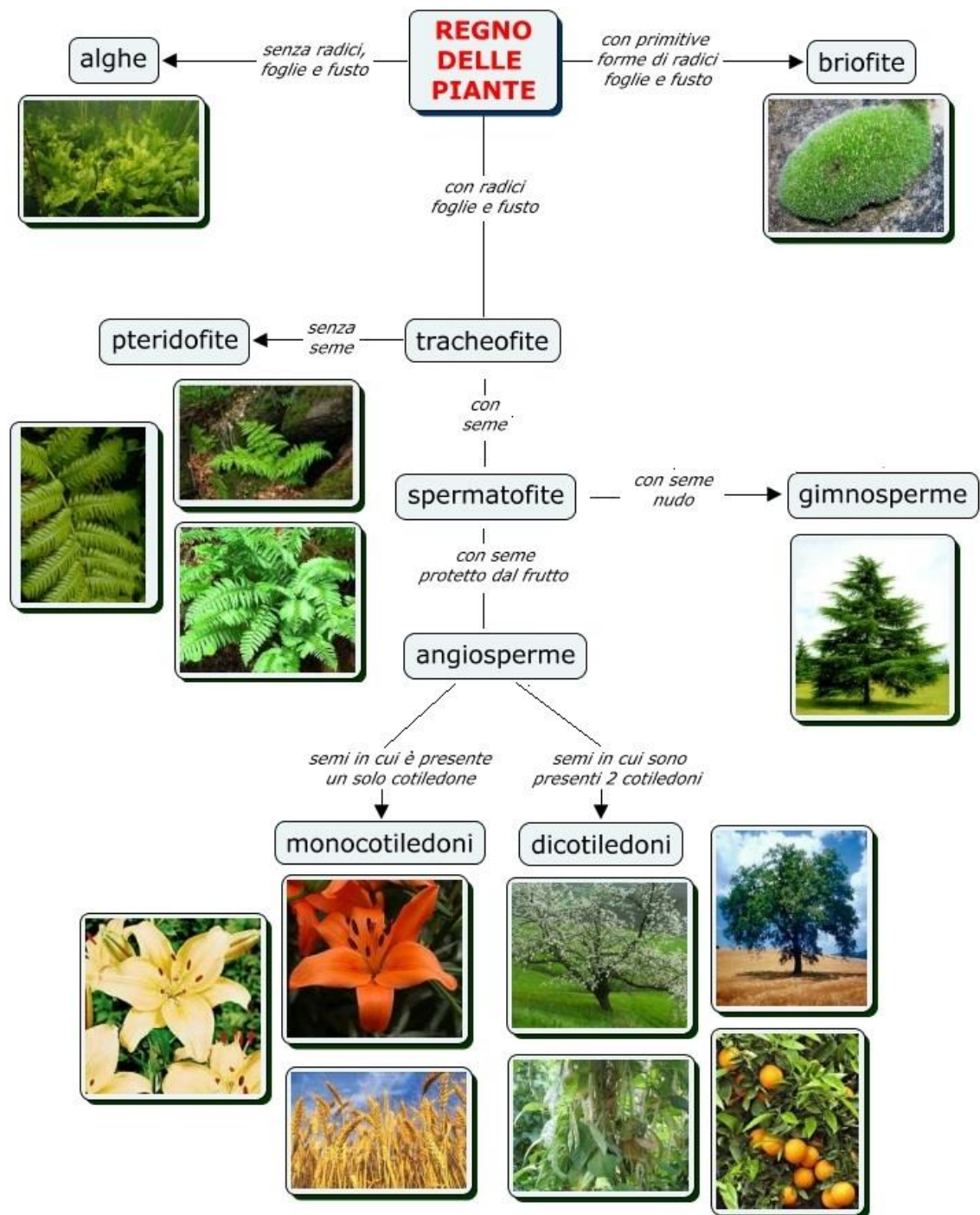
Il polline d'api viene raccolto giornalmente dagli apicoltori tramite apposite trappole poste all'ingresso delle arnie che poi lo conservano essiccandolo o mantenendolo nei congelatori. Secondo vari ricercatori, il polline è infatti un alimento completo e prezioso anche per l'uomo, ad ogni età, poiché contiene molte sostanze energetiche, nutritive e terapeutiche. Rientra nei superalimenti o biofarmaci e il suo consumo è in continua crescita.

Negli ultimi anni, diverse ricerche scientifiche hanno dato ragione ad alcuni degli usi tradizionali medicinali ed alimentari di tale matrice e il numero di lavori scientifici riguardanti il polline e le sue proprietà salutari è aumentato fortemente.

Inoltre, si è avuto un significativo progresso nello stabilire i meccanismi farmacologici responsabili di tali proprietà e nell'identificazione dei composti chimici responsabili degli effetti benefici.

Lo scopo di questa tesi è quello di compiere un'indagine quantitativa dell'attività antiossidante di diversi tipi di polline d'ape multiflorali raccolti in diversi periodi ed in diverse località della regione Marche (Italia) essendo gli antiossidanti alcuni tra i composti presenti nel polline ai quali sono stati attribuiti tali effetti benefici.

3. CLASSIFICAZIONE DELLE PIANTE



Al regno delle piante appartengono gli organismi eucarioti, autotrofi (capaci di fotosintesi), pluricellulari (tranne poche eccezioni).

Le piante considerate più primitive (o piante inferiori) sono le tallofite, così dette perché hanno un corpo costituito da tessuti indifferenziati, detto tallo. Le tallofite acquatiche sono raggruppate sotto il

nome di alghe, mentre quelle considerate forme di passaggio dall'ambiente acquatico a quello terrestre sono denominate briofite.

Le piante più evolute (o piante superiori) sono le cormofite terrestri, con un corpo differenziato in radici, fusto e foglie, detto cormo; queste piante sono denominate anche piante vascolari, o tracheofite perché dotate di vasi conduttori, o trachee; sono distinte in pteridofite, che comprendono le forme più primitive che si riproducono per spore, e in spermatofite, che comprendono le forme più evolute, perché si riproducono mediante semi.

Le tracheofite sono quindi le piante che hanno sviluppato tessuti specializzati (conduttori e meccanici) necessari per la vita sulla terraferma.

I tessuti conduttori, (il nome tracheofite deriva da trachee, un tipo di tessuto conduttore), costituiscono un sistema di vasi (per cui le tracheofite sono dette anche piante vascolari) specializzati per il trasporto dell'acqua e dei sali minerali prelevati dal terreno, e la redistribuzione degli zuccheri, formati dalle foglie mediante fotosintesi, a tutto il corpo.

I tessuti meccanici hanno la duplice funzione di sostegno e di protezione contro il disseccamento e sono indispensabili in un ambiente in cui il corpo non è sostenuto dall'acqua.

Le tracheofite hanno sviluppato una struttura organizzata in apparati con funzioni specifiche (cormo), che comprende:

- radice (sistema assorbente e di conduzione);
- fusto (sistema con funzione di sostegno e di conduzione);
- foglie (sistema fotosintetico e traspirante).

Le tracheofite sono classificate secondo il tipo di riproduzione e si distinguono:

- tracheofite con spore, o pteridofite (licopodi, equiseti e felci);
- tracheofite con seme, o spermatofite, che comprendono le gimnosperme e le angiosperme.

3.1. PTERIDOFITE

Molto diffuse nel Carbonifero, con organismi di grandi dimensioni che costituivano enormi foreste, sono oggi ridotte a piccole piante del sottobosco. La loro riproduzione avviene mediante spore aploidi che formano un piccolo gametofito, in genere laminare (protallo); nel gametofito si formano i gameti maschili e femminili e dopo la fecondazione si sviluppa uno sporofito frondoso. Come nel caso delle briofite, le pteridofite sono ancora legate all'ambiente acquatico per la riproduzione (i gameti maschili "nuotano" in un velo d'acqua fino ai gameti femminili immobili); inoltre, i piccoli gametofiti non hanno vasi conduttori. Alle pteridofite appartengono le felci.

3.2. SPERMATOFITE

Negli ultimi 250 milioni di anni le spermatofite hanno invaso tutti gli ambienti terrestri, diventando le piante dominanti grazie a una più efficace strategia riproduttiva basata su due adattamenti principali: il polline e i semi. Il polline è un insieme di microscopici granuli (da 2,5 a 250 micron) contenenti cellule riproduttive, i gameti maschili. Costituisce dunque il gametofito maschile (ridotto quindi a poche cellule), mentre lo sporofito è la pianta, spesso di notevoli dimensioni. Ogni granulo di polline è rotondeggiante (in genere di colore giallo-arancio), formato da due cellule protette da un

involucro esterno, rigido, con rilievi e disegni caratteristici per ogni specie. Dalla pianta, vengono prodotte grandi quantità di polline che, leggero e minuto, viene trasportato facilmente dal vento o dagli animali e garantisce una sicura diffusione fino a raggiungere il gametofito femminile (impollinazione): con questo accorgimento la fecondazione è completamente svincolata dall'acqua. Il seme è una struttura protettiva che avvolge con un rivestimento rigido l'embrione e una riserva alimentare per la sua crescita. Il seme permette di mantenere l'embrione in uno stato di quiescenza finché non vi siano le condizioni ottimali per la germinazione. Per assicurarne la dispersione, i semi possiedono caratteristiche che li rendono appetibili agli animali, o facilmente trasportabili dall'acqua e dal vento per grandi distanze; in questo modo le spermatofite hanno potuto diffondersi rapidamente. Le spermatofite comprendono le gimnosperme (spermatofite con seme nudo) e le angiosperme (spermatofite con fiori).

3.2.1. Le gimnosperme

Le gimnosperme sono spermatofite con semi "nudi", cioè non avvolti da strutture di protezione. Gli organi della riproduzione sono ciuffi di foglie trasformate o sporofilli (squame) riuniti intorno a un asse centrale (rachide) in grappoli unisessuali detti strobili, o coni: quelli maschili (microsporofilli), in genere più piccoli e situati all'estremità dei rami più bassi, portano le sacche polliniche, in cui si svilupperanno i gameti maschili (cellule spermatiche); quelli femminili (macrosporofilli), più grandi, si trovano sui rami più alti e portano gli ovuli, in cui si svilupperanno i gameti femminili (cellule uovo). L'impollinazione è esclusivamente anemofila: i coni maschili liberano immense nuvole di polline che vengono trasportate dal vento. Alla base di ogni squama dei coni femminili si formano due ovuli, contenenti ciascuno una cellula uovo che viene fecondata dalla cellula spermatica di un granulo di polline atterrato vicino. La cellula uovo fecondata rimane racchiusa nell'ovulo, che diventa una struttura rigida, il seme, in cui si sviluppa l'embrione. Nel frattempo, i macrosporofilli lignificano e si aprono a maturità liberando i semi. Le gimnosperme sono tutte piante legnose e si dividono in ginkgofite, cicadofite e coniferofite.

3.2.2. Le angiosperme

Le angiosperme, dette anche antofite, sono piante a seme provviste di fiore, con ovuli protetti in un involucro chiuso (ovario), che in seguito a fecondazione si sviluppa nel frutto (angiosperma significa infatti "seme racchiuso"). Le angiosperme costituiscono oggi il gruppo dominante di piante: comprendono circa 230.000 specie, diffuse in ogni ambiente (piante acquatiche, terrestri, parassite). Il loro successo è dovuto a diversi adattamenti, i principali dei quali sono il fiore e il frutto. Il fiore è una struttura riproduttiva complessa, derivata dalla trasformazione di foglie, in cui si formano e sono protetti i gametofiti maschili e femminili, che, come nelle gimnosperme, sono ridotti a poche cellule del granulo pollinico e dell'ovulo. Il fiore, spesso con petali colorati, ha una funzione vessillare, rivolta cioè ad attirare gli insetti o gli altri animali impollinatori, garantendo così un maggiore successo riproduttivo. Anche la fecondazione avviene nel fiore e lo zigote rimane racchiuso nell'ovulo trasformato in seme. Il frutto è una struttura di protezione del seme derivata dalla trasformazione del fiore, dopo la fecondazione. In genere è colorato e dolce per essere appetito dagli animali, o dotato di adattamenti per essere trasportato dal vento (in modo da assicurare una più ampia dispersione del seme). Il successo delle angiosperme è stato favorito anche dalle foglie a lamina larga (latifoglie), che assorbono maggiormente la luce per una più efficace fotosintesi. La sistematica delle

angiosperme si basa sulle caratteristiche del fiore, e primariamente sulla presenza nel seme di una o due foglioline embrionali (cotiledoni): si dividono così in monocotiledoni (un solo cotiledone) e dicotiledoni (due cotiledoni). Le più importanti monocotiledoni sono le glumiflore (a cui appartengono i cereali, fondamentali nell'alimentazione umana), specie alimentari come il banano e le palme, specie conosciute per i fiori come le liliacee e le orchidee. Le dicotiledoni sono più diffuse: a esse appartengono le principali piante da frutto e innumerevoli specie arboree, arbustive ed erbacee.

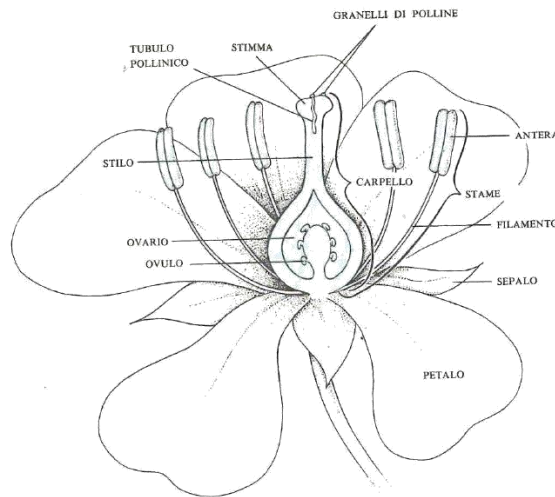
Schema di classificazione generale delle piante

Schema di classificazione generale delle piante			
Tallofite	Alghe (acquatiche)		Rodofite, feofite, clorofite
	Briofite (terrestri)		
Cormofite (o tracheofite)	Pteridofite (con spore)		Psilofite, licofite sfenofite, pterofite
	Spermatofite (con semi)	Gimnosperme (con semi nudi)	Cicadofite; coniferofite; ginkgofite
		Angiosperme (o antofite, con semi protetti)	Monocotiledoni dicotiledoni

3.3. IL FIORE

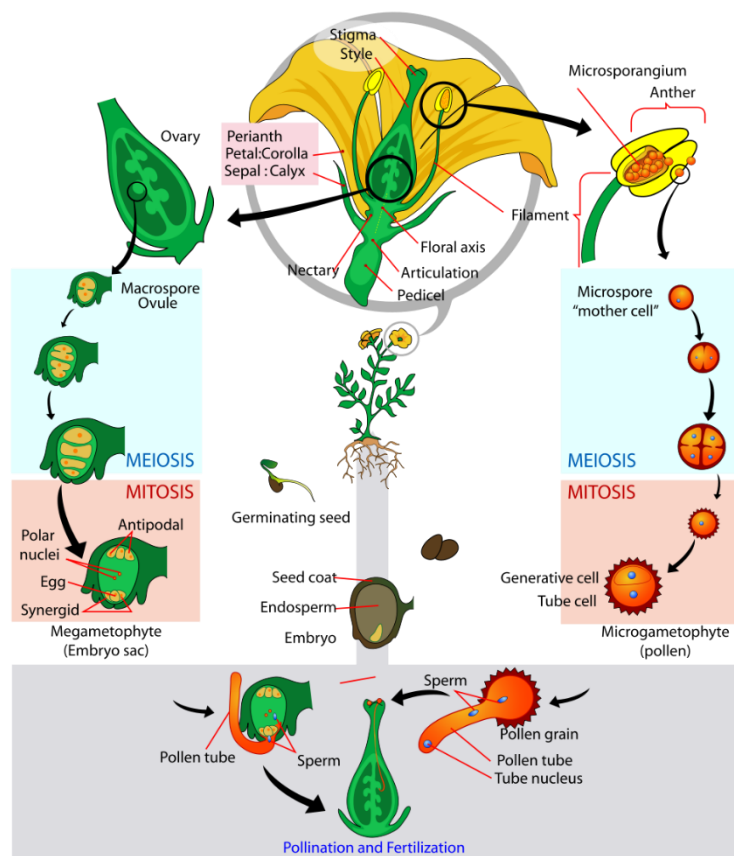
Il fiore è l'organo della riproduzione sessuale delle angiosperme e a differenza degli organi riproduttori degli animali, è un organo transitorio, sviluppandosi stagionalmente da apici vegetativi modificati. Il fiore può essere considerato un ramo ad accrescimento limitato in cui le foglie hanno subito profonde modificazioni in relazione alla funzione connessa alla riproduzione. I fiori sono costituiti da una parte esterna costituita dai sepali, che sono normalmente verdi e simili, come struttura, a foglie. Essi, noti nel loro insieme come calice, racchiudono e proteggono il bocciolo florale. Immediatamente dopo vengono i petali, chiamati nell'insieme corolla, che hanno di solito la forma di foglie, ma sono spesso vivacemente colorati: segnalano la presenza del fiore tra le foglie verdi, attirando insetti o altri animali che visitano i fiori per il loro nettare (un liquido zuccherino) o per altre sostanze eduli, e in tal modo trasportano polline di fiore in fiore. Dentro la corolla si trovano gli stami: ogni stame consta di un unico, esile peduncolo, il filamento, al cui apice si trova l'antera. I granelli di polline, che sono gametofiti maschili immaturi, vengono liberati dall'antera a maturità, spesso in gran numero, di solito attraverso strette fessure o pori. Le appendici centrali del fiore sono i carpelli, che contengono i gametofiti femminili. Tipicamente un carpello consta di uno stimma che è una superficie vischiosa, specializzata a ricevere il polline, di un sottile peduncolo, lo stilo, in cui si accresce il budello pollinico, e di una base dilatata l'ovario. All'interno dell'ovario sono gli ovuli, ognuno dei quali racchiude un gametofito femminile con una unica oosfera. Quando l'oosfera viene fecondata, ogni ovulo si trasforma in un seme. In alcune specie i fiori sono o solo maschili (staminiferi) o solo femminili (pistilliferi). Fiori maschili e femminili possono essere presenti sulla stessa pianta, come nel mais, nella zucca, nella quercia, nella betulla, oppure su piante diverse, come

nell'ailanto, nella palma da datteri, nel vischio americano. Le specie che sulla stessa pianta formano sia fiori maschili che femminili vengono definite monoiche (letteralmente: in una sola casa); le specie in cui i fiori maschili e femminili sono su piante separate sono dette dioiche (in due case).



3.3.1. Impollinazione

Per la maggior parte delle piante a fiore, un nuovo ciclo vitale inizia quando un granello di polline, trasportato da un insetto visitatore, viene in contatto con lo stigma di un fiore della stessa specie. Quando viene liberato dal fiore in cui è stato prodotto, il granello di polline è composto, in molte Angiosperme, di tre nuclei aploidi (2 nuclei spermatici e un cosiddetto nucleo vegetativo), di una piccola quantità di denso citoplasma e di una parete resistente.



Il polline viene comunemente prodotto in grandi quantità: la probabilità di ogni granello di polline di raggiungere lo stigma di un fiore adatto è molto piccola. Il granulo di polline contiene le proprie sostanze nutritive, e possiede uno strato esterno così resistente che in depositi di torba vecchi migliaia di anni sono stati trovati granelli intatti. Una volta giunto sullo stigma, il granulo di polline germina e il tubetto pollinico si accresce in profondità lungo lo stilo e raggiunge un ovulo; l'ovulo contiene il gametofito femminile, l'oosfera. Un nucleo spermatico scende nel tubetto pollinico e si fonde con l'oosfera. Questa cellula fecondata, lo zigote, sviluppa un embrione.

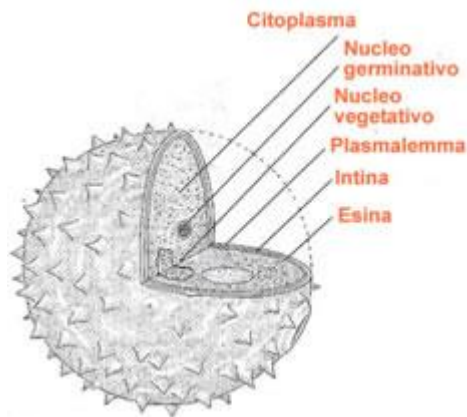
Le infiorescenze si distinguono essenzialmente per il tipo di disposizione dei singoli fiori sull'asse principale e il fatto che questi siano peduncolati o no.



