



ASCOPHYLLUM NODOSUM

UNA PREZIOSA FONTE DI MOLECOLE BIOATTIVE E IL SUO POSSIBILE IMPIEGO IN MEDICINA VETERINARIA

"Pescatori Bretoni di Alge" Paul Gauguin 1889, Olio su tela, Museo Folkwang Essen, Germania

Ascophyllum nodosum è un'alga bruna diffusa soprattutto nel bacino del Nord Atlantico. È ricca di alginati, clorofille, carotenoidi e fucoxantine. Alcune ricerche recenti hanno dimostrato le sue potenzialità nel ridurre il rischio di malattie cardiovascolari e nel contenere i livelli di insulina e colesterolo LDL. Lo studio preliminare che presentiamo è stato effettuato per valutare l'attività di questa alga rispetto alla salute del cavo orale nel cane.

* **Federica Medici**

** **Martina Bertocchi**

Sin dall'antichità, i popoli che abitavano nelle zone costiere utilizzavano le alghe marine nell'alimentazione quotidiana, al pari di frutta e verdura. Molti documenti antichi riportano l'utilizzo di alghe nella cucina di Cinesi e Giapponesi, che considerano le alghe una importantissima fonte di nutrienti e di

benessere. Questi vegetali marini, infatti, sono ricchissimi di molecole bioattive e principi nutritivi che hanno permesso un utilizzo delle alghe in diversi ambiti, inclusi quello agro-alimentare, farmaceutico, energetico, industriale e molti altri ancora (Stengel and Connan, 2015). Tuttavia, a seconda dell'ambiente in cui vivono, le alghe possono presentare anche elevate concentrazioni di inquinanti tossici per l'uomo e per gli animali tra i quali piombo, arsenico e cadmio (Biancarosa et

al., 2018; Nakamura et al., 2008; Taylor and Jackson, 2016).

Alghe brune: classe *Phaeophyceae*

Le alghe brune, o *Phaeophyceae*, rappresentano un gruppo molto vasto di macroalghe classificate in più di 250 generi e oltre 1500 specie (Dawes, 1978).

La maggior parte di queste alghe presenta un tallo di tipo filamentoso o parenchimatoso, con dimensioni molto variabili, che possono raggiungere anche diver-

se decine di metri (Lee, 2008; Pasqua et al., 2015)

Le *Phaeophyceae* sono alghe marine e rappresentano una componente intertidale importante che si estende dalla zona litorale superiore alla zona sublitorale, fino a raggiungere in alcuni casi una profondità di 220 metri nelle limpide acque tropicali. Le caratteristiche di illuminazione e trasparenza delle acque determinano una stratificazione verticale degli organismi vegetali e animali. In particolare, nella colonna d'acqua, le alghe brune si trovano a profondità elevate, da 100 a 200 metri, poiché sono in grado di assorbire una radiazione luminosa blu-verde che riesce a penetrare più in profondità rispetto a radiazioni con lunghezze d'onda maggiori, come quelle rosso-arancio. Le *Phaeophyceae* presentano cellule dotate di una parete cellulare complessa: la componente fibrillare è costituita principalmente da cellulosa (2-20%), mentre la matrice è composta da fucoidani e alginati.

I cloroplasti possono essere più o meno numerosi, con forme diverse e possono contenere uno o più pirenoidi (corpi densi con funzione di riserva) (Pasqua et al., 2015).

I pigmenti fotosintetici contenuti nei cloroplasti sono: clorofilla a, clorofille c₁ e c₂ (tipiche di alghe brune, diatomee e dinoflagellate), β-carotene e altri carotenoidi contenenti atomi di ossigeno, come le xantofille.

La più importante xantofilla presente in queste alghe brune è la fucoxantina (Fig.1) che determina il colore del tallo; altre xantofille sono la violaxantina e la zeaxantina.

La fucoxantina contenuta nei cloroplasti delle alghe brune, si è rivelata attiva contro l'obesità, il diabete e l'infiammazione, inoltre svolge un ruolo importante come antiossidante (Seo et al., 2016; Zeng et al., 2018).

Spesso nelle cellule sono presen-

ti numerose vescicole incolori, chiamate fisòdi che contengono florotannini (1-15%), la cui ossidazione determina il colore dei talli in decomposizione. Inoltre, questi tannini hanno un importante ruolo di difesa (Lee, 2008; Pasqua et al., 2015). Le sostanze di riserva principali sono la laminarina (o laminarano), un polisaccaride che si accumula nei vacuoli e il D-mannitolo, la cui concentrazione può variare in funzione della salinità (Lee, 2008; Raven et al., 2002). Molte specie di *Phaeophyceae* concentrano lo iodio (fino allo 0,3% del peso fresco) e il bromo in apposite cellule; inoltre, alcune alghe brune rilasciano nell'ambiente grandi quantità di metano brominato che costituisce un deterrente per gli animali erbivori e inibisce la crescita di organismi epifiti (Pasqua et al., 2015).

