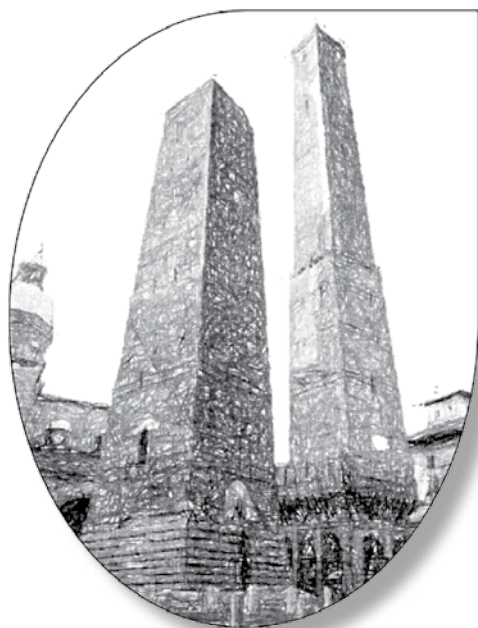


VI Congresso Nazionale della
Società Italiana per la Ricerca sugli
Oli Essenziali

SIROE



Associazione Scientifica S.I.R.O.E.
(Società Italiana per la Ricerca sugli Oli Essenziali)

Co-organizzato con

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari
Alma Mater Studiorum, Università di Bologna



Bologna, 18-19 ottobre 2019
Aula Magna – Dipartimento di Scienze
e Tecnologie Agro-Alimentari
Alma Mater Studiorum, Università di Bologna

VI Edizione del Congresso Nazio-
nale della Società Italiana per la
Ricerca sugli Oli Essenziali.

Appuntamento a Bologna, i giorni 18 e 19
ottobre, con un'ampia panoramica scien-
tifica sullo stato dell'arte nel campo degli
Oli Essenziali e dei loro utilizzi.

Si rinnova anche quest'anno l'attenzione
verso le nuove leve della ricerca: durante
l'evento i lavori presentati dai giovani ri-
ceratori saranno valutati da un'apposita
commissione, che attribuirà al più merite-
vole il Premio SIROE Giovani Ricercatori.

COMITATO SCIENTIFICO

Bellardi Maria Grazia. Dipartimento di Scienze e Tecnologie
Agro-Alimentari, Università di Bologna, *Alma Mater Studiorum*,
Bologna.

Benvenuti Stefania. Dipartimento di Scienze della Vita, Università
degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena.

Bouzari Hedayat. Dipartimento S.C. Chirurgia Generale e Oncolo-
gica dell'Ospedale Mauriziano Umberto I, Torino.

Campagna Paolo. SIROE, Roma. Università degli Studi della Tu-
scia, Viterbo.

Corbo Filomena. Dipartimento di Farmacia-Scienze del Farmaco
Università degli Studi Aldo Moro, Bari.

Delfino Sebastiano. Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimen-
ti, Università degli Studi del Molise, Campobasso.

Di Vito Maura. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimen-
tari Agrarie, Università di Bologna, *Alma Mater Studiorum*, Bologna.

Mattarelli Paola. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-A-
limentari Agrarie, Università di Bologna, *Alma Mater Studiorum*,
Bologna.

Mondello Francesca. Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto
Superiore di Sanità, Roma.

Paparella Antonello. Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-A-
limentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo.

Rino Ragno. Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco,
Università degli Studi di Roma "Sapienza", Roma.

Romanazzi Gianfranco. Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimen-
tari ed Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona.

Scafuri Antonio. Dipartimento di Medicina Traslationale, Universi-
tà degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma.

Scozzoli Maurizio. Centro Sperimentale APA-CT, Forlì.

Stringaro Annarita. Centro Nazionale per la Ricerca e per la Valu-
tazione Preclinica e Clinica dei Farmaci, Istituto Superiore di Sanità,
Roma.

Tullio Vivian. Dipartimento Scienze della Sanità Pubblica e Pedia-
triche, Università degli Studi di Torino, Torino.

PROGRAMMA

Venerdì 18 ottobre

- 8:00 – 9:00 **Registrazione dei Partecipanti**
9:00 – 9:20 Indirizzo di Benvenuto
- I Sessione: Oli Essenziali in Botanica, Agronomia e Patologia Vegetale**
Moderatori: *Maria Grazia Bellardi, Sebastiano Delfine*
- 9:20 – 9:40 **Valeria Mariani.** Idrolati di *Monarda didyma* per la difesa delle piante dalle infestazioni di *Trialeurodes vaporariorum*.
- 9:40 – 10:00 **Trifone D'Addabbo.** Trattamenti con oli essenziali per il controllo di nematodi fitoparassiti.
- 10:00 – 10:20 **Virginia Brighenti.** *To be or not to be...*: applicazione di tecniche chimico-analitiche per la ricerca delle sofisticazioni nel settore degli oli essenziali.
- 10:20 – 10:40 **Razieh Rajestary.** Uso di oli essenziali per il controllo della muffa grigia della fragola in postraccolta.
- 10:40 – 11:00 *Coffee Break e Sessione Poster*
- Moderatori: *Stefania Benvenuti, Gianfranco Romanazzi*
- 11:00 – 11:20 **Mercedes Verdeguer Sancho.** Attività erbicida di oli essenziali per il controllo di *Erigeron bonariensis* L.
- 11:20 – 11:40 **Sebastiano Delfine.** Relazione tra strategie colturali e qualità biologica degli oli essenziali: il caso dell'aglio.
- 11:40 – 12:00 **Carmen Impelluso.** Composizione chimica di oli essenziali di taxa spontanei, endemici o rari, del genere *Thymus*: variabilità intra e interspecifica in diverse accessioni del sud Italia.
- 12:00 – 12:20 *Discussione*
- "Premio SIROE Giovani Ricercatori"**
- Moderatori: *Paolo Campagna, Francesca Mondello, Filomena Corbo*
- 12:20 – 12:30 **Camilla Tani.** Bioattività degli oli essenziali di *Citrus reticulata* e di *Melaleuca alternifolia* contro il moscerino della frutta *Drosophila suzukii*.
- 12:30 – 12:40 **Priscilla Farina.** La flora andina come fonte di nuovi repellenti contro gli insetti delle derrate conservate.
- 12:40 – 13:00 **Agnese Spadi.** Un sensore VOC a fotoionizzazione (PID) per la stima rapida delle rese di estrazione di oli essenziali.
- 13:00 – 13:10 **Maria Rita Proto.** Oli essenziali in patologia vegetale: potenziale mezzo per la difesa dai batteri fitopatogeni.
- 13:10 – 13:20 **Francesca Maggio.** Attività inibente di oli essenziali sulla formazione di biofilm mono- e multi-specie.
- 13:20 – 13:30 **Sara Turci.** Studio comparativo di oli essenziali ed idrolati di specie e selezioni di *Monarda* spp.: un biennio di sperimentazione.
- 13:30 – 13:40 **Lara Vergari.** Studio dell'efficacia di oli essenziali e idrolati come alternativa ai biocidi comunemente usati per il trattamento dei manufatti dipinti su supporto tessile.
- 13:40 – 15:00 **Lunch**
- 15:00 – 15:20 **Discussione Sessione Poster**
Moderatori: *Hedayat Bouzari, Rino Ragno, Vivian Tullio*

- II Sessione: Oli Essenziali nel Settore Alimentare, in Medicina Veterinaria e Entomologia**
Moderatori: *Paola Mattarelli, Maurizio Scozzoli, Maura Di Vito*
- 15:20 – 15:40 **Barbara Conti.** *De gustibus non disputandum est*: l'analisi sensoriale nella selezione di oli essenziali contro la zanzara tigre asiatica *Aedes albopictus* (Diptera culicidae).
- 15:40 – 16:00 **Stefano Bedini.** Gli oli essenziali contro la mosca carnaria *Lucilia sericata* agente di miasi cutanea.
- 16:00 – 16:20 **Maria Luisa Dindo.** Idrolati di *Monarda fistulosa* come antimicrobici naturali in substrati per l'allevamento di insetti utili.
- 16:20 – 16:40 *Coffee Break*
- 16:40 – 17:00 **Margherita Cacaci.** Oli essenziali: nuovi agenti per contrastare la salmonellosi.
- 17:00 – 17:20 **Martina Bertocchi.** Valutazione di tossicità *in vitro* su mucosa uterina suina di oli essenziali potenzialmente utilizzabili nelle dosi inseminanti.
- 17:20 – 17:40 **Alberto Elmi.** Analisi comparativa di tossicità di diversi oli essenziali su spermatozoi suini.
- 17:40 – 18:00 **Maurizio Scozzoli.** Saggi dell'attività inibente di alcuni oli essenziali su ceppi patogeni dell'allevamento ittico.
- 18:10 – 18:30 *Discussione*
- 20:00 *Cena sociale* presso "La Campofilone" in FICO Eatly World

Sabato 19 ottobre

- III Sessione: Oli Essenziali nel Settore Alimentare**
Moderatori: *Antonello Paparella, Francesca Mondello, Maurizio Scozzoli*
- 9:00 – 9:20 **Ramona Iseppi.** Attività antimicrobica di oli essenziali di *Cannabis sativa* L. nei confronti di ceppi batterici di origine alimentare.
- 9:20 – 9:40 **Chiara Rossi.** Effetto dell'olio essenziale di *Cinnamomum zeylanicum* sull'adesione di *Salmonella enterica* su lattuga.
- 9:40 – 10:00 **Clara Tramuta.** Oli essenziali a sostegno della filiera carne.
- IV Sessione: Oli Essenziali: dalla Chimica alla Microbiologia fino alla Salute Umana**
Moderatori: *Vivian Tullio, Hedayat Bouzari, Antonio Scafuri*
- 10:00 – 10:20 **Stefania Garzoli.** Caratterizzazione chimica quali-quantitativa della fase vapore degli oli essenziali.
- 10:20 – 10:40 **Antonio Rosato.** Diclofenac sodico in associazione con alcuni oli essenziali: evidenza sperimentale *in vitro* dell'azione sinergica antibiofilm verso diverse specie fungine appartenenti al genere *Candida*.
- 10:40 – 11:00 **Rosanna Avola.** Valutazione dell'attività antinfiammatoria dell'olio essenziale di origano mediante un modello sperimentale di cellule di cheratinociti umani.
- 11:00 – 11:20 **Silvia Di Lodovico.** Oleoresina di *Pistacia vera* L. e levofloxacina: una innovativa combinazione sinergica per combattere la multifarmaco resistenza in *Helicobacter pylori*.

11:20 – 11:40	<i>Coffee Break</i>	12:40 – 13:00	Maura Di Vito. Garze pre-medicate con idrogel e idrolato di <i>Citrus aurantium var amara</i> (fiori) per la prevenzione delle infezioni microbiche della cute lesa.
Moderatori:	<i>Paolo Campagna, Annarita Stringaro, Rino Ragno</i>	13:00 – 13:20	<i>Discussione</i>
11:40 – 12:00	Marcello Iriti. Effetto emostatico di un gel bioadesivo a base di oli essenziali nelle biopsie della mucosa orale.	13:20 – 14:00	Assegnazione “Premio SIROE Giovani Ricercatori”
12:00 – 12:20	Matthew Gavino Donadu. Studio di diversi oli essenziali nella pratica clinico-infettiva.	Moderatori:	<i>Paolo Campagna, Francesca Mondello, Filomena Corbo</i>
12:20 – 12:40	Paolo Campagna, Roberta Tardugno. Oli essenziali in clinica dermatologica: dati e prospettive.	14:00	Chiusura dei lavori

RELATORI E MODERATORI

Avola Rosanna. Istituto di Chimica Biomolecolare, Centro Nazionale delle Ricerche (C.N.R.), Catania.

Bellardi Maria Grazia. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, *Alma Mater Studiorum*, Bologna.

Benvenuti Stefania. Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena.

Bertocchi Martina. Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, Ozzano Emilia (Bologna).

Bedini Stefano. Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa, Pisa.

Brighenti Virginia. Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena.

Bouzari Hedayat. Dipartimento S.C. Chirurgia Generale e Oncologica dell’Ospedale Mauriziano Umberto I, Torino.

Cacaci Margherita. Dipartimento di Scienze di Laboratorio e Infettivologiche, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Roma, Istituto di Microbiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma.

Campagna Paolo. SIROE, Roma. Università degli Studi della Tuscia, Viterbo.

Corbo Filomena. Dipartimento di Farmacia-Scienze del Farmaco Università degli Studi Aldo Moro, Bari.

Conti Barbara. Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro Ambientali, Università di Pisa, Pisa.

D’Addabbo Trifone. Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Centro Nazionale delle Ricerche (C.N.R.), Bari.

Di Lodovico Silvia. Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi “G. d’Annunzio” Chieti-Pescara, Chieti.

Delfino Sebastiano. Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università degli Studi del Molise, Campobasso.

Dindo Maria Luisa. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, Bologna.

Di Vito Maura. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari Agrarie, Università di Bologna, Bologna.

Donadu Matthew Gavino. Università degli Studi di Sassari, Dipartimento di Scienze Biomediche, Sassari.

Elmi Alberto. Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, Bologna.

Farina Priscilla. Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro Ambientali, Università di Pisa, Pisa.

Garzoli Stefania. Dipartimento di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Roma “Sapienza”, Roma.

Impelluso Carmen. Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali, Università degli Studi di Catania, Catania.

Iriti Marcello. Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università degli Studi di Milano, Milano.

Iseppi Ramona. Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reg-

gio Emilia, Modena.

Maggio Francesca. Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-alimentari e Ambientali, Teramo.

Mariani Valeria. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari, Università di Bologna, Bologna.

Mattarelli Paola. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari Agrarie, Università di Bologna, *Alma Mater Studiorum*, Bologna.

Mondello Francesca. Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma.

Paparella Antonello. Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo.

Proto Maria Rita. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, Bologna.

Rino Ragno. Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Università degli Studi di Roma “Sapienza”, Roma.

Rajestary Razieh. Università Politecnica delle Marche, Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Ancona.

Romanazzi Gianfranco. Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona.

Rosato Antonio. Dipartimento di Farmacia-Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Bari Aldo Moro, Bari.

Rossi Chiara. Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali, Teramo.

Sancho Verdeguer Mercedes. Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spagna

Scafuri Antonio. Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma.

Scozzoli Maurizio. Centro Sperimentale APA-CT, Forlì.

Spadi Agnese. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari, Ambientali e Forestali (DAGRI), Università degli Studi di Firenze, Firenze.

Stringaro Annarita. Centro Nazionale per la Ricerca e per la Valutazione Preclinica e Clinica dei Farmaci, Istituto Superiore di Sanità, Roma.

Tani Camilla. Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro Ambientali, Università di Pisa.

Tardugno Roberta. Dipartimento di Filosofia e Beni Culturali, Università degli Studi di Venezia Ca’ Foscari, Venezia.

Tramuta Clara. S.C. Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Piemonte, Liguria, Valle D’Aosta (IZS- PLV), Torino.

Tullio Vivian. Dipartimento Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche, Università degli Studi di Torino, Torino.

Turci Sara. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari, Università di Bologna, Bologna.

Vergari Lara. Dipartimento di Scienze Pure e Applicate, Università degli Studi di Urbino Carlo Bo, Urbino.

SEGRETERIA SCIENTIFICA e SEGRETERIA TECNICA

Maura Di Vito

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, *Alma Mater Studiorum*, Bologna. Tel. 3925476062 - Fax 0696043059 E-mail: segreteria@siroe.it

Curatori: Francesca Mondello¹, Maura Di Vito²
e Maria Grazia Bellardi²

¹Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma

²Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari,
Università di Bologna, Bologna

IDROLATI DI *MONARDA DIDYMA* PER LA DIFESA DELLE PIANTE DALLE INFESTAZIONI DI *TRIALEURODES VAPORARIORUM*

V.Mariani^{1,*}, S.Turci¹, M.Michelozzi², A.Pollini³, M.G.Bellardi¹

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, Bologna, Italia; ²Istituto di Bioscienze e Biorisorse, CNR, Sesto Fiorentino, Firenze, Italia; ³Dottore agronomo, Libero professionista, Imola (Bologna), Italia

*E-mail: valeria.mariani3@studio.unibo.it

Introduzione. *Trialeurodes vaporariorum* è un insetto molto diffuso in quasi tutte le serre; infesta la pagina inferiore delle foglie delle piante ospiti causando gravi deperimenti. La lotta è attualmente basata su insetticidi chimici di sintesi, ma già da alcuni anni si cercano strategie di difesa alternative, a minore impatto ambientale. Con questa sperimentazione, eseguita nel biennio 2018-2019, è stato utilizzato per la prima volta l'idrolato (ID) di *Monarda didyma* (ottenuto nel 2018 da piante in fioritura coltivate nei campi sperimentali dell'area universitaria del Plesso Scarabelli, Imola), un prodotto considerato di scarto nel processo della distillazione degli oli essenziali (OE), dalle comprovate proprietà antimicrobiche e antibatteriche.

Scopo. Mettere a confronto l'ID di *M. didyma* con: Prev-Am® Plus (insetticida-fungicida a base di OE di arancio dolce) e Agricolle, valutandone l'efficacia nella lotta alle infestazioni di *T. vaporariorum*; verificare, inoltre, la durata nel tempo dell'eventuale efficacia.

Materiali e metodi. 1 Prova 2018 (luglio-settembre): suddivisa in due fasi. Nella prima, sono stati testati tre prodotti: ID *M. didyma*, Prev-

Am® Plus e Agricolle, ciascuno su 4 lotti (di cui 3 trattati + 1 testimone) di 15 piante infestate dall'insetto al di sotto imbuti steiner, effettuando 2 erogazioni (distanziate di 1 settimana). Nella seconda fase sono stati testati solo due prodotti (escluso Agricolle in quanto valutato poco efficace) su 5 lotti (di cui 1 come testimone), effettuando 1 sola erogazione. Dopo ogni trattamento sono stati eseguiti accurati accertamenti per valutarne l'efficacia (insetti vivi su 3/4 foglie/pianta di ogni lotto). 2 Prova 2019 (maggio-giugno). Sono stati testati ID *M. didyma* e Prev-Am® Plus. Le modalità di esecuzione della prova sono state simili a quelle applicate nel 2018, con 2 erogazioni (Figura). La composizione degli ID è stata verificata mediante analisi di GC-MS.

Risultati. 1 Prova 2018. Nella prima fase la percentuale di insetti vivi è stata per ID *M. didyma*: 0%, Prev-Am® Plus: 50%, Agricolle: 70%, testimone: 100%; nella seconda, per ID *M. didyma*: 30%, Prev-Am® Plus: 50%, testimone: 100%. 2 Prova 2019. La prova è ancora in corso. L'ID di *M. didyma* ottenuto per distillazione nel 2018 e analizzato mediante GC-MS, conteneva oltre il 35% di timolo ed il 52% di carvacrolo.

Conclusioni. La sperimentazione del 2018 ha messo in evidenza per la prima volta un elevato effetto insetticida dell'ID di *M. didyma* su *T. vaporariorum*, superiore a quello del prodotto commerciale testato. Queste prime indagini del tutto preliminari, se da un lato aprono la strada ad un potenziale eventuale impiego di questo prodotto naturale per il controllo biologico delle popolazioni di un insetto economicamente molto dannoso in serre e tunnel di orticole ed ornamentali, dall'altro ne sottolineerebbe la limitata conservabilità del tempo.

Parole chiave. Idrolato, *Trialeurodes vaporariorum*, *Monarda didyma*, Controllo

TRATTAMENTI CON OLI ESSENZIALI PER IL CONTROLLO DI NEMATODI FITOPARASSITI

T.D'Addabbo^{1,*}, M.G.Bellardi², F.Catalano¹, P.Avato³

¹Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante-CNR, Bari, Italia;

²Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, Bologna, Italia; ³Dipartimento di Farmacia, Scienze del Farmaco, Università di Bari, Bari, Italia

E-mail: trifone.daddabbo@ips.cnr.it

Introduzione. L'esigenza di una maggiore tutela dell'ambiente e della salute umana impone in misura crescente l'esigenza di una parziale o totale sostituzione degli agrofarmaci di sintesi con prodotti più sostenibili nella lotta contro patogeni e parassiti delle colture agrarie, tra cui anche i nematodi. Gli oli essenziali (OE) ed i loro componenti attivi possono costituire una fonte di nuovi prodotti nematocidi ad elevata sostenibilità, in quanto uniscono ad una buona efficacia nematocida un ridotto impatto sull'ambiente e l'uomo grazie alla loro elevata volatilità.

Scopo. Scopo del presente lavoro è di illustrare, sulla base dei lavori in Letteratura e, soprattutto, dell'attività condotta dagli Autori, una serie di casi di applicazione di OE, loro componenti o materiali vegetali ad elevato contenuto di OE, per trattamenti a terreno infestato da differenti specie di nematodi fitoparassiti, soffermandosi su benefici e aspetti negativi legati all'uso di tali trattamenti e sui principali ostacoli ad una



A. *Monarda didyma* fiorita. B. *Trialeurodes vaporariorum*. C. Infestazione da *T. vaporariorum*. D. Olio essenziale di colore giallo-oro ed idrolato. E. Erogazione dell'idrolato sulle foglie infestate dall'insetto. F. Prova allestita nelle serre universitarie di Imola.

loro applicazione commerciale.

Materiali e metodi. Gli OE provenienti da numerose specie vegetali sono stati utilizzati applicati a differenti concentrazioni per trattamenti al terreno sia in soluzione acquosa che mediante fumigazione. In soluzione acquosa sono stati eseguiti anche trattamenti con componenti puri degli OE, quali carvacrolo o benzaldeide. In altri esperimenti il terreno infestato è stato trattato con differenti dosaggi di biomasse essiccate o liofilizzate di specie ad elevato contenuto di OE. In tutti gli esperimenti sono stati rilevati e confrontati i parametri di infestazione (numero di uova, larve e galle sulle radici) delle specie di nematodi presenti.

Risultati. I trattamenti con soluzioni acquose di OE hanno sempre determinato una significativa riduzione della popolazione del nematode target e del grado di infestazione sulla pianta. Trattamenti con soluzioni acquose di OE di *Monarda didyma* e *M. fistulosa*, che già ad una dose di 250 $\mu\text{g kg}^{-1}$ terreno hanno ridotto di oltre un 40% il numero di uova e larve del nematode galligeno *Meloidogyne incognita* sulle radici di pomodoro e nel terreno (Figura). Di efficacia ancora più elevata è risultata l'applicazione degli OE mediante fumigazione del terreno, visto che una dose di 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ terreno degli OE di *Rosmarinus officinalis* e *Artemisia herba-alba* ha ridotto rispettivamente di circa il 62 e 75% la formazione di uova su radici di pomodoro. Una buona capacità di contenimento delle infestazioni di nematodi galligeni è stata osservata anche per trattamenti del terreno con formulati di biomasse ad elevato contenuto di OE, che possono dunque costituire una valida ed efficace alternativa ai trattamenti con gli OE stessi. Tra i componenti attivi degli

OE, un'elevata attività soppressiva è stata dimostrata da carvacrolo e benzaldeide

Conclusioni. I risultati delle attività sperimentali eseguite confermano l'elevato potenziale di impiego degli OE nella formulazione di nuovi nematocidi ad elevata sostenibilità, così come dimostra la comparsa di "moderni" formulati, ancora sperimentali o già registrati in Agricoltura, basati su OE o loro componenti. Una definitiva affermazione di tali prodotti sembra però essere condizionata allo sviluppo di formulazioni a lento rilascio che ne prolunghino la permanenza e l'efficacia nel terreno, oltre che ad una loro chiara e definitiva collocazione legislativa.