3.4. IL POLLINE

Il polline è quindi il gametofito maschile, ovvero la struttura che produce e mantiene i gameti delle piante a seme (Angiosperme e Gimnosperme). Il termine polline è stato coniato da Linneo (il naturalista svedese artefice della nomenclatura botanica binomia) e deriva dal latino "pollen" che vuol dire "farina fine". I pollini germinano sulla parte femminile dei fiori, lo stigma, fecondando gli ovuli che produrranno poi i semi. Quando il granulo pollinico ha raggiunto lo stigma, emette un tubetto pollinico che attraversa lo stilo ed indirizza i gameti maschili verso quelli femminili. Questi sono situati nel gametofito femminile che si trova dentro gli ovuli, a loro volta racchiusi nell'ovaio. Il polline viene prodotto all'interno delle sacche polliniche che vengono a formare l'antera. Nelle Gimnosperme si presenta un'impollinazione quasi esclusivamente anemofila, cioè tramite il vento. Nelle Angiosperme si riscontra invece un'impollinazione entomofila, tramite gli insetti.

Il polline si presenta sotto forma di granuli di piccole dimensioni (comprese tra i 10 e i 200 micron). La forma è variabile, ovoidale o elicoidale e può presentare aperture rappresentate da pori e solchi. Il granulo è formato da un involucro esterno molto resistente. Questo presenta due pareti: una esterna chiamata esina, formata da sporopollenina, ed una interna, chiamata intina formata da polisaccaridi.



La sporopollenina è molto resistente agli agenti esterni. L'esina inoltre presenta una superficie molto elaborata, con sculture, ornamenti, disegni che sono caratteristici per ogni specie e servono a riconoscerle ed a distinguerle.

3.5. SPECIE BOTANICHE

Ogni specie di pianta produce granuli di polline diversi che hanno diverso aspetto e possono essere rotondi, cilindrici, triangolari o spinosi. L'elaborazione dei diversi granuli di polline da parte delle api porta alla formazione di pallottole che differiscono per colore, forma, dimensione e grandezza. Queste hanno un colore che può variare dal giallo molto chiaro al nero.

Fino alla fine di una determinata fioritura le api in genere tendono a bottinare sulla stessa specie botanica e questo spesso determina una composizione piuttosto omogenea delle pallottole aventi una consistenza e dei sapori particolari a seconda della specie floreale di provenienza. In questi casi si formano pollini detti monofloreali che hanno delle proprietà organolettiche caratteristiche dovute al trasferimento dei composti dalla pianta di origine al polline. Se durante la ricerca del polline le api bottinatrici non ne trovano abbastanza possono recarsi su altri fiori di altre specie e mescolano diversi tipi di polline: in questo caso il polline raccolto è di tipo multiflorale (millefiori), ed ha caratteristiche molto variabili. In questo caso la presenza contemporanea di pollini di specie diverse è però sicuramente rappresentativa della biodiversità della zona di raccolta dei pollini e del periodo di fioritura.

Si riportano di seguito le specie botaniche che hanno contribuito a produrre le pallottole di polline d'api studiate in questa tesi. Il titolo di ogni paragrafo si riferisce al tipo di polline identificato attraverso l'analisi palinologica e in parentesi viene riportata la specie botanica a cui esso è stato attribuito in base alle mappe di vegetazione e di coltivazione del territorio da cui proviene e alle indicazioni degli apicoltori ed il corrispondente nome comune.

3.5.1. Acer (*Acer campestre* L. - Loppo)

Acer L. è un genere di piante che appartiene alla famiglia Aceraceae, e comprende oltre 200 specie spontanee o originarie dell'Europa, Cina, Corea, Giappone e Nord America. Il nome Acer, in latino "appuntito", è stato dato a queste piante, in riferimento all'estremità appuntita delle foglie tipiche del genere.

Gli alberi di acero crescono in pianura, nelle zone di collina e submontane e sono di dimensioni che vanno da 1 a 30 metri di altezza.



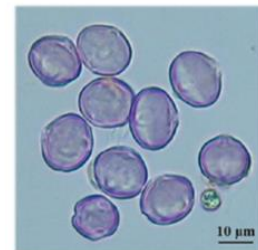
La foglia, in genere caduca, è di tipo palmato-lobata, ed è attaccata ad un lungo picciolo: ha solitamente 5 lobi, fatta eccezione per poche specie nelle quali ne ha 3, 7 o 9. Il fiore è generalmente ermafrodito ed è composto da cinque petali ed altrettanti sepali. Si unisce agli altri in un'infiorescenza a forma di grappolo giallo-verdastro. Il frutto dell'acero, che ne permette la distinzione tra le varie specie, ha la forma caratteristica di disamara costituita da due samare simmetriche, con strutture membranose ad ala che ne favoriscono lo spostamento ad opera del vento. Tra gli aceri della nostra Penisola i più importanti sono quello montano, l'italico oltre all'acero riccio, ma nelle Marche più diffuso è il campestre.

L'acero campestre (*Acer campestre* L.) viene anche detto loppo o testucchio e in Italia è molto comune nei boschi di latifoglie mesofile, insieme alle querce caducifoglie dal livello del mare fino all'inizio della faggeta. È un albero caducifoglie di modeste dimensioni e i rami sono sottili e ricoperti da una peluria. I piccoli fiori sono verdi, riuniti in infiorescenze con il calice ed il peduncolo pubescenti. Fiorisce in aprile-maggio in contemporanea all'emissione delle foglie. Le infiorescenze possono essere formate sia da fiori unisessuali che ermafroditi.

L'acero è una pianta mellifera, molto visitata dalle api per il polline ed il nettare, ma il miele monoflorale d'acero è raro.

3.5.2. Castanea (*Castanea sativa* Mill., 1768 - Castagno)

Il castagno europeo (*Castanea sativa* Mill., 1768) è l'unica specie autoctona presente in Europa del genere *Castanea* appartenente alla famiglia delle Fagaceae. È un albero con foglie semplici, decidue, grandi, allungate, con il margine dentato, stipolate e brevemente picciolate. È una pianta monoica e si presenta di medie dimensioni o come arbusto.

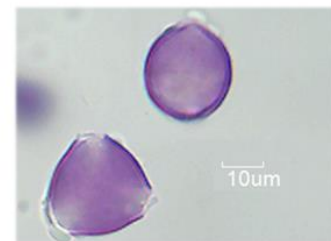


Presenta rami che da giovani possono mostrarsi glabri o tomentosi ed in genere appaiono di colore bruno. Le gemme laterali sono piccole, coperte da 2-3 perule. I fiori sono monoici di colore verde e bianco e le infiorescenze possono essere composte da soli fiori maschili (amenti maschili) oppure da amenti maschili e glomeruli femminili alla base (amenti misti).

L'impollinazione è prevalentemente anemogama, ma anche gli insetti pronubi possono svolgere un ruolo importante: i fiori maschili sono bottinati dalle api, che ne raccolgono il polline ed il nettare e perciò questa pianta è considerata mellifera.

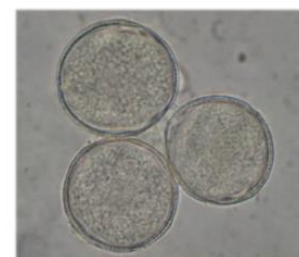
3.5.3. *Cercis* (*Cercis siliquastrum*, L. 1758 - Albero di Giuda)

L'albero di Giuda (*Cercis siliquastrum*, L. 1758) o siliquastro è una pianta appartenente alla famiglia delle Fabaceae (o Leguminose) e al genere *Cercis*. È un albero caducifoglie e latifoglie di 3-8 m con la corteccia di color bruno-rossastra scura. Le foglie presentano una lamina subrotonda o reniforme intera e hanno la tipica forma a cuore e delle nervature più chiare. I fiori sono ermafroditi, con corolla papilionacea e di colore rosa - lilla o bianchi e sono riuniti in racemi che compaiono prima delle foglie, in marzo – aprile. Inizia a fiorire verso i sei anni di età, e i fiori spuntano direttamente dalla corteccia dei rami e del tronco e sono commestibili. È un albero molto gradito alle api e agli altri insetti impollinatori essendo l'impollinazione entomofila.



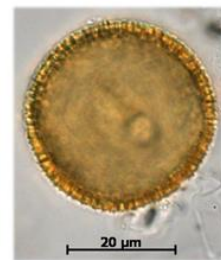
3.5.4. *Cistus incanus* (*Cistus* × *incanus* L., 1753 - Cisto Rosso)

Il Cisto rosso (*Cistus* × *incanus* L., 1753) è un arbusto lanoso-tomentoso, appartenente al genere *Cistus* della famiglia delle Cistaceae, alto 30-100 cm, non vischioso, con odore erbaceo, con un portamento cespuglioso di modesto sviluppo. I fusti sono molto ramificati, lignificati alla base, lanosi e bianco-grigiastri all'apice, ricoperti di peli semplici misti o stellati e la corteccia è bruno-rossiccia. Le sue foglie sono opposte, ovali, con breve picciolo e ricoperte da una fitta tomentosità. La lamina è lunga dai 2 ai 4 cm. I fiori sono abbastanza grandi e vistosi, di 4-6 cm di diametro con petali di colore rosa o rosso purpurei, gialli alla base. Sono riuniti in gruppi terminali di poche unità all'ascella di foglie bratteiformi. Il frutto è una capsula bruna e deiscente per 5 valve. Il periodo di fioritura è compreso tra maggio e giugno in territori calcarei o silicei



3.5.5. *Cistus salviifolius* (*Cistus salviifolius* L., 1753 - Cisto Femmina)

Il cisto femmina (*Cistus salviifolius* L., 1753) è un cespuglio solitamente di piccole dimensioni, anch'esso appartenente al genere *Cistus* della famiglia delle Cistaceae. È una pianta aromatica di colore verde-grigiastro per via degli abbondanti peli stellati. Le foglie di colore verde-grigio si presentano più chiare sulla pagina inferiore. La forma della lamina è ovale ed ellittica, arrotondata all'apice. I fiori sono bianchi isolati su un peduncolo.



3.5.6. *Clematis vitalba* L. - Vitalba)

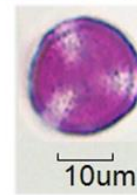
La Vitalba (*Clematis vitalba* L.) è una pianta arbustiva appartenente al genere *Clematis* delle Ranunculaceae a distribuzione oloartica il cui nome comune di vitalba, deriva da vite alba ("vite bianca"). In Italia è presente su tutto il territorio sino a circa 1300 m in incolti, boschi di latifoglie, macchie temperate. Mostra un comportamento rampicante con fusti ramificati, che si allunga anche oltre i 20 metri sugli alberi, sviluppando alla base tronchi legnosi anche piuttosto grossi. Il profumo, quasi impercettibile, è vagamente simile a quello del biancospino. Fiorisce tra maggio ed agosto a seconda della quota. È una pianta velenosa per la presenza di alcaloidi e saponine (in particolare la protoanemonina), sostanze presenti anche in altri generi della famiglia, che si accumula soprattutto negli organi più vecchi. Può provocare irritazioni cutanee al contatto.

È considerata una pianta infestante del bosco. Infatti, specialmente in associazione con i rovi, la vitalba crea dei veri e propri grovigli inestricabili a danno della vegetazione arborea che viene pesantemente aggredita e soffocata. Tali presenze sono infatti quasi sempre l'espressione di un degrado boschivo.

La lamina fogliare è di tipo pennato, composta con 3 o più segmenti generalmente impari-pennata. I segmenti possono essere interi o lobati o dentati e normalmente sono a forma lanceolata con apice acuto. Le foglie sono picciolate o meno spesso sessili.

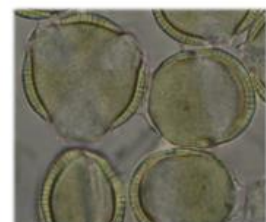
I fiori sono ermafroditi, profumati, raggruppati in infiorescenze a cima bipara. Hanno 4 sepali petaloidei biancastro-verdastri, numerosi stami e ovario supero pluricarpellare. L'impollinazione è entomofila.

Il frutto è costituito da numerosi acheni riuniti in un capolino. Ogni achenio, è fusiforme, con un breve becco è indeiscente e contiene un solo seme.



3.5.7. Cruciferae (*Brassica napus* L., 1753 - Colza)

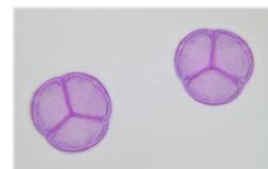
La colza (*Brassica napus* L., 1753) è una pianta angiosperma dicotiledone, dal fiore giallo brillante (o bianco a seconda della varietà), appartenente alla famiglia delle Cruciferae o Brassicaceae.



Viene coltivata per l'utilizzo dei semi molto ricchi in olio, anche se le varietà spontanee contengono quantità non trascurabili di acido erucico, un composto tossico. È una pianta erbacea a grandi foglie riunite in una rosetta basale. I fiori sono monoclini (caratteristici) con quattro sepali, quattro petali e il secondo verticillo di stami sdoppiato. Essi sono raccolti in infiorescenze corimbose. L'ovario è di tipo supero mentre il frutto è una siliqua. Questa specie solitamente è abbondante nei climi freddi.

La colza è una pianta mellifera che produce molto nettare da cui le api ricavano un miele chiaro, ma pungente, molto apprezzato nell'Europa centrale e settentrionale. Deve essere estratto immediatamente dopo la sua fabbricazione, perché cristallizza rapidamente nel favo rendendo impossibile l'estrazione. Questo miele in Italia di solito viene mescolato con varietà più dolci se usato come prodotto da tavola o venduto come prodotto da pasticceria.

3.5.8. Erica (*Erica arborea* L., 1753 - Erica)

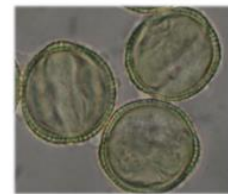


L'*Erica arborea* è un arbusto sempreverde, dalla corteccia rossastra, a portamento eretto, appartenente al genere *Erica* e alla famiglia delle Ericaceae, con numerosi rami, anch'essi a portamento quasi sempre eretto. Le foglie sono aghiformi, persistenti e coriacee, verde scuro, normalmente raggruppati in verticilli di quattro, con margine dentellato.

I fiori sono piccoli, penduli, molto numerosi, riuniti in ricche infiorescenze terminali, dal colore bianco-crema e profumati. Essi hanno interesse officinale e l'infuso delle sommità fiorite è ritenuto diuretico, disinfettante ed antireumatico; anticamente si credeva che avesse la virtù di guarire i morsi delle vipere.

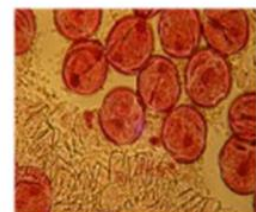
L'ericca è una buona pianta mellifera, cioè i fiori sono bottinati dalle api per il polline, e per il nettare da cui ottengono un ottimo miele monoflorale, anche se, dato il periodo di fioritura (marzo-maggio), ha più umidità rispetto ad altri.

3.5.9. Fraxinus Ornus (*Fraxinus Ornus* L. -Orniello)



L'orniello è una pianta della famiglia delle Oleaceae, conosciuta anche come Orno o frassino da manna. È un albero con altezza media di 8 metri a chioma tondeggiante con fusto solitamente eretto. La corteccia è grigia-cinerina, a volte con macchie più chiare e lisce e le foglie sono opposte, imparipennate, caduche e formate da 5-9 foglioline rotondate alla base, cuspidate e picciolate. I fiori sono ermafroditi diclamidati con odori particolari e in numero elevato. I frutti sono costituiti da samare (acheni alati) con alla base un minuscolo residuo del calice con un unico seme a sezione tondeggiante. Solitamente la fioritura avviene a primavera avanzata da aprile a giugno in numerosi territori italiani incluse le zone montane.

3.5.10. Genista f. (*Spartium junceum* L. – Ginestra Odorosa)



La Ginestra Odorosa (*Spartium junceum* L.) è una pianta tipica della nostra macchia mediterranea, appartenente alla grande famiglia botanica delle Leguminosae. I frutti della ginestra però non sono commestibili, anzi, tutte le parti della pianta sono tossiche per l'uomo se ingerite.

È una pianta con portamento arbustivo-cespuglioso, con altezze variabili dai 70 cm ai 3 m. Le altezze si raggiungono nel portamento ad alberello, con forma tondeggiante. Il fusto ha consistenza legnosa, forma cilindrica, con molte ramificazioni. È molto contorto, di colore marrone chiaro, con presenza di evidenti fenditure longitudinali di colorazione più scura.

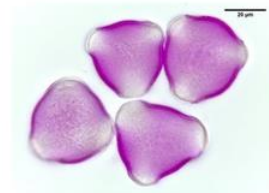
Le ramificazioni nel primo anno di formazione sono chiamate “vermene”, e da queste si estrae la fibra: sono giunchiformi, verde intense, comprimibili ma molto tenaci. La loro sezione è tondeggiante, inoltre sono ascendenti e sparse sul fusto. Le ramificazioni più vecchie non sono invece adatte per la produzione di fibra. Questo perché, col passare degli anni, modificano colore (passando dal verde intenso al giallo marrone) e struttura (diventando legnose).

Le foglie della ginestra sono di tipo semplice e caduche, distanziate tra loro e rade. La superficie è glabra, di verde intenso sulla pagina superiore e dotate di tricomi in quella inferiore. La forma è obovato-oblunga, margine intero e lineare.

I fiori di ginestra invece sono di tipo ermafrodita, riuniti in racemi ascellari posti alle estremità delle vermene: sono di grandi dimensioni, con corolla dal tipico colore giallo-dorato. Il fiore, caratteristica che accomuna tutte le leguminose, ricorda nella sua struttura una farfalla ad ali spiegate. L'impollinazione è entomofila, ossia operata dalle api e gli altri insetti impollinatori. La ginestra infatti è una pianta mellifera e con cui si può produrre un ottimo miele monoflorale.

La fioritura, come tutti possono ammirare, si verifica in maggio-luglio, mentre la maturazione dei semi avviene a fine estate. Il frutto è un piccolo legume, di forma appiattita e allungata, di colore nero o marrone scuro. Ogni legume produce dai 10 ai 18 semi di forma ovale e colore marrone-rossiccio.

3.5.11. Malus f. (*Malus domestica* Borkh., 1803 – Melo)



Il melo è un albero deciduo di 3-10 metri di altezza, con una chioma densa ed espansa e un apparato radicale superficiale.

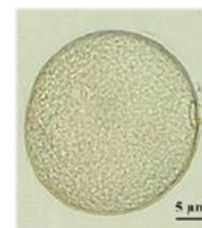
Le foglie sono alterne e semplici, a lamina ovale, leggermente seghettate, con apice acuto e base arrotondata, di 5-12 centimetri di lunghezza e 3-6 cm di larghezza, glabre superiormente e tomentose sulla pagina inferiore. Il picciolo è lungo 2-5 cm.

I fiori sono ermafroditi di colore bianco-rosato esternamente e bianco internamente, a simmetria pentamera. Hanno una corolla composta da 5 petali e sono riuniti in infiorescenze a corimbo. La fioritura si svolge in primavera, simultaneamente al germogliamento. L'impollinazione è di tipo entomofila.

Il frutto, detto pomo o comunemente mela è un falso frutto. Ha la forma globosa, generalmente di 5-9 cm di diametro. Il frutto vero, derivato dall'accrescimento dell'ovario è in realtà costituito dal torsolo, di consistenza più coriacea rispetto alla polpa.

Il pericarpo contiene cinque carpelli disposti come una stella a cinque punte; ogni carpello contiene da uno a tre semi.

3.5.12. *Olea* f. (*Olea europaea* L., 1753 – Ulivo)



L'olivo o ulivo (*Olea europaea* L., 1753) è un albero da frutto del genere *Olea* appartenente alla famiglia delle Oleaceae, di cui è il membro più famoso e coltivato.

È un albero sempreverde e latifoglie, la cui attività vegetativa è pressoché continua, con attenuazione nel periodo invernale. Ha crescita lenta ed è molto longevo: in condizioni climatiche favorevoli può diventare millenario e arrivare ad altezze di 15-20 metri. La pianta comincia a fruttificare dopo 3-4 anni dall'impianto, inizia la piena produttività dopo 9-10 anni e la maturità è raggiunta dopo i 50 anni; a differenza della maggiore parte dell'altra frutta, la produzione non diminuisce con alberi vetusti, infatti nel meridione si trovano oliveti secolari. Le radici, per lo più di tipo avventizio, sono espanse e superficiali: in genere non si spingono oltre i 0,7-1 metro di profondità.

Il fusto è cilindrico e contorto, con corteccia di colore grigio o grigio scuro e legno duro e pesante. La ceppaia forma delle strutture globose, dette ovoli, da cui sono emessi ogni anno numerosi polloni

basali. La chioma ha una forma conica, con branche fruttifere e rami penduli o patenti (disposti orizzontalmente rispetto al fusto) secondo la varietà.

Le foglie sono opposte, coriacee, semplici, intere, ellittico-lanceolate, con picciolo corto e margine intero, spesso revoluti. La pagina inferiore è di colore bianco-argenteo per la presenza di peli squamiformi. La parte superiore invece è di colore verde scuro. Le gemme sono per lo più di tipo ascellare.

Il fiore è ermafrodito, piccolo, con calice di 4 sepali e corolla di petali bianchi. I fiori sono raggruppati in numero di 10–15 in infiorescenze a grappolo, chiamate "mignole", sono emessi all'ascella delle foglie dei rametti dell'anno precedente. La mignolatura ha inizio verso marzo–aprile. La fioritura vera e propria avviene, secondo le cultivar e le zone, da maggio alla prima metà di giugno.

