



V Congresso Nazionale

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

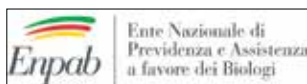
Co - organizzato da

Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari
e Ambientali
Università degli Studi di Teramo

Con il patrocinio di



Federazione Regionale
degli Ordini
dei Dottori Agronomi e dei
Dottori Forestali dell'Abruzzo



Ente Nazionale
di Previdenza e Assistenza
a favore dei Biologi

Teramo, 19-20 ottobre 2018
Aula Magna – Facoltà di Bioscienze
e Tecnologie Agroalimentari
Università degli Studi di Teramo

COMITATO SCIENTIFICO

Bellardi Maria Grazia: Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi di Bologna, *Alma Mater Studiorum*, Bologna.
Benvenuti Stefania: Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia.
Bouzari Hedayat: Medico-chirurgo. Chirurgia Generale e Oncologica dell'Ospedale Mauriziano Umberto I, Torino. Docente Scuola Nazionale di Chirurgia Epatica dell'Associazione dei Chirurghi Ospedalieri Italiani.
Campagna Paolo: Presidente SIROE, Roma. Docente Corso "Alta Formazione in Fitoterapia e Piante Officiali", Università degli Studi della Tuscia, Viterbo.
Delfine Sebastiano: Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università degli Studi del Molise, Campobasso.
Di Vito Maura: Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari Agrarie, Università degli Studi di Bologna, *Alma Mater Studiorum*, Bologna.
Mondello Francesca: Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma.
Paparella Antonello: Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo.
Romanazzi Gianfranco: Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona.
Scozzoli Maurizio: Centro Sperimentale APA-CT, Forlì.
Serio Annalisa: Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo.
Stringaro Annarita: Centro Nazionale per la Ricerca e per la Valutazione Preclinica e Clinica dei Farmaci, Istituto Superiore di Sanità, Roma.
Tullio Vivian: Dipartimento Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche, Università degli Studi di Torino, Torino.
Zanetti Stefania: Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari, Sassari.

RELATORI E MODERATORI

Bellardi Maria Grazia, Professore. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi di Bologna, *Alma Mater Studiorum*, Bologna.
Benedetti Serena, PhD. Dipartimento di Scienze Biomolecolari, Università di Urbino.
Benvenuti Stefania, Professore Associato. Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia.
Bouzari Hedayat, Medico-chirurgo. Chirurgia Generale e Oncologica dell'Ospedale Mauriziano Umberto I, Torino. Docente Scuola Nazionale di Chirurgia Epatica dell'Associazione dei Chirurghi Ospedalieri Italiani.
Budriesi Roberta, Professore. Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie Università degli Studi di Bologna, *Alma Mater Studiorum*, Bologna.
Camero Michele, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Bari, Bari.
Campagna Paolo, Medico-chirurgo. Docente Corso "Alta Formazione in Fitoterapia e Piante Officiali", Università degli Studi della Tuscia, Viterbo.
Delfine Sebastiano, Professore. Dipartimento di Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università degli Studi del Molise, Campobasso.
Di Vito Maura, Assegnista di Ricerca. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi di Bologna, *Alma Mater Studiorum*, Bologna.
Juliano Claudia, Ricercatore. Dipartimento di Chimica e Farmacia, Università di Sassari, Sassari.
Lo Sterzo Claudio, Professore. Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi di Teramo, Teramo.
Mancianti Francesca, Professore. Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa, Pisa.
Mattarelli Paola, Ricercatore. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi di Bologna, *Alma Mater Studiorum*, Bologna.
Marchetti Enrico, Professore. Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università degli Studi dell'Aquila, l'Aquila.
Mischiati Carlo, Professore Associato. Dipartimento Scienze Biomediche e Chirurgie Specialistiche, Università di Ferrara, Ferrara.
Mondello Francesca, Ricercatore. Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma.
Najar Basma, Dottoranda. Dipartimento di Farmacia, Università di Pisa, Pisa.
Paparella Antonello, Professore Ordinario. Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo.
Pittia Paola, Professore Ordinario. Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo.
Ricci Antonella, Ricercatore. Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi di Teramo, Teramo.
Ripalti Alessandro, Professore. Unità Operativa di Microbiologia, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna, Italia.
Romanazzi Gianfranco, Professore Associato. Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona.
Rossi Chiara, PhD. Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi di Teramo, Teramo.
Sagrati Gianni, Professore Associato. Scuola di Scienze del Farmaco e dei Prodotti della Salute, Università di Camerino, Camerino.
Scarpa Maria Grazia, Ricercatore. Dipartimento di Agraria, sez. Agronomia, Coltivazioni Erbacee e Genetica, Università degli Studi di Sassari, Sassari.
Scozzoli Maurizio, Medico Veterinario. Centro Sperimentale APA-CT, Forlì.
Serio Annalisa, Ricercatore. Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo.
Smole-Možina Sonja, Professore. Department of Food Science and Technology, University of Ljubljana, Slovenia.
Spadaro Davide, Professore Associato. Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Torino.
Stringaro Annarita, Ricercatore. Centro Nazionale per la Ricerca e per la Valutazione Preclinica e Clinica dei Farmaci, Istituto Superiore di Sanità, Roma.
Trombetta Domenico, Professore. Dipartimento di Scienze Chimiche, Biologiche, Farmaceutiche e Ambientali, Università di Messina, Messina.
Tullio Vivian, Professore Associato. Dipartimento della Sanità Pubblica e Pediatriche, Università degli Studi di Torino, Torino.
Zanetti Stefania, Professore Ordinario. Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari, Sassari.

Venerdì 19 Ottobre

8:00 – 9:00 **Registrazione dei Partecipanti**
 9:00 – 9:20 Indirizzo di Benvenuto del Preside della Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali e del Presidente SIROE
 Saluto delle Autorità

I Sessione: Oli Essenziali in Botanica, Agronomia e Patologia Vegetale

Moderatori: Maria Grazia Bellardi, Stefania Benvenuti, Sebastiano Delfine

9:20 – 9:40 **Gianfranco Romanazzi:** Uso di oli essenziali per il controllo dei marciumi di ortofrutticoli in postraccolta: attività, meccanismi d'azione e strategie di applicazione.
 9:40 – 10:00 **Sebastiano Delfine:** Ambiente di coltivazione e resa in olio essenziale di *Malva sylvestris*.
 10:00 – 10:20 **Basma Najar:** Composizione di oli essenziali da tre sottospecie di *Helichrysum italicum* cresciute in Italia.
 10:20 – 10:40 **Grazia Maria Scarpa:** Relazione tra caratteristiche del terreno e profilo degli oli essenziali in *Salvia desoleana*: risultati preliminari.
 10:40 – 11:00 *Discussione*

11:00 – 11:30 *Coffee Break e Sessione Poster*

11:30 – 12:00 *Lettura Magistrale*

Smole-Možina: Could plant essential oils and extracts be used as perfect food preservatives?

12:00 – 12:40 *“Premio SIROE Giovani Ricercatori”*
 Moderatori: Paolo Campagna, Francesca Mondello, Gianfranco Romanazzi
(Relazioni Giovani)

12:40 – 14:40 Lunch

II Sessione: Oli Essenziali nel Settore Alimentare e in Medicina Veterinaria

Moderatori: Annalisa Serio, Francesca Mondello, Annarita Stringaro

14:40 – 15:00 **Paola Pittia:** Tecnologie di incapsulamento di oli essenziali per il miglioramento della stabilità e funzionalità

tecnologica.

15:00 – 15:20 **Paola Mattarelli:** Attività antimicrobica differenziale di alcuni oli essenziali sul microbiota benefico e potenzialmente patogeno di potamoceri.
 15:20 – 15:40 **Francesca Mancianti:** Valutazione dell'efficacia di oli essenziali nei confronti di *Prototheca* spp.: una prospettiva per il trattamento della mastite bovina e per la decontaminazione ambientale.
 15:40 – 16:00 **Gianni Sagratini:** *Food active packaging:* l'olio essenziale di *Rosmarinus officinalis* L. come additivo funzionale per l'estensione della *shelf life* degli alimenti.
 16:00 – 16:20 **Davide Spadaro:** Impiego di oli essenziali per il contenimento di marciumi delle mele e delle pesche.
 16:20 – 16:40 **Claudio Lo Sterzo e Antonella Ricci:** La canapa industriale (*Cannabis sativa* L.): un'ampia frontiera di nuove opportunità per una coltura tradizionale abbandonata.
 16:40 – 17:00 **Antonello Paparella e Chiara Rossi:** Effetto dell'olio essenziale di *Origanum vulgare* sulla formazione di biofilm e sulla motilità di *Pseudomonas fluorescens* pigmentante.
 17:00 – 17:30 **Annalisa Serio:** Potenziali applicazioni degli idrolati in ambito alimentare.
 17:30 – 18:00 *Discussione*

20:00 *Cena sociale*

Sabato 20 Ottobre

III Sessione: Oli Essenziali: dalla Chimica alla Microbiologia fino alla Salute Umana

Moderatori: Vivian Tullio, Hedayat Bouzari

9:30 – 9:50 **Domenico Trombetta:** Olio essenziale di *Citrus lumia* Risso: profilo fitochimico, proprietà antiossidanti e attività sul sistema nervoso centrale.
 9:50 – 10:10 **Claudia Juliano:** Attività antimicrobica di oli essenziali di *Helichrysum microphyllum* Cambess. subsp. tyrrhenicum Bacch., Brullo & Giusso proveniente dalla Sardegna sud-occidentale.
 10:10 – 10:30 **Carlo Mischiati:** Effetto degli oli essenziali di *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* e *Rosmarinus officinalis* sulle funzioni della proteina Tat di HIV-1.
 10:30 – 10:50 **Alessandro Ripalti:** Gli oli essenziali di *Monarda fistulosa* e *Monarda didyma*

inibiscono l'infettività dei virus *Herpes simplex I* e *II in vitro*.

10:50 – 11:10 **Michele Camero:** Attività virucida dell'olio essenziale di zenzero nei confronti di herpesvirus.

11:10 – 11:40 *Coffee Break e Sessione Poster*

Moderatori: Stefania Zanetti, Paolo Campagna
 11:40 – 12:00 **Giuseppe Fracchiolla:** Sinergie tra oli essenziali ed antibiotici di sintesi contro la formazione dei biofilm batterici.

12:00 – 12:20 **Enrico Marchetti:** Ruolo dell'alcool nei collutori agli oli essenziali usati nel controllo della placca dentale.

12:20 – 12:40 **Paolo Campagna:** La medicina aromatica integrata in ambulatorio: dall'olio essenziale chemotipizzato alla clinica.

12:40 – 13:00 **Serena Benedetti:** Stress ossidativo e apoptosi in cellule di carcinoma tiroideo esposte all'olio essenziale di *Pistacia lentiscus*.

13:00 – 13:20 **Roberta Budriesi:** *Thymus vulgaris* L.: olio essenziale come supplemento nella malattia infiammatoria intestinale.

13:20 – 13:40 **Maura Di Vito:** Sinergia tra olio essenziale di *Citrus aurantium* var amara e idrolato di *Vitis vinifera* cv Italia come potenziale supporto nelle IBS e nelle IBD.

13:20 – 13:40 *Discussione*

13:40 – 14:00 **Assegnazione premio “Premio SIROE Giovani Ricercatori”**

14:00 Chiusura dei lavori

SEGRETERIA SCIENTIFICA e SEGRETERIA TECNICA

Maura Di Vito

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

Annalisa Serio

Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo.
 Tel 0861-266801 Fax 0861-266915
 E-mail: aserio@unite.it

Clemencia Chaves López

Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo.
 Tel 0861-266913 Fax 0861-266915
 E-mail: cchaveslopez@unite.it

**Curatori: Maria Grazia Bellardi, Maura Di Vito,
Francesca Mondello**

**con la partecipazione di tutto il Comitato Scientifico del
"V Congresso Nazionale SIROE"**

USO DI OLI ESSENZIALI PER IL CONTROLLO DEI MARCUMI DI ORTOFRUTTICOLI IN POSTRACCOLTA: ATTIVITÀ, MECCANISMI D'AZIONE E STRATEGIE DI APPLICAZIONE

G. Romanazzi¹, R. Rajestary¹, L. Landi¹, E. Feliziani¹, D. Sivakumar²

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italia

²Department of Crop Sciences, Tshwane University of Technology, Pretoria West, Pretoria, South Africa

E-mail: g.romanazzi@univpm.it

Introduzione. Le malattie postraccolta sono causa di notevoli perdite di produzione di frutta e ortaggi freschi, che a volte superano la metà di quanto prodotto in campo nella filiera che va dal produttore a casa del consumatore, andando ad incidere in maniera considerevole sugli sprechi di prodotti alimentari. Gli oli essenziali rappresentano una strategia innovativa a basso impatto ambientale per la riduzione delle malattie postraccolta, sebbene la loro applicazione non sia sempre semplice a causa della loro potenziale fitotossicità che si verifica a dosi elevate, alla volatilità che ne limita la durata dell'efficacia, e alle possibili variazioni delle caratteristiche organolettiche dei prodotti trattati.

Scopo. La ricerca ha avuto come scopo la valutazione dell'efficacia di una serie di oli essenziali su prodotti ortofrutticoli freschi (fragola, pesche, uva) nei confronti delle malattie fungine che si verificano nel corso della conservazione e della *shelf life*.

Materiali e metodi. I prodotti ortofrutticoli sono stati esposti al trattamento con oli essenziali di *Cinnamomum zeylanicum* (cannella), *Citrus bergamia* (bergamotto), *Mentha piperita* (menta), *Rosmarinus officinalis* (rosmarino) e *Thymus vulgaris* (timo), applicati sia per contatto, sia per esposizione ai vapori, in atmosfera normale e in ambiente ipobarico (50 kPa). I frutti sono stati conservati a temperatura ambiente (20 °C) per una settimana oppure frigoconservati a 0 °C per una settimana, quindi esposti a *shelf life*, simulando la vita da banco sugli scaffali del supermercato.

Risultati. Nelle prove svolte su pesco, i migliori risultati sono stati forniti dal trattamento con olio essenziale di timo, che ha fornito un livello di protezione dal marciume bruno (causato da *Monilinia* spp.) pari e a volte anche superiore rispetto allo standard chimico di riferimento, seguito dall'olio di cannella. Nelle prove su uva da tavola l'olio essenziale di rosmarino ha fornito i migliori risultati nel controllo della muffa grigia (causata da *Botrytis cinerea*) quando utilizzato in ambiente ipobarico, seguito da quello di menta. Risultati analoghi sono stati ottenuti su fragola, dove l'olio essenziale di rosmarino ha contenuto al meglio la muffa grigia, seguito da quelli di menta e bergamotto. L'attività degli oli essenziali è data dalla combinazione dell'attività antimicrobica e di quella elicitante le difese della pianta.

Conclusioni. Gli oli essenziali rappresentano dei composti molto

promettenti nel controllo delle malattie delle piante e si inseriscono a pieno titolo fra i mezzi di lotta a basso impatto ambientale che possono sostituire o complementare l'uso di altri mezzi di protezione, sebbene le strategie applicative dipendano dalla combinazione ospite/patogeno/ambiente.

Parole chiave. Attività antimicrobica, Fungicidi naturali, Induzione di resistenza, Malattie post raccolta.

AMBIENTE DI COLTIVAZIONE E RESA IN OLIO ESSENZIALE DI MALVA SYLVESTRIS

S. Delfine¹, D. Rigano², C. Formisano², F. Mastrodonato³

¹ Università degli Studi del Molise, Dipartimento di Agricoltura, Ambiente ed Alimenti, Campobasso, Italia

² Università di Napoli Federico II, Dipartimento di Farmacia, Napoli, Italia

³ Società Italiana Medicina Biointegrata, Bagnoli del Trigno (IS), Italia

E-mail: delfine@unimol.it

Introduzione. Le piante officinali e gli oli essenziali sono entrate in molti settori produttivi grazie al loro utilizzo nell'industria alimentare, liquoristica, erboristica e farmaceutica. Recente è anche l'utilizzo in agricoltura negli ambiti della difesa delle piante da organismi nocivi come funghi, batteri, insetti e altri vegetali. Nel vasto panorama di piante da oli essenziali c'è anche la malva, pianta conosciuta da molti secoli, di cui si conoscono meglio gli effetti di foglie e fiori essiccati. La malva, infatti, è molto apprezzata in cucina e dalla medicina popolare per i suoi innumerevoli benefici legati ad attività come vasodilatatore, antinfiammatorio, anticancro, antivirale ed antibatterico. Queste proprietà sono dovute alla presenza nei tessuti di polisaccaridi, antocianine, cumarine, tannini, flavoni, mucillagini e terpenoidi come sesquiterpeni, diterpeni e monoterpeni. Come già dimostrato per altre specie, l'ambiente di coltivazione è in grado di alterare la resa in olio essenziale, modificandone anche la sua attività biologica.

Scopo. Dimostrare, in una coltura di malva, l'effetto dell'ambiente di coltivazione sulla produzione sia quantitativa che qualitativa di olio essenziale.

Materiali e metodi. La prova sperimentale è stata svolta su una coltura di *Malva sylvestris* L. allevata in quindici siti sperimentali rappresentativi della Regione Molise. I diversi ambienti pedo-climatici sono stati classificati in base alla loro fertilità, quantizzata mediando l'effetto della tessitura del suolo, del contenuto in sostanza organica e nutrienti, del clima e della disponibilità idrica. L'esperimento è stato effettuato in un sistema a blocchi randomizzati usando la varietà mauritiana. Dopo le opportune lavorazioni del terreno, è stata effettuata la concimazione di fondo e la semina. La densità di piante per metro quadrato era pari a 7. Durante il ciclo culturale sono stati rilevati parametri di tipo bioagronomico, eco fisiologico e merceologico. La gestione culturale e le attività di campionamento sono state condotte in ottica sostenibile nel rispetto della coltura e dell'ambiente. Le parti aeree delle piante, dopo essiccazione, hanno subito l'estrazione dell'olio essenziale usando il *Clevenger-type apparatus* secondo quanto raccomandato dalla *European Pharmacopoeia*. Gli oli così ottenuti sono stati analizzati per mezzo di gascromatografia-spettrometria di massa (GC-MS) e testati per la loro attività biologica.

Risultati. Analizzando i dati rilevati, risulta significativa la differenza tra i differenti siti in termini di biomassa accumulata dalle piante e di olio essenziale estratto. In generale gli ambienti più fertili risultavano più produttivi evidenziando anche un miglior stato fisiologico della coltura. Questa differenza è stata evidenziata anche per la qualità dell'olio essenziale e per la sua attività biologica.

Conclusioni. Ambienti diversi di coltivazione hanno prodotto un olio essenziale di differente composizione. La pianta di malva modifica la quantità e qualità di principi attivi dell'olio essenziale per effetto dell'ambiente pedo-climatico, oltre che per effetto del genotipo. Visti i potenziali diversi utilizzi dell'olio essenziale di malva, alla luce dei risultati presentati, diventa necessario coltivare le piante in ambienti opportuni per evitare che la sua attività biologica sia differente da quanto atteso compromettendo la sua efficacia nei diversi campi di applicazione.