Parole chiave. Nematodi fitoparassiti, Oli essenziali, Lotta, Sostenibilità

TO BE OR NOT TO BE...: APPLICAZIONE DI TECNICHE CHIMICO-ANALITICHE PER LA RICERCA DELLE SOSTIFICAZIONI NEL SETTORE DEGLI OLI ESSENZIALI

V.Brighenti, F.Pellati, D.Bertelli, L.Marchetti, S.Benvenuti*

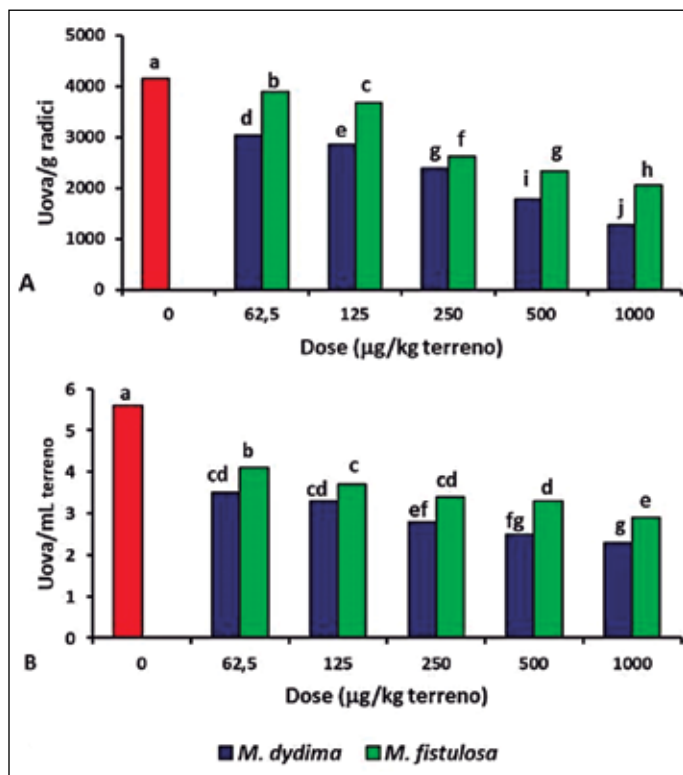
Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia

* E-mail: stefania.benvenuti@unimore.it

Introduzione. L'uso degli oli essenziali (OE) è divenuto uno strumento fondamentale nella fitoterapia, vista la maggiore diffusione delle conoscenze sulle loro proprietà biologiche e quindi la loro importanza soprattutto nella terapia antimicrobica. Tuttavia, se gli operatori sanitari sono maggiormente informati anche sulla tossicità di questi fitoderivati, non è diffusa la cultura e la ricerca della qualità degli OE. D'altra parte gli OE non sono considerati farmaci a tutti gli effetti, per cui non è così vincolante il rispetto di standard qualitativi e di conformità richieste per altri fitocomplessi. Considerato inoltre che per alcuni OE le tecniche di produzione della droga ed estrazione sono laboriose e costose, e magari accompagnate da basse rese, molto spesso il mercato non viene governato dalla qualità, ma dal prezzo. Questa condizione non permette un corretto dosaggio e quindi diventa anche dubbia la posologia e l'effetto. I metodi più comuni di sofisticazione degli OE sono l'aggiunta di oli vegetali o minerali (come l'olio di semi o di vaselina) e/o l'aggiunta di OE più economici o di sostanze di sintesi naturali-simili. In quest'ottica, l'applicazione di metodi chimico-analitici idonei alla rilevazione di queste sofisticazioni ricopre sempre più importanza, per garantirne la sicurezza nell'utilizzo ed assicurare una riproducibilità della loro attività biologica.

Scopo. Scopo del presente progetto è la valutazione dei parametri chimici e chimico-fisici di diversi OE utilizzati in fitoterapia, al fine di valutarne e assicurarne la qualità.

Materiali e metodi. Per quanto riguarda i parametri chimico-fisici, sono stati valutati densità relativa, indice di rifrazione e rotazione ottica, e confrontati con le monografie della Farmacopea Europea o certificazioni ISO. Inoltre, è stata condotta un'approfondita caratterizzazione chimica dei componenti degli OE tramite tecniche analitiche avanzate quali GC-FID e GC-MS. Per quanto riguarda le tecniche GC-FID e GC-MS, gli OE sono stati diluiti in *n*-esano e separati su una colonna capillare HP5 *cross-linked* di poly-5% diphenyl-95% dimetil-polisilossano



Effetto di trattamenti al terreno con differenti dosaggi di oli essenziali di *Monarda didyma* e *M. fistulosa* sulla moltiplicazione del nematode galligeno *Meloidogyne incognita* su radici di pomodoro (A) e sulla densità di popolazione finale del nematode nel terreno (B).

seguendo una rampa termica ed utilizzando elio come *carrier gas*. La caratterizzazione qualitativa è avvenuta mediante determinazione degli LRI (Linear Retention Index) e confronto delle masse del picco pseudomolecolare e degli ioni di frammentazione con le librerie interne. Il presente progetto propone inoltre la messa a punto di tecniche H¹-NMR per la determinazione di eventuali solventi o sostanze estranee all'OE.

Risultati. Le tecniche analitiche adottate e le metodiche messe a punto per questa specifica caratterizzazione permettono di evidenziare eventuali sostanze e miscele estranee, e quindi di rilevare la qualità dell'OE e le relative proprietà e applicazioni.

Conclusioni. Le indagini fitochimiche con tecniche di analisi avanzate rappresentano un passaggio obbligato per valutare la qualità degli OE, al fine di garantirne la sicurezza nell'applicazione.

Parole chiave. GC-FID, GC-MS, H¹-NMR, Qualità

USO DI OLI ESSENZIALI PER IL CONTROLLO DELLA MUFFA GRIGIA DELLA FRAGOLA IN POSTRACCOLTA

R.Rajestary¹, L.Landi¹, D.Sivakumar², N.Tzortzakis³,
G.Romanazzi^{1,*}

¹ Università Politecnica delle Marche, Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Ancona, Italia; ² Tswane University of Technology, Department of Crop Science, Pretoria, South Africa; ³ Cyprus University of Technology, Department of Agricultural Sciences, Biotechnology and Food Science, Limassol, Cyprus

* E-mail: g.romanazzi@univpm.it

Introduzione. La muffa grigia, causata da *Botrytis cinerea*, è una delle malattie postraccolta più importanti della fragola e richiede specifiche strategie di controllo, in campo e durante la conservazione. L'applicazione di oli essenziali può contribuire ad una gestione sostenibile delle malattie postraccolta dei prodotti ortofrutticoli in generale, e della muffa grigia della fragola in particolare. Le proprietà antifungine degli oli essenziali dipendono dalla tipologia e dalla quantità di composti fenolici presenti.

Scopo. L'attività di ricerca ha avuto lo scopo di valutare gli effetti dell'applicazione di oli essenziali su fragola nei confronti della muffa grigia in postraccolta, durante la *shelf life*, e sulla qualità del frutto.

Materiali e metodi. Oli essenziali e formulati commerciali (3 Logy, DF-100 Forte, Prev-AM Plus) sono stati applicati su fragola attraverso l'immersione del frutto o l'irrorazione in campo. Frutti di fragola appena raccolti sono stati esposti a vapori degli oli essenziali di *Citrus bergamia*, *Mentha piperita* e *Rosmarinus officinalis* in ambiente ipobarico (50 kPa). Tutti i frutti sono stati conservati a temperatura ambiente (20°C) e frigoconservati per una settimana a 5°C, quindi esposti a *shelf life* a temperatura ambiente. L'incidenza e la gravità delle infezioni di muffa grigia sono state valutate per 5 giorni, quindi i dati sottoposti ad analisi statistica.

Risultati. I dati di più prove sono stati riassunti adottando la *rank analysis* utilizzando l'Indice di McKinney della muffa grigia dopo 4 giorni di esposizione a 20°C. Fra i prodotti commerciali esaminati, l'estratto di arancio dolce Prev-AM Plus è risultato il più attivo a temperatura

ambiente, mentre la miscela di terpeni 3 Logy ha fornito i migliori risultati su frutti frigoconservati. Pre-Am Plus è stato utilizzato anche in applicazioni preraccolta, dove ha ridotto le infezioni di muffa grigia su frutti frigoconservati e ha migliorato la qualità dei frutti raccolti. Utilizzando gli oli essenziali, quelli di *M. piperita* e *R. officinalis*, hanno significativamente ridotto le infezioni botritiche di circa la metà rispetto al testimone.

Conclusioni. Gli oli essenziali ed i formulati commerciali utilizzati hanno contenuto le infezioni di muffa grigia e migliorato le caratteristiche fisiologiche dei frutti dopo la raccolta e durante la *shelf life*, evidenziando l'applicazione come utile, efficace e sostenibile.

Parole chiave. Botrytis cinerea, Fragola, Frigoconservazione, Marciumi postraccolta, Prodotti ortofrutticoli

ATTIVITÀ ERBICIDA DI OLI ESSENZIALI PER IL CONTROLLO DI *ERIGERON BONARIENSIS* L.

L.G.Castañeda¹, A.Carrubba², M.Verdeguer Sancho^{1,*}

¹ Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spagna;

² Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italia

* E-mail: merversa@hotmail.com

Introduzione. *Erigeron bonariensis* è una pianta erbacea originaria della Sudamerica, molto problematica in numerose colture, specialmente in orti, frutteti e colture orticole. Compete con le altre specie per l'acqua e i nutrienti, diminuendo la loro resa; inoltre, il costo del suo controllo in termini di contenimento è molto elevato. Si tratta di una pianta ruderale, che produce una grande quantità di seme e ha una grande capacità di ricrescita. Sono stati trovati biotipi di *E. bonariensis* resistenti agli erbicidi dei gruppi B (Inibizione dell'enzima acetolattato sintasi (ALS), C (Inibizione della fotosintesi a livello del fotosistema II), D (Deviazione degli elettroni a livello del fotosistema I) e G (Inibizione dell'enzima EPSP sintasi, glifosate), che rendono ancora più difficile il controllo. Nel contesto attuale, finché l'Unione Europea promuove la gestione integrata delle infestanti, è importante sviluppare alternative agli erbicidi sintetici che siano rispettose dell'ambiente e la salute delle persone. Gli oli essenziali con attività erbicida potrebbero essere una soluzione, poiché essendo volatili hanno meno persistenza nell'ambiente e il loro meccanismo d'azione è diverso da quello degli erbicidi sintetici, quindi si eviterebbero problemi di resistenza.

Scopo. L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di testare il potenziale erbicida degli oli essenziali di *Thymbra capitata* (L.) Cav., *Mentha x piperita* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. e *Santolina chamaecyparissus* L. per il controllo di *E. bonariensis*.

Materiali e metodi. I test sono stati effettuati con oli essenziali in pre-emergenza, in serra. Cinque semi sono stati collocati in 5 vasi da 8x8x7 cm e ciascun olio essenziale è stato testato a 3 dosi: 2, 4 e 8 µl/ml. Inoltre, sono stati impiegati i trattamenti di controllo (acqua) e il controllo Fitoil (acqua+1% Fitoil), poiché il Fitoil (prodotto a base di olio di soia) è stato utilizzato come emulsionante. È stato effettuato un

trattamento unico con gli oli essenziali e il test è stato seguito per 40 giorni, effettuando conteggi periodici, ogni 2-3 giorni.

Risultati. I risultati ottenuti (Tabella) hanno indicato che l'olio essenziale di *T. capitata* era il più efficace, inibendo la germinazione di tutti i semi trattati con tutte le dosi durante 40 giorni. L'olio di *E. camaldulensis* era il secondo più efficace: la dose più alta controllava anche la germinazione dell'arvensis durante 40 giorni, sebbene perdesse efficacia da 20 a 40 giorni, come gli altri due oli, *M. x piperita* e *S. chamaecyparissus*, forse a causa della volatilizzazione di alcune delle sue componenti tossiche.

Conclusioni. Gli oli essenziali testati hanno mostrato una grande attività erbicida, specialmente quello di *T. capitata*, che potrebbe essere utilizzato come prodotto fitosanitario naturale per il controllo della germinazione di *E. bonariensis*.

Parole chiave. Oli essenziali, Attività erbicida, Pre-emergenza, Thymbra capitata

TRATTAMENTO (μ l/ml)	% GERMINAZIONE (Media \pm Errore St)	% GERMINAZIONE (Media \pm Errore St)
	Giorno 20	Giorno 40
Controllo Acqua	17,5 \pm 5,5 ab	20,0 \pm 6,3 ab
Controllo Fitoil	23,2 \pm 7,3 a	23,5 \pm 7,4 a
<i>T. capitata</i> 2	0 \pm 0	0 \pm 0
<i>T. capitata</i> 4	0 \pm 0	0 \pm 0
<i>T. capitata</i> 8	0 \pm 0	0 \pm 0
<i>M. x piperita</i> 2	14,8 \pm 4,7 ab	14,0 \pm 4,4 ab
<i>M. x piperita</i> 4	6,3 \pm 2,0 c	9,7 \pm 3,1 c
<i>M. x piperita</i> 8	0 \pm 0	6,3 \pm 2,0 c
<i>S. chamaecyparissus</i> 2	17,0 \pm 5,4 bc	19,9 \pm 6,0 abc
<i>S. chamaecyparissus</i> 4	0 \pm 0	9,7 \pm 3,1 c
<i>S. chamaecyparissus</i> 8	0 \pm 0	12,6 \pm 4,0 c
<i>E. camaldulensis</i> 2	14,1 \pm 4,5 bc	19,0 \pm 6,0 bc
<i>E. camaldulensis</i> 4	0 \pm 0	9,7 \pm 3,1 c
<i>E. camaldulensis</i> 8	0 \pm 0	0 \pm 0

Germinazione di semi di *C. bonariensis* trattati con oli essenziali di *T. capitata*, *M. x piperita*, *S. chamaecyparissus* ed *E. camaldulensis*.

Note. Lettere diverse nella stessa colonna indicano differenze significative al 95% livello di probabilità ($p \leq 0.05$) utilizzando il test LSD di Fisher.

RELAZIONE TRA STRATEGIE COLTURALI E QUALITÀ BIOLOGICA DEGLI OLI ESSENZIALI: IL CASO DELL'AGLIO

S. Delfine*

Dipartimento di Agricoltura, Ambiente ed Alimenti, Università degli Studi del Molise, Campobasso, Italia

* E-mail: delfine@unimol.it

Introduzione. Negli ultimi anni l'interesse per le piante officinali e per i loro derivati è in continua crescita. A questo fenomeno, stimolato dalla maggiore sensibilità dei consumatori nei confronti dei prodotti naturali, ha fatto seguito l'incremento di attività scientifiche volte a chiarire

aspetti legati alle potenzialità preventive e/o terapeutiche di queste piante. Tra i derivati, importanti sono gli oli essenziali visti come nuove possibili fonti di molecole, di origine naturale, non tossiche ed efficaci, potenzialmente utili per fronteggiare le continue emergenze infettive in campo umano e veterinario. La loro efficacia fa ben sperare sia per il contenimento delle patologie croniche, che sempre più spesso vedono la progressiva carenza di strumenti farmacologici come antimicrobici ed antitumorali, che per trovare nuove soluzioni ecosostenibili di conservazione degli alimenti.

Fino a qualche anno fa, le esigenze del mercato degli oli essenziali e delle biomasse officinali sono state soddisfatte dalla raccolta spontanea. Oggi, alla luce di recenti studi, sono usate piante officinali coltivate per far fronte al crescente aumento della richiesta di derrate con elevati standard qualitativi ed igienico sanitari. Le essenze aromatiche presenti negli oli essenziali, prodotte dal metabolismo secondario, rendono uniche le proprietà officinali di ciascuna specie. E' noto che, oltre alla genetica, anche le condizioni ambientali e le strategie colturali possono interferire sulle rese in oli essenziali. Studi recenti hanno dimostrato che modulando opportunamente le caratteristiche ambientali, e con una mirata strategia colturale, è possibile ottimizzare le produzioni delle colture sia sotto l'aspetto quantitativo che quello qualitativo.

Scopo. In Molise, da oltre un decennio, l'attività scientifica sta studiando tecniche colturali opportune con lo scopo di chemotipizzare gli oli essenziali per i diversi usi dei comparti deputati all'utilizzo delle biomasse officinali e dei loro derivati.

Risultati e Conclusioni. L'aglio è una specie molto conosciuta per il consumo fresco ma poco studiata per gli assetti relativi alla produzione dell'olio essenziale ricco in principi attivi quali l'alicina e i suoi derivati che conferiscono il classico odore a questa derrata alimentare. Nel fitocomplesso ci sono anche altre sostanze, come l'umulene, che conferiscono anche un forte potere antiossidante e battericida. Lo studio ha dimostrato che, con tecnica colturale opportuna, è possibile modificare la composizione del fitocomplesso contenendo l'odore pungente dell'aglio ed incrementando il contenuto di sostanze bioattive come l'umulene.

Parole chiave. Olio essenziale, Tecnica colturale, Aglio, Qualità biologica

COMPOSIZIONE CHIMICA DI OLI ESSENZIALI DI TAXA SPONTANEI, ENDEMICI O RARI, DEL GENERE THYMUS: VARIABILITÀ INTRA E INTERSPECIFICA IN DIVERSE ACCESSIONI DEL SUD ITALIA

C. Impelluso^{1,*}, G. Ruberto², T. Strano², A. Cristaudo¹

¹Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali, Università degli Studi di Catania, Catania, Italia; ²Istituto del CNR di Chimica Biomolecolare, Catania, Italia

* E-mail: carmen.imp@libero.it

Introduzione. Il genere *Thymus*, uno tra i più importanti della famiglia delle Lamiaceae, include circa 215 specie, di cui 110 distribuite nel bacino del Mediterraneo. In Italia sono conosciuti allo stato spontaneo 18 taxa (tra

specie e sottospecie) cinque dei quali rappresentati in Sicilia (*T. longicaulis* C. Presl subsp. *longicaulis*, *T. paronychioides* elak., *T. praecox* Opiz subsp. *parvulus* (Lojac.) Bartolucci, Peruzzi & N.G. Passal., *T. richardii* Pers. subsp. *nitidus* (Guss.) Jalas, *T. spinulosus* Ten.). Si tratta di piante perenni di piccole dimensioni, con portamento eretto, cespitoso o prostrato-stri-scian-te, capaci di colonizzare habitat edaficamente xerici (rocce affioranti, litosuoli, pendii rocciosi, pascoli montani), dalla fascia costiera a quella montana. Il genere *Thymus* costituisce un gruppo tassonomico complesso ed estremamente polimorfo, in quanto molte specie possono facilmente ibridarsi tra loro, manifestare un'elevata variabilità dei tratti morfologici e nella composizione chimica dei loro oli essenziali, in relazione a fattori ambientali e genetici. In generale, tra le numerose specie conosciute per le loro molteplici proprietà farmacologiche e terapeutiche, soltanto alcune sono tradizionalmente coltivate o raccolte allo stato spontaneo e impiegate nell'industria farmaceutica, alimentare e in profumeria, sotto forma di droghe, prodotti distillati e tinte.

Scopo. Nel presente lavoro sono state esaminate popolazioni di diverse specie spontanee di *Thymus* con la finalità di analizzarne i tratti morfologici e la composizione chimica degli oli essenziali. Lo scopo è stato quello di: a) approfondire le conoscenze su *taxa* poco indagati e fornire evidenze chimiche, a supporto delle osservazioni morfologiche, per differenziare dal punto di vista tassonomico le varie entità; b) valutare l'attività biologica degli oli essenziali di *Thymus* sulla germinazione e sull'accrescimento delle plantule in specie infestanti di interesse agrario.

Materiali e metodi. I caratteri morfologici e il profilo composizionale degli oli essenziali sono stati analizzati in 35 accessioni di 7 specie spontanee del genere *Thymus* (*T. longicaulis* subsp. *longicaulis*, *T. paronychioides*, *T. praecox* subsp. *parvulus*, *T. richardii* subsp. *nitidus*, *T. spinulosus*, *T. striatus* Vahl subsp. *acicularis* (Waldst. & Kit.) e *T. vulgaris* L. subsp. *vulgaris*) (Figura), campionate nel biennio 2016-2017 in varie località della Sicilia, Calabria, Basilicata e Liguria. Per la caratterizzazione morfologica sono stati considerati la pelosità del fusto, il colore e la densità delle ghiandole oleifere e sono state acquisite la lunghezza e larghezza di foglie, brattee, fiori e calici. Per la caratterizzazione chimica il materiale vegetale fresco di ciascuna accessione, raccolto durante il periodo balsamico (tra maggio e luglio), è stato selezionato ed essiccato a temperatura ambiente e al riparo dalla luce. Le parti vegetative e/o fiorali sono state idrodistillate per circa 3 ore con apparato Clevenger e gli oli essenziali recuperati sono stati anidrificati e conservati in fiale sigillate a -18°C. L'analisi quali-quantitativa degli oli essenziali è stata eseguita utilizzando la gas cromatografia (GC) con colonna capillare abbinata al detector a ionizzazione di fiamma (FID) e alla spettrometria di massa (MS). La bioattività degli oli essenziali è stata saggiata *in vitro*, a differenti concentrazioni (0,125; 0,25; 0,5; 1; 2 µL/mL), su semi di diverse specie target (*Amaranthus retroflexus* L., *Portulaca oleracea* s.l., *Avena fatua* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.). Per stimare l'effetto dose-risposta di ciascun olio essenziale, per ogni specie target, è stato determinato il numero di semi germinati, il grado di accrescimento delle plantule (lunghezza radichetta e ipocotile/germoglio) e sono state determinate le percentuali di inibizione della germinazione e di fitotossicità.

Risultati. Dall'idrodistillazione e dalla caratterizzazione chimica è emersa una consistente variabilità in termini composizionali e di resa in olio essenziale (0,2 - 3,4% v/p), in relazione alla specie, accessione e porzione di pianta esaminata. Complessivamente, sono stati analizzati 43 oli essenziali (estratti dalle parti vegetative e fiorali) e identificati circa 241 compo-

sti. In quasi tutti i campioni i monoterpeni idrocarburi (α -terpinene, *p*-cymene, limonene, γ -terpinene, α -pinene e myrcene) e ossigenati (timolo, carvacrolo) rappresentano i componenti preponderanti, con abbondanze relative alquanto differenti (dal 53% al 95% rispetto alla composizione complessiva), sia tra i diversi *taxa* sia tra accessioni del medesimo *taxon*. Gli oli essenziali di *T. paronychioides*, *T. richardii* subsp. *nitidus* e *T. striatus* subsp. *acicularis* si differenziano, da un punto di vista quali-quantitativo, da tutti gli altri poiché contraddistinti da una bassa concentrazione in timolo (0,02 vs 4%) e da un elevato contenuto in sesquiterpeni totali (25 vs 41%). Dai saggi biologici è emerso che gli oli essenziali allo studio inibiscono, a vari livelli, la germinazione dei semi e il successivo accrescimento delle plantule. In particolare, la bioattività riscontrata è legata alla composizione chimica degli oli essenziali, alla dose applicata e alla specie target. La più alta fitotossicità è stata espressa dagli oli di *T. vulgaris* subsp. *vulgaris*, *T. praecox* subsp. *parvulus* e *T. longicaulis* subsp. *longicaulis*, caratterizzati da una prevalenza di monoterpeni fenolici (carvacrolo e/o timolo). Di contro, un più blando effetto è stato manifestato dall'olio essenziale di *T. paronychioides*, contraddistinto da un basso contenuto in composti ossigenati (monoterpeni e sesquiterpeni) rispetto agli idrocarburi.

