

Foto di Aleksander

Cannabis sativa

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

***R. Iseppi,
*V. Brighenti,
**M. Licata,
*A. Lambertini,
*C. Sabia,
*P. Messi,
*F. Pellati,
*S. Benvenuti**

Abstract

I terpeni volatili risultano i composti che più si ritrovano in *Cannabis sativa* L. in quanto responsabili delle sue proprietà aromatiche. In questo studio sono stati caratterizzati 17 oli essenziali provenienti da diverse varietà di *C. sativa* L. utilizzando tecniche quali GC-FID e GC-MS. In totale 71 composti sono stati identificati e tramite l'analisi semi-quantitativa l' α -pinene, β -pinene, β -myrcene e β -caryophyllene sono risultati i maggiori componenti ritrovati negli oli essenziali valutati. Inoltre, tramite il metodo di GC-MS si sono quantificati anche i cannabinoidi presenti. L'attività antibatterica degli oli essenziali è stata valutata nei confronti di batteri patogeni e deterioranti gli alimenti utilizzando sia un test qualitativo quale l'*Agar Well Disk Diffusion Assay* che la determinazione della Minima Concentrazione Inibente (MIC). Le valutazioni delle proprietà antibatteriche hanno rivelato una buona attività per sei oli essenziali nei confronti di batteri Gram-positivi, suggerendo un possibile impiego di queste sostanze naturali per inibire o ridurre la proliferazione batterica nella filiera alimentare.

Introduzione

Negli ultimi anni l'interesse per *Cannabis sativa* L. è cresciuto notevolmente (1,2), in particolare modo gli studi scientifici relativi a questa specie, si sono concentrati sull'ampio profilo

farmacologico dei suoi cannabinoidi non psicoattivi, appartenenti alla classe dei terpenofenoli. Il cannabidiolo (CBD) risulta essere il cannabinoide più studiato, in quanto vanta proprietà antiossidanti, antinfiammatorie, antibatteriche, anti-proliferative e neuroprotettive con effetti anti-convulsioni (3,4). Oltre ai cannabinoidi, più di 120 terpeni sono stati identificati nell'olio essenziale di *C. sativa* L., composti in grado di donargli il suo odore caratteristico (5-7) e le sue capacità biologiche. Tra i terpeni caratterizzati l' α -pinene, β -myrcene e terpinolene rappresentano i composti più abbondanti tra i monoterpeni e β -caryophyllene, α -umulene e caryophyllene 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. Alcuni studi riportano attività antibatteriche nei confronti di batteri Gram-positivi e Gram-negativi, lieviti, fitopatogeni (8) e nei confronti di patogeni alimentari come *Listeria monocytogenes* (9). Generalmente questi studi riportano valutazioni eseguite su poche varietà di *C. sativa* L. e in partico-

lare sulla varietà Futura 75. Alla luce delle caratteristiche biologiche dell'OE di *C. sativa* L., lo studio che qui proponiamo prende in considerazione 17 OE di canapa appartenenti a diverse varietà (Tabella 1) che sono stati caratterizzati sotto il profilo fitochimico e unitamente ne è stata valutata l'attività antibatterica nei confronti di alcuni microrganismi patogeni e deterioranti isolati da alimenti carnei e da ambienti di lavorazione e trasformazione alimentare.

Caratterizzazione fitochimica

La caratterizzazione fitochimica dei 17 OE di canapa, provenienti da altrettante varietà, è stata condotta tramite tecniche analitiche quali la gascromatografia (GC-FID) e gascromatografia-spettrometria di massa (GC-MS). Relativamente alle 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 seguendo una rampa termica e utilizzando come carrier gas l'elio. La caratterizzazione quantitativa si è basata sulla determinazione degli LRI (Linear Retention Index) e sul confronto delle masse del picco pseudomolecolare e degli ioni di frammentazione con il database del National Institute of Standards and Technology (NIST, versione 1.4). 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, su cui ci soffermeremo tra poco. A seguito delle analisi GC-FID e GC-MS, 71 composti sono stati identificati, appartenenti alle classi chimiche dei monoterpeni, sesquiterpeni e cannabinoidi. I monoterpeni risultano essere la classe di composti volatili più rap-