Parole chiave. Qualità olio essenziale, Ambiente di coltivazione, Malva

COMPOSIZIONE DI OLI ESSENZIALI DA TRE SOTTOSPECIE DI *HELICHRYSUM ITALICUM* CRESCIUTE IN ITALIA

B. Najar¹, B. Ferri¹, A. Primavera², C. Cervelli³, L. Pistelli¹

¹ Dipartimento di Farmacia, Università di Pisa, Pisa, Italia

² F.I.P.P.O. (Federazione Italiana Produttori Piante Officinali, Arezzo, Italia

³ CREA-Centro di Ricerca Orticoltura e Florovivaismo, Sanremo (IM), Italia

E-mail: basmanajar@hotmail.fr

Introduzione. *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don, è un arbusto aromatico di 30-70 cm di altezza, con un odore forte e persistente simile al curry o alla liquirizia, che cresce spontaneo nelle regioni aride, sabbiose e sassose dell'area mediterranea. La flora italiana comprende 4 sottospecie di *H. italicum*: *H. italicum* (Roth) G. Don subsp. *italicum*, *H. italicum* (Roth) G. Don subsp. *pseudolitorum* (Fiori) Bacch., Brullo & Mossa, *H. italicum* (Roth) G. Don subsp. *siculum* (Jord. & Fourr.) Galbany, L. Sáez & Benedí, *H. italicum* (Roth) G. Don subsp. *tyrrhenicum* (Bacch., Brullo & Giusso) Herrando, J.M. Blanco, L. Sáez Galbany.

Scopo. La composizione dell'olio essenziale (OE) di tre sottospecie di *H. italicum* (subsp. *microphyllum*, subsp. *italicum* e subsp. *pseudolitorum*), raccolte in diversi areali, ma coltivate presso il CREA-SANREMO, è stata analizzata tramite gas-cromatografia e spettrometria di massa (GC-MS) per determinare i genotipi più produttivi.

Materiali e metodi. Campioni di *H. italicum*, provenienti da 7 popolazioni Corse, 10 Sarde e 3 Toscane sono stati raccolti nel 2012 e cresciuti a Sanremo (CREA) nelle stesse condizioni climatiche e colturali. Gli OE sono stati idrodistillati in apparecchio Clevenger e analizzati mediante gas-cromatografia e spettrometria di massa e gas-cromatografia accoppiata a un rivelatore a ionizzazione di fiamma (GC-FID).

Risultati. I risultati hanno evidenziato che *H. subsp. italicum* raccolto in Corsica ha prodotto rese maggiori di OE nei campioni raccolti a Nord piuttosto che a Sud (0,2-1,5%). I campioni Corsi erano comunque caratterizzati da un'elevata quantità di β -dichetoni che variava dallo 0,8% al 17,0%. Era presente anche una quantità elevata di neril acetato, che rappresentava almeno il 26,5%, insieme al nerol

propionato (contenuto totale dal 3,3 al 7,9%). È interessante notare che la percentuale di α -pinene nei campioni Corsi e in quelli dell'Isola di Capraia (Toscana) era molto inferiore rispetto al campione del Monte Argentario (Toscana) (14,7%). Quest'ultimo olio conteneva la più alta percentuale in monoterpeni idrocarburi (76,4%) caratterizzati da 11,7% di limonene e 1,9% di italicene, mentre era privo di nerolo, ossido di nerolo, β -dichetoni e *ar*-curcumene.

La sottospecie *microphyllum* conteneva una bassa percentuale di α -pinene e di ossido di nerolo sia nei campioni Sardi che in quelli Corsi. Il propionato di nerolo variava tra il 5,0% (Corsica) e il 12,2% a Stagno delle Saline (Sardegna). Al contrario, l'acetato di nerile era presente in buona quantità, dal 28,7 (Tizzano, Corsica) al 52,8% (La Pelosa, Sardegna). I campioni meridionali della Sardegna erano privi di β -dichetoni e hanno evidenziato una bassa percentuale di neril acetato rispetto a un'alta quantità di γ -curcumene (21,8%), *ar*-curcumene (7,2%) e l'italicene (4,6%). Il componente principale dell'unico campione di *H. subsp. pseudolitorum* raccolto in Sardegna è stato il 5-epi-7-epi- α -eudesmol (23,5%) insieme a una buona percentuale di ossido di nerolo (7,3%), nerolo (9,0%) e β -dichetone (8,1%).

Conclusioni. La resa e la composizione degli OE di *H. italicum* variano a seconda delle diverse sottospecie e dell'area geografica di provenienza. Tutti gli OE ottenuti erano caratterizzati da elevate quantità di composti ossigenati ad eccezione dei campioni raccolti nel Sud della Sardegna e sul Monte Argentario (Toscana). Ovviamente la diversa composizione dell'olio essenziale porta a diversi usi e diverse proprietà biologico-farmacologiche.

Parole chiave. *Subsp. italicum*, *Subsp. microphyllum*, *Subsp. pseudolitorum*, Composizione chimica

RELAZIONE TRA CARATTERISTICHE DEL TERRENO E PROFILO DEGLI OLI ESSENZIALI IN *SALVIA DESOLEANA*: RISULTATI PRELIMINARI

E. Rapposelli¹, S. Melito¹, G.G. Barmina¹, M. Foddai², E. Azara³, G.M. Scarpa¹

¹ Dipartimento di Agraria, sez. Agronomia, Coltivazioni Erbacee e Genetica, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italia

² Dipartimento di Chimica e Farmacia, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italia

³ CNR, Istituto di Chimica Biomolecolare, Sassari, Italia

E-mail: grazia@uniss.it

Introduzione.

Salvia desoleana è una specie endemica della Sardegna, oggi presente come pianta spontanea in pochi siti dell'Isola. Si sviluppa di preferenza in ambienti aridi; è una specie xerofila, ben adattata alle condizioni climatiche dell'ambiente mediterraneo. Storicamente conosciuta, è usata nella medicina tradizionale (Ceschel et al., 2000; Marchioni e Di Stefano, 1980): le foglie e gli steli sono usati in infusione come antipiretico, mentre studi mirati ne hanno riconosciuto le proprietà di antispasmodico e ipertensivo. L'olio essenziale contiene tra le componenti principali: α -pinene, β -pinene, γ -cimene, linaolo, linalil acetato e 1,8 cineolo.

Scopo. In questo studio si riportano i risultati di un primo lavoro di

comparazione tra analisi dei componenti dell'olio essenziale della *Salvia desoleana* e la tipologia di suolo, composizione chimica e struttura.

Materiali e metodi. I campioni di *S. desoleana* sono stati prelevati in 5 località diverse, prelevando da 7 piante random per ogni località. Gli oli essenziali sono stati distillati secondo la Farmacopea Ufficiale Italiana (2008). La composizione è stata determinata mediante un gascromatografo GCMS G1800B. I composti sono stati identificati mediante comparazione con gli standard corrispondenti (Joulain e König, 1998; Linstrom e Mallard, 2005). La tessitura del suolo è stata determinata secondo il protocollo di Indorante et al. (1990) e Moshrefi (1993). La composizione chimica è stata analizzata seguendo i protocolli ufficiali (Walkley-Black, 1934; Ministry of Agricultural and Forestry Policies, 1999). L'analisi statistica è stata effettuata mediante il software JMP 7.

Risultati. L'analisi di gascromatografia-spettrometria di massa (GC/MS) degli oli essenziali ha consentito di individuare 22 componenti principali, molto variabili tra le 5 popolazioni di *S. desoleana* analizzate. Sono state trovate differenze nella frazione terpenica: 68,18% dei monoterpeni, 27,27% sesquiterpeni e diterpeni, 4,55%. La comparazione tra analisi degli oli e struttura e composizione del suolo ha messo in evidenza che il contenuto di limo e sabbia era correlato al contenuto di α -pinene e sclareolo e che il K_2O era correlato significativamente a diversi composti appartenenti alla frazione dei terpeni.

Conclusioni. I risultati ottenuti potranno essere usati come base per una corretta conservazione in situ di questa specie endemica, saranno indicazione per effettuare corrette scelte di coltivazione e per un incremento del valore commerciale della specie stessa.

Parole chiave. *Salvia*, Composizione del suolo, Profilo terpenico



Salvia desoleana

COULD PLANT ESSENTIAL OILS AND EXTRACTS BE USED AS PERFECT FOOD PRESERVATIVES?

Sonja Smole Možina

Chair of Biotechnology, Microbiology and Food Safety, Department of Food Science and Technology, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Slovenia

E-mail: Sonja.smole@bf.uni-lj.si

The emergence of microbial resistance and negative consumer attitudes towards synthetic preservatives have increased the interest to use natural plant compounds with antioxidant and antimicrobial activity to produce food of better safety, quality and stability. Many essential oils (EO), extracts and/or their components have been confirmed to be efficient against food-borne bacteria, fungi and their toxins and with GRAS status also recognized as safe. However, there are also critical challenges that hinder the application of these materials for food preservation, such as scarcity and consequently high price of raw materials, aromatic compounds and thus potential product sensory changes, chemotypic variation and thus inconsistent activity, non-stability and "non-compatibility" with food intrinsic and extrinsic factors etc., so the interest and application quality and yields as well as new nano-technology approaches (like encapsulation) are contributing to successful commercial products (Calo et al., 2015; Prakash et al., 2018). We are searching for other possibilities by studying the potential of non-volatile by-products of EOs production – in comparison to EOs and initial material phenolic extracts efficacy in their antibacterial and antifungal activity (growth inhibition, including mycotoxin synthesis inhibition) in "in vitro" and food model systems. Other aspects of bioactivity, which could contribute to safety and quality in food production and processing, are also tested in our group – anti-adhesion and anti-biofilm activity on abiotic surfaces (polystyrene, stainless steel etc.), resistance-modifying activity in combined use with other antimicrobials, potential synergistic effects of different compounds and Quorum Sensing (QS) activity and their interactions and mechanisms behind. We are testing different Gram-positive and Gram-negative food-borne pathogenic and spoilage bacteria, but the mechanisms of the activity (i.e. the inhibition of cell membrane integrity and efflux pump activity) have been studied in *Campylobacter jejuni* and *C. coli* as the model enteric bacteria, responsible for the largest number of bacterial enteric infections of humans in developed countries. Case studies of our recent research achievements will be presented and discussed in the view of potential application for *Campylobacter* control in food production chain and thus for better safety of the final products.

References.

SMOLE MOŽINA, Sonja, KLAN NIK, Anja, KOVA, Jasna, JERŠEK, Barbara, BUCAR, Franz. Antimicrobial natural products against *Campylobacter*. V: MERILLON, J. M. (ur.), RIVIÈRE, Céline (ed). *Natural antimicrobial agents*, (Sustainable development and biodiversity, ISSN 2352-474X, Vol. 19). Cham: Springer. 2018, pp. 3-30.

Keywords. Essential oils, By-products, Phenolic extracts, Food safety and quality, Preservation

TECNOLOGIE DI INCAPSULAMENTO DI OLI ESSENZIALI PER IL MIGLIORAMENTO DELLA STABILITÀ E FUNZIONALITÀ TECNOLOGICA

P. Pittia¹, L. Neri¹, M. Faieta¹

¹Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari ed Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo, Italia
E-mail: ppittia@unite.it

Introduzione. L'incapsulamento degli oli essenziali è una strategia tecnologica applicata per ridurre la loro degradazione causata da fattori ambientali durante conservazione o impiego, per modulare e controllare il rilascio, aumentare lo stato di dispersione e, complessivamente, migliorare la funzionalità tecnologica ed attività biologica in sistemi alimentari e non. Numerose sono le tecniche di incapsulamento e loro combinazioni applicate per l'ottenimento di prodotti con proprietà fisiche e *performances* assai diverse, quali micro- e nano-particelle a base lipidica (es. emulsioni) o a base polimerica ed a bassa umidità, ed i sistemi ottenuti per inclusione molecolare (es. ciclo-destrine). In generale, le varie tecnologie presentano criticità di processo o formulazione che possono ridurre la ritenzione dei componenti volatili, modificarne la composizione iniziale o causare una loro degradazione. Largamente impiegate sono le tecnologie che prevedono la rimozione del solvente (liofilizzazione, *spray-drying*) per l'ottenimento di particelle a bassa umidità, o polveri, nei quali l'ottenimento di uno stato fisico vetroso o amorfo è critico ai fini della stabilità. In tempi recenti, nuove tecnologie di incapsulamento a freddo e senza l'impiego di solventi come il *co-milling* sono state sviluppate presso l'Università di Teramo per l'ottenimento di micro- o nano-dispersioni o incapsulati di componenti di oli essenziali.

Scopo. Presentare e confrontare i risultati dell'applicazione di tecnologie convenzionali e innovative di incapsulamento di oli essenziali e loro composti quali le tecniche di desolvatazione (*spray-drying*, liofilizzazione) e di *co-milling* e le proprietà dei corrispondenti prodotti incapsulati.

Materiali e metodi. Incapsulati a base di limonene sono stati ottenuti attraverso liofilizzazione, *spray-drying* e *co-milling* impiegando come carrier o agenti disperdenti saccaridi semplici o complessi. I sistemi sono stati caratterizzati per proprietà fisiche, di ritenzione del limonene e di stabilità con tecniche strumentali quali DSC, gascromatografia-spettrometria di massa (GC-MS) e microscopia a scansione elettronica.

Risultati. Le diverse tecnologie di incapsulamento portano ad ottenere polveri incapsulanti limonene con diverse proprietà fisiche, microstrutturali e soprattutto diversa efficienza di ritenzione e stabilità nel tempo.

Conclusioni. I risultati della ricerca costituiscono una valida base per l'approfondimento ancora in corso delle proprietà dei sistemi incapsulati in stato amorfo, capacità di ritenzione, stabilità ed applicazioni. Il *co-milling* si è dimostrata una interessante tecnologia per l'ottenimento di oli essenziali incapsulati in matrici a base di carboidrati amorfi.

Parole chiave. Incapsulamento, Composti volatili, Limonene, Co-milling

ATTIVITÀ ANTIMICROBICA DIFFERENZIALE DI ALCUNI OLI ESSENZIALI SUL MICROBIOTA BENEFICO E POTENZIALMENTE PATOGENO DI POTAMOCERI

P. Mattarelli¹, M. Di Vito¹, M. Modesto¹, P. Sciavilla¹, F. Bugli², M. Scozzoli³, M.G. Bellardi¹

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, Bologna, Italia
²Istituto di Microbiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia
³APA-CT, Forlì, Italia
E-mail: paola.mattarelli@unibo.it

Introduzione. Le recenti scoperte sulla biodiversità microbica del microbiota intestinale umano ed animale hanno permesso di approfondire le conoscenze sulla composizione delle comunità di probiotici (bifidobatteri, lattobacilli, funghi e nuovi probiotici) in questo complesso ecosistema e di rivelare le intricate interrelazioni con l'ospite e con altri gruppi microbici. Le caratteristiche metaboliche sono infatti importanti nella colonizzazione dell'*habitat* intestinale e nell'interazione con i tessuti dell'ospite. Un'altra importante caratteristica dei probiotici è la capacità di inibire la crescita di microrganismi patogeni come *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* e *Clostridium difficile*. Inoltre, i probiotici possono svolgere attività antivirali. Tutte queste conoscenze sono fondamentali per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche basate sul principio di mantenere o ristabilire l'equilibrio intestinale. In questo complesso scenario gli oli essenziali (OE) possono svolgere un importante ruolo. Si ipotizza, infatti, una loro azione selettiva: ossia, gli OE, potrebbero svolgere un'attività di modulazione delle comunità microbiche intestinali con vantaggio per i microrganismi benefici e riduzione di quelli patobionti. Questo argomento di così grande interesse non è ancora stato studiato in modo approfondito.

Scopo. Il presente lavoro ha avuto lo scopo di confrontare l'attività antimicrobica di OE (singoli o in miscele) testati sia verso ceppi di bifidobatteri isolati da suini e da potamoceri e sia verso patogeni intestinali.

Materiali e metodi. Sono stati isolati ceppi di bifidobatteri da feci di potamocero mediante terreno MRS addizionato di cisteina, acido acetico e mupirocina; sono stati saggiati gli OE di *Coridothymus capitatus*, *Lavandula intermedia*, *Monarda didyma* ("Scarlett") (Fig. 1) e la miscela commerciale GR-OLI verso i probiotici del genere *Bifidobacterium*: *B. bifidum*, *B. longum* subsp. *longum*, *B. breve*, *B. longum* subsp. *suis*, *B. thermacidophilum* subsp. *porcinum* (isolato da potamocero), poi *Lactobacillus paracasei*, *Saccharomyces boulardii*, *S. cerevisiae*, e *Enterococcus faecium* (ceppo probiotico commerciale per suinetti) e verso i patobionti/patogeni *E. coli*, *Salmonella enterica* serovar *typhimurium*, *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*. La Minima Concentrazione Inibente (MIC) e Minima Concentrazione Letale (MLC) sono state determinate secondo linee guida EUCAST mediante il metodo delle micro-brodo diluizioni.

Risultati. I risultati ottenuti hanno mostrato una diversa attività antimicrobica degli OE saggiati. È stata messa in evidenza la maggiore efficacia dell'OE di *C. capitatus* e di *M. didyma* (MIC = 0,5% v/v) e GR-OLI (MIC = 0,25% v/v) verso i patobionti/patogeni rispetto all'attività antimicrobica verso i probiotici [*C. capitatus* e di *M. didyma* (MIC = 2%) e GR-OLI (MIC = 1% v/v)]. *L. intermedia* ha mostrato una bassa attività

antimicrobica con MIC \geq 2% verso tutti i ceppi saggiati. La miscela GR-OLI ha mostrato una attività antimicrobica più elevata dei singoli OE.

Conclusioni. L'utilizzo di OE e di miscele di OE può essere una strategia per contrastare la carica batterica potenzialmente patogena nel microbiota intestinale di animali e per rinforzare l'eubiosi in favore di microrganismi benefici intestinali. Questo approccio potrebbe essere particolarmente importante in condizioni di stress durante specifici periodi di vita degli animali, come nel caso dello svezzamento nei suinetti, nel quale il microbiota è fisiologicamente soggetto a importanti cambiamenti qualitativi e quantitativi.

Parole chiave. *Monarda didyma*, *Lavandula intermedia*, *Coridothymus capitatus*, *Microbiota*



Figura 1. Impianto in fioritura di *Monarda didyma* "Scarlett".

VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DI OLI ESSENZIALI NEI CONFRONTI DI *PROTOTHECA* SPP.: UNA PROSPETTIVA PER IL TRATTAMENTO DELLA MASTITE BOVINA E PER LA DECONTAMINAZIONE AMBIENTALE

S. Nardoni¹, F. Pisseri², L. Pistelli³, B. Najar³, M. Luini⁴, F. Mancianti¹

¹Università di Pisa, Dipartimento di Scienze Veterinarie, Pisa, Italia

²Scuola CIMI Koiné, Roma, Italia

³Università di Pisa, Dipartimento di Scienze Veterinarie, Pisa, Italia

⁴Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia, sezione di Lodi, Italia

E-mail: francesca.mancianti@unipi.it

Introduzione. Al genere *Prototheca* appartengono alghe prive di clorofilla, patogene per uomo ed animali. Le prototecosi sono considerate malattie rare, sia in medicina umana, sia in medicina veterinaria, ad eccezione delle mastiti bovine, sostenute dalle specie *Prototheca zopfii* e *Prototheca blaschkeae*. Tali agenti, ampiamente presenti in Italia, causano mastiti granulomatose che provocano una riduzione irreversibile della produzione di latte, con forti danni all'industria lattierocasearia.