Conclusioni. Lo studio ha evidenziato un'apprezzabile variabilità intra- e inter-specifica a livello morfologico e nella composizione chimica degli oli essenziali. I risultati raggiunti hanno permesso di consolidare e ampliare, almeno per le entità distribuite in Sicilia, le relative conoscenze tassonomiche. Complessivamente, i 7 *taxa* di *Thymus* per il peculiare profilo chimico e l'elevata fitotossicità espressa, rappresentano una potenziale risorsa per l'estrazione di oli essenziali e di composti bioattivi. Pertanto, si stanno valutando altri genotipi spontanei ed è stata intrapresa la loro coltivazione in vaso per disporre di adeguate quantità di materiale vegetale e dei corrispettivi oli per saggi su un più ampia gamma di piante infestanti. Ulteriori linee di ricerca saranno sviluppate per esplorare e valutare altre proprietà biologiche (es. antiossidanti, citotossiche, antivirali, antimicrobiche) e i possibili ambiti di impiego di questi oli essenziali.

Parole chiave. *Thymus*, *Lamiaceae*, *Composizione oli essenziali*, *Fitotossicità*



“DE GUSTIBUS NON DISPUTANDUM EST”: L'ANALISI SENSORIALE NELLA SELEZIONE DI OLI ESSENZIALI CONTRO LA ZANZARA TIGRE ASIATICA *Aedes albopictus* (DIPTERA CULICIDAE)

B.Conti^{1,*}, S.Bedini¹, G.Flamini², R.Ascrizzi², F.Venturi¹

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro ambientali, Università di Pisa, Pisa, Italia; ²Dipartimento di Farmacia, Università di Pisa, Pisa, Italia

* E-mail: barbara.conti@unipi.it

Introduzione. I repellenti sono il principale strumento di prevenzione delle malattie trasmesse dalle zanzare che rappresentano una minaccia per milioni di persone in tutto il mondo. Gli oli essenziali sono promettenti alternative ai repellenti sintetici dato che hanno bassa tossicità nei confronti dei vertebrati e sono eco-compatibili. Tuttavia, benché gli studi che evidenziano le ottime proprietà anti-zanzara di molti oli essenziali siano numerosi, pochissime sono le indicazioni circa la loro accettabilità da parte dell'uomo quando usati come ingredienti di formulati repellenti ad uso topico o come spray ambientali.

Scopo. In questo lavoro abbiamo verificato la bioattività di alcuni oli essenziali nei confronti della zanzara tigre asiatica (*Aedes albopictus* Skuse; Diptera Culicidae) e confrontato tale bioattività con la loro “gradevolezza” per il sistema sensoriale umano.

Materiali e metodi. A questo scopo, gli oli essenziali (OE) di *Artemisia verlotiorum* Lamotte (Asteraceae), *Lavandula dentata* L. (Lamiaceae) e *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae) sono stati analizzati chimicamente mediante GC-MS e testati nei confronti di *Ae. albopictus* per determinare la loro attività repellente nei confronti degli adulti, la deterrenza all'ovideposizione e l'efficacia larvicida. Inoltre, al fine di selezionare l'OE non solo più efficace ma anche più gradevole come ingrediente nella formulazione di repellenti topici abbiamo eseguito uno screening olfattivo mediante un panel di esperti.

Risultati. Tutti gli OE testati hanno mostrato una significativa attività repellente contro femmine di *Ae. albopictus*, hanno inibito l'ovideposizione in prove di pieno campo e hanno esercitato una chiara attività larvicida. I risultati ottenuti dall'analisi sensoriale hanno indicato che il miglior profilo odoroso è stato quello associato all'OE di *A. verlotiorum*, mentre quello di *R. chalepensis* ha mostrato la più bassa piacevolezza.

Conclusioni. I test effettuati hanno indicato quindi l'OE di *A. verlotiorum* come il più gradito dal sistema sensoriale umano e il più sgradito da quello della zanzara tigre asiatica assicurando la completa protezione della pelle trattata contro le punture di *Ae. albopictus* per un tempo più lungo di circa il 60% rispetto al repellente sintetico DEET.

Parole chiave. *Lavandula dentata*, *Artemisia verlotiorum*, *Ruta chalepensis*, *Repellenza*

GLI OLI ESSENZIALI CONTRO LA MOSCA CARNARIA *LUCILIA SERICATA* AGENTE DI MIASI CUTANEA

S.Bedini^{1,*}, G.Flamini², R.Ascrizzi², M.C.Echeverria³, E.V.Gomez³, L. Guidi¹, M. Landi¹, A.Lucchi¹, B.Conti¹

¹ Dipartimento di Scienze agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa, Pisa Italia; ² Dipartimento di Farmacia, Università di Pisa, Pisa, Italia; ³ Universidad Tecnica del Norte, Ibarra, Ecuador

* E-mail: stefano.bedini@unipi.it

Introduzione. A livello mondiale, le miasi sono un grave problema sia medico che veterinario. Negli ospedali, le miasi provocano seri problemi ai pazienti allettati mentre, negli allevamenti ovin, provocano ingenti danni colpendo milioni di pecore ogni anno con riscontri economici che sono stati stimati in circa 280 milioni di \$ nella sola Australia. Nella miasi, le femmine gravide di mosche carnarie, attratte da stimoli olfattivi, depongono le uova in prossimità di ferite aperte o di orifici di mammiferi. Le larve penetrano nella cute lesionata, invadendo i tessuti dell'ospite nutrendosene e determinando lo stato patologico definito miasi.

Scopo. In questo lavoro la bioattività degli oli essenziali (OE) di *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze e di *Lavandula angustifolia* Mill è stata valutata contro la mosca carnaria *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae), agente di miasi cutanee.

Materiali e metodi. Gli OE sono stati chimicamente analizzati e testati in laboratorio per l'attività ovideterrente e per la tossicità verso gli adulti e le uova di *Lucilia sericata*. Il possibile meccanismo di azione è stato valutato mediante test di inibizione dell'acetilcolinesterasi (AChE) ed, infine, gli OE sono stati saggiati per le proprietà antibatteriche e antimicotiche.

Risultati. I risultati hanno indicato che alla dose di 0,8 $\mu\text{L cm}^{-2}$, entrambi gli OE sono in grado di inibire completamente l'ovideposizione di *L. sericata* fino a 3 ore e, dopo 24 ore, dell'82,7% e del 89,5% per *L. angustifolia* e per *C. nubigenum*, rispettivamente. I due OE sono risultati anche tossici per contatto/fumigazione sia per le uova che per gli adulti mostrando valori di CL_{50} embrionale di 0,07 e 0,48 $\mu\text{L cm}^{-2}$ mentre, per gli adulti, i valori di DL_{50} erano 0,278 e 0,393 μL per individuo per *C. nubigenum* e *L. angustifolia*, rispettivamente. L'inibizione dell'AChE in *L. sericata* ($\text{IC}_{50} = 67,450$ e $79,495 \text{ mg L}^{-1}$ per *C. nubigenum* e *L. angustifolia*, rispettivamente) indica un meccanismo di azione neurotossico indiretto.

Conclusioni. L'utilizzo degli OE di *C. nubigenum* e *L. angustifolia* come trattamento preventivo contro l'agente di miasi *L. sericata* potrebbe ampliare lo spettro molto ristretto di alternative ecologiche e rispettose del benessere degli animali ai fitofarmaci sintetici e alle cruentose procedure chirurgiche (mulesing) attualmente praticate per il controllo delle miasi. Infine, le proprietà antibatteriche e antimicotiche osservate per gli OE di *C. nubigenum* e *L. angustifolia* suggeriscono che un trattamento topico potrebbe contribuire alla prevenzione di infezioni secondarie.

Parole chiave: *Repellenza*, *Clinopodium nubigenum*, *Lavandula angustifolia*, *Miasi ovine*

IDROLATI DI *MONARDA FISTULOSA* COME ANTIMICROBICI NATURALI IN SUBSTRATI PER L'ALLEVAMENTO DI INSETTI UTILI

M.L.Dindo*

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Bologna, Italia

* E-mail: marialuisa.dindo@unibo.it

Introduzione. La riduzione dell'uso di prodotti di sintesi per la protezione delle colture da insetti dannosi può essere ottenuta anche attraverso la lotta biologica, basata sull'impiego di insetti utili, predatori o parassitoidi delle specie bersaglio, i quali, allo scopo, devono essere prodotti in gran numero. Il dittero *Exorista larvarum* è un parassitoide di larve di lepidotteri, molti dei quali di interesse agrario o forestale. Nel corso degli anni, è stata messa a punto una tecnica di allevamento *in vitro* per *E. larvarum*, che prevede la quasi totale esclusione dell'insetto ospite dalla filiera produttiva, con conseguente snellimento della procedura. Il parassitoide viene infatti allevato su un substrato "artificiale", composto da materiali grezzi, con buone rese in adulti fertili. Secondo il metodo standard, il substrato viene addizionato con una soluzione di gentamicina, per evitarne la contaminazione da parte di microrganismi. Il rischio di insorgenza di microrganismi resistenti, in seguito all'uso prolungato di questo antibiotico ad ampio spettro, giustifica la ricerca di agenti antimicrobici più naturali.

Scopo. Scopo del lavoro, condotto in collaborazione con colleghi del Dipartimento, è stato quello di valutare se, nei substrati artificiali per *E. larvarum*, la gentamicina potesse essere efficacemente sostituita con idrolato di bergamotto selvatico (*Monarda fistulosa*) selezionato a causa della sua elevata attività contro microrganismi patogeni per l'uomo e le piante.

Materiali e metodi. Sono stati condotti due studi (I e II). In entrambi, sono state utilizzate piastre in plastica a 24 pozzetti, contenenti, ciascuno, un uovo di *E. larvarum* posto su un batuffolo di cotone imbevuto di substrato liquido (Figura). L'idrolato è stato aggiunto al substrato artificiale (I) o somministrato in aerosol, ponendolo in un pozzetto della piastra, poi sigillata (II). In entrambi gli studi, un substrato standard con gentamicina e un substrato privo di antimicrobici sono stati mantenuti, rispettivamente, come controllo positivo e negativo. Lo sviluppo dei parassitoidi è stato seguito fino alla formazione degli adulti, verificando poi, per le femmine, la capacità di deporre uova.

Risultati. Nello studio (I), in cui l'idrolato è stato incorporato al substrato, lo sviluppo di *E. larvarum* e la fecondità delle femmine sono state in tutto paragonabili a quelli osservati nel substrato standard. Nello studio (II), invece, l'idrolato nella forma dell'aerosol ha significativamente ridotto la schiusa delle uova di *E. larvarum*, la formazione di pupari e la fecondità delle femmine rispetto al substrato standard. In entrambi gli studi, lo sviluppo del parassitoide è stato assai limitato nei substrati privi di antimicrobici.

Conclusioni. I risultati suggeriscono che i substrati artificiali addizionati con idrolato di *M. fistulosa* possono essere competitivi con quelli contenenti gentamicina per l'allevamento *in vitro* di *E. larvarum*. La somministrazione di idrolato in forma di aerosol si è, invece, dimostrata inadatta.

Parole chiave. Exorista larvarum, Allevamento, Antimicrobici, Monarda fistulosa



OLI ESSENZIALI: NUOVI AGENTI PER CONTRASTARE LA SALMONELLOSI

M.Cacaci^{1,2,*}, M.Di Vito^{1,2,3}, M.Scozzoli⁴, C.Martini^{1,2}, V.Palmieri⁵, M.Modesto³, M. Sanguinetti^{1,2}, F.Bugli^{1,2} & P.Mattarelli³

¹Dipartimento di Scienze di Laboratorio e Infettivologiche, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Roma, Italia; ²Istituto di Microbiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia; ³Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari (DISTAL), Università di Bologna, Bologna, Italia; ⁴APA-CT, Forlì, Italia; ⁵Istituto di Fisica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia

* E-mail: margherita.c86@gmail.com

Introduzione. Il fenomeno dell'antibiotico-resistenza è in continuo aumento mentre i trattamenti farmacologici efficaci nell'ambito delle infezioni umane e zoonotiche sono in diminuzione. Per quanto riguarda gli animali, la salmonellosi è la seconda zoonosi più diffusa in Europa e studi recenti hanno individuato nei ceppi di *Salmonella* spp. una multi-resistenza ai più comuni antibiotici. Gli oli essenziali (OE) potrebbero svolgere un ruolo importante nel contrastare il fenomeno dell'antibiotico-resistenza grazie alle loro proprietà antimicrobiche.

Scopo. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di studiare l'attività antimicrobica degli OE di *Lavandula hybrida*, *Origanum vulgare*, *Cinnamomum zeylanicum* e del prodotto commerciale GR-OLI (25% del totale caratterizzato da: *Eucalyptus globulus*, *Satureja montana*, *Citrus aurantium*, *C. lemon*, *Thymus vulgaris*, *Melaleuca alternifolia*, *M. cajeputi*, *Lavandula intermedia*, *Coridothymus capitatus*), verso ceppi di *Salmonella* spp. di origine suina.

Materiali e metodi. 29 ceppi di *Salmonella* fra cui 17 di *S. typhimurium* (3 sensibili, 7 resistenti e 7 multi-resistenti agli antibiotici) e 12 di *S. infantis* (1 resistente e 11 multi-resistenti agli antibiotici) sono stati testati per la sensibilità agli OE e a GR-OLI, mediante il metodo delle micro-brodo diluizioni eseguito secondo le linee guida internazionali EUCAST. È stata valutata l'azione di concentrazioni scalari comprese tra 16% v/v e 0.06% v/v per gli OE e il GR-OLI. I test sono stati valutati individuando i valori di Minima Concentrazione Inibente (MIC) e Minima Concentrazione Letale (MLC) anch'essi definiti secondo linee guida. Inoltre, su 8 ceppi selezionati, è stato studiato *in vitro* l'effetto di concentrazioni sub-MIC: 1) sulla crescita durante un periodo di incubazione di 24 ore; 2) sul biofilm formato; 3) sull'effetto inibente l'adesione su un modello di cellule intestinali (CaCo-2) dopo 4 ore di incubazione.

Risultati. I risultati ottenuti, hanno mostrato una diversa attività antimicrobica dei prodotti saggiati. I dati ottenuti mostrano come l'OE di *C. zeylanicum* ($MIC_{90} \leq 0,06\%$ v/v), *O. vulgare* ($MIC_{90} = 2\%$ v/v) e GR-OLI ($MIC_{90} = 16\%$ v/v contenuto in OE pari al 4%) siano maggiormente efficaci rispetto all'OE di *L. hybrida* ($MIC_{90} \geq 8\%$ v/v). Le curve di crescita hanno mostrato la capacità delle sub-MIC dell'OE di *O. vulgare* e GR-OLI di inibire la crescita di tutti i ceppi testati. Sia l'OE di *O. vulgare* che GR-OLI mostrano capacità disgregante il biofilm formato quando utilizzati alla concentrazione di OE pari a 0.125% v/v. Inoltre, il GR-OLI, alle stesse concentrazioni, risulta essere attivo anche nell'inibire l'adesione di *S. typhimurium* al monostrato di cellule intestinali.

Conclusioni. Pur necessitando di ulteriori indagini, i nostri dati indicano come l'utilizzo di dosi sub-MIC di GR-OLI potrebbe essere usato per contrastare la carica microbica di *Salmonella* spp. potenzialmente patogena presente negli allevamenti intensivi.

Parole chiave. Oli essenziali, *S. typhimurium*, *S. infantis*

VALUTAZIONE DI TOSSICITÀ *IN VITRO* SU MUCOSA UTERINA SUINA DI OLI ESSENZIALI POTENZIALMENTE UTILIZZABILI NELLE DOSI INSEMINANTI

M.Bertocchi*, A.Elmi, D.Ventrella, A.Rigillo, G.Bettini, M.L.Bacci

Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, Ozzano Emilia, Italia

* E-mail: martina.bertocchi3@unibo.it

Introduzione. Oltre il 90% delle aziende suinicole ricorre all'inseminazione artificiale. Il materiale seminale suino viene conservato a 15-17°C al massimo per 5 giorni. Per controllare la crescita dei batteri, fisiologicamente presenti nell'eiaculato, la normativa (Direttiva 90/429/CEE) prevede l'aggiunta di antibiotici nelle dosi inseminanti. Tuttavia, l'antibiotico resistenza rappresenta una delle più importanti priorità di sanità pubblica a livello mondiale. Quindi, risulta di fondamentale importanza ridurre l'impiego di antibiotici, soprattutto nel settore zootecnico. A tal proposito, gli oli essenziali si sono dimostrati essere un'ottima alternativa all'utilizzo di antibiotici per il controllo della crescita batterica nelle dosi inseminanti *in vitro*. Tuttavia, prima di poter procedere all'impiego *in vivo*, è necessario valutare la tossicità degli oli essenziali sull'apparato genitale femminile di suino *in vitro*.

Scopo. Messa a punto di un modello *in vitro* di mucosa uterina suina per la valutazione della tossicità e dell'irritazione di oli essenziali potenzialmente utilizzabili nelle dosi inseminanti.

Materiali e metodi. Apparati genitali di scrofe sono stati prelevati al macello e portati in laboratorio entro 1h. È stato isolato il corno uterino sinistro, aperto longitudinalmente e lavato in soluzione fisiologica. Frammenti di 2x2 cm sono stati tagliati e disposti in piastre Petri. Diverse concentrazioni di oli essenziali di *Melaleuca alternifolia* e *Rosmarinus officinalis*, precedentemente analizzati in gas-cromatografia, sono state testate (da 500 mg/mL a 0,2 mg/mL). Dopo 1h di incubazione a 38,5 °C a 5% CO₂, i frammenti sono stati fissati in formalina al 4% e processati per le analisi istologiche.

Risultati. Gli oli essenziali di *M. alternifolia* e *R. officinalis* hanno dimostrato un effetto dose-dipendente. In particolare, dalle analisi istologiche, le concentrazioni più alte di entrambi gli oli (500 mg/mL), hanno causato un evidente danno a livello della mucosa uterina. Al contrario, non sono stati rilevate significative alterazioni strutturali alle concentrazioni più basse (0,4 e 0,2 mg/mL).

Conclusioni. Il modello di mucosa uterina suina si è dimostrato essere un valido strumento per la valutazione della tossicità di oli essenziali *in vitro*. Inoltre, dall'analisi dei risultati è emerso che le concentrazioni che non causano alterazioni significative nella struttura della mucosa uterina (0,4 e 0,2 mg/mL), sono le stesse che non hanno evidenziato effetti citotossici sugli spermatozoi e hanno dimostrato avere un'azione antibatterica *in vitro*. Questi risultati, seppur preliminari, suggeriscono un possibile impiego degli oli essenziali di *M. alternifolia* e *R. officinalis* per il controllo della crescita batterica nelle dosi inseminanti e pongono le basi per procedere all'utilizzo *in vivo*.

Parole chiave. Mucosa uterina suina, Modelli *in vitro*, Oli essenziali, Antibiotico-resistenza

ANALISI COMPARATIVA DI TOSSICITÀ DI DIVERSI OLI ESSENZIALI SU SPERMATOZOI SUINI

A.Elmi*, M.Bertocchi, D.Ventrella, M.L.Bacci

¹Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, Bologna, Italia

* E-mail: alberto.elmi2@unibo.it

Introduzione. Lo spermatozoo suino rappresenta un buon modello *in vitro* di tossicità, grazie alle sue caratteristiche peculiari (es. motilità) e alla semplicità di gestione per quanto concerne prelievo, manipolazione e valutazione. Negli ultimi decenni lo studio e l'utilizzo di oli essenziali a fini medici hanno avuto una crescita esponenziale grazie alle caratteristiche estremamente interessanti di questi composti (antibatteriche, antivirali, antiossidanti, ecc.), con potenzialità in numerosi campi sia di Medicina Umana che Veterinaria. Ciononostante, è importante accennare anche agli effetti estremamente citotossici di queste sostanze, dovuti a fenomeni in parte ancora non noti.

Scopo. Identificare effetti tossici di oli essenziali su spermatozoi suini al fine di: 1) garantire sicurezza applicativa in ambito di ripro-

duzione; 2) studiare e comprendere i meccanismi di tossicità degli oli stessi.

Materiali e metodi. Diversi oli essenziali tra cui *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymbra capitata*, *Eucaliptus globulus*, sono stati tipizzati in Gas-cromatografia. In seguito a prelievo manuale del materiale seminale suino sono stati preparati i campioni sperimentali con 15×10^7 spermatozoi sospesi in 5 mL di Medium specifico (Swine Fertilization Medium). Diverse concentrazioni di olio essenziale sono state testate (tra 2 e 0.1 mg/mL). Dopo incubazione per 3h a $16 \pm 1^\circ\text{C}$, si è valutata la vitalità spermatica (colorazione eosina-nigrosina), lo stato delle membrane acrosomiali (colorazione di Comassie) e la motilità oggettiva (analisi con CASA).

Risultati. Dall'analisi comparata degli effetti degli oli essenziali sui principali parametri morfo-funzionali si è evidenziato come la motilità totale sia il parametro più sensibile, la cui alterazione è visibile già a concentrazioni di 0,2 mg/mL. Questo permette di valutare come tali sostanze compromettano oltre che l'integrità membranaria (vitalità e stato degli acrosomi) anche la funzionalità mitocondriale. La tossicità è risultata essere più accentuata in oli, come quello di *T. capitata*, ricchi di fenoli tra cui carvacrolo e timolo. In generale, effetti concentrazione dipendenti sono stati evidenziati per tutti gli oli essenziali.

Conclusioni. Lo studio ha messo in evidenza come tali sostanze possano essere tossiche per gli spermatozoi suini in modo concentrazione dipendente. Tale tossicità dipende dalla composizione e questo avvalorava la necessità di una chemio-caratterizzazione sistematica di tali sostanze. La tossicità si esplica con effetti di alterazione sia morfologici che funzionali, ipotizzando un coinvolgimento mitocondriale. Lo studio pone le basi per possibili applicazioni di queste sostanze in riproduzione suina, con possibile traslabilità in altre specie, compreso l'uomo.

