

RISULTATI PRELIMINARI SULL'UTILIZZO DI OLI ESSENZIALI PER LA DIFESA DELLO ZUCCHINO DALL'OIDIO

Lucia Donnarumma, Filomena Milano, Stefano Trotta, Maria Teresa Schiavi e Tiziana Annesi

Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura - Centro di ricerca per la patologia vegetale, lucia.donnarumma@entecra.it

In seguito alla revisione dei prodotti fitosanitari e all'entrata in vigore del Reg. 1107/2009 per la loro messa in commercio, la disponibilità di fungicidi si è ridotta; la Dir. 128/2009 promuove approcci alla protezione delle colture volti a ridurre l'uso di prodotti fitosanitari. Molti oli essenziali e i loro principali costituenti hanno evidenziato attività antifungina nei confronti di funghi patogeni delle piante, responsabili di malattie in pre e post raccolta: l'olio di garofano è autorizzato in Italia per l'uso in post raccolta su pomacee; l'olio di menta come antigerminativo delle patate.

I prodotti fitosanitari a base di oli essenziali presentano vantaggi quali la rapida volatilizzazione e la trascurabile residualità che li rendono prodotti a basso impatto ambientale e quindi proponibili per l'uso in agricoltura integrata e biologica. Lo scopo di questo lavoro è stato valutare l'efficacia, nei confronti dell'oidio dello zucchini, di oli essenziali utilizzati da soli o in alternanza a un fungicida di sintesi, quinoxifen, al fine di diminuirne l'utilizzo. Gli oli essenziali utilizzati nelle sperimentazioni sono stati: *tea tree oil* (*Melaleuca alternifolia*), rosmarino (*Rosmarinus officinalis* L.), chiodi di garofano (*Syzygium aromaticum* L.) e origano (*Origanum vulgare* L.).

Le sperimentazioni sono state condotte in serra, in condizioni controllate di temperatura e di luce. Il primo trattamento è stato eseguito alla comparsa dei sintomi della malattia. I trattamenti sono stati effettuati ogni sette giorni per cinque settimane.

Sono stati posti a confronto diversi programmi di difesa. La loro efficacia nei confronti dell'oidio dello zucchini è stata valutata secondo le linee guida EPP0 (*European and Mediterranean Plant Protection Organization*).

L'incidenza e la severità della malattia sono state determinate eseguendo i rilievi mediante l'osservazione di ogni pianta a 6 settimane dal primo trattamento. I risultati più promettenti sono stati riscontrati su piante trattate con oli essenziali alternati al quinoxifen e non è stata osservata fitotossicità ai dosaggi applicati. Le sperimentazioni hanno quindi evidenziato che un controllo integrato del patogeno con tali prodotti potrebbe essere praticabile.

Isman MB, Machial CM, "Advances in Phytomedicine, naturally occurring bioactive compounds" Elsevier, **2006**, pp. 29- 44.

Annesi T, Pompei V, Conte E *et Al.*, "Powdery mildew integrated control on zucchini with 'soft chemistry' materials and quinoxifen." *Comm. Appl. Biol. Sci., Ghent University*, **2011**, 76/2:65-70.

L'USO DI OLI ESSENZIALI PER IL CONTROLLO DEI MARCIUMI DELLA FRUTTA IN POSTRACCOLTA

Erica Feliziani, Gianfranco Romanazzi

Dipartimento di Scienze Agrarie, Ambientali ed Alimentari, Università Politecnica delle Marche, Ancona g.romanazzi@univpm.it

Il principale limite alla conservazione della frutta fresca è dato dai marciumi postraccolta, che possono causare ingenti perdite economiche. Il controllo dei marciumi in postraccolta è principalmente basato sull'uso di fungicidi. Tuttavia, a causa degli effetti negativi dei fungicidi sull'ambiente e sulla salute umana, nonché lo sviluppo di isolati fungini resistenti ai fungicidi, esiste un'attenzione crescente nel cercare alternative alla loro applicazione, che comprende anche l'uso di oli essenziali (Romanazzi *et al.*, 2012). Gli oli essenziali sono ottenuti da diverse piante, ed essi hanno recentemente incrementato la loro popolarità e interesse scientifico per la loro attività antimicrobica e la loro biodegradabilità (Lazar *et al.*, 2010).

Numerosi studi hanno evidenziato la loro attività *in vitro* contro i principali patogeni postraccolta, usando sia il metodo del substrato avvelenato, sia i dischi di carta imbevuti di oli essenziali. Gli oli essenziali più promettenti includono quelli di basilico (*Ocimum basilicum*), finocchio (*Foeniculum vulgare*), timo (*Thymus vulgaris*), origano (*Origanum vulgare*) e menta (*Mentha piperita*), i quali sono stati testati anche *in vivo* per valutare la loro efficacia nel controllare i marciumi postraccolta su diverse tipologie di frutta (Antunes e Cavaco, 2010).

I frutti sono stati immersi o irrorati con gli oli essenziali, oppure esposti ai loro vapori. Gli oli essenziali potrebbero rappresentare una strategia alternativa per il controllo dei marciumi postraccolta e portare alla produzione di biofungicidi che potrebbero essere usati sui prodotti ortofruttili freschi. Questo potrebbe ridurre o addirittura in alcuni casi sostituire l'uso dei fungicidi di sintesi, tuttora necessari per l'industria agroalimentare.

A ogni modo, ci sono due principali problematiche da dover considerare durante le prove della valutazione *in vivo* degli oli essenziali: gli effetti fitotossici e l'alterazione delle proprietà organolettiche della frutta. Sono tuttavia necessari ulteriori studi per l'ottimizzazione delle dosi, dei tempi di trattamento e della tipologia di applicazione.

Antunes MD, Cavaco AM, "The use of essential oils for postharvest decay control." A review. *Flavour Fragr. J.* **2010**, 25:351-66.

Lazar EE, Jobling JJ, Benkeblia N, "Postharvest disease management of horticultural produce using essential oils: Today's prospects." *Stewart Postharvest Rev.* **2010**, 6:1-9.

Romanazzi G, Lichter A, Milkota Gabler F, *et Al.*, "Natural and safe alternatives to conventional methods to control postharvest gray mold of table grapes." *Postharvest Biol. Technol.* **2012**, 63:141-7.

OLI ESSENZIALI: NUOVE PROSPETTIVE PER LA SALUTE E IL BENESSERE.

Fabio Firenzuoli

Centro di Medicina Integrativa, Centro di riferimento per la Fitoterapia, AOU Careggi, Università di Firenze
fabio.firenzuoli@unifi.it

Un tempo ritenuti aromi e fragranze capaci di sensazioni, stimolanti, inebrianti, piacevoli o meno piacevoli, utili in cucina ma anche in cosmetica, un concentrato di forze vitali non meglio conosciute, gli oli essenziali (OE) rappresentano oggi una frazione di sostanze farmacologicamente attive, disomogenea dal punto di vista chimico, polimorfa da quello farmacologico e tossicologico, affascinante da quello sensoriale, complessa da quello qualitativo, importante da quello applicativo.

Oggi sappiamo che la loro composizione chimica risente di numerose variabili (dalla genetica della pianta a fattori biotici, dalle condizioni di crescita alla raccolta, conservazione ed estrazione), e oltre al loro utilizzo tradizionale (per gli effetti balsamici, antinfiammatori, antispastici, analgesici, antimicrobici, ansiolitici, ecc.) nuove prospettive sono ad esempio rappresentate dal possibile effetto sinergico con altri farmaci, finalizzato a ridurre la resistenza ad antibiotici o citostatici.

Il nostro gruppo di ricerca multidisciplinare vede il coinvolgimento del Dipartimento di Biologia, Chimica, Farmacologia, Scienze della Salute e Consiglio per la ricerca e sperimentazione in Agricoltura dell'Università di Firenze, nonché il CNR di Sesto Fiorentino, il Centro di Ricerca per l'Agrobiologia e la Pedologia di Firenze, il laboratorio di Microbiologia e la Farmacia dell'AOU Careggi. Le nostre attuali linee di ricerca: analisi di attività antimicrobiche di OE, ricerche su endofiti di piante aromatiche che possano interferire con la sintesi di terpeni e terpenoidi, fonte loro stessi di sostanze ad attività antimicrobica, l'uso clinico degli OE, con i relativi aspetti farmaceutici e di fitovigilanza.

