

Relazione redatta dal Dott. Giuseppe Amato selezionato mediante bando di concorso indetto con Decreto Rep. n. 419/2021 Prot. n. 144657 del 24/05/2021. Responsabile Scientifico: Prof.ssa Laura DE MARTINO. In merito al progetto “**Valorizzazione dei FORMaggi irpini da latte di alta qualità attraverso l’aumento della shelf-LIFE e la tracciabilità del prodotto - FORMLIFE**”. Attività svolta a partire dal 01/07/21 al 30/09/2021, finalizzata all’impiego di specie officinali nella formulazione di formaggi al fine di aumentarne la conservazione nonché la gradevolezza del sapore.

Relazione Progetto FORMLIFE

Durante il mese di giugno sono state effettuate ricerche bibliografiche volte al confronto tra i dati presenti in letteratura e la finalità del progetto Formlife.

Una volta svolta la ricerca sono state individuate le specie officinali da utilizzare. Nello specifico sono state scelte e raccolte presso Zungoli (AV):

- *Mentha pulegium* L.
- *Rosmarinus officinalis* L.
- *Foeniculum vulgare* Mill.



Mentha pulegium L.



Rosmarinus officinalis L.



Foeniculum vulgare Mill.

Le piante, portate presso l’Università degli Studi di Salerno, sono state, in primo luogo pesate e divise in due parti.

Una delle due parti è stata distillata mediante distillazione in corrente di vapore (2h) al fine di ottenere gli oli essenziali delle tre piante. Gli oli ottenuti sono stati essiccati tramite azoto (N₂) per allontanare il solvente volatile, sono stati, quindi, conservati in vials ambrate a +4°C.

La restante parte è stata essiccata all'aria e messa a macerare in becker ricoperti da un green solvent: etanolo al 70% (EtOH 70%). La pianta è stata lasciata macerare per cinque giorni. Successivamente, è stata filtrata e il volume è stato ridotto mediante rotavapor. Tale operazione è stata svolta per tre volte. L'estratto liquido è stato trattato con azoto (N_2) in modo tale da allontanare le tracce residue di solvente. L'estratto così ottenuto è stato posto in contenitori e collocato a $+4^\circ C$.



Distillazione in corrente di vapore



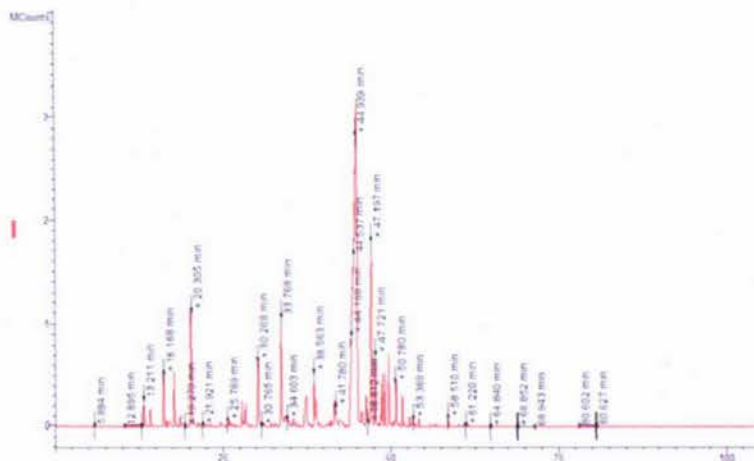
Macerazione e vial contenente l'olio essenziale

Mentha pulegium L.

Sono stati raccolti 325 g di pianta, di questi:

- 182 g sono stati sottoposti ad una distillazione in corrente di vapore ottenendo un olio essenziali la cui quantità è risultata 0,13 g.
- 143 g sono stati essiccati all'aria per procedere alla macerazione. Dopo essiccamento il peso risultante è di 58 g. La resa finale di estratto pari a 15,7056 g.