Parole chiave. Spermatozoo suino, Tossicità, Oli essenziali, Modelli in vitro

ATTIVITÀ ANTIMICROBICA DI OLI ESSENZIALI DI CANNABIS SATIVA L. NEI CONFRONTI DI CEPPI BATTERICI DI ORIGINE ALIMENTARE

R.Iseppi^{1,*}, V.Brighenti¹, M.Licata², A.Lambertini¹, C.Sabia¹, P.Messi¹, F.Pellati¹, S.Benvenuti¹

¹Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia;

²Dipartimento di Scienze Biomediche, Metaboliche e Neuroscienze, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia

* E-mail: ramona.iseppi@unimore.it

Introduzione. Negli ultimi anni l'interesse per *Cannabis sativa* L. è cresciuto notevolmente, in particolar modo gli studi scientifici relativi a questa varietà, si concentrano su l'ampio profilo farmacologico dei suoi cannabinoidi non psicoattivi, appartenenti alla classe dei terpenofenoli. Oltre ai cannabinoidi, più di 120 terpeni sono

stati identificati nell'olio essenziale di *C. sativa* L., con α -pinene, β -mircene e terpinolene che rappresentano i composti più abbondanti tra i monoterpeni e β -cariofillene, α -umulene e cariofillene ossido i principali tra i sesquiterpeni. Recentemente l'interesse per l'olio essenziale (OE) di canapa si è concentrato oltre che sulla sua caratterizzazione anche sulla valutazione delle sue attività biologiche, principalmente per le caratteristiche antimicrobiche e insetticide.

Scopo. Alla luce delle caratteristiche biologiche dell'OE di *C. sativa* L., 17 OE di canapa appartenenti a diverse varietà sono stati caratterizzati sotto il profilo fitochimico ed unitamente è stata valutata la loro attività antibatterica nei confronti di alcuni microrganismi patogeni e deterioranti isolati da alimenti e da ambienti di lavorazione e trasformazione alimentare.

Materiali e metodi. Il profilo qualitativo e semi-quantitativo dei 17 OE di canapa è stato determinato mediante gascromatografia (GC-FID) e gascromatografia-spettrometria di massa (GC-MS). Inoltre, un metodo di GC-MS è stato sviluppato e applicato per la prima volta per quantificare la quantità di cannabidiolo (CBD) al fine di definire il suo ruolo in relazione all'attività antibatterica osservata. L'attività antimicrobica è stata determinata sia mediante che valutando la Minima Concentrazione Inibente (MIC) nei confronti di batteri Gram positivi, mediante il metodo della micro-diluzione in brodo. La MIC è stata valutata per tutti i 17 OE, per i principali composti terpenici ritrovati negli stessi e per il CBD, confrontandola con quella di due antibiotici (Ampicillina e Ciprofloxacina).

Risultati. Il profilo qualitativo e semi-quantitativo dei 17 OE provenienti da diverse varietà di canapa, è stato determinato mediante l'analisi GC-MS e GC-FID. In totale, 71 composti sono stati identificati, dai cromatogrammi GC dei campioni analizzati, appartenenti a monoterpeni, sesquiterpeni e cannabinoidi. Anche la quantità di CBD presente negli OE di canapa è stata determinata utilizzando il GC-MS. Utilizzando il metodo dell'*Agar Well Disk Diffusion*, è stato possibile verificare preliminarmente l'attività antibatterica degli OE sulla maggior parte dei ceppi esaminati. I valori di MIC più bassi sono stati ottenuti da sei OE di canapa nei confronti di batteri Gram positivi, in particolar modo nei confronti di *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus* spp. È stata determinata anche la MIC dei principali composti terpenici trovati negli OE analizzati e del CBD contro gli stessi batteri, confrontandola a quella degli antibiotici.

Conclusioni. Nel complesso, i risultati ottenuti in questo studio dimostrano che l'olio essenziale di *C. sativa* L. rappresenta un prodotto promettente contro batteri Gram positivi, mentre si è rivelato inefficace nei confronti di batteri Gram negativi. Le relazioni di composizione chimica-bioattività non hanno mostrato una chiara correlazione tra la quantità relativa dei composti più rappresentativi negli OE e la loro bioattività, portando così alla possibile conclusione che l'attività antibatterica mostrata sia probabilmente dovuta ad interazioni di sinergismo tra i diversi composti. In conclusione, i risultati di questo studio suggeriscono un potenziale uso dell'OE di canapa contro batteri isolati da alimenti e in ambienti di lavorazione e trasformazione alimentare.

Parole chiave. Cannabis sativa L., Oli essenziali, Attività antibatterica, Ceppi batterici isolati da alimenti

EFFETTO DELL'OLIO ESSENZIALE DI CINNAMOMUM ZEYLANICUM SULL'ADESIONE DI SALMONELLA ENTERICA SU LATTUGA

C.Rossi^{1,*}, C.Chaves López¹, F.Maggio¹, S.Smole Možina², C.Di Mattia¹, S.Scuota³, I. Luzzi⁴, T.Jeni², A.Paparella¹, A.Serio¹

¹Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali, Teramo, Italia; ²Università di Lubiana, Facoltà di Biotecnologie, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari, Lubiana, Slovenia; ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia, Italia; ⁴Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Roma, Italia

* E-mail: crossi@unite.it

Introduzione. Negli ultimi anni il consumo di frutta e verdura è aumentato significativamente nonostante il rilevante numero di focolai di salmonellosi associati a questi prodotti. Infatti è ampiamente riportata la presenza di *Salmonella enterica* su vegetali a foglia verde, dove grazie alla sua capacità di aderire è in grado di persistere. Poiché tali alimenti vengono solitamente consumati crudi, si pone elevata attenzione verso tutti quei passaggi che aiutano a controllare e prevenire la presenza di microrganismi patogeni, come il lavaggio con soluzioni sanitizzanti.

Scopo. In considerazione della bassa sensibilità dei microrganismi alle concentrazioni di cloro impiegate nell'industria alimentare e della crescente domanda da parte dei consumatori verso prodotti naturali, lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare la potenziale applicazione degli oli essenziali (OE) nel ridurre l'adesione di *S. enterica* sulla lattuga.

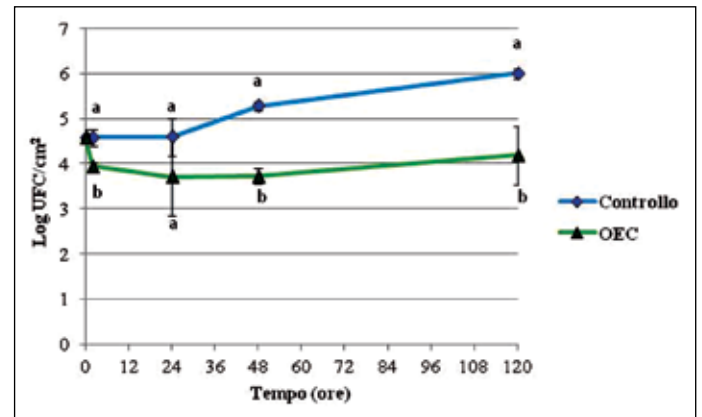
Materiali e metodi. Al fine di selezionare un OE, mediante la tecnica delle microdiluzioni è stata saggiata l'attività antimicrobica di 8 OE nei confronti di 5 ceppi di *S. enterica* (serovars Derby, Thompson, Napoli, Kasenyi e Veneziana). Inoltre, la capacità di un cocktail di ceppi di aderire su diverse superfici (acciaio inossidabile, polipropilene e lattuga), è stata determinata dopo 1, 2 e 3 h di contatto. Successivamente quindi, è stato valutato il potenziale effetto dell'OE selezionato nel ridurre l'adesione e la persistenza di *Salmonella* sulla lattuga nel tempo (fino a 120 h a 8°C), considerando anche l'influenza sulle caratteristiche qualitative del vegetale mediante analisi del colore e dell'attività della polifenolossidasi.

Risultati. L'olio essenziale di *Cinnamomum zeylanicum* (OEC) si è dimostrato il più efficace tra quelli saggiati (MIC 1,25-1,87 µL), mentre si è evidenziata la capacità di *S. enterica* di aderire unicamente sulla lattuga (4,59 ± 0,34 Log UFC/cm²). A seguito dell'applicazione di 5 µL/mL di OEC è stata osservata un'immediata riduzione delle cellule debolmente e fortemente adese (0,78 e 0,63 Log CFU/cm², rispettivamente), con un effetto più marcato dopo 48 e 120 h (Figura). L'OEC ha inoltre inibito l'attività imbrunente dell'enzima polifenolossidasi, preservando così il colore della lattuga nel tempo.

Conclusioni. Nel presente studio è stato dimostrato che basse concentrazioni di OEC riducono l'adesione di *Salmonella* sulla lattuga, preservando anche gli attributi qualitativi di tale prodotto. L'OEC potrebbe quindi essere suggerito come trattamento di lavaggio volto a migliorare la sicurezza e l'aspetto della lattuga durante la conservazione refrige-

rata, tuttavia si rendono necessari ulteriori approfondimenti in merito.

Parole chiave. *Salmonella enterica*, Olio essenziale, Adesione, Lattuga



Adesione di Salmonella enterica sulla lattuga (120 h, 8°C) nei campioni non trattati (controllo) e trattati con 5 µL/mL di olio essenziale di Cinnamomum zeylanicum (OEC). Diverse lettere indicano differenze statisticamente significative (*P<0,05) tra il controllo e i campioni trattati.

OLI ESSENZIALI A SOSTEGNO DELLA FILIERA CARNE

C.Tramuta^{1,*}, D.M.Bianchi¹, S.Gallina¹, G.Golfieri¹, S.Falsetti¹, L.Zaquini², E.Cerutti², L.Decastelli¹

¹S.C. Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italia;

²Terre dei Savoia, Muses dell'Accademia Europea delle Essenze di Savigliano, Cuneo, Italia

* E-mail: clara.tramuta@izsto.it

Introduzione. Il marcato interesse dei consumatori verso prodotti alimentari privi di conservanti incentiva la ricerca di metodi naturali per migliorare la stabilità e la sicurezza degli alimenti. Le piante sono una fonte di molecole bioattive e sono usate sia a livello tradizionale che industriale, per aumentare la durabilità e la sicurezza dei prodotti alimentari. Diversi studi già evidenziano le proprietà antibatteriche di alcuni oli essenziali.

Scopo. Lo scopo di questo progetto è stato quello di valutare l'efficacia antibatterica di oli essenziali derivanti da piante aromatiche od officinali coltivate sul territorio della Regione Piemonte, al fine di sostituire o ridurre l'utilizzo di conservanti e di sale nei prodotti a base di carne.

Materiali e metodi. L'estrazione degli oli essenziali è stata effettuata mediante distillazione in corrente di vapore a partire dagli steli, foglie o semi delle piante di assenzio (*Artemisia absinthium* L.), finocchio (*Foeniculum vulgare* Mill.), maggiorana (*Origanum majorana* L.), menta piperita (*Mentha piperita* L.), rosmarino (*Rosmarinus officinalis* L.), salvia (*Salvia officinalis* L.) e timo (*Thymus vulgaris* L.). La valutazione dell'attività antibatterica è stata effettuata mediante prove *in vitro*, mediante metodo di diffusione in agar e microdiluzione in brodo (determinazione della MIC e MBC) ed *in vivo* su campioni di carne macinata.

Risultati. I risultati ottenuti col metodo di diffusione in agar evidenzia-

no in generale una maggiore attività antibatterica dei 7 oli essenziali analizzati verso *Staphylococcus aureus* rispetto ad *Escherichia coli*, carattere riconducibile alle differenze inerenti la struttura della parete cellulare. Inoltre, timo e maggiorana, hanno mostrato una maggiore azione antibatterica rispetto gli altri oli, efficacia probabilmente da correlare all'elevato contenuto di componenti fenolici presenti in queste due tipologie di erbe. I risultati del metodo di diffusione in agar evidenziano che le componenti volatili degli oli di timo, maggiorana, menta, assenzio e salvia, formano un alone di inibizione sulle piastre incubate con *S. aureus* corrispondente alle dimensioni ottenute con il metodo a contatto; questi valori sono quindi indicativi di un'eccellente azione antibatterica verso batteri Gram-positivi a conferma di dati riportati precedentemente dalla letteratura. Anche con il metodo in microdiluzione in brodo si osserva una maggiore efficacia degli oli di timo e maggiorana rispetto gli altri oli analizzati in questo studio (Tabella). I risultati dell'attività antibatterica su matrice alimentare evidenziano una riduzione della carica batterica di quasi 1 logaritmo nelle 24 ore a basse concentrazioni (2%) di olio di timo e maggiorana.

Conclusioni. Attraverso la valutazione combinata degli esperimenti effettuati *in vitro* e *in vivo*, il progetto si è proposto di gettare le basi per un possibile impiego di alcuni oli essenziali, quali timo e maggiorana, con attività antagonista nei confronti di *E. coli* e *S. aureus* durante la produzione di prodotti a base di carne. Tale approccio potrebbe ridurre il rischio microbiologico e migliorare la qualità dei prodotti, limitando l'impiego di additivi e di sale nelle produzioni carnee a vantaggio della salute del consumatore.

Parole chiave. Oli essenziali, Timo, Majorana, Attività antibatterica

Olio essenziale	MIC (% v/v olio essenziale)		MBC (% v/v olio essenziale)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Assenzio	0,78	1,56	0,78	1,56
Menta piperita	0,097	0,78	0,097	1,56
Salvia	0,195	0,39	0,39	0,39
Finocchio	12,5	25	50	50
Maggiorana	0,097	0,195	0,097	0,39
Rosmarino	0,39	1,56	1,56	1,56
Timo	0,048	0,048	0,048	0,097

Attività antibatterica degli oli essenziali verso *Staphylococcus aureus* (ATCC 33862) ed *Escherichia coli* (ATCC 25922).

CARATTERIZZAZIONE CHIMICA QUALI-QUANTITATIVA DELLA FASE VAPORE DEGLI OLI ESSENZIALI

S.Garzoli^{1,*}, A.Oliva², R.Ragno¹

¹Dipartimento di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Sapienza, Università di Roma, Roma, Italia; ²Dipartimento di Salute Pubblica e Malattie Infettive, Sapienza, Università di Roma, Roma, Italia

* E-mail: stefania.garzoli@uniroma1.it

Introduzione. Gli oli essenziali sono prodotti naturali estratti da

piante che generalmente presentano una composizione chimica piuttosto complessa. Si tratta di miscele ricche di composti volatili e termolabili come monoterpeni, sesquiterpeni e loro derivati ossigenati. La gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC/MS) è ampiamente utilizzata come tecnica analitica di separazione per l'identificazione e la quantificazione dei costituenti volatili della miscela chimica. La tecnica dello spazio di testa (HS) accoppiata al sistema cromatografico viene applicata come metodo di estrazione della fase vapore. Il campione, posto in una fiala chiusa viene riscaldato ad una temperatura tale da favorire il passaggio dei composti nella fase vapore. Tramite l'utilizzo di un gas inerte (He), avviene l'estrazione di tali componenti che verranno convogliati al gas cromatografo mediante l'utilizzo di una *transfer-line*. Si tratta di una tecnica estrattiva facilmente applicabile e particolarmente efficace soprattutto quando i composti volatili devono essere separati da una matrice liquida prima dell'analisi gas cromatografica evitando così una serie di problematiche legate all'uso dei solventi di estrazione.

Scopo. L'iniezione in fase liquida così come quella dello spazio di testa hanno mostrato una elevata applicabilità per la valutazione della composizione chimica degli oli essenziali ma l'uso dello spazio di testa dinamico come tecnica di campionamento, rappresenta senza dubbio un metodo più rapido ed affidabile. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di studiare le differenze nel profilo aromatico degli oli analizzati messe in luce con l'utilizzo di questa tecnica di estrazione.

Materiali e metodi. La tecnica di campionamento ed analisi HS-GC/MS è stata applicata allo studio della composizione volatile di 15 oli essenziali commerciali selezionati tra un più elevato numero di campioni sulla base di una valutazione microbiologica condotta proprio sulla fase vapore. Tutti i campioni sono stati iniettati direttamente come fase liquida nell'iniettore del gas cromatografo ottenendo un primo cromatogramma con un profilo chimico caratteristico. In un secondo momento, una piccola aliquota del campione è stata sottoposta alla estrazione della fase vapore mediante un autocampionatore dello spazio di testa ed inviata poi alla colonna capillare del GC ottenendo un secondo cromatogramma.

Risultati. Con l'utilizzo delle due tecniche di analisi (GC/MS e HS-GC/MS) sono stati ottenuti due diversi profili chimici. Dal loro confronto è emerso un significativo aumento del numero e/o delle percentuali relative di componenti volatili e basso bollenti identificati tramite il campionamento con la tecnica dello spazio di testa.

Conclusioni. Dai risultati emersi si può quindi concludere che la tecnica di campionamento mediante spazio di testa dinamico, è una tecnica versatile, rapida ed efficace per l'estrazione della fase volatile consentendo l'identificazione di composti anche molto volatili e presenti in tracce nel campione. L'assenza dell'uso di solventi organici evita artefatti dovuti alla presenza ed eventuale sovrapposizione con il picco del solvente stesso. La tecnica dello spazio di testa è definita come una procedura "green" anche molto vantaggiosa perché applicabile a matrici di diversa natura e provenienza.

Parole chiave: Olio essenziale, Fase vapore, Composizione chimica, Spazio di testa

DICLOFENAC SODICO IN ASSOCIAZIONE CON ALCUNI OLI ESSENZIALI: EVIDENZA SPERIMENTALE *IN VITRO* DELL'AZIONE SINERGICA ANTIBIOFILM VERSO DIVERSE SPECIE FUNGINE APPARTENENTI AL GENERE *CANDIDA*

Rosato*, S.Sblano, L.Salvagno, E. Altini, G.Fracchiolla

Dipartimento di Farmacia-Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Bari Aldo Moro, Bari, Italia

* E-mail: antonio.rosato@uniba.it

Introduzione. Gli antifungini sono farmaci selettivamente molto potenti. Tuttavia anche per questa classe di farmaci si pongono notevolissimi problemi di insorgenza di forme di resistenza molto gravi; inoltre i fenomeni di intolleranza sono riscontrati con allarmante frequenza nei pazienti immunodepressi sottoposti a protrate terapie con antifungini. Gli Oli Essenziali (OE) ben conosciuti da tempo per le loro proprietà antimicrobiche sono oggi una valida alternativa nella terapia delle candidosi, meno rischiosa rispetto all'uso dei classici antibiotici antifungini; le loro proprietà antimicrobiche per questo motivo sono state anche studiate in associazione con diversi prodotti farmaceutici. Le componenti degli OE sono ben descritte e documentate dalla ricerca scientifica. Studi recenti hanno messo in evidenza come il Diclofenac ed altri farmaci antinfiammatori non steroidei posseggano un'azione inibente verso molte specie fungine del genere *Candida*, soprattutto durante la formazione del biofilm.

IL Diclofenac è utilizzato in medicina in quanto sviluppa normalmente un'azione antidolorifica e antireumatica. Il meccanismo d'azione risiede nel blocco della sintesi di prostaglandine per inibizione non selettiva degli enzimi COX-1 e COX-2. Ne consegue l'inibizione del rilascio di acido arachidonico, coinvolto nei fenomeni di infiammazione. Le prostaglandine sono prodotte anche nel citoplasma fungino e il loro deficit influenzerebbe secondo alcuni studi adesività e proliferazione delle cellule del biofilm. Di conseguenza, l'eventuale sinergia con gli OE, potrebbe rappresentare una strategia terapeutica alternativa per incrementarne l'efficacia, inoltre la riduzione delle dosi minime necessarie per l'inibizione potrebbe limitare eventuali effetti collaterali, con riduzione dei fenomeni di resistenza.

Scopo. L'obiettivo del nostro lavoro è stato associare gli OE di *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Pelargonium graveolens* con l'antinfiammatorio non steroideo Diclofenac per evidenziare *in vitro* il possibile effetto sinergico antibiofilm fungino.

Materiali e metodi Tutti gli OE sono stati chemotipizzati mediante tecniche cromatografiche associate a spettrometria di massa (GC-MS). L'efficacia delle combinazioni OE-Diclofenac è stata valutata verso dodici ceppi fungini, di cui quattro da collezione ATCC e otto da isolamento clinico; le specie testate sono *Candida glabrata*, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. tropicalis*, *C. tropicalis*. Gli effetti sinergici sono stati valutati mediante impiego di piastre di microtitolazione a 96 pozzetti a fondo piatto, contenenti opportune diluizioni del Diclofenac e OE.

Risultati. Le associazioni Diclofenac-OE (*M. piperita* oppure *P. graveolens*) hanno mostrato *in vitro* un'elevata capacità di inibizione verso

biofilm maturi prodotti dai ceppi fungini studiati. È stata osservata infatti una riduzione della massa del biofilm rispetto al controllo del 50-70% impiegando concentrazioni molto limitate delle due componenti l'associazione. (comprese tra 0,10 – 0,20 mg/ml).

Conclusioni. I risultati dimostrano che l'associazione tra OE e Diclofenac inibisce la crescita dei biofilm fungini di varie specie di *Candida*. Ulteriori studi *in vitro* potranno approfondire e chiarire altri aspetti dell'interazione tra anti-infiammatori e OE, con l'obiettivo di affrontare e risolvere patologie fungine dovute alla formazione di biofilm.

Parole chiave. Diclofenac, Biofilm, Olio essenziale, Miceti, *Candida*, Sinergia.

VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ ANTINFIAMMATORIA DELL'OLIO ESSENZIALE DI ORIGANO MEDIANTE UN MODELLO SPERIMENTALE DI CELLULE DI CHERATINOCITI UMANI

R.Avola^{1,2,*}, G.Granata¹, C.Geraci¹, V.Cardile², A.C.E.Graziano², E.Napoli¹

¹Istituto di Chimica Biomolecolare, C.N.R., Catania, Italia; ²Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, Sezione di Fisiologia, Università di Catania, Catania, Italia

* E-mail: rosanna.avola@unict.it

Introduzione. La pelle agisce come prima barriera protettiva del corpo verso un'ampia gamma di attacchi chimici, fisici e biologici. Allo stato attuale le infiammazioni cutanee soprattutto se cronicizzate, possono avere un'influenza sul benessere fisico, sociale ed emotivo del singolo, correlato alla qualità della vita e alla salute stessa dell'individuo. Sebbene i trattamenti dermatologici convenzionali prevedano l'uso di medicinali di sintesi, recentemente l'utilizzo di composti naturali, sia come integratori alimentari orali sia come formulazioni topiche ad elevata tollerabilità, ha guadagnato una maggiore popolarità. L'olio essenziale di *Origanum vulgare* (OEO), pianta aromatica pervasiva della famiglia delle Lamiaceae e tipica della flora mediterranea, è ampiamente usato nella medicina popolare come rimedio contro numerose malattie.

Scopo. Questo studio valuta la capacità antiossidante/antinfiammatoria e/o cicatrizzante di OEO su una linea cellulare di cheratinociti umani normali (NCTC 2544), sottoposta a trattamento con IFN- γ ed istamina, per riprodurre un modello di infiammazione *in vitro*.

Materiali e metodi. La caratterizzazione di OEO è stata eseguita tramite gascromatografia (GC) e gascromatografia-spettrometria di massa (GC-MS). La vitalità cellulare è stata valutata mediante analisi MTT e colorazione con cristal violetto. L'attività antiossidante è stata determinata mediante misura dei livelli di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e di SOD-1 e saggio DPPH.