Una opportunità interessante per tutti coloro che fanno ricerca applicata sugli OE viene dalla rivista Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine che ci ha chiesto di editare un supplemento ad hoc, "Essential Oils: New Perspectives in Human Health and Wellness", al fine di poter raccogliere le migliori attuali ricerche internazionali e conoscenze scientifiche sull'argomento, rendendole disponibili in un volume peer reviewed, recensito in Pubmed in Open access (www.hindawi.com).

Le tematiche raccolte vanno dalla caratterizzazione chimica e controlli di qualità agli aspetti farmaco-tossicologici, dal controllo della sicurezza alla valutazione dell'efficacia, dalle più moderne biotecnologie alla nanomedicina, senza ovviamente trascurare l'aromaterapia tradizionale né l'uso a scopo di solo benessere.

AROMATIC COMPOSITION OF DIFFERENT CULTIVARS OF VITIS VINIFERA FLOWERS

Guido Flamini¹, Bernardo Mela², PierLuigi Cioni¹, Luisa Pistelli¹

¹ Università di Pisa, Dipartimento di Farmacia, luisa.pistelli@farm.unipi.it
² Università di Pisa, Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale, Pisa

Gli impollinatori forniscono un servizio essenziale sia per gli ecosistemi naturali che per quelli agricoli. Più dell'80% della produzione agricola, rappresentata per la maggior parte da frutta, verdura, olio vegetale, proteine vegetali, noci e spezie, dipende dall'impollinazione degli insetti. Tuttavia, studi dettagliati sui sistemi di impollinazione delle colture sono incompleti o non aggiornati e da anni si nota una crescente minaccia verso i servizi di impollinazione in molte parti del mondo (Klein *et al.*, 2007).

Per dare un contributo alla chimica dei composti volatili che possono essere coinvolti nella impollinazione, in questo lavoro sono stati esaminati i profili delle sostanze volatili emesse *in vivo* dai fiori di *Vitis vinifera* appartenenti a diverse cultivar: Canaiolo, Ciliegiole, Colombana, Colorino, Merlot, Montepulciano, Sangiovese, Trebbiano. Le analisi sono state eseguite con la tecnica HS-SPME-GC-MS.

Le classi chimiche dei composti volatili più rappresentate sono state quelle degli idrocarburi sesquiterpenici con percentuali tra il 55,4% nella cultivar di Montepulciano e 88,1% in quella Colorino, seguiti dai monoterpeni ossigenati che presentavano un andamento opposto, dal 6,9% del Colorino al 31,2% del Montepulciano.

Infine, per valutare se le sostanze volatili individuate potessero essere utili per discriminare tra i diversi modelli di composti volatili emessi da organi diversi della pianta, tutti i composti rilevati sono stati sottoposti ad analisi statistica multivariata. I risultati hanno mostrato somiglianze nel profilo di emissione di composti volatili tra le cultivar Ciliegiole e Canaiolo e tra Montepulciano e Sangiovese.

Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, *et al.*, "Importance of pollinators in changing landscapes for world crops", *Proceedings of the Royal Society B*, 2007. 274:303-313

USO POTENZIALE DEGLI OLI ESSENZIALI PER LA PREVENZIONE E IL CONTROLLO DELLA CONTAMINAZIONE DA LEGIONELLA PNEUMOPHILA NELLE ACQUE TERMALI

Stefano Fontana¹, Antonietta Girolamo¹, Annarita Stringaro², Marisa Colone², Maria Scaturro¹, Maria Luisa Ricci¹, Francesca Mondello¹

¹Dip. Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate e ²Dip. Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma stefano.fontana@iss.it

Il potere curativo delle acque termali è stato recentemente rivalutato, sebbene queste ultime rappresentino un potenziale

rischio per la salute. Infatti l'ambiente caldo umido costituisce un habitat ideale per la sopravvivenza e proliferazione di *Legionella pneumophila* (Lp), che trasmessa da aerosol prodotto da diversi dispositivi presenti in tali strutture, può causare una grave polmonite detta Malattia dei Legionari. La normativa vigente richiede che la concentrazione di *Legionella* nelle acque termali sia < 100 UFC/L. I disinfettanti chimici attualmente in uso nelle acque termali possono alterare le proprietà benefiche delle acque stesse e la loro efficacia può variare anche in relazione al chimismo delle varie tipologie di acque esistenti. È quindi necessario promuovere nuove strategie per prevenire e controllare la contaminazione da *Legionella* nelle acque termali. Precedentemente avevamo evidenziato l'attività battericida *in vitro* verso Lp del tea tree oil (TTO) estratto da *Melaleuca alternifolia* (Mondello *et al.*, 2009). Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'attività *in vitro* del principale componente attivo del TTO, il Terpinene-4-olo (TERP) nei confronti di 18 ceppi di Lp clinici e ambientali. L'attività antimicrobica è stata determinata con il metodo standard di micro-diluizione in brodo e con il *time killing*, mentre l'attività del vapore con il metodo di diffusione in micro-atmosfera. Inoltre sono stati osservati gli effetti citologici con il Microscopio Elettronico a Scansione (SEM). I risultati hanno mostrato che Lp è altamente sensibile al TERP con MIC₉₀=0,125% e MBC₉₀=0,5% v/v sovrapponibili a quelle del TTO, mentre il *time killing* ha mostrato un abbattimento di 1.3x10⁸ CFU/mL dopo 3' di esposizione a TERP 0.42%. L'effetto diretto del vapore di TERP ha causato la totale inibizione della crescita dopo 7 giorni di coltura. Il SEM ha evidenziato restringimenti e *blebs* sulla superficie delle cellule con TERP 1% a 25 °C e l'effetto è risultato più marcato a 40 °C. I nostri dati *in vitro* dimostrano che il singolo componente TERP, in fase liquida e gassosa, è il responsabile principale dell'attività anti-Lp del fitocomplesso TTO, anche a temperature elevate usualmente riscontrate nelle acque termali. A seguito di tali risultati, dopo opportune indagini tossicologiche e di efficacia *in situ*, TERP potrebbe essere utilizzato come microbicide alternativo per contrastare la contaminazione da Lp nelle acque termali.

OLEORESINS AND ESSENTIAL OILS IN THE TOPICAL TREATMENT OF INFLAMMATORY DISEASES: A PHYTOTHERAPEUTIC APPROACH

Fabrizio Gelmini¹, Viviana Bianchi¹, Luciano Belotti², Roberto Maffei Facino¹

¹Department of Pharmaceutical Sciences, University of Milan. fabrizio.gelmini@unimi.it; vi.vi_90@hotmail.it; roberto.maffefacino@unimi.it

²Fondazione Onlus Don Ambrogio Cacciamatta, Iseo (BS), gnignaghe@virgilio.it

It is well-known that some essential oils (EOs) and oleoresins (ORs) contain sesqui-, di-, and triterpenic structures responsible for their anti-inflammatory (AI) action. Although for some of them (*i.e.* caryophyllene, abietic acid, α-β amyryn, kahweol, boswellic acid) the AI activity is well established, their therapeutic

involvement in the treatment of inflammatory disorders is rather disregarded. Aim of this work was to explore the efficacy of an ointment and a cream, containing EOs and ORs from *Copaifera langsdorffii* (Copaiba) and *Boswellia carterii* (Oliban) respectively, in the treatment of atopic psoriasis (AP) and articular arthritis (AA). The GC-MS characterization of ORs showed a set of diterpenic acids (77.49%, Copaiba), and di- and triterpenes (35.72%, Oliban) with potential AI structures. The ointment was constituted by 5% of Copaiba dissolved in shea butter and by 0.1% of tea tree oil as enhancer and preservative; the cream (W/O) was composed by 5% of Oliban dissolved in shea butter/coconut oil (35%) and 1% of Eos, tea tree, lavender, thyme, mint and rosemary, as antioxidants and preservatives.

2 volunteers (mean age 36.5yr), affected by localized and recalcitrant AP on legs and elbows respectively, were recruited for a topical application of the ointment (twice/daily, 6 week). The efficacy of the treatment was assessed by a dermatologist through a clinical visual examination of erythema, scaling, and finger palpation of the lesions. At 6 weeks, the PASI score (RIF) showed that erythema, scaling and infiltration improved markedly (from moderate to mild).