I diversi composti chimici caratteristici di questo gruppo algale sono riportati nella tabella 1.

Ascophyllum nodosum

Ascophyllum nodosum (L.) Le Jolis, è un'alga bruna della famiglia delle *Fucaceae*, unica specie del genere *Ascophyllum*.

Si trova principalmente nel bacino del Nord Atlantico, dove domina le zone intertidali rocciose e può essere facilmente raccolta (Kadam et al., 2017).

In particolare è presente lungo le coste dell'Europa nordoccidentale, nell'Est della Groenlandia e sulle coste orientali del Nord America.

Da un punto di vista morfologico, *A. nodosum* presenta lunghe fronde provviste di vescicole vuote distribuite a intervalli regolari. Le fronde possono raggiungere i 2 metri di lunghezza e sono collegate da un peduncolo alle rocce e ai massi della costa (Hiscock, 1979) (Fig.2).

A differenza delle altre specie appartenenti alle *Fucaceae*, che vivono in media 2-3 anni, *A. nodosum* può vivere fino a 12-15 anni

a seconda della posizione che occupa lungo il litorale.

Nonostante la sua longevità, *Ascophyllum* produce una scarsa quantità di sporangi, di conseguenza, impiega circa un paio di decenni per ripopolare un'area spoglia. Questo fatto ha determinato un grave impoverimento delle popolazioni di *Ascophyllum* nelle zone in cui quest'alga è ampiamente sfruttata commercialmente (Lee, 2008).

Grazie alle sue peculiari proprietà, infatti, viene impiegata in diversi ambiti commerciali, da quello agro-alimentare a quello

Herbo Veneta
Azienda Artigianale
di prodotti fitoterapici e cosmetici



Herbo Veneta

Via Umbria, 24 - 35043 Monselice -PD-
www.herboveneta.it info@herboveneta.it

Figura 1. Struttura chimica della fucoxantina

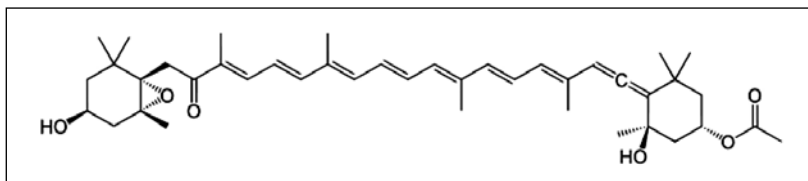


Figura 2. *Ascophyllum nodosum*

Tabella 1. Composti chimici caratteristici delle Phaeophyceae

Pigmenti	Prodotti di riserva	Prodotti di difesa	Parete cellulare
• clorofilla a	• laminarano	• florotannini	• cellulosa
• clorofilla c ₁ e c ₂	(da 2 a 34%)	(polifenoli)	• alginati
• β-carotene	• mannitolo		• fucoidani
• xantofille			

presenza di alginati e mannitolo, che proteggono inoltre le mucose intestinali e garantiscono un buon equilibrio acido-basico (Nagaoka *et al.*, 2000; O'Sullivan *et al.*, 2010).

Nonostante l'elevata tollerabilità e l'assenza di reazioni allergiche nei consumatori, le alte concentrazioni di iodio rendono quest'alga controindicata in soggetti affetti da ipertiroidismo (Combet *et al.*, 2014).

Studi recenti hanno dimostrato le potenzialità di queste alghe nel ridurre il rischio di malattie cardiovascolari e nel contenere i livelli di insulina, colesterolo LDL e pressione (Paxman *et al.*, 2008). Altri ambiti di applicazione di quest'alga sono quello agricolo, per il miglioramento del metabolismo delle piante (Goñi *et al.*, 2016; Shukla *et al.*, 2018) e quello zootecnico come supplemento alla dieta degli animali da allevamento (Chaves Lopez *et al.*, 2016).

Caratterizzazione biochimica di *Ascophyllum nodosum*

Il grande interesse nei confronti di *A. nodosum* e della ricchezza di molecole attive che esso contiene e la grande variabilità che caratterizza i preparati di origine naturale, ci ha spinti verso uno studio più approfondito di *A. nodosum*, in particolare focalizzato sulla composizione biochimica di alcuni campioni commerciali di quest'alga bruna.

La caratterizzazione è stata condotta mediante determinazione di 19 elementi traccia essenziali e tossici (in collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'E-

milia Romagna, sede di Bologna), l'estrazione delle proteine citosoliche, seguita da separazione in cromatografia a esclusione molecolare.

I quattro campioni commerciali di *A. nodosum* utilizzati in questo studio presentavano una colorazione e una consistenza che li rendeva molto differenti l'uno dall'altro e anche l'odore era più o meno intenso.