L'olio ottenuto è stato poi analizzato mediante gas-cromatografia accoppiata a spettrometria di massa (GC-MS). L'analisi ha portato all'identificazione di diversi componenti, i più abbondanti dei quali sono risultati β -Pinene, limonene, borneolo, piperitenone ossido, aromadendrene e trans-muurolo-3,5-diene.



Cromatogramma olio essenziale di *Mentha pulegium*

Tabella composti presenti nell'olio essenziale di *Mentha pulegium*

<i>Mentha pulegium</i> L.			
Composto	(%)	RT	KI calcolato
α -Pinene	0,9	13,2	864
Camphene	0,6	14,1	875
β -Pinene	4,1	16,1	902
Mesitylene	0,5	16,5	906
Myrcene	1,6	16,5	922
γ -Terpinene	t	18,3	929
α -Terpinene	t	19,2	942
1,3,8- ρ -Menthatriene	t	19,9	951
<i>para</i> -Menth-3-en-1-ol	5,4	20,3	955
β Ocimene (Z)	0,2	21,9	976
γ -Terpinene	t	22,4	983
<i>cis</i> -Sabinenehydrate	t	23,1	991
Terpinolene	0,1	24,6	1007
<i>para</i> -Cymenene	t	24,9	1012
<i>trans</i> -Sabinenehydrate	0,3	25,8	1024
Menthatriene<1,3,8- ρ >	t	26,2	1029
<i>trans</i> -Thujone	t	26,5	1033
<i>allo</i> -Ocimene	0,7	27,8	1051
Camphor	0,9	28,3	1058
<i>neoiso</i> -3-Thujanol	t	28,6	1062
Thujanol <3>	t	28,8	1065
Borneol	2,9	30,2	1084
Terpinen-4-ol	t	30,9	1093

α -Terpineol	0,1	32,1	1102
Methyl chavicol	0,1	32,7	1112
Shisofuran	4,8	33,7	1126
<i>cis</i> -3-Hexenyl isovalerate	0,3	35,5	1150
Carvone	t	37,7	1182
Bornyl acetate	1,4	38,5	1194
Methyl myrtenate	1,6	38,8	1198
2-acetyl-3,3-dimethylnorbornane	0,2	40,1	1212
Carvacrol	2,2	41,5	1237
Piperitenone	0,7	42,6	1252
Piperitenone oxide	48,0	45,1	1288
(+) - Epi-bicyclosesquiphellandrene	t	45,4	1293
β -Elemene	0,4	45,6	1296
α -Guaiene	0,3	46,4	1308
Aromadendrene	10,1	47,2	1319
Guaiadiene <6,9>	1,3	48,7	1343
α -Himachalene	1,1	49,1	1348
<i>trans</i> -Muurolo-3,5-diene	3,8	49,7	1357
α -neo-Clovene	0,9	51,1	1378
<i>cis</i> -Cadina-1(6),4-diene	0,2	52,7	1403
9-epi-(E)-Caryophyllene	0,8	54,1	1426
Dauca-5,8-diene	t	56,3	1460
γ -Gurjunene	t	56,5	1465
Cubenol	0,3	58,5	1469
Epizonarene	t	60	1516
α -Cadinol	0,1	60,8	1531
Totale	97,5		
Monoterpeni	12,4		
Monoterpeni ossigenati	63,6		
Sesquiterpeni	18,8		
Sesquiterpeni ossigenati	0,4		
Altro	2,3		

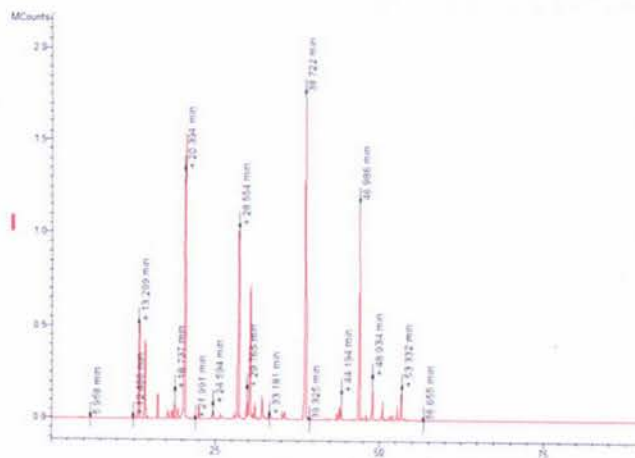
Rosmarinus officinalis L.