The efficacy of the cream was evaluated in 10 volunteers (mean age 80.8yr) affected by AA, and subjected to the application on the painful joints three times/daily/4 weeks. At T=00 the Visual Analogue Scale (VAS for pain evaluation was determined), Protein C Reactive (PCR) and Erythrocyte Sedimentation Rate (VES) were determined. PCR and VES indicates that there were not inflammatory comorbidities, and the VAS scores ranged from 5 to 10 cm. At the end of the treatment a significant decrease in pain sensation was observed for 3 volunteers (VAS Δ score > 4); 2 did not show any amelioration while 3 claim for a completely loss of pain (VAS=0).

For both the treatments the tolerability of the topical formulations was estimated to be very good, and no drop-out cases were observed. The present work suggest that ORs, containing di-triterpenic structures may be considered a phytotherapeutic alternative to conventional pharmacological approach in the management of inflammatory-based diseases.

I REQUISITI DI PUREZZA DEGLI OLI ESSENZIALI, FARMACOPEA E DETERMINAZIONE QUALI-QUANTITATIVA ALLA LUCE DELLE NORME ISO.

Marco Guidotti

Istituto Superiore di Sanità - Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare (SPVSA) marco.guidotti@iss.it

Nel determinare la purezza degli oli essenziali, ottenuti per lo più con tecniche di distillazione in corrente di vapore, si devono considerare sia i saggi descritti nelle farmacopee dei paesi che commercializzano i prodotti, sia le buone pratiche di qualità che ogni laboratorio deve rispettare al fine di ottenere risultati comparabili con omologhi in altri paesi.

Infatti, ancorché, la produzione avvenga in un paese specifico, tali sostanze vengono distribuite in tutto il mondo - si pensi al tea tree oil (*Melaleuca alternifolia* Cheel) - e questo impone ai produttori e alle autorità di controllo di armonizzare norme e criteri di verifica. I sistemi di qualità, basati sulle norme ISO, in particolare, hanno lo scopo di assicurare l'uniformità dei risultati tra i vari laboratori attraverso il controllo di parametri quali: personale autorizzato all'analisi, apparecchiature, materiali, metodi e loro validazione, stima dell'incertezza di misura, riferibilità di misura, assicurazione di qualità dei risultati analitici.

L'USO DEGLI OLI ESSENZIALI NELLA LOTTA ALLE MALATTIE BATTERICHE DELLE PIANTE

Nicola Sante Iacobellis

Scuola di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali, Università degli Studi della Basilicata, Viale dell'Ateneo Lucano, 10, 85100 Potenza; E-mail: iacobellis@unibas.it

La lotta alle malattie batteriche delle piante costituisce un notevole problema nella pratica agricola perché, oltre gli antibiotici e composti di rame, sul mercato non sono disponibili altri battericidi. Tuttavia, gli antibiotici sono vietati nella pratica agricola in molti paesi incluso l'Italia, per la potenziale selezione di ceppi batterici resistenti e il conseguente trasferimento orizzontale di questo carattere ad altri batteri associati o agenti patogeni dell'uomo. L'uso di composti di rame, a causa della loro tossicità e soprattutto per l'impatto ambientale, è limitato e controllato nell'Unione Europea. Inoltre, la lotta alle malattie batteriche delle piante è complicata dal fatto che un gran numero di batteri fitopatogeni diffondono attraverso semi contaminati e/o infetti.

Le suddette considerazioni indicano la necessità di disporre di nuovi battericidi in agricoltura. Diversi studi hanno evidenziato la possibilità di utilizzare gli oli essenziali in medicina e patologia vegetale nonché nell'industria alimentare.

Recenti nostre osservazioni hanno indicato una significativa attività antibatterica degli oli essenziali di coriandolo, cumino, carvi e finocchio selvatico la cui composizione, come atteso, è risultata complessa. In questo studio sono riportati i risultati sull'attività antibatterica di 19 componenti puri dei suddetti oli essenziali verso 29 specie batteriche, nonché sulla capacità di eugenolo di disinfettare i semi di fagiolo contaminati da *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans* (Xcpf), l'agente della maculatura comune del fagiolo.

Esaminando i vari componenti, una notevole attività antibatterica è stata dimostrata dai terpenoidi e derivati fenilpropanoidi contenenti funzioni fenoliche e alcoliche, mentre ridotta appare quella dovuta ai componenti contenenti gruppi funzionali chetonici, aldeidici, eteri ed esteri.

Nessuna attività è stata osservata per i terpenoidi e fenilpropanoidi non ossigenati. Trattamenti di semi di fagiolo contenenti circa $2,6 \times 10^6$ UFC/semme di un ceppo di Xcpf con emulsioni di

eugenolo (1-8 mg/mL) ha determinato una riduzione altamente significativa dei batteri sui semi. In particolare, l'eugenolo a 4 mg/mL disinfetta semi contenenti $7,0 \times 10^2$ UFC/semme e minori. Tuttavia, dopo 72 h di incubazione i trattamenti con 2, 4 e 8 mg/mL di eugenolo hanno causato, rispettivamente, una riduzione della germinazione del 3%, 7% e 16%.

Nessun effetto sulla germinazione è stato osservato con eugenolo 1 mg/mL.

Questi dati indicano l'eugenolo come potenzialmente utile per la disinfezione delle sementi di fagioli da Xcpf. Comunque, ulteriori studi sugli effetti sulla vitalità del seme e sulla formulazione di oli essenziali appaiono necessari.

ESSENZE, AROMI E PROFUMI NELL'ANTICHITÀ E NEL MEDIOEVO: QUALITÀ, PRODUZIONE E USI

Gianni Iacovelli

Accademia di Storia dell'Arte Sanitaria, Lungotevere in Sassia, 3-Roma segreteria.asas@gmail.com

Una gran quantità di "essenze" ricavate in genere dalle piante venivano utilizzate nelle antiche civiltà mediterranee. Estratte per combustione o essiccamento, per tritramento o macerazione, venivano mescolate con acqua o altre sostanze. Erano parte integrante delle ritualità legate all'adorazione della divinità e alle complesse cerimonie del culto dei morti. Sotto forma di saponi, paste, infusi e polveri erano usate nella cosmetica e nella cura della bellezza femminile e maschile. Venivano usate in terapia, come è attestato nei papiri medici dell'antico Egitto e nelle tavolette mesopotamiche. Il loro uso passò nella Grecia preclassica e classica.

Delle erbe e delle loro proprietà si interessò nel III sec. a. C. Teofrasto, discepolo di Aristotele, e nel II sec. d. C. Dioscoride, che dette alla botanica medica una organica sistemazione.

A Roma, nella prima età imperiale, Plinio il Vecchio, nella sua enciclopedia *Naturalis Historia*, fra le tante "curiosità", parla anche delle essenze e dei loro molteplici usi.

Nel Medioevo, gli arabi riuscirono a isolare essenze e profumi con metodologie sofisticate: per ottenere le "acque aromatiche" utilizzarono per la prima volta l'estrazione in corrente a vapore. Anche la raffinata civiltà bizantina usava aromi, essenze e profumi in molte e svariate attività.

Arabi e bizantini trasferirono in occidente, specialmente con i testi salernitani (i famosi Antidotari) la cultura delle essenze aromatiche, che si arricchì di nuovi elementi con la conoscenza e la diffusione delle "spezie" provenienti dall'Oriente.

Con gli Hortus sanitatis, diffusi anche a stampa, siamo alle soglie del Rinascimento e dell'età moderna, quando con le nuove tecnologie introdotte dalla scienza alchemica si riuscì a estrarre dalle erbe i primi "oli essenziali".

ATTIVITÀ BIOCIDA DI OLI ESSENZIALI DI SPECIE DI EUCALYPTUS NEI CONFRONTI DEL NEMATODE GALLIGENO MELOIDOGYNE INCOGNITA

Sebastiano Laquale, Nicola Sasanelli, Trifone D'Addabbo

Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Bari. t.daddabbo@ba.ipp.cnr.it

I nematodi galligeni del genere *Meloidogyne* sono estremamente distruttivi e difficili da controllare, a causa della loro polifagia e della larga diffusione a livello mondiale. Esigenze di tutela ambientale e della salute umana impongono la sostituzione dei nematocidi di sintesi utilizzati nel controllo di tali parassiti con strategie di lotta a maggiore sostenibilità ambientale. I metaboliti secondari ad attività nematocida presenti in numerose specie vegetali, e in particolare gli oli essenziali e i loro costituenti, possono costituire una efficace alternativa all'impiego di fitofarmaci.