presentata (dal 31% al 83%). Le varietà Finola (OE8) e Futura 75 (OE9) mostrano un contenuto di monoterpeni e sesquiterpeni ben bilanciato, mentre i campioni OE1 (Antà) e OE6 (Fedora 17) presentano una maggior quantità di sesquiterpeni a svantaggio dei monoterpeni, suggerendo un possibile invecchiamento dei due OE. Per i monoterpeni i più rappresentati risultano essere β -myrcene (4.5-39.2%), α -pinene (4.8-25.4%), α -terpinolene (1.9-9.6%), β -pinene (3.4-8.2%), *trans*-ocimene (2.2-7.1%) e limonene (0.1-5.7%). Gli OE delle varietà Carmagnola (OE3) e Zenith (OE17) risultano essere ricchi di geranile per il 1.6% e il 4.5% rispettivamente; inoltre questi due OE unitamente alle varietà Markant (OE12) e Santhica 27 (OE13) risultano essere gli unici che presentano estragolo (dal 1.8 al 6.2%). Tra i sesquiterpeni i più rappresentati risultano essere β -caryophyllene (7.6-29.8%) e α -humulene (2.2-10.1%). Le varietà Antà (OE1), Carmagnola CS (OE4), Fedora 17 (OE6), Finola (OE8), Futura 75 (OE9), KC Virtus (OE10) e Santhica 70 (OE14) mostrano un contenuto di ossido di caryophyllene abbastanza alto, fino al 9.5%, prodotto di ossidazione del β -caryophyllene, che può indicare la bassa qualità del materiale prelevato dalla pianta utilizzato per l'estrazione dell'OE o le non ottimali condizioni di stoccaggio o ancora l'invecchiamento del prodotto.

Tra i cannabinoidi si è riscontrata esclusivamente la presenza del cannabidiolo (CBD) dal 0.1 al 0.6%; in particolare le varietà Fedora 17 (OE6) e Futura 75 (OE9) mostrano il più alto contenuto di CBD (10).

Attività antibatterica degli oli essenziali di *Cannabis sativa* L.

Tra le diverse caratteristiche biologiche di *Cannabis sativa*

Oli Essenziali Varietà	Oli Essenziali Varietà	Oli Essenziali Varietà	Oli Essenziali Varietà
EO1	Antà	EO10	KC Virtus
EO2	Bialobrzerski	EO11	KC Zuzana
EO3	Carmagnola	EO12	Markant
EO4	Carmagnola CS	EO13	Santhica 27
EO5	Dioica 88	EO14	Santhica 70
EO6	Fedora 17	EO15	Tiborszallasi
EO7	Ferimon	EO16	Tygra
EO8	Finola	EO17	Zenith
EO9	Futura 75		

Tabella 1: Oli essenziali utilizzati provenienti da 17 differenti varietà di *Cannabis sativa* L.

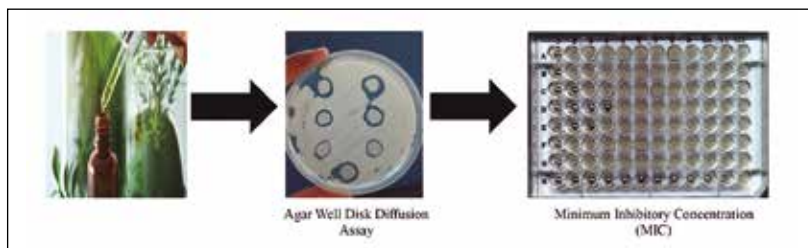


Figura 1: Metodiche utilizzate per la determinazione dell'attività antibatterica nei 17 OE di *C.sativa* L. nei confronti di batteri isolati da alimenti carnei e da ambienti di lavorazione e trasformazione alimentare.

