



Citrus limon

**DAL NUOVO RICETTARIO FIORENTINO
DEL 1498 UN'OPPORTUNITÀ PER
IL CONTROLLO DELLE CARICHE
MICROBICHE AMBIENTALI
IN FARMACIA**

Dalle conoscenze tradizionali all'attualità, in questo interessante studio è stata valutata, con i metodi della moderna ricerca scientifica, l'efficacia di una antica formulazione a base di oli essenziali nel ridurre la carica batterica ambientale diffondendola in un luogo molto frequentato e di notevole passaggio: la storica Farmacia Comunale Santa Maria Novella, ubicata nella stazione ferroviaria di Firenze.

***Fabrizio Gelmini**
****Giovanna Zucconi**
*****Cristian Testa**
*****Stefania Angioletti**
***Giangiacomo Beretta**

Introduzione

Quali sono gli effetti di una fragranza sull'ambiente e sulle persone? Domanda posta raramente ma necessaria, soprattutto in un periodo in cui i *claim* "sanificanti" si moltiplicano. Nel caso di *Apoteca Natura 1498*, profumo per ambiente creato da Serra&Fonseca per il Network internazionale di farmacie del Gruppo Aboca, verificarne le caratteristiche in diffusione ha significato anche saggiare la coerenza dei valori e della narrazione alla base delle scelte formulative.

Con oltre 900 farmacie in Italia, Spagna e Portogallo, Farmacie Apoteca Natura (Gruppo Aboca; www.apotecanatura.it) pone al centro la *Persona*, il suo percorso di *Salute Consapevole*, il rispetto del suo organismo e dell'ambiente in cui vive. Tutto ciò grazie alla specializzazione sulle principali esigenze di cura e prevenzione, alla costante ricerca di una piena integrazione nella filiera sanitaria e all'accurata selezione dell'offerta con un particolare focus sui prodotti naturali. La trasformazione in Società Benefit con certificazione B Corp® è stata quindi la formalizzazione di buone pratiche da sempre alla base della filosofia di Farmacie Apoteca Natura: un modello di business che crea valore non solo economico, ma



Foto di Rafael Medina

Capsula di *Cistus ladanifer*

anche nei confronti della comunità e dell'ecosistema.

A partire da queste premesse, una estesa ricerca anche storica basata sulle parole chiave del brief ("farmacie" - "naturale" - "salute" - "bene comune", e anche Firenze e la Toscana come cuore del Network) è andata a concentrarsi su un testo rinascimentale che racchiude e preannuncia tutti questi elementi di significato.

Nel 1498 venne pubblicato a Firenze il *Nuovo Ricettario Fiorentino*, testo fondamentale nella storia della medicina e della far-

macia. Era la prima farmacopea, cioè il primo codice emesso dall'istituzione pubblica per regolare la prescrizione e la preparazione dei farmaci. I medici e gli speziali erano tenuti a rispettare queste regole, formulate per "*una utilità comune et publica*". Nella Firenze di Michelangelo e Leonardo, per la prima volta la consapevolezza della salute come bene comune era dunque al centro del lavoro della farmacia. A questa tradizione e a questi valori si ispirano le Farmacie Apoteca Natura, e si è ispirata Serra&Fonseca per la

formulazione della fragranza che è divenuta il logo olfattivo del Network.

Come tradurre i principi e le pratiche delle botteghe degli speziali rinascimentali, senza filologismi, ma reinterpretandone le atmosfere olfattive in chiave contemporanea? Innanzitutto, creando una fragranza agrumata-balsamica interamente naturale, di altissima qualità e certificata biologica. Tutti gli ingredienti al cuore di *Apoteca Natura 1498* erano presenti nelle spezierie della Firenze di fine Quattrocento ed elencati nel *Ricettario*. La formula del profumo include quindi arancio, cedro, cipresso, menta, salvia, lavanda, limone, mandarino, timo, cisto, artemisia.

Conclusa la fase di creazione concettuale e formulazione della fragranza, distribuita in *co-branding* nelle Farmacie Apoteca Natura, si è deciso di approfondirne gli usi: nell'ipotesi che gli ingredienti naturali usati nelle antiche spezierie avessero all'epoca (e abbiano in questa versione contemporanea) effetti di sanificazione ambientale.