In tutti i campioni di *Ascophyllum*, tra gli elementi essenziali per l'organismo, il Fe presentava concentrazioni più elevate con valori > 200 mg/kg, anche se si ipotizza una scarsa biodisponibilità, poiché dalle analisi mediante spettrofotometria ad assorbimento atomico sulle frazioni cromatografiche ottenute dopo gelfiltrazione, il Fe risultava scarsamente legato a proteine e amminoacidi. Come già ricordato precedentemente, le macroalghe sono in grado di accumulare nel loro tallo metalli tossici, tra questi suscita particolare preoccupazione l'arsenico, che in tutti i campioni era presente con una concentrazione > 17 mg/kg.

In generale le macroalghe contengono alte concentrazioni di questo elemento, anche se prevalentemente in forma organica, considerata meno tossica di quella inorganica (Caumette *et al.*, 2012).

La tossicità dell'arsenico dipende infatti dalla sua speciazione. Le alghe assumono l'arsenico in

farmaceutico ed è molto conosciuta nella comunità scientifica perché oggetto di molti studi (Combet *et al.*, 2014; Goñi *et al.*, 2016).

A. nodosum contiene molte interessanti molecole bioattive (Blunden *et al.*, 2010). In particolare la presenza di alginati, insieme a clorofille, carotenoidi, fucoxantine e altre molecole antiossidanti, rende *A. nodosum* un buon candidato per favorire l'eliminazione di tossine e proteggere le cellule dagli effetti tossici di metalli pesanti e additivi chimici (Villares *et al.*, 2017). *A. nodosum* contiene inoltre iodio, aminoacidi, vitamine (vitamina C, betacarotene, vitamina E, vitamine del gruppo B) e minerali (calcio, potassio, magnesio e selenio) (Kadam *et al.*, 2015).

Quest'alga svolge un'importante attività come prebiotico sulla flora batterica intestinale, grazie alla

Tabella 2. Classificazione *Ascophyllum nodosum*

Dominio	Eukaryota
Regno	Chromista
Sottoregno	Chromalveolata
Divisione	Heterokonta
Classe	Phaeophyceae
Ordine	Fucales
Famiglia	Fucaceae
Genere	<i>Ascophyllum</i>
Specie	<i>nodosum</i>

forma inorganica (iAs) dall'acqua e lo accumulano come arsenozuccheri (Taylor and Jackson, 2016). Sono necessarie ulteriori ricerche per approfondire questo aspetto di particolare importanza per la sicurezza dei consumatori.

Dalle analisi in spettrofotometria UV sulle frazioni cromatografiche abbiamo potuto osservare un'elevata concentrazione di proteine citosoliche e amminoacidi liberi, tra questi di particolare interesse sono i cosiddetti amminoacidi micosporinici (MAAs) (Fig.3), metaboliti secondari prodotti da alcuni organismi acquatici, incluse le alghe, per proteggersi dai raggi ultravioletti (Chrapusta et al., 2017; Lawrence et al., 2017).

Studio *in vivo*: valutazione dell'attività di un prodotto commerciale a base di *A. nodosum* sulla salute del cavo orale

Negli ultimi anni, quest'alga ha trovato impiego nell'ambito della Medicina Veterinaria in quanto utilizzata nell'igiene orale come presidio contro la formazione della placca e per migliorare l'alitosi negli animali da compagnia, come il cane e il gatto (Gawor and Jodkowska, 2013). Per questo motivo, la parte *in vivo* del nostro studio, si è concentrata sulla valutazione dell'effetto di *A. nodosum* sulla composizione chimica della saliva in relazione all'alitosi e alla formazione di placca in sei cani.

Oltre il 70% dei cani, dopo i primi anni di vita, soffre di patologie del cavo orale, molte delle quali sono causate da una scarsa igiene orale e quindi dall'accumulo di placca e tartaro. Non tutti i cani sono colpiti in egual misura: infatti, come nell'uomo, esiste una predisposizione individuale a sviluppare queste patologie; inoltre è stata evidenziata una predisposizione legata alla razza e alla taglia: infatti quelli più colpiti sono i cani di piccola taglia o

“toy” (Squarzone, 2003). In particolare, la placca è costituita da una matrice glicoproteica in cui sono presenti più di 300 tipi di batteri diversi (Dewhirst et al., 2012; Holcombe et al., 2014). Se la placca non viene rimossa dalla superficie dentale per più di dieci giorni, i minerali presenti nella saliva possono essere incorporati nella placca andando a formare il tartaro che deriva dalla mineralizzazione della placca in seguito al deposito di sali di calcio e fosforo (Fig.4) (Lobprise, 2000; Squarzone, 2003).

La colonizzazione batterica provoca un'inflammatione di tipo essudativo, inizialmente limita-

ta al solco gengivale (gengivite). Escludendo condizioni complesse, la gengivite è una patologia reversibile, ma se non viene trattata tempestivamente può evolvere in parodontite, a causa della migrazione dei batteri dal solco gengivale verso l'apice.