Scopo. Il trattamento delle prototecosi è complesso ed in particolare *P. zopfii*, che è anche un patogeno umano, risulta resistente alla maggior parte dei farmaci antimicotici, il cui uso non è peraltro consentito negli

animali da reddito. Per tale motivo è stata saggiata l'efficacia di 30 oli essenziali chimicamente caratterizzati nei confronti di 2 isolati clinici di *P. zopfii* e *P. blaschkeae*,

Materiali e metodi. Oli essenziali (*Pimpinella anisum*, *Illicium verum*, *Santalum album*, *Helichrysum italicum*, *Rosmarinus officinalis*, *Lavandula hybrida*, *Pelargonium graveolens*, *Salvia sclarea*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Foeniculum vulgare*, *Syzygium aromaticum*, *Boswellia sacra*, *Anthemis nobilis*, *Citrus paradisi*, *Citrus bergamia*, *Citrus aurantium*, *Citrus aurantium* var. *dulcis*, *Citrus limon*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum*, *Origanum majorana*, *Thymus vulgaris*, *Litsea cubeba*, *Origanum vulgare*, *Satureja montana*, *Cistus ladanifer*, *Picea abies*, *Anethum graveolens*, *Thymus capitatus* e *Myrtus communis*) sono stati impiegati per test di microdiluzione allo scopo di determinarne la Minima Concentrazione Inibente (MIC) nei confronti di *Prototheca*, a partire da una diluizione del 4%. Tale concentrazione è stata valutata come la massima quantità di olio essenziale somministrabile per via endomammaria senza indurre effetti istolesivi. Gli oli erano stati precedentemente caratterizzati attraverso Gas Cromatografia- Spettrometria di Massa.

Risultati. Gli oli saggiati hanno mostrato diversi gradi di efficacia nei confronti delle alghe. *C. paradisi* ha presentato la MIC più bassa (0,75%), nei confronti di entrambi gli agenti patogeni testati. In particolare, a differenza di quanto si verifica con i farmaci convenzionali, *P. zopfii* si è rivelata in genere più sensibile agli oli essenziali di *T. vulgaris*, *L. cubeba* ed *O. vulgare* (0,75%) rispetto a *P. blaschkeae* (1%). Solo *C. bergamia* è risultato più attivo contro *P. blaschkeae* (0,75%), rispetto a *P. zopfii* (2%).

Conclusioni. I risultati del presente studio appaiono promettenti per la messa a punto di presidi terapeutici sia per somministrazione topica endomammaria che per l'allestimento di soluzioni disinfettanti, da impiegare per le componenti delle macchine mungitrici e per gli ambienti in sala mungitura. Sono attualmente in corso ulteriori studi volti a valutare l'efficacia di questi prodotti *in vivo* e sul campo.

Parole chiave. Oli essenziali, *Prototheca* spp., Mastite bovina, Trattamento

FOOD ACTIVE PACKAGING: L'OLIO ESSENZIALE DI *ROSMARINUS OFFICINALIS* L. COME ADDITIVO FUNZIONALE PER L'ESTENSIONE DELLA SHELF LIFE DEGLI ALIMENTI

G. Sagratini¹, G. Caprioli¹, F. Maggi¹, M. Ricciutelli¹, S. Silvi², M. M. Coman², V. Sirocchi¹, S. Vittori¹

¹Università di Camerino, Scuola di Scienze del Farmaco e dei Prodotti della Salute, Camerino, Italia

²Università di Camerino, Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Camerino, Italia
E-mail: gianni.sagratini@unicam.it

Introduzione. Gli *active packaging* rappresentano oggi l'evoluzione del classico concetto di imballaggio alimentare, non più pensato solo per contenere e conservare l'alimento ma anche per estendere la *shelf life* dello stesso, attraverso l'incorporazione di sostanze cosiddette attive in grado di interagire con l'alimento attraverso reazioni di cessione o di assorbimento. L'olio essenziale di

rosmarino (*Rosmarinus officinalis* L.), pianta appartenente alla famiglia delle Lamiaceae, contiene molte sostanze bioattive, prevalentemente monoterpene idrocarburi ed ossigenati, ad attività antimicrobica e antiossidante in grado di inibire una serie di reazioni enzimatiche che naturalmente hanno origine negli alimenti a causa della presenza di microrganismi, e che ovviamente segnano la vita utile del prodotto.

Scopo. Lo scopo del lavoro di ricerca è stato quello di sviluppare un imballaggio attivo destinato alla conservazione della carne addizionato di olio essenziale di *R. officinalis* e valutarne la capacità di allungare la *shelf life* dell'alimento contenuto attraverso analisi chimiche (pH, ammine biogene), microbiologiche e sensoriali.

Materiali e metodi. La carne di pollo conservata negli *active packaging* è stata analizzata nei giorni 0-20 (7 *time point*), per la presenza di una serie di microrganismi quali psicrofili, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* spp., Enterobacteriaceae. Inoltre, la concentrazione di diverse ammine biogene quali spermina, spermidina, tiramina, istamina ecc. è stata valutata tramite analisi SPE-HPLC-DAD-MS in fase inversa con colonna analitica C18. Infine, sono stati valutati parametri quali le coordinate del colore (analisi colorimetriche L*, a*, b*), il pH e la concentrazione di esanale. Tali markers di *shelf life* sono stati poi confrontati con analoghi campioni di carne conservati in imballaggi standard (non attivi).

Risultati. L'utilizzo dell'olio essenziale di *R. officinalis* negli *active packaging* ha dimostrato di poter contenere la crescita di alcune specie batteriche come gli psicrofili, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* spp. e le Enterobacteriaceae nella carne. Nello stesso tempo si è osservata un'inibizione significativa nella produzione di ammine biogene ed esanale.

Conclusioni. Si può affermare che la funzionalizzazione dei *packaging* alimentari con l'olio essenziale di rosmarino ha permesso un allungamento della *shelf life* del prodotto contenuto (carne di pollo); nonostante ciò le applicazioni commerciali risultano essere a tutt'oggi estremamente limitate a causa della normativa sugli imballaggi attivi che limita l'utilizzo delle sostanze o degli estratti/oli vegetali a contatto con gli alimenti.

Parole chiave. Active packaging, Olio essenziale, Rosmarinus officinalis L., shelf life

IMPIEGO DI OLI ESSENZIALI PER LA LOTTA AI MARCIUMI DELLE MELE E DELLE PESCHE

D. Spadaro¹, M. L. Gullino¹

¹Dip. Scienze Agrarie, Forestali ed Alimentari e Agroinnova – Centro di Competenza per l'Innovazione in Campo agroambientale, Università di Torino, Grugliasco (Torino), Italia
E-mail: davide.spadaro@unito.it

Introduzione. Gli oli essenziali rappresentano una potente risorsa per il contenimento dei patogeni da conservazione di pomacee e drupacee, dato il loro potenziale antimicrobico. Gli oli essenziali possono essere applicati mediante immersione, irrorazione, o anche biofumigazione, sfruttando la volatilità dei componenti. L'ultima modalità di applicazione è preferibile per la mancanza di contatto diretto con il frutto, l'assenza di fitotossicità e di alterazioni organolettiche sui frutti.

Scopo. L'obiettivo del lavoro è stato quello di verificare l'effetto della biofumigazione, applicata mediante diffusori a lento rilascio, con oli essenziali di timo (*Thymus vulgaris*) e santoreggia (*Satureja montana*) sul contenimento di malattie infettive, in particolare il marciume bruno, da conservazione e sulla qualità di pesche e nettarine. L'olio essenziale di timo è stato inoltre impiegato per verificare l'effetto della sua applicazione sull'espressione di geni correlati alla patogenicità, come PR-8 e PR-5 su tessuti di mela, in seguito all'inoculazione con *Botrytis cinerea*.

Materiali e metodi. Pesche e nettarine sono state esposte a vapori di oli essenziali di timo e santoreggia per 28 giorni a 0 °C in camere di conservazione e poi mantenute a 20 °C in *shelf-life* per 5 giorni. I componenti volatili presenti nelle celle di conservazione della frutta sono stati caratterizzati, per verificare la presenza di composti organici volatili degli oli essenziali. Negli esperimenti condotti su mele, è stata verificata l'efficacia del solo olio essenziale di timo contro *B. cinerea*.

Risultati. In condizioni di bassa incidenza della malattia, la maggior parte dei trattamenti era in grado di ridurre l'incidenza di marciume bruno, mentre con un'elevata incidenza di malattia, solo l'olio essenziale di timo alla concentrazione del 10% nel diffusore era in grado di ridurre significativamente i marciumi. L'applicazione degli oli essenziali riduceva il marciume bruno, causato da *Monilinia fructicola*, ma incrementava il marciume grigio, causato da *B. cinerea*. I test *in vitro* hanno confermato una maggiore sensibilità di *M. fructicola* ai vapori di oli essenziali. Gli oli essenziali non influenzavano la qualità dei frutti, ma mostravano un effetto positivo nel ridurre la perdita di acqua e nel mantenere il contenuto in acido ascorbico e carotenoidi. Negli esperimenti condotti su mela, l'olio essenziale di timo era in grado di indurre un incremento dell'espressione del gene PR-8 rispetto al testimone sano a diversi tempi, mentre l'espressione del gene PR-5 non risultava modificata.

Conclusioni. L'applicazione degli oli essenziali di timo e santoreggia rappresenta uno strumento utile per contrastare i marciumi da conservazione e mantenere la qualità di pesche e nettarine. I risultati ottenuti su mela, mostrano come l'olio essenziale di timo sia in grado di indurre resistenza a *B. cinerea* mediante la stimolazione di risposte di difesa sul frutto e come il gene PR-8 possa giocare un ruolo chiave nel meccanismo tramite il quale l'olio essenziale di timo sia in grado di inibire efficacemente il marciume grigio.

Parole chiave. Biofumigazione, Induzione di resistenza, Mele, Pesche

LA CANAPA INDUSTRIALE (*CANNABIS SATIVA* L.): UN'AMPIA FRONTIERA DI NUOVE OPPORTUNITÀ PER UNA CULTURA TRADIZIONALE ABBANDONATA

C. Lo Sterzo¹, A. Ricci¹

¹Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Teramo, Italia
E-mail: closterzo@unite.it

Introduzione. In Italia la produzione di canapa (*Cannabis sativa* L.), dopo un lungo periodo di abbandono dovuto a problemi di tipo legislativo, sta tornando al centro dell'attenzione delle imprese agricole e della ricerca, soprattutto a causa dei suoi molteplici utilizzi sia nei

settori tradizionali (cartario e tessile), sia in quelli più innovativi, quali il biologico (bioplastiche, biocarburanti, bioedilizia), l'alimentare, il cosmetico ed il farmaceutico. Il potenziale utilizzo in questi ultimi campi si basa sulla presenza nella pianta di metaboliti secondari con importanti attività biologiche, appartenenti principalmente alle classi dei cannabinoidi, dei terpeni, dei polifenoli e dei flavonoidi.

Scopo. Caratterizzazione chimica e valutazione *in vitro* delle proprietà antimicrobiche e antiossidanti dell'olio essenziale di canapa (*C. sativa* var. Futura 75), ai fini di un suo utilizzo come conservante alimentare.

Materiali e metodi. L'olio essenziale è stato estratto dalla matrice vegetale essiccata mediante distillazione in corrente di vapore. La caratterizzazione chimica è stata eseguita mediante analisi di gascromatografia-spettrometria di massa (GC-MS). L'attività antimicrobica è stata valutata verso un numero selezionato di ceppi batterici mediante la valutazione della concentrazione minima di inibizione (MIC). L'attività antiossidante è stata valutata mediante il saggio TEAC/ABTS [Trolox Equivalent Antioxidant Capacity with 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] ed il contenuto fenolico mediante il metodo Folin-Ciocalteu.

Risultati. L'analisi GC-MS ha evidenziato come componenti principali dell'olio essenziale di canapa il mircene (35%), β -cariofillene (28%), α -pinene (15%) e terpinolene (12%). Una buona capacità antiossidante è accompagnata da una spiccata attività antimicrobica mostrata nei confronti di alcuni batteri patogeni come *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, isolati comunemente in prodotti alimentari, con valori di MIC inferiori allo 0,5%.

Conclusioni. Queste prime valutazioni *in vitro* hanno messo in luce per l'olio essenziale di canapa un'attività biologica molto interessante, che lo rendono un potenziale candidato come conservante alimentare naturale. A tal fine, lo studio verrà approfondito mediante l'applicazione in campioni reali, per valutare in particolare la concentrazione effettiva richiesta a seconda della matrice alimentare di interesse.

Parole chiave. Cannabis sativa L., GC-MS, Attività antimicrobica, Attività antiossidante

EFFETTO DELL'OLIO ESSENZIALE DI ORIGANUM VULGARE SULLA FORMAZIONE DI BIOFILM E SULLA MOTILITÀ DI PSEUDOMONAS FLUORESCENS PIGMENTANTE

C. Rossi¹, C. Chaves López¹, A. Serio¹, F. Anniballi², L. Valbonetti¹, A. Paparella¹

¹Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali, Teramo, Italia

²Istituto Superiore di Sanità, Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo, Roma, Italia
E-mail: apaparella@unite.it

Introduzione. Negli ultimi anni particolare attenzione è stata posta alla presenza di *Pseudomonas fluorescens* nei prodotti lattiero-caseari; in particolare tale specie è stata associata alla "alterazione blu" delle mozzarelle. La formazione di biofilm da parte di questo microrganismo gioca un ruolo significativo nella sopravvivenza e nella persistenza di questa specie negli alimenti e negli ambienti di lavorazione. Tra i principali fattori che influenzano l'adesione microbica alle superfici,

sono incluse le proprietà della superficie di contatto, l'idrofobicità della superficie cellulare e la capacità di motilità batterica. Data la decrescente suscettibilità dei biofilm ai disinfettanti chimici, si rende necessaria l'esplorazione di nuove sostanze per prevenire la formazione del biofilm.

Scopo. Considerando le proprietà antimicrobiche dell'olio essenziale di *Origanum vulgare* (OEO), lo scopo di questo lavoro è stato quello di investigare l'influenza dell'OEO sulla formazione del biofilm, nonché sulla produzione di pigmento blu di 10 ceppi di *P. fluorescens* pigmentanti isolati da mozzarella.

Materiali e metodi. Mediante la tecnica delle microdiluzioni sono state determinate la concentrazione minima inibente (MIC) e battericida (MBC) dell'OEO (Zuccari, Trento) nei confronti di *P. fluorescens*. L'efficacia dell'OEO sulla formazione del biofilm e sul biofilm pre-formato è stata valutata a 10 °C utilizzando micropiastre di polistirene e mediante microscopia confocale a scansione laser (CLSM). Inoltre, alla stessa temperatura è stata valutata l'influenza della concentrazione sub-MIC di 5 μ L/mL di OEO sulla produzione del pigmento blu e sulla motilità.

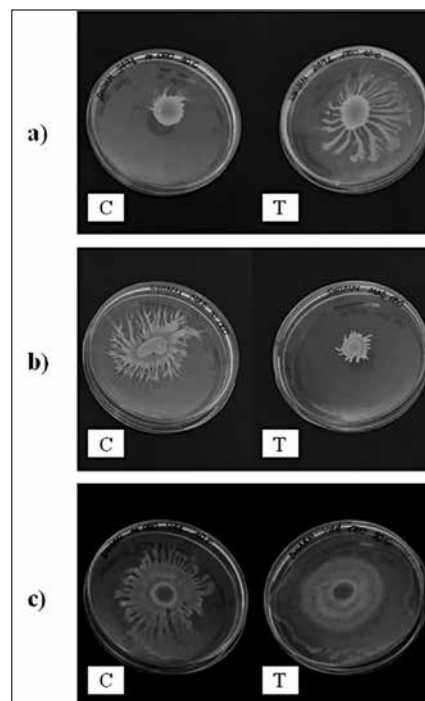
Risultati. Lo studio ha dimostrato che l'OEO ha influenzato non solo la crescita di *P. fluorescens*, ma anche la capacità dei ceppi di formare biofilm a 10 °C. Infatti, la concentrazione di 0,63 μ L/mL di OE ha ridotto la formazione del biofilm dal 38,54 all' 87,41% in tutti i ceppi saggati. Dall'analisi mediante microscopia confocale è emerso un effetto della concentrazione subletale di olio essenziale (5 μ L/mL) nel ridurre la formazione del biofilm e il suo spessore e, in misura minore, nella rimozione del biofilm. Inoltre l'olio essenziale ha influenzato la motilità cellulare, ma non ha inibito la produzione del pigmento blu da parte dei ceppi saggati.

Conclusioni. Nel presente studio è stato dimostrato che, oltre all'attività antibatterica nei confronti dei ceppi di *P. fluorescens*, il trattamento con l'OEO ha un ruolo promettente come agente anti-biofilm a bassa temperatura (10 °C). Pertanto, le proprietà di questo olio essenziale potrebbero essere utilizzate per progettare trattamenti mirati a contrastare la formazione di biofilm di *P. fluorescens* negli stabilimenti di trasformazione del latte. Ulteriori studi saranno necessari per comprendere meglio l'attività anti-biofilm di questo olio essenziale.

Parole chiave.

Pseudomonas fluorescens, Olio essenziale, Biofilm, Motilità

Effetti dell'olio essenziale di Origanum vulgare (OEO) sulla a) motilità "swimming" di *P. fluorescens* pf5 e b) *P. fluorescens* pf59 e sulla motilità "swarming" di *P. fluorescens* pf23 dopo 120 h di incubazione a 10°C. Campioni: controllo (C) e trattato con 5 μ L/mL di OEO (T).



POTENZIALI APPLICAZIONE DEGLI IDROLATI IN AMBITO ALIMENTARE

A. Serio, C. Rossi, S. D'Amato, C. Chaves López, A. Paparella

Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali, Teramo, Italia
E-mail: aserio@unite.it

Introduzione. La ricerca di principi antimicrobici innovativi da impiegare in diversi ambiti, da quello medico a quello alimentare, è in continua evoluzione. Tra le sostanze naturali, se è ben documentata l'attività biologica degli oli essenziali, minori informazioni sono invece disponibili circa gli idrolati, ottenuti come residuo dalla distillazione degli oli essenziali stessi.

Scopo. Vengono qui raccolti dati scientifici a supporto dell'efficacia antimicrobica degli idrolati *in vitro*, in vista di una potenziale applicazione *in situ* in ambito alimentare.

Risultati. L'attività antimicrobica degli idrolati è in funzione della loro composizione chimica, che in molti casi prevede la presenza, seppure in minore quantità, degli stessi composti principali e minori caratterizzanti i corrispondenti oli essenziali (es. carvacrolo nell'idrolato di *Coridothymus capitatus*). L'azione antimicrobica è stata scientificamente provata *in vitro* nei confronti di batteri patogeni di interesse alimentare, come *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e sporigeni come *Bacillus cereus*, di lieviti come *Candida albicans* e di muffe fitopatogene come *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*. Gli idrolati generalmente più efficaci sono quelli riconducibili ai generi *Origanum* e *Thymus*, ma anche quelli di fiori di arancio, cardamomo, cannella e nepetella hanno

fornito buoni risultati. In genere, minime concentrazioni inibenti (MIC) superiori a 0,50-0,75 mL/mL sono necessarie per esplicare un'azione microbica, mentre un'azione batteriostatica si riscontra in presenza di concentrazioni inferiori. Tuttavia, i risultati più importanti riguardano le applicazioni *in situ*, per la decontaminazione di superfici industriali (idrolato di *Satureja thymbra*), per lavaggio e sanificazione di vegetali e frutta, e persino nella rimozione di biofilm (*Thymbra capitata* nei confronti di *Salmonella* spp.), con risultati comparabili o addirittura migliori rispetto a disinfettanti commerciali. L'effetto inibente è spesso limitato nel tempo, ma ben si adatta a esigenze di disinfezione di prodotti alimentari destinati al consumo immediato. Gli idrolati sono risultati efficaci nel contrastare il deterioramento post-raccolta di agrumi, pere e carote, estendendone la shelf-life di alcuni giorni, inibendo o riducendo lo sviluppo fungino. La formulazione idrofila degli idrolati, ne rende l'applicazione più semplice rispetto agli oli essenziali, ne facilita il risciacquo, e l'odore, delicato e poco persistente, generalmente non determina un impatto negativo sulle caratteristiche sensoriali del prodotto su cui sono applicati.