Al genere *Eucalyptus* (*Myrtaceae*) appartengono circa 700 specie arboree che contengono nelle foglie oli essenziali con un ampio spettro di attività biologiche, tra cui anche una attività nematocida. Il presente lavoro mostra i risultati di un esperimento su pomodoro in cui gli oli essenziali di *E. citriodora* e *E. globulosus* sono stati utilizzati per trattamenti a un terreno infestato da *M. incognita*.

Gli oli sono stati distribuiti in acqua alle concentrazioni di 50, 100 e 200 mL kg⁻¹ di terreno quattro settimane prima del trapianto di pomodoro cv. Rutgers.

Le piante sono state mantenute in serra a 25 °C per due mesi e al termine di questo periodo sono stati rilevati i loro parametri di crescita, l'indice di formazione di galle sulle radici e la popolazione del nematode sulle radici e nel terreno. Tutti i trattamenti con gli oli essenziali di entrambe le specie hanno significativamente ridotto il numero di uova e larve (Fig. 1) e la formazione di galle sulle radici di pomodoro e il tasso di riproduzione del nematode rispetto al testimone non trattato.

L'olio essenziale di *E. citriodora* ha complessivamente mostrato un'attività nematocida superiore rispetto a quello di *E. globulosus*. Gran parte dei trattamenti con i due oli essenziali ha inoltre indotto uno sviluppo dell'apparato radicale delle piante significativamente maggiore rispetto al testimone non trattato. I risultati sembrano confermare le potenzialità degli oli delle specie di *Eucalyptus* per lo sviluppo di formulati nematocidi alternativi ai prodotti fitosanitari di sintesi.

Andrés M.F., González-Coloma A., Sanz J. et al., "Nematicidal activity of essential oils: a review". *Phytochem. Rev.*, **2012**, 11:1-20.

Chitwood D.J., "Phytochemical based strategies for nematode control". *Ann. Rev. Phytopathol.*, **2002**, 40:221-249.

Isman M.B., "Plant essential oils for pest and disease management". *Crop Prot.*, **2000**, 19: 603-608.

Perry R.N., Moens M., Starr J.L., "Root-knot nematodes", CABI, **2009**, pp. 488.

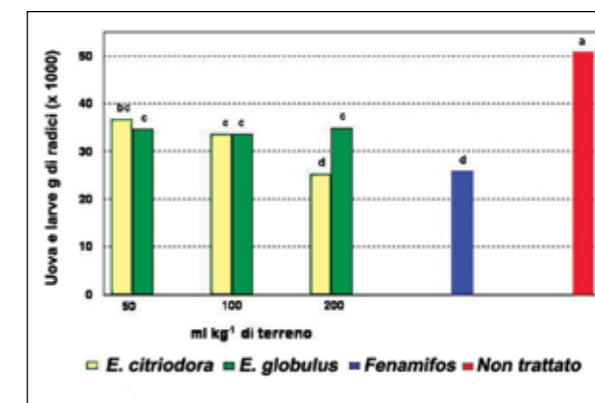


Fig. 1. Effetto dei trattamenti al terreno con dosi diverse di oli essenziali di *Eucalyptus citriodora* ed *E. globulosus* sulla moltiplicazione del nematode galligeno *Meloidogyne incognita* sulle radici di pomodoro cv Rutgers. Ciascun dato è la media di dieci ripetizioni. Le barre contrassegnate da lettere uguali corrispondono a tesi non significativamente differenti tra loro in base al test della Minima Differenza Significativa ($P = 0.05$).

INHIBITORY ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS COMPONENTS AGAINST THE FUNGAL PLANT PATHOGEN BOTRYTIS CINEREA

Marco Lucchetta², Riccardo Marcato^{2,1}, Szabina Lengye¹, Luca Sella¹ and Francesco Favaron¹

¹ Department TeSAF, University of Padova, viale dell'Università 16, Legnaro (PD), Italy

² COCCITECH SRL – Via Treviso 38 – San Vendemiano (TV), Italy

* marco@cocccitech.com

Botrytis cinerea is the fungus responsible of the grey mould disease of grape and other fruits. Chemical control is necessary when environmental conditions are favorable to the disease. In order to protect plants from disease the European Union by directive 2009/128/EC gives priority to non-chemical methods and encourages the use of natural non-toxic substances. Natural compounds are used as an alternative to chemical fungicides mostly to control post-harvest diseases. The major aim of this work is to compare the fungicidal activity against *B. cinerea* of 11 natural compounds that are produced in plants through the *shikimate/phenylalanine* pathway. In a spore germination assay six compounds (eugenol, thymol, carvacrol, isoeugenol, cinnamaldehyde and vanillin) completely inhibited the germination of conidia. These natural products also reduced the viability of the spores and inhibited the growth of *B. cinerea* mycelium (strain PM10) even if with different efficiency. These compounds are the major constituents of essential oils of many aromatic species. Some chemical characteristics, like the high lipophilic and the low value of polar surface area, are common among these compounds indicating an high affinity for phospholipids compartment and their difficult to overcome the external layer of the cell. Eugenol

showed the higher inhibitors activity (EC₅₀ about 76 µg/mL) against mycelium growth. Interesting, EC₅₀ and EC₈₀ values of cinnamaldehyde were close together. Combined treatments of eugenol and cinnamaldehyde, at protected the leaves against *B. cinerea* infection reducing about 80% the disease symptoms without showing phytotoxic effects. Currently we are performing grapevine treatment in the field with a co-formulate preparation of eugenol, cinnamaldehyde and other natural products to assess the capacity to reduced the *B. cinerea* inoculum. If field tests will show positive results these products may be a viable alternative or complement synthetic fungicides normally used in grapevine protection against gray mold.

ATTIVITÀ ANTIMICROBICA DI OLI ESSENZIALI NEI CONFRONTI DI CEPPI CLINICI DI *STREPTOCOCCUS PYOGENES* RESISTENTI AI MACROLIDI

Gloria Magi, Claudio Palmieri, Giulia Manoni, Bruna Facinelli

Università Politecnica delle Marche, Dipartimento di Scienze Biomediche e Sanità Pubblica. g.magi@univpm.it

Negli ultimi anni l'interesse per le proprietà antimicrobiche degli oli essenziali (OE) è cresciuto in seguito alla diffusione dell'antibiotico-resistenza e alla mancata introduzione di nuovi antibiotici. Lo streptococco β-emolitico di gruppo A (GAS, *Streptococcus pyogenes*) è uno dei più frequenti e importanti patogeni umani, responsabile di una vasta gamma di infezioni spesso distinte in infezioni di tipo suppurativo e in sequele non suppurative; tra le infezioni suppurative, la più frequente è la faringo-tonsillite acuta che rappresenta la maggior parte delle faringiti batteriche. L'antibiotico di prima scelta è rappresentato dalla penicillina a cui i GAS rimangono uniformemente sensibili. Tuttavia, i ceppi in grado di penetrare nelle cellule possono sfuggire all'azione dei β-lattamici, che rimangono confinati negli spazi extra-cellulari. L'alternativa è rappresentata dai macrolidi che penetrano nelle cellule ma nei confronti dei quali esiste un'elevata percentuale di resistenza. Ne consegue che i ceppi invasivi e resistenti ai macrolidi sono di difficile eradicazione.

In questo studio è stata valutata l'attività antimicrobica di OE di *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita*, *Origanum vulgare*, *Melaleuca alternifolia* e *Thymus vulgaris* e di carvacrolo e timolo, principali componenti di origano e timo, nei confronti di 35 ceppi faringei di GAS, eritromicino-resistenti e invasivi per cellule respiratorie umane (Facinelli *et al.*, 2001). Gli OE di origano e timo erano i più attivi e presentavano una MIC compresa tra 0.03-0.06%, mentre carvacrolo e timolo presentavano MIC comprese tra 64-128 µg/mL. È stato anche valutato l'effetto di concentrazioni sub-MIC di carvacrolo e timolo tramite (i) colorazione *live-dead*, (ii) curve di *killing* e (iii) prove di invasività cellulare. I risultati mostravano che (i) la membrana cellulare risultava danneggiata già dopo 1 h di incubazione; (ii) la curva di crescita mostrava un allungamento della fase di latenza; (iii) la capacità di invadere cellule respiratorie umane diminuiva in maniera significativa.