Il danno al DNA è stato valutato tramite analisi dei livelli di 8-OHdG. La capacità antinfiammatoria di OEO è stata verificata attraverso la misurazione di importanti marcatori coinvolti nell'infiammazione, quali COX-2, ICAM-1, iNOS, PCNA, MMP-1 e MMP-12 mediante analisi *Western blot* e RT-PCR. Inoltre, per valutare la capacità cicatrizzante di

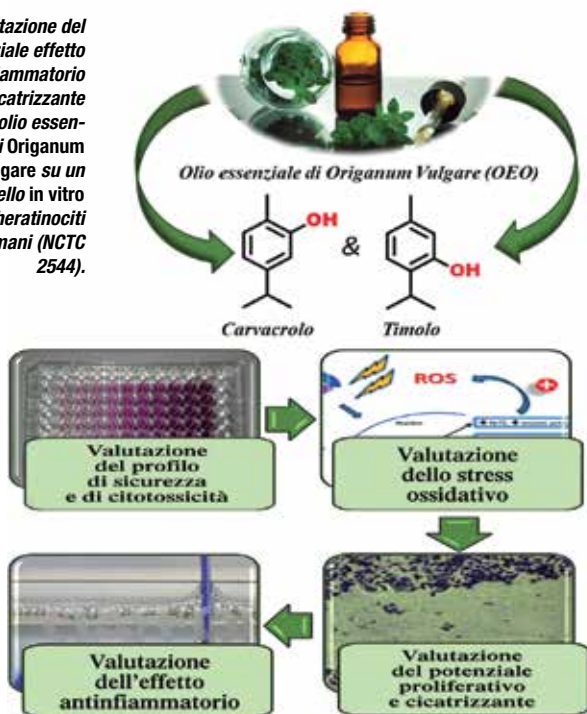
OEO è stato utilizzato lo *scratch test*.

Risultati. OEO ha mostrato un'elevata attività antiossidante e capacità di *scavenging* dell'ossigeno radicalico. I saggi sui cheratinociti hanno dimostrato che OEO riduce significativamente la produzione di ICAM-1, iNOS, COX-2, modula l'espressione di MMP-1 e MMP-12 e promuove la proliferazione cellulare nelle colture sottoposte a *scratch test*.

Conclusioni. Il nostro studio dimostra che OEO blocca efficacemente le azioni pro-infiammatorie indotte da IFN- γ ed istamina sui cheratinociti umani e promuove la motilità cellulare durante la cicatrizzazione delle ferite. Il carattere naturale, la mancanza di tossicità e l'efficacia *in vitro* di OEO ne fanno un candidato promettente per lo sviluppo di nuove formulazioni e medicazioni topiche che potrebbero sostituire i trattamenti convenzionali di alcune malattie infiammatorie della pelle.

Parole chiave. Olio essenziale di origano, Agente naturale anti-infiammatorio, Cicatrizzazione, Cheratinociti umani

Valutazione del potenziale effetto antinfiammatorio e cicatrizzante dell'olio essenziale di *Origanum vulgare* su un modello *in vitro* di cheratinociti umani (NCTC 2544).



OLEORESINA DI *PISTACIA VERA* L. E LEVOFLOXACINA: UNA INNOVATIVA COMBINAZIONE SINERGICA PER COMBATTERE LA MULTI FARMACO RESISTENZA IN *HELICOBACTER PYLORI*

S.Di Lodovico^{1,*}, E.Napoli², E.Di Campi¹, P.Di Fermo¹, D.Gentile², G.Ruberto², A.Nostro³, E.Marini⁴, L.Cellini¹, M.Di Giulio¹

¹Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara, Chieti, Italia; ²Istituto di Chimica Biomolecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche ICB-CNR, Catania, Italia; ³Dipartimento di Scienze Chimiche, Biologiche, Farmaceutiche e Ambientali, Università di Messina, Messina, Italia; ⁴Dipartimento di Scienze Biomediche e Sanità Pubblica,

Sezione Microbiologia, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italia
* E-mail: silvia.dilodovico@unich.it

Introduzione. *Helicobacter pylori* è un importante patogeno gastroduodenale che nel tempo ha espresso un significativo incremento nel tasso di resistenza agli antimicrobici con compromissione significativa dell'esito della terapia. L'alto tasso di resistenza, anche correlato alla capacità del batterio di formare biofilm, sottolinea la necessità di validare schemi terapeutici innovativi che prevedano l'inclusione di nuovi composti bioattivi. Studi recenti hanno dimostrato *in vitro*, l'effetto antibatterico di piante medicinali e fitoterapici in grado di potenziare l'efficacia di antimicrobici verso i quali i batteri hanno sviluppato resistenza. In passato la resina di *Pistacia lentiscus* L. var *Chia* è stata usata per il trattamento di disordini gastrici, gastralgia, ulcera peptica e nei confronti di *H. pylori*. Oleoresina di *Pistacia vera* L., estratta per incisione dalla pianta omonima, è costituita da resine in soluzione in oli volatili che le conferiscono una consistenza semi-solida e vanta una buona attività antimicrobica e antivirulenza.

Scopo. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare, *in vitro* ed in un modello *in vivo*, l'attività antimicrobica e antivirulenza dell'oleoresina di *P. vera* L. in associazione con levofloxacina (LVX) nei confronti di ceppi clinici di *H. pylori* resistenti a LVX.

Materiali e metodi. Per lo studio sono stati utilizzati 31 ceppi clinici di *H. pylori* isolati nel Centro Italia (Abruzzo) da biopsie di antro e fondo gastrico di pazienti dispeptici. Il riferimento internazionale *H. pylori* ATCC 43629 è stato incluso negli esperimenti. L'attività antimicrobica dell'oleoresina e LVX è stata valutata in termini di Concentrazione Minima Inibente (MIC), Concentrazione Minima Battericida (MBC) e le combinazioni sinergiche sono state determinate attraverso il *checkerboard test* e calcolo dell'Indice della Concentrazione Inibitoria Frazionata (FIC I). L'attività antibiofilm dell'oleoresina e LVX e delle loro combinazioni sinergiche, è stata valutata attraverso la quantizzazione della biomassa (OD₄₉₂) e vitalità cellulare (Live/Dead staining). *In vivo* l'effetto protettivo dell'oleoresina, LVX e della loro migliore combinazione sinergica (combinazione con il più basso valore di FIC I), è stato studiato come percentuale di sopravvivenza di larve di *Galleria mellonella* dopo infezione con $1,8 \times 10^6$ CFU di *H. pylori*.

Risultati. I valori di CMI dell'oleoresina di *P. vera* L. erano compresi tra 780 e 3120 mg/l e i valori di CMB erano pressoché sovrapponibili alla CMI, sia a pH 5,5 che 7,0. Di 32 ceppi saggiati, 30 erano resistenti a LVX (MIC $\geq 0,5$ mg/l) e su questi, le diverse combinazioni saggiate esprimevano effetto sinergico (FIC I $\leq 0,5$). Un effetto additivo (FIC I $> 0,5-4,0$) si osservava con *H. pylori* ATCC 43629. L'oleoresina era in grado di sinergizzare con LVX riducendo i valori di CMI al di sotto del *breakpoint*.

Le percentuali di riduzione del biofilm erano comprese tra 8,43 e 93,45% per oleoresina di *P. vera* L. da sola e tra 0 e 60,45% in presenza delle combinazioni sub-sinergiche di oleoresina e LVX. Le immagini in fluorescenza, relative alla vitalità cellulare, rilevano un effetto batteriostatico ed antiadesivo in presenza delle combinazioni sub-sinergiche di oleoresina e LVX. *In vivo*, oleoresina di *P. vera* L., da sola e in associazione con LVX, proteggeva il 62% e 63% delle larve di *G. mellonella* dall'infezione da *H. pylori*. Questi dati erano confermati dal significativo basso valore di CFUs di *H. pylori* recuperati da *G. mellonella* dopo l'infezione e trattamento con oleoresina di *P. vera* L. e con la migliore combinazione sinergica.

Conclusione. I risultati ottenuti dimostrano, sia *in vitro* che *in vivo*, che oleoresina di *P. vera* L. potenzia l'efficacia di LVX e che l'attività sinergica espressa dall'associazione consente di ripristinare l'azione dell'antibiotico

nei confronti di ceppi resistenti di *H. pylori*. Analogamente, oleoresina di *P. vera* L. in associazione con LVX esprime una significativa attività anti-biofilm. Pertanto, oleoresina di *P. vera* L. può essere considerata un valido "Antibiotic Resistance Breaker" in grado di interagire con l'antibiotico esercitando, in associazione, una significativa attività antibatterica e antivirulenza anche nei confronti di ceppi resistenti di *H. pylori*. Questo studio dimostra che la combinazione di un antibiotico con un non-antibiotico può esaltare la potenza antimicrobica affrontando efficacemente il complesso fenomeno dell'antibiotico-resistenza.

Parole chiave: Resistenza in *Helicobacter pylori*, Oleoresina di *Pistacia vera* L., Sinergismo, Galleria mellonella

EFFETTO EMOSTATICO DI UN GEL BIOADESIVO A BASE DI OLI ESSENZIALI NELLE BIOPSIE DELLA MUCOSA ORALE

M.Iriti^{1,*}, E.M.Varoni², F.Scotti², S.Decani², A.Sardella², G.Lodi²

¹Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia; ²Dipartimento di Scienze Biomediche, Chirurgiche e Odontoiatriche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

* E-mail: marcello.iriti@unimi.it

Introduzione. La gestione del paziente sottoposto a biopsia orale prevede il controllo del dolore, dell'edema, dell'infezione e della riepitelizzazione nel sito chirurgico. I protocolli attualmente in uso prevedono, dopo il prelievo bioptico, l'applicazione di punti di sutura, l'utilizzo di antisettici ad uso topico, generalmente la clorexidina, ed, eventualmente, la prescrizione di farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS). Sebbene la clorexidina rappresenti il trattamento d'elezione, essa presenta, tuttavia, alcuni effetti avversi, quali disgeusia, pigmentazione dei tessuti molli e duri del cavo orale, bruciore a accumulo di tartaro sopragengivale. Più raramente, sono stati riportati episodi allergici o di ipersensibilità e fenomeni di citotossicità *in vitro*.

Scopo. Valutare l'efficacia di un gel bioadesivo a base di oli essenziali in pazienti sottoposti a prelievi bioptici di lesioni delle mucose orali. **Outcome** primario: capacità emostatica; **outcome** secondari: capacità antisettiche, antidolorifiche e riepitelizzanti.

Materiali e metodi. Il presente studio è stato condotto presso gli ambulatori di Medicina Orale dell'Unità Operativa di Odontostomatologia II dell'Azienda Socio Sanitaria Territoriale Santi Paolo e Carlo, presidio San Paolo (Università degli Studi di Milano). L'arruolamento dei pazienti è avvenuto in

modo consecutivo, durante il corso della prima visita. Dopo l'intervento, il sito chirurgico è stato lasciato guarire per seconda intenzione, applicando un sottile strato di gel biadesivo (Hobagel Plus®) a base di olio essenziale di timo (*Thymus vulgaris*), menta (*Mentha piperita*), albero del tè (*Melaleuca alternifolia*), mirra (*Commiphora myrrha*) e manuka (*Leptospermum scoparium*). I pazienti sono stati istruiti a ripetere l'applicazione del gel sulla ferita 3 volte al giorno per 21 giorni. Alla dimissione, sono stati consegnati ai pazienti dei questionari da compilare quotidianamente durante la prima settimana, per valutare: presenza di sanguinamento, livello di dolore, assunzione di antidolorifici ed eventuali effetti avversi. Ogni paziente è stato rivalutato alla terza, settima, ventunesima e ventottesima giornata. Durante le visite di controllo, un operatore esperto ha effettuato l'esame obiettivo della cavità orale con particolare attenzione al sito chirurgico, verificando l'eventuale presenza di sanguinamento, di segni d'infezione ed il grado di riepitelizzazione della ferita.

Risultati. Nel periodo gennaio-luglio 2018, sono stati reclutati 25 pazienti, per un totale di 32 prelievi bioptici. Tutti i pazienti sono stati dimessi con coagulo competente, senza necessità di ricorrere all'utilizzo di punti di sutura e non è stato osservato alcun sanguinamento perioperatorio. Si sono verificati 3 sanguinamenti minori durante la giornata dell'intervento, successivamente alla dimissione, risolti autonomamente dai pazienti. Durante le giornate postoperatorie, non è stato riscontrato alcun caso di sanguinamento. Nessun sito chirurgico ha mostrato segni d'infezione durante le visite di controllo. Sette pazienti hanno riferito esperienza di dolore lieve durante la settimana



TECNO-LIO
L'energia della Vita

LAVORAZIONI C/TERZI
Integratori alimentari
in capsule, liquidi e liofilizzati

Si eseguono produzioni di piccoli e medi lotti

- Integratori in capsule formato 0 in barattolo o in blister
- Integratori liquidi in monodose da 10 e 15 ml
- Integratori con contagocce
- Liquidi e soluzioni in flaconi fino a 1000 ml
- Liofilizzazione in monodose con sigillatura sottovuoto
- Integratori di nostra produzione con possibilità di personalizzazione
- Lavorazione materie prime fornite dal cliente
- Confezionamento finale
- Assistenza per formulazioni personalizzate

Tecno-lio S.r.l.
Via Riviera Berica, 260 - 36100 Vicenza
Tel.0444530465 - fax.0444532275
E-mail: info@tecno-lio.it
Website: www.tecno-lio.it

postoperatoria, 5 dei quali solamente in prima giornata. I restanti 18 pazienti hanno riferito totale assenza di dolore. Nessuno dei 25 pazienti ha assunto antidolorifici. Non si sono verificati ritardi nella guarigione delle ferite chirurgiche e nessun paziente ha riportato effetti avversi legati all'utilizzo del gel bioadesivo.

Conclusioni. Il gel ha mostrato ottime capacità emostatiche, antisetetiche, antidolorifiche e riepitelizzanti. L'applicazione del gel si è dimostrata una valida alternativa all'applicazione dei punti di sutura e alla clorexidina. Il suo utilizzo può risultare particolarmente utile per il clinico nel caso di prelievi biotici effettuati su mucose difficilmente suturabili, come nel caso di tessuti resi friabili da malattie infiammatorie croniche o di mucose cheratinizzate aderenti a sottostanti tessuti duri (palato duro, gengiva aderente). Ulteriori vantaggi derivanti dall'utilizzo del gel sono rappresentati dalla contrazione dei tempi operativi, evitando la sutura della ferita chirurgica nonché dalla riduzione del numero di appuntamenti, non essendo necessario un secondo appuntamento per la rimozione dei punti di sutura.

Parole chiave. Medicina orale, Chirurgia orale, Biopsia orale, Oli essenziali

STUDIO DI DIVERSI OLI ESSENZIALI NELLA PRATICA CLINICO-INFETTIVA

M.Donadu*, D.Usai, S. Zanetti, P.Molicotti

Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italia

* E-mail: mdonadu@uniss.it

Introduzione. Nella medicina popolare così come in aromaterapia, gli oli essenziali e le molecole aromatiche sono state usate e tutt'ora lo sono, come agenti terapeutici.

Il potenziale terapeutico degli oli essenziali non è stato ancora stimato in tutta la sua portata. Resta ancora molto da scoprire riguardo il loro aspetto farmacologico, benché molte erbe medicinali siano impiegate fin dai tempi antichi. Questo è dovuto alla grande complessità della composizione degli oli essenziali, che contengono numerosissimi composti diversi.

Scopo. Lo scopo di questa relazione è stato quello di esporre la nostra esperienza inerente la composizione fitochimica, l'attività biologica "in vitro" (antimicrobica, citotossica, antiossidante e anti-proliferativa) sino ad arrivare alla valutazione clinica di alcuni oli essenziali.

Materiali e metodi. Sono stati utilizzati diversi oli essenziali e con varie metodiche è stata valutata la capacità antibatterica nei confronti di particolari ceppi clinici Gram positivi, Gram negativi e miceti (*Candida* spp., *Malassezia* spp.).

Risultati. Dal nostro gruppo di studio sono stati saggiati *in vitro* diversi oli essenziali ottenuti da: *Thymus vulgaris* L. (timo rosso, chemotipo geraniolo), *Lavandula angustifolia* Miller, *L. latifolia* L., *hybrida* L., *L. hybrida* "Sumian", *L. hybrida* "Grosso", *Origanum vulgare* L., *Helichrysum*

microphyllum Cambess. subsp. *tyrrhenicum* Bacch., Brullo & Giusso, *Hypericum perforatum* L. subsp. *angustifolium*, *Myrtus communis* L., su numerosi ceppi batterici Gram positivi e Gram negativi, tra cui ceppi selezionati di *Pseudomonas aeruginosa*, e su ceppi di *Candida* spp. e *Malassezia* spp.

Alla luce dei risultati ottenuti si evince che gli oli essenziali di timo rosso chemotipo geraniolo e *L. hybrida* "Grosso" hanno evidenziato una buona attività antimicrobica, rispetto a *L. angustifolia* e a *L. hybrida* "Sumian" su ceppi clinici *multi drug resistant* di *P. aeruginosa*.

Mentre *L. angustifolia* Miller ha presentato un'azione citotossica su cellule CaCo-2 (Cellule Carcinoma Colon-retto) dovuta probabilmente all'azione di terpeni.

Gli Oleoliti (OM) di *H. microphyllum* Cambess. subsp. *tyrrhenicum* Bacch., Brullo & Giusso e *H. perforatum* subsp. *angustifolium* sono stati saggiati nei confronti di 30 ceppi di *Candida* spp.: l'OM di *H. microphyllum* ha mostrato una maggiore attività antimicotica rispetto a *H. perforatum*. Infine, è stata studiata l'azione antifungina di *M. communis* nei confronti di 86 ceppi di *Malassezia* spp.: i dati ottenuti hanno mostrato una notevole attività nei confronti di *M. furfur* e *M. sympodialis*. Inoltre, è stato eseguito uno studio *in vivo* del quale in questo contesto vengono presentati i primi dati.

Conclusioni. Tenendo conto che oramai il mondo scientifico sta considerando i prodotti naturali quale potenziale approccio terapeutico alternativo e/o sinergico per il trattamento di alcune patologie croniche e acute; si è alla ricerca di nuove sostanze e/o molecole sicure ed efficaci contro il dolore, l'infiammazione o con attività antimicrobica, antitumorale o immunomodulante. La ricerca eseguita con quella attuale e futura può avere un importante impatto sulla salute pubblica, offrendo indicazioni utili per l'ottimizzazione dell'impiego terapeutico di alcuni "farmaci naturali".

Parole chiave. Oli essenziali, Pratica clinica, MDR-resistant, Fitoterapia

OLI ESSENZIALI IN CLINICA DERMATOLOGICA: DATI E PROSPETTIVE

P.Campagna^{1,2,*}, R.Tardugno³

¹Società Italiana per la Ricerca sugli Oli Essenziali, SIROE, Roma, Italia;

²Università degli Studi della Tuscia, Viterbo, Italia

³Dipartimento di Filosofia e Beni Culturali, Università degli Studi di Venezia Ca' Foscari, Venezia, Italia

* E-mail: paolocampagna51@gmail.com

Introduzione. Gli oli essenziali (OE) sono miscele complesse ottenute principalmente per distillazione in corrente di vapore di piante aromatiche o spremitura di epicarpi dei frutti (*Citrus* spp.) e composte da numerosi metaboliti secondari raggruppabili chimicamente soprattutto in terpeni, terpenoidi, fenilpropanoidi. Queste 'preziose miscele volatili' possiedono molte proprietà farmacologiche, per cui possono essere definite come rimedi antimicrobici, antiossidanti, antiinfiammatori, cicatrizzanti, eudermici, lenitivi (purché ben veicolati) e grazie alle numerose attività

rappresentano sia un'alternativa terapeutica naturale che un supporto ai comuni farmaci, entrambi molto attraenti. I metodi di applicazione degli OE più comunemente usati sono l'inalazione e le applicazioni esterne tramite massaggio, frizione, creme, lozioni, fanghi, bagni e impacchi. Risulta pertanto interessante il loro uso in clinica dermatologica e in chirurgia, con prospettive degne di nota nel trattamento di ferite e lesioni cutanee anche infette, pur in presenza di ceppi microbici resistenti ai farmaci convenzionali.

Scopo. Allo scopo di ottenere una *overview* più esaustiva e completa sull'argomento abbiamo proceduto ad una revisione sistematica delle pubblicazioni scientifiche internazionali *peer-reviewed*.

Materiali e metodi. Per lo studio sono stati utilizzati i seguenti motori di ricerca: Pubmed, Scopus e Scifinder. Le parole chiave della ricerca sono state: *essential oil AND clinical AND skin*. La ricerca è stata limitata ai soli studi scritti in inglese, a partire dall'anno 2009 ad oggi. Sono stati selezionati 40 articoli relativi a studi *in vivo* condotti sull'uomo e di questi ne sono stati considerati 15 (10 trial clinici e 5 revisioni sistematiche).

Risultati. L'OE di *tea tree* (*Melaleuca alternifolia* Maiden & Betchen Chel) risulta il più studiato in clinica, *in vivo* ed *in vitro* con risultati importanti sia su diversi microrganismi patogeni a livello dermatologico come *Candida* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* che sulla guarigione delle ferite stesse. Altri risultati riguardano, gli OE del genere *Lavandula* e *Cymbopogon* e del genere *Citrus*. Tra questi, ad esempio, l'OE di bergamotto (*Citrus x bergamia* Risso & Poit.), ritenuto molto promettente nelle dermatopatie, anche ad eziologia fungina. L'attività antimicrobica e antiflogistica degli OE sono state studiate anche in formulazioni topiche come l'unguento idrofilico e la miscela di macrogol. Inoltre, diverse patologie sono state prese in considerazione tra le quali, psoriasi, acne e pitiriasi.

Conclusioni. L'uso di questi preziosi derivati può essere proposto in medicina complementare anche ad integrazione della terapia medica convenzionale, secondo criteri di sinergia farmacologica ed efficacia. In tale contesto trovano applicazione mirata alcuni OE chemotipizzati, identificati cioè per i componenti maggiormente presenti e ritenuti più attivi nel fitocomplesso, talvolta associabili a farmaci e presidi di comune utilizzo.

In questa *review* della letteratura sugli OE in campo dermatologico, sono stati riassunti i risultati più promettenti ottenuti negli ultimi anni. Nonostante i risultati ottenuti, numerosi studi clinici su OE chemotipizzati sono ancora necessari al fine di poter ottenere formulazioni a base di OE sicure ed efficaci per il loro utilizzo comune in clinica dermatologica.