Conclusioni. Gli studi realizzati finora dimostrano che gli idrolati hanno ottime possibilità di impiego in ambito alimentare, sia a livello industriale, per disinfettare strumenti e superfici, contrastando la formazione di biofilm, che sui prodotti, per migliorarne il profilo microbiologico, prevenirne l'ossidazione ed estenderne la shelf-life. Si potrebbero inoltre ipotizzare anche impieghi in combinazione con altre sostanze bioattive, magari nella formulazione di film antimicrobici. Prima di tutto ciò, si rendono tuttavia necessari ulteriori studi *in situ* e valutazioni sulla sicurezza di impiego e sull'impatto ambientale.

Parole chiave. Idrolato, Attività antimicrobica, Patogeni, shelf-life

OLIO ESSENZIALE DI CITRUS LUMIA RISSO: PROFILO FITOCHIMICO, PROPRIETÀ ANTIOSSIDANTI E ATTIVITÀ SUL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

D. Trombetta¹, S. Alloisio², F.M. Raimondo³, M. Denaro¹, L. Cornara⁴, A. Smeriglio¹

¹Dip. di Scienze Chimiche, Biologiche, Farmaceutiche e Ambientali, Univ. Messina, Italia

²ETT Spa, Genova, Italia

³Dip. di Biologia, Chimica e Scienze Farmaceutiche e Tecnologiche, Univ. Palermo, Italia

⁴Dip. di Scienze della Terra, dell'Ambiente e della Vita (DISTAV), Univ. Genova, Italia

E-mail: dtrombetta@unime.it

Introduzione. L'uso di oli essenziali (OE) è noto da tempo nella medicina tradizionale e nell'aromaterapia per la gestione di vari disturbi correlati allo stress ossidativo. Recentemente, il loro impiego è ulteriormente aumentato grazie al loro potenziale effetto neuroprotettivo e *anti-ageing*, nonché per ridurre ansia e stress. Gli OE degli agrumi sono una ricca fonte di composti biofunzionali con varie proprietà salutistiche, tra le quali possiamo annoverare quella antiossidante, antimicrobica, antinfiammatoria e citoprotettiva.

Scopo. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare, per la prima volta, il profilo fitochimico dell'OE di *Citrus lumia* Risso, le sue proprietà

antiossidanti, anti-colinesterasiche e neuroattive mediante saggi *cell-free* e *cell-based*.

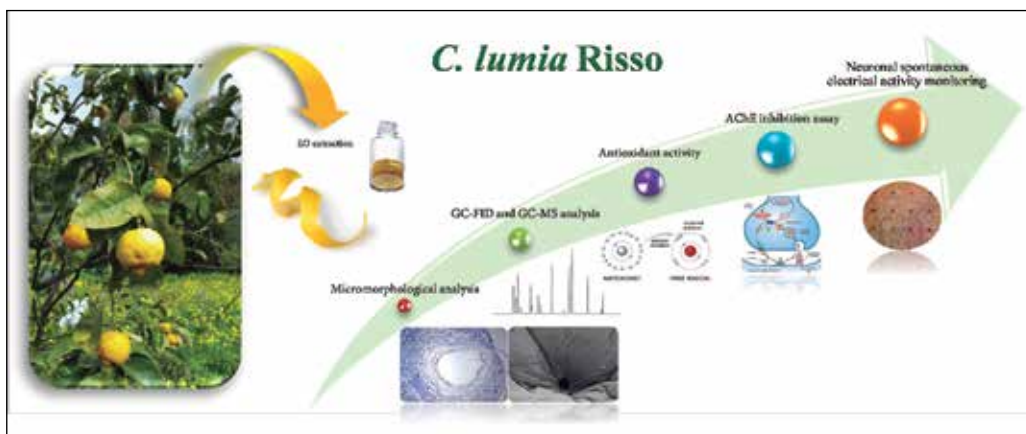
Materiali e metodi. Dopo l'identificazione botanica della specie, sono state condotte delle analisi preliminari di tipo micro-morfologico dell'epicarpo del frutto con tecniche di microscopia ottica e a scansione elettronica al fine di identificare particolari caratteristici di questa varietà. La frazione volatile di *C. lumia* è stata isolata mediante idro-distillazione secondo il metodo riportato nella Farmacopea Europea e l'OE analizzato quali-quantitativamente mediante Gas-cromatografia accoppiata alla rivelazione a ionizzazione di fiamma e alla spettrometria di massa (GC-FID e GC-MS). I test di attività antiossidante, di attività neuronale e di citotossicità sono stati effettuati secondo quanto riportato da Smeriglio e collaboratori (Smeriglio A. et al., 2017, Food Chem. Toxicol.)

Risultati. L'OE ha mostrato forti proprietà antiossidanti e *free-radical scavenging* in particolare nei test basati su trasferimento di atomi d'idrogeno (*bleaching* del β -carotene e ORAC test, IC₅₀ 22 μ g/mL e 46 μ g/mL, rispettivamente): tali attività possono essere ascrivibili all'alto contenuto in monoterpeni, in particolare D-Limonene (48,90%) e Linalolo (18,25%), sebbene un meccanismo sinergico non possa essere escluso. Inoltre, l'OE ha mostrato un'interessante attività anti-acetilcolinesterasica (IC₅₀ 258,25 μ g/mL) che ha trovato riscontro anche nel modello neuronale murino ricostituito *in vitro* in cui l'OE ha

mostrato una forte inibizione concentrazione-dipendente dell'attività elettrica spontanea neuronale. Tra l'altro l'OE ha mostrato una bassa citotossicità nel test dell'MTT effettuato su fibroblasti di topo L929 con un IC₅₀ superiore a 500 µg/mL a 48 h.

Conclusioni. Questo studio ha caratterizzato per la prima volta sia da un punto di vista micro-morfologico che da un punto di vista chimico e biologico la frazione volatile di *C. lumia*, un antico agrume

dell'area Mediterranea. I risultati suggeriscono che questo OE è una ricca fonte di antiossidanti naturali con spiccata attività neuronale inibitoria, suggerendo quindi un ruolo preventivo contro l'insorgenza di malattie correlate allo stress ossidativo con particolare attenzione a quelle di tipo neurodegenerativo.



Parole chiave. Citrus lumia Risso, Olio essenziale, Proprietà antiossidanti, Effetti neuroattivi

ATTIVITÀ ANTIMICROBICA DI OLI ESSENZIALI DI *HELICHRYSUM MICROPHYLLUM* CAMBESS. SUBSP. *TYRRHENICUM* BACCH., BRULLO & GIUSSO PROVENIENTE DALLA SARDEGNA SUD-OCCIDENTALE

C. Juliano¹, M. Marchetti², P. Campagna³, M. Usai¹

¹Dipartimento di Chimica e Farmacia, Università di Sassari, Italia

²Istituto di Chimica Biomolecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Sassari, Italia

³Dipartimento di Medicina Interna, Azienda Sanitaria Provinciale, Enna, Italia

E-mail: julianoc@uniss.it

Introduzione. *Helichrysum microphyllum* Cambess. subsp. *tyrrhenicum* Bacch., Brullo & Giusso è un endemismo ampiamente diffuso nelle isole del bacino del Mediterraneo (Sardegna, Corsica, Isole Baleari). Vari studi scientifici ne hanno documentato l'attività antiossidante, antinfiammatoria ed antivirale, e in Sardegna esso è ampiamente utilizzato nella fitoterapia popolare come analgesico, antireumatico, diuretico, espettorante, antiallergico, e nel trattamento delle ustioni.

Scopo. Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'attività antimicrobica (con particolare attenzione all'attività nei confronti di *Candida* spp.) degli oli essenziali di *H. microphyllum* subsp. *tyrrhenicum* raccolto in 4 diverse stazioni della Sardegna sud-occidentale, studiando l'eventuale sinergismo tra tali oli e il chitosano. Successivamente è stata determinata la composizione quali-quantitativa dei campioni presi in esame.

Materiali e metodi. L'attività antimicrobica degli oli in esame è stata determinata su ceppi di collezione (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Candida albicans*

ATCC 10231) e di isolamento clinico (3 ceppi di *Candida* spp.) mediante tecniche microbiologiche standard (determinazione di MIC e MBC mediante microdiluzione in brodo e macrodiluzione in agar, determinazione del *killing time*). La composizione quali-quantitativa degli oli studiati è stata determinata mediante gascromatografia e gascromatografia/spettrometria di massa.

Risultati. Gli oli essenziali analizzati possiedono profili cromatografici differenti. Gli oli provenienti dalle stazioni di Iglesias (1) e Carbonia (2), caratterizzati da un'elevata concentrazione di γ -curcumene (28%), mostrano una buona attività inibente nei confronti di *Candida* spp. a concentrazioni di 0,5-1 mg/mL; tale attività risulta essere potenziata da concentrazioni sub-inibenti di chitosano (0,125-0,250 mg/mL). L'azione antifungina risulta meno marcata nei campioni provenienti dalle stazioni di Portoscuso (3) (contenente 12% di γ -curcumene e 11% di linalolo, ma non neril acetato) e di Oristano (4) (33,6% di neril acetato).

Conclusioni. I nostri dati suggeriscono che l'olio essenziale di *H. microphyllum* subsp. *tyrrhenicum* può essere una risorsa da rivalutare come alternativa terapeutica nel trattamento di infezioni opportunistiche da *Candida*, eventualmente associato al chitosano in formulazioni innovative. I risultati ottenuti ribadiscono inoltre il concetto che la chemotipizzazione può portare ad un uso più mirato di una determinata specie botanica, nell'ottica di un'applicazione più razionale dell'aromatoterapia.

Parole chiave. *Helichrysum microphyllum* subsp. *tyrrhenicum*, Olio essenziale, Attività antimicrobica, Chitosano

EFFETTO DEGLI OLI ESSENZIALI DI *THYMUS VULGARIS*, *CYMOPOGON CITRATUS* E *ROSMARINUS OFFICINALIS* SULLE FUNZIONI DELLA PROTEINA TAT DI HIV-1

G. Feriotto¹, N. Marchetti¹, V. Costa¹, S. Beninati², F. Tagliati³,
C. Mischiati³

¹Dip. Chimica e Scienze Farmaceutiche, Università di Ferrara, Ferrara, Italia

²Dip. Biologia, Università di Roma Tor-Vergata, Roma, Italia

³Dip. Scienze Biomediche e Chirurgie Specialistiche Università di Ferrara, Ferrara, Italia

E-mail: carlo.mischiati@unife.it

Introduzione. L'identificazione di nuove molecole antivirali attive contro i ceppi di HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) farmacoresistenti alle attuali terapie rappresenta un obiettivo di primaria importanza nella lotta all'AIDS. In questo ambito, particolare interesse dovrebbe essere rivolto alla ricerca di molecole in grado di interferire con altre funzioni virali essenziali rispetto a quelle già bersaglio degli attuali farmaci antiretrovirali nella HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*). Gli estratti vegetali hanno già evidenziato un potenziale anti-HIV intrinseco e rappresentano pertanto un serbatoio naturale da cui attingere i nuovi farmaci del futuro. Tra essi, gli oli essenziali (EO) sono particolarmente interessanti poiché il loro effetto biologico è spesso dovuto a poche molecole preponderanti pur essendo formati da miscele complesse di terpeni.

Scopo. Il ruolo centrale svolto dalla proteina Tat nella trascrizione dell'HIV è stato spesso trascurato in passato come bersaglio di farmaci antivirali e non è mai stata effettuata una ricerca sugli EO in grado di ostacolare questa importante funzione virale. Abbiamo quindi valutato la composizione chimica e la possibile interferenza degli EO di *Thymus*

vulgaris, *Cananga odorata*, *Cymbopogon citratus* e *Rosmarinus officinalis* con l'interazione Tat/TAR-RNA e sulla trascrizione diretta dall'LTR di HIV-1 indotta da Tat.

Materiali e metodi. Gli EO sono stati reperiti in commercio. L'analisi GC/MS degli EO è stata condotta utilizzando un rilevatore di massa quadrupolare 5973 Agilent accoppiato con un gas-cromatografo Agilent GC 6850 Series II. È stata impiegata una colonna capillare HP-5MS contenente 5% fenilmetilpolisilossano (30m x 0,25mm, spessore del film, 0,25µm). La capacità degli EO di interferire con l'interazione Tat/TAR-RNA è stata analizzata mediante EMSA su gel nativo. La loro attività biologica sulla trascrizione virale è stata valutata mediante aggiunta dell'EO al terreno di coltura delle cellule HL3T1, una linea derivata dalle HeLa e contenente il costruito LTR-CAT integrato nel genoma capace di produrre la cloramfenicolo acetil transferasi in seguito alla somministrazione di Tat nel terreno di coltura.

Risultati. Gli EO di *T. vulgaris*, *C. citratus* e *R. officinalis* interferiscono con le funzioni di Tat. L'analisi GC/MS degli EO ha evidenziato che sono composti da miscele di terpeni completamente differenti ma, nonostante questo, egualmente in grado di impedire la formazione del complesso Tat/TAR-RNA e limitare la transattivazione virale indotta dalla presenza di Tat. L'EO di *R. officinalis* è il più efficiente tra essi.

Conclusioni. In considerazione dell'assenza di terpeni prevalenti comuni ai tre EO attivi, abbiamo concluso che gli effetti sulle funzioni di Tat dipendono da un terpene diverso in ciascun EO o dalla loro caratteristica miscela. L'efficacia nell'inibizione della trascrizione virale incoraggia ulteriori studi per identificare i singoli terpeni o una miscela minima di essi responsabile dell'attività antivirale.

Parole chiave. Oli essenziali, HIV, Tat, Trascrizione virale

GLI OLI ESSENZIALI DI *MONARDA FISTULOSA* E *MONARDA DIDYMA* INIBISCONO L'INFETTIVITÀ DEI VIRUS *HERPES SIMPLEX 1* E *2* IN VITRO

R. Muthusamy¹, M.G. Bellardi², P. Mattarelli², A. Ripalti¹

¹Unità Operativa di Microbiologia, Policlinico S.Orsola-Malpighi, Bologna, Italia

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

E-mail: alessandro.ripalti@unibo.it

Introduzione. I virus *Herpes simplex* (HSV) 1 e 2, comunemente noti come herpes labiale e genitale, sono molto diffusi nella popolazione umana e la loro seroprevalenza può arrivare fino al 90% in popolazioni sfavorite dal punto di vista socioeconomico. Le infezioni da HSV possono decorrere asintomatiche o essere gravissime, per esempio in ambito perinatale, nel soggetto immunodepresso, o quando coinvolgono l'encefalo. Più comunemente provocano lesioni dolorose e ricorrenti con un forte impatto negativo sulla vita di relazione dei pazienti. Non si dispone di un vaccino contro HSV, mentre i farmaci disponibili possono controllare le fasi acute dell'infezione ma non portano all'eradicazione dei virus. Inoltre il loro ampio uso favorisce l'insorgenza di ceppi resistenti, in particolare in pazienti

immunocompromessi.

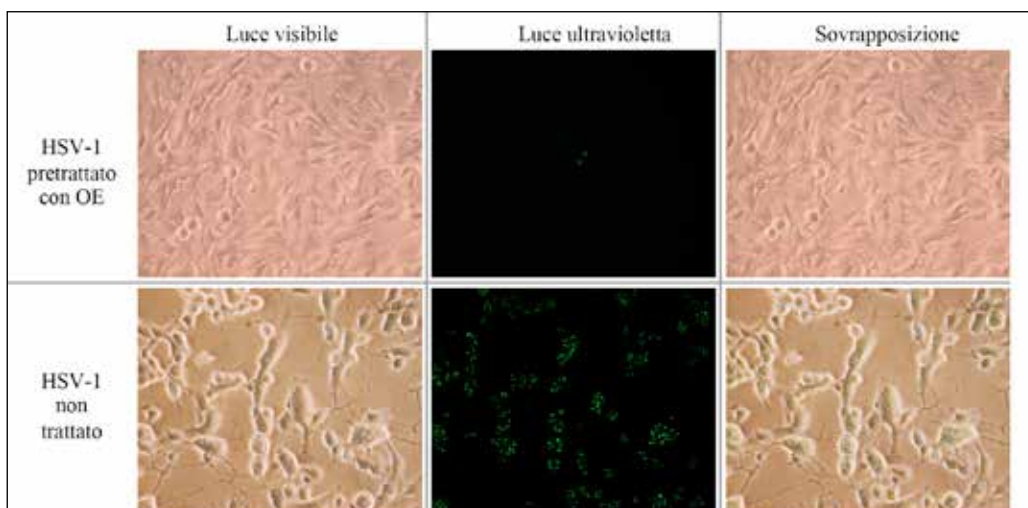
È dunque importante individuare nuovi approcci di profilassi e/o terapia con l'intento di affiancare alle molecole in uso composti con meccanismi d'azione alternativi.

Scopo. Valutare la capacità degli oli essenziali (OE) estratti da *Monarda* spp. di contrastare il ciclo vitale dei virus HSV-1 e HSV-2.

Materiali e metodi. Cellule: abbiamo utilizzato la linea cellulare di astrocitoma U-373 MG per tutti gli esperimenti di infettività, mentre le linee Vero (per HSV-1) e BHK (per HSV-2) sono state impiegate per la titolazione dei virus. I virus utilizzati sono stati un isolato clinico di HSV-1, il mutante replicazione competente K26GFP, che esprime la proteina fluorescente GFP e il ceppo di laboratorio HSV-2 (G). Infine sono stati impiegati OE di *Monarda fistulosa*, *M. didyma* e *Melaleuca alternifolia*. Saggi di attività antivirale sono stati effettuati nelle seguenti condizioni: (a) preincubazione virus/OE, (b) preincubazione monostrati cellulari con /OE, (c) aggiunta degli OE successiva all'adsorbimento virale su cellule preincubate con gli oli, (d) aggiunta degli OE dopo adsorbimento con virus preincubato con gli oli, (e) aggiunta degli OE subito dopo l'adsorbimento di virus. Le cellule venivano fissate ai tempi 3, 6, 9, 12, 18, 24 e 48 ore *post infectionem*. Il grado di replicazione virale veniva giudicato in confronto a cellule non trattate infettate con virus non trattato, osservando la comparsa

di proteine virus specifiche o contando le placche da effetto citopatico. **Risultati.** Abbiamo osservato un forte effetto virucida degli OE delle due specie su HSV-1 e 2, più potente di quello noto per *M. alternifolia*. Gli OE non sono invece in grado di contrastare la replicazione virale una volta che i virus siano penetrati nelle cellule.

Conclusioni. Il potere virucida di questi OE si pone come un promettente presidio per prevenire l'infezione e contenere la diffusione del virus. La disponibilità di molecole in grado di agire su fasi distinte del ciclo replicativo virale offre la possibilità di ridurre le dosi dei farmaci utilizzati di concerto e la durata del trattamento, minimizzando i rischi d'insorgenza di virus resistenti e di effetti indesiderati.