Foto di Alan Begg

Galbuli di *Cupressus sempervirens*

Scopo

Proprio per questo motivo scopo del presente lavoro è stato valutare, previa caratterizzazione mediante GC-MS, l'efficacia sanificante, contro i più comuni contaminanti microbici ambientali, della miscela *Apoteca Natura 1498*, aerodispersa mediante l'impiego di un diffusore di essenze CUBEF1 (Integra Fragrances RE, IT) in ambienti comunitari.

MATERIALI E METODI

La miscela *Apoteca Natura 1498* è stata formulata dal profumiere Dott. Nicola Bianchi (B.B.E. International s.r.l., Merlinò, Lodi, IT), miscelando opportunamente oli essenziali di origine commerciale di *Citrus sinensis*, *Citrus medica*, *Cupressus sempervirens*, *Mentha piperita*, *Salvia officinalis*, *Lavandula angustifolia*, *Citrus x limon*, *Citrus reticulata*, *Thymus vulgaris*, *Cistus ladanifer*, *Artemisia vulgaris*.

Analisi GC-MS

L'analisi gascromatografica della miscela *Apoteca Natura 1498*, lotto n. 290319 è stata condotta sul bulk di oli essenziali ed estratti vegetali utilizzati per formulare la miscela. Il bulk è stato opportunamente diluito 1:1000 (vol/vol) con acetate di etile, e 1 microlitro di questa diluizione è stato sottoposto ad analisi GC-MS (gas-cromatografo Bruker SCION SQ) nelle seguenti condizioni strumentali:

Colonna: ZB-5HT Inferno (30 m x 0.25 mm, i.d. 0,25 μ m)

Condizioni cromatografiche: la temperatura dell'iniettore è di 250 °C e il flusso di He (gas carrier): 1 mL/min con un rapporto split/splitness di 1/30 dopo 40 sec. La programmazione della temperatura del forno è la seguente: T=60°C x 3 min.; da 60 °C a 150 °C con gradiente di 3 °C/min, 1 minuto a 150 °C; da 150 °C a 380 °C con gradiente di 10 °C/min, 3 minuto a 380 °C. Tempo totale: 60 minuti. L'acquisizione

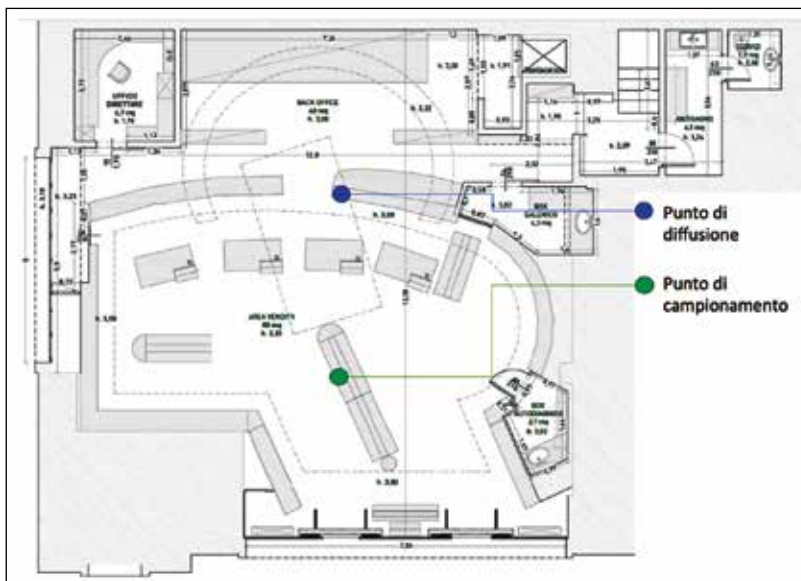


Fig. 1: planimetria della Farmacia Comunale di Santa Maria Novella (FI): punto di diffusione e punto di campionamento microbico

è avvenuta tramite singolo quadrupolo in modalità di acquisizione full scan m/z 50-1200 in EI da 3 a 60 minuti; il volume di iniezione è stato di 1 μ l.

L'analisi quantitativa (% relativa) è stata effettuata mediante il metodo della normalizzazione % delle aree dei picchi cromatografici, ovvero attraverso l'interpolazione delle aree su curve di calibrazione di standard di terpeni di grado analitico (Sigma-Aldrich, Milano).