Parole chiave. Oli essenziali, Dermatologia, Revisione letteratura

GARZE PRE-MEDICATE CON IDROGEL E IDROLATO DI *CITRUS AURANTIUM VAR AMARA* (FIORI) PER LA PREVENZIONE DELLE INFEZIONI MICROBICHE DELLA CUTE LESA

M.Di Vito^{1,2,3,*}, F.Bugli^{2,3}, F.Mondello⁴, R.Torelli^{2,3}, T.A.Schweizer⁵, A.S.Zinkernagel⁵, B.Posteraro^{6,7}, M.G.Bellardi¹, A.Girolamo⁴, R.Ragno⁸, S.Garzoli⁸, P.Mattarelli¹ & M. Sanguinetti^{2,3}

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL), Univer-

sità di Bologna, Bologna, Italia; ²Dipartimento di Scienze di Laboratorio e Infettivologiche, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Roma, Italia; ³Istituto di Microbiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia; ⁴Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia; ⁵Division of Infectious Diseases, University Hospital Zurich, University of Zurich, Zurich, Switzerland; ⁶Dipartimento di Scienze Gastroenterologiche, Endocrino-Metaboliche e Nefro-Urologiche, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Roma, Italia; ⁷Istituto di Patologia Medica e Semeiotica Medica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia; ⁸Dipartimento di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università di Roma "Sapienza", Roma, Italia
* E-mail: wdivit@gmail.com

Introduzione. Come noto, uno dei maggiori problemi collegati al trattamento delle ferite è l'elevata probabilità di sviluppare infezioni. Fino ad oggi molti studi sono stati sviluppati per modificare delle garze fabbricate con idrogel per mantenere la ferita umida conferendole contestualmente proprietà antimicrobiche. Tuttavia, gli articoli pubblicati fino ad oggi sono stati sviluppati su garze modificate con l'aggiunta di antibiotici, composti chimici con azione antimicrobica o al massimo l'aggiunta oli essenziali come quello di *Melaleuca alternifolia*.

Scopo. Lo scopo del nostro studio è stato quello di indagare l'azione antimicrobica di un idrogel, come il gel di gellano, quando modificato con l'aggiunta di idrolati (ID), prodotti naturali di scarto del metodo di produzione degli oli essenziali.

Materiali e metodi. È stato studiato, mediante test di micro-brodo diluizione, l'effetto *in vitro* di 1 ID commerciale (*Citrus aurantium var amara* - CA) e 4 ID prodotti presso il dip. DISTAL (*Monarda citriodora*, *M. didyma*, *M. fistulosa*, *Lavandula vera*), su 7 ceppi fungini (4 ceppi clinici e 3 ATCC) e 11 ceppi di GRAM+ sensibili e resistenti agli antibiotici (6 clinici e 5 ATCC). Lo stesso test è stato effettuato per valutare l'azione antimicrobica dei conservanti previsti per legge in ID commerciali. È stato sviluppato un prototipo rudimentale di garza impregnata di idrogel modificato con 50% v/v di idrolato di CA e ne è stata valutata l'efficacia citocida, mediante idonei esperimenti microbiologici, sui ceppi microbici in studio. Modelli preliminari di infezioni sottocutanee di *Staphylococcus aureus* sono stati sviluppati in ratti per valutarne l'efficacia *in vivo*.

Risultati. I test hanno permesso di individuare, tra tutti gli ID indagati, l'ID di CA come il più efficace ($MIC_{90} \leq 3,125\%$ v/v). Le indagini microbiologiche condotte sui soli conservanti non hanno mostrato alcuna azione citocida ($MIC > 50\%$ v/v); mentre, quando associati all'ID, mostrano un'azione sinergica rispetto all'idrolato da solo ($MIC_{90} = 12,5\%$ v/v). Il prototipo di garza ha mostrato un'analoga azione citocida su tutti i ceppi testati ad eccezione del ceppo clinico di *Enterococcus faecalis* e di quello ATCC di *S. aureus* MSSA che, comunque, risultano profondamente inibiti. I dati preliminari *in vivo* mostrano una riduzione del 70% del volume dell'ascesso sottocutaneo indotto nei ratti infettati con *S. aureus*.

Conclusioni. I nostri dati mostrano come l'aggiunta di ID di CA al gel di gellano abbia effetti citocidi. I dati, oltre a mostrare risultati molto interessanti per quanto riguarda l'azione antimicrobica del gel di gellano modificato, prospettano una buona applicazione sull'uomo se si considerano i risultati *in vivo* e la sicurezza d'uso dei componenti della garza.

Parole chiave. C. aurantium var amara, Idrolato, Idrogel, Garza premedicata

**Curatori: Francesca Mondello¹, Maura Di Vito²
e Maria Grazia Bellardi²**

¹Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma.²
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari,
Università di Bologna, Bologna

IDROLATI OTTENUTI DALLA DISTILLAZIONE DI GRAPPOLI DI VITIS VINIFERA: PRIME SPERIMENTAZIONI

**M.Di Vito^{1,2,3,*}, F.Bugli^{2,3}, S.Biffi⁴, R.Ragno⁵, S.Garzoli⁵, P.Mattarelli¹,
M.Sanguinetti^{2,3} & M.G.Bellardi¹**

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari, Università di Bologna, Bologna, Italia; ²Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Roma; ³Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma; ⁴Giardino delle Erbe di Casola Valsenio (Ravenna), Italia; ⁵Dipartimento di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università di Roma "Sapienza", Roma, Italia

* E-mail: wdivit@gmail.com

Introduzione. La vite (*Vitis vinifera* L.) è una delle piante più note e sfruttate dall'uomo. Nonostante le molteplici qualità e potenzialità dell'uva dal punto di vista fitoterapico, in Letteratura non si riscontrano studi relativi alla distillazione di questo frutto (tranne la pressatura dei soli vinaccioli). In questo lavoro, considerato l'interesse crescente verso gli idrolati (acque aromatiche), anche per la loro maggiore versatilità rispetto agli oli essenziali (OE), si è deciso, per la prima volta, di sottoporre a distillazione in corrente di vapore uve mature cv Italia (bianca).

Scopo. Lo scopo dello studio è stato quindi quello di: 1) verificare la possibilità di distillare grappoli di uva al fine di ottenere OE e/o idrolati (Hy), 2) determinarne la composizione mediante GC-MS, 3) valutarne l'azione antimicrobica nonché 4) l'azione immunomodulante e ossidante dei prodotti di distillazione per le eventuali potenzialità applicative in diversi Settori.

Materiali e metodi. Nel mese di agosto 2015 sono stati raccolti grappoli di uva bianca cv Italia (Canicatti, Agrigento). Il materiale è stato consegnato al Giardino delle Erbe di Casola Valsenio (Ravenna). Tutti i grappoli sono stati prima esaminati visivamente eliminando gli acini con sintomi di marciume. Si è quindi proceduto distillando per 1h in corrente di vapore i soli acini maturi (senza graspo) (7,950 kg, di cui 2,800 kg tagliati a pezzetti in modo da favorire il passaggio del vapore) (Figura). Successivamente, si è proceduto con le seguenti indagini: (i) analisi qualitativa effettuata mediante GC-MS Perkin Elmer Clarus 500 sulla sostanza organica estratta con dietil-etero partendo da 50 ml di Hy, (ii) indagine dell'azione anti-microbica su ceppi clinici di *Candida albicans* e su 7 ceppi probiotici commerciali (1 *Saccharomyces cerevisiae* e 6 *Lactobacillus* spp.), (iii) valutazione del potenziale anti-ossidante mediante analisi DPPH, (iv) analisi dell'azione immunomodulante effettuata su cellule mononucleate isolate da sangue periferico (PBMCs) di donatori sani.

Risultati. Al termine della distillazione sono state visivamente notate poche gocce di OE (Figura C), ma, nell'impossibilità di separarle, l'idrolato

contenente in superficie questi minimi quantitativi di OE è stato raccolto in boccette distinte. L'analisi GC-MS è stata eseguita su 21,5 mg (0,043%) di sostanza organica estratta ed ha rivelato la presenza di β -linalolo (38,81%), cis-geranoilo (25,40%) e limonene (17,68%). L'analisi microbiologica non ha permesso di individuare alcuna azione antimicrobica sui ceppi in studio. L'analisi dell'azione anti-ossidante ha mostrato che sono necessari $4 \cdot 10^{-3} \pm 0.001$ $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ di sostanza organica per ridurre il 50% di una soluzione di DPPH (180 μL , 400 μM). L'indagine condotta sui PBMCs ha mostrato un'interessante modulazione dell'espressione di IL-10 e TNF- α in presenza di stimolo pro-infiammatorio (LPS).

Conclusioni. Queste ricerche, seppure preliminari, aprono la strada all'utilizzo di idrolati "nuovi", ottenuti da una delle piante più note e ovunque coltivate. L'assenza di tossicità su ceppi benefici per il microbiota intestinale associata all'azione immunomodulante e alla delicata azione antiossidante fa presupporre un possibile impiego dell'Hy in settori quali la Medicina umana, particolarmente in quello gastroenterologico, sempre alla costante ricerca di composti dotati di bassa tossicità e di "facile" impiego.

Parole chiave. Uva, Distillazione, Idrolato, GC-MS



Distillazione di grappoli di uva matura "Italia": (A) acini interi selezionati; (B) acini interi ed in parte tagliati; (C) l'olio essenziale è visibile (freccia), ma non separabile. Si è raccolto quindi solo l'idrolato.

TECNICHE ANALITICHE GC-FID E HS-SPME-GC-FID PER LA CARATTERIZZAZIONE DEI COMPONENTI VOLATILI DI CANNABIS SATIVA L.

A.Lambertini, V.Brighenti, F.Pellati, D.Bertelli, S.Benvenuti*

Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia

* E-mail: stefania.benvenuti@unimore.it

Introduzione. I terpeni volatili rappresentano una delle componenti più significative di *Cannabis sativa* L. e sono responsabili delle proprietà

STUDIO PRELIMINARE DI EFFICACIA ANTIMICROBICA DI ALCUNI IDROLATI VERSO UN CEPPINO CLINICO DI *KERSTERSIA GYIURUM* ISOLATO DA CASO CLINICO

C.Martini^{1,2,*}, M.Di Vito^{1,2,3}, V.Shehu^{1,2}, F.Bugli^{1,2}, P.Mazzella^{2,3}, M.G.Bellardi³, P.Mattarelli³ & M. Sanguinetti^{1,2}

²Dipartimento di Scienze di Laboratorio e Infettivologiche, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Roma, Italia; ³Istituto di Microbiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia; ³Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari (DISTAL), Università di Bologna, Bologna, Italia

* E-mail: ceciliamartini84@gmail.com

aromatiche. Se molti studi su *C. sativa* si occupano prevalentemente di cannabinoidi, composti a struttura terpenofenolica, non meno interessanti sono gli approfondimenti sugli isoprenoidi, presenti come composti volatili e costituenti gli oli essenziali.

Scopo. Il presente lavoro è finalizzato alla caratterizzazione chimica di oli essenziali (OE) appartenenti a diverse varietà di *C. sativa* da fibra per mezzo di tecniche GC-FID (Gas Chromatography – Flame Ionization Detector) e GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) e della componente volatile delle infiorescenze mediante HS-SPME-GC-FID (Head Space Solid Phase Micro Extraction-Gas Chromatography-Flame Ionization Detector).

Materiali e metodi. Gli OE diluiti in *n*-esano sono separati su una colonna capillare HP5 cross-linked di poly-5% diphenyl-95% dimeetil-polisilossano (30 m x 0,32 mm i.d., con spessore del film 0,25 µm). Le condizioni operative dell'analisi GC-FID prevedono una temperatura dell'iniettore a 250 °C e quella del *detector* a 300 °C, con un rapporto di *split* 1:20. La temperatura della colonna è programmata in modo da avere una variazione della temperatura nel corso della separazione, mentre l'elio è utilizzato come *carrier gas* a 2,5 bar con flusso 1 mL/min. La caratterizzazione qualitativa è avvenuta mediante determinazione degli LRI (Linear Retention Index). La percentuale relativa di ogni singolo analita è espressa come area percentuale del picco rispetto alla composizione totale dell'OE. Per l'analisi GC-MS sono utilizzate le medesime condizioni di separazione e i componenti la miscela sono riconosciuti mediante confronto delle masse del picco pseudomolecolare e degli ioni di frammentazione con le librerie interne.

Per l'analisi HS-SPME-GC-FID, 400 mg di materiale vegetale (infiorescenza femminile) è raccolto all'interno di un *vial* sigillato, riscaldato per 30 minuti a 40 °C. Di seguito il tappo del *vial* viene perforato con l'ago dell'*holder* e la fibra SPME di DVB/CAR/PDMS è esposta per 20 minuti alla stessa temperatura. L'analisi GC-FID prevede la modalità *splitless* e l'*holder* viene inserito nel setto dell'iniettore e la fibra esposta per 5 minuti a 250 °C, consentendo alle sostanze adsorbite di entrare in colonna per essere analizzate.

Risultati. Negli OE di canapa da fibra sono stati identificati 71 composti e l'analisi GC ha rivelato - e -pinene, -mircene e -cariofillene come i componenti principali. Mediante analisi GC-MS è stato inoltre possibile quantificare anche il cannabidiolo che risulta presente nei campioni dallo 0,1 ai 2,9 mg/mL.

Per quanto riguarda i componenti volatili estratti dalle infiorescenze, i monoterpeni risultano quelli maggiormente presenti (47%-89%), tranne un unico campione in cui i sesquiterpeni sono presenti al 52%. Il -mircene, - e -pinene e il limonene rappresentano i composti più abbondanti. Per quanto riguarda i sesquiterpeni, il -cariofillene è il composto più abbondante in tutti i campioni, seguito da -humulene.

Conclusioni. Il presente lavoro di ricerca ha permesso la messa a punto e l'applicazione di tecniche GC-FID e GC-MS per la caratterizzazione di numerosi campioni di EO di *C. sativa*, al fine di determinarne i terpeni, i terpenoidi e i cannabinoidi. La tecnica HS-SPME accoppiata alla GC-FID ha consentito di definire chimicamente la effettiva e reale componente volatile delle infiorescenze di canapa.

Parole chiave. Cannabis sativa, Oli essenziali, Gasromatografia, Terpeni

Introduzione. *Kerstersia gyiorum*, appartenente alla famiglia delle *Alcaligenaceae*, è stata isolata per la prima volta nel 2003 da Coenye *et al.* Alle prima descrizione, sono susseguite altre pubblicazioni inerenti l'isolamento di questo batterio, cocco Gram-negativo da otiti medie, infezioni del tratto urinario e ulcere croniche della gamba.

Scopo. Lo scopo del lavoro è stato quello di testare l'azione di idrolati su un ceppo di *K. gyiorum* isolato da una ferita cronica della gamba di un paziente di 67 anni.

Materiali e metodi. Nel dicembre 2018 giunge alla nostra osservazione un paziente di sesso femminile, di anni 67, con edema dell'arto inferiore e ulcerazioni croniche caratterizzate da essudazione moderata. Si è proceduto con il prelievo di un tampone cutaneo, esame colturale, identificazione di specie con MALDI TOF e antibiogramma. Il test di micro-brodo diluizione in linea con le linee guida EUCAST è stato sviluppato sul ceppo clinico di *K. gyiorum* per testare la sensibilità verso 14 idrolati commerciali ottenuti dalla distillazione di *Achillea millefolium*, *Canapa sativa*, *Citrus aurantium* var *amara* (fiori), *Grindelia robusta*, *Helichrysum italicum*, *Juniperus communis*, *Lavandula angustifolia*, *L. hybrida*, *Origanum hirtum*, *O. majorana*, *Rosmarinus officinalis*, *Satureja cuneifolia*, *S. montana* e *Zingiber officinalis* e 3 idrolati di *Monarda citriodora*, *M. dydima*, *M. fistulosa* prodotti presso il DISTAL, Università di Bologna.

Risultati. L'esame colturale ha mostrato positività per *K. gyiorum*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella oxytoca*, *Moraxella morgani*, *Staphylococcus pyogenes*. Dall'antibiogramma la *K. gyiorum* è risultata essere resistente alla ciprofloxacina, sensibile ad amikacina, ceftazidime e cefepime, imipenem e meropenem. Mentre, dall'analisi dell'aromatogramma è emerso che gli idrolati di *A. millefolium*, *C. sativa*, *G. robusta*, *H. italicum*, *J. communis*, *L. angustifolia*, *L. hybrida*, *O. hirtum*, *O. majorana*, *S. cuneifolia* e *Z. officinalis*, alle concentrazioni testate, non mostrano alcuna azione citocida o inibente il ceppo clinico (MIC>50% v/v, MBC>50% v/v), mentre l'idrolato di *R. officinalis* (MIC=25% v/v, MBC>50% v/v) mostra solo un'azione inibente. Tra gli altri idrolati di *C. aurantium* var *amara* (fiori) (MIC≤0.78% v/v, MBC=3,12% v/v), *M. citriodora* (MIC=25% v/v, MBC=50% v/v), *M. dydima* (MIC=50% v/v, MBC=50% v/v), *M. fistulosa* (MIC=25% v/v, MBC=50% v/v), *S. montana* (MIC=50% v/v, MBC=50% v/v), quello commerciale di *C. aurantium* var *amara* ha mostrato la maggiore azione inibente e citocida verso il ceppo clinico in studio.

Conclusioni. Sebbene preliminari e bisognosi di ulteriori conferme su un più ampio numero di ceppi clinici, i nostri dati mostrano un possibile

utilizzo degli idrolati, prodotti di scarto della distillazione in corrente di vapore, nel trattamento di *K. gyiorum*.

Parole chiave. *Kerstersia gyiorum*, *Ferita cronica*, *Tampone cutaneo*, *Idrolati*



Coltivazioni di lavanda e lavandini presso il Giardino delle Erbe di Casola Valsenio (Ravenna).

THE EFFECTS OF PHENOPHASE ON ESSENTIAL OIL QUALITY AND QUANTITY

M.Božovi^{1,*}, S.Vujovi², J.Rakovi², S.Garzoli³, R.Ragno^{3,4,5}

¹Faculty of Science and Mathematics, University of Montenegro, Podgorica, Montenegro; ²Faculty of Medicine, University of Montenegro, Podgorica, Montenegro; ³Department of Drug Chemistry and Technology, Sapienza University, Rome, Italy; ⁴Rome Center for Molecular Design, Sapienza University, Rome, Italy; ⁵Alchemical Dynamics srl, Rome, Italy

* E-mail: mijatboz@ucg.ac.me

Introduction. In spite of the growing interest in essential oils (EOs) and their commercial importance, it is not yet clear how development factors influence the plant material optimum harvesting period for EOs

production. Factors that determine the EOs' composition and yield are numerous, and in some cases, it is quite difficult to isolate them as many are interdependent and influenced by each other. Therefore, EOs chemical composition is subject to high quantitative and qualitative variations, as well as their related biological activities or properties.

Aim. The aim of this report was to highlight the effects of phenophase on both EOs yields and compositions. In line with that, plant material collected at different stages may contain different compound mixtures, directly influencing the correlating experimental bioactivities. Thus, determination of the optimal harvesting period is crucial for EO production and their potential applications as medicinal or food supplement.

Materials and methods. The 24-hour prolonged and fractionated steam distillation procedure for EO extraction was applied on selected Lamiaceae and Apiaceae species: *Mentha suaveolens* Ehrh., *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. *glandulosa* (Req.) Ball, *Melissa officinalis* L. subsp. *altissima* (Sibth. & Sm.) Arcang. and *Foeniculum vulgare* Mill. The plant materials were harvested at different phenological stages, covering the periods before, during and after flowering. EOs' qualitative-quantitative chemical compositions were analyzed by gas-chromatography coupled with mass-spectrometry (GC/MS) and antimicrobial activity was also evaluated.

Results. A great impact of phenological stage on yield, chemical profile and bioactivity of EOs was observed. The results show that *M. suaveolens* yields the highest amount of oil during its reproductive period. However, its main compound piperitenone-oxide was particularly abundant during the pre-flowering period (up to 87%), but the antifungal activity has been found to be only slightly influenced by the period of harvest. In the case of *C. nepeta* subsp. *glandulosa*, the highest amount of EO was obtained in the pre-blooming period (pulegone up to 85%). During the reproductive period, EOs yield and the pulegone percentage decreased, while menthone increased (up to 35%), significantly diminishing the antifungal activity of the samples. Regarding the anti-biofilm activity, several samples demonstrated very strong antimicrobial inhibition even in the lowest concentrations used. In the case of *Staphylococcus epidermidis* O47 strain, no influence of phenological stage was observed, whereas *S. epidermidis* RP62A strain was more affected by the samples from the pre-flowering period. *M. officinalis* subsp. *altissima* contained the least amount of in the pre-flowering period (caryophyllene up to 24%). In contrast, the samples from the reproductive period have been found to be particularly rich in caryophyllene oxide (up to 61%). However, no difference was recorded regarding the antifungal activity. In the case of *F. vulgare*, the pre-fruiting materials gave EOs rich in *o*-cymene (up to 52%) showing no significant antimicrobial activity; the fruit-containing material was particularly rich in EO with estragole (up to 58%) and also being the most active against *Candida* strains. Great impact of the harvest period is evident also in relation to the anti-biofilm activity. Namely, the presence of estragole may be the main reason for the biofilm-forming inhibition in the case of *S. epidermidis* strains. Higher susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to the oil samples from the pre-flowering material, may however be influenced by some other minor components characteristic of the EO obtained in that period.

Conclusions. EO quality has been found to be very unpredictable. These observations led to a conclusion that no general rule can be given about the period of harvesting. Different plants furnish different EOs in

terms of yield and composition, and the dynamic of their accumulation depends on the plant's phenological stage. More importantly, EOs' chemical composition seems to be directly determined by the plant's phenophase. All these parameters could be considered as species specific and may be directly responsible for the different biological activities. Monitoring of these features could lead to define the main procedures in order to identify the optimal conditions for plant material harvest EOs production.

Key words. *Essential oil, Phenophase, Chemical composition, Yield, Biological activity*

PROPRIETÀ MORFO-MECCANICHE E ANTIMICROBICHE DI MEMBRANE POLIMERICHE ELETTROFILATE CONTENENTI OLIO ESSENZIALE DI *THYMUS CAPITATUS* (L.) HOFFMANNS. & LINK.

R.Scaffaro¹, A.Maio¹, M.D'Arrigo², F.Lopresti¹, A.Marino², M.Bruno³, A.Nostro^{2,*}

¹Dipartimento di Ingegneria, Università di Palermo, Palermo, Italia;

²Dipartimento di Scienze Chimiche, Biologiche, Farmaceutiche ed Ambientali, Polo Annunziata, Università degli Studi di Messina, Messina, Italia; ³Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche, Università di Palermo, Palermo, Italia

* E-mail: anostro@unime.it

Introduzione. Gli oli essenziali emergono come nuovi e promettenti agenti antimicrobici, efficaci nei confronti di un ampio spettro di microrganismi. Le nuove tecnologie mirano alla loro incorporazione in materiali polimerici al fine di sviluppare sistemi in grado di migliorarne la stabilità e prolungarne l'attività biologica. L'inclusione degli oli essenziali in fibre ultrafini con alta porosità ed affinità con la matrice extracellulare suggerisce una loro potenziale applicazione nel settore biomedico.

Scopo. Sviluppare nanofibre di acido polilattico (PLA) contenenti olio essenziale (OE) di *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link. (*ThymOE*) e valutarne le proprietà morfologiche, meccaniche e l'efficacia antimicrobica sia in fase liquida che di vapore.