Il frutto è una drupa globosa, ellissoidale o ovoidale, a volte asimmetrica. È formato da una parte "carnosa" (polpa) che contiene dell'olio e dal nocciolo legnoso e rugoso. Il peso del frutto varia tra 1–6 grammi secondo la specie, la tecnica colturale adottata e l'andamento climatico. Ottobre-dicembre è il periodo della raccolta, che dipende dalle coltivazioni e dall'uso che si deve fare: se da olio o da mensa.

3.5.13. *Onobrychis* (*Onobrychis* Mill. - Lupinella)

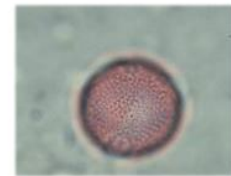


La Lupinella è una pianta erbacea della famiglia delle Fabaceae e proviene dall'Asia e dall'Europa centrale, conosciuta anche come "fieno sano" o "fieno santo".

È una leguminosa dal forte apparato radicale, fittonante, profondo e robusto, ricco di numerosi e grossi tubercoli radicali. Gli steli sono eretti, grossolani e fistolosi tanto da rendere difficile la fienagione. Le sue foglie sono ovali, molto lunghe e imparipennate con 7-12 paia di foglioline ovali assai allungate, intere, pubescenti sulla pagina inferiore. L'infiorescenza è di tipo racemo di colore rosa, non ramificato e pedunculante. L'impollinazione viene effettuata dalle api, in quanto i fiori sono nettariiferi. I frutti sono legumi uniseminati, reticolati e rugosi.

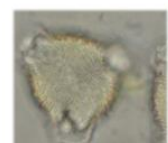
La lupinella viene coltivata per la produzione di foraggio, di buona appetibilità, digeribilità e non meteorizzante.

3.5.14. Papaver (*Papaver rhoeas* L. - Papavero)



Il papavero comune (*Papaver rhoeas* L.) è una pianta erbacea annuale appartenente alla famiglia Papaveraceae con radice bianca a fittone. I fusti del papavero sono eretti, ramificati e setolosi ricoperti di peli lunghi. L'altezza massima che può raggiungere è di circa 80 cm. Le foglie sono dotate di peli segosi e morbidi mentre i fiori sono solitari, inodori e con boccioli penduli prima della fioritura. I frutti sono capsule ovali glabre, sormontate da uno stigma piatto, contenente numerosi semi di dimensioni ridotte. Tutta la pianta emette un forte odore e produce un succo lattiginoso bianco e acre. Possono esserci due periodi di fioritura: il primo si estende da aprile a luglio e il secondo da settembre a ottobre. La crescita del papavero può arrivare sino a 1800 metri di altitudine.

3.5.15. Prunus f. (*Prunus spinosa* L. - Prugnolo)

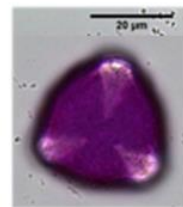


Questo tipo pollinico detto “*Prunus* forma” raggruppa tutte le drupacee coltivate e non. Le Drupacee comprendono un insieme di alberi da frutto che appartengono alla famiglia delle Rosacee, sottofamiglia Prunoideae, e che producono come frutto una drupa. Ne fanno parte il pesco, il susino,

il ciliegio, il mandorlo, il prugnolo, ecc. Il tipico rappresentante di questa sottofamiglia è il genere *Prunus* L., 1753 che comprende, oltre a specie spontanee, come il *Prunus spinosa*, noto anche come prugnolo, diffuso nelle campagne marchigiane, diverse specie coltivate per la produzione dei frutti.

Sono piante legnose con portamento cespuglioso con una chioma rada e irregolare. I rami di colore brunastro con sfumature più o meno scure e rugose. L'altezza massima raggiungibile è di circa 3-4 metri. Le foglie che compaiono dopo i fiori sono alterne e brevemente picciolate. I fiori bianchi o rosa riuniti in racemi o corimbi solitamente compaiono tra febbraio e aprile, sono ermafroditi e ravvicinati mentre i frutti sono drupe sferiche di colorazioni scure.

3.5.16. *Pyrus* f. (*Pyrus communis* L. - Pero)



Il pero è un albero appartenente alla famiglia delle Rosaceae di medie dimensioni (10-17 metri) con portamento eretto. Ha forma conica nei primi anni di vita, per assumere poi, alla piena maturità, un aspetto più globoso. Il tronco, nei primi anni, è liscio, ma, con l'avanzare dell'età, mostra nella corteccia profonde e numerose spaccature quadrangolari. Il pero presenta gemme a legno o miste.

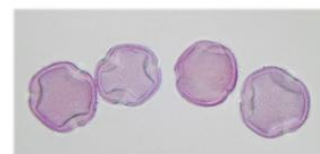
Le sue foglie sono lunghe circa 2-12 cm, sono dotate di un picciolo lungo e sottile, sono glabre, ovali e con margine crenato. Si tratta di foglie di colore verde scuro sulla pagina superiore, più chiare in quella inferiore; la forma varia dall'ovale al lanceolato stretto.

L'infiorescenza è un corimbo formato da 7-10 fiori, con quello centrale che si schiude per ultimo. I fiori sono di tipo ermafrodito, di colore bianco e sbocciano fra aprile e maggio, fino ad una quota di 1.000 metri. Il calice è formato da 5 sepali persistenti, ha corolla caduca composta da 5 petali, 15-30 stami con antere rossastre. Gli stili sono 5, filiformi, con gli stimmi di colore giallastro. Nell'ovario infero sono presenti 10 ovuli contenuti in 5 logge. L'area nettarifera è situata fra i petali e gli stami. Il nettare, emesso da 5 strette fessure, è poco zuccherino, dunque le api sono spesso attratte da altre specie fruttifere. Dato, però, che l'impollinazione è spesso incrociata e avviene appunto ad opera di api e altri insetti pronubi, nei pereti di grosse dimensioni si piazzano moltissime arnie.

Il frutto ha un diametro di 1-4 cm, ma in certe forme coltivate è lungo fino a 18 cm e largo 8.

La produzione dei frutti avviene sui rami misti e sui brindilli, anche se la maggior parte delle varietà fruttifica sulle lamburde.

3.5.17. *Quercus ilex* gr. (*Quercus ilex* L., 1753 - Leccio)



Il leccio (*Quercus ilex* L., 1753) detto anche elce, è un albero spontaneo appartenente alla famiglia Fagaceae e al genere *Quercus*, diffuso nei paesi del bacino del Mediterraneo.

È un albero, sempreverde e latifoglie, con fusto raramente dritto, singolo o diviso alla base, di altezza fino a 20-24 m. Può assumere aspetto di cespuglio qualora cresca in ambienti rupestri. È molto longevo, potendo diventare plurisecolare, ma ha una crescita molto lenta.

La corteccia è liscia e grigia da giovane; col tempo diventa dura e scura quasi nerastra, finemente screpolata in piccole placche persistenti di forma quasi quadrata.

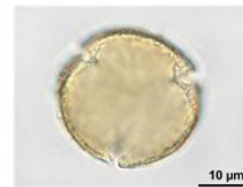
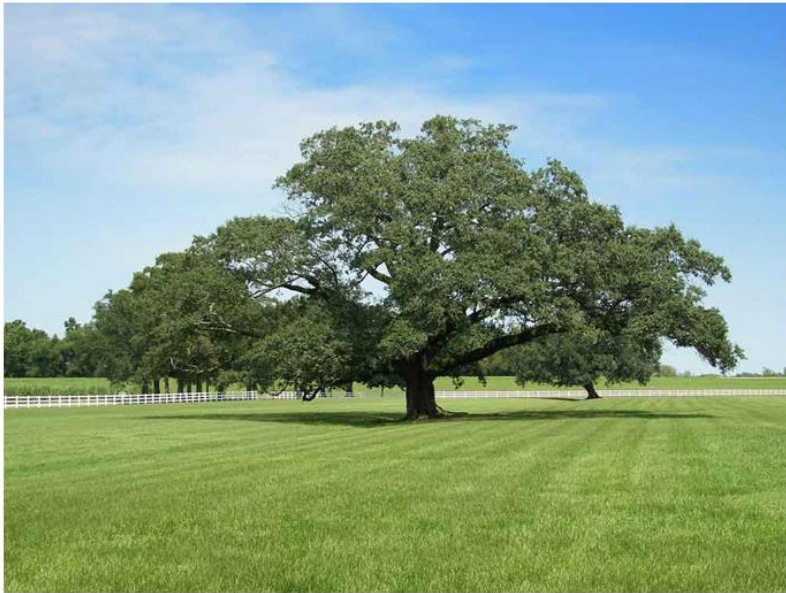
Le foglie sono semplici, a lamina coriacea a margine intero o dentato, molto variabili nella forma che va da lanceolata ad ellittica. La pagina superiore è verde scuro e lucida, la inferiore grigiastria e marcatamente tomentosa. Il picciolo è breve, peloso, provvisto di stipole marroncine, lineari e presto caduche.

I fiori sono unisessuali, la pianta è monoica: i fiori maschili sono riuniti in amenti penduli, cilindrici e pubescenti, con perianzio con 6 lobi e 6-8 stami, mentre i fiori femminili sono in spighe peduncolate composte da 6-7 fiori, e ogni fiore ha perianzio esalobato e 3-4 stigmi. La fioritura avviene nella tarda primavera, da aprile a giugno.

I frutti sono delle ghiande, dette lecce, di colore castano scuro a maturazione, con striature più evidenti. Le ghiande sono coperte per un terzo o metà della loro lunghezza da una cupola provvista di squame ben distinte, con punte libere ma non divergenti. Maturano nello stesso anno della fioritura, in autunno.

Il miele ottenuto dalla melata presenta proprietà astringenti ed è ricco di ferro, e le api bottinano anche sui fiori per il polline.

3.5.18. *Quercus robur* gr. (*Quercus robur* L., 1753 – Farnia, Quercia)



La farnia detta comunemente quercia appartiene anch'essa alla famiglia Fagaceae e al genere *Quercus*, ed è un albero longevo caducifoglie. Le foglie sono obovate con 4-7 lobi arrotondati per lato e sono di colore verde scuro e lucide nella pagina superiore e opache in quella inferiore. Essendo una pianta monoica, ogni esemplare porta fiori di entrambi i sessi, molto simili a quelli delle altre querce: le infiorescenze maschili sono raccolte in amenti cilindrici, penduli, giallastri e quelle femminili solitarie o in gruppo di 2-5 tondeggianti con stimmi rossi. La fioritura avviene nel periodo di aprile-maggio, contemporanea con la fogliazione. Il frutto è una ghianda, solitamente lunga 2,5 cm, di forma ovale, e coperta per metà da una cupola.

3.5.19. *Robinia pseudoacacia* L. – Acacia

L'acacia è una pianta della famiglia delle Fabaceae, dette anche Leguminose, originaria dell'America del Nord e naturalizzata in Europa e in altri continenti.

La pianta può avere un portamento arboreo (alta fino a 25 metri) o arbustivo ed è spesso ceduata, data la sua forte attività riproduttiva agamica. La corteccia presenta una frattura longitudinale, è di colore marrone chiaro molto rugosa e nei rami giovani è compatta e grigiastra. Generalmente si ha la presenza di numerose spine lunghe e solide sui rami più giovani. Nelle varietà coltivate per ornamento le spine possono mancare parzialmente o del tutto.

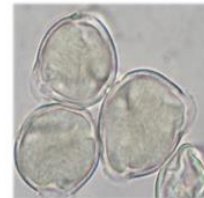
Le foglie sono imparipennate, alterne, lunghe fino a 30-35 cm con 11-21 foglioline ovate a margine intero, di colore verde pallido, glabre, lunghe fino a 6 cm con apice esile: rimangono aperte di giorno mentre la notte tendono a sovrapporsi.

I fiori sono arrotondati all'apice, la corolla è bianca con vessillo giallo, talvolta soffuso di rosa con un calice verde-giallastro, lunghi circa 2 cm simili a quelli dei piselli, riuniti in grappoli pendenti di profumo molto gradevole.



I frutti sono a forma di baccello appiattito e glabro con 4-7 semi prima verdi poi marroni lunghi circa 10 cm, deiscenti a maturità.

3.5.20. Rubus f. (*Rubus ulmifolius* Schott, 1818 - Rovo)



Il rovo (*Rubus ulmifolius* Schott, 1818) è una pianta spinosa appartenente alla famiglia delle Rosaceae.

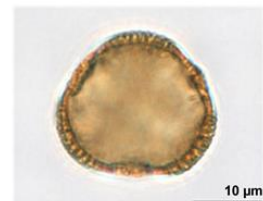
Può raggiungere i 2 - 3 m di altezza, ma può esserlo altrettanto o anche di più in larghezza, a causa dei nuovi lunghissimi getti che annualmente si sviluppano dalle radici.

È costituito da delle foglie decidue, composte da 3-5 foglioline a lamina ovata od obovata con i margini seghettati e spinosi e l'apice acuto.

I fiori del rovo sono ermafroditi e sono riuniti in infiorescenze a racemo di color biancastro o rosato con presenza di aculei abbondantemente tomentosi. La fioritura avviene nel periodo di giugno e fornisce nettare alle api per la produzione di un particolare miele monoflora.

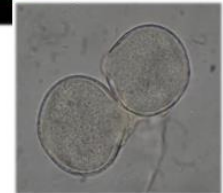
I frutti sono delle piccole drupe delle more, di colore rosso nelle prime fasi di crescita e nero a maturazione. I frutti iniziano a maturare nel periodo di agosto.

3.5.21. *Salix* (*Salix* – Salice)



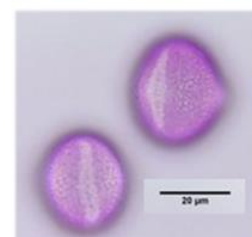
Il salice è un albero alto fino a 25 m, dalla chioma aperta e i rami sottili, flessibili e tenaci, corteccia giallastra o grigio-rossastra. Le foglie lanceolate-acuminate, con stipole caduche e piccole, picciolate e finemente seghettate sono pelose su ambo le facce da giovani. Le foglie adulte hanno pagina superiore poco pelosa o glabra, di sotto hanno densa peluria che conferisce una colorazione argentea. Le infiorescenze sono costituite da amenti, distinti in femminili e maschili. Gli amenti maschili sono lunghi fino a 7 cm, presentano due stami e antere gialle; gli amenti femminili sono pedunculati e più esili di quelli maschili. I fiori di entrambi i sessi presentano una sola ghiandola nettariana. La fioritura avviene da marzo a maggio ed è molto precoce come per altri salici a foglia larga ed è contemporanea od anticipa di poco la fogliazione. I frutti sono costituiti da capsule glabre e subsessili che, a piena maturazione, si aprono in due parti liberando dei semi cotonosi (ovverosia semi dotati di un "pappo" bianco cotonoso). È un'importante specie mellifera: in un periodo dell'anno in cui scarseggiano le altre fioriture mette a disposizione sostanze energetiche (nettare) e proteiche (polline) favorendo la ripresa dell'attività dell'alveare. Abbondante è anche la melata prodotta dagli insetti fitomizi durante il periodo vegetativo.

3.5.22. *Trifolium alexandrinum* (*Trifolium alexandrinum* L. - Trifoglio alessandrino)



Il trifoglio alessandrino (*Trifolium alexandrinum* L.) è una specie erbacea annuale appartenente alla famiglia delle Fabaceae. È una delle leguminose foraggere più interessanti sia per gli ambienti mediterranei (periodo autunno primaverile) che per le zone europee del nord (periodo primaverile estivo). La pianta si presenta con un portamento eretto, con steli cavi, foglie composte trifogliate con foglioline sessili strette portate da un lungo peduncolo con stipole avvolgenti e ramificazione ascellari. L'infiorescenza è a capolino con fiori di colore bianco-giallastro che formano densi grappoli ellittici di circa 2 cm di diametro. I fiori devono essere impollinati in modo incrociato dalle api per produrre semi. Il periodo di fioritura si estende da aprile sino a giugno.

3.5.23. *Trifolium repens* gr. (*Trifolium repens*, L. 1753 – Trifoglio bianco),



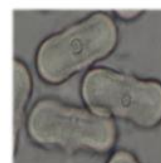
Il trifoglio bianco (*Trifolium repens*, L. 1753), detto anche trifoglio rampicante o trifoglio ladino, è una pianta erbacea appartenente alla famiglia delle Fabaceae.

Nativo del continente europeo, del Nordafrica e dell'Asia occidentale, il trifoglio bianco è stato ampiamente introdotto in tutto il mondo come coltivazione da pascolo.

Il trifoglio bianco è una pianta vivace, con steli prostrati, striscianti sul terreno, detti catene, capaci di emettere radici avventizie dai nodi, queste catene che si estendono e si rinnovano continuamente conferiscono alle colture una durata notevole. Le foglie sono trifogliate, glabre, portate da un lungo picciolo eretto. Le foglioline sono leggermente ovali, denticolate su tutto il margine, con forte nervature e frequente macchia verde chiaro. I fiori sono bianchi con frequenti sfumature rosee, riuniti in gran numero di grossi capolini portati anch'essi da un lungo peduncolo eretto che fa loro raggiungere un livello superiore a quello delle foglie.

È una pianta molto visitata dalle api per il polline ed il nettare, ed è una componente fondamentale della maggior parte dei mieli millefiori italiani. Il periodo di fioritura si estende da aprile sino a luglio.

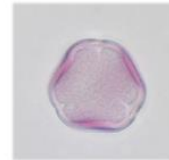
3.5.24. Umbelliferae forma A (*Coriandrum sativum* L. - Coriandolo)



Il coriandolo (*Coriandrum sativum*, L. 1753) o prezzemolo cinese è una pianta erbacea annuale della famiglia delle Apiaceae (o Umbelliferae) alta fino a 100 cm molto aromatica con radice a fittone. Appartiene alla stessa famiglia del cumino, dell'aneto, del finocchio e del prezzemolo.

Presenta fusti eretti, ramificati, alti fino a 50 cm. Le foglie alterne presentano la lamina divisa in lacinie filiformi; le foglie basali sono picciolate, suddivise in tre lobi dentati, quelle cauline sono bi-tri pennatosette non dentate. Le infiorescenze sono delle ombrelle a 4-6 raggi che portano piccoli fiori bianco-rosati che producono semi sferici con scanalature che, quando essiccati, appaiono leggeri e vuoti. Il periodo di fioritura va da maggio a giugno. Si usano i frutti che maturano in giugno-luglio.

3.5.25. *Vitis* (*Vitis vinifera* L., 1753 – Vite)



La vite comune o vite euroasiatica (*Vitis vinifera* L., 1753) è un arbusto rampicante della famiglia Vitaceae con un portamento naturale irregolare, con ramificazione rada ma molto sviluppata in lunghezza, anche diversi metri. Il fusto è più o meno contorto e irregolare, di lunghezza notevole da cui si dipartono numerosi rami, detti tralci con una colorazione che da grigiastria diventa marrone con lo sviluppo del ritidoma. Il legno ha una colorazione bruno-giallastra.

Le foglie (dette pampini) sono palmate, con lembo intero o suddiviso in genere in 3 o 5 lobi più o meno profondi e profilo che nella maggior parte è asimmetrico e irregolarmente orbicolare, in altri termini senza uno sviluppo prevalente in lunghezza o in larghezza. La superficie è glabra oppure rivestita da una peluria più o meno sviluppata: in autunno le foglie perdono la clorofilla assumendo, secondo il vitigno, una colorazione gialla o rossa. Con l'entrata in riposo vegetativo le foglie possono persistere per un tempo più o meno lungo sulla pianta.

I fiori sono riuniti in infiorescenze a pannocchia, dapprima erette, poi pendule (grappolo composto): ogni grappolo è formato da un asse principale, detto rachide, che si ramifica in assi laterali a sua volta ramificati. I fiori sono primariamente ermafroditi ma secondariamente possono essere maschili o femminili per aborto dei rispettivi organi o per perdita di funzionalità. Il calice è poco sviluppato, suddiviso in cinque sepali molto leggeri; la corolla è formata da 5 petali poco appariscenti, verdastri, saldati; nei fiori ermafroditi le antere sono disposte all'altezza dello stamma, ma sono rivolte verso l'esterno, perciò l'impollinazione della vite tende ad essere prevalentemente incrociata. L'insieme degli organi floreali conferisce una colorazione variabile dal giallo-verdastro al giallo-citrino. Il periodo di fioritura va da maggio a luglio e i fiori sono visitati dalle api per il polline ed il nettare.

I frutti sono delle bacche (acini) di forma e colore variabile: gialli, viola o bluastri, raggruppati in grappoli. Presentano un esocarpo spesso pruinoso (buccia), un mesocarpo con cellule piene di succo da cui si ricava il mosto (polpa) ed un endocarpo formato da uno strato di cellule che delimita le logge contenenti i semi (vinaccioli).