Le malattie parodontali, a differenza delle gengiviti sono irreversibili, possono compromettere tutte le strutture di sostegno dei denti generando forte dolore, fino alla perdita del dente stesso, possono creare difficoltà nel masticare il cibo e possono infine indurre una grave alitosi (Fig.5) (Culham and Rawlings, 1998). Nella maggior parte dei casi, un

Lisosan® REDUCTION

Integratore alimentare a base di piante e derivati con Lisosan®, Desmodium e Picrorrhiza

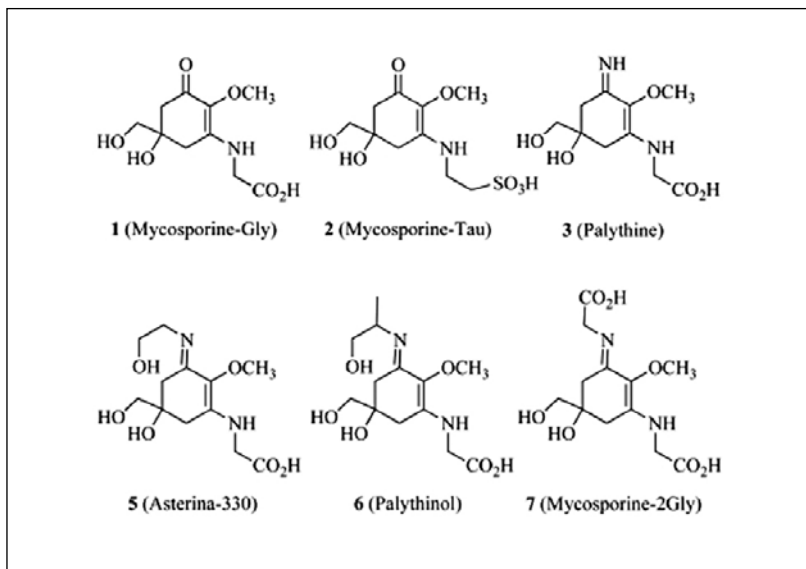


- coadiuva la funzione epatica
- alto potere antiossidante del LISOSAN®.
- non interferenza con il metabolismo dei farmaci
- azione anti-radicalica ed anti-inflammatoria

Agrisan

via Matteotti 1950/B 51036 Larciano (PT) www.agrisan.com

Figura 3. Struttura chimica di alcuni aminoacidi micosporinici (MMAs)



cattivo odore dell'alito può indicare un processo patologico in atto nel cavo orale, oppure può derivare da disordini gastrointestinali o malattie sistemiche come infezioni respiratorie, diabete e insufficienza renale (Eubanks, 2006). I batteri anaerobi Gram-negativi (*Bacterioides spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Prevotella spp.*, *Fusobacterium*) (Allaker *et al.*, 1997) sono i principali microrganismi coinvolti nella patogenesi della parodontite e sono i responsabili della forte alitosi, poiché producono composti volatili dello zolfo (VSC), come l'idrogeno solforato e il metilmercaptano.

Nello studio sono stati inclusi sei soggetti, selezionati escludendo patologie del cavo orale, patologie di altra origine, soggetti sottoposti a cure farmacologiche e femmine gravide o in lattazione. Prima dell'inizio del trattamento (T0) i soggetti sono stati sottoposti a una visita odontostomatologica generale, presso il Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna, a una anamnesi da parte del proprietario mediante questionari e a un prelievo salivare con tamponi Salivette.

I soggetti sono stati trattati per 33 giorni con capsule di gelatina alimentare contenente *A. nodosum* con un dosaggio di 150 mg/10kg/die, somministrate durante il pasto del mattino.

Al termine del trattamento (T1) è stata fatta una seconda visita specialistica per valutare eventuali miglioramenti a livello del cavo orale, una valutazione soggettiva da parte del proprietario e un prelievo salivare mediante tampone Salivette (Fig.6).

Sui campioni di saliva prelevati prima e dopo il periodo di trattamento, sono state analizzate le proteine salivari mediante elettroforesi SDS-PAGE.

Dalla prima visita odontostomatologica è emerso che tutti i soggetti erano affetti da una forma di gengivite più o meno importante, che si è risolta dopo la somministrazione del fitoterapico, tranne in un solo caso.

In particolare, nel soggetto che presentava un quadro infiammatorio più grave (edema gengivale diffuso) si sono riscontrati i miglioramenti più evidenti, con scomparsa dell'edema. Tra le diverse attività di *A. nodosum*, infatti, viene riportata anche attività antinfiammatoria riconducibile a diversi composti in essa contenuti (florotannini, fucoidani) come riportato in diversi studi recenti (Cumashi *et al.*, 2007; Dutot *et al.*, 2012).

In un unico soggetto non ci sono stati miglioramenti dell'infiammazione gengivale; questo risultato potrebbe essere collegato alla sospensione delle pratiche di igiene orale con spazzolino e dentifricio a uso veterinario du-



Figura 4. Deposito di tartaro nel cane

rante il periodo di trattamento, confermando così l'importanza della pulizia dei denti costante come prevenzione delle patologie del cavo orale (Squarzonzi, 2003).