Questi risultati dimostrano che gli OE di origano e timo e carvacrolo e timolo hanno una spiccata attività antimicrobica nei confronti di GAS invasivi e resistenti ai macrolidi e che, anche a concentrazioni sub-MIC, carvacrolo e timolo sono in grado di danneggiare la membrana citoplasmatica e di interferire sia nella curva di crescita che nella capacità invasiva. Questi risultati ne suggeriscono pertanto un uso potenziale nella pratica clinica.

Facinelli B, Spinaci C, Magi G, et Al., "Association between erythromycin resistance and ability to enter human respiratory cells in group A streptococci." *Lancet*, 2001, 358:30-3.

EFFETTI FARMACOLOGICI DEGLI OLI ESSENZIALI SUL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

Giuseppe Marano

Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento del Farmaco. gmarano@iss.it

Un gran numero di studi e ricerche scientifiche è stato effettuato per valutare gli effetti sul sistema nervoso centrale di sostanze odorose volatili e degli stessi oli essenziali percepiti dall'olfatto. Le molecole profumate diffondono nell'aria e raggiungono la mucosa delle cavità nasali nelle cui cellule olfattive si innescano reazioni chimiche e si generano stimoli elettrici che raggiungono il sistema nervoso centrale con il conseguente rilascio di neurotrasmettitori come serotonina, adrenalina, encefaline e endorfine. Il sistema di percezione e trasduzione del segnale odoroso è talmente sofisticato che modificazioni anche minime della struttura chimica della molecola stimolante, della sua forma e delle sue dimensioni possono indurre forti cambiamenti nella percezione dell'odore, sia qualitativi sia quantitativi e un differente pattern di rilascio di sostanze chimiche a livello cerebrale. Inoltre, a differenza di quelli degli altri sensi, i neuroni olfattivi non raggiungono la neocorteccia ma un'area primordiale del nostro cervello, una zona dell'encefalo chiamata sistema limbico, nella quale hanno sede aree connesse con i meccanismi di controllo delle funzioni vitali ma anche degli stati emotivi, del tono dell'umore, della sessualità, dell'aggressività, dell'appetito e della riproduzione. È opinione comune che proprio queste connessioni siano responsabili degli effetti sullo stato d'animo, sul tono dell'umore, sul comportamento e sulle prestazioni mentali attribuiti agli oli essenziali.

Alcuni studi hanno testato gli effetti di oli essenziali su umore, attenzione, e stress mentale in soggetti sani. Altri studi hanno valutato gli effetti di vari odori sulle prestazioni mentali, il tempo di reazione e parametri autonomici o esaminato gli effetti diretti di odori sul cervello tramite elettroencefalogramma e studi di *imaging* funzionale. Tali studi hanno costantemente dimostrato che gli odori sono in grado di produrre effetti specifici sulla funzione neuropsichica e autonoma e influenzare significativamente l'umore, la salute percepita e lo stato di eccitazione. Inoltre questi studi suggeriscono anche che gli odori possono avere applicazioni terapeutiche nel contesto di condizioni psicologiche stressanti e avverse.

Lo scopo di questo articolo è quello di discutere alcuni degli effetti degli oli essenziali sul sistema nervoso centrale, come ad esempio

gli effetti analgesici e ansiolitici, ma anche gli effetti stimolanti su umore, apprendimento, memoria e attenzione attraverso una revisione della letteratura scientifica pubblicata recentemente su questo argomento. L'occasione è propizia anche per un esame della letteratura divulgativa laddove sono vantati profili aromacologici degli oli essenziali e loro miscele, al fine di verificarne una possibile validità scientifica e applicativa.

COMPOSIZIONE E ATTIVITÀ ANTIBATTERICA DELL'OLIO ESSENZIALE DI *MONARDA DIDYMA* L.

Paola Mattarelli¹, Lorenzo Nissen¹, Francesco Epifano², Paola Minardi³, Lisa Cavicchi¹, Maria Grazia Bellardi¹

¹ Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, paola.mattarelli@unibo.it

² Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi Gabriele D'Annunzio, Chieti, fepifanio@unich.it

³ Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, paola.minardi@unibo.it

La monarda (*Monarda didyma* L.) è una lamiacea perenne originaria dell'America del Nord dalle foglie ovato-lanceolate e fiori rosso scarlatto utilizzata sia come ornamentale, sia come aromatica (Fig. 1A). Infatti, studi eseguiti in Giappone nel 2005 hanno dimostrato una potente attività antimicrobica *in vitro* del suo olio essenziale nei confronti di *Trichophyton mentagrophytes* ed *Escherichia coli*. Nel 2012 è stata avviata una ricerca in Emilia-Romagna con lo scopo di verificarne *in vitro* le proprietà antimicrobiche dell'olio essenziale nei confronti di batteri patogeni sia per l'uomo e gli animali (*E. coli*, *Candida* spp.), sia per le piante (*Erwinia amylovora* e *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*). Nel mese di maggio è stato allestito un campo sperimentale nell'area adiacente al Plesso Serricolo Scarabelli del DipSA a Imola utilizzando piantine ottenute da seme commerciale (Fig. 1B); la coltivazione è stata costantemente monitorata durante le fasi di crescita al fine di selezionare piante visivamente sane (gli esemplari affetti da malattie fungine e/o virali sono stati eliminati).



Fig. 1. A) *M. didyma*. B) Piantine ottenute da seme in attesa del trapianto. C) Olio essenziale.

Nel mese di settembre è stata effettuata la raccolta della parte epigea, costituita quasi esclusivamente da fusti e foglie. L'olio essenziale, ottenuto mediante distillazione in corrente di vapore (Fig. 1C), analizzato in GC-MS, era ricco in timolo (57.95%) e p-cimene (10.32%). Presso i laboratori dell'area di microbiologia del DipSA sono state eseguite le analisi *in vitro* dalle quali è risultata un'elevata attività antibatterica nei

confronti di patogeni animali e vegetali, molto verosimilmente correlabile al fitocomplesso e/o specificatamente al timolo. L'olio essenziale del genere *Monarda* pertanto si conferma possedere una notevole attività antimicrobica, com'era già stato verificato per quello da *M. fistulosa* nei confronti di *E. coli* (Bellardi *et al.*, 2012). Questi studi aprono nuove possibilità di contenimento di malattie da agenti patogeni basate sull'impiego di sostanze naturali come gli oli essenziali; è quindi indispensabile trasferire la sperimentazione dal *vitro* al *vivo*.

Bellardi MG, Cavicchi L, Nissen L *et al.*, "Composizione ed attività antibatterica dell'olio essenziale di *Monarda fistulosa*." *Natural* 1, 2012, 115:80-87. Lavoro eseguito con un contributo della Fondazione Cassa di Risparmio di Imola nell'ambito del progetto "*Monarda* spp."

EFFETTO DI OLI ESSENZIALI DI ORIGANO, CANNELLA E CHIODI DI GAROFANO SULLA DINAMICA DI SVILUPPO DI *SALMONELLA*

Giovanni Mazzarrino¹, Annalisa Serio¹, Clemencia Chaves López¹, Antonello Paparella¹

¹ Università degli Studi di Teramo. Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali, gmazzarrino@unite.it

Tra i patogeni di interesse alimentare, *Salmonella* è uno dei principali agenti di tossinfezione. Nella sola Unione Europea, si riportano ogni anno oltre 100.000 casi di salmonellosi nell'uomo (fonti EFSA). Inoltre, la sempre più ampia diffusione di ceppi antibiotico-resistenti rende necessario lo sviluppo di strategie di controllo innovative: una possibile alternativa a metodi più tradizionali potrebbe essere offerta dall'impiego di oli essenziali. Il lavoro sperimentale ha valutato l'effetto di oli essenziali di origano (*Origanum vulgare*), cannella (*Cinnamomum zeylanicum*) e chiodi di garofano (*Caryophyllus aromaticus*) di origine commerciale (Zuccari srl, Trento) sulla dinamica di sviluppo di *Salmonella*. Dopo aver valutato le Minime Concentrazioni Inibenti (MIC) degli oli nei confronti di un ceppo di *Salmonella* Derby di origine alimentare, è stato monitorato lo sviluppo del microrganismo (5 giorni a 30 °C) in presenza di cinque concentrazioni diverse di oli essenziali (MIC, MIC x 2, MIC x 4, MIC/2 e MIC/4).