Tappeti cellulari di astrocitoma umano infettati con HSV-1 K26GFP esprimente una proteina strutturale in fusione con eGFP, pretrattato con OE di Monarda fistulosa per un'ora a 37 °C (riga superiore), o non trattato (riga inferiore), 24 ore post infectionem. È evidente l'assenza di effetto citopatico nelle cellule infettate con virus pretrattato, e la drastica riduzione di cellule esprimenti proteine virali.

Parole chiave. Monarda didyma, Monarda fistulosa, Herpes simplex, Antivirali

ATTIVITÀ VIRUCIDA DELL'OLIO ESSENZIALE DI ZENZERO NEI CONFRONTI DI HERPESVIRUS

M. Camero¹, G. Lanave¹, M. Corrente¹, C. Catella¹, V. Martella¹, M. Tempesta¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Bari, Bari, Italia
E-mail: michele.camero@uniba.it

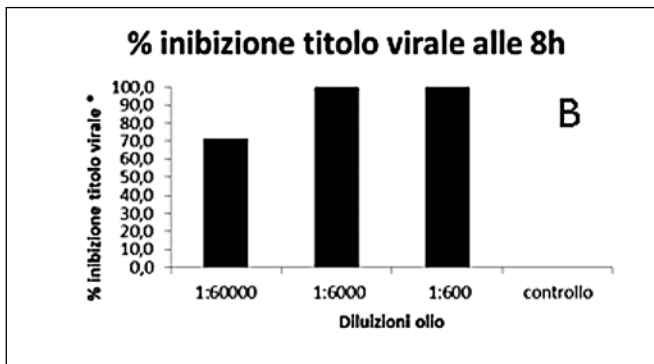
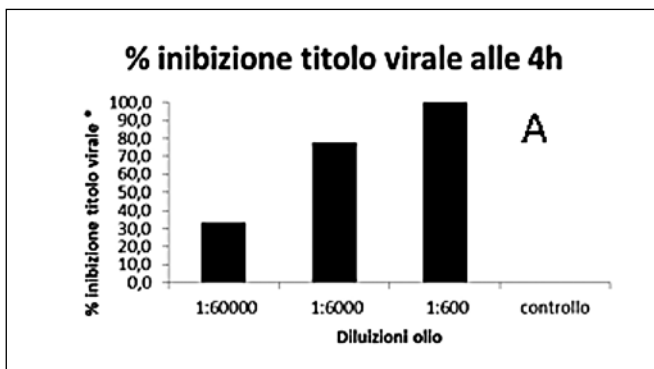
Introduzione. Gli herpesvirus sono importanti patogeni umani e animali che hanno un pesante impatto sulla salute umana e causano significative perdite economiche nel settore zootecnico. Le lesioni genitali indotte dall'infezione da herpesvirus della capra (CpHV-1) assomigliano alle lesioni indotte da *Herpes simplex virus 2* umano (HSV-2). Entrambi i virus manifestano tropismo per l'apparato genitale, provocando lesioni ulcerative-necrotiche sulla rima vulvare e vestibolo vaginale e tendono a indurre infezioni latenti nei gangli sacrali. Di conseguenza, l'infezione da CpHV-1 nelle capre potrebbe rappresentare un valido modello animale omologo utile per lo studio dell'infezione da HSV-2, principalmente per la valutazione dell'attività antivirale di farmaci in studi *in vivo*. Nonostante l'aciclovir sia ampiamente utilizzato per la gestione delle infezioni da herpesvirus, recentemente, l'insorgenza di ceppi virali resistenti a questo farmaco ha sensibilizzato il mondo scientifico alla ricerca di nuove sostanze di sintesi e naturali con attività antierpetica. Lo zenzero, *Zingiber officinale* Roscoe, spezia comune e pianta medicinale, ha mostrato di avere attività antivirale nei confronti di diversi virus tra cui l'*Herpes simplex virus*.

Scopo. Nel presente studio abbiamo analizzato l'attività virucida dell'olio essenziale di zenzero, nei confronti di CpHV-1.

Materiali e metodi. L'olio di zenzero è stato inizialmente diluito in dimetilsolfossido (DMSO); le diluizioni successive sono state effettuate in Dulbecco-Minimal Essential Medium (D-MEM) contenente 1% di etanolo. CpHV-1 con titolo iniziale di $10^{5.25}$ è stato diluito in D-MEM. Il potenziale effetto inibitorio di 3 diverse diluizioni dell'olio essenziale di zenzero (1:600, 1:6000, 1:60.000) nei confronti di 100 dosi infettanti tessuto coltura (TCID) di CpHV-1 è stato determinato mediante pretrattamento del virus con l'olio per 4 e 8 ore a temperatura ambiente e successiva titolazione su cellule MDBK con il metodo della diluizione limite. Parallelamente sono state effettuate le stesse prove utilizzando virus non trattato (controllo virus) e terreno di D-MEM con DMSO in presenza del virus (controllo DMSO).

Risultati. L'olio di zenzero diluito 1:60.000 (diluizione massima non citotossica) messo a contatto con il virus ha determinato dopo 4 ore una riduzione del titolo infettante di 0,75 log₁₀ pari al 33,3% rispetto al controllo e dopo 8 ore di 1,25 log₁₀ pari al 71,4% (Figura 1A). L'olio diluito 1:6000 e 1:600 ha determinato dopo 4 ore rispettivamente una riduzione del titolo infettante di 1,75 (77,8%), e 2,25 (100%) log₁₀ rispetto al controllo, dopo 8 ore di 1,75 log₁₀ (100%) per entrambe le diluizioni (Figura 1B).

Conclusioni. Il nostro studio ha dimostrato l'attività virucida dell'olio di zenzero nei confronti del varicellovirus CpHV-1, confermando ciò che è stato osservato con questa molecola contro HSV-1 e HSV-2. Questi risultati aprono diverse prospettive in termini di studi futuri e possibilità terapeutiche per gli herpes virus umani e animali.



Inibizione del titolo virale (espressa in percentuale) calcolata tra il controllo virus non trattato (considerato come 100%) e il virus trattato con le diverse diluzioni dell'olio essenziale di zenzero. La valutazione dell'attività antivirale è stata effettuata mediante pretrattamento del virus con l'olio per 4 (riquadro A) e 8 (riquadro B) ore a temperatura ambiente e successiva titolazione su cellule MDBK con il metodo della diluizione limite. Gli esperimenti sono stati ripetuti in modo indipendente e i dati presentati sono la media di tre prove.

Parole chiave. Olio essenziale di zenzero; *Zingiber officinalis Roscoe*; *Herpesvirus della capra*; Antivirali

SINERGIE TRA OLI ESSENZIALI ED ANTIBIOTICI DI SINTESI CONTRO LA FORMAZIONE DEI BIOFILM BATTERICI

G. Fracchiolla¹, A. Rosato²

¹Laboratorio di Analisi Chimico Farmaceutiche e Tossicologiche, Dipartimento di Farmacia - Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Bari 'Aldo Moro', Bari, Italia

²Laboratorio di Microbiologia, Dipartimento di Farmacia - Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Bari 'Aldo Moro', Bari, Italia

E-mail: giuseppe.fracchiolla@uniba.it

Introduzione. Gli antibiotici sono farmaci molto potenti, selettivi, generalmente sicuri, impiegati nella terapia delle infezioni batteriche dell'uomo e degli animali, tuttavia generano l'insorgenza di fenomeni di antibiotico-resistenza molto gravi e sui quali la comunità internazionale sta rivolgendo grande attenzione. Recentemente, il mercato dei prodotti naturali estratti da fonti vegetali, come gli estratti secchi o gli oli essenziali (OE), sta riscuotendo grande successo ed è in rapida espansione in seguito alle ormai riconosciute proprietà farmacologiche

ed antimicrobiche di queste sostanze naturali. In particolare, gli OE hanno mostrato effetti antimicrobici ed antinfiammatori *in vitro* correlati alla combinazione e concentrazione dei vari componenti in essi identificati. La sinergia degli antibiotici con gli OE potrebbe rappresentare una strategia alternativa per aumentare l'efficacia delle terapie antifettive minimizzando il fenomeno di insorgenza dell'antibiotico-resistenza.

Scopo. L'obiettivo di questo lavoro consiste nell'evidenziare possibili effetti sinergici contro i biofilm batterici derivati dalla combinazione di OE di Menta (*Mentha piperita* L.), Timo (*Thymus vulgaris* L.), Origano (*Origanum vulgare* L.) e Cannella (*Cinnamomum verum* J. Presl) e tre noti antibiotici impiegati in terapia: Gentamicina, Oxacillina e Norfloxacina.

Materiali e metodi. Tutti gli OE sono stati chemotipizzati mediante tecniche cromatografiche associate a spettrometria di massa (GC-MS). L'efficacia delle combinazioni OE-Antibiotico è stata valutata *in vitro* verso quattro ceppi batterici: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* Ig22, *S. aureus* ATCC 29213 and *S. epidermidis* IG4. Gli effetti sinergici sono stati determinati impiegando il metodo delle microdiluizioni (*chequerboard microdilution method*).

Risultati. Alcune combinazioni OE-Antibiotico testate hanno mostrato una elevata capacità di inibire i biofilm maturi prodotti dai ceppi batterici studiati. Infatti, abbiamo osservato una riduzione della massa del biofilm batterico dal 50 al 70% impiegando basse concentrazioni degli antibiotici e di OE (concentrazioni comprese tra 0,32 e 2,52 mg/mL). Di particolare rilievo l'associazione di *Cinnamomum verum* (2 mg/mL) con Gentamicina (4 µg/mL) ha determinato la completa inibizione della crescita del biofilm batterico di *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Conclusioni. I risultati preliminari ottenuti dimostrano come l'associazione tra OE ed antibiotici sia in grado di inibire la crescita batterica sia in forma planctonica che come biofilm maturi di ceppi batterici molto aggressivi. Studi *in vitro* e in vivo successivi potranno confermare e approfondire gli aspetti decisivi di questo approccio naturale agli attuali problemi posti dall'insorgenza di forme batteriche resistenti.

Parole chiave. Biofilm, Oli essenziali, Antibiotici, Sinergia



RUOLO DELL'ALCOOL NEI COLLUTORI AGLI OLI ESSENZIALI USATI NEL CONTROLLO DELLA PLACCA DENTALE

E. Marchetti

Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica Scienze della Vita e dell'Ambiente,
Università degli Studi dell'Aquila, L'Aquila, Italia
E-mail: enrico.marchetti@cc.univaq.it

Introduzione. La placca è un biofilm batterico responsabile dello sviluppo di carie e malattia parodontale. La rimozione meccanica tramite spazzolino, scovolini e filo interdentale è talvolta insufficiente e l'uso quotidiano di un collutorio antibatterico ha mostrato migliorarne il controllo. Il principale collutorio da uso quotidiano è il Listerine, a base di oli essenziali in soluzione alcolica. Proprio l'alta concentrazione di alcool è stata oggetto di critiche nel corso degli anni, visto il sospetto di un ruolo dell'alcool stesso nella formazione del carcinoma del cavo orale. Nell'ottica di limitare sempre più l'uso di alcool nei collutori, è stata introdotta una versione di Listerine senza alcool ma con scarsa evidenza scientifica a supporto di una sua efficacia.

Scopo. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'effetto antiplacca di un nuovo collutorio agli oli essenziali senza alcool rispetto a quello tradizionale a base idroalcolica, e rispetto a un controllo positivo e negativo in un modello di ricrescita della placca già utilizzato in precedenti studi.

Materiali e metodi. Lo studio è un trial clinico randomizzato e controllato, in doppio cieco e *crossover*, che ha coinvolto 21 volontari di entrambi i sessi per comparare 4 differenti soluzioni di collutorio, sfruttando un modello di ricrescita della placca di 3 giorni. I collutori

utilizzati sono: Listerine zero (EO-, test), Listerine Difesa Denti e Gengive (EO+, controllo con prodotto di riferimento), Corsodyl (CHX, controllo positivo a base di clorexidina 0,20%), placebo (controllo negativo). Al *baseline* ogni volontario è stato sottoposto a un accurato *debridement* delle superfici dentali per portare a zero il livello di placca. Nei successivi 3 giorni è stato chiesto a tutti i partecipanti di sospendere qualsiasi manovra di igiene orale domiciliare e di fare uno sciacquo di 30 secondi con 15 ml del collutorio assegnato, per due volte/die. Al termine dei 3 giorni ogni volontario è stato esaminato raccogliendo l'indice di placca (PI) ed ha ricevuto un altro *debridement*. Seguito un *washout* di 14 giorni gli è stato assegnato un altro collutorio. Visto il *design crossover* dello studio tutti i volontari hanno utilizzato tutti i 4 collutori. Tutti i collutori erano in confezioni anonime e sono stati pesati prima e dopo il periodo di sperimentazione per valutare la *compliance* di ciascun volontario. È stato chiesto anche di compilare un questionario con VAS per valutare le caratteristiche organolettiche.

Risultati. Listerine zero ha mostrato le stesse capacità inibenti la ricrescita della placca del Listerine tradizionale (PI=1,72 vs 1,65 rispettivamente), ma entrambi avevano un effetto inferiore rispetto a quello del controllo positivo a base di clorexidina (PI=1,07) e maggiore rispetto al placebo (PI=2,31). La modesta differenza di 0,07 tra listerine zero e listerine tradizionale risulta essere non statisticamente significativa ($p>0.0125$)

Conclusioni. In base ai dati ottenuti, l'assenza di alcool nel collutorio Listerine zero non sembra inficiarne le qualità antibatteriche, visti i risultati sovrapponibili a quelli del tradizionale Listerine con alcool. Entrambi, tuttavia, risultano meno efficaci del collutorio a base di clorexidina 0,20% che è stato usato come controllo positivo.

	Trattamenti/gruppi				valore p *
	CHX	EO+	EO-	Placebo	Differenze totali
Tutta la bocca	1.07±0.20	1.65±0.35	1.72±0.36	2.31±0.42	<0.0001
Vestibolare & Orale	1.07±0.20	1.67±0.35	1.73±0.36	2.32±0.42	<0.0001
Tutte vestibolari	1.29±0.35	1.99±0.46	2.09±0.43	2.85±0.61	<0.0001
Orali	0.85±0.24	1.34±0.31	1.37±0.38	1.78±0.36	<0.0001
Arcata Superiore	1.08±0.28	1.64±0.37	1.77±0.41	2.47±0.44	<0.0001
Arcata Inferiore	1.05±0.24	1.69±0.44	1.69±0.36	2.17±0.46	<0.0001
Molari	1.16±0.29	2.18±0.48	2.15±0.43	2.54±0.46	<0.0001
Premolari	0.97±0.26	1.54±0.40	1.67±0.49	2.24±0.38	<0.0001
Canini	1.05±0.30	1.45±0.43	1.57±0.36	2.30±0.53	<0.0001
Incisivi	1.07±0.41	1.40±0.39	1.47±0.47	2.17±0.56	0.0001

Tabella 1.

Valori dell'indice di placca per ciascun trattamento (media±DS; n=21).

* usando Friedman test

	valore p** CHX vs EO+	valore p** EO+ vs EO-	valore p** EO- vs Placebo	valore p** CHX vs EO-
Tutta la bocca	0.0001	n.s.	0.0002	0.0002
Vestibolare & Orale	0.0001	0.0001	0.0002	0.0001
Tutte vestibolari	0.0002	n.s.	0.0002	0.0002
Orali	0.0001	n.s.	0.0028	0.0001
Arcata Superiore	0.0001	n.s.	0.0002	0.0002
Arcata Inferiore	0.0001	n.s.	0.0015	0.0002
Molari	0.0001	n.s.	0.0124	0.0001
Premolari	0.0002	n.s.	0.0005	0.0002
Canini	0.0006	n.s.	0.0001	0.0010
Incisivi	0.0100	n.s.	0.0006	0.0072

Tabella 2.

Analisi Post-hoc.

** usando il test Wilcoxon dei ranghi con aggiustamento per confronto multiplo di Bonferroni, $p<0.0125$.

n.s.: no differenze statisticamente significative tra ciascun trattamento, $p>0.0125$

Parole chiave. Collutorio, Placca dentale, Alcool, Oli Essenziali

STRESS OSSIDATIVO E APOPTOSI IN CELLULE DI CARCINOMA TIROIDEO ESPOSTE ALL'OLIO ESSENZIALE DI *PISTACIA LENTISCUS*

S. Benedetti¹, S. Catalani¹, F. Palma², S. Battistelli¹

¹ Sezione di Biochimica Clinica e Genetica Molecolare, Dipartimento di Scienze Biomolecolari, Università di Urbino "Carlo Bo", Urbino, Italia.

² Sezione di Biochimica e Biologia Molecolare, Dipartimento di Scienze Biomolecolari, Università di Urbino "Carlo Bo", Urbino, Italia.

E-mail: serena.benedetti@uniurb.it

Introduzione. Gli oli essenziali (EO) stanno ricevendo sempre maggiore interesse terapeutico non solo per la loro attività antimicrobica, antiossidante e antinfiammatoria, ma anche per le loro proprietà antitumorali e il loro effetto sinergico con le terapie antineoplastiche convenzionali. Tra le piante dalle quali si producono EO, la *Pistacia lentiscus* L. (PL) è un arbusto sempreverde della famiglia delle Anacardiaceae, conosciuta per la sua ampia varietà di bioattività.

Scopo. In questo studio sono stati investigati gli effetti citotossici di un EO ottenuto dalle parti aeree (foglie, ramoscelli e bacche) di *Pistacia lentiscus* (PLEO) su diverse cellule tumorali in coltura (da cervice, colon, fegato, mammella, polmone, prostata e tiroide). Sono stati inoltre inclusi i fibroblasti umani come cellule sane di controllo.

Materiali e metodi. La vitalità cellulare è stata monitorata mediante il saggio WST-8 fino a 72 ore di incubazione con PLEO (0,01-0,1% v/v). Nella linea tumorale più sensibile, sono stati inoltre investigati: la formazione intracellulare di specie reattive dell'ossigeno (ROS) mediante la sonda DCFH-DA, l'induzione di apoptosi mediante valutazione delle caspasi-8 e -9 e della frammentazione del DNA nucleare e, infine, l'aumento della citotossicità di alcuni farmaci chemioterapici da parte di PLEO.

Risultati. In presenza di PLEO, è stata osservata una riduzione dose-dipendente della vitalità delle cellule tumorali, mentre nessun effetto citotossico è stato rilevato nei fibroblasti sani. Le cellule di carcinoma tiroideo FTC-133 sono risultate le cellule più sensibili al trattamento con PLEO; infatti, dopo la somministrazione dell'estratto, nelle FTC-133 sono stati evidenziati un accumulo intracellulare di ROS e un'attivazione sia della via estrinseca sia di quella intrinseca dell'apoptosi. Inoltre, è stato osservato un aumento dell'effetto citotossico dei farmaci antineoplastici cisplatino, 5-fluorouracile ed etoposide in presenza di PLEO.