Diffusione nell'ambiente test

L'ambiente utilizzato per la verifica dell'efficacia sanificante di *Apoteca Natura 1498* è stata la Farmacia Comunale Santa Maria Novella (FI), che appartiene al Network Farmacie Apoteca Natura. Tale ambiente è stato prescelto, grazie alla Dott.ssa Maria Vannuzzi, direttore retail di Farmacie Fiorentine A.Fa.M. s.p.a. (www.farmaciecomunalifirenze.it), perché all'interno della stazione ferroviaria e soggetto ad alto numero di ingressi. La distanza del campionamento dal punto di diffusione era di 3 m lineari. La superficie complessiva degli spazi trattati era di 80 m² (v. Fig. 1, planimetria).

Herbo Veneta
Azienda Artigianale
di prodotti fitoterapici e cosmetici



Herbo Veneta

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



Foto di Andreas Rockstein

Artemisia vulgaris, uno degli oli essenziali presente nella formulazione utilizzata nello studio per il controllo ambientale della carica microbica

Analisi microbiologica

Le conte microbiche sono state effettuate utilizzando piastre da contatto Hyecheck™ “Total Count” e Hyecheck™ “yeast and mold”. Ogni piastra è stata posta in contatto con le superfici selezionate e successivamente posta in incubatore 24 h per le conte batteriche e 48 h per quelle fungine ($t=37\text{ }^{\circ}\text{C}$). Il numero delle colonie sviluppate è stato quindi sottoposto a conta. Questo protocollo, convenzionale e standardizzato, permette il rilevamento dei più comuni microrganismi ambientali, con selettività per *Enterococcus faecalis* (Gram-positivo), *E. coli* (Gram-negativo), *Proteus vulgaris* (Gram-negativo), *Salmonella typhimurium* (Gram-negativo), *Staphylococcus aureus* (Gram-positivo), *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*. I risultati sono stati espressi in CFU (unità formanti colonie) / cm^2 approssimando i valori secondo le linee guida della normativa UNI EN 1276:2009 e UNI EN 1650:2013.

Protocollo sperimentale

La valutazione dell'efficacia sanificante di *Apoteca Natura 1498* è stata effettuata negli spazi dell'ambiente test dopo esposizione ambientale di $13,5\text{ mg}$ di miscela/ h/m^3 , secondo il protocollo riassunto in Fig. 2.

In dettaglio, la nebulizzazione è stata effettuata 7 h/die, previo periodo di wash-out di 3 gg, tra il 01 aprile il 06 maggio 2019 mediante un diffusore di essenze compatto a singola mandata Cube F1 di Integra s.r.l.. Il primo campionamento ($T=00$) è stato effettuato al termine del periodo di wash-out e immediatamente prima dell'inizio della diffusione. I campionamenti successivi sono stati effettuati settimanalmente ($T=1$ e $T=2$) e a 30 gg dall'inizio della nebulizzazione ($T=3$), e le piastre immediatamente inviate con spedizione refrigerata presso il laboratorio di virologia e



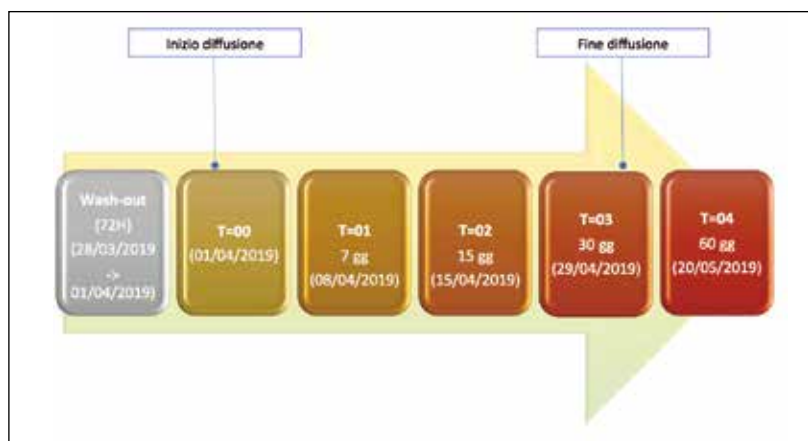
Foto di Forest and Kim Starr

Gli oli essenziali di *Citrus sinensis* e *Thymus vulgaris* sono ingredienti della formula del Ricettario Fiorentino del 1498



Foto di eyeweed

Fig. 2: protocollo sperimentale: cronologia dei campionamenti microbici



microbiologia Functional Point di Bergamo per l'analisi microbiologica. È stato infine effettuato un ulteriore campionamento di verifica (T=4, wash-out finale) dopo un periodo di 7 gg di sospensione della nebulizzazione.