4. LO STRESS OSSIDATIVO

In chimica, si definisce radicale libero un atomo o un gruppo di atomi con un elettrone spaiato nell'orbitale più esterno. L'elettrone spaiato rende il radicale una particella estremamente reattiva, che può sottrarre un elettrone ad altre molecole o legarsi ad esse trasformandole in altri radicali. I radicali possono anche interagire fra loro, e in questo caso, avremo la formazione di una molecola stabile.

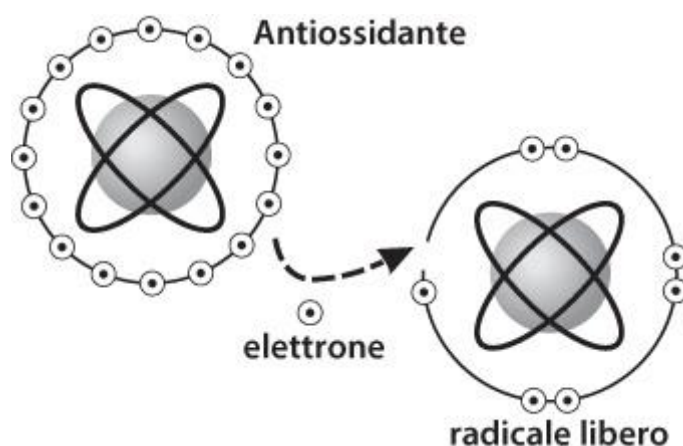
La formazione dei radicali liberi può avvenire, all'interno delle nostre cellule, a seguito di una mancata totale utilizzazione di tutto l'ossigeno disponibile per i normali processi di ossidazione che avvengono durante il metabolismo. Questa parte di ossigeno inutilizzata va a formare molecole instabili, che contengono uno o più atomi di ossigeno detti ROS (reactive oxygen species): perciò spesso parliamo di radicali come intermedi di reazione ad elevato contenuto energetico, estremamente reattivi e a vita breve, ma capaci di esistenza indipendente.

Oltre alle normali reazioni biochimiche di ossidazione cellulare, contribuiscono alla formazione dei radicali liberi alcune disfunzioni e stati patologici come le malattie cardiovascolari, gli stati infiammatori, i traumi al sistema nervoso, le diete troppo ricche di proteine e di grassi animali, il fumo e l'eccesso di alcool, le radiazioni ionizzanti e quelle solari (ozono in eccesso e raggi UVA e UVB).

È inoltre ormai noto da tempo che, oltre ai suoi benefici effetti, anche l'esercizio fisico intenso induce stress ossidativo, definito come un aumento al di sopra dei valori fisiologici della concentrazione delle specie reattive dell'ossigeno. In condizioni di riposo il corpo umano produce una quantità di ROS che non supera la capacità di difesa del sistema antiossidante presente nell'organismo; durante lo sforzo fisico però, il consumo di ossigeno aumenta notevolmente, e in proporzione aumenta la produzione di radicali liberi, in particolare nei muscoli scheletrici ed a livello cardiaco, dove si osserva un uptake di ossigeno fino a 200 volte più alto. Questo determina una maggiore velocità del flusso di elettroni attraverso la catena di trasporto mitocondriale che può amplificare la produzione di radicali liberi. I ROS in eccesso, prodotti in quantità ed a velocità troppo elevate per essere detossificate, si accumulano, danneggiando diversi substrati quali proteine, acidi nucleici e causando la perossidazione lipidica.

4.1. GLI ANTIOSSIDANTI

Gli antiossidanti sono sostanze chimiche o agenti fisici, in grado di neutralizzare i radicali liberi e proteggere l'organismo dalla loro azione negativa, tra cui degenerazioni cellulari e malattie.



Sono in grado di rallentare o prevenire le reazioni di ossidazione terminano queste reazioni a catena intervenendo sui radicali intermedi ed inibendo altre reazioni di ossidazione, ossidandosi.

Il complesso sistema di ossidanti può agire singolarmente o sinergicamente per proteggere le cellule delle specie reattive dell'ossigeno, coinvolgendo componenti endogeni (sintetizzati autonomamente) ed esogeni (assunti con la dieta).

Tra i principali componenti endogeni coinvolti troviamo alcuni enzimi tra cui:

- Superossido dismutasi, attiva contro il radicale superossido ($O_2^{\cdot-}$)
- Catalasi, che decompone il perossido di idrogeno (H_2O_2)
- Glutazione perossidasi (in molti casi il selenio-dipendente), che riduce gli idroperossidi organici ($ROO\cdot$).

Inoltre, la nutrizione svolge un ruolo fondamentale nel mantenere l'efficacia delle difese enzimatiche antiossidanti endogene fornendo molti oligoelementi essenziali, tra cui selenio, rame, manganese e zinco che sono coinvolti nella struttura molecolare o nell'attività catalitica di questi enzimi.

Una seconda linea di difesa endogena è costituita dai composti antiossidanti a basso peso molecolare, che reagiscono con i composti ossidanti riducendone il potenziale nocivo. Tra essi ricordiamo il glutazione, l'ubichinolo e l'acido urico, tutti normali prodotti del metabolismo corporeo.

Tra i componenti esogeni possiamo includere gli antiossidanti assunti con la dieta, quali:

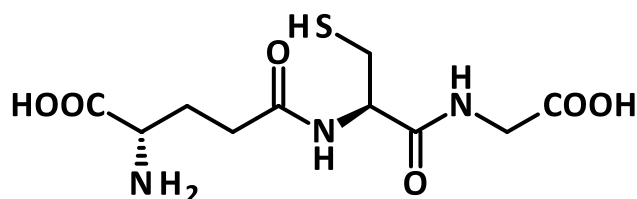
- Vitamina C
- Vitamina E
- Vitamina A
- Polifenoli

4.2. ANTIOSSIDANTI ENDOGENI

Gli antiossidanti endogeni comprendono tutti quegli antiossidanti che l'organismo umano produce per difendersi naturalmente dai radicali liberi. Tra questi troviamo: i sistemi enzimatici, il glutazione e il coenzima Q.

4.2.1. Glutazione

Si tratta di un tripeptide costituito da L-cisteina, L-glicina legate tra loro con un normale legame peptidico e acido glutammico o glutammato legato al gruppo amminico della cisteina per mezzo del gruppo carbossilico terminale.

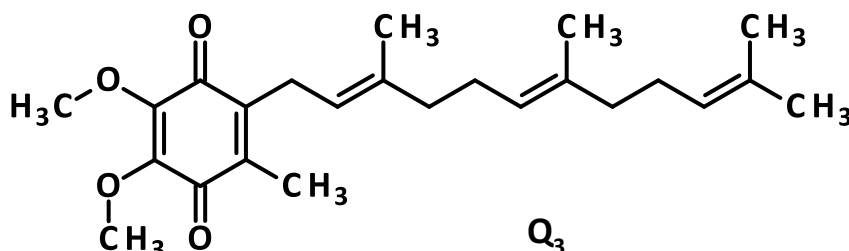


Rappresenta il maggior componente tiolico non proteico nell'organismo. Si trova in concentrazioni millimolari nel citoplasma e nei mitocondri di organi esposti alle tossine come il rene, il fegato, il

polmone e l'intestino ed ha principalmente un compito di detossificazione essendo coinvolto nella decomposizione non radicalica del H_2O_2 ad acqua e nella riduzione degli idroperossidi lipidici, in reazioni che possono essere catalizzate dalla glutatione perossidasi.

4.2.2. Coenzima Q

Il coenzima Q o ubiquinone è un coenzima liposolubile che assomiglia alla vitamina E, ma che può comportarsi come un antiossidante molto più potente. Più nello specifico è un benzochinone con quattro sostituenti, uno dei quali è una lunga catena costituita da 6-10 unità di isoprene che gli conferisce solubilità nelle membrane lipidiche.



Esistono 10 comuni coenzimi Q che prendono il nome dal numero di unità isopreniche che costituiscono la catena, ma il Q₁₀ è l'unico che si trova nel tessuto organico umano. Il coenzima Q₁₀ si trova nei mitocondri delle cellule ed è un trasportatore chiave di elettroni in un processo che genera energia (ATP) dal nostro cibo. Per la salute di tutti i tessuti umani, sono essenziali livelli adeguati di coenzima Q₁₀; esso infatti, gioca un ruolo fondamentale nella funzionalità del sistema immunitario e nei processi di invecchiamento. Il corpo ha gli strumenti per produrlo ma, a causa della complessità delle reazioni coinvolte e la loro dipendenza da molti altri nutrienti essenziali, spesso la produzione è limitata. Dato che diminuisce con l'età e che è anche facilmente degradabile, è molto comune che si creino delle deficienze che hanno bisogno di essere corrette con una giusta integrazione: alimenti ricchi di coenzima Q₁₀ sono i prodotti ittici quali sgombro, salmone e sardine.

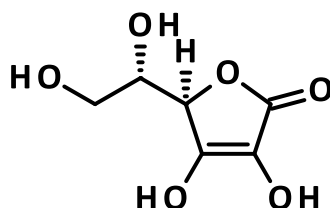
4.3. ANTIOSSIDANTI ESOGENI

Gli antiossidanti esogeni comprendono tutte quelle sostanze in grado di intervenire contro l'attività dei radicali liberi ma che non sono prodotte dall'organismo umano e che per questo devono essere introdotte con la dieta. Molti cibi, soprattutto quelli di origine vegetale, contengono centinaia di sostanze con attività antiossidante più o meno marcata, e anche i liquidi derivati da questi cibi come gli oli di semi, l'olio di oliva, gli oli essenziali, i succhi di frutta, il vino ed anche il caffè e il tè contengono considerevoli quantità di antiossidanti esogeni. Discrete quantità di sostanze antiossidanti sono contenute anche in carne, cereali integrali, frutta secca, molluschi, crostacei, formaggi, latte, legumi, pesce (acciughe, tonno, salmone) e uova. Per mantenere al meglio le quantità e le qualità degli antiossidanti è consigliabile consumare gli alimenti direttamente in modo fresco, o comunque limitando il più possibile la loro lavorazione e cottura, in quanto ciò potrebbe degradare la composizione chimica che li contraddistingue, e dunque pregiudicare i benefici per la salute che sono in grado di fornire. Generalmente per fare il pieno di antiossidanti, gli esperti consigliano di mangiare ogni giorno almeno cinque porzioni di frutta e verdura anche se per combattere la produzione di radicali liberi è bene anche limitare l'apporto calorico complessivo ed il consumo di grassi, sale, frittture, salumi e carni cotte alla griglia. Gli antiossidanti esogeni naturalmente presenti negli alimenti

ed introdotti con la dieta possono essere: vitaminici come le vitamine C, A, E e non vitaminici come i polifenoli.

4.3.1. Vitamina C o Acido Ascorbico

Il termine vitamina C fa riferimento a tutti i composti che esibiscono l'attività biologica dell'acido ascorbico e che sono quindi in grado di prevenire o curare lo scorbuto, una delle malattie più antiche che si conoscano e che per molti secoli causò la morte di molti equipaggi di navi di lungo corso.

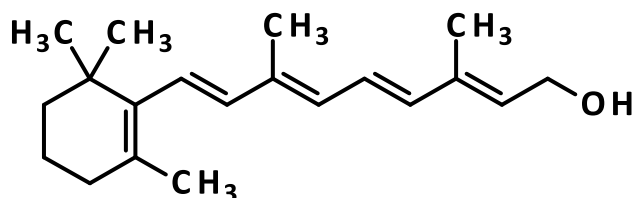


La vitamina C è largamente diffusa negli alimenti di origine vegetale: particolarmente ricchi sono i peperoncini piccanti, i peperoni, gli agrumi, i kiwi e gli ortaggi a foglie verdi. L'assorbimento avviene nel tratto gastrointestinale ed è quasi completo a basse dosi, quando la vitamina viene assorbita mediante un meccanismo di trasporto attivo NAD⁺ dipendente, mentre a dosi più elevate viene compiuto mediante diffusione passiva e diminuisce fino a raggiungere valori del 16%. La vitamina fa parte di un complesso sistema di protezione contro i radicali liberi, infatti sequestra le specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto, come i radicali superossido e idroperossilico, l'ossigeno singoletto, l'ozono, il perossinitrito, il diossido di azoto, l'acido ipocloroso e i radicali azotati.

L'acido ascorbico, inoltre, svolge una funzione antiossidante nei confronti dei nitriti che vengono ridotti a ossido di azoto (NO), evitando la formazione delle nitrosamine che sono la principale causa dei carcinomi del tratto gastrointestinale in particolare dell'esofago, stomaco e intestino.

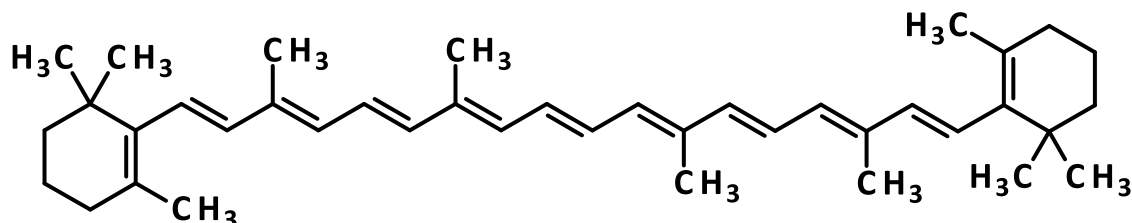
4.3.2. Vitamina A (retinolo) e carotenoidi

Il termine "vitamina A" viene usato generalmente per indicare tutti quei composti strutturalmente correlati, contenenti l'anello β-ionone e che possiedono l'attività biologica del retinolo. Il nome "retinolo" è stato attribuito alla vitamina A per la sua specifica funzione sull'attività della retina dell'occhio e per la sua composizione chimica.



La vitamina A come tale, si trova solo negli alimenti di origine animale; fegato di suino, di bovino e coratella di agnello sono quelli con il maggior contenuto di retinolo. Negli alimenti di origine vegetale, invece, sono presenti, associati alla clorofilla, i precursori della vitamina A detti carotenoidi e rappresentati principalmente dall'α, β e γ carotene. Ottime fonti di carotenoidi sono le carote, il prezzemolo, il peperoncino rosso, la zucca gialla, il radicchio e gli spinaci; buone percentuali si ritrovano anche in albicocche, cicoria, bietola e melone.

Questi precursori sono contenuti in percentuali non elevate, anche in alcuni alimenti di origine animale quali latte, formaggi e burro. Strutturalmente il β -carotene ed i carotenoidi sono molecole caratterizzate da una lunga serie di doppi legami coniugati carbonio-carbonio che formano un esteso sistema cromoforo capace, quindi, di conferire colorazione ad una sostanza; il tipico colore dei carotenoidi, che spazia dal giallo pallido all'arancione fino al rosso acceso, è proprio una diretta conseguenza della struttura molecolare di questi composti.



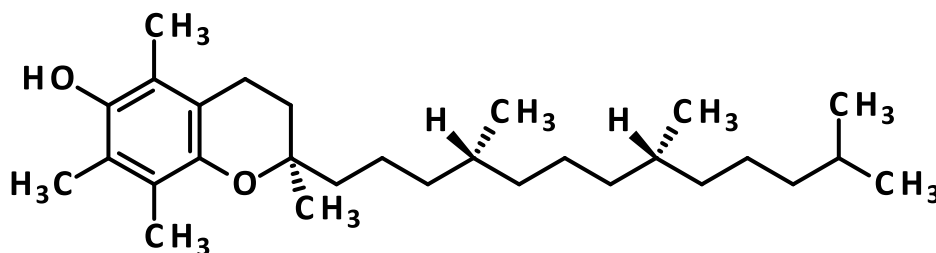
La vitamina A ed il β -carotene in particolare, presentano una spiccata attività antiossidante che si può ricollegare alla facilità con la quale questi composti reagiscono con l'ossigeno. Il β -carotene è uno dei più potenti quencher (spegnitori) dell'ossigeno singoletto; l'energia di questa molecola estremamente reattiva viene dissipata proprio dall'azione di questo carotenoide impedendo, all'ossigeno stesso, di generare radicali liberi. Il β -carotene e il licopene sono i carotenoidi principali nel plasma umano, e la loro somministrazione aumenta la resistenza delle LDL all'ossidazione. Inoltre, l'arricchimento delle LDL in vivo con una miscela di vitamina E, β -carotene, licopene e luteina ha dato risultati positivi nella protezione delle LDL dall'ossidazione; risulta ovvio quindi che il consumo da parte di adulti sani di prodotti alimentari contenenti moderate quantità di vitamina E e carotenoidi può portare a una significativa riduzione della perossidazione lipidica.

4.3.3. Vitamina E o α -Tocoferolo

La vitamina E è una componente presente in particolare nei costituenti lipidici delle membrane cellulari e delle lipoproteine. Fu scoperta intorno alla prima metà del 1900 in seguito ad esperimenti effettuati su ratti alimentati con caseina, amido di mais, burro e lievito, dai quali si riscontrò l'impossibilità della loro riproduzione: le femmine abortivano mentre i maschi risultavano sterili. Tali effetti scomparivano per somministrazione di oli vegetali; proprio dalla frazione insaponificabile dell'olio di germe di grano venne isolata la vitamina E, che fu chiamata così perché scoperta dopo la vitamina D. Nel 1936 gli fu conferito il nome di tocoferolo e i prefissi α , β , γ e δ furono usati per distinguere la famiglia di sostanze. Il termine vitamina E viene usato per descrivere tutti i derivati del tocoferolo e del tocotrienolo che presentano qualitativamente l'attività biologica dell' α -tocoferolo e comprende un gruppo di otto molecole isomeriche, che sono caratterizzate da una struttura ad anello cromanolico e da una catena laterale 4',8',12'-trimetiltridecilitolo; i tocotrienoli differiscono nel numero e nella posizione dei sostituenti metilici attaccati all'anello cromanolico.

L' α -tocoferolo è il composto che presenta la maggiore attività vitaminica, rispetto ai tocoferoli β , γ e δ , mentre tra i tocotrienoli solo la forma α sembra possederla sebbene in misura notevolmente ridotta. Una sorgente ricca di α -tocoferolo è l'olio di germe di grano anche se la vitamina è presente in quantità elevate in altri oli vegetali quali quello di girasole, di vinaccioli e di sesamo. Buone percentuali sono riscontrate anche nella frutta secca, in particolare mandorle e nocciole mentre nel

latte e nei derivati le quantità sono più basse. Fonti secondarie sono noci, cereali (mais, frumento e riso), legumi, ortaggi a foglie e frutta.



La Vitamina E è considerata un importante scavenger di radicali che svolge attività antiossidante nelle membrane cellulari e subcellulari e anche nei confronti delle lipoproteine plasmatiche. Nelle persone sane, la somministrazione di vitamina E per 2 mesi ha portato dall'aumento della resistenza all'ossidazione da parte delle LDL, mentre nei pazienti con stenosi carotidea, la somministrazione di α -tocoferolo ha anche inibito la perossidazione lipidica nelle lesioni aterosclerotiche.

4.3.4. Polifenoli

I polifenoli sono molecole che presentano più gruppi -OH su anelli fenolici. Nelle piante sono presenti in notevole quantità e svolgono un'azione antiossidante.

Essi rappresentano i più importanti antiossidanti interruttori di catena in quanto l'ossidrilico fenolico è un idrogeno donatore e di conseguenza può cedere facilmente un atomo di idrogeno per bloccare la catena radicalica, a causa della forza debole del legame O-H. Il radicale fenossile che si forma da tale processo è stabilizzato per risonanza e non reagisce né con l'ossigeno né con il substrato ossidabile.

Ai polifenoli sono state attribuite in via generale diverse proprietà benefiche come capacità antiossidanti e antinfiammatorie; essi sarebbero inoltre in grado di proteggere le cellule dallo stress ossidativo e tenere sotto controllo i livelli di colesterolo; sono state inoltre a loro attribuite capacità antibatteriche, antifungine, antivirali, antiparassitarie e citotossiche.

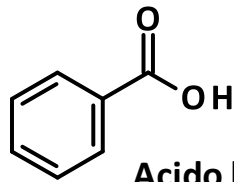
I composti fenolici inoltre caratterizzano l'aroma e il sapore dei cibi e delle bevande e spesso, data la loro colorazione possono essere utilizzati come coloranti naturali con contestuale attività antimicrobica e antiossidante favorendo la conservazione degli alimenti.

I polifenoli possono essere classificati in diverse sottocategorie le più importanti delle quali sono:

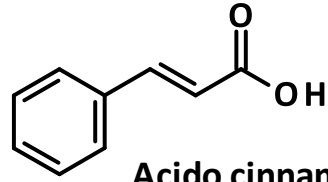
- acidi fenolici
- flavonoidi
- stilbeni
- lignani

4.3.5. Acidi Fenolici

La struttura degli acidi fenolici è costituita da un anello aromatico e un gruppo carbossilico. Tra questi, i derivati degli acidi benzoici e cinnamici sono quello che rivestono maggiore importanza. L'attività antiossidante degli acidi fenolici è determinata dal numero di gruppi idrossilici, dal posizionamento dei gruppi funzionali e dagli eventuali effetti sterici da essi causati.