L. e dei 17 OE l'attività antibatterica è quella su cui ci siamo voluti soffermare. Nello studio qui proposto abbiamo utilizzato batteri classificati (ATCC-American Type Culture Collection e NCTC-National Collection of Type Cultures), batteri patogeni e deterioranti isolati da alimenti, in particolare alimenti carnei, e da ambienti di lavorazione e trasformazione alimentare. Per valutare l'attività antibatterica degli OE è stato utilizzato in primis un saggio di tipo qualitativo, l'Agar Well Disk Diffusion Assay, per l'esecuzione di uno screening preliminare, in accordo con le procedure del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012) (11). Semplicemente, piastre di terreno non selettivo agarizzato (Tryptic Soy Agar, TSA) sono state uniformemente seminate con una sospensione batterica, per ogni ceppo testato, di circa 10^6 UFC/mL (Unità Formanti Colonia-UFC). Dischetti sterili di 6 mm di diametro sono stati impregnati con $10 \mu\text{L}$ di ogni OE valutato e adagiati sulla superficie della piastra precedentemente seminata. Due antibiotici di uso clinico comune, quali ampicillina e ciprofloxacina sono stati impiegati come controllo positivo. Le piastre utilizzate per questo test sono state incubate a 37°C per 24 h e successivamente è stato misurato l'alone di inibizione (in millimetri) della crescita batterica intorno al dischetto imbevuto di OE (12). L'alone di inibizione della crescita batterica ci aiuta a ottenere una quantificazione qualitativa dell'attività antibat-

terica degli OE nei confronti dei batteri utilizzati (Figura 1).

Questo semplice screening ha permesso di evidenziare l'assenza di attività antibatterica nei confronti di batteri Gram-negativi, quali alcune *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica*) e *Pseudomonas aeruginosa*, e una buonissima attività verso batteri Gram-positivi quali *Enterococcus*, *Listeria*, *Staphylococcus* e *Bacillus*. In particolare le varietà Antàl (OE1), Carmagnola (OE3), Futura 75 (OE9), KC Zuzana (OE11), Tygra (OE16) e Zenith (OE17) hanno mostrato un'ottima attività nei confronti dei ceppi appartenenti ai generi *Enterococcus*, *Listeria* e *Staphylococcus*, soprattutto se confrontati con i due antibiotici di riferimento. Questo test ci ha permesso di eliminare dalle successive valutazioni la varietà Markant (OE12) che ha evidenziato una bassissima attività antibatterica. Inoltre, questo saggio qualitativo ha dato indicazioni sull'attività di determinati OE su specifici batteri, in modo da proseguire eseguendo la determinazione della Minima Concentrazione Inibente (MIC) (Figura 1) di ogni OE esclusivamente nei confronti dei ceppi batterici per i quali l'alone di inibizione della sua crescita si fosse attestato su valori maggiori di 16 mm di diametro (10).

I valori di MIC degli OE sono stati determinati con il metodo della microdiluizione in piastra, seguendo le linee guida del CLSI (11). Il test è stato eseguito utilizzando micropiastre sterili da