Il controllo non esposto agli oli cresceva rapidamente con una fase lag di circa 30 minuti, raggiungendo una densità ottica a 600 nm di 1,150 in circa 15 ore. In corrispondenza delle MIC, gli oli di cannella e di origano mostravano azione battericida, potenziata a concentrazioni pari a MIC x 2 e MIC x 4. In corrispondenza della MIC, l'olio di origano esercitava un'azione batteriostatica, controllando lo sviluppo del microrganismo nel tempo senza però determinarne l'inattivazione. A concentrazioni inferiori, invece, *Salmonella* Derby sviluppava, sebbene in tempi più lunghi rispetto al controllo (estensione della fase lag). Concentrazioni sub-letali di olio di chiodi di garofano (MIC/2 e MIC/4) e di cannella (MIC/2) mostravano un effetto batteriostatico, mentre la concentrazione inferiore (MIC/4) di olio di cannella

estendeva la fase lag del microrganismo ma ne consentiva comunque lo sviluppo. La differente efficacia degli oli saggiati è imputabile al diverso meccanismo di azione.

Dai dati sperimentali, l'olio di chiodi di garofano è risultato il più efficace nei confronti del ceppo di *Salmonella* Derby esaminato, mostrando un chiaro impatto sulla dinamica di sviluppo del microrganismo e inibendone la crescita anche a concentrazioni estremamente ridotte (MIC pari a 0,031%). I risultati ottenuti contribuiscono ad approfondire le conoscenze sull'azione antimicrobica degli oli essenziali, nell'ottica della messa a punto di strategie di controllo.

RUOLI ECOLOGICI E APPLICAZIONI DI OLI ESSENZIALI IN AGRICOLTURA E FORESTE

Marco Michelozzi

CNR-IGV, Istituto di Genetica Vegetale. marco.michelozzi@cnr.it

Gli oli essenziali sono miscele molto complesse costituite principalmente da terpeni volatili (mono- e sesquiterpeni). Queste molecole possono essere conservate all'interno dei tessuti oppure essere liberate nell'atmosfera.

I composti emessi dalle piante sono di particolare importanza per

la loro influenza sul bilancio totale di carbonio e nella chimica dell'atmosfera.

Terpeni volatili sono coinvolti nella chimica dell'atmosfera: le piante emettono nell'aria isoprene e monoterpeni che, a causa dell'alta reattività con radicali OH e composti antropogenici, alterano l'ozono della troposfera, influenzano la qualità dell'aria e possono essere coinvolti nel cambiamento climatico su scala regionale, e globale.

Queste molecole volatili svolgono molteplici ruoli nell'ecosistema: l'isoprene e altri composti volatili svolgono una funzione di difesa in risposta al variare dei fattori ambientali: le piante possono riemettere come isoprene fino al 10% del carbonio fissato fotosinteticamente, per proteggersi da stress termici e idrici tipici in ecosistemi fragili come quello Mediterraneo.

Numerosi studi hanno dimostrato che i composti terpenici svolgono una funzione importante nei meccanismi di difesa chimica della pianta contro l'attacco di batteri, virus, funghi ed erbivori.

I sistemi pianta-insetto offrono numerosi esempi di modelli del processo coevolutivo: queste sostanze attirano gli impollinatori e gli insetti fitofagi. Nelle interazioni tritrofiche alcune piante hanno evoluto la capacità di emettere molecole volatili per attirare insetti carnivori che attaccano gli insetti erbivori. Molecole volatili emesse da piante infestate possono indurre la sintesi di metaboliti di difesa nelle piante sane che si proteggono da un possibile attacco di parassiti (Fig. 1).

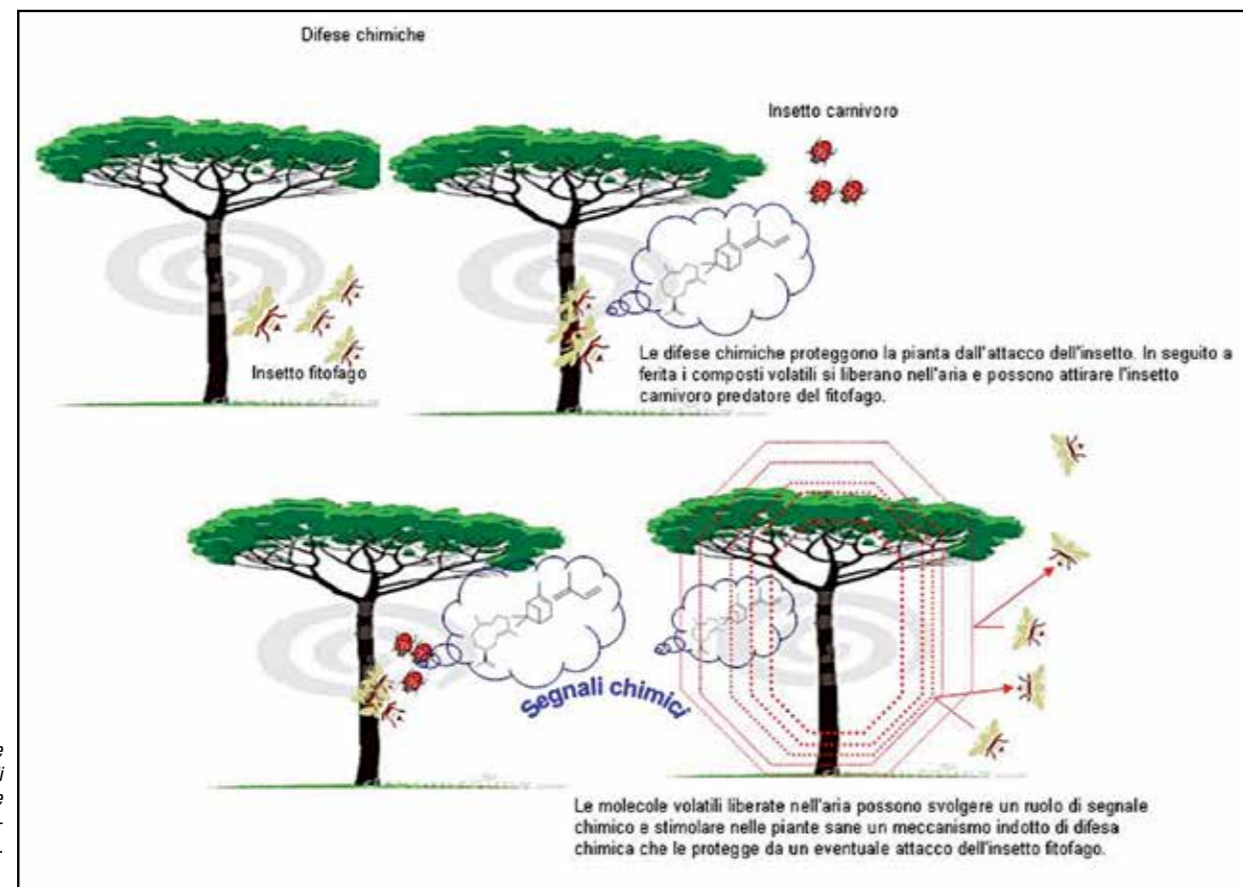


Fig. 1: Molecole volatili di oli essenziali nelle interazioni pianta-insetto.

L'uomo, da sempre, ha utilizzato questi prodotti naturali per il loro potere antisettico e le proprietà aromatizzanti come dimostra il ritrovamento di un'anfora di 7.000 anni fa in cui sono stati scoperti i resti di vino con resina di terebinto. La resina ricca di terpeni era aggiunta al vino per impedire lo sviluppo di batteri responsabili della produzione di aceto e per conferire particolari sapori e odori. Negli ultimi anni l'interesse per l'uso di queste sostanze per scopi commerciali e ambientali è stato sempre crescente. Molecole volatili trovano largo impiego nell'industria agro-alimentare come aromatizzanti e conservanti naturali degli alimenti. Sostanze terpeniche sono utilizzate per la produzione di insetticidi, erbicidi e feromoni naturali per una gestione ecosostenibile delle risorse agricole e forestali.