In tutti gli altri cani affetti da alitosi è stato riscontrato un miglioramento in seguito al trattamento con *A. nodosum*; questo miglioramento potrebbe essere ricondotto sia a un effetto positivo sul microbiota intestinale sia a un'attività indiretta sulla produzione delle ghiandole salivari. Uno dei sei cani coinvolti nello studio ha mostrato un miglioramento a carico della funzionalità intestinale con riduzione della flatulenza e scomparsa delle scariche diarroiche.

Alcuni studi, infatti, hanno evidenziato la capacità di *A. nodosum* di influenzare il microbiota intestinale, con meccanismi ancora non chiariti (Chen *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2018), ma probabilmente riconducibili alla sua attività prebiotica.

Il principale responsabile dell'attività antibatterica della saliva è il lisozima (Derde *et al.*, 2017), un enzima presente in numerose secrezioni animali e umane come le lacrime e la saliva, che catalizza l'idrolisi del legame tra l'acido N-acetilmuramico e la N-acetilglucosamina del peptidoglicano presente nella parete dei batteri Gram +.

Dalle analisi delle proteine salivari mediante elettroforesi SDS-PAGE, abbiamo potuto osservare in tutti i soggetti dopo il trattamento una riduzione nel numero e nell'intensità di molte bande proteiche e in particolare,

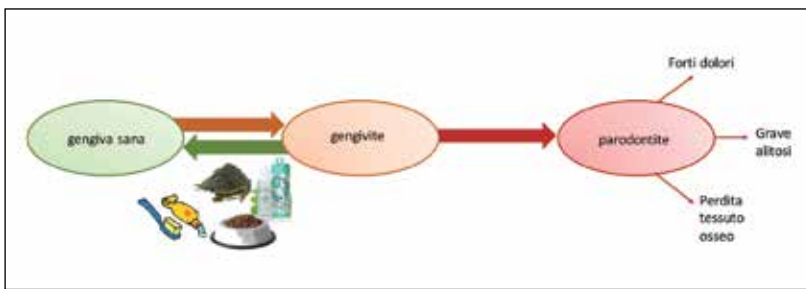


Figura 5. Schema semplificato della patogenesi della parodontite

della banda che, in base al peso molecolare, potrebbe essere identificata come lisozima. Questo risultato è a favore di una potenziale attività antibatterica di *A. nodosum* (Mahltig *et al.*, 2013; Tamanai-Shacoori *et al.*, 2014) che, andando a diminuire la carica batterica totale del cavo orale, potrebbe determinare, di conseguenza, una riduzione di questo enzima.

Le prospettive future

I dati riportati in questo studio preliminare mettono in evidenza la ricchezza di proteine ed elementi traccia in *A. nodosum*. In futuro, saranno necessari ulteriori approfondimenti per quanto riguarda la concentrazione e la biodisponibilità degli elementi essenziali e di quelli non essenziali, potenzialmente tossici per la salute umana e animale. Grazie ai risultati ottenuti dalla prova *in vivo* possiamo confermare l'attività dell'alga bruna *A. nodosum* nel trattamento dei disturbi del cavo orale nel cane; è però importante puntualizzare che questa integrazione deve es-

sere considerata complementare all'igiene orale quotidiana, che a oggi rimane il più importante ed efficace metodo di prevenzione delle patologie orali.

Inoltre si potrebbe pensare di formulare una pasta o gel per l'igiene del cavo orale contenente *A. nodosum* per valutarne un'efficacia topica.

Verificata la biodisponibilità dei più importanti elementi essenziali e la speciazione dell'arsenico, quest'alga potrebbe essere impiegata non solo negli animali da compagnia, ma anche in altri settori della medicina veterinaria, come supplemento dietetico negli animali da allevamento (Dove and Haydon, 1991; Langenmayer *et al.*, 2018; Sorge *et al.*, 2016).

Ringraziamenti

Si ringraziano la Dott.ssa Emma Bellei, per aver effettuato le visite odontostomatologiche ai cani, il Dott. Maurizio Scosoli per aver fornito il campione di *A. nodosum* utilizzato nella prova *in vivo* sui cani e la Dott.ssa Teresa Cerchiara per la pre-