96 pozzetti nei quali sono stati distribuiti rispettivamente $95 \mu\text{L}$ di brodo nutriente e $5 \mu\text{L}$ di una sospensione batterica di circa 10^6 UFC/mL. Successivamente a ogni pozzetto sono state aggiunte $100 \mu\text{L}$ di diluizioni scalari dei singoli OE per ottenere concentrazioni dai 512 ai $0.25 \mu\text{L}$ OE/mL (13). Come controllo negativo è stato utilizzato un pozzetto contenente esclusivamente brodo nutriente e ceppo batterico in esame, mentre pozzetti contenenti brodo nutriente, ceppo batterico e singoli antibiotici (ampicillina e ciprofloxacina), diluiti fino a ottenere le medesime concentrazioni scalari degli OE, sono stati utilizzati come controllo positivo. Le micropiastre sono state incubate a 37°C per 24 h e i valori di MIC si sono definiti a seguito della lettura della densità ottica alla lunghezza d'onda di 570 nm, utilizzando un lettore per micropiastre. La MIC viene così definita come la più bassa concentrazione di OE in grado di inibire la crescita batterica visibile dei microrganismi testati espressa in $\mu\text{g/mL}$. I valori di MIC confermano i dati del test preliminare dell'Agar Well Disk Diffusion, infatti i 6 OE (OE1, OE3, OE9, OE11, OE16 e OE17) che hanno presentato gli aloni di inibizione con il maggior diametro risultano essere quelli con le MIC più basse (Tabella 2). Per i ceppi di *Staphylococcus*, gli OE che hanno evidenziato la miglior attività sono risultati gli OE1, OE9 e OE11, quest'ultimo si è dimostrato anche il più attivo nei confronti dei ceppi di *Listeria*. Nei confronti del genere *Bacillus* i valori di MIC dei migliori 6 OE risultano essere simili a quelli dell'ampicillina, mentre gli OE1, OE3, OE6 e OE9 presentano valori minori a quelli dell'antibiotico nei confronti di *Bacillus cereus*. Per quanto riguarda i ceppi di *Enterococcus*, i risultati si presentano molto interessanti, in quanto l'attivi-

tà antibatterica per la maggior parte dei 6 OE risulta essere migliore rispetto a quella della ciprofloxacina. I valori di MIC dei campioni OE1, OE9 e OE11 risultano minori rispetto a quelli dell'antibiotico per la maggior parte dei ceppi di *Enterococcus* siano essi di collezione che di isolamento alimentare. L'OE3 per due isolati (*E. faecium* V5 e *E. faecalis* V6) evidenzia valori di MIC da 8 a 10 volte inferiori a quelli della ciprofloxacina.

Anche i valori di MIC relativi ai composti puri, quali CBD e la maggior parte dei terpeni ritrovati negli OE sono stati determinati per ottenere maggiori informazioni sulla loro attività antibatterica (Tabella 3). In generale, i composti puri mostrano attività antimicrobica; il CBD e alcuni monoterpeni quali α -pin-

ene, β -pinene e β -myrcene presentano una spiccata attività nei confronti dei generi *Listeria* ed *Enterococcus*, in accordo con altri autori (8). Per i generi *Staphylococcus* e *Bacillus* i composti puri non mostrano valori di MIC inferiori agli antibiotici testati a eccezione dell' α -pinene, che nei confronti di *B. cereus* presenta valori inferiori o uguali a quelli dell'ampicillina (10).

Composizione chimica e attività biologica: possibili relazioni

Andando a ricercare una possibile relazione tra i valori di MIC ottenuti dai 17 OE e la loro composizione chimica ci risulta difficile l'identificazione precisa dei composti responsabili dell'attività antibatterica. Soffermendoci sulle singole specie

di microrganismi, possiamo affermare che per quanto riguarda *Staphylococcus* gli OE1, OE9 e OE11 hanno evidenziato l'attività migliore. Questi OE presentano una discreta o elevata (OE9) quantità di CBD e una bassa percentuale relativa di monoterpeni, a eccezione dell'OE11 che mostra una buona percentuale relativa di α - e β -pinene.

Si potrebbe quindi affermare che l'attività antibatterica di questi OE sia a carico del CBD, anche se il composto puro non ha evidenziato un'elevata attività nei confronti del genere *Staphylococcus*. Non resta che pensare a una più probabile attività sinergica tra il CBD e i composti terpenici che potrebbero andare a favorire una sua miglior penetrazione all'interno della cellula batterica. Nel caso del genere *Listeria*, i