Conclusioni. Questo studio ha fornito nuove informazioni sull'azione antitumorale dell'olio essenziale ottenuto dalle parti aeree di *Pistacia lentiscus* (PLEO). Essendo quest'olio una miscela complessa di numerosi costituenti (principalmente monoterpeni come mircene e α -pinene), l'azione citotossica di PLEO sulle cellule tumorali potrebbe essere la somma di ogni singola attività, modulata da tutte le potenziali interazioni. Tenendo conto della sua modalità di azione e della sua capacità di potenziare l'effetto citotossico di farmaci antineoplastici convenzionali, PLEO potrebbe essere considerato una fonte promettente di agenti antitumorali naturali e potrebbe avere un ruolo terapeutico nell'ambito dell'oncologia integrata come supporto alle terapie standard.

Parole chiave. *Pistacia lentiscus*, Oli essenziali, Stress ossidativo, Apoptosi, Cellule cancerose

THYMUS VULGARIS L.: OLIO ESSENZIALE NELLA MALATTIA INFIAMMATORIA INTESTINALE

R. Budriesi¹, C. Marzetti², M. Micucci¹

¹ Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie (FaBit) Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, Bologna, Italia

² Valsambro S.r.l., Bologna, Italia

E-mail: roberta.budriesi@unibo.it

Introduzione. La malattia infiammatoria intestinale (IBD) è una patologia cronica in cui lo stato infiammatorio a lungo termine può causare un quadro clinico che interessa il tratto digestivo. Le due principali forme di IBD sono la malattia di Crohn e la colite ulcerosa. L'IBD è anche una malattia che cambia nel tempo e soggettiva, quindi le strategie terapeutiche sono personalizzate. I protocolli terapeutici hanno base comune e comprendono antinfiammatori di nuova generazione a cui si associano terapie complementari volte a ridurre la sintomatologia prevalentemente diarroica. Negli ultimi anni è aumentato l'interesse dei ricercatori nei confronti degli oli essenziali per i loro molteplici effetti biologici.

Scopo. Lo scopo di questo lavoro è lo studio della composizione chimica dell'olio essenziale di *Thymus vulgaris* L. come tale e della sua forma solida. A questo è correlato il profilo di attività biologica nei confronti della motilità di tessuti gastrointestinali isolati e di alcuni ceppi di microrganismi.

Materiali e metodi. Attraverso tecniche analitiche avanzate è stata definita la composizione chimica dell'olio essenziale come tale e adeso a un supporto solido. Gli effetti dell'olio essenziale, della forma solida e degli eccipienti sono stati studiati sulla motilità intestinale utilizzando strips di ileo e colon di cavia isolati in attività spontanea. L'azione sui batteri è stata studiata su alcuni ceppi come *Lactobacilli* e *Bifidobatteri*.

Risultati. I dati sulla contrattilità spontanea sono stati correlati con la composizione chimica dei campioni. I campioni riducono la motilità spontanea e i dati sono confermati anche dai panels di onde che interessano i due distretti intestinali considerati. La formulazione ha potenza simile all'olio ma è più evidente la relazione tra dose ed effetto, soprattutto nel colon. I dati preliminari dimostrano che il *T. vulgaris* induce la crescita dei *Lactobacilli*, mentre non ha nessun effetto sui *Bifidi*.

Conclusioni. In conclusione questi dati supportano il potenziale uso dell'olio essenziale di *Thymus vulgaris* L. nei casi di diarrea associati a IBD. L'olio essenziale riduce la contrattilità sia di ileo che di colon di cavia, con una interessante attività su batteri intestinali. Da ultimo, ma non meno importante, la nuova formulazione apre una nuova strada all'uso degli oli essenziali come coadiuvanti nei trattamenti convenzionali per diarrea associata a IBD e nei confronti delle diarreie funzionali.

Parole chiave. *Thymus vulgaris* L., contrattilità intestinale, batteri intestinali, diarrea, IBD

ATTIVITÀ ANTIMICROBICA IN VITRO DI 12 BIOCONSERVANTI SU CLOSTRIDI PRODUTTORI DI TOSSINE BOTULINICHE: RISULTATI PRELIMINARI

E. Faltelli¹, M. Marchesani¹, C. Scalfaro², B. Auricchio², A. Serio¹, C. Chaves López², C. Rossi¹, F. Anniballi², A. Paparella¹

¹Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Bioscienze e Tecnologie Agroalimentari e Ambientali, Teramo, Italia

²Istituto Superiore di Sanità, Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo, Roma, Italia
Email: fabrizio.anniballi@iss.it

Introduzione. Il botulismo alimentare rappresenta ancora oggi per il nostro Paese un'emergenza per la salute pubblica, così come dimostrato dai dati di prevalenza della malattia (0,03 casi per 100.000 abitanti), che sono tra i più alti in Europa. Alla consolidata abitudine di preparare conserve in ambito domestico, si contrappone la necessità di avere a disposizione nuove formulazioni alimentari prive di conservanti, poco processate e pronte all'uso. In questo scenario socioculturale si sta consolidando sempre più l'utilizzo di sostanze naturali ad azione antimicrobica.

Scopo. Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare *in vitro* l'attività antimicrobica esercitata da 12 composti naturali, principalmente oli essenziali o idrolati, nei confronti dei clostridi produttori di tossine botuliniche anche al fine di valutarne il possibile impiego come bioconservanti nelle preparazioni domestiche e industriali.

Materiali e metodi. Sono stati testati i seguenti oli essenziali: *Cinnamomum zeylanicum* prodotto da Zuccari s.r.l.; *Coridothymus capitatus*, *Origanum hirtum*, *Rosmarinus officinalis*, prodotti da Exentiae

s.r.l.; *Ocimum basilicum*, *Origanum vulgare hirtum*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris*, prodotti da Flora s.r.l. linea Primavera. Sono inoltre stati testati gli idrolati *Coridothymus capitatus*, *Origanum hirtum*, *Rosmarinus officinalis* prodotti da Exentiae s.r.l. e l'estratto Phenolea® Complex Plus L prodotto da PhenoFarm. L'attività antimicrobica di tutti i composti naturali è stata testata contro 109 ceppi di clostridi produttori di tossine botuliniche mediante metodo per diffusione su disco, utilizzando come terreno di coltura il Wilkins Chalgren Agar. I bioconservanti sono stati diluiti in PBS+1%Tween 80 per raggiungere una concentrazione finale del 4%. Successivamente all'incubazione in anaerobiosi alla temperatura di 37 °C per 48 ore, sono stati misurati gli aloni di inibizione.

Risultati. Come riportato nella tabella 1, l'olio essenziale di *Cinnamomum zeylanicum* ha mostrato la maggiore attività antimicrobica, inibendo lo sviluppo del 98,2% dei ceppi saggiati, mentre l'idrolato di *Coridothymus capitatus* ne ha inibito soltanto il 7,3%. Gli oli essenziali hanno mostrato una capacità inibente nettamente maggiore rispetto ai relativi idrolati.

Conclusioni. Il metodo di diffusione su disco, come ampiamente riportato in letteratura per quanto concerne gli antibiotici, sui microrganismi anaerobi ha soltanto un valore indicativo. Pertanto, i dati preliminari riportati nel presente lavoro necessitano di conferma mediante determinazione della concentrazione minima inibente (MIC) e della concentrazione minima battericida (MBC). Verrà inoltre valutata l'attività esercitata dalle stesse sostanze naturali sulla tossinogenesi e sulla germinazione delle spore. Solo dopo aver ultimato questi ulteriori prove sarà possibile valutare il possibile impiego di tali composti naturali come bioconservanti con azione antibotulinica.

Parole chiave. Oli essenziali, Idrolati, Clostridi produttori di tossine botuliniche

Risultati dell'attività antimicrobica esercitata da 12 composti naturali contro 109 ceppi di clostridi produttori di tossine botuliniche. *idrolati

Microorganismo	N. ceppi testati	N. ceppi sensibili													
		<i>Coridothymus capitatus</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Origanum hirtum</i>	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	<i>Thymus serpyllum</i>	<i>Ocimum basilicum</i>	<i>Coridothymus capitatus</i> *	<i>Rosmarinus officinalis</i> *	<i>Origanum vulgare hirtum</i> *	Phenolea® Complex Plus L	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Origanum vulgare hirtum</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>	
<i>C. botulinum</i> tipo A	17	9	1	3	17	9	9	1	3	3	4	7	8	5	
<i>C. botulinum</i> tipo Ab	5	3	1	4	5	2	5	1	2	2	3	3	2	1	
<i>C. botulinum</i> tipo A(B)	3	1	0	0	3	1	2	0	0	1	1	1	2	1	
<i>C. botulinum</i> tipo B	63	26	18	14	61	26	36	6	20	22	24	24	39	24	
<i>C. botulinum</i> tipo Bf	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	
<i>C. botulinum</i> tipo E	2	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	1	2	
<i>C. botulinum</i> tipo F	5	4	0	3	5	4	1	0	0	0	0	0	1	0	
<i>C. argentineuse</i> tipo G	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
<i>C. butyricum</i> tipo E	10	0	0	2	10	1	6	0	0	0	0	0	2	1	
<i>C. botulinum</i> non tossigeno	2	2	0	0	2	2	1	0	0	1	1	1	1	0	

POTENZIALE USO DI IDROLATI IN FORMA "GELYD" COME PREVENZIONE PER BIODETERIOGENI IN AMBIENTI CONFINATI

M. Di Vito¹, M.G. Bellardi¹, P. Colaizzi², D. Ruggiero², C. Mazzuca³, L. Micheli³, R. Paolesse³, M. Stefanelli³, R. Capuano⁴, F. Mondello⁵, P. Mattarelli¹, M.C. Sclocchi²

¹ Dip. Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Bologna, Italia;

² Ministero per i Beni e le Attività Culturali e del Turismo - Istituto Centrale Restauro e Conservazione del Patrimonio Archivistico e Librario (ICRCPAL), Roma, Italia;

³ Dip. Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Roma "Tor Vergata", Roma, Italia;

⁴ Dip. Ingegneria Elettronica, Università di Roma "Tor Vergata", Roma, Italia;

⁵ Dip. di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

E-mail: wdivit@gmail.com

Introduzione. Gli oli essenziali, così come gli idrolati, sono considerati composti bioattivi di origine vegetale e quindi "naturali". Questo spiega il sempre maggiore interesse verso le potenzialità in svariati ambiti compreso quello della conservazione del patrimonio culturale. Uno dei problemi più annosi da risolvere nel campo della conservazione dei documenti grafici è il trattamento preliminare al restauro per mettere in sicurezza l'opera dal punto di vista microbiologico. Questo problema è stato affrontato dal nostro gruppo di ricerca sviluppando uno studio volto a valutare l'efficacia degli idrolati quando integrati nel gel di gellano (GELYD) per conferirgli un'azione citocida verso i biodeteriogeni della carta (Di Vito M. *et al.*, 2018).

Scopo. La fase successiva al nostro studio è stata quella di indagare l'azione del GELYD quando posto in ambienti confinati non a diretto contatto con l'opera al fine di valutarne l'azione preventiva vs l'attacco di biodeteriogeni al patrimonio cartaceo.

Materiali e metodi. Dati preliminari di laboratorio sono stati ottenuti utilizzando contenitori di diverso volume (piccoli, medi e grandi) sul fondo dei quali sono stati posti tasselli di carta Whatman assieme a piastre Petri contenenti 15 mL di solo gellano o di GELYD ottenuto con idrolati di *Monarda citriodora* o *Citrus aurantium*. Sono stati condotti due tipologie di esperimenti. Nel primo caso i tasselli di carta sono stati seminati con 50 µL di una sospensione caratterizzata da ceppi fungini isolati da opere cartacee (*Aspergillus sydowii*, *Penicillium chrysogenum* e *Cladosporium sphaerospermum*) (Fig. 1) e, settimanalmente, è stato valutato il segnale dell'ATP presente sui tasselli trattati e di controllo. Nel secondo caso i campioni di carta Whatman sono stati lasciati a temperatura ambiente per 7-14 e 21 gg per poi essere analizzati al settimo e al quattordicesimo giorno mediante analisi dei composti volatili eseguita con gascromatografia abbinata a spettrometria di massa (GC-MS). Mentre tutti e tre i tempi sono stati analizzati per la qualità dell'aria negli ambienti confinati mediante campionamento dei composti volatili con tecnica di preconcentrazione denominata microestrazione in fase solida (*Solid Phase Microextraction*-SPME).

Risultati. I risultati delle analisi microbiologiche mostrano come il GELYD sia in grado di abbattere la carica fungina quando posto in ambienti confinati. Mentre, i dati ottenuti dall'analisi relativa alla qualità dell'aria e ai residui sulla carta, indicano che le componenti volatili terpeniche degli idrolati sono rilevabili sin dai primi giorni di

esposizione del GELYD nell'ambiente confinato; le stesse componenti non sono rilevabili sulla carta sin tanto che, per deposizione, non raggiungono una concentrazione superiore alla soglia di sensibilità dello strumento che, nel nostro caso, è raggiunto solo dopo i primi 14 giorni di esposizione.

Conclusioni. I nostri dati preliminari individuano un nuovo potenziale uso del GELYD nella prevenzione della contaminazione da biodeteriogeni del patrimonio cartaceo posto in ambienti confinati, anche se ulteriori indagini volte a valutarne la sicurezza d'uso sull'opera sono necessarie e in fase di sviluppo.

Parole chiave. GELYD, *Citrus aurantium*, *Monarda citriodora*, Beni culturali cartacei



La sperimentazione è stata eseguita utilizzando tasselli di carta seminati con una sospensione di ceppi fungini isolati da opere cartacee.

POTENZIALITÀ ANTIMICROBICA DEL TERPINENE-4-OLO, PRINCIPALE COMPONENTE DEL TEA TREE OIL, NEI CONFRONTI DI BATTERI MULTIRESISTENTI DI ORIGINE CLINICA

M. Di Vito², A. Girolamo¹, A.M. Marella¹, M. Giufrè¹, M. Monaco¹, F. Mondello¹

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

² Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Italia

E-mail: francesca.mondello@iss.it

Introduzione. L'uso indiscriminato degli antibiotici ha portato, negli anni, allo sviluppo dell'antibiotico-resistenza, oltre ad un aumento di allergie e di reazioni avverse inaspettate. In particolare, le infezioni nosocomiali, causate da microrganismi multi-resistenti, sono diventate una delle principali preoccupazioni in ambito di sanità pubblica. Si evidenzia chiaramente la necessità di nuove alternative terapeutiche, sicure ed efficaci, che possano essere di supporto alle cure tradizionali. Tra i candidati più promettenti e potenzialmente attivi sui microrganismi resistenti agli antibiotici, responsabili di infezioni, vi sono gli oli essenziali (OE), misture estratte da piante aromatiche, e i loro fitocostituenti che presentano varie caratteristiche quali:

biodegradabilità, esigua tossicità, ampio spettro di azione, sinergia d'azione in combinazione con gli antibiotici.

Scopo. Valutare l'attività antibatterica di OE e fitocostituenti, estratti da alcune specie di piante medicinali ampiamente usate nella medicina popolare, nei confronti di diverse specie batteriche multiresistenti (MDR) di origine clinica.

Materiali e metodi. È stata saggiata *in vitro* l'attività degli OE dei frutti di *Trachyspermum ammi* L. (Ajowan oil, AO), di *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree oil, TTO) e del suo maggiore componente terpinene-4-olo (T-4-olo) nei confronti di 53 ceppi di *Staphylococcus aureus* meticillina-resistenti (MRSA), di 25 ceppi di *Klebsiella pneumoniae* produttori di carbapenemasi (KPC), di 15 ceppi di *Escherichia coli* produttori di β -lattamasi ad ampio spettro (ESBL), tutti di origine clinica, mediante il metodo standard di microdiluzione in brodo (linee guida CLSI 2014).

Risultati. Le attività battericide (MBC_{90}) di AO e del T-4-olo in MRSA risultavano entrambe 0,5 % v/v ed erano più efficaci rispetto all'attività

battericida del TTO (4% v/v). In *E. coli* (ESBL) e in *K. pneumoniae* (KPC) invece la MBC_{90} del TTO risultava 0,25% v/v per entrambe le specie e la MBC_{90} del T-4-olo era 0,25% v/v per *E. coli* e 0,12% v/v per *K. pneumoniae*. In ogni caso le attività di TTO e T-4-olo contro questi germi Gram-negativi risultavano nettamente più efficaci dell'attività battericida di AO (2% v/v) (tab. 1).

Conclusioni. Da questi dati si evince che gli OE agiscono selettivamente nei confronti dei batteri MDR Gram-positivi e Gram-negativi testati. Il T-4-olo, complessivamente, possiede un'attività battericida più efficace degli altri OE contro tutte le specie MDR testate. Rispetto agli altri OE testati, il T-4-olo, potrebbe rappresentare un microbicide promettente, e attraverso ulteriori studi, potrebbe candidarsi per un utilizzo che coadiuvi o sia di supporto alle terapie antibiotiche.

Parole chiave. Farmacoresistenza, oli essenziali, *Staphylococcus aureus* MRSA, *Klebsiella pneumoniae* KPC, *Escherichia coli* ESBL

Oli essenziali o componenti % v/v	<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA (ceppi n=53)				<i>Klebsiella pneumoniae</i> KPC (ceppi n=25)				<i>Escherichia coli</i> ESBL (ceppi n=15)			
	MIC ₉₀	MIC range	MBC ₉₀	MBC range	MIC ₉₀	MIC range	MBC ₉₀	MBC range	MIC ₉₀	MIC range	MBC ₉₀	MBC range
<i>Melaleuca alternifolia</i> (TTO)	1,0	0,12-1,0	4,0	0,12-4,0	0,12	0,12-0,25	0,25	0,12-0,5	0,5	0,12-0,25	0,25	0,12-0,5
Terpinene-4-olo	1,0	0,015-1,0	0,5	0,5-1,0	0,25	0,06-0,25	0,12	0,06-0,25	0,12	0,06-0,25	0,25	0,06-0,25
<i>Trachyspermum ammi</i> (AO)	0,25	0,015-0,25	0,5	0,25-0,5	1,0	0,5-1,0	2,0	0,5-4,0	0,5	0,5-2,0	2,0	0,5-4,0

Attività antimicrobica in vitro degli oli essenziali di *Trachyspermum ammi* L., di *Melaleuca alternifolia* (tea tree) e del suo principale componente, terpinene-4-olo, nei confronti di batteri multiresistenti di origine clinica. MIC₉₀ = Minima Concentrazione Inibente al 90% MBC₉₀ = Minima Concentrazione Battericida al 90%

APPLICAZIONE DI METODICHE MACHINE LEARNING A MISCELE COMPLESSE: IL CASO DEGLI OLI ESSENZIALI

Rino Ragno

Center for Molecular Design, Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia
E-mail: rino.ragno@uniroma1.it

Introduzione. Gli oli essenziali (OE) sono miscele complesse dotate di provata efficacia, che possono interessare il semplice utilizzo casalingo, le preparazioni cosmetiche e l'utilizzo nel campo farmaceutico. Tuttavia proprio la complessità chimica degli OE rappresenta uno dei maggiori fattori limitanti per quanto riguarda il loro impiego come medicinali o come ausiliari. Infatti, non risulta facile la loro standardizzazione derivandone una certa difficoltà nella riproducibilità dei dati associati ad esperimenti eseguiti anche su campioni ottenuti dalla stessa pianta. Recentemente nuovi protocolli sistematici dell'estrazione di OE hanno sottolineato la necessità di dover sviluppare per ogni pianta un protocollo ad hoc per l'estrazione del relativo OE in base sia al contenuto chimico che alla destinazione d'uso. Tuttavia ancora molto è da fare specialmente nell'emergente campo della classificazione e validazione del chemotipo.

