



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e
Ambiente

Corso di laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie

Variazione della composizione degli oli essenziali in
Mentha spp.

Relatore:

Prof. Stefano Bona

Correlatori:

Prof. Luigi Gallo

Dott.ssa Elisa Carnevale

Laureanda:

Sara De Vecchi

Matricola n. 1032144

ANNO ACCADEMICO 2013/2014

Sommario

1. Riassunto	5
2. Abstract	6
3. Introduzione	7
3.1 Cenni storici	7
3.2 Informazioni botaniche.....	9
3.2.1 <i>Mentha x piperita</i> L.	10
3.2.2 <i>Mentha spicata</i> L.	10
3.2.3 <i>Mentha citrata</i> L.	11
3.3 Coltivazione.....	11
3.3.1 Diffusione	11
3.3.2 Tecniche colturali	12
3.4 Tempo balsamico e raccolta	14
3.4.1 Tempo balsamico.....	14
3.4.2 Tempi e tecniche di raccolta	15
3.5 Composizione chimica degli oli essenziali	16
3.5.1 Metodi estrattivi.....	18
3.5.2 Variazione tra le specie di <i>Mentha</i>	20
3.6 Aspetti economici e mercato degli oli essenziali di <i>Mentha</i>	21
3.6.1 Produzione mondiale	22
3.6.2 Domanda e offerta di <i>Mentha x piperita</i> L.	23
3.6.3 La situazione delle erbe officinali in Italia	24
3.7 Prodotti finali e loro utilizzazione	24
3.7.1 Proprietà e applicazioni	25
3.7.2 Prodotti	26
4. Scopo della tesi	27
5. Materiali e metodi	28

5.1 Coltivazione sperimentale e preparazione dei campioni.....	28
5.2 Analisi chimica.....	31
5.2.1 La Gascromatografia	31
5.2.2 Dati del gascromatografo utilizzato.....	32
5.2.3 Analisi qualitativa.....	33
6. Risultati	35
7. Discussione	52
7.1 Riconoscimento.....	52
7.2 Gestione dell'epoca di sfalcio	54
7.3 Migliore epoca di campionamento	54
8. Conclusioni	56
Bibliografia	57
Ringraziamenti.....	60

1. Riassunto

Questo lavoro di tesi si focalizza sullo studio del genere *Mentha*, appartenente alla famiglia delle *Lamiaceae*. Nella parte introduttiva viene descritta la famiglia di appartenenza e alcune specie in particolare quali ad esempio la *Mentha x piperita* L. e la *Mentha spicata* L.. La parte sperimentale, iniziata nella primavera del 2013 e conclusasi ad aprile 2014, è stata condotta presso l'Azienda Agraria Sperimentale "L. Toniolo", situata a Legnaro, in provincia di Padova. Il lavoro è consistito nella coltivazione, raccolta e successiva analisi chimica di diversi campioni di piante del genere *Mentha*. Le specie studiate sono state *Mentha citrata* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha spicata* L.. Di queste sono stati estratti tramite solvente chimico gli oli essenziali presenti sulla pagina inferiore delle foglie, le quali sono state poste sotto vuoto per sei mesi e successivamente portate alla temperatura di congelamento. Infine è stata condotta l'analisi chimica mediante gascromatografia di tutti i campioni per rilevare il profilo aromatico delle tre specie in esame.

L'analisi gascromatografica ha reso possibile l'identificazione delle molecole volatili riconosciute tramite standard degli oli essenziali estratti dalle foglie delle tre specie di *Mentha*. Come primo risultato è stato possibile osservare che la *Mentha x piperita* L. coltivata come tale, non appartiene a suddetta specie, poichè mancante di molecole specifiche e caratterizzanti della stessa. Successivamente è stato analizzato l'andamento stagionale della concentrazione dei più importanti costituenti chimici, in relazione a differenti condizioni agronomiche, tra cui una gestione degli sfalci, attuati in epoche differenti. E' stato così possibile individuare il periodo migliore per effettuare la raccolta, corrispondente al tempo balsamico, ovvero il periodo in cui nella pianta sono presenti le più alte concentrazioni di sostanze chimiche attive tra cui l'olio essenziale. Per le tre specie del genere *Mentha* studiate, questo periodo si colloca intorno alla seconda metà del mese di agosto.

2. Abstract

This thesis focuses its strength on the analysis of *Mentha* genre which belong to *Lamiaceae* botanic family. In the introduction *Lamiaceae* family is described, deepening the study of some species, e.g. *Mentha x piperita* L. and *Mentha spicata* L.. The experimental phase – started in spring 2013 and concluded in spring 2014 – has been carried out in the experimental agricultural enterprise “L. Toniolo”, located in Legnaro (Padua). The work consisted in the cultivation, harvesting and chemical analysis of several samples of plants. *Mentha citrata* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha spicata* L. were the studied species. The essential oils were extracted from these species, taking the substances from the inferior page of their leaves. The leaves have been left into hexane bottles for six months and then taken to freezing temperature. Suddenly the chemical analysis has been conducted through gascromatography of all the samples to survey the aromatic profile of the examined species.