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

Bacterial strains	EO1	EO2	EO3	EO4	EO5	EO6	EO7	EO8	EO9	EO10	EO11	EO13	EO14	EO15	EO16	EO17	AMP	CIPRO
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	2	-	-	-	-	-	-	-	16	8	2	-	-	-	-	-	-	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> 18As*	-	-	-	16	32	-	-	-	-	16	-	-	-	-	-	-	-	16
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 18Bs*	4	-	-	16	-	16	-	-	1	8	-	16	-	-	-	-	-	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> 386*	-	-	-	-	-	-	-	32	-	-	-	16	16	-	-	-	-	16
<i>Listeria monocytogenes</i> NCTC 10888	16	8	-	-	4	32	-	-	8	8	-	16	-	16	-	-	-	0.25
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932	4	-	-	32	-	-	-	32	8	16	4	16	-	-	-	-	-	0.25
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 5008	8	-	2	-	-	-	8	4	-	8	2	16	-	-	4	4	0.25	-
<i>Listeria monocytogenes</i> 70*	4	-	-	-	32	32	2	16	-	-	4	-	-	-	-	-	2	-
<i>Listeria monocytogenes</i> 139*	-	-	-	-	32	-	8	32	-	-	2	-	-	1	-	-	0.25	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	2	2	-	16	0.5	4	-	1	8	2	2	16	1	1	4	4	-	4
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541	2	-	-	32	-	16	4	-	4	16	16	16	32	-	-	-	-	8
<i>Enterococcus faecalis</i> V3*	1	-	2	32	32	4	-	4	-	4	16	32	-	4	-	-	-	0.25
<i>Enterococcus faecalis</i> V4*	2	-	-	-	-	32	8	16	16	16	2	-	-	-	-	-	-	16
<i>Enterococcus faecium</i> V5*	-	-	1	-	16	4	8	8	1	16	2	2	32	16	-	-	-	8
<i>Enterococcus faecalis</i> V6*	2	-	0.5	-	16	16	-	8	1	16	16	-	-	8	-	-	-	16
<i>Enterococcus faecium</i> EQ19*	2	-	-	-	8	4	4	8	8	16	16	-	2	-	-	-	-	4
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	2	8	2	8	8	16	-	16	4	-	8	-	1	2	-	4	2	-
<i>Bacillus cereus</i> EB 362	1	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	16	-	-	-	-	2	-
<i>Bacillus</i> spp. 1*	2	8	-	-	8	1	-	-	4	8	16	16	-	4	-	-	1	-
<i>Bacillus</i> spp. 2*	0.5	-	-	-	16	16	8	16	-	16	-	16	32	16	-	4	0.25	-
<i>Bacillus</i> spp. 3*	-	-	2	8	-	16	8	32	-	-	16	-	16	16	4	-	1	-
<i>Bacillus</i> spp. 4*	2	-	2	32	16	1	-	-	4	-	16	-	-	4	-	4	0.25	-
<i>Bacillus</i> spp. 5*	2	-	2	-	-	4	-	32	4	-	-	16	-	4	-	-	2	-
<i>Bacillus</i> spp. 6*	2	-	1	16	-	4	8	-	4	16	-	16	-	8	4	-	1	-
<i>Bacillus</i> spp. 9*	-	-	2	8	8	32	-	-	8	-	-	-	-	4	-	-	1	-
<i>Bacillus</i> spp. 10988*	2	-	-	-	-	4	2	32	4	-	16	16	-	8	-	4	2	-
<i>Bacillus</i> spp. 18100*	0.5	-	-	-	-	16	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	0.5	-
<i>Bacillus</i> spp. 18102*	2	-	2	-	-	16	-	-	4	-	16	16	-	16	-	-	0.25	-

*Batteri isolati da alimenti carni. * Batteri isolati da ambienti di lavorazione e trasformazione alimentare.