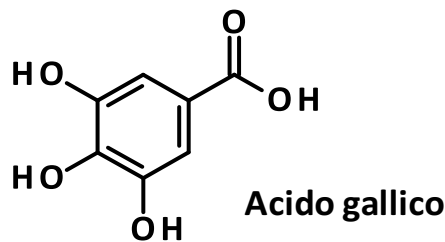


Acido benzoico



Acido cinnamico

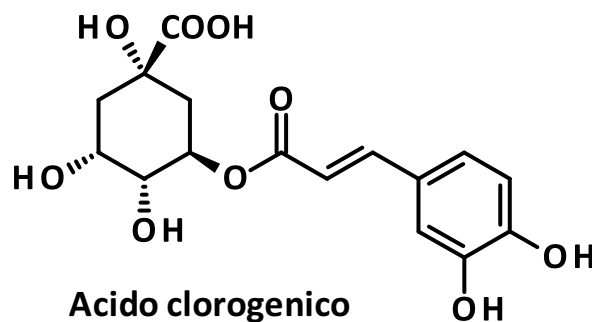
I derivati monoidrossilati dell'acido benzoico hanno le migliori proprietà antiossidanti quando sono meta-idrossilati, mentre i derivati diidrossilati sono caratterizzati da un'elevata attività antiossidante quando gli ossidrili sono posizionati nelle posizioni orto- e meta-. La vicinanza del gruppo COOH con i gruppi funzionali orto-difenolici influenza l'accessibilità dell'idrogeno nella posizione meta, che garantisce una maggiore efficacia antiossidante.



Acido gallico

L'acido gallico (acido 3,4,5-triidrossibenzoico) ha una grande capacità antiossidante grazie ai suoi tre gruppi ossidrilici accessibili. La presenza di gruppi metilici nei gruppi 3-OH e 5-OH diminuisce la sua attività in confronto con i derivati triidrossilati.

I derivati dell'acido cinnamico sono antiossidanti più efficaci dei derivati dell'acido benzoico a causa dell'introduzione di un gruppo etilenico tra l'anello fenilico e il gruppo carbossilico, che aumenta la capacità di donare un atomo di idrogeno.



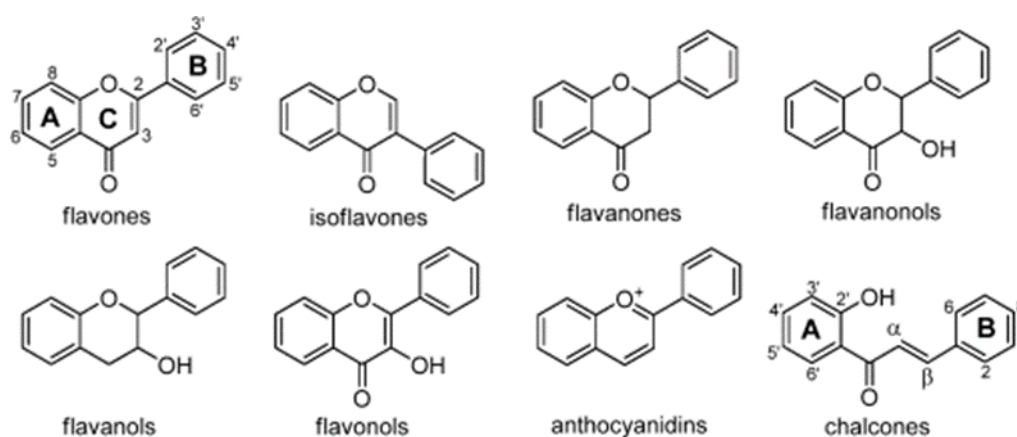
Acido clorogenico

I derivati monoidrossilati degli acidi cinnamici sono infatti donatori di idrogeno più accessibili rispetto ai derivati monoidrossilati dell'acido fenilacetico. Inoltre, l'introduzione del secondo gruppo OH, come nell'acido caffeico, aumenta l'efficacia antiossidante. Pertanto, i difenoli come gli acidi caffeici, clorogenici e protocatecuici dimostrano una maggiore capacità di intrappolare i radicali rispetto ai monofenoli, come l'acido idrossicinnamico. La sostituzione del gruppo 3-OH con un gruppo metossilico dell'acido caffeico, come avviene nell'acido ferulico, porta ad un aumento dell'attività antiossidante nella fase lipidica.

4.3.6. Flavonoidi

Nel polline d'api, i flavonoidi costituiscono forse, il più significativo gruppo di composti con attività antiossidante tra i polifenoli.

La loro struttura chimica è caratterizzata dalla presenza di un sistema di anello difenilpropano (C6-C3-C6) comprendente due anelli aromatici (A e B) contenenti più gruppi idrossilici, che, nella maggior parte dei casi, è chiusa con l'ossigeno sull'anello A formando un anello eterociclico (C); a tale struttura eterociclica è legato l'anello B. Le caratteristiche dei differenti sottogruppi di flavonoidi dipendono principalmente dall'insaturazione e dalla sostituzione dell'anello eterociclico centrale, che consente la loro classificazione in flavoni, flavonoli, flavanoni, flavanonoli, flavanoli o catechine ed antociani. In alcune circostanze, la catena che forma l'anello C è aperta e i composti vengono denominati calconi.



In generale, la capacità dei flavonoidi di essere degli efficaci antiossidanti dipende da tre fattori:

- la presenza di sostituenti in grado di donare atomi di idrogeno o elettroni e quindi in grado di ridurre i radicali liberi;
- la capacità del fenossile che si forma quando il flavonoide dona un atomo di idrogeno, di delocalizzare l'elettrone spaiato stabilizzandosi;
- la capacità di chelare i metalli di transizione che è fortemente dipendente dalla disposizione degli idrossili e del gruppo carbonilico sulla molecola;

Nel polline i flavonoidi sono presenti principalmente come glicosidi, cioè legati ad una o più molecole di zucchero.

4.4. METODI PER LA DETERMINAZIONE DEL POTERE ANTIOSSIDANTE NEGLI ALIMENTI

La crescente richiesta di valutare il potenziale antiossidante di una matrice alimentare che possa essere utilizzata come nutraceutica ha portato negli ultimi anni allo sviluppo di numerosi metodi utilizzabili velocemente e semplicemente per valutare la sua capacità di inibire la degradazione ossidativa.

I diversi metodi variano sotto vari punti di vista, come il meccanismo di reazione, il tipo di substrato utilizzato o l'iniziatore dell'ossidazione, oltre alla facilità d'uso. La selezione del metodo è quindi

fondamentale, soprattutto per una valutazione attendibile dell'attività antiossidante e del potenziale della matrice o di additivi antiossidanti come conservanti alimentari o promotori di salute.

La misurazione della attività antiossidante (AOA) può essere effettuata tramite due approcci:

- Diretto
- Indiretto

Le misurazioni dirette prevedono l'utilizzo di un substrato ossidabile che viene degradato, e addizionato di un antiossidante: si va quindi a confrontare l'entità dell'ossidazione in presenza ed in assenza di antiossidante per cercare di determinare "quanto" l'antiossidante possa proteggere tale substrato dall'ossidazione. Purtroppo, i metodi diretti, nonostante forniscano una misura più realistica, sono difficilmente ripetibili e di difficile esecuzione, e richiedono un'analisi cinetica dei processi che può essere fatta solo a livello specialistico.

Tra questi metodi diretti quelli più comunemente usati sono il saggio delle LDL (lipoproteine a bassa densità), ed i saggi TRAP (Total Radical-trapping Antioxidant Parameter), FOX (Ferrous Oxidation-Xylenol orange) e FTC (Ferric ThioCyanate).

Per eliminare la complessità dello studio delle reazioni a catena, sono stati proposti inoltre dei metodi basati sull'analisi dell'inibizione di processi perossidativi non a catena. Questi metodi misurano la capacità di un campione di inibire il consumo o la degradazione di una molecola target dovuti all'attacco di perossiradicali, di solito attraverso il monitoraggio dell'assorbanza all'UV-visibile o della fluorescenza.

Tra questi troviamo una versione modificata del TRAP e il saggio ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), che è uno dei metodi diretti di competizione più usato. Infatti, è stato a lungo utilizzato negli USA per stimare la capacità antiossidante dei cibi e delle bevande più consumati, anche se attualmente i risultati ottenuti con tale test sono stati criticati da alcuni studiosi.

I metodi indiretti vanno invece a misurare la capacità di un antiossidante di reagire con dei radicali liberi persistenti, e quindi si determinano parametri di reattività generica tentando di riprodurre ciò che avviene durante la vera degradazione ossidativa, senza studiarla effettivamente: in alcuni di questi metodi sono utilizzati dei radicali persistenti che assumono una intensa colorazione nella regione del visibile e possono essere quindi facilmente quantificati.

I metodi indiretti sono sicuramente quelli più utilizzati in quanto semplici e riproducibili, anche se la misura dell'attività antiossidante effettuata con tali metodi può essere poco realistica. L'utilizzo di più metodi per testare il medesimo campione dà, in genere, una misura abbastanza attendibile dell'attività antiossidante del campione in esame.

Uno dei metodi indiretti più utilizzati è il test dell'ABTS (2,2 -Azino-bis(3-ethylBenzoThiazoline-6-Sulfonic acid)), ma molto conosciuti ed utilizzati sono anche il test DPPH (2,2-Diphenyl-1-PicrylHydrazyl) e il test DMPD (N,N-Dimethyl-p-Phenylenediamine Dihydrochloride): tutti questi metodi misurano l'attività antiossidante andando a misurare la decolorazione di specie radicaliche persistenti colorate, dovuta alla reazione con l'antiossidante.

In altri casi, come nel test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) e nel test CUPRAC (CUPric Reducing Antioxidant Capacity), viene invece misurata la capacità dell'antiossidante di ridurre degli ioni ferro o rame.

Anche il test che utilizza il reattivo di Folin-Ciocalteu può essere annoverato tra i test indiretti in quanto misura per lo più la capacità riducente della matrice, nonostante sia comunemente chiamato saggio dei polifenoli totali.

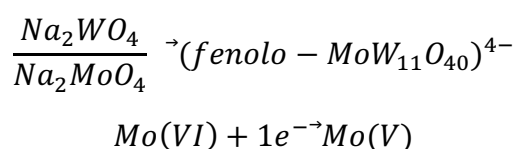
Tra tutti questi metodi, per questo progetto di tesi è stato usato il test di Folin che è uno dei più diffusi per una prima analisi del contenuto polifenolico di una matrice. Il lavoro sarà poi completato con l'utilizzo di altri test (ABTS, DPPH, ORAC) per valutare l'attività antiossidante.

4.4.1. Metodo di Folin-Ciocalteu (TPC).

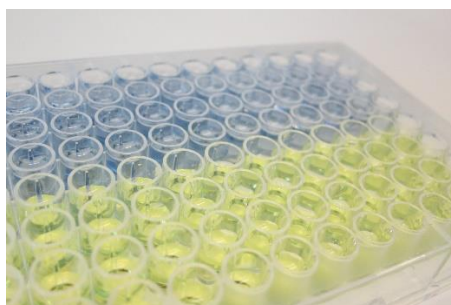
Questo metodo consiste nell'aggiunta di un particolare reattivo ossidante, il "reattivo Folin Ciocalteu" (FC), il quale assume una colorazione blu, la cui intensità sarà proporzionale al numero dei residui polifenolici presenti sulla matrice analizzata.

Per questo esso viene impiegato per la determinazione del contenuto totale dei polifenoli, specialmente nei campioni reali quali vini ed estratti naturali.

Esso è un composto da una miscela color giallo, a base di acido fosfotungstico e fosfomolibdico, capaci di ossidare substrati polifenolici e altre molecole antiossidanti quali acido ascorbico, riducendosi ai rispettivi ossidi W_8O_{23} e Mo_8O_{23} , che apportano alla soluzione una intensa colorazione di blu. Lo schema di reazione, che avviene mediante trasferimento elettronico (ET), può essere così descritto:



La reazione di ossidazione del substrato polifenolico deve essere effettuata a pH alcalini intorno al valore di 10 (soluzione di Na_2CO_3), per accelerare la cinetica della reazione stessa. La miscela di ossidi di W_8O_{23} e Mo_8O_{23} che si forma presenta un'ampia zona di assorbimento compresa tra 720 nm e 750 nm.



Il metodo di Folin-Ciocalteu non è specifico per i soli composti polifenolici, vengono ossidati infatti anche altri substrati facilmente riducibili, si possono ottenere risultati sovrastimati per il contenuto totale di polifenoli. A meno che gli interferenti non vengano rimossi dalla matrice quindi, tale metodo non determina il contenuto totale dei polifenoli. Può essere usato tuttavia, come una misura del potere riducente totale, un importante parametro per la valutazione dello stato redox cellulare.

5. IL POLLINE D'API

L'ape bottinatrice raccoglie il nettare dal calice dei fiori succhiandolo con la ligula e lo deposita nella borsa melaria posta nel suo addome per trasportarlo all'alveare.

Passando di fiore in fiore il corpo della bottinatrice si sporca anche di polline, ed essa con le zampe si spazzola raccogliendo i granuli di polline, li impasta con un po' di nettare e forma una pallottolina che trasporterà nelle "cestelle" poste nelle zampe posteriori. Al suo rientro nell'alveare le palline di polline verranno deposte nel favo; le magazziniere lo impasteranno con il miele e lo compatteranno nella celletta dove diventerà una preziosa fonte proteica per l'alimentazione delle larve.

Per raccoglierlo l'apicoltore pone una rete all'ingresso dell'arnia (Figura X), dove la bottinatrice con il suo carico passa con fatica; le palline di polline si staccano e cadono in un cassetto pronte per essere essiccate e consumate.



La bottinatrice non visita solo i fiori per raccogliere il nettare e il polline ma raccoglie anche le altre sostanze necessarie alla vita dell'alveare come l'acqua, la melata (una sostanza zuccherina secreta da particolari insetti parassiti delle piante ed elaborata a partire dalla linfa delle piante stesse) ed altre sostanze resinose prodotte dalle gemme e dalla corteccia di alcuni alberi. Ma con i fiori l'ape ha un rapporto del tutto speciale, in cambio di nettare e polline assicura alle piante l'impollinazione incrociata.



Per ogni fiore abbiamo un tipo di nettare e un tipo di polline che produrranno un determinato tipo di miele: laddove ci sono fioriture estese le api tendono infatti a concentrare la raccolta solo su quel tipo di pianta. L'apicoltore potrà così ottenere un miele monofloreale e potrà raccogliere pallottole di polline prevalentemente uniflorali. Nel caso di fioriture concomitanti o prati fioriti le api produrranno miele multiflorale o "millefiori" e si raccoglieranno pallottole contenenti più pollini o insiemi di diverse pallottole uniflorali.

5.1. COMPOSIZIONE DEL POLLINE D'API

Il polline d'api è considerato, fin dai tempi memorabili, una buona fonte di sostanze nutritive e di energia. La sua composizione chimica dipende fortemente dalla sua origine vegetale, ed è quindi influenzata da numerosi fattori, come il tipo di pianta da cui deriva, il suo stato nutritivo e la sua localizzazione geografica. In letteratura diversi studi, evidenziano differenze apprezzabili nella composizione di pollini provenienti da diverse regioni o nazioni.

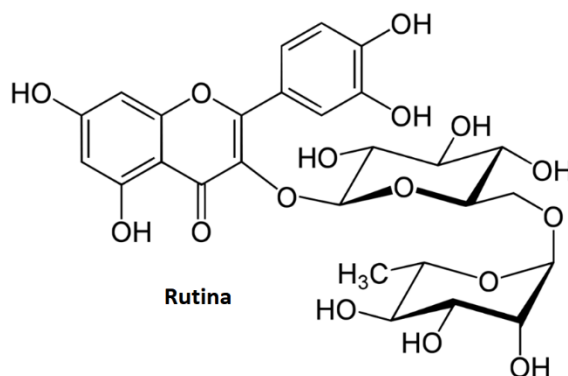
Il polline d'api viene considerato un vero e proprio super alimento, poiché dal punto di vista nutrizionale presenta un quantitativo proteico per il 50-60% ricco soprattutto in aminoacidi essenziali: nelle pallottole di polline possono essere presenti infatti fino a 22 aminoacidi diversi; inoltre ha un ridotto apporto di glucidi (13-15%) e di lipidi (4 -7%). Dal punto di vista degli oligoelementi e micronutrienti il polline contiene tutti i minerali (Cu, Ca, Mg, Fe, Zn, K, Na), vitamine come la vitamina A, la vitamina E, la niacina, la biotina, la tiamina, l'acido folico e numerosi enzimi e coenzimi. Il profilo lipidico è molto interessante in quanto vi è una percentuale molto alta di fosfolipidi e acidi grassi mono e polinsaturi (ALA, Acido gamma linoleico), fitosteroli.

Per quanto riguarda gli antiossidanti quelli più presenti nel polline sono i polifenoli e tra questi le classi più rappresentate sono gli acidi fenolici e i flavonoidi.

Gli acidi fenolici costituiscono in media lo 0.19% in peso del polline e quelli più comuni nel polline d'ape sono il clorogenico, il gallico, il ferulico, il cinnamico e gli acidi caffeici, nonché gli acidi idrossicinnamici.

Tra i flavonoidi quelli che troviamo principalmente del polline d'ape sono i flavonoli quercetina e il kaempferolo e il loro glicosidi tra i quali la rutina, ossia la quercetina 3-O-rutoside è quello più comune. Gli agliconi (quercetina e kampeferolo) si formano in genere per idrolisi ad opera della alfa e beta-glucosidasi, enzima secreto dalle ghiandole ipofaringee delle api.

Vi è da precisare che la presenza di particolari flavonoidi nel polline varia a seconda delle specie vegetali da cui questo viene prelevato.



La quercetina è il flavonoide che conferisce al polline d'api le caratteristiche proprietà biologiche e data la presenza ubiquitaria nel polline d'api del suo glicoside rutina, alcuni studiosi hanno proposto di utilizzare la sua quantificazione per valutarne la qualità nutrizionale e biologica.

Della quercetina possono inoltre essere presenti anche altri glicosidi come l'iperoside, la quercetrina, l'isoquercetrina ed infine la quercetina 3-O-sophoroside e la quercetina 3,7-O-diglucoside.

Inoltre, altri flavonoli come il kaempferolo, la miricetina e i suoi glicosidi, la tricetina, l'8-metossiferbacetina, la galangina e l'isoramnetina sono stati trovati in alcuni pollini d'ape.

Per quanto riguarda i flavoni nel polline d'api sono stati isolati l'apigenina, la crisina, la luteolina, la gardenina B, la pinocembrina e la naringenina e i relativi glicosidi.

Per gli isoflavoni sono stati rilevati i glicosidi della selagina della genisteina.

Altri flavonoidi presenti nel polline d'api sono le catechine e le leucoantocianidine.

5.2. PROPRIETÀ DEL POLLINE D'API

Il polline è un alimento completo ricco di vitamine (A, C, E), acidi essenziali, rutina, magnesio, calcio, zinco, potassio. Esso inoltre è ricco di enzimi acceleranti della crescita, carotenoidi, macrominerali e oligoelementi. A causa di tutto questo sono svariati gli usi del polline:

- Può essere usato per aiutare le persone affette di anoressia a ritrovare l'appetito e riprendere peso
- Come integratore energizzante per persone indebolite
- Combatte l'invecchiamento precoce
- Può ristabilire il corretto funzionamento dell'intestino: aiuta contro la diarrea e la costipazione
- È un possibile rimedio contro l'impotenza sessuale
- Protegge il corpo dalle aggressioni microbiche
- Nell'uomo combatte l'ipertrofia alla prostata
- Migliora la memoria combattendo contro l'affaticamento mentale
- Stimola e rinforza il sistema immunitario
- Il polline è ricco di amido e quindi importante nel riattivare e mantenere una sana flora intestinale
- Viene utilizzato per contrastare gli effetti della menopausa

Moltissime ricerche hanno dimostrato come il polline d'api, in forma di estratto idroalcolico, presenti numerose attività ed effetti protettivi verso radicali liberi, fattori infiammatori ed altri processi biochimici.

5.2.1. Proprietà Antinfiammatorie

La presenza dei flavonoidi dona al polline proprietà antinfiammatorie, e porta dei benefici riguardo la difesa dell'ospite contro gli agenti patogeni.

I flavonoidi infatti, agendo sulle cellule inibiscono il metabolismo del cosiddetto "acido arachidonico". Con tale diminuzione segue l'abbassamento delle prostaglandine proinfiammatorie, aumentando gli effetti antinfiammatori.

È stato visto che l'uso del polline d'api è efficace nei confronti dell'aggregazione piastrinica ed risulta anche efficiente per l'eliminazione dei dolori locali.

5.2.2. Proprietà Anticancerogene

Altra proprietà del polline d'api è quella anticancerogena: infatti esso ha attività citossica sulle cellule tumorali, inibendone il loro sviluppo.