Sono stati raccolti 1113,45 g di pianta, di questi:

- 824,21 g sono stati sottoposti ad una distillazione in corrente di vapore ottenendo un olio essenziali la cui quantità è risultata 0,75 g.

- 289,24 g sono stati essiccati all'aria per procedere alla macerazione. Dopo essiccamento il peso risultante è di 190,6 g. La resa finale di estratto pari a 30,42 g.

L'olio ottenuto è stato analizzato mediante Gascromatografia accoppiata a spettrometria di massa (GC-MS), da tale analisi sono stati identificati diversi componenti, i più abbondanti sono risultati α -Pinene, Camphene, sabinene, iso-silvestrene, 1,8-cineolo, canfora, pinocarvone, borneolo, bornyl acetate, caryophyllene <E> e - α humulene.



Cromatogramma olio essenziale di *Rosmarinus officinalis*

Tabella composti presenti nell'olio essenziale di *Rosmarinus officinalis*

<i>Rosmarinus officinalis</i> L.			
Composto	(%)	RT	KI calcolato
α - Pinene	48	13,3	865
Camphene	3,6	14,2	876
Verbenene	t	14,6	882
Sabinene	1,1	16,2	902
β - Pinene	0,4	17,7	922
α - Phellandrene	0,4	18,3	930
iso-Sylvestrene	1,8	18,7	935
α -Terpinene	t	19,5	945
ρ -Cymene	0,5	20	951
Cineole <1,8>	20,2	20,4	956
β -Ocimene (Z)	0,7	22,4	983
Terpinolene	0,9	24,4	1005

Linalool	0,5	25,8	1024
6-Camphenone	t	27,3	1044
Camphor	12,7	28,5	1061
neo-Isopulegol	t	28,7	1063
Pinocarvone	1,2	29,7	1077
Borneol	8,3	30,3	1084
Terpinen-4-ol	0,6	30,9	1093
α -Terpineol	1,1	32	1102
Isobornyl formate	t	33,5	1122
Bornyl acetate	20,9	38,7	1197
γ -Terpinen-7-al	t	39,3	1200
α -Copaene	1,8	44,2	1274
Caryophyllene (E)	11,1	46,9	1310
α -Humulene	1,5	48,9	1342
allo-Aromadendrene	0,8	50,5	1367
dehydro-Aromadendrane	t	50,9	1374
9-epi-(E)-Caryophyllene	0,2	51,5	1384
α -Muurolene	0,3	51,9	1391
Epizonarene	0,6	52,7	1397
δ -Cadinene	1,5	53,3	1408
Cadala-1(10),3,8-triene	t	54,5	1428
Totale	97,9		
Monoterpeni	14,3		
Monoterpeni ossigenati	65,5		
Sesquiterpeni	18,0		
Sesquiterpeni ossigenati	-		
Altro	<0,1		

Foeniculum vulgare MILL.

Sono stati raccolti 456,4 g di pianta, di questi:

- 242 g sono stati sottoposti ad una distillazione in corrente di vapore ottenendo un olio essenziali la cui quantità è risultata 0,95 g.
- 214 g sono stati essiccati all'aria per procedere alla macerazione. Dopo essiccamento il peso risultante è di 105,6 g. La resa finale di estratto pari a 6,88 g.

L'olio ottenuto è stato analizzato mediante Gascromatografia accoppiata a spettrometria di massa (GC-MS), da tale analisi sono stati identificati diversi componenti, i più abbondanti sono risultati α -Pinene, il δ -Carene, α -terpinene, p-cimene, silvestrene, terpinolene e l'apiolo.