Tabella 2: Minima Concentrazione Inibente (MIC) dei 17 oli essenziali di canapa e di due antibiotici (Ampicillina, AMP, e Ciprofloxacina, CIPRO) nei confronti dei ceppi batterici testati. I valori sono espressi in µg/mL

Bacterial strains	CBD	α-Pinene	β-Pinene	β-Myrcene	α-Terpinolene	β-Caryophyllene	Ampicillina	Ciprofloxacina
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	8	4	4	8	8	16	-	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> 18As*	32	16	32	8	32	32	-	16
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 18Bs*	16	8	4	16	16	32	-	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> 386*	32	16	8	32	32	32	-	16
<i>Listeria monocytogenes</i> NCTC 10888	1	1	2	2	2	1	0.25	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932	2	2	2	1	1	1	0.25	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 5008	1	1	0.5	2	1	2	0.25	-
<i>Listeria monocytogenes</i> 70*	4	2	2	2	4	4	2	-
<i>Listeria monocytogenes</i> 139*	4	2	2	2	4	1	0.5	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	1	2	0.5	1	2	1	-	4
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541	2	1	2	8	4	8	-	8
<i>Enterococcus faecalis</i> V3*	1	1	1	4	1	2	-	0.25
<i>Enterococcus faecalis</i> V4*	2	4	1	4	8	4	-	16
<i>Enterococcus faecium</i> V5*	4	1	4	4	8	16	-	8
<i>Enterococcus faecalis</i> V6*	4	1	2	8	16	1	-	16
<i>Enterococcus faecium</i> EQ19*	1	4	2	1	2	4	-	4
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	8	8	4	32	16	1	2	-
<i>Bacillus cereus</i> EB 362	8	2	1	2	4	8	2	-
<i>Bacillus</i> spp. 1*	4	4	2	4	8	4	1	-
<i>Bacillus</i> spp. 2*	8	8	4	4	16	16	0.25	-
<i>Bacillus</i> spp. 3*	16	8	16	8	8	16	1	-
<i>Bacillus</i> spp. 4*	8	16	16	16	16	8	0.25	-
<i>Bacillus</i> spp. 5*	2	4	1	2	4	4	2	-
<i>Bacillus</i> spp. 6*	4	2	1	4	4	8	1	-
<i>Bacillus</i> spp. 9*	4	8	4	8	16	16	1	-
<i>Bacillus</i> spp. 10988*	4	4	4	4	8	16	2	-
<i>Bacillus</i> spp. 18100*	4	8	4	8	16	8	0.5	-
<i>Bacillus</i> spp. 18102*	8	8	4	2	16	8	0.25	-

*Batteri isolati da alimenti carni. * Batteri isolati da ambienti di lavorazione e trasformazione alimentare.

Tabella 3: Minima Concentrazione Inibente (MIC) del cannabidiolo (CBD) e dei maggiori terpeni presenti negli oli essenziali di canapa comparata con quella di due antibiotici (Ampicillina e Ciprofloxacina) nei confronti dei ceppi batterici testati. I valori sono espressi in µg/mL

composti puri presentano buoni valori di MIC, specialmente l' α - e β -pinene, ma gli OE con buona attività antibatterica mostrano percentuali molto variabili di questi due monoterpeni rendendo così difficile una correlazione tra composizione chimica e attività biologica. Anche relativamente a *Enterococcus* i composti puri con la maggior attività, comparata con quella della ciprofloxacina, risultano essere il CBD e i monoterpeni α -pinene, β -pinene e β -myrcene. Le loro concentrazioni relative negli OE più attivi risultano essere simili per la quantità di CBD, ma molto differenti per i tre monoterpeni, infatti OE1 e OE9 ne presentano un basso contenuto a differenza degli OE3 e OE11, dove questi composti si riscontrano in alte percentuali. Medesime le considerazioni per il genere *Bacillus* e in particolare per il ceppo *B. cereus*, nei confronti del quale sia l' α - che il β -pinene vantano attività antibatterica migliore dell'ampicillina, ma i due OE (OE1 e OE3) con i migliori valori di MIC non sono quelli con le più alte percentuali di questi due composti (10).

Tutte queste considerazioni ci fanno ritenere che l'attività antibatterica degli OE sia probabilmente dovuta a un forte sinergismo tra i differenti composti che costituiscono questo ricco fitocomplesso.