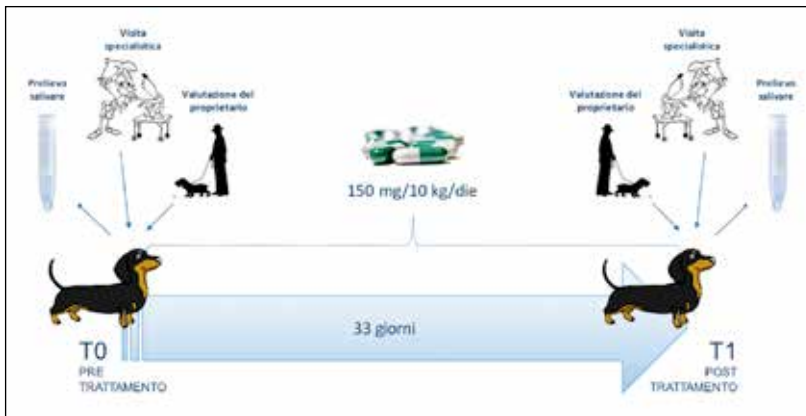


Figura 6. Valutazione *in vivo* dell'attività di *A. nodosum* nei cani

GreenVet[®]
fitoterapia veterinaria



Gli episodi infiammatori osteo-articolari che colpiscono cani, gatti e altri animali da compagnia possono compromettere le performance sportive e, soprattutto, con l'avanzare dell'età, la qualità della vita dei nostri amici a quattro zampe. **Greenvet** propone coadiuvanti alimentari con effetto nutrizionale, a supporto del benessere dell'animale:

BOSWELLIA

nelle forme acute e sub-acute a carico dell'apparato muscolo scheletrico soprattutto in presenza di un quadro dolorifico. Contiene: *Boswellia serrata e.s.*, *Harpagophytum procumbens e.s.*, *Spiraea ulmaria e.s.*, *Equisetum arvense*.

HARPAGOS

nelle forme croniche a carico delle articolazioni (ginocchio, gomito, anca, colonna vertebrale) che, col passare del tempo, possono lentamente degenerare e compromettere le capacità di movimento. Contiene: *Harpagophytum procumbens e.s.*, *Cinchona succirubra*, *Equisetum arvense*, *Fraxinus excelsior e.s.*, *Juniperus communis*, *Spiraea ulmaria e.s.*

SELEVITA

nei processi degenerativi legati all'età avanzata e per sostenere le naturali difese dell'animale nei confronti degli effetti dannosi dei radicali liberi sull'organismo. Contiene: *Saccharomyces cerevisiae*, *Rosmarinus officinalis*.



APA-CT Srl

Tel. 0543 705152 - Fax 0543 707315

e-mail: info@apabio.it - www.greenvet.it

Curiosità

- Già Plinio il Vecchio (I sec. d.C.) raccomandava l'uso delle alghe nella cura contro la gotta, malattia molto diffusa tra la nobiltà romana, mentre Dioscoride Pedanio, celebre medico greco, ne consigliava l'impiego contro le eruzioni cutanee, la gastrite e i disturbi dell'intestino e del fegato
- Esiste un tessuto naturale ricavato dalla lavorazione di *Ascophyllum nodosum*, inventato 10 anni fa dal designer Alberto Zanrè dopo un viaggio in Giappone.
- Nel 1889, durante il suo soggiorno in Bretagna, Paul Gauguin dipinse "Pescatori Bretoni di Alghe", un dipinto a olio su tela che raffigura uomini e donne intenti a raccogliere delle alghe bruno-tipiche della flora marina di queste zone.

"Pescatori Bretoni Di Alghe" Paul Gauguin 1889, Olio su tela, Museo Folkwang Essen, Germania



parazione delle capsule a base di *A. nodosum*.

Il presente articolo rielabora la tesi del master di I livello in Fondamenti di Fitoterapia di Federica Medici (Relatore Prof.ssa Gloria Isani). Le ricerche sono state svolte presso il Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna

