



“Sapienza” Università degli Studi di Roma

**CORSO DI LAUREA IN BIOTECNOLOGIE FARMACEUTICHE
TESI SPERIMENTALE IN CHIMICA FARMACEUTICA
A.A.2019/2020**

Titolo: Caratterizzazione biofisica e valutazione dell'inibizione di tomato leaf curl New Dehli virus su zucchini di idrolati e oli essenziali

Laureanda: Emilia Servillo
Matricola: 1581493

Relatore: Prof. Rino Ragno
Correlatore: Dott.ssa Anna Taglienti

INTRODUZIONE E SCOPO

Gli oli essenziali *“Prodotti profumati di composizione generalmente complessa, ottenuti a partire da una materia prima vegetale o parte di essa botanicamente definita, sia mediante distillazione in vapore d'acqua o distillazione a secco, sia mediante l'impiego di procedimenti meccanici senza riscaldamento”*.

Quali sottoprodotto della distillazione in corrente di vapore, oltre agli oli essenziali, si ottengono anche gli idrolati, mediante separazione per decantazione. Gli idrolati sono stati sempre considerati come prodotto di scarto, ma di recente sono stati riconsiderati valutando il loro potere antimicrobico e antifungino. Per quanto riguarda gli oli essenziali, le funzioni biologiche sono differenti e sono: antibatterica, antivirale, antiossidante, spasmolitica, antitumorale ecc.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di ottenere i prodotti dalla distillazione in corrente di vapore, utilizzando piante di *Mentha suaveolens*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*, *Foeniculum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* provenienti da coltivazioni sperimentalmente. Sia gli oli essenziali che gli idrolati ottenuti sono stati analizzati valutandone il potenziale antiossidante attraverso il software Palm Sens e successivamente ne è stata valutata l'inibizione del virus tomato leaf curl New Dehli

virus (ToLCNDV) attraverso l'utilizzo di oli essenziali ed idrolati. La valutazione è stata fatta attraverso l'estrazione del DNA virale e successiva analisi attraverso analisi di real-time PCR.

METODOLOGIA SPERIMENTALE

Origanum vulgare, *Mentha suaveolens*, *Thymus vulgaris*, *Foeniculum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* sono le piante prese in esame, si distinguono in quattro diverse tesi, in base al tipo di concime aggiunto nel terreno o all'assenza di quest'ultimo per una di esse, tranne per il rosmarino. Le tipologie di concimazioni sono minerale, organico, organominerale e non concimata.

Ciascuna tesi è stata distillata in corrente di vapore (0-1 h) e i distillati ottenuti sono stati conservati in apposite bottiglie di vetro scuro. Queste ultime sono state in seguito portate in laboratorio, dove la miscela olio-acqua è stata separata in olio essenziale e idrolato, mediante decantazione. Per eliminare l'acqua residua all'interno dei campioni di olio essenziale, è stata eseguita un'estrazione liquido-liquido con etere etilico (C₂H₅)₂O all'interno dell'imbuto separatore.

I campioni ottenuti sono stati analizzati attraverso l'utilizzo di biosensori. La tecnica elettrochimica utilizzata è in fase sperimentale e nasce per contrastare le tipiche frodi dell'olio d'oliva.

In un primo momento gli elettrodi sono stati modificati utilizzando nanotubi di carbonio a parete multipla (MWCNT) e ossido di titanio nanoparticelle (TiO₂), con un liquido ionico a base biologica. Le modifiche effettuate in questo caso hanno dimostrato di essere utili per immobilizzare i nanomateriali sul core dell'elettrodo. In un secondo momento invece la modifica è stata fatta con nanotubi di carbonio e nafion 2% diluito in etanolo fino al 5%.

L'approccio della metodica è stato quello di capire quale fosse il potenziale antiossidante dei diversi OE e idrolati per poi confrontarli con altre soluzioni standard.

Per ogni campione sono state fatte 3 ripetizioni, con due modalità differenti (Ciclovoltametrie o SquareWave).

Infine si è passati alla valutazione dell'inibizione del ToLCNDV da parte di oli essenziali e idrolati. Questo procedimento è stato fatto attraverso l'estrazione del DNA virale e la successiva analisi tramite Real-time PCR.

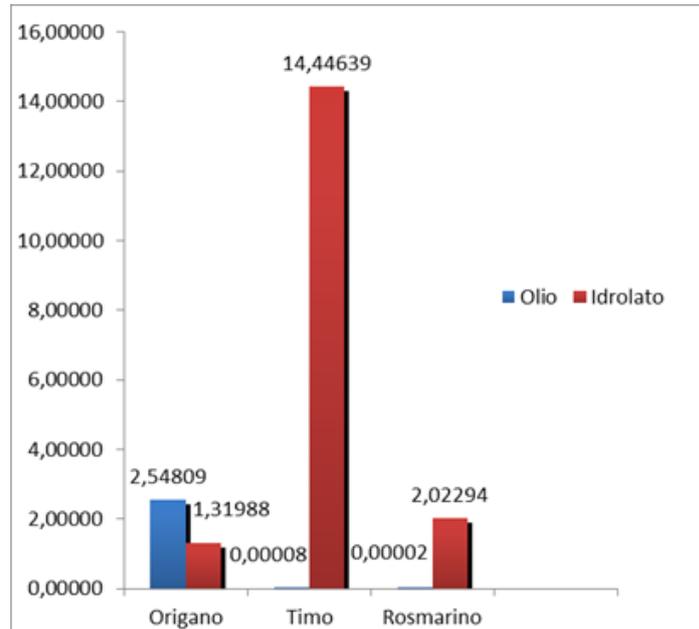
RISULTATI E CONCLUSIONI

Il lavoro svolto ha messo in evidenza risultati importanti circa la possibile applicabilità di oli essenziali e idrolati di origano, rosmarino e timo nei confronti del virus ToLCNDV, valutando diversi aspetti che possono influire sulla resa e sulla composizione chimica degli OE e degli idrolati.

Dalla distillazione delle quattro tesi sono stati ottenuti OE con analoga resa percentuale, compresa tra 0,0002% e 0,571%. Rispetto agli OE, gli idrolati ottenuti hanno dato una resa quasi 200 volte maggiore, che può essere variabile in funzione del protocollo di distillazione. Considerati i vantaggi economici che ne derivano, questo risultato suggerisce la possibilità di rivalutare l'impiego degli idrolati, considerati da tempo come i prodotti di scarto della distillazione, non solo nell'industria cosmetica e liquoristica, ma anche in altri campi d'applicazione, sfruttandone il potenziale antimicrobico.

Attraverso l'analisi elettrochimica si sono ottenuti risultati differenti tra idrolati e oli essenziali. Per i campioni di idrolati si è riscontrata una maggiore ripetibilità, probabilmente dovuta al fatto che siano una soluzione acquosa contenente dei piccoli residui oleosi, questo ha evitato la corrosione dell'elettrodo e dei grafici più lineari e privi di rumore.

Per quanto riguarda l'attività inibitoria nei confronti del virus ToLCNDV di oli essenziali e idrolati, si sono dimostrati efficaci, in particolare gli oli essenziali di Timo e Rosmarino presentano un'attività inibitoria maggiore rispetto all'olio di origano e agli idrolati.



Studi futuri nel prosieguo del progetto, approfondiranno ed affineranno l'applicazione della tecnica elettrochimica per valutare il potenziale antiossidante degli EO e idrolati. Inoltre ulteriori prove saranno volte ad una loro più completa caratterizzazione biologica.