Scopo. Questa presentazione vuole dimostrare come un approccio

multidisciplinare in cui la coniugazione delle informazioni chimiche e microbiologiche con tecniche di *machine learning* possono evidenziare in dettaglio quali componenti chimici sono maggiormente responsabili degli effetti biologici associati agli OE.

Materiali e metodi. Diversi campioni di OE derivanti da piante [*Calamintha nepeta* (CG); *Foeniculum vulgare* (FV) e *Ridolfia segetum* (RS)] sono stati analizzati per la loro composizione chimica mediante gas-cromatografia accoppiata a spettrometria di massa (GC/MS) e sottoposti a *screening* microbiologico nei confronti di *Pseudomonas aeruginosa* (PA) per valutarne la capacità di modulare la produzione di biofilm.

Risultati. L'estrazione frazionata ha permesso di ottenere 89 campioni differenti a partire da solo tre tipologie di piante e caratterizzati da una varietà della composizione riconducibile a oltre 54 composti chimici. Tutti gli OE sono risultati microbiologicamente inattivi nei confronti di PA, tuttavia molti campioni hanno dimostrato una notevole efficacia nella modulazione della produzione di biofilm batterico a concentrazioni dell'ordine 10^{-3} - 10^{-5} mg/mL. In particolare, alcuni campioni di OE di FV hanno ridotto la produzione di biofilm di oltre il 50% a concentrazioni di $4,7 \times 10^{-5}$ mg/mL mentre alcuni campioni CG sono risultati promuovere la produzione di biofilm. Con l'applicazione di tecniche di *machine learning*, in particolare di *gradient boosting* (GB), sono stati sviluppati dei modelli di classificazione, capaci di discriminare efficacemente i

componenti chimici modulati positivamente la produzione di biofilm da quelli capaci di inibirne la produzione.

Conclusioni. La combinazione tra metodiche estrattive sistematiche, caratterizzazione chimica e microbiologica e metodi di *machine learning* hanno consentito di evidenziare che è possibile andare oltre il significato di chemotipo. In questo studio l'approccio multidisciplinare ha permesso l'identificazione dei componenti chimici responsabili dell'aumento e della diminuzione della produzione di biofilm in colture di PA. In particolare estragole e phellandral sembrano essere i componenti che maggiormente inibiscono la formazione di biofilm, mentre D-limonene, pulegone e chrysanthenone sono associati con una possibile stimolazione di produzione di biofilm.

Parole chiave. Olio essenziale, Machine learning, Biofilm, Pseudomonas aeruginosa

ATTIVITÀ ANTIFUNGINA E ANTIBIOFILM DELL'OLIO ESSENZIALE DI *ORIGANUM VULGARE*, DEL CARVACROLO E DEL TIMOLO IN *CANDIDA* SPP.

V. Tedesco¹, M. Colone², R. Greco¹, A. Stringaro², L. Angiolella¹

¹Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie infettive, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

² Centro Nazionale per la Ricerca e la Valutazione Preclinica e Clinica dei Farmaci, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia
E-mail: annarita.stringaro@iss. it

Introduzione. Diverse specie di *Candida*, come *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei* sono responsabili di infezioni superficiali del cavo orale, della mucosa vaginale come pure di infezioni disseminate e profonde dei tessuti. Diversi classi di farmaci sono disponibili per risolvere questo tipo di infezioni anche se questi causano diversi effetti collaterali come la nefrotossicità e purtroppo l'insorgenza dei fenomeni di farmacoresistenza. Da diversi anni molti studi sono stati svolti per individuare nuove molecole bioattive con attività antifungina. Come è noto, le piante rappresentano un serbatoio estremamente ricco di metaboliti secondari con attività antimicrobica ad ampio spettro. In particolare, tra questi ricordiamo gli oli essenziali che sono complesse miscele di differenti composti che presentano un'elevata attività antimicrobica anche a basse concentrazione.

Scopo. In questo studio sono stati utilizzati l'olio essenziale (EO) di *Origanum vulgare* e di due suoi componenti quali il carvacrolo ed il timolo per valutare la loro attività antifungina e antibiofilm nei confronti di diversi differenti isolati clinici di *Candida*.

Materiali e metodi. L'attività antimicrobica è stata valutata seguendo i protocolli standard (CLSI) per determinare la minima concentrazione inibente (MIC) e la minima concentrazione fungicida (MFC). L'attività antibiofilm è stata valutata con metodo semiquantitativo mediante riduzione di un sale di tetrazolio (XTT2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfo-phenyl)-2H-tetra-zolium-5-carboxanilide). Mentre il rilascio del materiale cellulare è stato stimato dalla variazione dell'assorbanza a 260 nm in presenza di EO di *O. vulgare*, carvacrolo e timolo alle concentrazioni di MIC.

Risultati. I risultati ottenuti nel corso di questo studio hanno evidenziato una forte attività antifungina dell'OE sulle diverse specie di *Candida* con valori di MIC che variano tra 610 a 2080 µg/mL. Le specie più sensibili sono risultate *C. glabrata* e *C. tropicalis* rispettivamente con valori di MFC di 780 e 1560 µg/mL. Per quanto riguarda la formazione dei biofilm questa è risultata essere inibita sia dall'OE sia dai suoi due principi attivi quali il carvacrolo e il timolo. Infine, è stato misurato il rilascio di macromolecole dalle cellule fungine, dopo un breve trattamento (1 ora) alle concentrazioni di MIC, con l'EO, il carvacrolo e il timolo. I risultati ottenuti hanno evidenziato che un elevato rilascio di macromolecole dalle cellule fungine si verifica dopo il trattamento con l'EO rispetto al carvacrolo o al timolo. Questi risultati dimostrano che questi due principi attivi inducono dei danni alle membrane cellulari fungine meno gravi rispetto a quelle indotte da tutto il fitocomplesso. Inoltre, *C. glabrata* è risultata essere la specie fungina più sensibile all'azione dell'EO di *O. vulgare*.

Conclusioni. Quindi possiamo dire che esistono delle differenze significative di efficacia dei diversi trattamenti tra le varie specie di *Candida* spp. Il carvacrolo ed il timolo risultano essere meno citotossici rispetto al fitocomplesso come l'OE di *O. vulgare*. Attualmente, sono in corso altri esperimenti per chiarire il meccanismo d'azione di questi composti sui diversi ceppi di *Candida* oggetto di questo studio.

Parole chiave. *Candida* spp., *Origanum vulgare*, Carvacrolo, Timolo, Attività antimicrobica

ANALISI DEI PEROSSIDI NEGLI OLI ESSENZIALI COME POTENZIALE GARANZIA DI QUALITÀ

M. E. Cimarelli¹, M. Pesaresi¹, R. Trobbiani², M. Missora²

¹A.P.P.O. Marche, la Distilleria di Piante Officinali, San Paolo di Jesi, Ancona, Italia

²Laboratorio chimico Laborchim snc, Porto Sant'Elpidio, Fermo, Italia
E-mail: enricacimarelli@virgilio.it

Introduzione. La diffusione della coltivazione su larga scala delle piante officinali nelle Marche, iniziata alla fine degli anni Novanta, è legata a molteplici fattori, tra questi il principale è rappresentato dalla possibilità della loro trasformazione in Oli Essenziali (OE) tramite la distillazione in corrente di vapore. Di pari passo si è sviluppato lo studio degli OE tramite analisi di laboratorio mirate ad ottenere la migliore qualità. Il Numero di Perossidi è un importante parametro utile a rivelare il grado di ossidazione degli OE; l'assorbimento di ossigeno, la luce, la temperatura e la presenza di metalli, hanno un impatto significativo sulla loro integrità e stabilità. Il processo di ossidazione provoca infatti una riduzione delle proprietà farmacologiche ed alcuni composti organici perossidati risultano essere irritanti e allergizzanti per pelle e mucose (*D. Wabner, 2002*).
Scopo. Il controllo della qualità degli OE diventa fondamentale per evitare di incorrere in possibili conseguenze negative sulla salute degli utilizzatori finali. Effettuando l'analisi dei perossidi su campioni di OE di lavanda ibrida (*Lavandula x Intermedia*) provenienti dallo

stesso impianto in diverse epoche di distillazione e stoccati in modo diverso è stato possibile valutare quale impatto ha avuto il tempo e lo stoccaggio sulla loro degradazione.

Materiali e metodi. Il metodo di determinazione del Numero di Perossidi consiste nel portare in soluzione con cloroformio e acido acetico una quantità esattamente pesata di OE, a cui viene aggiunto un eccesso di ioduro di potassio. Si titola con tiosolfato, (indicatore salda d'amido), lo iodio formatosi per ossidazione dello ioduro di potassio da parte dei perossidi. Il viraggio da blu ad incolore indica il punto finale della titolazione. Il Numero di Perossidi si esprime in meqO₂ (milliequivalenti di Ossigeno attivo) su 1 Kg di OE. Il limite massimo negli OE dovrebbe essere inferiore a 20 meqO₂/Kg. (D. Wabner, 2002).

Risultati. Le analisi dei perossidi effettuate in laboratorio su 4 diversi campioni di lavanda ibrida provenienti dallo stesso impianto hanno evidenziato i seguenti risultati:

n.1 Campione anno 2004 (tappo a vite, vetro ambra, al buio): 0.89 meqO₂/Kg

n.2 Campione anno 2008 (tappo a vite, vetro ambra): 7.70 meqO₂/Kg

n. 3 Campione anno 2014 (vetro trasparente, esposto alla luce): 72.16 meqO₂/Kg

n. 4 Campione anno 2012 (ben sigillato, vetro verde, al buio): 0.43 meqO₂/Kg (Certificato di Analisi n° 456 del 28/06/2018 Laborchim snc).

Conclusioni. Dai dati preliminari ottenuti si può osservare come la degradazione sia dipendente dall'esposizione dell'OE all'ossigeno ed in misura minore dal tempo. I campioni n.1 e n.4 sono stati aperti solo al momento di effettuare le analisi mentre il campione n.3 datato 2014, proveniva da un raccogliitore ripetutamente aperto per il rifornimento di boccette. Ulteriori determinazioni sono necessarie per confermare che la valutazione del Numero di Perossidi negli OE sia auspicabile per garantire la migliore qualità del prodotto così come avviene per gli oli alimentari.

Parole chiave. Perossidi, Oli Essenziali, Numero di Perossidi

SVILUPPO DI NANOVEETTORI LIPIDICI VEICOLANTI TIMOLO COME ALTERNATIVA BIOCOMPATIBILE AI FITOFARMACI TRADIZIONALI

F. Menicucci¹, M. Michelozzi², A. Raio², M. Tredici³, M. Belli⁴,
G. Cencetti², M. Carta², A. Papini⁴, I. Clemente¹, C. Gonnelli⁴,
S. Ristori¹

¹Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia; ² Consiglio Nazionale delle Ricerche, Firenze, Italia; ³ Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente, Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia;

⁴Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia

E-mail: felicia.menicucci@unifi.it

Introduzione. Il timolo è uno dei principali componenti della miscela aromatica delle specie appartenenti al genere *Thymus*. La sua azione antibatterica e fungicida è comprovata da numerosi studi, tuttavia la

natura volatile di questo composto ne pregiudica l'efficacia a lungo termine. Questo inconveniente potrebbe essere risolto caricando il monoterpeno in nanoformulazioni in solvente acquoso, che ne aumentino la biodisponibilità. Inoltre, l'uso di vettori biocompatibili, quali liposomi e particelle solide lipidiche, faciliterebbe il rilascio graduale del timolo nel tempo, potenziandone in tal modo l'efficacia. La membrana lipidica di queste nanoparticelle, infatti, ne facilita l'interazione con la membrana cellulare, favorendo la liberazione della molecola veicolata presso i siti bersaglio.

Scopo. Obiettivi di questo studio sono lo sviluppo di nanoveettori lipidici di derivazione biologica caricati con timolo e la valutazione del loro effetto nei confronti del patogeno *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (abbr. Xcv), responsabile di una batteriosi che interessa la pianta di pomodoro.

Materiali e metodi. 1) Sviluppo di nanoveettori. La frazione lipidica di *Nannochloropsis* sp., microalga marina il cui contenuto lipidico può raggiungere il 68% della biomassa totale, è stata ottenuta utilizzando una miscela di estrazione cloroformio/metanolo (1/2 v/v), addizionata di lipide sintetico 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-fosfoetanolamina (10%) e di timolo (10⁻²M), essiccata e infine reidratata. Otto cicli di *freeze-thaw* seguiti da sonicazione hanno omogeneizzato e ridotto di dimensioni le nanoparticelle. Una formulazione lipidica caricata con timolo, interamente costituita da fosfatidilcolina purificata, è stata prodotta in parallelo a quella derivante dalla microalga.

2) Test *in vitro*. L'inibizione della crescita di Xcv coltivato su terreno solido NAG (Nutrient Agar Glucose) e, conseguentemente, l'effetto tossico delle nanoformulazioni cariche di timolo su di esso, vengono valutati attraverso il metodo per diffusione (*disk diffusion*).

Risultati. Due differenti tipologie di nanoformulazioni lipidiche caricate con timolo sono state prodotte: per la prima è stato scelto un microrganismo autotrofo altamente ricco di lipidi come biorisorsa di partenza, mentre per la seconda è stata impiegata fosfatidilcolina purificata. L'analisi gascromatografica accoppiata a spettrometria di massa (GC-MS) ha permesso di determinare il contenuto di timolo presente nei nanoveettori; il passo successivo ne prevede la caratterizzazione dimensionale tramite *Dynamic Light Scattering*. Prove preliminari hanno messo in evidenza l'effetto tossico del timolo tal quale nei confronti di Xcv coltivato su terreno NAG; attualmente sono in corso test di tossicità dei nanoveettori carichi di timolo nei confronti di Xcv coltivato *in vitro* e su piantine di pomodoro infettate con questo stesso patogeno.

Conclusioni. Valutazioni ancora preliminari sembrano indicare la tossicità delle nanoformulazioni nei confronti di Xcv coltivato *in vitro*. Indagini in corso su piantine di pomodoro infettate con Xcv e trattate con nanoformulazioni biocompatibili consentiranno di valutarne le potenzialità di impiego nella lotta contro le principali fitopatie per una agricoltura ecosostenibile finalizzata a produzioni di alta qualità.

Parole chiave. Timolo, Nanoveettori lipidici

CORRELAZIONE TRA INDICE DI RIFRAZIONE E CONTENUTO DI TIMOLO IN OLI ESSENZIALI DI TRE CHEMIOTIPI DI *LIPPIA ORIGANOIDES* KUNTH

J. Delgado-Ospina^{1,2}, C. Chaves-López², C. D. Grande-Tovar³,
A. Paparella²

¹ Universidad de San Buenaventura Cali, Cali, Colombia E-mail: jdelgado1@usbcali.edu.co

² Università degli Studi di Teramo, Teramo, Italia

³ Universidad del Atlántico, Atlántico, Colombia

E-mail: jdelgado1@usbcali.edu.co

Introduzione. La composizione degli oli essenziali (OE) può presentare una grande variabilità anche all'interno della stessa specie vegetale, a causa di diverse condizioni come il metodo di estrazione, il clima, la composizione del suolo e il raggiungimento del tempo balsamico. La maggior parte dei metodi disponibili per determinare la composizione, per esempio la gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS), sono impegnativi in termini di risorse e tempo e non sono applicabili per il controllo di qualità nelle piccole aziende di produzione.

Risulta pertanto interessante esplorare la possibilità di impiego di un metodo semplice ma affidabile che possa stimare la qualità di un OE in maniera rapida e a basso costo.

Scopo. Questo lavoro si propone di determinare la correlazione tra la concentrazione di timolo e l'indice di rifrazione (IR) degli OE di *Lippia origanoides* Kunth, una pianta aromatica e officinale con un elevato contenuto di timolo.

Materiali e metodi. La sperimentazione è stata condotta sugli OE ottenuti da tre diversi chemiotipi di *L. origanoides* (Patia, Citrica e Tipica) colombiani. Gli OE sono stati estratti dalle foglie di piante di 5 mesi di età mediante distillazione in corrente di vapore. L'IR è stato misurato con rifrattometro di Abbe e la concentrazione di timolo è stata determinata mediante GC-MS. I risultati sono stati sottoposti ad analisi statistica, mediante analisi della varianza (ANOVA), e le differenze stimate ad un livello di significatività $p \leq 0,05$ attraverso il test di Duncan usando SAS (2007) version 9.2 software.

Risultati. L'analisi gascromatografica ha rilevato differenze significative sia nel numero di composti che nella concentrazione ma in ogni caso timolo, p -cimene, γ -terpinene, *trans* β -cariofillene e β -mircene sono stati i composti più abbondanti, rappresentando circa l'84% del totale dei composti presenti. Il composto più abbondante (timolo 50-60%) è stato utilizzato per determinare la correlazione tra IR e composto più abbondante.

In base ai risultati ottenuti, la correlazione tra indici di rifrazione (variabile dipendente "y") e concentrazione di timolo (variabile indipendente "x") presente negli oli essenziali è risultata rappresentata da un'equazione lineare della forma $y = ax + b$, dove l'ordinata all'origine (b) è 1,4893 e la pendenza (a) è 0,00030, con un coefficiente di correlazione di 0,9439.

Conclusioni. L'IR degli OE ha consentito di ricavare una stima attendibile del contenuto di timolo in OE di *L. origanoides*. I nostri risultati trovano utile applicazione per la standardizzazione del contenuto di timolo negli OE.

Parole chiave. Indce di rifrazione, *Lippia origanoides*



Lippia origanoides

Foto tratta da <http://plantsoftheworldonline.org>

INTERAZIONE POSITIVA DEL TTO E DELL'OLIO ESSENZIALE DI TIMO ROSSO A TIMOLO SULL'ATTIVITÀ DEI GRANULOCITI POLIMORFONUCLEATI UMANI NEL CONTRASTARE *CANDIDA KRUSEI* INTRACELLULARE

V. Tullio¹, J. Roana¹, D. Scalas¹, N. Mandras¹

¹Dip. Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche, Torino, Italia
E-mail: vivian.tullio@unibo.it

Introduzione. Lo studio delle proprietà biologiche degli oli essenziali (OE) è alla base della ricerca di prodotti in grado di agire nei confronti di microrganismi agenti di infezioni nell'uomo e negli animali, per rispondere alla crescente resistenza ai farmaci antimicrobici convenzionali osservata nei microrganismi patogeni. Nonostante siano molte le evidenze in letteratura dell'attività antimicrobica degli OE nei confronti di *Candida* sp., l'efficacia terapeutica di un agente antimicrobico non dipende solo dalla sua azione sul microrganismo, ma anche dalla sua influenza sulle difese immunitarie dell'ospite. Un importante aspetto da considerare è infatti l'interazione che si instaura tra miceti, OE e sistema immunitario dell'ospite per favorire lo sviluppo di composti che ne stimolino i meccanismi di difesa o non interferiscano negativamente con essi.

Scopo. L'influenza del *tea tree oil* (TTO) e dell'olio essenziale di timo rosso (chemotipo a timolo; 26,52%) è stata valutata, a concentrazioni subinibenti, sull'attività di *killing* intracellulare da parte dei granulociti polimorfonucleati (PMN) umani nei confronti di un ceppo clinico di *Candida krusei*, azolo-resistente. Inoltre, l'attività di *killing* è stata valutata anche in presenza di anidulafungina (AND), una delle echinocandine utilizzate nella terapia delle candidosi.