*Biologa, Master in Fitoterapia

**Biotecnologa, Dottoranda in Scienze Veterinarie

Bibliografia

- Allaker, R.P., de Rosayro, R., Young, K.A., and Hardie, J.M. (1997). Prevalence of *Porphyromonas* and *Prevotella* species in the dental plaque of dogs. *Vet. Rec.* *140*, 147–148.
- Biancarosa, I., Belghit, I., Bruckner, C.G., Liland, N.S., Waagbø, R., Amlund, H., Heesch, S., and Lock, E.-J. (2018). Chemical characterization of 21 species of marine macroalgae common in Norwegian waters: benefits of and limitations to their potential use in food and feed. *J. Sci. Food Agric.* *98*, 2035–2042.
- Blunden, G., Morse, P.F., Mathe, I., Hohmann, J., Critchley, A.T., and Morrell, S. (2010). Betaine yields from marine algal species utilized in the preparation of seaweed extracts used in agriculture. *Nat. Prod. Commun.* *5*, 581–585.
- Caumette, G., Koch, I., and Reimer, K.J. (2012). Arsenobetaine formation in plankton: a review of studies at the base of the aquatic food chain. *J. Environ. Monit.* *14*, 2841.
- Chaves Lopez, C., Serio, A., Rossi, C., Mazzarrino, G., Marchetti, S., Castellani, F., Grotta, L., Fiorentino, F.P., Paparella, A., and Martino, G. (2016). Effect of diet supplementation with *Ascophyllum nodosum* on cow milk composition and microbiota. *J. Dairy Sci.* *99*, 6285–6297.
- Chen, L., Xu, W., Chen, D., Chen, G., Liu, J., Zeng, X., Shao, R., and Zhu, H. (2018). Digestibility of sulfated polysaccharide from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* and its effect on the human gut microbiota in vitro. *Int. J. Biol. Macromol.* *112*, 1055–1061.
- Chrapusta, E., Kaminski, A., Duchnik, K., Bober, B., Adamski, M., and Bialezyk, J. (2017). Mycosporine-Like Amino Acids: Potential health and beauty ingredients. *Mar. Drugs* *15*, 1–29.
- Combat, E., Ma, Z.F., Cousins, F., Thompson, B., and Lean, M.E.J. (2014). Low-level seaweed supplementation improves iodine status in iodine-insufficient women. *Br. J. Nutr.* *112*, 753–761.
- Culham, N., and Rawlings, J.M. (1998). Oral Malodor and its Relevance to Periodontal Disease in the Dog. *J. Vet. Dent.* *15*, 165–168.
- Cumashi, A., Ushakova, N.A., Preobrazhenskaya, M.E., D'Incecco, A., Piccoli, A., Totani, L., Tinari, N., Morozevich, G.E., Berman, A.E., Bilan, M.I., et al. (2007). A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology* *17*, 541–552.
- Dawes, C.J. (1978). Introduction to the Algae: Structure and Reproduction. Harold C. Bold, Michael J. Wynne. In *The Quarterly Review of Biology*, (Stony Brook Foundation, Inc.), pp. 455–456.
- Derde, M., Vié, V., Walrant, A., Sagan, S., Lechevalier, V., Guérin-Dubiard, C., Pezennec, S., Cochet, M.-F., Paboef, G., Pasco, M., et al. (2017). Antimicrobial activity of lysozyme isoforms: Key molecular features. *Biopolymers* *107*, e23040.
- Dewhurst, F.E., Klein, E.A., Thompson, E.C., Blanton, J.M., Chen, T., Milella, L., Buckley, C.M.F., Davis, I.J., Bennett, M.-L., and Marshall-Jones, Z. V. (2012). The Canine Oral Microbiome. *PLoS One* *7*, e36067.
- Dove, C.R., and Haydon, K.D. (1991). The effect of copper addition to diets with various iron levels on the performance and hematology of weanling swine. *J. Anim. Sci.* *69*, 2013–2019.
- Dutot, M., Fagon, R., Hemon, M., and Rat, P. (2012). Antioxidant, Anti-inflammatory, and Anti-senescence Activities of a Phlorotannin-Rich Natural Extract from Brown Seaweed *Ascophyllum nodosum*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* *167*, 2234–2240.
- Eubanks, D.L. (2006). Canine Oral Malodor. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* *42*, 77–79.
- Gawor, J., and Jodkowska, K. (2013). Effects of an *Ascophyllum nodosum* Formulation On Oral Health Index in Dogs and Cats. *Weter. W. Prakt.* *10*, 74–79.
- Goñi, O., Fort, A., Quille, P., McKeown, P.C., Spillane, C., and O'Connell, S. (2016). Comparative Transcriptome Analysis of Two *Ascophyllum nodosum* Extract Biostimulants: Same Seaweed but Different. *J. Agric. Food Chem.* *64*, 2980–2989.
- Hiscock, S. (1979). A field key to the British brown seaweeds (Phaeophyta). (FSC Pub).
- Holcombe, L.J., Patel, N., Colyer, A., Deusch, O., O'Flynn, C., and Harris, S. (2014). Early canine plaque biofilms: characterization of key bacterial interactions involved in initial colonization of enamel. *PLoS One* *9*, e113744.
- Kadam, S.U., Tiwari, B.K., Smyth, T.J., and O'Donnell, C.P. (2015). Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive components from brown seaweed *Ascophyllum nodosum* using response surface methodology. *Ultrason. Sonochem.* *23*, 308–316.
- Kadam, S.U., Álvarez, C., Tiwari, B.K., and O'Donnell, C.P. (2017). Extraction and characterization of protein from Irish brown seaweed *Ascophyllum nodosum*. *Food Res. Int.* *99*, 1021–1027.
- Langenmayer, M.C., Jung, S., Majzoub-Altweck, M., Trefz, F.M., Seifert, C., Knubben-Schweizer, G., Fries, R., Hermanns, W., and Gollnick, N.S. (2018). Zinc Deficiency-Like Syndrome in Fleckvieh Calves: Clinical and Pathological Findings and Differentiation from Bovine Hereditary Zinc Deficiency. *J. Vet. Intern. Med.* *32*, 853–859.
- Lawrence, K.P., Gacesa, R., Long, P.F., and Young, A.R. (2017). Molecular photoprotection of human keratinocytes *in vitro* by the naturally occurring mycosporine-like amino acid (MAA) palythine. *Br. J. Dermatol.*
- Lee, R.E. (2008). *Phycology* (Cambridge University Press).
- Lobprise, H.B. (2000). Complicated periodontal disease. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* *15*, 197–203.
- Mahlthig, B., Soltmann, U., and Haase, H. (2013). Modification of algae with zinc, copper and silver ions for usage as nat-

ural composite for antibacterial applications. *Mater. Sci. Eng. C* 33, 979–983.