Materiali e metodi. L'olio essenziale di *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link. (parti aeree raccolte a Salinelle Beach, Lascari, Palermo, *voucher specimen* depositato presso il Dipartimento STEBICEF, Università di Palermo), costituito in prevalenza da carvacrolo (81,2%) e in quantità minore da α -terpinene (2,6%) e p -cimene (5%) è stato incorporato in membrane di PLA mediante *electrospinning*. Nello specifico, una soluzione di PLA (10 wt% in una miscela di cloroformio ed acetone 2:1 vol) è stata caricata con il 5, 10, 20 e 30 wt% di *ThymOE* rispetto al polimero. Le proprietà morfo-meccaniche delle membrane di PLA/*ThymOE* sviluppate sono state analizzate mediante microscopia elettronica a scansione (SEM) e mediante un dinamometro da laboratorio; il rilascio dell'olio essenziale è stato valutato tramite misure spettroscopiche (UV-Vis). Per quanto riguarda l'attività antimicrobica, le membrane di PLA/*ThymOE* 30% sono state saggiate nei confronti di *Staphylococcus aureus* ATCC

6538, *Escherichia coli* ATCC 10235, *Candida albicans* ATCC 10231 e *Aspergillus niger* ATCC 16404. In particolare, è stata determinata l'efficacia dell'olio essenziale rilasciato dalle membrane sia in fase liquida, mediante conta delle cellule vitali, che in fase di vapore mediante *invert petri dish method*. L'attività emolitica è stata, inoltre, determinata mediante valutazioni spettrofotometriche.

Risultati. I risultati hanno dimostrato che l'aggiunta di *ThymOE* nelle membrane ha determinato un aumento delle proprietà meccaniche. In particolare, a bassi tenori di concentrazione, si è assistito ad un simultaneo incremento di modulo elastico, sforzo ed allungamento a rottura, mentre ad alte concentrazioni è stato osservato un pronunciato effetto tenacizzante. Inoltre, l'elevata area superficiale dei dispositivi ha consentito un rapido rilascio dell'olio essenziale, con il 70% della quantità totale di olio essenziale rilasciato entro le prime due ore. I dispositivi PLA/*ThymOE* hanno mostrato una buona attività antimicrobica con riduzioni della carica microbica pari a 2,18-3,4, 2,51-3,64, 2-2,54 unità logaritmiche (UL) rispettivamente per *S. aureus*, *E. coli* e *A. niger*. Di contro, una minore efficacia è stata registrata nei confronti di *C. albicans*. I vapori di *ThymOE* rilasciati dalle membrane hanno mostrato una significativa attività battericida nei confronti di *S. aureus* con riduzione di circa 5 UL. L'attività emolitica è risultata trascurabile (< 2%).

Conclusioni. I risultati ottenuti documentano l'efficienza di incorporazione di *ThymOE* nelle nanofibre di PLA, le loro buone proprietà meccaniche e la capacità di rilasciare l'olio essenziale con attività antimicrobica sia in fase liquida che di vapore. Il sistema PLA/*ThymOE* potrebbe avere distinti vantaggi in campo biomedico per il trattamento delle infezioni della pelle e delle mucose anche in aree inaccessibili al contatto diretto.

Parole chiave. *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link., *Electrospinning*, *Delivery system*, *Attività antimicrobica*

CHITOSAN COATINGS ENRICHED WITH RUE ESSENTIAL OILS: EFFECT ON CONTROL OF ANTHRACNOSE DISEASE DURING POSTHARVEST OF PAPAYA (*CARICA PAPAYA*)

Y.Peralta-Ruiz^{1,3,*}, C.Grande-Tovar² & C.Chaves-Lopez³

¹Faculty of Engineering, Program of Agroindustrial Engineering, Universidad del Atlántico, Puerto Colombia, Colombia; ²Faculty of Basic Science, Program of Chemistry, Universidad del Atlántico, Puerto Colombia, Colombia; ³Faculty of Bioscience and Technology for Food, Agriculture, and Environment, University of Teramo, Teramo, Italy

* E-mail: yyperaltaruiz@unite.it

Introduction. Papaya (*Carica papaya*) is the third fruit most consumed in the world and being a climacteric fruit; it has a short postharvest life. Papaya crop is exposed to several diseases, being the anthracnose a great problem for papaya production and postharvest. This disease caused by the fungus *Colletotrichum gloeosporoides* (Penz.) Sacc. that infects not only the developing fruit in the field but also at the post-harvest stage. Even though synthetic fungicides

have been used to control this pathogen, they present a risk for the environment due to the cumulative effect on the environmental footprint and human health. Beside, some fungal pathogens have been reported to develop resistance to synthetic fungicides. To reduce the risk that the use of fungicides can produce to health, the use of non-chemical control methods to reduce postharvest decay is becoming increasingly important. Thus, in the last years, the use of edible coatings has generated interest and materials such as chitosan enriched with essential oils had shown good fungicide effects and increasing the fruit shelf life.

Aims. To find new alternatives to preserve the quality of the fruit, this study evaluated the effect of the application of a coating based on chitosan and rue (*Ruta graveolens*) essential oil (REO) as a post-harvest treatment against the papaya anthracnose.

Material and methods. The emulsions of chitosan (CHI) 2% (w/v)–Rue essential oil (REO) were prepared. REO was added to reach emulsions with a final concentration of 0,5%, 1,0%, and 1,5% v/v. The antifungal activity against *C. gloeosporioides* GGBA3 was analyzed *in-vitro* and *in situ* on papaya. The fruits were coated with different treatments by immersion, air-dried, and stored at 20°C for 12 days. Antifungal analysis *in-situ* was determined using the colonized agar plug method. The diameter reduction in diameter of anthracnose lesions was measured at the 6, 8, 10, and, 12 days. The effect of the coatings on the firmness, weight loss, and color was evaluated during the storage time.

Results. Studies *in vitro* have evidenced that coatings with 1,0 and 1,5% of REO reduced 91% of the *C. gloeosporioides* mycelia growth. The *in-situ* studies showed an inhibition from 65% to 100% of the mycelia growth compared with the inoculated control. Papayas coated with 1,0% and 1,5% REO emulsions showed a decay index of 2 and severity of less than 10%. In addition, the physicochemical and sensorial papaya properties were not affected by the coatings compared with uncoated ones at the end of the storage (12 days).

Conclusions. CHI-REO coatings represented a good alternative as a treatment to avoid losses in papaya post-harvest and could be an alternative method of prolongation of the shelf life of foods with applications in the food and agricultural industry.

Keywords. Chitosan, Rue essential oil, Colletotrichum gloeosporioides, Papaya, Anthracnosis

VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ ANTIBATTERICA DEGLI OLI ESSENZIALI CINNAMONUM ZEYLANICUM E CYMBOPOGON CITRATUS IN ESCHERICHIA COLI MG1655 E NEL PATOGENO UMANO ESCHERICHIA COLI 0157:H7

R.Scotti^{1,*}, A.Stringaro², L.Nicolini¹, R.Gabbianelli¹

¹Servizio Biologico e ²Centro Nazionale per la Ricerca e la Valutazione Preclinica e Clinica dei Farmaci, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

* E-mail: raffaella.scotti@iss.it

Introduzione. L'enteropatogeno umano *Escherichia coli* O157:H7 pro-

voca coliti emorragiche e, in casi estremi, la sindrome emolitica uremica (HUS) mortale. Il 60% delle infezioni microbiche è associato alla formazione di biofilm, una struttura costituita da cellule batteriche organizzate, maggiormente resistente a disinfettanti ed antibiotici. *E. coli* O157:H7 ha la capacità di formare biofilm su diverse superfici, determinando l'ampia diffusione della malattia dovuta a questo organismo. Studi recenti hanno evidenziato l'attività antimicrobica di alcuni oli essenziali (EO), sia su batteri resistenti agli antibiotici che su batteri formanti biofilm.

Scopo. L'assenza di terapie efficaci contro HUS e la capacità di *E. coli* O157:H7 di formare biofilm hanno indirizzato le nostre ricerche verso lo studio delle attività antibatterica di alcuni EO. Scopo di questo lavoro è stato quello di analizzare gli effetti dei due OE *Cinnamomum zeylanicum* (Bark) e *Cymbopogon citratus* (Lemongrass) valutandone la tossicità mediante: curve di crescita, capacità di formare biofilm su diverse matrici e analisi ultrastrutturale dei biofilm formati in presenza e in assenza degli EO.

Materiali e metodi. Il ceppo di *E. coli* O157:H7 utilizzato in questo studio, denominato ED597, è stato isolato da un paziente con HUS. Come controllo è stato utilizzato il ceppo non patogeno *E. coli* MG1655. I batteri sono stati cresciuti in terreno minimo M9 con o senza EO (Bark 0,005% o Lemongrass 0,05%), a 28°C per 24h in piastre di polistirene da 96 pozzetti partendo da un inoculo iniziale di 10⁶ cellule/ml. Il biofilm è stato fissato a 60°C per 1h, colorato con cristalvioletto allo 0,1% per 20 min, solubilizzato in DMSO per 15 min e misurato allo spettrofotometro a 595 nm. Per eseguire le osservazioni ultrastrutturali al microscopio elettronico a scansione (SEM), i biofilm, ottenuti dopo 24h di crescita su vetro, sono stati fissati con glutaraldeide al 2,5% in tampone cacodilato (30 min), post-fissati con tetrossido di osmio (1h), disidratati e ricoperti con oro.

Risultati. Le curve di crescita, ottenute in presenza degli OE, hanno rivelato che *C. zeylanicum* e *C. citratus* sono capaci di inibire la crescita planctonica sia del ceppo patogeno, sia del ceppo di controllo. Inoltre, il metodo quantitativo del cristalvioletto ha evidenziato una notevole inibizione della capacità di formare biofilm nei campioni trattati con questi OE. Infine, le osservazioni al SEM hanno dimostrato che il trattamento con i due EO è in grado di provocare notevoli cambiamenti nella struttura dei biofilm, con danni alla superficie cellulare dei batteri.

Conclusioni. I risultati preliminari ottenuti in questo lavoro dimostrano che *C. zeylanicum* e *C. citratus* agiscono su entrambi i ceppi, sia sul plancton che sul biofilm. In conclusione, si potrebbe quindi ipotizzare un impiego di questi OE, a basse concentrazioni, per la prevenzione delle contaminazioni batteriche da *E. coli* sia in campo biomedico che alimentare.

Parole chiave. Escherichia coli O157:H7, Cinnamomum zeylanicum, Cymbopogon citratus, Biofilm

VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ ANTIFUNGINA DI DODICI OLI ESSENZIALI NEI CONFRONTI DI ASPERGILLUS FLAVUS, A. FUMIGATUS E A. NIGER

V.Tullio*, J.Roana, D.Pica, N.Mandras

Dipartimento di Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche, Università degli Studi di Torino, Torino, Italia

* E-mail: vivian.tullio@unito.it

Introduzione. L'uso di composti di sintesi per il controllo di funghi filamentosi come gli aspergilli ha sollevato preoccupazioni non solo per la resistenza in continuo aumento ma anche per l'impatto ambientale ed effetti nocivi sulla salute correlati al loro uso. Infatti, moltissimi ceppi di aspergillo isolati dall'ambiente o da prodotti commerciali risultano resistenti a farmaci antifungini, favorendo la diffusione della resistenza in ambito clinico. Ne consegue una grande attenzione sulle possibili alternative terapeutiche che agiscono sul fungo responsabile di infezione attraverso un meccanismo d'azione differente da quello degli antimicotici tradizionali. Tra le possibili alternative, gli oli essenziali (OE), miscele di composti volatili con attività antifungina ben nota soprattutto nei confronti dei lieviti, costituiscono uno dei gruppi di metaboliti secondari delle piante oggi maggiormente studiati per superare le problematiche legate ai farmaci antimicrobici convenzionali e la diffusione della resistenza.

Scopo. In questo studio, abbiamo valutato l'attività antifungina di 12 OE commerciali (Flora, Italia) nei confronti di diverse specie e ceppi di aspergillo di isolamento clinico e ambientale.

Materiali e metodi. Sono stati valutati gli OE ottenuti per distillazione in corrente di vapore: arancio amaro (*Citrus x aurantium* L. var. *amara*, Rutaceae), limone extra (*Citrus limon* (L.) Osbeck, Rutaceae), citronella (*Cymbopogon nardus* L., Poaceae), albero de tè (*Melaleuca alternifolia* Cheel, Myrtaceae), chiodi di garofano (*Eugenia caryophyllata* Thunb., Myrtaceae), eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill., 1800, Myrtaceae), geranio (*Pelargonium graveolens* L'Her., 1789, Geraniaceae), lavanda ibrida/lavandino (*Lavandula hybrida*, Lamiaceae), lavanda vera (*Lavandula officinalis* Chaix, Lamiaceae), origano (*Origanum vulgare* L. subs. *hirtum*, Lamiaceae), rosmarino (*Rosmarinus officinalis* L., Lamiaceae), timo rosso a timolo (*Thymus vulgaris* L., Lamiaceae). Gli OE sono stati saggiati nei confronti di *Aspergillus flavus* (2), *A. fumigatus* (7) e *A. niger* (5). Itraconazolo (ITZ) e amfotericina B (AMB) (Sigma-Aldrich, Italia) sono stati usati

come antimicotici di riferimento.

L'attività antifungina degli OE è stata determinata mediante un metodo di microdiluzione in brodo, un metodo di valutazione dell'efficacia in fase di vapore e mediante aromagramma. Abbiamo valutato la concentrazione minima inibente (MIC) e la concentrazione minima fungicida (MFC) degli OE e farmaci secondo il CLSI M38-A2 con alcune modifiche per gli OE. Le concentrazioni finali degli OE andavano dall'1% allo 0,0078% (v/v).

Risultati. Tutti gli aspergilli saggiati sono risultati resistenti a ITZ e/o AMB (breakpoint R>2µg/ml) (Tabella).

Per quanto riguarda gli OE, il geranio, la citronella e i chiodi di garofano sono stati gli OE con la migliore attività contro tutti i funghi saggiati (Tabella). La Infatti, il valore di MIC degli OE di geranio e citronella è stato dello 0,06% contro *A. fumigatus* e *A. niger*, mentre la MIC dell'OE di chiodi di garofano è stata dello 0,125% contro *A. flavus*, *A. fumigatus* e *A. niger*. MFC è risultata di 2-3 volte superiore alla MIC (0,25-0,5 % v/v), indicando un'azione fungistatica di questi oli (Tabella). In fase di vapore gli OE di geranio, citronella e chiodi di garofano alla concentrazione dello 0,075% hanno completamente inibito la crescita di tutti gli aspergilli saggiati. L'aromagramma ha confermato l'attività antifungina di questi 3 OE, mostrando l'inibizione della crescita miceliale.

Conclusioni. I dati ottenuti indicano una buona attività antifungina di alcuni OE nei confronti di aspergilli resistenti ai farmaci convenzionali. L'uso di questi OE potrebbe essere un valido supporto per limitare la diffusione della resistenza (compresa quella evidenziata nei ceppi resistenti isolati dall'ambiente), probabilmente correlata all'uso di fungicidi in numerose pratiche agricole e prodotti commerciali. Inoltre, questi risultati potrebbero incoraggiare indagini cliniche adeguatamente controllate.

Parole chiave. *Aspergillus spp.*, Ceppi clinici e ambientali, Oli essenziali, Attività antifungina

Ceppo fungino		MIC µg/mL		MIC OE v/v %			MFC OE v/v %		
		Itraconazolo	Amfotericina B	Geranio	Citronella	Ch. garofano	Geranio	Citronella	Ch. garofano
<i>A. flavus</i>	34888 amb	8	16	0,25	0,125	0,125	0,5	0,25	0,5
	AdS 5834	8	16	0,25	0,125	0,125	0,5	0,25	0,5
<i>A. fumigatus</i>	AdS 5822	16	8	0,06	0,06	0,125	0,25	0,25	0,5
	MOL 4470	16	8	0,06	0,06	0,125	0,25	0,5	0,25
	469769 amb	16	8	0,5	0,06	0,125	0,5	0,5	0,5
	MOL 151720	nd	8	0,25	0,06	0,125	0,5	0,5	0,5
	BEN. 17-70-45	nd	8	0,06	0,06	0,125	0,25	0,25	0,5
	MOL 3628	2	4	0,06	0,125	0,25	0,5	0,5	0,5
	MOL 113549/b	4	4	0,06	0,125	0,25	0,5	0,5	0,5
<i>A. niger</i>	AdS 777	4	4	0,06	0,125	0,125	0,25	0,25	0,125
	MOL 121973	4	2	0,06	0,06	0,125	0,25	0,25	0,5
	121822 amb	4	2	0,06	0,06	0,125	0,5	0,5	0,125
	MOL 5015 Art.	2	4	0,25	0,06	0,125	0,5	0,5	0,5
	AdS 217 BAL	2	2	0,25	0,125	0,25	0,25	0,5	0,5

Geranio, citronella e chiodi di garofano: valori di MIC e MFC (% v/v) nei confronti di *Aspergillus spp.*

Note: Itraconazolo e amfotericina B: R>2µg/ml, amb = ceppo di origine ambientale

- Produzione saponette vegetali 100% personalizzate per erboristerie, profumerie, farmacie
- Saponette da Hotel
- Produzione di cosmetici
- Lavorazione c/o terzi





Alchimia Soap Srl
Via Mantova, 5
21057 Olgiate Olona (VA)
Tel.: 0331631582
Fax: 0331674574
www.alchimiasoap.it
soap@alchimiasoap.it

Curatori: Francesca Mondello¹, Maura Di Vito²
e Maria Grazia Bellardi²

¹Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma.²
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari,
Università di Bologna, Bologna

**BIOATTIVITÀ DEGLI OLI ESSENZIALI DI CITRUS
RETICOLATA E DI MELALEUCA ALTERNIFOLIA CONTRO IL
MOSCIERINO DELLA FRUTTA DROSOPHILA SUZUKII**

C.Tani^{1,*}, S.Bedini¹, G.Flamini², R. Ascrizzi², A.Lucchi¹, B.Conti¹

¹ Dipartimento di Scienze agrarie, Alimentari e Agro-ambientali,
Università di Pisa, Pisa, Italia;

²Dipartimento di Farmacia, Università di Pisa, Pisa, Italia

* E-mail: c.tani1@studenti.unipi.it

Introduzione. *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera Drosophilidae), volgarmente detto moscerino dei piccoli frutti è un temibile ed invasivo parassita polifago. Originario del sud-est asiatico, è comparso nel 2008 in Spagna e in Italia diffondendosi successivamente nel resto dell'Europa e causando gravi perdite economiche a moltissime colture da frutto. A causa del ciclo ontogenetico relativamente breve, *D. suzukii* rende necessari frequenti trattamenti insetticidi per il suo controllo. Tuttavia, le problematiche correlate agli insetticidi di sintesi rendono necessaria la ricerca di metodi di controllo più ecocompatibili e gli oli essenziali (EO) rappresentano un'alternativa molto promettente agli insetticidi chimici tradizionali.

Scopo. Nel presente lavoro, abbiamo valutato la repellenza/attrattività e la deterrenza all'ovideposizione dell'OE di *Citrus reticulata* e di *Melaleuca alternifolia* nei confronti di *D. suzukii*.

Materiali e metodi. La repellenza/attrattività dei due OE nei confronti degli adulti di *D. suzukii* è stata valutata mediante test comportamentali in olfattometro statico a due vie con soluzioni di OE a concentrazioni di 0,5-10%. E' stata inoltre valutata la deterrenza all'ovideposizione mediante *choice-test* a concentrazioni dallo 0,015 al 3%.

Risultati. I risultati hanno mostrato una significativa chemiotassi negativa degli adulti di *D. suzukii* per entrambi gli OE alle concentrazioni più elevate (1-10%) ma positiva alle concentrazioni più basse (0,5-0,25%). Inoltre, gli OE indagati hanno mostrato un'azione diversa sulla deposizione delle uova da parte di *D. suzukii*, secondo il dosaggio a cui sono stati testati. Alle concentrazioni più basse (0,015%, corrispondenti a 0,021 µL/L di aria) risultavano leggermente attrattivi, sebbene non sia stata osservata alcuna differenza significativa tra il numero di uova deposte nel controllo e nel trattato. Entrambi gli OE hanno mostrato tuttavia una significativa attività repellente dell'ovideposizione a concentrazioni pari all'1, 2 e 3%. L'OE di *M. alternifolia* ha mostrato una differenza significativa tra i due trattamenti (ANOVA a una via, $F_{9,49} = 2,301$, $P = 0,030$). La correlazione tra concentrazione di OE e deterrenza all'ovideposizione è risultata significativa per entrambi gli OE.

Conclusioni. I risultati relativi alla bioattività dei due oli indicano un loro possibile utilizzo, sia come repellenti da usare sulla frutta in post-

raccolta che come attrattivo per innescare trappole da utilizzare sia per il monitoraggio che per la cattura massale.

Parole chiave. Repellenza, Attrattività, Olio essenziale, Mandarino, Tea tree

**LA FLORA ANDINA COME FONTE DI NUOVI REPELLENTI
CONTRO GLI INSETTI
DELLE DERRATE CONSERVATE**

P.Farina^{1,*}, S.Bedini¹, R.Romani², R.Ascrizzi³, G.Flamini³, B.Conti¹

¹Dipartimento di Scienze agrarie, Alimentari e Agro ambientali,
Università di Pisa, Pisa, Italia;

²Dipartimento di Scienze agrarie, Alimentari e Ambientali, Università di Perugia, Perugia, Italia;

³Dipartimento di Farmacia, Università di Pisa, Pisa, Italia

* E-mail: p.farina@studenti.unipi.it

Introduzione. Le Ande tropicali con circa 30.000 specie di piante vascolari delle quali circa la metà endemiche, superano in biodiversità qualsiasi altro *hotspot* nel mondo. In tale ambiente numerosissime sono le piante essenziali utilizzate nella medicina tradizionale alla quale ancora oggi la popolazione fa largamente ricorso e che possono essere fonte di nuove sostanze repellenti e insetticide. La forte domanda di prodotti eco-compatibili per la gestione delle infestazioni degli insetti delle derrate è aumentata negli ultimi anni, con un crescente interesse per l'effetto tossico e/o repellente dei prodotti naturali.

Scopo. Scopo del nostro lavoro è stato lo studio della repellenza degli oli essenziali (EO) estratti da due specie di piante aromatiche tipiche della flora delle Ande ecuadoriane, *Clinopodium tomentosum* e *C. nubigenum*, nei confronti di *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera Curculionidae), uno dei fitofagi più dannosi per le derrate conservate.

Materiali e metodi. I test comportamentali sono stati condotti in olfattometro statico a 2 vie ed i risultati confermati mediante elettroantennogramma (EAG). Al fine di caratterizzare le strutture sensoriali implicate nei fenomeni bioattivi (sensilli antennali) è stata effettuata un'analisi strutturale completa dell'antenna di *S. zeamais*, mediante osservazioni al microscopio elettronico a scansione (SEM) e quello a trasmissione (TEM).

Risultati. I risultati dei test in olfattometro hanno mostrato un significativo effetto repellente a partire dalla dose di 8,4 mL di aria L⁻¹, sia per l'EO di *C. nubigenum* che di *C. tomentosum*. Le osservazioni al TEM e al SEM hanno portato all'identificazione di sei tipi di sensilli, tra cui almeno tre tipi (*Sensillum Trichoideum 1*, *Sensillum Trichoideum 2* e *Grooved Peg Sensillum*) possono essere considerati olfattivi. La risposta dei recettori antennali agli OE mediante EAG ha fornito una risposta dose dipendente positiva per entrambi gli EO, senza differenze tra i due sessi.