Questo fenomeno è dovuto al suo potere antiossidante, che provocando così la soppressione di specie reattive dell'ossigeno (ROS). Il polline d'api contiene anetolo, ossia un composto aromatico importante che è un inibitore del fattore di necrosi tumorale. Secondo alcuni risultati, diversi componenti del polline, quali acidi fenolici e flavonoidi, sono in grado di controllare la crescita delle cellule e di rafforzare il sistema immunitario.

5.2.3. Proprietà antibatteriche e Antifungine

Diversi studi hanno dimostrato che l'attività antibatterica del polline d'api sia dovuta alle proprietà delle glucosio ossidasi che è un enzima prodotto dalle api. La sua attività antifungina invece, è stata verificata su *Candida rugosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger* e *Rhizopus oryzae*.

5.2.4. Proprietà Epatoprotettive

Il polline d'api presenta un'efficienza bioattiva sulle funzioni epatiche. È stato visto che il polline estratto abbassa i livelli patologici di enzimi presenti nel sangue su individui che sono stati avvelenati con composti organici (ammonio fluoruro) o farmaci (paracetamolo). Tale scoperta deriva dalle sperimentazioni su ratti intossicati da metalli pesanti o pesticidi.

5.2.5. Proprietà Antiaterosclerotiche

Il polline d'api ha anche una capacità ipolipemizzante. Diminuisce quindi, il contenuto dei lipidi totali, del colesterolo e dei trigliceridi. Si è visto che assumendo il polline, la formazione di placca aterosclerotica e la viscosità del sangue, si riducono. Tale fenomeno è legato a forme libere di acidi grassi omega 3, che agiscono da precursori per la prostaglandina-3 che è l'inibitore principale dell'aggregazione piastrinica.

6. PARTE SPERIMENTALE

Lo scopo di questa tesi è stato quello di caratterizzare dal punto di vista botanico diversi tipi di polline d'ape multiflorali raccolti in diversi luoghi delle Marche ed in diversi periodi, e di determinarne l'attività antiossidante. Tutto ciò al fine di correlare l'origine botanica con l'attività antiossidante e di descrivere le principali specie botaniche bottinate dalle api nei diversi periodi e nelle diverse zone delle Marche.

Sui campioni di polline è stata effettuata l'analisi palinologica (ASSAM) e quindi essi sono stati analizzati per la determinazione dell'umidità (ASSAM), del contenuto proteico (ASSAM), della granulometria e del contenuto fenolico totale (TPC) con il test di Folin.

6.1. CAMPIONI

Per questo studio sono stati selezionati 24 campioni di pollini multiflorali, che sono stati raccolti dagli apicoltori presso le seguenti località delle Marche: Isola del Piano (PU), Località Cavaceppo (AP) e Matelica (MC).

I pollini sono stati raccolti in periodi diversi per ottenere una multifloralità che fosse rappresentativa del periodo di fioritura delle piante (Figura 1).

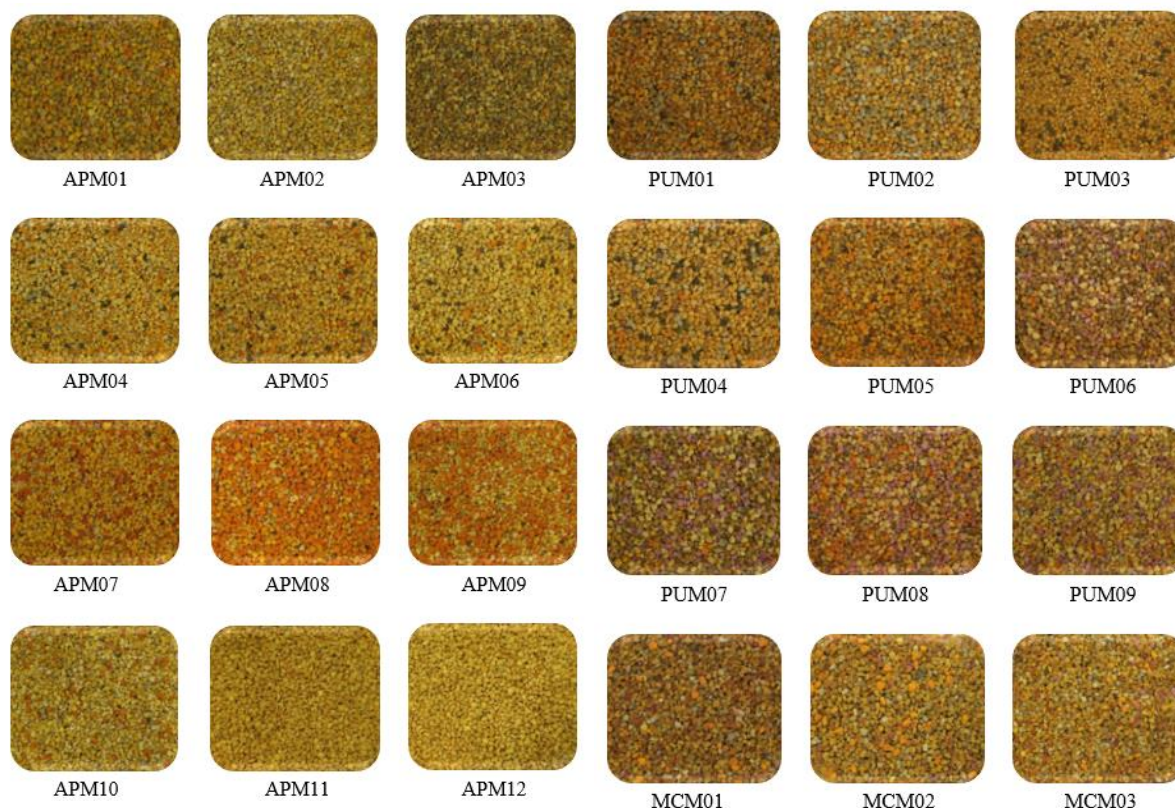


Figura 1: Immagini dei 24 campioni di polline suddivise per apiario di raccolta (AP: Ascoli Piceno; PU: Pesaro Urbino; MC: Macerata) e rappresentativa della loro multifloralità.

I campioni appena raccolti (freschi) sono stati congelati e conservati a -20°C sino al momento dell'utilizzo. Per l'analisi della granulometria e del contenuto fenolico i campioni sono stati disidratati in stufa a 35°C per 24 ore al fine di diminuire l'umidità e quindi sono stati conservati al buio a temperatura ambiente.

I campioni analizzati sono descritti in Tabella 1 dove è riportato anche il contenuto proteico e l'umidità dopo essiccazione, determinati dal Centro Agrochimico Regionale dell'ASSAM.

Codice	Data prelievo	PROTEINE %	UMIDITA' %	LOCALITA
APM01	20-24/04	22,49	16	ISOLA DEL PIANO (PU)
APM02	24-26/04	20,64	21,7	ISOLA DEL PIANO (PU)
APM03	26-29/04	18,66	22,2	ISOLA DEL PIANO (PU)
APM04	29/04-03/05	19,97	14,8	ISOLA DEL PIANO (PU)
APM05	03-06/05	20,58	17,8	ISOLA DEL PIANO (PU)
APM06	28/06	20,8	14	ISOLA DEL PIANO (PU)
APM07	01/07	20,52	13,5	ISOLA DEL PIANO (PU)
APM08	03/07	20,1	12,8	ISOLA DEL PIANO (PU)
APM09	07/07	19,88	15	ISOLA DEL PIANO (PU)
APM10	21/04	21,09	15,8	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
APM11	30/04	21,42	13,9	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
APM12	08/05	24,52	11,9	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
PUM01	15/05	19,88	13,8	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
PUM02	22/05	20,84	13,1	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
PUM03	29/05	18,04	14,9	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
PUM04	05/06	17,78	11,3	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
PUM05	12/06	16,02	16,9	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
PUM06	19/06	18,81	12,9	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
PUM07	26/06	20,75	10,5	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
PUM08	03/07	22,1	10,8	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
PUM09	09/07	21,97	13,2	LOCALITA' CAVACEPPO (AP)
MCM01	07/07	21,93	14,9	MATELICA (MC)
MCM02	09/07	21,54	16,5	MATELICA (MC)
MCM03	12/07	22,24	14,7	MATELICA (MC)

Tabella 1: Periodo e luogo (AP: Ascoli Piceno; PU: Isola del Piano; MC: Matelica) di produzione, contenuto proteico, e umidità dei campioni di polline multiflora analizzati.

6.2. ANALISI POLLINICA

I risultati dell'analisi pollinica, anch'essa effettuata presso il Centro Agrochimico Regionale dell'ASSAM, sono riportati nelle due Tabelle seguenti: in Tabella 2, sono riportate le specie principalmente presenti in ognuno dei campioni di polline (fino al 5%) mentre in Tabella 3 è riportata l'analisi completa.

APM01	40% Salix, 23% Prunus f., 13% Fraxinus ornus, 08% Erica
APM02	68% Fraxinus ornus, 10% Pyrus/Malus f., 5% Acer
APM03	44% Fraxinus ornus, 31% Prunus f., 14% Pyrus/Malus f.
APM04	66% Quercus ilex gr., 6% Papaver, 5% Cistus salvifolius
APM05	50% Vitis, 36% Quercus ilex gr., 5% Genista f.
APM06	76% Quercus ilex gr., 11% Vitis
APM07	41% Olea f., 41% Quercus ilex gr., 8% Castanea
APM08	36% Castanea, 35% Olea f., 10% Cistus incanus, 7% Clematis
APM09	76 % Castanea, 7% Cistus incanus, 6% Clematis
APM10	84% Castanea
APM11	100% Castanea
APM12	100% Castanea
PUM01	57% Fraxinus ornus 10% Cercis, 9% Prunus f.
PUM02	51% Fraxinus ornus, 21% Quercus robur gr., 5% Pyrus/Malus f., 5% Cercis
PUM03	64% Fraxinus ornus, 18% Quercus robur gr., 8% Papaver
PUM04	73% Fraxinus ornus, 8% Papaver
PUM05	63% Fraxinus ornus, 12% Robinia, 10% Vitis
PUM06	63% Umbelliferae forma A, 23% Trifolium alexandrinum, 10% Rubus f.
PUM07	73% Umbelliferae forma A, 11% <i>Trifolium alexandrinum</i>
PUM08	76% Umbelliferae forma A, 10% <i>Rubus f.</i> , 7% <i>Trifolium alexandrinum</i>
PUM09	80% Umbelliferae forma A, 6% <i>Cruciferae</i> , 5% <i>Rubus f.</i>
MCM01	46% Trifolium a., 23% Rubus f., 11% Onobrychis, 10% Trifolium r. gr.
MCM02	55% Trifolium a., 16% Rubus f., 16% Onobrychis, 6% Trifolium r. gr.
MCM03	50% <i>Trifolium a.</i> , 21% <i>Rubus f.</i> , 13% <i>Onobrychis</i> , 5% Umbelliferae Forma A.

Tabella 2: Specie botaniche presenti in percentuale $\geq 5\%$ in ognuno dei campioni di polline.

6.3. GRANULOMETRIA

La setacciatura permette di eseguire l'analisi granulometrica di materiali solidi con l'ausilio di appositi setacci disposti in serie in maniera tale da trattenere la frazione di solido i cui granuli hanno dimensioni maggiori dei fori del setaccio. La granulometria dei pollini è stata misurata utilizzando 5 setacci con fori aventi i seguenti diametri: 2800 μm , 2400 μm , 2000 μm , 1690 μm , 1400 μm e 1000 μm . I campioni opportunamente pesati vengono collocati alla sommità di una pila di setacci disposti in ordine crescente dal basso verso l'alto quindi il piatto superiore è rappresentato dal setaccio a maglia più larga. I setacci disposti correttamente uno sopra l'altro consentono la caduta dei granuli dal setaccio superiore a quello inferiore. I piatti inferiori hanno maglie sempre più strette e, il piatto alla base della colonna è costituito da un fondino che raccoglie i granuli con diametro minore a 1000 μm . Attraverso lo scuotitore meccanico si movimentata la pila di setacci per 2 minuti e si procede alla pesatura delle frazioni di solido trattenute in ciascun piatto (o setaccio). Il peso di ciascuna frazione solida viene rapportato al peso del solido totale, per ottenere la percentuale (in massa) di solido trattenuto da ciascun piatto.

Campione	>2800 μm	2800-2400 μm	2400-2000 μm	2000-1690 μm	1690-1400 μm	1400-1000 μm	<1000 μm
APM01	6%	28%	43%	13%	8%	2%	0%
APM02	2%	18%	56%	19%	4%	0%	0%
APM03	5%	36%	48%	8%	2%	0%	0%
APM04	2%	24%	58%	11%	3%	1%	1%
APM05	3%	25%	61%	11%	1%	0%	0%
APM06	9%	37%	45%	7%	2%	0%	0%
APM07	4%	32%	49%	10%	3%	1%	0%
APM08	4%	33%	42%	15%	4%	1%	1%
APM09	10%	20%	32%	26%	9%	2%	2%
APM10	2%	16%	50%	24%	7%	1%	1%
APM11	10%	29%	40%	18%	3%	0%	0%
APM12	3%	16%	41%	32%	5%	1%	1%
PUM01	2%	14%	46%	28%	7%	1%	2%
PUM02	1%	16%	40%	29%	10%	2%	2%
PUM03	0%	6%	43%	30%	14%	3%	4%
PUM04	2%	17%	59%	16%	5%	1%	1%
PUM05	2%	15%	49%	22%	9%	1%	1%
PUM06	0%	7%	55%	27%	8%	1%	2%
PUM07	1%	8%	55%	22%	11%	1%	1%
PUM08	0%	8%	54%	27%	7%	1%	2%
PUM09	2%	14%	59%	18%	6%	1%	1%
MCM01	1%	7%	39%	31%	21%	1%	0%
MCM02	1%	8%	38%	34%	16%	1%	1%
MCM03	1%	7%	39%	31%	19%	1%	1%

Tabella 4: Granulometria dei campioni di polline multiflora analizzati.

Dalla Tabella 4 si può vedere come tutti i campioni sono costituiti prevalentemente da pallottole che hanno una grandezza compresa tra 2400 e 2000 μm (verde); possiamo però anche osservare che i campioni provenienti dall'apiario di Isola del Piano (PU), sono mediamente un po' più piccoli di quelli provenienti da Ascoli Piceno nei quali troviamo anche una buona quantità di pallottole con una grandezza compresa tra 2800 e 2400 μm (arancione). I campioni di Matelica (MC) sono infine mediamente i più piccoli in quanto in essi è presente anche una buona percentuale di pallottole comprese tra 1690 μm e 1400 μm (azzurro).

6.4. CONTENUTO FENOLICO TOTALE (TPA)

6.4.1. Principio del metodo

Il contenuto di polifenoli totali (TPA) è stato determinato utilizzando il reattivo di Folin-Ciocalteu.

Tale reattivo è costituito da una miscela di acido fosfotungstico, acido fosfomolibdico e litio solfato. Ha una colorazione gialla che, in seguito a reazione con i fenoli, vira al blu con assorbimento massimo nella regione 745-760 nm. L'intensità della soluzione risultante è proporzionale alla quantità di polifenoli presenti nel campione e, indirettamente, all'attività antiossidante.

Per minimizzare le interferenze solitamente si aggiunge carbonato di sodio che, creando un ambiente alcalino (pH 10), favorisce la dissociazione ionica dei fenoli e la loro reazione con il reattivo Folin-Ciocalteu.

Il contenuto di polifenoli nel campione in esame viene riferito ad un composto di riferimento, l'acido gallico, e viene misurato come se l'unico fenolo presente nel sistema fosse quello di riferimento, costruendo una curva di taratura.

6.4.2. Preparazione estratti

Per l'analisi del contenuto fenolico i campioni è stato preparato un estratto dei campioni di polline.

Reagenti:

- 24 campioni di polline
- Soluzione di etanolo in acqua al 70% v/v

Materiale laboratorio

- Eppendorf
- Falcon
- Pipette

Apparecchiature

- Mortaio
- Bilancia analitica
- Vortex
- Agitatore rotante 360°
- Centrifuga

Procedimento

Prima dell'estrazione i pollini sono stati macinati. Per fare questo un campione di 2 g di ogni campione di polline è stato posto in un mortaio ed è stato pestato fino ad ottenere una polvere sottile.

Per l'estrazione è stato prelevato un campione di 0.5 g di polline macinato che è stato posto in una falcon da 15 ml. Alla falcon sono stati quindi aggiunti 5.0 ml di una soluzione etanolo/acqua al 70% v/v. La miscela è stata quindi mescolata con un vortex e lasciata in agitazione per 5 minuti con un agitatore rotante in movimento continuo. I campioni sono stati quindi centrifugati per 10 minuti a 8000 giri. Dopo la centrifugazione sono stati prelevati 4.5 ml di surnatante che sono stati posti in una falcon da 15 ml. Il residuo è stato addizionato di altri 5.0 ml di etanolo al 70% e la procedura è stata ripetuta. Dopo la seconda centrifugazione sono stati prelevati 5.0 ml di surnatante che è stato addizionato al precedente. Il surnatante è stato quindi ulteriormente centrifugato per 10 minuti a 8000 giri per eliminare eventuali residui prelevati nella fase precedente ed è stato porzionato in aliquote da 300 µl in eppendorf da 1.5 ml conservato in congelatore a -20°C.

L'estrazione è stata ripetuta in giorni diversi per altre due volte.

6.4.3. Test di Folin-Ciocalteu

Reagenti

- 24 campioni di estratto di polline
- Acido Gallico MW: 170,12 g/mol
- Etanolo
- Reattivo di Folin (FCR) in frigorifero
- Carbonato di sodio al 10% P/P
- Acqua ultrapura

Materiale laboratorio

- Eppendorf
- Piastre 96 pozzetti

Apparecchiature

- Pipette
- Pipetta multicanale
- Vortex
- Spettrofotometro Biotek

Procedimento

Per la preparazione della soluzione (60 mM) dello standard di riferimento (GASTOCK) 0.1129 g di Acido Gallico sono stati sciolti in 10 ml di etanolo. La soluzione di GASTOCK è stata quindi porzionata in eppendorf in aliquote da 300 µl e conservata in congelatore.

Prima dell'inizio dell'analisi, gli estratti di polline, la soluzione di acido gallico GASTOCK (60 mM) e il Reattivo di Folin vengono tolti dal congelatore.

Le soluzioni diluite di Acido Gallico sono state quindi preparate a partire dalla soluzione 60 mM in etanolo, che viene diluita in acqua ultrapura fino ad una concentrazione 6 mM (100 µl di soluzione 60 mM in 900 µl di acqua ultrapura). Tale soluzione viene quindi ulteriormente diluita seguendo lo schema allegato fino ad ottenere le soluzioni riportate in colonna [GAST].

	[GA]dil (mM)	GA 6 mM (ul)	H2O (ul)	Sol (ul)	[GA]Dil (µM)
G1	6.0	10	1500	1510	39.74
G2	6.0	25	1500	1525	98.36
G3	6.0	45	1500	1545	174.76
G4	6.0	65	1000	1065	366.20
G5	6.0	90	1000	1090	495.41
G6	6.0	120	1000	1120	642.86
TOT		355			

Viene quindi preparata una soluzione DILUITA di reattivo di Folin aggiungendo 2 ml di Folin (FCR) a 18 ml di acqua distillata (diluizione 1:10).

Si preparano infine le soluzioni diluite degli estratti di polline al 7.5% introducendo in eppendorf da 1.5 ml, 925 µl di acqua ultrapura e 75 µl di campione ed agitando le soluzioni con il vortex.

Si preparano su piastra i campioni da analizzare secondo il seguente schema:

B. 50 ul acqua ultrapura
 150 ul di FCR DILUITO

P. per ogni campione di polline
 50 ul estratto di polline
 150 ml FCR DILUITO

ST.per ogni diluizione di GA
 50 ul soluzione
 150 ul FCR DILUITO

La piastra viene agitata nello strumento, dopodiché viene lasciata 10 minuti al buio.

Successivamente vengono aggiunti ad ogni campione 100 µl di Na₂CO₃ 10% e si ripete l'agitazione. Infine, la piastra viene lasciata due ore al buio.

Passate le due ore si agita nuovamente con lo strumento, si leggono le assorbanze a 760 nm contro il bianco (B) e si salvano i dati secondo l'ordine della piastra.

6.4.4. Elaborazione dati

I risultati ottenuti da questo saggio sono stati espressi in millimoli di Acido Gallico Equivalenti per g di polline secco (mmol GAEq/g) utilizzando il coefficiente angolare della retta di regressione lineare ottenuto dalla curva di calibrazione dell'acido gallico (0-643 µM). Per la costruzione della retta di taratura sono stati messi in grafico sulle ascisse i valori di assorbanza a 760 nm ed in ordinata i valori della concentrazione di acido gallico nei campioni diluiti analizzati.