Materiali e metodi. Gli OE sono stati analizzati mediante gascromatografia (GC) c/o Dip. Scienza e Tecnologia del Farmaco, Torino. L'attività di *killing* è stata estrapolata dalla valutazione dell'indice di sopravvivenza (IS) ottenuto incubando contemporaneamente i lieviti (10^6 cfu/mL) e i PMN (10^6 cfu/mL) in presenza di concentrazioni subinibenti (1/4-1/8 MIC) di TTO o OE di timo o AND per 30-60-90'. Sono stati allestiti anche controlli privi di OE e di AND. Ai tempi prefissati i PMN sono stati lisati mediante aggiunta di acqua sterile e aliquote di campione sono state seminate su terreni agarizzati per effettuare conte in piastra dei lieviti sopravvissuti all'azione litica dei PMN. La citotossicità delle varie concentrazioni degli OE è stata valutata mediante il saggio colorimetrico MTT.

Risultati. I risultati mostrano che entrambi gli OE alla concentrazione più elevata di 1/4 MIC erano tossici, in quanto interferivano negativamente sulla funzionalità dei PMN. Al contrario, a 1/8 MIC gli OE non solo non erano tossici ma, nonostante la bassa concentrazione, erano in grado di stimolare l'uccisione dei lieviti intracellulari da parte dei PMN rispetto ai controlli privi di OE, con percentuali di *killing* superiori a quelle osservate con AND, indicando che concentrazioni inferiori non inducono una diminuzione dell'attività anti-*Candida*. L'aumentato *killing* intracellulare sembrerebbe dovuto ad un'azione sinergica tra l'OE e l'attività fungicida dei fagociti.

Conclusioni. Lo studio mostra una interazione positiva degli OE sull'attività di *killing* dei PMN nell'eliminare i lieviti intracellulari ed evidenzia un promettente potenziale applicativo del TTO e del timo rosso per lo sviluppo di prodotti non convenzionali con attività nei confronti di *C. krusei*, spesso resistente ai comuni farmaci usati in terapia.

Parole chiave. Oli essenziali, *Candida krusei*, PMN, *Killing* intracellulare



Melaleuca alternifolia

SVILUPPO DI UN NUOVO METODO HS-SPME-GC-FID PER L'ANALISI DEI COMPONENTI VOLATILI IN CANNABIS SATIVA L. (CANAPA)

V. Brighenti¹, F. Pellati¹, J. Sperlea², S. Benvenuti¹

¹Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia; ² Faculty of Agricultural Sciences, Nutritional Sciences, and Environmental Management, Justus-Liebig University of Giessen, Giessen, Germania
E-mail: virginia.brighenti@unimore.it

Introduzione. La canapa (*Cannabis sativa* L.) rappresenta da sempre una pianta medicinale e recentemente le sue applicazioni in diverse condizioni patologiche sono notevolmente aumentate. L'efficacia della sua attività terapeutica è dovuta sicuramente al suo contenuto in fitocannabinoidi, quali acido cannabidiolico (CBDA), cannabidiolo (CBD), cannabigerolo (CBG) e cannabichromene (CBC) (J.A. Hartsel et al., 2016). Ciò nonostante, oltre ai fitocannabinoidi, numerose altre classi di composti entrano nella composizione di questo fitocomplesso. Tra queste, i terpeni volatili, componenti dell'olio essenziale, responsabili del caratteristico aroma delle infiorescenze. Alcune proprietà farmacologiche della canapa sono potenziate dalla presenza di terpeni negli estratti, come nel caso dei disturbi del sonno e dell'ansia (L. Calvi et al., 2018). Questo effetto di potenziamento è stato attribuito ad una stretta interazione tra i fitocannabinoidi e i terpeni volatili, capaci quindi di agire con un effetto sinergico (L. Calvi et al., 2018, E.B. Russo, 2011).

Scopo. Nella prospettiva di un utilizzo terapeutico della canapa come fitocomplesso, lo sviluppo e l'applicazione di metodologie analitiche avanzate è altamente raccomandato per garantire una valutazione altamente rappresentativa del profilo fitochimico della pianta ed una maggiore riproducibilità dei saggi biologici. Questo progetto di ricerca, quindi, ha avuto come scopo quello di sviluppare un nuovo metodo analitico efficace per l'analisi della componente terpenica volatile nelle infiorescenze di *Cannabis sativa* L. (varietà da fibra): il metodo sviluppato è stato successivamente applicato a 6 campioni di infiorescenze di canapa appartenenti a diverse varietà per la valutazione del loro profilo terpenico.

Materiali e metodi. Lo studio dei composti volatili nelle infiorescenze di *C. sativa* L. è stato effettuato ottimizzando un nuovo metodo analitico basato sulla tecnologia HS-SPME. In particolare sono state testate le performances di due differenti fibre SPME, oltre che diversi tempi e temperature di saturazione ed equilibrio. L'identificazione dei composti e l'analisi semiquantitativa sono state ottenute tramite analisi GC-MS e GC-FID.

Risultati. L'analisi GC-FID e GC-MS ha permesso l'identificazione di più dell'86% dei composti rilevati nei sei campioni analizzati. α -Pinene, myrcene e β -caryophyllene sono risultati essere i terpeni più abbondanti in tutti i campioni.

Conclusioni. Il metodo sviluppato nel presente lavoro si è dimostrato uno strumento affidabile per l'analisi della parte volatile delle infiorescenze di *C. sativa* L., il quale può trovare una potenziale applicazione nell'ambito del controllo di qualità di prodotti farmaceutici e nutraceutici a base di *C. sativa* L., con lo scopo di definire in maniera accurata il profilo fitochimico anche di questa componente.

Parole chiave. Cannabis sativa, Terpeni, GC, HS-SPME

ATTIVITÀ ANTIFUNGINA DI MYRTUS COMMUNIS NEI CONFRONTI DI MALASSEZIA SP. ISOLATA DALLA CUTE DI PAZIENTI AFFETTI DA PITYRIASIS VERSICOLOR

M. Donadu¹, D. Usai¹, A. Barac², V. Mazzarello¹, S. Rubino¹, S. Zanetti¹

¹Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Sassari, Sassari, Italia
² Clinica di Malattie Infettive e Tropicali, Centro Clinico Serbo, Belgrado, Serbia
E-mail: mdonadu@uniss.it

Introduzione. *Pityriasis versicolor* (PV) è la malattia più comune causata da lieviti *Malassezia* ed è caratterizzata dallo sviluppo di chiazze desquamate ipo o iperpigmentate, localizzate più frequentemente nella parte superiore del tronco. *Malassezia* sp. comprende lieviti lipofili che fanno parte della normale microflora cutanea sia umana che animale. Tuttavia, questo lievito può anche causare lesioni con assenza di infiammazione malgrado l'alta carica fungina, o essere coinvolto in patologie che portano alla caratteristica infiammazione, o ancora, in condizioni ambientali adeguate, ad infezioni sistemiche.

Scopo. Valutare l'attività antimicotica dell'olio essenziale (EO) di *Myrtus communis* nei confronti di diverse specie di *Malassezia* isolate da pazienti affetti da PV.

Materiali e metodi. Lo studio ha coinvolto 41 pazienti con PV che non avevano ricevuto alcun trattamento nelle 2 settimane prima del loro arruolamento. Il criterio di inclusione era basato sulla diagnosi clinica di PV, mentre la concomitanza di altre malattie cutanee o sistemiche ha comportato l'esclusione dalla sperimentazione.

Risultati. I pazienti arruolati nello studio comprendevano 22 uomini e 19 donne di età compresa tra i 20 e gli 80 anni. Dalle lesioni sono state isolate 86 colonie di lievito da cui sono state identificate sette diverse specie di *Malassezia*: le più rappresentate erano *Malassezia furfur* (42,5%), *M. sympodialis* (23,5%) e *M. slooffiae* (13,9%). L'inibizione della crescita esercitata dall'EO di *M. communis* è stata evidenziata nel 96% degli isolati di *M. furfur*, nell'83% di *M. sympodialis* e nel 78% di *M. slooffiae* con valori di MIC₉₀ compresi tra 15,625 e 600 μ l/mL.

Conclusioni. Questi risultati indicano che l'EO di *M. communis* potrebbe sostituire i farmaci antifungini nel trattamento di infezioni della cute, membrane mucose e nel combattere la forfora. L'attività antimicrobica ad ampio spettro dell'EO di *M. communis* dovrebbe essere ulteriormente studiata *in vivo* con l'obiettivo di considerarlo un candidato per uso topico nel trattamento di malattie della pelle.

Parole chiave. Myrtus communis, Attività antifungina, Malassezia, Pityriasis versicolor

EFFETTI INIBITORI DI OLI ESSENZIALI E IDROLATI SUL BIOFILM DI LISTERIA MONOCYTOGENES

F. Maggio¹, A. Serio¹, C. Rossi¹, C. Chaves-López¹, A. Paparella¹

¹Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Bioscienze e Tecnologie agro-alimentari e ambientali, Teramo, Italia
E-mail: fmaggio@unite.it

Introduzione. *Listeria monocytogenes* è un patogeno ubiquitario che, per la spiccata capacità di produrre biofilm, è in grado di persistere in svariati ambienti di lavorazione degli alimenti, dagli impianti di produzione alle mense ospedaliere, dove i pazienti sono soggetti ad alto rischio. Infatti può formare biofilm su diverse tipologie di superficie, come plastica e acciaio. La rimozione di tali nicchie microbiche attraverso tecniche di disinfezione mirate, risulta quindi essere l'unica strategia attuabile per la tutela della sicurezza collettiva. In questo contesto, bioconservanti come gli oli essenziali (OE) e gli idrolati, emergono come potenziali alternative alle soluzioni disinfettanti comunemente impiegate, le quali risultano sempre meno efficaci, a causa dell'acquisita resistenza da parte dei microrganismi.

Scopo. Il presente studio ha investigato l'attività antimicrobica di oli essenziali e idrolati nei confronti di *L. monocytogenes*. Inoltre, è stata valutata l'influenza di concentrazioni sub-inibitorie dei bioconservanti sulla formazione del biofilm di questo patogeno su superfici di polistirene e acciaio inossidabile a 37 °C.

Materiali e metodi. La sperimentazione ha preso in considerazione 7 ceppi di *L. monocytogenes* di diversa provenienza (ambientali, alimentari e nosocomiali) e il ceppo tipo ATCC 7644. I bioconservanti saggiati comprendevano 4 oli essenziali quali *Origanum hirtum*, *Coridothymus capitatus*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* e i rispettivi 4 idrolati (Exentiae s.r.l.) e l'idrolato di *Citrus aurantium* (Erboristeria Magentina). Per la determinazione dell'attività antimicrobica è stata utilizzata la tecnica delle microdiluzioni (CLSI, 2011), mentre per quantificare il biofilm formato è stata impiegata la tecnica del cristalvioletto (*Sabaiefard et al.*, 2014).

Risultati. Gli oli essenziali di *O. hirtum* e di *C. capitatus* esplicavano la maggiore attività antimicrobica, presentando una concentrazione minima inibente (MIC) e battericida (MBC) pari a 0,0625% per tutti i ceppi. Tra gli idrolati invece, solo quello di *C. aurantium* si è dimostrato efficace, con valori MIC e MBC pari a 12,5%. Tutti i ceppi di *L. monocytogenes* saggiati hanno evidenziato una forte attitudine alla produzione di biofilm, sia su polistirene sia su acciaio inossidabile. Valutando l'influenza dei bioconservanti sulla formazione del biofilm, gli oli essenziali di *O. hirtum* e *C. capitatus* hanno mostrato un importante effetto inibitorio quando impiegati a concentrazioni sub-MIC (0,031%), con valori compresi dal 71 ± 2,53% al 96 ± 1,23% in funzione del ceppo. L'idrolato di fiori d'arancio al 12,5%, ha esplicito una minor attività nel ridurre la formazione di biofilm, con valori compresi tra il 4 e il 57% a seconda del ceppo.

Conclusioni. Il lavoro ha mostrato un'importante attività degli oli essenziali di *O. hirtum* e *C. capitatus* nel ridurre il biofilm di *L. monocytogenes* a concentrazioni ridotte. Inoltre, l'attività esplicita dall'idrolato di fiori di arancio conferma la possibilità di utilizzare gli idrolati come soluzioni igienizzanti per utensili, macchine e superfici di lavoro nell'industria alimentare. Infatti, essendo soluzioni acquose, gli idrolati possono essere facilmente risciacquati dalle superfici a differenza degli oli essenziali, e presentano caratteristiche aromatiche meno persistenti.

Parole chiave. *Listeria monocytogenes*, Oli essenziali, Idrolati, Biofilm

OLI ESSENZIALI: NUOVI AGENTI PER CONTRASTARE LA SALMONELLOSI

P. Scivilla¹, M. Di Vito¹, M. Cacaci², V. Palmieri², M. Modesto¹, P. Massi³, M. Scozzoli⁴, F. Bugli², P. Mattarelli¹

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi di Bologna, Bologna, Italia; ²Istituto di Microbiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia; ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "Bruno Ubertini", Forlì, Italia; ⁴APA-CT, Forlì, Italia
E-mail: piero.scivilla@studio.unibo.it

Introduzione. Il fenomeno dell'antibiotico-resistenza è in continuo aumento mentre i trattamenti farmacologici efficaci nell'ambito delle infezioni umane e zoonotiche sono in diminuzione. Per quanto riguarda gli animali, la salmonellosi è la seconda zoonosi più diffusa in Europa e studi recenti hanno individuato nei ceppi di *Salmonella* spp. una multi-resistenza ai più comuni antibiotici. Gli oli essenziali (OE) potrebbero svolgere un ruolo importante nel contrastare il fenomeno dell'antibiotico-resistenza grazie alle loro proprietà antimicrobiche. Per questo motivo, molti gruppi di ricerca svolgono studi sull'efficacia degli OE, o di loro formulazioni, da utilizzare a scopo preventivo e di supporto alla terapia antibiotica.

Scopo. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di studiare l'attività antimicrobica degli OE di *Lavandula intermedia*, *Coridothymus capitatus* e del prodotto commerciale GR-OLI (formulazione veterinaria al 25% di diversi OE, tra i quali OE di *L. intermedia* e *C. capitatus*) verso ceppi di *Salmonella* spp. e verso microrganismi normalmente presenti nel microbiota intestinale e considerati benefici come *Saccharomyces*, *Enterococcus* e *Bifidobacterium*. Inoltre, sono state studiate le dosi sub-MIC in grado di inibire la crescita, l'adesione e la formazione di biofilm di *S. typhimurium*.

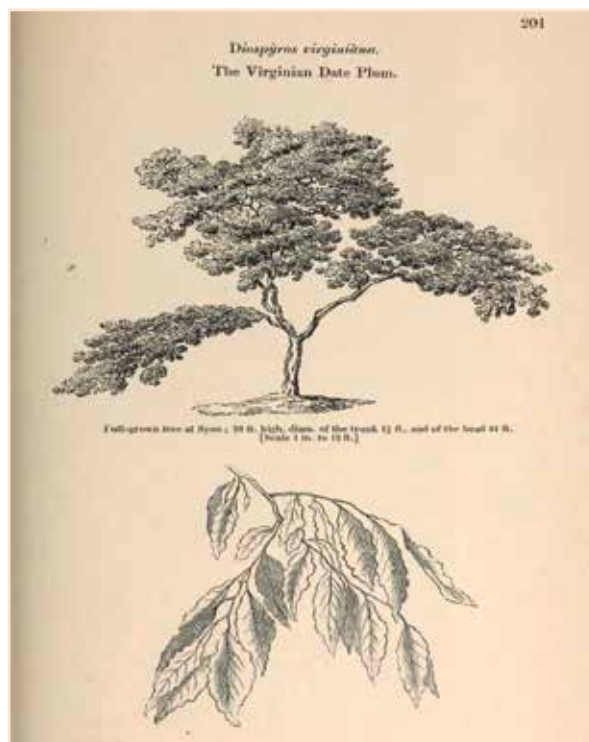
Materiali e metodi. 19 ceppi di *Salmonella* fra cui 4 multiresistenti agli antibiotici, 1 ceppo di *Saccharomyces cerevisiae*, 2 ceppi di *Saccharomyces boulardii*, 1 ceppo di *Enterococcus faecium* e 2 ceppi di *Bifidobacterium thermoacidophilum* sono stati testati per la sensibilità agli OE e a GR-OLI mediante il metodo delle micro-brodo diluizioni eseguito secondo le linee guida internazionali EUCAST. I test sono stati valutati individuando i valori di Minima Concentrazione Inibente (MIC) e Minima Concentrazione Letale (MLC) anch'essi definiti secondo linee guida. Inoltre, è stato confrontato l'effetto di concentrazioni sub-MIC degli OE e di GR-OLI vs 6 ceppi di *S. typhimurium* sensibili (N° 3 ceppi) e resistenti (N° 3 ceppi) agli antibiotici. In particolare è stato valutato *in vitro*: 1) l'effetto sulla crescita dei ceppi durante un periodo di incubazione di 24 ore; 2) l'effetto sul biofilm formato dai ceppi in studio dopo 48 ore di incubazione in condizioni favorevoli alla formazione dello stesso; 3) l'effetto inibente l'adesione su un modello di cellule intestinali (CaCo-2) dopo 4 ore di incubazione.

Risultati. I risultati ottenuti, hanno mostrato una diversa attività antimicrobica dei prodotti saggiati. I dati ottenuti mostrano come l'OE di *C. capitatus* (MIC₉₀ = 0,5% v/v) e GR-OLI (MIC₉₀ = 1%v/v) siano maggiormente efficaci rispetto all'OE di *L. intermedia* (MIC₉₀ ≥ 4% v/v). Inoltre, i valori di MIC e MBC dell'OE di *C. capitatus* e di GR-OLI vs i ceppi benefici (*S. cerevisiae*, *E. faecium* e *Bifidobacterium thermoacidophilum*) sono risultati più alti di quelli osservati vs *Salmonella* spp. In particolare

i valori MIC sono risultati coincidenti a quelli delle MLC e uguali a 1%, 2% e >2% v/v, rispettivamente per *C. capitatus*, GR-OLI e *L. intermedia*. Le curve di crescita di *S. typhimurium* mostrano la capacità delle sub-MIC dell'OE di *C. capitatus* e GR-OLI di inibire la crescita sia dei ceppi sensibili che di quelli resistenti agli antibiotici. Diversamente, l'OE di *L. intermedia* inibisce la crescita dei soli ceppi sensibili agli antibiotici. L'azione esercitata sul biofilm formato è pressochè trascurabile per l'OE di *C. capitatus* mentre è risultata significativa per GR-OLI che risulta agire anche nell'inibire l'adesione dei batteri al monostrato di cellule intestinali. I dati relativi all'inibizione dell'adesione mostrano come i ceppi resistenti siano notevolmente più sensibili all'azione delle sub-MIC del GR-OLI di quanto non lo siano i ceppi sensibili.

Conclusioni. Pur necessitando di ulteriori indagini specialmente rivolte al potenziale, seppur remoto, sviluppo di resistenze, i dati del presente lavoro indicano come l'utilizzo di dosi sub-MIC di GR-OLI potrebbe essere una strategia per contrastare la carica microbica di *Salmonella* spp potenzialmente patogena e presente negli allevamenti intensivi. Questi composti naturali potrebbero essere utilizzati per rinforzare l'eubiosi in favore dei microrganismi benefici del microbiota intestinale degli animali.

Parole chiave. Antibiotico-resistenza, *Salmonella* spp, Oli essenziali, Microrganismi benefici



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