ARTEMISIA ARBORESCENS L.: RISORSA BIOCIDA ENDEMICA MEDITERRANEA

Marcello Militello¹, Alessandra Carrubba²

¹ Dottore Agronomo PhD -Palermo - marcellomilitello@tiscali.it

² D/Scienze Agrarie e Forestali, Università di Palermo - alessandra.carrubba@unipa.it

Il recente interesse dei consumatori nei confronti dei prodotti di origine naturale ha condotto all'intensificazione degli studi rivolti all'individuazione di nuove materie prime e al perfezionamento delle tecniche estrattive, con l'obiettivo di giungere all'individuazione e alla stabilizzazione dei componenti attivi.

Uno dei filoni più interessanti si orienta verso l'individuazione di principi attivi in grado di controllare alcune avversità di origine biotica. La ricognizione della flora spontanea Mediterranea ha portato all'individuazione di diverse specie che hanno fornito interessanti risultati sperimentali.

Il genere *Artemisia* riveste già da tempo un ruolo importante in questo ambito, grazie soprattutto ai numerosi studi effettuati su *A. annua*, che ne hanno permesso l'introduzione nella profilassi antimalarica.

Numerose sperimentazioni hanno coinvolto altre specie di *Artemisia* definite "minori", con l'obiettivo di individuare nuove materie prime di interesse industriale per il food & beverage, per i settori medico-farmaceutico, veterinario e cosmetico, oltre che per la difesa delle colture agrarie.

Un'interessante insieme di attività (insetticida, erbicida, fungicida e antimicrobica) è stato ad esempio accertato negli oli essenziali estratti da *Artemisia arborescens* L., una specie endemica del bacino del Mediterraneo.

Nel biennio 2010-2011, gli oli essenziali estratti da diverse accessioni spontanee di *A. arborescens* sono stati oggetto di indagini specifiche.

L'analisi fitochimica ha evidenziato come accessioni provenienti da aree geografiche diverse presentino oli con profili terpenici, a volte, profondamente differenti, con ovvie ripercussioni sull'attività biocida; più che all'esistenza di veri e propri

chemiotipi, questa ampia variabilità è probabilmente dovuta a una forte interazione genotipo-ambiente.

I risultati degli studi sull'attività biocida mostrano un'interessante efficacia insetticida su *Aonidiella aurantii*, oltre a una rilevante attività di controllo su funghi di interesse agrario (*Phytophthora citrophthora*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* e *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*).

È stata inoltre provata l'attività di controllo sulla crescita microbica di *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter* spp e *Salmonella* con risultati evidenti su alcuni ceppi di *Listeria*.

La biodiversità presente all'interno della flora spontanea del Mediterraneo rappresenta quindi un'importante risorsa per la ricerca di nuovi estratti vegetali di interesse industriale. Non si può tuttavia prescindere da un approccio metodologico coordinato e sinergico tra competenze differenti, di natura botanica, agronomica, farmacologica, medica e industriale.

EFFETTO DELL'OLIO ESSENZIALE DI MELALEUCA ALTERNIFOLIA SULLA CRESCITA E L'INVASIONE DELLE CELLULE TUMORALI

Agnese Molinari¹, Annarica Calcabrini¹, Giuseppina Bozzuto^{1,2}, Marisa Colone¹, Laura Toccaceli¹, Marco Diociaiuti¹, Annarita Stringaro¹

¹Dipartimento di Tecnologie e salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

²Istituto di Metodologie Chimiche, CNR, Roma
agnese.molinari@iss.it

I gravi effetti collaterali a danno degli organi vitali e l'insorgenza di fenomeni di farmacoresistenza pleiotropica e multifattoriale, rappresentano di fatto i maggiori ostacoli al trattamento chemioterapico. La scoperta di nuove sostanze naturali con attività citotossica e/o chemiosensibilizzante e la messa a punto di nuove strategie terapeutiche rappresenta quindi un'esigenza vitale per l'ottimizzazione del trattamento antitumorale.

Tramite studi condotti su linee di melanoma umano, farmacosensibili e farmacoresistenti, è stato possibile stabilire una potente attività citotossica e inibitoria dei processi di invasione tumorale esplicita dall'olio essenziale estratto da *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil).

In particolare, gli studi condotti nel nostro laboratorio hanno dimostrato che il tea tree oil è in grado di superare la resistenza all'apoptosi, mediata dalla P-glicoproteina, inducendo apoptosi caspasi-dipendente. Inoltre, inibisce la migrazione e l'invasione delle cellule di melanoma, inducendo gravi danni della membrana plasmatica con conseguente inibizione della fosforilazione delle proteine ERM e delle MAP kinasi.

Studi biofisici e ultrastrutturali (freeze-fracturing), condotti sia su cellule intere che su membrane modello (film di Langmuir Blodgett), hanno permesso di approfondire il meccanismo di interazione del tea tree oil con le membrane cellulari: l'olio interagisce preferenzialmente con il mare disordinato dei fosfolipidi piuttosto che con le strutture altamente ordinate dei rafts. Dati di letteratura hanno evidenziato che a livello

della membrana plasmatica una percentuale di molecole di P-glicoproteina può essere localizzata all'interno dei rafts, dove esplica la sua attività di trasporto mediante l'idrolisi di due molecole di ATP. La quota parte di molecole di P-glicoproteina localizzata al di fuori dei rafts, la cui funzione sembra essere ATP-indipendente, parteciperebbe alla regolazione della risposta all'apoptosi e ai processi di migrazione e invasione mediata dall'attivazione delle MAPkinasi.

In seguito al trattamento con il tea tree oil, l'alterazione dell'ambiente fosfolipidico, ma non dei rafts, porterebbe alla disattivazione dei segnali regolanti l'invasione e la sopravvivenza delle cellule di melanoma umano.

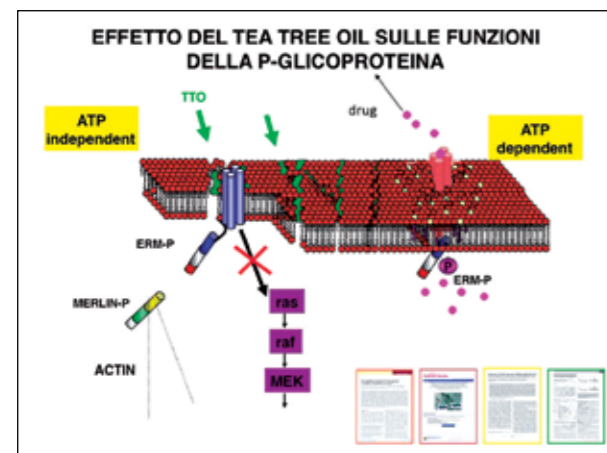


Fig. 1 Effetto del TTO sulla funzione della P-glicoproteina.

FOCUS SULL'OLIO ESSENZIALE DI TRACHYSPERMUM AMMI L.: UN POTENZIALE AGENTE TERAPEUTICO NELLA LOTTA ALLE INFEZIONI DA STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Francesca Mondello, Monica Monaco, Antonietta Girolamo, Maura Di Vito, Simona Recchia, Annalisa Pantosti

Istituto Superiore di Sanità - Dip. Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate - Roma
francesca.mondello@iss.it

Staphylococcus aureus (SA) è un patogeno a elevato grado di morbilità e mortalità sia in ospedale che in ambito comunitario. A partire dagli anni '60 del secolo scorso, ceppi di SA resistenti alla meticillina (MRSA) hanno fatto la loro comparsa, diffondendosi in ospedale (HA-MRSA) e divenendo negli anni una problematica di crescente importanza a livello globale. Alla fine degli anni '90, l'epidemiologia degli MRSA è cambiata con la comparsa di una nuova popolazione di MRSA emersa in comunità (CA-MRSA) con caratteristiche fenotipiche e genotipiche diverse da quelle degli HA-MRSA.

Di recente è emersa un'ulteriore popolazione di MRSA,

diffusa tra i maiali e altri animali, definita Livestock-Associated MRSA (LA-MRSA) in grado di causare anche infezioni umane. Con l'aumento della resistenza batterica agli antibiotici vi è un crescente interesse della ricerca per i prodotti naturali con lo scopo di sviluppare nuove classi di antimicrobici da utilizzare nella pratica clinica o da affiancare alle terapie convenzionali. Il presente studio ha lo scopo di valutare il potenziale antibatterico di oli essenziali (OE) e fitocostituenti estratti da varie specie di piante medicinali ampiamente usate "aneddoticamente" per il trattamento di varie patologie infettive.