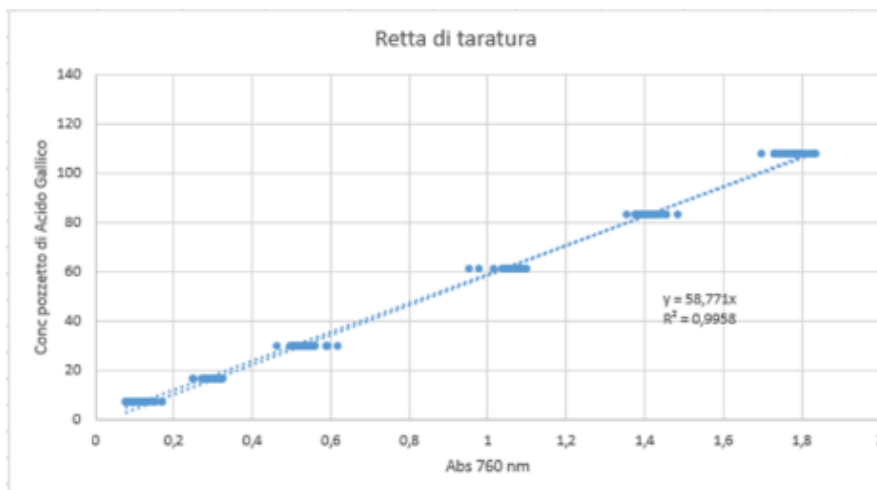


Figura 2: Retta di taratura dell'Acido Gallico

Dalla pendenza della retta (Figura 2) che meglio interpola i punti (STAT) è possibile ricavare la concentrazione GAEq dei campioni diluiti di polline attraverso le seguenti operazioni:

$$\mu\text{M GAEq polline dil} = \text{STAT} * A_{760}$$

Utilizzando il fattore di diluizione si può risalire alla concentrazione di $\mu\text{M GAEq}$ dell'estratto di polline tal quale dalla seguente formula:

$$\mu\text{M GAEq estratto} = \mu\text{M GAEq campione diluito} * \text{fattore diluizione}$$

nel caso in cui l'unità di misura della concentrazione non sia appropriata si provvede a modificarla tramite equivalenza:

$$\text{mM GAEq estratto} = \mu\text{M GAEq estratto} / 1000$$

Il contenuto in GAEq è stato quindi riferito ai g di polline tenendo conto della quantità di polline estratto (0.5 g) e del solvente utilizzato per l'estrazione (10 ml).

$$\text{mmol GAEq/g polline} = \text{mM GAEq} * 10 \text{ ml} / (0.5 \text{ g} * 1000 \text{ ml/l})$$

Infine, si è tenuto conto dell'umidità del campione di polline (Tabella 1) per riferire la misura alla massa secca.

$$\text{mmol GAEq / g massa secca} = \text{mmol GAEq / g polline} * 100 / (100 - \text{umidità}\%).$$

La media aritmetica di almeno tre esperimenti indipendenti su ogni estratto di polline (n=9) consente di avere dei risultati validi tenendo conto che ogni esperimento è stato eseguito in duplice. Durante l'elaborazione dei dati sono stati scartati i valori anomali.

7. RISULTATI

I risultati sono stati esaminati suddividendoli per apiario di raccolta al fine di avere una visione semplificata dei dati ottenuti dalle analisi: per una descrizione facilmente visualizzabile della composizione botanica dei diversi campioni di polline nel tempo sono stati elaborati degli istogrammi in pila, per ogni apiario di raccolta, riportando solo le specie presenti con una percentuale \geq al 10 %.

7.1.1.1. Apiario di Ascoli Piceno (AP)

I campioni di polline dell'apiario di Ascoli Piceno sono stati raccolti dal 21 aprile al 9 luglio (

Figura 3) e possono essere raggruppati in tre periodi distinti: il primo che va da metà aprile ai primi di maggio vede protagonista il polline di Orniello (rosso), e a seguire quelli di Salice (verde), Prugnolo (blu scuro) e Pero/Melo (giallo); nel secondo (in maggio – giugno) i pollini più raccolti sono invece quelli di Leccio (azzurro), di Vite (bordeaux), e di Ulivo (marrone); nell'ultimo infine, che inizia a metà giugno e termina i primi di luglio, è evidente una prevalenza dei pollini di Castagno (celeste chiaro) che aumentano col progredire della stagione.

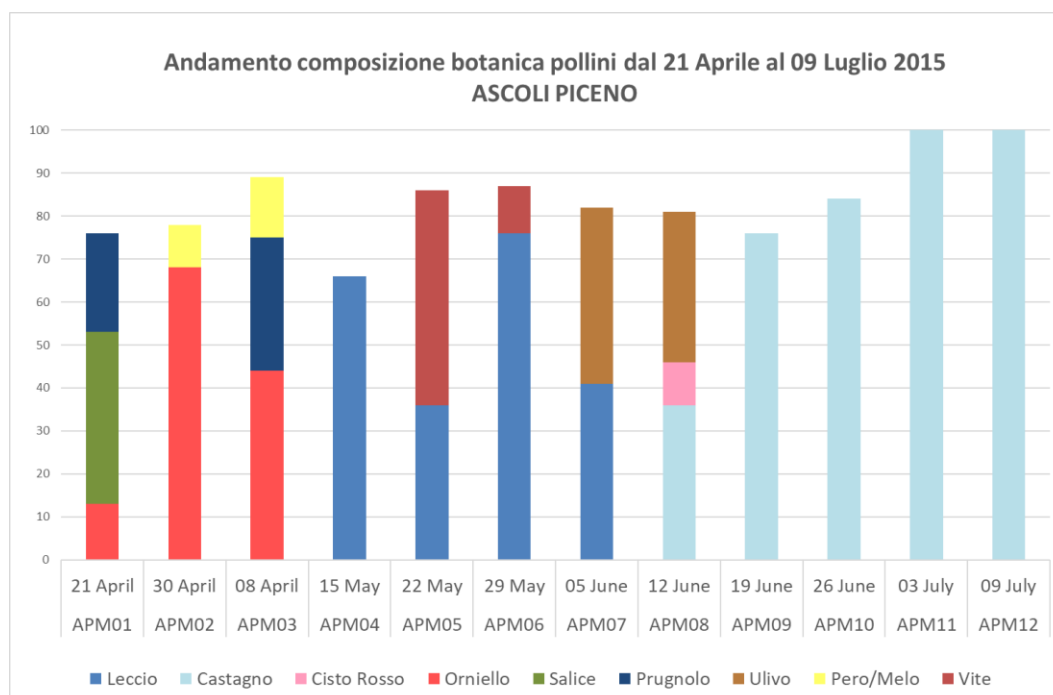


Figura 3: Andamento nel tempo della composizione di tipi pollinici raccolti dall'apiario ad Ascoli Piceno (inclusi solo i tipi pollinici con presenza $\geq 10\%$).

Per quanto riguarda il contenuto fenolico nel grafico (Figura 4), si evidenziano delle differenze significative tra i campioni raccolti dal 30 aprile al 22 maggio (APM02-05) e quelli raccolti prima e dopo questo periodo (APM01; APM06-07).

Il contenuto totale in polifenoli dei pollini è medio alto per i campioni APM01-07 in quanto risultano abbastanza vicini al campione di Castagno più basso (APM08). I campioni di Castagno (APM09-12) mostrano un incremento del contenuto totale fenolico di pari passo con la stagionalità, raggiungendo quindi i valori più elevati nei campioni raccolti nei primi giorni di luglio (APM11-12); il contenuto fenolico totale dei pollini di Castagno APM08-12 (da 0.091 a 0.165 mmol GAE/g) è paragonabile a quello ottenuto in uno studio effettuato precedentemente per il polline uniflorale di Castagno (0.126 mmol GAE/g). In maniera analoga, il contenuto fenolico totale dei campioni APM02-03 a prevalenza di Orniello è confrontabile con quello ottenuto per un campione di polline uniflorale di Orniello.

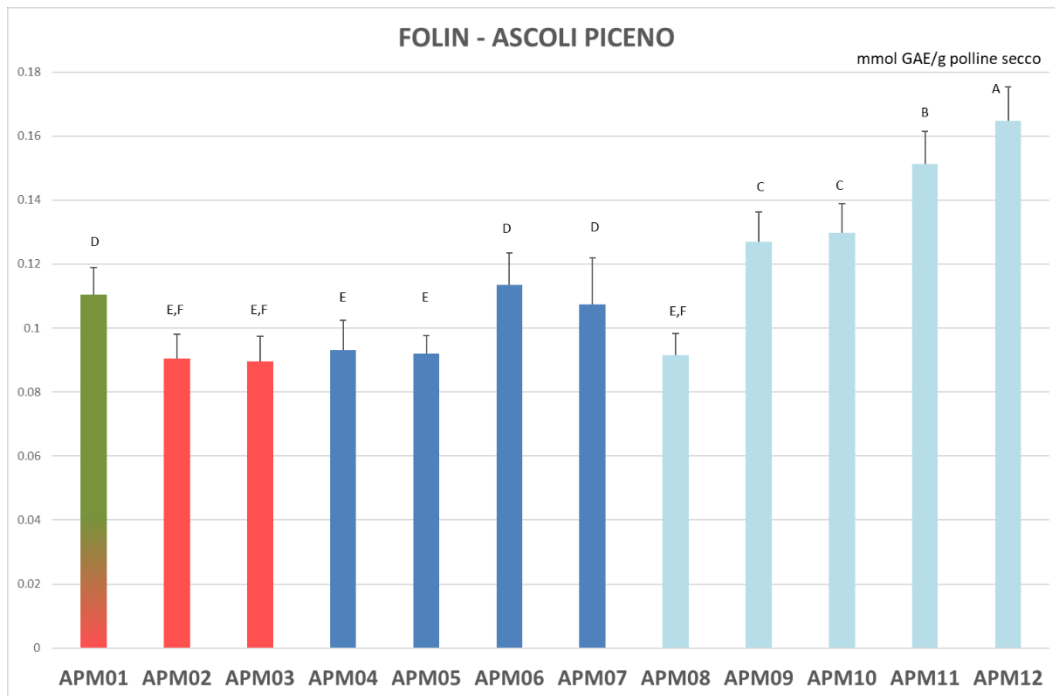


Figura 4: Contenuto in polifenoli totali (TPC) determinato mediante test FOLIN di campioni multiflorali provenienti dalla provincia di Ascoli Piceno (AP).

Per quanto riguarda il contenuto proteico (Figura 5) questo risulta abbastanza variabile con la stagione (da 16.02% a 24.52%) e questo può essere correlato con la presenza nel polline in momenti diversi, di varie specie botaniche. Dal grafico si può inoltre notare come il contenuto proteico dei pollini APM08-12 aumenti in modo direttamente proporzionale alla quantità di polline di Castagno in essi presente. Da questa osservazione possiamo dedurre che l'elevato contenuto proteico di questi pollini sia attribuibile a tale specie botanica.

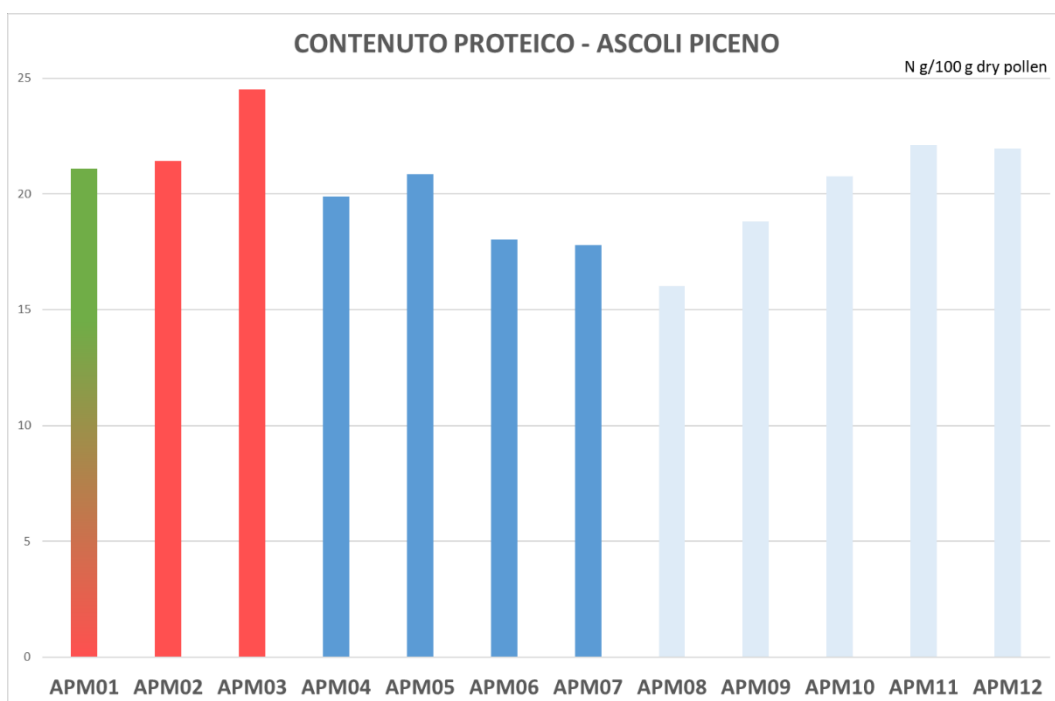


Figura 5: Contenuto proteico dei campioni di pollini della provincia di Ascoli Piceno.

7.1.1.2. Apiario di Isola del Piano (PU)

I campioni di polline multiflora provenienti dall'apiario sito a Isola del Piano in provincia di Pesaro-Urbino sono stati raccolti dal 24 aprile al 07 luglio con una interruzione dal 06 maggio al 28 giugno.

I campioni, come si può osservare dal grafico in Figura 6 mostrano una maggior prevalenza di Orniello (rosso) nel mese di aprile e maggio. Altre specie abbastanza presenti in questo periodo sono inoltre quelli di Quercia (azzurro), di Vite (blu), di Albero di Giuda (bordeaux) e di Acacia (giallo).

Nel periodo che va dai primi giorni di maggio alla fine di giugno non sono stati raccolti campioni e quindi non è stato possibile monitorare la variazione in composizione pollinica.

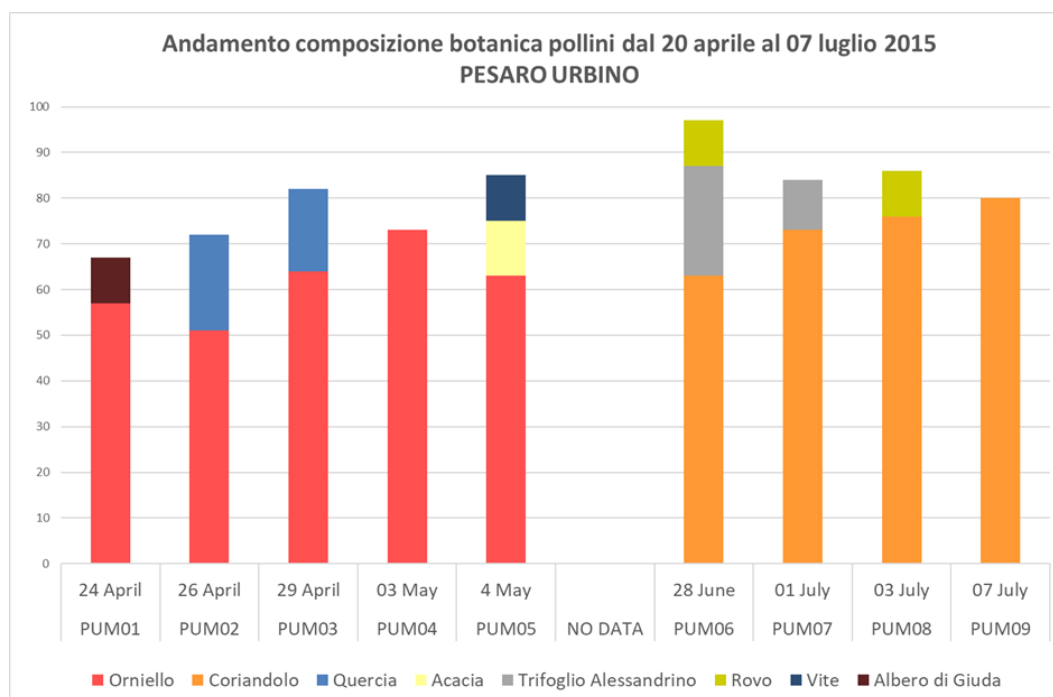


Figura 6: Variabilità stagionale della composizione dei pollini reperiti nella provincia di Pesaro e Urbino (inclusi solo i tipi pollinici con presenza $\geq 10\%$).

Per quanto riguarda il periodo che va da fine giugno alla prima settimana di luglio, esso è caratterizzato principalmente dalla presenza di polline di Coriandolo (arancio). In questa epoca sono stati raccolti anche pollini di Trifoglio alessandrino (grigio) e Rovo (verde acido). Dalla Tabella 3, riportante la composizione pollinica completa, si può inoltre notare la presenza di altri innumerevoli tipi di pollini raccolti dalle api, anche se in misura più marginale.

Per quanto riguarda il contenuto fenolico totale (Figura 7) i campioni raccolti dal 24 aprile al 6 maggio, che contengono una prevalenza di Orniello, mostrano un contenuto fenolico leggermente maggiore di quelli raccolti dal 28 giugno al 7 luglio a prevalenza di Coriandolo nonostante le differenze non siano significative. Da evidenziare il contenuto fenolico significativamente maggiore rispetto a tutti gli altri per il campione PUM02 nonostante il suo contenuto di polline di Orniello non sia il maggiore. Questo campione contiene però anche una notevole quantità di polline di Quercia che probabilmente contribuisce in modo importante al contenuto fenolico.

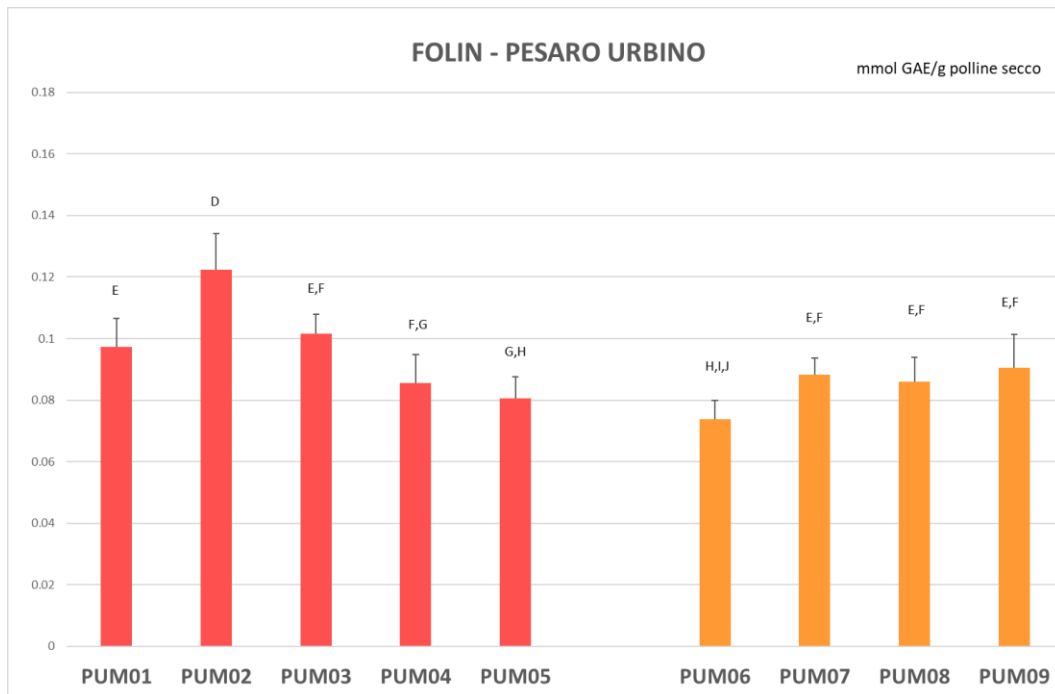


Figura 7: Contenuto in polifenoli totali testato mediante test FOLIN e significatività di campioni di polline multiflora provenienti dalla provincia di Pesaro e Urbino (PU).

Il contenuto fenolico totale dei campioni di Orniello (PUM01-05) e di Coriandolo (PUM06-09) è confrontabile con quello ottenuto nei rispettivi campioni di polline uniflorale precedentemente analizzati. Nel dettaglio, per il contenuto in polifenoli totali dei campioni di Orniello multiflorali abbiamo valori compresi tra 0.081 e 0.122 mmol GAE/g mentre nel campione uniflorale è pari a 0.090 mmol GAE/g; i campioni di Coriandolo, invece, danno valori per i multiflorali (PUM06-09) da 0.074 a 0.090 mmol GAE/g leggermente inferiori rispetto agli uniflorali (da 0.095 a 0.116 mmol GAE/g). I risultati probabilmente risentono della diversa percentuale pollinica di polline di Coriandolo che nei multiflorali varia dal 63% al 80% mentre nell'uniflorale è in tutti i campioni pari al 100%, e quindi dalla presenza di altri tipi di polline nei campioni multiflorali.