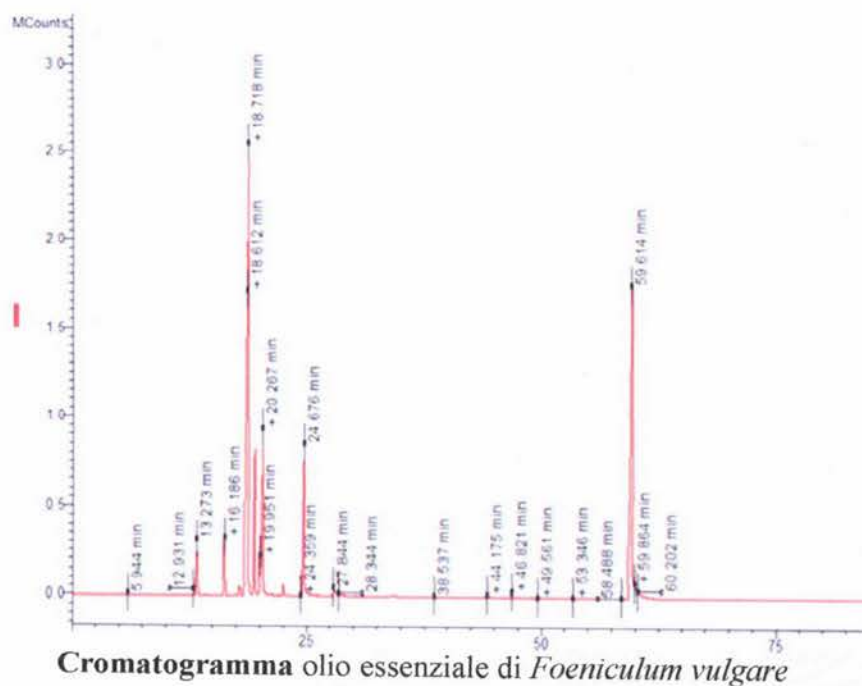


Tabella composti presenti nell'olio essenziale di *Foeniculum vulgare*

<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.			
Composto	(%)	RT	KI calcolato
α -Thujene	3,2	13,3	864
α -Pinene	3,2	16,2	902
Cumene	t	17,2	916
β -Pinene	0,7	17,1	914
δ -3-Carene	40,3	18,8	936
α -Terpinene	5,1	18,7	935
p-Cymene	1,9	19,2	941
Silvestrene	10,1	20,3	955
γ -Terpinene	0,6	21,7	974
Terpinolene	7,3	23,7	1000
<i>iso</i> -Isopulegol	t	28,3	1058
Caryophyllene (E)	0,3	45,1	1288
β -Copaene	t	47,5	1318
α -Humulene	t	47,9	1325
<i>cis</i> -Muurolo-4(14),5-	t	50,6	1370

Apiol	26,2	59,6	1509
Totale	98,8		
Monoterpeni	72,4		
Monoterpeni	<0,1		
Sesquiterpeni	0,3		
Sesquiterpeni	-		
Altro	26,2		

Considerazioni finali

Vista la finalità del progetto, nelle prossime fasi, verranno valutate le attività biologiche di estratti idroalcolici ed oli essenziali. Nello specifico verrà studiata la capacità antiossidante mediante due metodi:

- DPPH
- FRAP.

Oltre alla capacità antiossidante verrà valutata l'attività antibatterica mediante il test dell'alone di inibizione su piastre di Nutrient agar precedentemente sterilizzato. Tali test verranno effettuati sui seguenti ceppi di batteri Gram+ e Gram-:

- *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606),
- *Pseudomonas aeruginosa* (DSM 50071)
- *Escherichia coli* (DSM 8579)
- *Listeria monocitogenes* (ATCC 7644)
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Nonché su *Lactobacillus*, al fine di studiare la loro attività su ceppi utilizzati nella produzione di formaggi:

- *L. rhamnosus*
- *L. casei*

Il responsabile scientifico
Laura De Martino

Giuseppe