Nagaoka, M., Shibata, H., Kimura-Takagi, I., Hashimoto, S., Aiyama, R., Ueyama, S., and Yokokura, T. (2000). Anti-ulcer effects and biological activities of polysaccharides from marine algae. *Biofactors* 12, 267–274.

Nakamura, Y., Narukawa, T., and Yoshinaga, J. (2008). Cancer Risk to Japanese Population from the Consumption of Inorganic Arsenic in Cooked Hijiki. *J. Agric. Food Chem.* 56, 2536–2540.

O'Sullivan, L., Murphy, B., McLoughlin, P., Duggan, P., Lawlor, P.G., Hughes, H., and Gardiner, G.E. (2010). Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. *Mar. Drugs* 8, 2038–2064.

Pasqua, G., Abbate, G., and Forni, C. (2015). *Botanica generale e diversità vegetale* (Piccin Editore).

Paxman, J.R., Richardson, J.C., Dettmar, P.W., and Corfe, B.M. (2008). Alginate reduces the increased uptake of cholesterol and glucose in overweight male subjects: a pilot study. *Nutr. Res.* 28, 501–505.

Raven, P.H., Evert, R.F., and Eichhorn, S.E. (2002). *Biologia delle piante* (Zan-

ichelli).

Seo, M.-J., Seo, Y.-J., Pan, C.-H., Lee, O.-H., Kim, K.-J., and Lee, B.-Y. (2016). Fucoxanthin Suppresses Lipid Accumulation and ROS Production During Differentiation in 3T3-L1 Adipocytes. *Phyther. Res.* 30, 1802–1808.

Shukla, P.S., Shotton, K., Norman, E., Neily, W., Critchley, A.T., and Prithiviraj, B. (2018). Seaweed extract improve drought tolerance of soybean by regulating stress-response genes. *AoB Plants* 10, plx051.

Sorge, U.S., Henriksen, M., Bastan, A., Cremers, N., Olsen, K., and Crooker, B.A. (2016). Short communication: Iodine concentrations in serum, milk, and tears after feeding *Ascophyllum nodosum* to dairy cows—A pilot study. *J. Dairy Sci.* 99, 8472–8476.

Squarzone, P. (2003). *Odontostomatologia del cane e del gatto* (Poletto).

Stengel, D.B., and Connan, S. (2015). Marine Algae: a Source of Biomass for Biotechnological Applications. In *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), pp. 1–37.

Tamanai-Shacoori, Z., Chandad, F., Rébillard, A., Cillard, J., and Bonnaure-Mallet, M. (2014). Silver-Zeolite Combined to

Polyphenol-Rich Extracts of *Ascophyllum nodosum*: Potential Active Role in Prevention of Periodontal Diseases. *PLoS One* 9, e105475.

Taylor, V.F., and Jackson, B.P. (2016). Concentrations and speciation of arsenic in New England seaweed species harvested for food and agriculture. *Chemosphere* 163, 6–13.

Villares, R., Carral, E., and Carballeira, C. (2017). Differences in Metal Accumulation in the Growing Shoot Tips and Remaining Shoot Tissue in Three Species of Brown Seaweeds. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 99, 372–379.

Zeng, J., Zhang, Y., Ruan, J., Yang, Z., Wang, C., Hong, Z., and Zuo, Z. (2018). Protective effects of fucoxanthin and fucoxanthinol against tributyltin-induced oxidative stress in HepG2 cells. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 25, 5582–5589.

Zhou, M., Hünerberg, M., Chen, Y., Reuter, T., McAllister, T.A., Evans, F., Critchley, A.T., and Guan, L.L. (2018). Air-Dried Brown Seaweed, *Ascophyllum nodosum*, Alters the Rumen Microbiome in a Manner That Changes Rumen Fermentation Profiles and Lowers the Prevalence of Foodborne Pathogens. *mSphere* 3, e00017-18.

ANCHE SE È BIO PUÒ NASCONDERE SORPRESE?

Non soffermarti alle apparenze, valuta con attenzione ciò che leggi sulla confezione.

Noi di Probios siamo sicuri di offrirti prodotti che sono Bio "dentro", che hanno superato rigorosi controlli, che sono frutto di ricette equilibrate e di ingredienti rispettosi dell'uomo e dell'ambiente.

Ogni nostra scelta è dettata da una filosofia vocata al Bio, che ha radici nella nostra esperienza, nella nostra cultura sin dal 1978. È grazie al nostro talento che i prodotti biologici Probios sono diversi.

Da 40 anni il biologico italiano senza compromessi.

Viva Mais | IL NUTRIMENTO BIO - ORGANIC | Break Fbio | altricereali SENZA GLUTINE | RICE & RICE | la via del Grano

www.probios.it - seguici su [Facebook] [Instagram] [Twitter]