RISULTATI

Analisi GC-MS

I risultati dell'analisi GC-MS della miscela di strutture terpeniche costituente *Apoteca Natura 1498* sono riportati in Tab. 1.

La miscela risulta composta

principalmente da limonene (80.04%), in buon accordo con la presenza di oli essenziali da agrumi nella formulazione utilizzata (limone, cedro, mandarino e arancio dolce), mentolo (3.18%), mentone (1.07%) e isomenthone (0,33%), riconducibili alla presenza di olio essenziale di *Mentha piperita*, linalile acetato (0.89%) e β -linalolo (0,81%), marker della presenza di olio essenziale di *Lavandula angustifolia*, canfora (1.76%), α -thujone (2.45%) e β -thujone (0.48%), caratterizzanti invece gli oli essenziali di *Salvia officinalis* e di *Artemisia vulgaris*. La presenza di cis-thujopsene (0.42%), cedrolo (0.59%) e humulene (0.42%) può essere invece riconducibile all'olio essenziale di *Cupressus sempervirens*.

RT	Molecola	%
6,927	α -Pinene	0,99
7,42	Camphene	0,50
8,295	4-Carene	0,17
8,406	β -Pinene	0,67
8,95	β -Myrcene	0,65
10,253	p-Cymene	0,42
10,421	Limonene	80,04
11,684	γ -Terpinene	0,62
13,488	β -Linalool	0,81
13,674	α -Thujone	2,45
14,162	β -Thujone	0,48
15,344	Camphor	1,76
15,802	l-Menthone	1,07
16,26	Isomenthone	0,33
16,356	Borneol	0,53
16,701	Menthol	3,18
20,419	Linalyl acetate	0,89
27,365	β -Caryophyllene	0,58
27,819	cis-Thujopsene	0,42
28,771	Humulene	0,42
34,631	Cedrol	0,59
36,289	5 β ,7 β H,10 α -Eudesm-11-en-1 α -ol	0,21
36,465	Triethyl citrate	1,72
40,735	1,4-Pentalenediol, octahydro-, diacetate	0,51

Tab. 1: caratterizzazione quali-quantitativa della fragranza "APOTECA NATURA 1498" (analisi GC-MS)

Analisi microbiologica

I risultati delle analisi microbiologiche sono riassunti graficamente in Fig. 3.

Come riportato, l'analisi delle contaminazioni ambientali al T=00 ha fatto registrare la presenza di 59 C.F.U./cm² di specie batteriche e di 89 C.F.U./cm² di specie micotiche sulle superfici campionate.

Dopo una settimana di nebulizzazione (T=1, 0.66 gr. di miscela/m³), le conte microbiche sono significativamente diminuite a 5 C.F.U./cm² per i batteri e 2 C.F.U./cm² per i miceti (abbattimento del 91.52% e del 97.75%, rispettivamente). Tali risultati si sono mantenuti costanti nel tempo nel corso dei successivi campionamenti. In particolare, al T=2 (15 gg dall'inizio della nebulizzazione) le conte microbiche hanno registrato un abbattimento totale delle popolazioni micotiche e una diminuzione del 96.6% delle popolazioni batteriche; infine al T=3 (30 gg dall'inizio della nebulizzazione) è stato registrato un abbattimento totale delle cariche batteriche e del 98.87% di quelle micotiche. La conta delle cariche batteriche e micotiche dopo una settimana di sospensione della nebulizzazione (T=4) ha infine mostrato un ripristino dei valori microbici iniziali.