This last analysis allowed the identification of volatile molecules, recognized through the essential oils extracted from the leaves. As a first result it was observed that *Mentha x piperita* L. cultivated as itself does not belong to this species, as it lacks some specific molecules of the piperita mint. After this step the seasonal changes in the chemical concentration of substances was investigated, relating these fluctuations to different agronomic conditions, e.g. a mowing management carried out in different periods. This analysis pointed out the best period for the harvesting, corresponding to balsamic time, i.e. the period in which the highest chemical concentrations of active substances, such as essential oils, appear. For the three mint species studied this period is located around the second half of august.

3. Introduzione

Al genere *Menta* appartengono numerose specie fortemente aromatiche, conosciute in tutto il mondo per i loro svariati impieghi in molteplici ambiti, in particolare nell'industria alimentare, cosmetica, nonché hanno una forte rilevanza economica nell'industria farmaceutica.

Il genere *Menta*, appartenente alla famiglia delle *Lamiaceae* (*Labiatae*), comprende molte specie e varietà di piante erbacee perenni, diffuse in molti territori delle regioni temperate e temperate-calde di tutto il mondo. Il forte interesse nei confronti di queste piante è dato dalla produzione dell'olio essenziale elaborato da ghiandole secretorie poste sotto l'epidermide delle foglie. La famiglia delle *Lamiaceae* è una ricca risorsa di composti polifenolici, responsabili dell'azione antiossidante, caratteristica oggi molto ricercata e che fa inserire alcune specie di *Menta* in varie preparazioni alimentari e farmaceutiche (J. R. Naidu et al., 2012).

Il primo a descrivere e a classificare il genere *Menta* fu Carl von Linné (Linneo), che è considerato tutt'oggi il padre della moderna classificazione scientifica degli organismi viventi. Questo genere comprende varie specie economicamente molto importanti, ciascuna caratterizzata da specifiche essenze, apprezzate per determinate proprietà e sfruttate dall'uomo da moltissimi anni. Le specie più rilevanti appartenenti a questo genere sono circa 25, tra cui citiamo la *Mentha x piperita* L. (Peppermint), la *Mentha spicata* L. (Spear mint) e la *Mentha citrata* L. (Bergamot mint), che sono annoverate tra le specie commerciali più conosciute per l'importanza attribuita ai loro oli essenziali (J. Bunsawatt, 2002).

La *Mentha piperita*, maggiormente apprezzata dal punto di vista qualitativo, è atta a sintetizzare un olio costituito principalmente da un alcole secondario, il mentolo (50-60 %) e da un chetone, il mentone (9-12 %). Altre sostanze, presenti anche in altre specie di *Menta*, sono il carvone, il linalolo e il limonene, sostanze volatili molto importanti per le loro proprietà terapeutiche (R. Baldoni et al., 1981).

3.1 Cenni storici

Il nome *Menta*, che prende origine dal latino *mentha* e dal greco *μίνθη*, secondo la mitologia greca, deriva dal nome di una ninfa, *Myntha*, amante di Ade, dio degli Inferi, che Persefone, sua moglie, per gelosia, tramuta in una pianta profumata, appunto la *Menta*.

Conosciuto già in tempi remoti per le sue proprietà medicinali e non solo, il genere *Menta* si pensa abbia avuto origine in Nord Africa e in alcune regioni dell'area mediterranea ed è citato in molti testi antichi. È citata nei Vangeli di Matteo (c.XXIII, 23) e Luca (c.XI, 42), ma abbiamo alcune

testimonianze che riportano un utilizzo da parte degli Egiziani, nei loro templi, già prima del 3000 a.C. Nel Papiro di Ebers, massima opera dell'erboristeria egizia che risale al XVII secolo prima di Cristo, la Menta viene frequentemente citata, come aroma utilizzato per profumare i santuari e nella pratica di imbalsamazione dei cadaveri, oltre che nella preparazione di unguenti e cosmetici. L'olio essenziale di Menta veniva utilizzato da moltissimi popoli tra cui gli Assiri, i Babilonesi, i Persiani, i Cartaginesi, i Greci, che la utilizzavano per profumarsi, mentre i Romani l'aggiungevano al vino; ancora i Cinesi la utilizzavano come calmante. I Sumeri, racconta Erodoto (500 a.C.), usavano gli oli essenziali di Menta sul loro corpo. Mentre Plinio ne descriveva l'azione analgesica, Ippocrate e Aristotele la considerava un afrodisiaco. Successivamente, nel Medioevo, veniva utilizzata per curare le febbri e contro l'isterismo. Nel XIX secolo, il medico francese Trousseau la prescriveva per trattare il vomito, i dolori allo stomaco e anche contro la tosse (G. Debuigne, 2004). Veniva utilizzata quindi fin dai tempi antichi per varie applicazioni in ambito medico, in particolare con scopo antinfiammatorio, anticatarrale, antiemetico, analgesico e contro nausea, bronchiti, flatulenze, anoressia, ulcers e coliti; inoltre per uso esterno contro prurito e mal di testa e come astringente e antisettico (G. İşcan et al., 2002).