Dal confronto dei campioni di questo apiario con quelli dell'apiario di Ascoli Piceno, possiamo osservare inoltre che il contenuto in polifenoli totali dei pollini, avente una percentuale pressoché analoga di Orniello, raccolti nei due diversi apiari (PUM03-04: 0.081 – 0.102 mmol GAE/g; APM02: 0.090 mmol GAE/g) non mostra differenze significative. Quindi per quanto riguarda il contenuto in polifenoli, esso sembra non essere influenzato dalla zona geografica di raccolta dei campioni di polline.

Il contenuto proteico (Figura 8) dei campioni raccolti a Isola del Piano dalla fine di aprile ai primi di maggio (PUM01-05) e composti prevalentemente da polline di *Fraxinus ornus* è abbastanza variabile (dal 18.7% al 22.5%) mentre quelli raccolti dalla fine di giugno ai primi di luglio a prevalenza di Coriandolo (PUM06-PUM09) sono molto simili con un contenuto proteico compreso tra il 19.9% e il 20.8%.

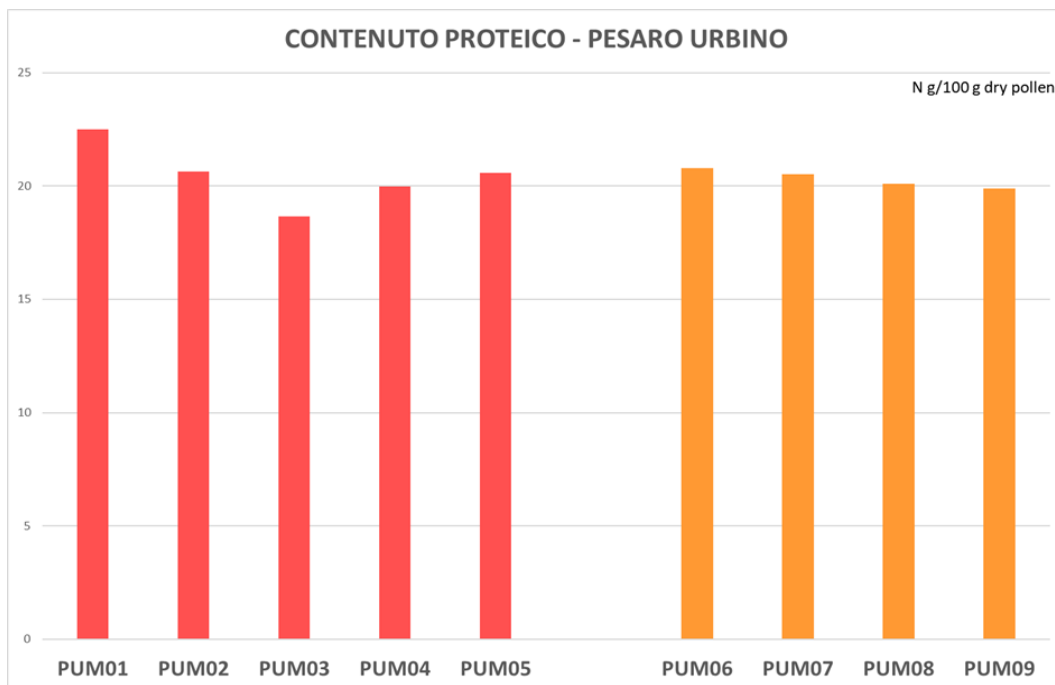


Figura 8: Contenuto proteico dei campioni di polline multiflora della provincia di Pesaro e Urbino.

Il contenuto proteico dei pollini sia di Orniello (PUM01-05) con una prevalenza pollinica che varia dal 51% al 73%, sia dei campioni multiflorali di Coriandolo nei quali la prevalenza del tipo pollinico principale varia dal 63% al 80%, risulta invece leggermente inferiore ai rispettivi campioni uniflorali (Orniello: 23.1%; Coriandolo: 22.5%).

7.1.1.3. Apiario di Matelica (MC)

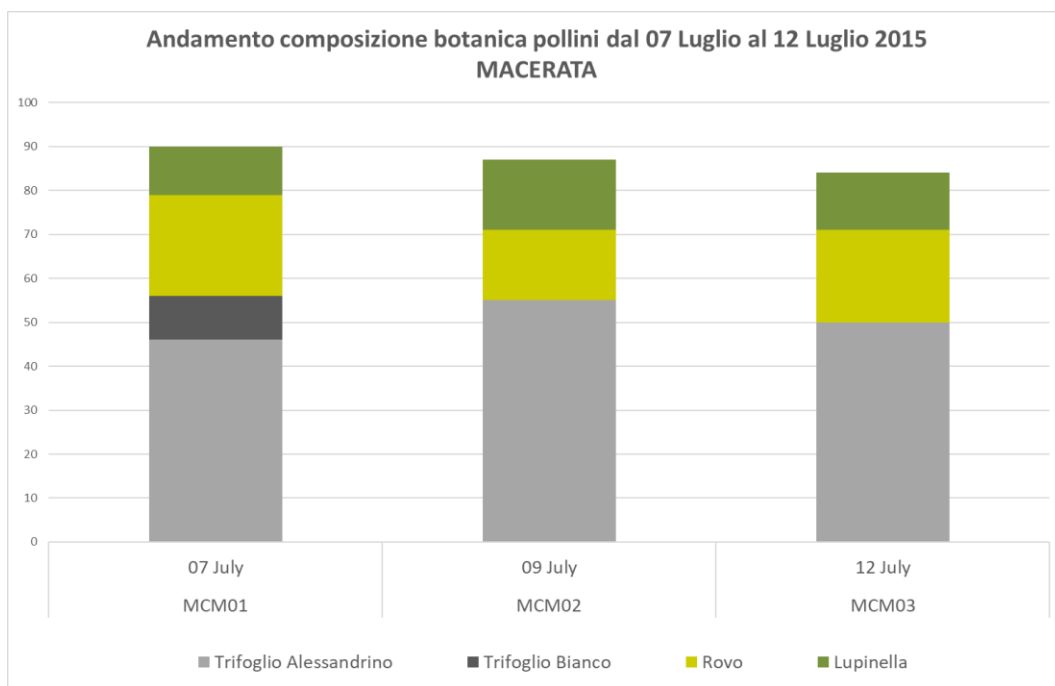


Figura 9: Andamento della composizione dei pollini reperiti a Matelica nella prima metà di luglio (inclusi solo i tipi pollinici con presenza $\geq 10\%$).

Per quanto riguarda l'apiario di Matelica in provincia di Macerata, non possiamo descrivere un vero

e proprio andamento della composizione pollinica (Figura 9) in quanto i tre campioni pervenuti riguardano un periodo di soli cinque giorni.

Tuttavia possiamo affermare che nei primi giorni di luglio, nella zona di interesse, le specie prevalenti sono state il Trifoglio alessandrino (grigio), il Rovo (verde acido) e la Lupinella (verde).

Anche se questi ultimi campioni non ci hanno permesso di estrapolare molte informazioni per quanto riguarda l'andamento della raccolta, i risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti in precedenza dall'analisi dei pollini uniflorali, essendo tutti a forte prevalenza di Trifoglio alessandrino.

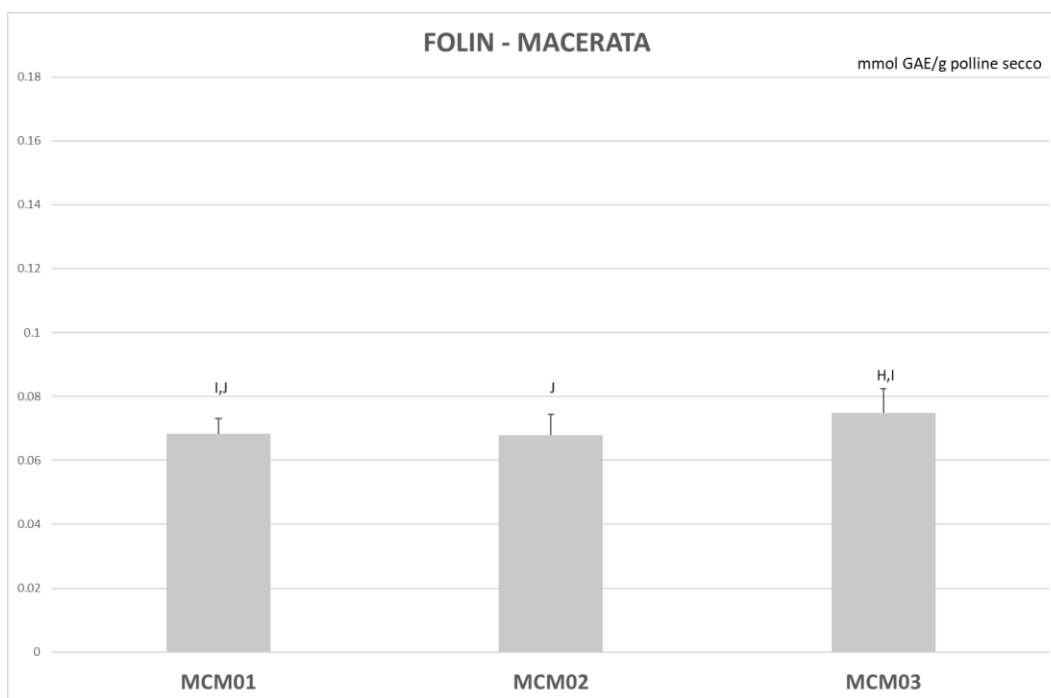


Figura 10: Contenuto in polifenoli totali testato mediante test FOLIN e significatività di campioni di polline multiflora provenienti dalla provincia di Macerata (MC).

L'analisi con il test Folin (Figura 10) dei tre campioni provenienti dall'apiario di Matelica (MC) caratterizzanti da una percentuale di Trifoglio alessandrino rispettivamente del 46%, 55% e 50%, mostra che tra di loro non ci sono delle differenze significative in termini di contenuto fenolico totale. Dal grafico è inoltre possibile osservare che tali campioni hanno un contenuto in polifenoli totali significativamente più basso (0.068 a 0.075 mmol GAE/g) rispetto a quasi tutti i campioni raccolti negli altri due apiari in accordo con il fatto che i pollini sono composti per la maggior parte da polline di Trifoglio che anche nei campioni uniflorali mostra valori comparabili e abbastanza modesti (0.053 a 0.062 mmol GAE/g).

Questi pollini, costituiti principalmente dal polline di Trifoglio alessandrino, mostrano un contenuto proteico (Figura 11) simile (dal 21.54% al 22.24%) ma inferiore a quello ottenuto dall'analisi del campione uniflorale pari al 26.99%. Questa differenza potrebbe essere attribuita alla minore percentuale pollinica di Trifoglio in questi campioni (da 46% al 50% contro il 90%) e dalla presenza di altre specie di polline.

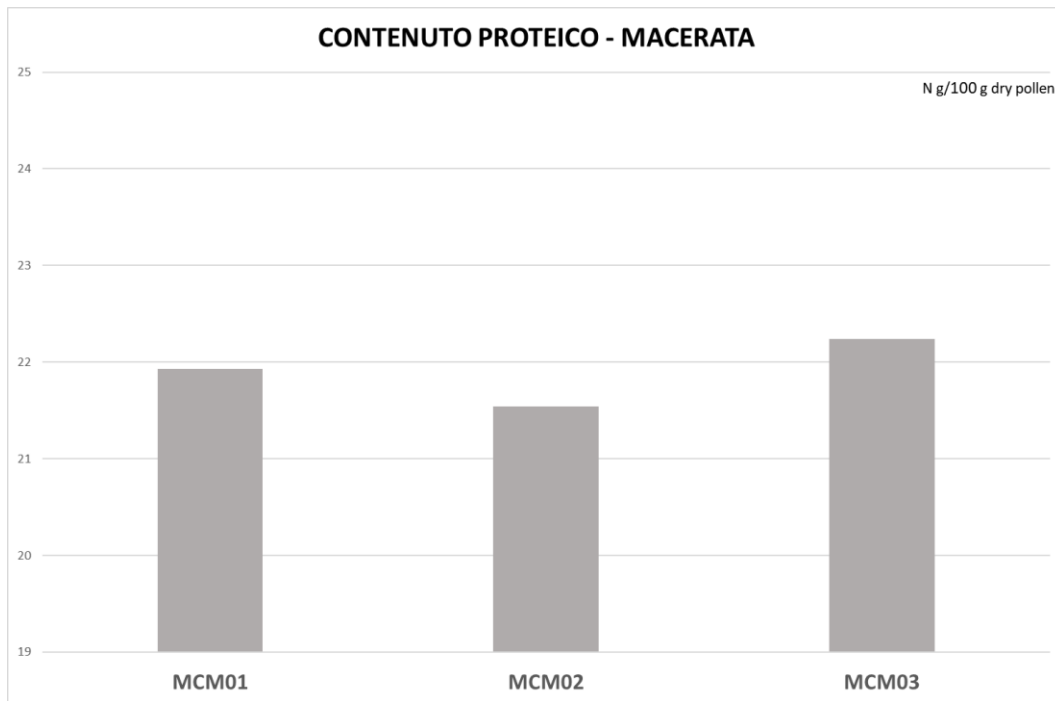


Figura 11: Contenuto proteico dei campioni di pollini della provincia di Macerata.

8. CONCLUSIONI

I risultati ottenuti dall'analisi dei pollini provenienti dagli apiari situati nelle diverse provincie delle Marche ci hanno permesso di incrementare le conoscenze sulla flora locale e di verificare il periodo fioritura delle diverse specie botaniche in tali zone. I risultati ottenuti possono costituire un valido aiuto per gli apicoltori per incrementare le conoscenze sulla biodiversità vegetale locale ed utilizzare tali informazioni per la programmazione dell'installazione delle trappole per la raccolta delle pallottole di polline.

Inoltre i risultati ottenuti sono per lo più in accordo con quelli ottenuti in precedenza dall'analisi di pollini uniflorali, confermando come l'origine botanica abbia una enorme influenza sulla composizione del polline.

Sui campioni in esame sono state inoltre effettuate altre analisi per la valutazione dell'attività antiossidante (ABTS, DPPH, ORAC) e del colore che hanno confermato i risultati qui ottenuti.

9. BIBLIOGRAFIA

9.1. CLASSIFICAZIONE DELLE PIANTE

- Australasian Pollen and Spore Atlas: <http://apsa.anu.edu.au/search>
- Camacho Irene, Collaboration in the editorial work: Pollen grains as airborne allergenic particles. (2015). 10.13140/RG.2.1.4545.6409.
- Coltivazione Biologica: <https://www.coltivazionebiologica.it/>
- CREA - Pollen Atlas: <https://pollenatlas.net/homepage>
- Ferretti Niccolò, Studio dell'attività antiossidante di Melograni, Tesi di laurea triennale, Università Politecnica delle Marche, Ancona, 2013.
- Gellini Romano, Grossoni Paolo, Botanica forestale, 2. Angiosperme, 1997, CEDAM.
- Gellini Romano, Piero Bruschi, Filippo Bussotti, Federico Selvi, Botanica forestale, 1. Parte generale e gimnosperme, 2018, CEDAM.
- <http://omodeo.anisn.it/>
- <http://www.mieliditalia.it/mieli-e-prodotti-delle-api/polline>
- <http://www.mondoapi.it/>
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Mediterranean melissopalynology: <http://www.izsum.it/Melissopalynology/pollen.htm?3>
- Istruzione Agraria online: <https://www.agraria.org/>
- Maldarizzi Gianluca, Caratterizzazione-attività antiossidante e colore-di polline d'ape a prevalenza uniflorale, Tesi di laurea triennale, Università Politecnica delle Marche, Ancona, 2017.
- Maldarizzi Gianluca, Caratterizzazione-attività antiossidante e colore-di polline d'ape a prevalenza uniflorale, Tesi di laurea triennale, Università Politecnica delle Marche, Ancona, 2017.
- Matteucci Pietro, Sviluppo di un metodo elettrochimico per la determinazione della capacità antiossidante, Tesi di laurea magistrale, Università di Bologna, Bologna, 2012.
- Menghini Giada, Il cacaco: le proprietà benefiche dei componenti antiossidanti, Tesi di laurea triennale, Università Politecnica delle Marche, Ancona, 2010.
- MITARBEITER: <https://www.pollenwarndienst.at/AT/en.html>
- NOI SIAMO AGRICOLTURA®: <https://www.noisiamoagricoltura.com/>
- PalDat - Palynological Database: <https://www.paldat.org/>
- Pignatti Sandro, Guarino R., La Rosa M., Flora d'Italia: 2, 2017, Edagricole-New Business Media.
- Portale delle piante spontanee della selva di gallignano (Ancona): <http://dryades.units.it/gallignano/index.php>
- Tripodi Giacomo, Introduzione alla botanica sistematica, 2006, Edises
- Wikipedia: https://it.wikipedia.org/wiki/Pagina_principale

9.2. LO STRESS OSSIDATIVO

- Ferretti Niccolò, Studio dell'attività antiossidante di Melograni, Tesi di laurea triennale, Università Politecnica delle Marche, Ancona, 2013.
- Maldarizzi Gianluca, Caratterizzazione-attività antiossidante e colore-di polline d'ape a prevalenza uniflorale, Tesi di laurea triennale, Università Politecnica delle Marche, Ancona, 2017.

- Mărgăoan, R.; Strant, M.; Varadi, A.; Topal, E.; Yücel, B.; Cornea-Cipcigan, M.; Campos, M.G.; Vodnar, D.C., Bee collected pollen and bee bread: Bioactive constituents and health benefits. *Antioxidants* 2019, 8, 568.
- Matteucci Pietro, Sviluppo di un metodo elettrochimico per la determinazione della capacità antiossidante, Tesi di laurea magistrale, Università di Bologna, Bologna, 2012.
- Matteucci Pietro, Sviluppo di un metodo elettrochimico per la determinazione della capacità antiossidante, Tesi di laurea magistrale, Università di Bologna, Bologna, 2012.
- Menghini Giada, Il cacaco: le proprietà benefiche dei componenti antiossidanti, Tesi di laurea triennale, Università Politecnica delle Marche, Ancona, 2010.
- Prior, R.L., Wu, X. & Schaich, K., Standardized Methods for the determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Food and dietary Supplements”, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53, 4290-4302.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In: *Methods in Enzymology*. (edited by L. Packer), 1999, Pp. 152–178, New York, London: Academic Press.

9.3. IL POLLINE D’API

- Maldarizzi Gianluca, Caratterizzazione-attività antiossidante e colore-di polline d’ape a prevalenza uniflorale, Tesi di laurea triennale, Università Politecnica delle Marche, Ancona, 2017.
- Negri G., Weinstein Teixeira E., Teles Marques Florencio Alves M. L., de Camargo Carmello Moreti A. C., Pozar Otsuk I., Borguini R. G., Salatinoz A., Hydroxycinnamic Acid Amide Derivatives, Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Extracts of Pollen Samples from Southeast Brazil, *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 5516–5522.
- Pascoal A., Rodrigues S., Teixeira A., Feas X., Estevinho L. M., Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology* 2014, 63, 233–239.

9.4. PARTE SPERIMENTALE

- Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In: *Methods in Enzymology*. (edited by L. Packer), 1999, Pp. 152–178, New York, London: Academic Press.

9.5. RISULTATI

- Castiglioni Sara, Proprietà Antiossidanti di Derivati Apicoli, Tesi di Dottorato, Università Politecnica delle Marche, Ancona, 2017.
- Castiglioni, S.; Astolfi, P.; Conti, C.; Monaci, E.; Stefano, M.; Carloni, P. Morphological, Physicochemical and FTIR Spectroscopic Properties of Bee Pollen Loads from Different Botanical Origin. *Molecules* 2019, 24, 3974.
- Maldarizzi Gianluca, Caratterizzazione-attività antiossidante e colore-di polline d’ape a prevalenza uniflorale, Tesi di laurea triennale, Università Politecnica delle Marche, Ancona, 2017.

- Rocchetti, G.; Castiglioni, S.; Maldarizzi, G.; Carloni, P.; Lucini, L. UHPLC-ESI-QTOF-MS phenolic profiling and antioxidant capacity of bee pollen from different botanical origin. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2019, 54, 335–346.

RINGRAZIAMENTI

Essendo arrivata sin qui ringrazio la Professoressa Carloni per l'opportunità di tirocinio che mi ha permesso di mettere mano a livello approfondito ad un argomento quantomai attuale dei principi attivi del polline.

Ringrazio la correlatrice Castiglioni Sara per la professionalità, la competenza con cui ho avuto a che fare e soprattutto per la pazienza avuta nei miei confronti anche e nei momenti più impegnativi.

Ringrazio chi mi ha sopportato in questi anni e ha condiviso con me questo viaggio quali amici e colleghi.

Un ringraziamento in particolare a chi mi ha sostenuto e accompagnato verso questo traguardo sin dall'inizio....

Ai miei genitori,

A mia sorella,

Al mio ragazzo,

E a **me stessa.**