Conclusioni

Nello studio proposto si sono caratterizzati 17 OE provenienti da diverse varietà di *C. sativa* L. utilizzando tecniche quali GC-FID e GC-MS che hanno permesso l'identificazione di 71 composti appartenenti alle classi chimiche dei monoterpeni, sesquiterpeni e cannabinoidi. Tutti gli OE e i composti puri più rappresentati sono stati valutati per evidenziare una loro possibile attività antibatterica nei confronti di

batteri Gram-positivi e Gram-negativi isolati da alimenti e da ambienti di lavorazione e trasformazione alimentare. I risultati ottenuti dimostrano come gli OE di canapa possano rappresentare un valido supporto nell'inibire o ridurre la presenza di batteri Gram-positivi patogeni e deterioranti gli alimenti. Purtroppo però manca ancora la completa chiarezza sulla relazione tra composizione chimica e attività biologica di questi composti, che sicuramente si deve a forti interazioni di sinergismo tra i vari componenti che costituiscono questo vario fitocomplesso. A seguito di ulteriori studi per comprendere come i componenti degli OE possano essere responsabili della loro attività antibatterica, questi composti naturali si candidano come importanti supporti per inibire o ridurre la carica batterica nella filiera alimentare. In un futuro, forse non troppo lontano, gli OE potrebbero essere utilizzati come antibatterici naturali con un possibile impiego all'interno di prodotti per la sanificazione di superfici di lavorazione o all'interno di packaging alimentari per poter estendere la shelf-life degli alimenti.

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

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

Bibliografia

- 1 - Leghissa, A; Hildenbrand, Z.L; Schug, K.A. "The imperatives and challenges of analyzing *Cannabis* edibles.", *Current Opinion Food Science*, 2018, 28, 18–24.
- 2 - Leghissa, A; Hildenbrand, Z.L; Schug, K.A. "A review of methods for the chemical characterization of *Cannabis* natural products." *Journal of Separation Science*, 2018, 41, 398–415.

- 3 - Brighenti, V; Pellati, F; Steinbach, M; et AL., "Development of a new extraction technique and HPLC method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type *Cannabis sativa* L. (hemp)." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2017, 143, 228–236.
- 4 - Appendino, G; Gibbons, S; Giana, A; et AL., "Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa*: A structure-activity study." *Journal of Natural Products*, 2008, 71, 1427–1430.
- 5 - Fiorini, D; Molle, A; Nabissi, M; et AL., "Valorizing industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) by-products: Cannabidiol enrichment in the inflorescence essential oil optimizing sample pretreatment prior to distillation." *Industrial Crops and Products*, 2019, 128, 581–589.
- 6 - Ibrahim, E.A; Wang, M; Radwan, M.M; et AL., "Analysis of terpenes in *Cannabis sativa* L. using GC/MS: Method development, validation and application." *Planta Medica*, 2019, 85, 431–438.
- 7 - Zengin, G; Menghini, L; Di Sotto, A; et AL., "Chromatographic analysis, in vitro biological activities and cytotoxicity of *Cannabis sativa* L. essential oil: A multidisciplinary study." *Molecules*, 2018, 23, 3266.
- 8 - Nissen, L; Zatta, A; Stefanini, I; et AL., "Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.)." *Fitoterapia*, 2010, 81, 413–419.
- 9 - Marini, E; Magi, G; Ferretti, G; et AL., "Attenuation of *Listeria monocytogenes* virulence by *Cannabis sativa* L. essential oil." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018, 8, 293.
- 10 - Iseppi, R; Brighenti, V; Licata, M; et AL., "Chemical characterization and evaluation of the antibacterial activity of essential oils from fibre-type *Cannabis sativa* L. (hemp)." *Molecules*, 2019, 24, 2302.
- 11 - CLSI. "Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 11th ed.; Approved Standard". *CLSI Document M02-A11; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA*, 2012.
- 12 - Klancnik, A; Piskernik, S; Jersek, B; et AL., "Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts." *Journal of Microbiology Methods*, 2010, 81, 121–126.
- 13 - Şahin, F; Güllüce, M; Daferera, D; et AL., "Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey." *Food Control*, 2004, 15, 549–557.