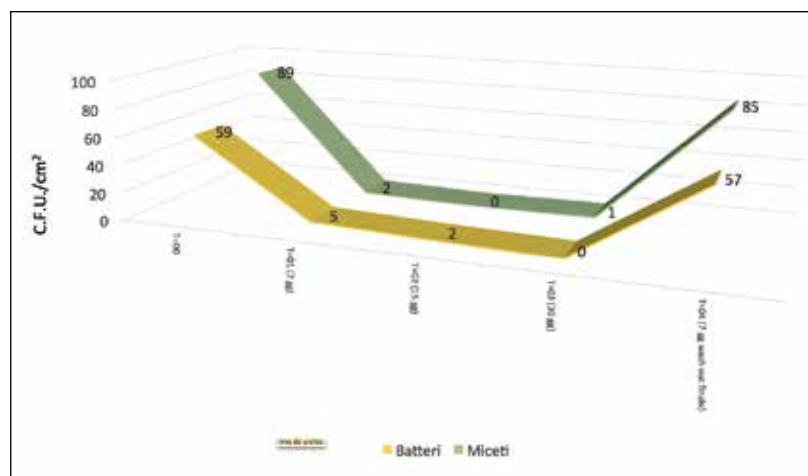


Fig. 3: valutazione dell'andamento dei contaminanti microbici ambientali (C.F.U./cm²) sulle superfici di campionamento.



Fig. 4: confronto esemplificativo delle C.F.U. batteriche sulle superfici di campionamento (T=00 vs T=01)

In Fig. 4 vengono presentate, a titolo esemplificativo, le piastre di campionamento Hycheck™ “yeast and mold” al T=0 ed al T=1.

Conclusioni

Gli effetti di fragranze e profumi sugli esseri umani sono noti da tempo, e attengono in particolare l'interazione delle molecole odorogene con il SNC¹ e la modulazione del sistema autonomo². La letteratura scientifica dimostra che le sostanze odorigene possono influenzare i comportamenti umani, favorire (o sfavorire) interazioni sociali³ tramite una

stimolazione ipotalamica (solo successivamente elaborata a livello corticale) o diminuire il dosaggio di farmaci antidepressivi in soggetti affetti da depressione⁴. Altrettanto nota in letteratura è l'efficacia degli oli essenziali aerodispersi per il controllo delle cariche microbiche ambientali negli ambienti comunitari⁵. A oggi, tuttavia, le fragranze destinate alla formulazione di profumi per la profumazione degli ambienti (CLP), non sono ancora state approfonditamente valutate per i loro effetti sulle cariche microbiche ambientali. In questo

lavoro abbiamo quindi voluto valutare l'efficacia sanificante della fragranza *Apoteca Natura 1498*, una miscela di oli essenziali ed estratti vegetali selezionati sulla base del *Nuovo ricettario Fiorentino* e opportunamente formulati, evidenziando come le contaminazioni microbiche negli ambienti comunitari possano essere efficacemente controllate mediante la sua aerodispersione. La miscela è infatti risultata fortemente attiva nella riduzione delle cariche ambientali di batteri e miceti già a una settimana dall'inizio della diffusione (riduzione del 91.52% e del 97.75%, rispettivamente), mantenendo la sua attività per tutta la durata dello studio e permettendo di ottenere, a 30 gg dagli inizi della nebulizzazione e nelle condizioni descritte, un abbattimento pressoché completo delle cariche microbiche (riduzione del 100% di batteri e del 98.87% di miceti).

Questi risultati, ottenuti grazie a una fragranza esplicitamente formulata per “*una utilità comune et publica*”, confermano la coerenza dei valori e dello *storytelling* di Farmacie Apoteca Natura e soprattutto aprono nuove prospettive di ricerca e di applicazione.

* UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO, Dipartimento di Scienze e Politiche Ambientali (Environmental Science and Policy – ESP), Milano, Italy;

** Serra&Fonseca s.r.l., Milano, Italy;

*** Functional Point S.r.l., Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Bergamo, Italy.

Bibliografia

1. Nasel C. *et al.*, Chemical senses, 19, 4, 1994;
2. Dayawansa *et al.*, Autonomic Neuroscience, 108, 1–2, 2003;
3. Bain H., The Psychological Basis of Perfumery, Book, 1997, J. Stephan Jellinek Editor;
4. Komori *et al.*, Japanese Journal of Psychopharmacology, 15, 1, 1995;
5. Gelmini *et al.*, Complementary Therapies in Medicine, 25, 2016.