In particolare è stata confrontata l'attività *in vitro* dell'OE dei frutti di *Trachyspermum ammi* L. (TAL), del tea tree oil (TTO) e del suo componente terpinene-4-olo (TERP) su 30 ceppi di SA di diversa origine, sia resistenti che sensibili (MSSA) e 2 ceppi ATCC MRSA e MSSA, mediante il metodo standard di microdiluzione in brodo suggerito dal CLSI. I risultati hanno mostrato che SA è altamente sensibile al TAL con MIC₉₀ = 0.25% (range 0,06 %-0,5% v/v) e MBC₉₀ = 0.5% (range 0,25%-0,5% v/v). Per il TTO i valori della MIC₉₀ e MBC₉₀ erano rispettivamente 1% e 4% (MIC range: 0,5%-2% v/v; MBC range: 0,5->4% v/v). Per il TERP i valori della MIC₉₀ e MBC₉₀ erano rispettivamente 0.75% e 1% (MIC range: 0,125%-0,5% v/v; MBC range: 0,25->1% v/v). La MBC₉₀ di TAL è risultata 8 volte più bassa di quella del TTO e di 2 volte di quella del TERP che a sua volta è 4 volte più bassa di quella del TTO.

I nostri dati preliminari sull'attività antimicrobica di TAL indicano che non esistono differenze significative di sensibilità tra i ceppi MSSA e MRSA e forniscono una base scientifica, attualmente carente in letteratura, riguardo agli usi tradizionali. Inoltre suggeriscono di considerare il TAL come microbica promettente e innovativo nei confronti di SA, anche se ulteriori indagini, incluse quelle tossicologiche, dovranno essere effettuate per una più vasta comprensione dell'attività, efficacia e tollerabilità.



Foto di Bames24

CARATTERIZZAZIONE DEL PROFILO AROMATICO E PROVE PRELIMINARI DI INIBIZIONE MICROBICA PER L'OLIO ESSENZIALE ESTRATTO DALLE BUCCE DI CITRUS RETICULATA cv. "TARDIVO DI CIACULLI"

Marta Moschetti¹, Valeria Guarrasi¹, Walter Randazzo², Aurora Aleo³, Luca Settanni², Giancarlo Moschetti², Caterina Mammina³, Francesca Barone², Pier Luigi San Biagio¹

¹Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche - Via U. La Malfa 153, Palermo marta.moschetti@pa.ibf.cnr.it; valeria.guarrasi@pa.ibf.cnr.it

²Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali, Università di Palermo - Viale delle Scienze 11, Palermo

³Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute e Materno Infantile "G.D'Alessandro", Sezione di Igiene, Università di Palermo

Il mandarino denominato "Tardivo di Ciaculli" ha avuto origine e viene prodotto in provincia di Palermo (Sicilia) nei pressi della contrada Ciaculli. Ha un'epoca di maturazione tardiva che si concentra nei mesi da febbraio ad aprile. I frutti sono piccoli e con buccia di medio spessore [1].

In generale gli oli essenziali di mandarino sono particolarmente apprezzati per le loro proprietà chimico-fisiche costituendo un fondamentale ingrediente nell'industria cosmetica e alimentare come esaltatori di sapore in cibi e bevande. Inoltre trovano un impiego sempre maggiore nelle biotecnologie applicate al settore agroalimentare per ottimizzare le proprietà nutrizionali degli alimenti e prolungarne la shelf life [2].

Nel presente lavoro è stata caratterizzata, mediante Gas Cromatografia accoppiata alla Spettrometria di Massa (GC-MS), la componente volatile dell'olio essenziale estratto dalle bucce dei frutti di Mandarino Tardivo di Ciaculli. Il pattern aromatico è stato poi confrontato con quello di un olio di mandarino commerciale. Sono state effettuate inoltre delle prove preliminari dell'attività antimicrobica sulla crescita di ceppi batterici Gram-positivi (*Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*) e Gram-negativi (*Salmonella enterica* e *Enterobacter hormaechei*), mediante il metodo della "diffusione in agar".

Per quanto riguarda le molecole volatili identificate, i risultati ottenuti presentano una significativa differenza nella classe dei monoterpeni ossigenati, con risaputa attività antimicrobica [4]. L'inibizione è risultata essere maggiore per i batteri Gram-positivi, in particolare per *Listeria monocytogenes*, rispetto ai Gram-negativi.

L'olio essenziale di Mandarino Tardivo di Ciaculli potrebbe quindi rappresentare una buona alternativa all'utilizzo di additivi sintetici in campo alimentare.

1. Vacante V. Calabrese F.; "Citrus, trattato di agrumicoltura" Edagricole. **2009** pp. 105-107.
2. Militello, et al. "Chemical composition and antibacterial potential of Artemisia arborescens L. essential oil." *Current Microbiology*, **2011**, 62: 1274-1281.
3. Settanni L. et al. "Inhibition of foodborne pathogen bacteria by essential oil extracted from citrus fruits cultivated in Sicily." *Food Control*, **2012**, 26: 326-330.

ORIGANO SICILIANO: CHEMOTIPI, CARATTERISTICHE ORGANOLETICHE E POTENZIALI ATTIVITÀ BIOLOGICHE

Edoardo M. Napoli, Giuseppe Ruberto

CNR Istituto di Chimica Biomolecolare, Via P. Gaifami 18, 95126 Catania
edoardo.napoli@icb.cnr.it, giuseppe.ruberto@icb.cnr.it

L'area del bacino del Mediterraneo rappresenta un ambiente peculiare in cui la Sicilia gioca un ruolo predominante. Nell'isola molte piante officinali trovano il loro habitat naturale e in tempi recenti stanno diventando una fonte di reddito per l'economia isolana¹.

Tutto ciò, unito al crescente interesse verso la riscoperta dei loro usi tradizionali, ci ha indirizzato allo sviluppo di uno studio sistematico mirato alla loro caratterizzazione biomolecolare con particolare riferimento a quella più tipica e diffusa: l'origano^{2,3}. Lo scopo di questo studio è stato quello di ottenere una panoramica dell'origano spontaneo Siciliano, attraverso un campionamento in grado di coprire tutte le zone dell'isola. Il materiale vegetale è stato classificato come *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*, i cui oli essenziali sono stati analizzati mediante GC-FID e GC-MS; ciò ha permesso l'identificazione di oltre ottanta componenti, il timolo è il componente principale seguito da *p*-cimene, γ -terpinene e carvacrolo.

Questo profilo distingue l'origano Siciliano, definibile come chemotipo a timolo, da quello di origine greca, in cui la stessa specie è un chemotipo a carvacrolo².

Questa differenza è stata anche messa in risalto da uno studio di valutazione sensoriale in cui è risultata una migliore accettazione del prodotto Siciliano rispetto ad analoghi commerciali⁴.

Le attività biologiche dell'olio essenziale hanno riguardato le attività antiossidante⁴ e antimicrobica attraverso lo studio dell'attività anti-biofilm su *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*⁵. Infine saranno presentati i primi dati sullo studio dell'effetto delle radiazioni ionizzanti come metodo di sterilizzazione dell'origano.

1. Napoli EM, Ruberto G "Sicilian aromatic plants: from traditional heritage to a new agro-industrial exploitation." In Kralis, J.F. (Ed.) *Spices: types, uses and health benefits*, Nova Science Publ. Inc. NY, USA **2012**, pp. 1-56.
2. Napoli EM, Curcuruto G, Ruberto G. "Screening the essential oil composition of wild Sicilian oregano." *Biochem. Syst. Ecol.* **2009**, 37:484-493.
3. Tuttolomondo T, La Bella S, Licata M et al. "Biomolecular characterization of wild Sicilian oregano: phytochemical screening of essential oils and extracts - evaluation of their antioxidant activities." *Chem. Biodiversity* **2013**, 10:411-433.
4. Bonfanti C, Ianni R, Mazzaglia A et al. "Emerging cultivation of Oregano in Sicily: Sensory evaluation of plants and chemical composition of essential oils." *Ind. Crops Prod.* **2012**, 35:160-165.
5. Schillaci D, Napoli EM, Cusimano MG et al. "Origanum vulgare subsp. *hirtum* essential oil prevented biofilm formation and showed antibacterial activity against planktonic and sessile bacterial cells." *J. Food Protect.* **2013**, in press.