Conclusioni. Gli OE di *C. tomentosum* e *C. nubigenum*, avendo mostrato un forte effetto repellente nei confronti degli adulti di *S. zeamais*, con un chiaro coinvolgimento del sistema olfattivo delle antenne degli insetti, possono rappresentare un metodo efficace per il controllo di tali infestanti. Lo sfruttamento dell'effetto repellente degli EO estratti da piante autoctone potrebbe portare inoltre all'implementazione di

tali prodotti nelle strategie di controllo in quelle stesse zone di origine, evitando o limitando l'uso di metodi di controllo meno sostenibili.

Parole chiave. Oli essenziali, Repellenza, *Sitophilus zeamais*, *Sensilli*

UN SENSORE VOC A FOTOIONIZZAZIONE (PID) PER LA STIMA RAPIDA DELLE RESE DI ESTRAZIONE DI OLI ESSENZIALI

A.Spadi*, F.Maioli, G.Angeloni, L.Guerrini, A.Parenti, P.Masella

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari, Ambientali e Forestali (DAGRI), Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia

* Email: agnese.spadi@unifi.it

Introduzione. Gli oli essenziali sono miscele naturali molto complesse, liposolubili e altamente volatili. Sono prodotti dalle piante, dalle quali prendono il nome, come metaboliti secondari e svolgono un ruolo importante nella fisiologia e nell'ecologia della pianta stessa. Vengono estratti, in piccole quantità, da varie parti della pianta. Molti studi hanno dimostrato che il contenuto di olio estratto può variare in base a diversi fattori tra cui lo stadio fenologico e la parte della pianta selezionata per il processo di estrazione.

Gli oli essenziali sono composti principalmente da terpeni, alcoli, aldeidi, chetoni ed esteri, questi composti organici volatili (VOC, *Volatile Organic Compounds*) sono ad oggi ampiamente utilizzati in diversi settori industriali. Sono caratterizzati da un basso peso molecolare e da una elevata pressione di vapore e sono i responsabili dell'aroma di ogni olio essenziale. Negli ultimi anni, il crescente interesse scientifico nella biochimica, fisiologia, ecologia e chimica dei VOC vegetali ha portato allo sviluppo di numerosi sistemi per il campionamento e l'analisi di composti volatili.

Scopo. Lo scopo del lavoro è stato quello di testare la linearità di risposta di un sensore VOC a fotoionizzazione (PID) a crescenti concentrazioni di oli essenziali opportunamente diluiti. Successivamente, la risposta del sensore è stata testata direttamente sulle foglie di diverse piante officinali: *Rosmarinus officinalis*, *Lavandula angustifolia*, *Salvia officinalis*, *Mentha piperita*, con lo scopo di cercare correlazioni lineari che permettessero di stimare in modo rapido ed attendibile la resa di olio essenziale ottenibile.

Materiali e metodi. Un sensore PID – VOC è stato utilizzato per effettuare letture di crescenti concentrazioni di olio essenziale di diverse piante aromatiche. Le letture sono state poi condotte su un quantitativo di foglie fresche delle piante aromatiche e correlate alla resa di olio essenziale, estratto tramite solvente, dalle medesime foglie.

Risultati. Attraverso l'analisi dei risultati è stato rilevato la linearità di risposta del sensore a diverse concentrazioni di oli essenziali con valori di R² rispettivamente di 0.96, 0.97, 0.98, 0.99 di rosmarino, lavanda, salvia e menta e pendenze che variano significativamente in funzione della matrice. Infine, una relazione lineare significativa è stata trovata tra le letture delle foglie del sensore PID – VOC e l'estrazione delle medesime in solvente.

Conclusioni. Con il lavoro svolto è stato possibile osservare la linearità di risposta del sensore PID – VOC a crescenti concentrazioni di oli essen-

ziali opportunamente diluiti e rilevare la correlazione lineare tra le letture dirette su foglie di piante aromatiche e l'estrazione di olio essenziali dalle medesime.

Parole chiave. Oli essenziali, Composti organici volatili, Sensore PID, VOC

OLI ESSENZIALI IN PATOLOGIA VEGETALE: POTENZIALE MEZZO PER LA DIFESA DAI BATTERI FITOPATOGENI

M.R.Proto*, E.Biondi, M.Di Vito, M.Modesto, D.Baldo, G.Filippini, C.Ratti, P.Minardi, P.Mattarelli

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL), Università di Bologna, Bologna, Italia

* E-mail: mariarita.proto2@unibo.it

Introduzione. Ad oggi le batteriosi delle piante sono gestite mediante strategie integrate di lotta chimica (metalli pesanti ed induttori di resistenza) e biologica (microrganismi antagonisti). Gli oli essenziali (OE) sono miscele complesse di composti altamente volatili, ottenute per distillazione in corrente di vapore di piante officinali e manifestanti spesso attività antimicrobica; il sottoprodotto di questo processo è l'idrolato, che contiene molecole bioattive idrosolubili a basse concentrazioni (< 0,1%) (Di Vito *et al.*, 2019).

Scopo. In questo studio è stata valutata l'attività antibatterica *in vitro* di diversi OE ed idrolati nei confronti di differenti specie batteriche fitopatogene. Alcuni OE ed idrolati selezionati sono stati saggiati *in vivo* contro *Erwinia amylovora* (Ea).

Materiali e Metodi. Gli OE di *Origanum compactum* (CT carvacrolo - OC), *Thymus vulgaris* (CT Timolo - TV), *Thymus vulgaris* (CT Tujanolo), *Satureja montana* (CT carvacrolo) sono stati emulsionati in Tween 80 all'1%. Gli idrolati usati sono stati ottenuti da *S. montana* e di *Citrus aurantium var amara* (fiori). Le specie batteriche usate sono state: Ea (2 ceppi, un ceppo selvaggio ed uno mutante per la resistenza a rifampicina) *Xanthomonas vesicatoria*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* ed *Agrobacterium vitis*. Saggi *in vitro*: le minime concentrazioni inibente e battericida (MIC e MBC), sono state determinate mediante saggi in micro- e macro-brodo diluizione secondo le linee guida EUCAST in triplicato. Le concentrazioni saggate sono state dall'1% allo 0,002% per gli OE e dal 50% allo 0,10% per gli idrolati. Un saggio di *checkerboard* con tutte le combinazioni di OE è stato eseguito nei confronti di Ea, per valutare le possibili sinergie. Il saggio è stato eseguito in micro-piastre con l'aggiunta di 0,005% di cloruro di tetrazolio, indicatore colorimetrico di crescita. Saggi *in vivo* sono stati eseguiti su fiori di pero (cvs. Abate Fetél e William) e su frutti immaturi di pero (cv. Abate Fetél) trattati con OE di OC e TV (0.06% e 0.12%) ed in seguito inoculati con Ea (10⁶ CFU/ml) (Klement *et al.*, 1990; Pusey, 1999). Un saggio sui fiori di melo (cv. Imperatore) è stato eseguito per monitorare la dinamica della popolazione di Ea, dopo il trattamento (Biondi *et al.*, 2006); i fiori sono stati disidratati ed osservati al microscopio elettronico a scansione. In tutte le prove è stata usata acqua distillata sterile (SDW) come controllo negativo e streptomicina (100 ppm) come positivo.

Risultati. I valori di MIC e MBC sono riportati nella tabella. Nella prima prova sui fiori di pero, al 6° giorno dall'inoculazione, l'incidenza della

ATTIVITÀ INIBENTE DI OLI ESSENZIALI SULLA FORMAZIONE DI BIOFILM MONO- E MULTI-SPECIE

F.Maggio*, A.Serio, C.Rossi, C.Chaves-López, A.Paparella

Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-alimentari e Ambientali, Teramo, Italia

* E-mail: fmaggio@unite.it

malattia è risultata dell'85% nei trattati con OC e 90% nei trattati con TV. Mentre nella seconda prova, l'incidenza è stata del 75% e 71% nei trattati con OC, rispettivamente, allo 0,06% e 0,12%, e dell'87% per TV allo 0,06%. La prova sui frutti immaturi di pera ha evidenziato un'incidenza della malattia del 100% al 6°giorno dall'inoculazione, per tutti i trattamenti: OC e TV (0.12%), e idrolato di arancio (10%), analogamente al controllo negativo evidenziando un'inefficacia dei trattamenti. La dinamica della popolazione batterica è risultata pari a ca. 10⁷ cfu/ml entro le 96 ore dall'inoculazione nei campioni trattati con OC allo 0,12% e 0,5%, mostrando lo stesso andamento del controllo negativo SDW. Inoltre, l'osservazione al SEM dei campioni trattati con OC allo 0,5%, dopo 96 ore dall'inoculazione con Ea, ha evidenziato una disidratazione dei tessuti dell'ipanzio (Figura).

Conclusioni. Le prove *in vitro* hanno rilevato un'attività battericida degli OE e degli idrolati testati anche a basse concentrazioni, tuttavia le prove *in vivo* non hanno confermato questi risultati. Verosimilmente l'inefficacia di OE/idrolati *in vivo* potrebbe essere dovuta alla modalità di somministrazione. Per saggiare questa ipotesi sarà necessario eseguire ulteriori indagini usando diverse formulazioni/emulsioni degli antimicrobici naturali considerati.

Parole chiave: Oli essenziali, *Erwinia amylovora*, Batteri fitopatogeni, Lotta biologica

	Batteri fitopatogeni							
	<i>Erwinia amylovora</i>		<i>Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi</i>		<i>Xanthomonas vesicatoria</i>		<i>Agrobacterium vitis</i>	
Oli Essenziali	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Origanum compactum</i> (carvacrolo)	0,03	0,06	0,12	0,25	0,15	0,03	0,03	0,03
<i>Thymus vulgaris</i> (timolo)	0,03	0,06	0,25	0,5	0,03	0,06	0,03	0,03
<i>Thymus vulgaris</i> (tujanololo)	0,25	0,5	0,5	1,0	0,25	0,25	0,5	0,5
<i>Satureja montana</i> (carvacrolo)	0,03	0,03	0,06	0,12	0,03	0,03	0,03	0,03
Idrolati								
<i>Satureja montana</i>	25	50	50	/	/	50	0,03	0,03
<i>Citrus aurantium</i>	/	6,25	/	6,25	3,12	6,25	3,12	6,25

Oli essenziali e idrolati saggiati e Minima Concentrazione Inibente (MIC) e Minima Concentrazione Battericida (MBC) espresse in valori percentuali (% v/v).

Note: /: MIC superiore al valore massimo testato

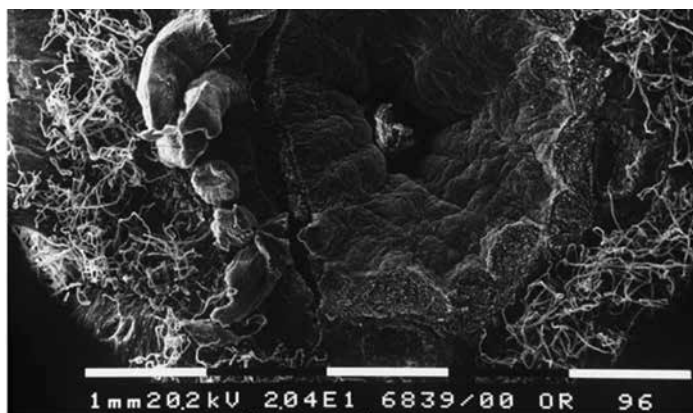


Foto al SEM (microscopio elettronico a scansione) di ipanzio di fiore di melo, trattato con OE di *O. compactum* allo 0,5%, dopo 96 ore dall'inoculazione con Ea. È possibile osservare una generale disidratazione dei tessuti ed una ferita sul lato sinistro dell'ipanzio.

Introduzione. La capacità di un microrganismo di resistere in ambienti ostili e a fattori altamente stressanti può essere determinata dalla sua abilità nel produrre biofilm. Quest'ultimo è una comunità di microrganismi, anche di specie differenti, che interagiscono tra di loro, ed è molto diffuso in aziende alimentari dove si riscontrano comunemente residui organici, come quelle lattiero-casearie. Tali interazioni determinano capacità emergenti, come una maggiore tolleranza agli agenti antimicrobici, un incremento delle caratteristiche di resistenza, o ancora, un migliore utilizzo delle fonti nutritive presenti nell'ambiente circostante. Tali capacità ostacolano la corretta disinfezione di attrezzature e superfici di lavorazione degli alimenti, pertanto si rende necessario ottimizzare strategie di disinfezione alternative alle tradizionali. A questo proposito, l'utilizzo dei bioconservanti, come gli oli essenziali, potrebbe costituire un approccio efficace.

Scopo. Il presente lavoro ha valutato l'influenza di oli essenziali sulla capacità di formazione di biofilm da parte di *Listeria monocytogenes* e *Pseudomonas fluorescens*, comuni in ambito caseario, su superfici di polistirene e acciaio inossidabile a 12°C, simulando le condizioni riscontrabili in azienda, attraverso l'impiego di sistema modello a base di ricotta.

Materiali e metodi. Lo studio si è focalizzato su 2 ceppi microbici in coltura singola e mista, *L. monocytogenes* e *P. fluorescens* di origine rispettivamente ambientale e alimentare (lattiero-casearia). I bioconservanti saggiati hanno compreso 7 oli essenziali, quali *Cinnamomum zeylanicum* (Zuccari), *Origanum hirtum*, *Coridothymus capitatus*, *Citrus limon*, *C. reticulata*, *C. aurantium* (Xentiae) e il suo idrolato (Erboristeria Magentina). L'attività antimicrobica è stata determinata mediante microdiluizioni (CLSI, 2011), mentre la quantificazione del biofilm formato è stata effettuata mediante colorazione con cristalvioletto (Sabaeifard et al., 2014).

Risultati. Gli oli essenziali di *C. zeylanicum* e *C. capitatus* hanno esplicitato la migliore attività antimicrobica, con una concentrazione minima inibente (MIC) per il primo pari a 2,5 µL/mL per *L. monocytogenes* ed a 10,0 µL/mL per *P. fluorescens* in coltura singola e mista. L'olio essenziale di *C. capitatus* ha restituito una MIC pari a 2,5 µL/mL per entrambi i ceppi in mono-specie ed a 5,0 µL/mL in coltura mista. I due oli essenziali sono stati quindi scelti, in concentrazione di 10,0 µL/mL, per la valutazione dell'effetto inibente sulla formazione di biofilm in mono- e multi-specie, sia su polistirene che su acciaio inossidabile. Quest'ultimo si è rivelato la superficie più esposta alla produzione di biofilm, in tutte le condizioni di analisi saggiate. L'olio essenziale di *C. capitatus* ha evidenziato un maggiore effetto inibente nei confronti di *L. monocytogenes* su acciaio inossidabile, per contro quello di *C. zeylanicum* è risultato più efficace verso *P. fluorescens* e la consociazione dei due ceppi microbici.

Conclusioni. Il lavoro ha evidenziato un'importante attività inibente

da parte degli oli essenziali di *C. zeylanicum* e *C. capitatus*, essendo attivi in concentrazioni ridotte sulla formazione di biofilm in mono- e multi-specie, principalmente su acciaio inossidabile. Tali riscontri confermano l'efficacia degli oli essenziali come bioconservanti in ambito alimentare e nelle aziende di trasformazione, per prevenire le contaminazioni microbiche delle superfici di lavorazione.

Parole chiave. Oli essenziali, Biofilm, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*

STUDIO COMPARATIVO DI OLI ESSENZIALI ED IDROLATI DI SPECIE E SELEZIONI DI *MONARDA* SPP.: UN BIENNIO DI SPERIMENTAZIONE

S.Turci^{1,*}, M.Michelozzi², M.G.Bellardi¹

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, Bologna, Italia, ²Istituto di Bioscienze e Biorisorse, CNR, Sesto Fiorentino (Firenze), Italia*

*E-mail: sara.turci@studio.unibo.it

Introduzione. Da diversi anni le tre specie: *Monarda fistulosa*, *M. didyma* e *M. citriodora* (Lamiaceae) sono coltivate nei campi speri-

mentalenti dell'Area del Plesso Serricolo Scarabelli di Imola (Università di Bologna) al fine di verificare le potenzialità degli oli essenziali (OE) ed idrolati (ID) da esse ottenuti in diversi settori applicativi (Microbiologia, Fitopatologia, Entomologia, Nematologia, Medicina umana e Conservazione dei Beni Culturali). Si tratta, infatti, di sperimentazioni che, in linea con la sempre più crescente esigenza di limitare l'utilizzo di prodotti fitosanitari di sintesi ed antibiotici, hanno lo scopo di favorire lo sviluppo di metodi alternativi a basso impatto sulla salute umana e sull'ambiente. Numerosi studi hanno messo in evidenza l'"efficacia" di OE ed ID estratti dalle tre specie del genere *Monarda* e l'importanza del chemotipo ai fini di una specifica applicazione.

Scopo. L'obiettivo principale del presente lavoro è stato la caratterizzazione chimica di OE e ID ottenuti dalle tre specie e due selezioni clonali di *M. didyma* ("Rossa" e "Viola"), coltivate nel medesimo ambiente, nell'arco di tempo di 2 anni, in determinate fasi fenologiche delle piante (fioritura e non fioritura) (Figura).

Materiali e metodi. Nel biennio 2017-2018 sono stati allestiti 5 campi sperimentali costituiti da *M. citriodora* (da seme), *M. fistulosa* (da seme), *M. didyma* (da seme), selezioni "Rossa" e "Viola" (da talee radicali). Gli impianti sono stati monitorati dal punto di vista agronomico-culturale e fitosanitario fino alla raccolta del materiale vegetale da sottoporre a distillazione in corrente di vapore. Tutti gli OE ed ID, ottenuti da piante non fiorite (*M. didyma* e *M. fistulosa*

A. MINARDI & FIGLI S.R.L. Via Boncellino 32 - 48012 Bagnacavallo (Ra) - Tel. 0545 61460 - Fax 0545 60686

DAL 1930 LAVORAZIONE E COMMERCIO PIANTE OFFICINALI



www.minardierbe.it

info@minardierbe.it



STUDIO DELL'EFFICACIA DI OLI ESSENZIALI E IDROLATI COME ALTERNATIVA AI BIOCIDI COMUNEMENTE USATI PER IL TRATTAMENTO DEI MANUFATTI DIPINTI SU SUPPORTO TESSILE

L.Vergari^{1,*}, L.Sabatini¹, F.Bugli^{2,3}, P.Mattarelli⁴, M.G.Bellardi⁴,
M.Sanguinetti^{2,3}, D. De Luca¹ & M.Di Vito^{2,3,4}

¹Dipartimento di Scienze Pure e Applicate, Università degli Studi di Urbino Carlo Bo, Urbino, Italia; ²Fondazione Policlinico Universitario "A. Gemelli" IRCCS, Roma, Italia; ³Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia; ⁴Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroalimentari, Università di Bologna, Bologna, Italia

* E-mail: laravergari@hotmail.com

Introduzione. I biocidi convenzionali provengono da settori chimico-industriali e sono utilizzati in vari campi, tra cui quello della conservazione e del restauro del patrimonio artistico-culturale. Tuttavia, questi prodotti, comunemente utilizzati dai conservatori-restauratori, sono noti come sostanze tossiche che danneggiano la salute degli operatori e l'equilibrio dell'ambiente.

Obiettivo. Lo scopo di questa ricerca è stato quello di individuare un metodo citocida eco-compatibile da inserire nelle pratiche di restauro. Sono state quindi studiate l'efficacia microbiologica, il comportamento chimico-fisico, la tossicità e l'impatto ambientale di alcuni oli essenziali (OE) e idrolati (ID).

Materiali e metodi. Sono stati studiati gli OE e ID ottenuti da cinque differenti specie aromatiche (*Cinnamomum zeylanicum*, *Citrus aurantium* var. *amara*, *Melaleuca alternifolia*, *Monarda citriodora*, *M. didyma* e *M. fistulosa*). Sono stati effettuati test *in vitro* e *in situ* per la valutazione della: (i) attività antimicrobica contro 6 ceppi fungini (*Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* ATCC 9642, *Aureobasidium pullulans* ATCC 15233, *Chaetomium globosum* ATCC 6205, *Cladosporium cladosporioides* ATCC 61022 e *Penicillium citrinum*), (ii) composizione chimica delle sostanze naturali, (iii) azione chimico-fisica sui dipinti su tela tramite analisi del pH e del colore.

Risultati. I dati ottenuti dalle prove microbiologiche e chimico-fisiche hanno permesso di individuare una miscela spray da applicare direttamente sul manufatto tessile dipinto. Per la realizzazione di questa emulsione sono stati utilizzati, rispettivamente, l'ID di *C. aurantium* var. *amara* e l'OE di *C. zeylanicum*. I dati mostrano che 5-8 ore di trattamento, in un sistema isolato (incubazione a 30° C), hanno un effetto citocida sui biodeteriogeni fungini senza danneggiare l'opera d'arte in esame.

Conclusioni. I nostri dati indicano che questa procedura potrebbe essere introdotta come alternativa nel trattamento citocida dei dipinti su tela per agire sui biodeteriogeni di tipo fungino senza alterare i valori di pH e colore. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi *in situ*, su un numero statisticamente significativo di opere d'arte e di ceppi fungini, in modo da confermare l'azione citocida e innocua del metodo alternativo.

Parole chiave. Idrolati, Oli essenziali, Biocidi, Funghi, *Citrus aurantium*, *Cinnamomum zeylanicum*, Beni culturali

da seme, 2017) e fiorite (*M. citriodora*, *M. didyma* e *M. fistulosa* da seme 2018, *M. didyma* "Rossa" e "Viola" da talee) sono stati sottoposti ad analisi GC-MS per la determinazione del profilo della frazione volatile.

Risultati. La resa maggiore in OE è stata ottenuta da *M. fistulosa* in entrambi gli anni; inoltre, distillando le infiorescenze (2018) piuttosto che solo fusti e foglie (2017), la resa è aumentata, fino a raddoppiare, sia per *M. didyma*, sia per *M. fistulosa*.

La composizione chimica di OE e ID varia con la fase fenologica: ad es., i contenuti relativi di timolo e carvacrolo aumentano durante la fase vegetativa. In fioritura, timol metil etere era presente solo nell'OE di *M. didyma* mentre *p*-cimene-2-ol-metil etere solo in quelli di *M. didyma* e *M. fistulosa* e non di *M. citriodora*.

Differenze nei profili della frazione volatile sono state osservate anche fra le due selezioni: la "Rossa" era più ricca in linalolo; inoltre, il miscuglio fiorito di *M. didyma* (da seme) mostrava un contenuto maggiore di carvacrolo e timolo rispetto alle selezioni da talee.

Conclusioni. Lo studio conferma che le tre specie del genere *Monarda* hanno buone potenzialità di utilizzo come piante aromatiche per l'ottenimento di OE ed ID particolarmente ricchi di composti bioattivi.

Le differenze esistenti nei profili terpenici di specie e selezioni diverse suggeriscono un loro impiego diversificato in funzione delle esigenze specifiche di ciascun settore applicativo. Pertanto, per pianificare un loro utilizzo mirato, sono indispensabili studi volti ad accertare l'attività biologica dei diversi chemotipi.

Parole chiave. *Monarda* spp., Olio essenziale, Idrolato, Analisi GC-MS



Parcelle delle due selezioni di *Monarda didyma* "Rossa" "Viola" al momento del taglio nel mese di giugno 2018 (A) e (B); sommità fiorite pronte per la distillazione (C) e (D).