La prima coltivazione sembra risalire alla prima metà del XVIII secolo, in Inghilterra, nel contado di Mitcham (Surrey), e poi introdotta in Germania e in altri paesi europei; successivamente si diffuse in Nord America, in Asia e in Australia. In Italia viene inizialmente utilizzata come pianta aromatica nei giardini e negli orti, solo in seguito viene coltivata su vaste estensioni in Piemonte e nel Padovano, alimentando una grande industria essenziera, rilevante nell'Italia settentrionale. Gli impieghi infatti divennero molto vari; si utilizzava per la preparazione di tisane, infusi, unguenti e anche liquori. La specie *Mentha x piperita* L. fu per la prima volta riconosciuta come specie distinta dal botanico John Ray nel suo *Synopsis Stirpium Britannicorum* (nella seconda edizione del 1696) e nel suo *Historia Plantarum* (1704). E' diventata poi ufficiale nel *London Pharmacopoeia* nel 1721. Oggi, le foglie e l'olio essenziale di questa specie, che risulta essere la più importante, sia dal punto di vista qualitativo che economico, è ufficiale nelle farmacopee nazionali di Australia, Francia, Germania, Gran Bretagna, Ungheria, Russia, Svizzera e nella farmacopea Europea.

3.2 Informazioni botaniche

La Menta, descritta come pianta erbacea, perenne e fortemente aromatica, è un genere appartenente alla famiglia delle *Lamiaceae* o *Labiatae*, dell'ordine delle *Lamiales*, classificata tra le Angiosperme. Le *Lamiaceae* formano una delle più ampie famiglie di piante diffuse in tutto il mondo, a parte nella zona Antartica e Artica. Questa famiglia contiene circa 200 generi e tra le 2000 e le 5000 specie di erbe aromatiche, a cui appartengono molte piante officinali, tra cui l'origano, la lavanda, il basilico, il rosmarino e la salvia (A. Aflatuni, 2005). Alcuni caratteri generali della famiglia sono la presenza di foglie semplici, opposte, quasi sempre decussate e fusto quadrangolare; le infiorescenze possono essere a spicastro o a verticillastro e presentano



Figura 1. *Mentha x piperita* L.

fiori zigomorfi, ermafroditi (E. Maugini, 1994). I fiori sono irregolari, con petali saldati, salvo verso l'alto, dove formano 2 labbra. Notiamo 4 stami, didinami, di cui 2 più lunghi; l'ovario è supero bicarpellare, quadrilobo a maturità (A. Ceruti et al., 1997). Il calice presenta 5 sepali, la corolla è bilabiata e il frutto secco, dirompente in 4 cocci (tetrachenio). Quasi tutte le specie appartenenti al genere *Mentha* producono lunghi e fini rizomi, comunemente chiamati stoloni.

Quasi tutte le piante appartenenti a questa famiglia secernono oli essenziali dai peli secretori delle foglie e dei fiori; vengono perciò molto usate oltre che in cucina e nell'industria dei profumi, anche nell'industria farmaceutica.

L'odore della Menta è molto caratteristico e serve per il riconoscimento del genere all'interno della famiglia; più difficile è il riconoscimento della specie.

Per l'elevata facilità della Menta ad incrociarsi, vengono descritte centinaia fra varietà, forme e ibridi, perciò a volte risulta molto difficile il riconoscimento e alcune varietà vengono facilmente confuse e scambiate anche dagli esperti. Alcune specie sono coltivate, come la *Mentha x piperita* L. e la *M. spicata* L., altre sono spontanee e diffuse soprattutto in luoghi umidi (F. Corbetta et al., 2001).

3.2.1 *Mentha x piperita* L.

La *Mentha x piperita* L., che sembra essere la specie maggiormente coltivata, è un ibrido tra *Mentha spicata* L. x *Mentha x aquatica* L.. È una pianta erbacea perenne alta solitamente 30-80 cm, con rizoma legnoso, ramificato e stolonifero; presenta scapi eretti, tetragoni, ramificati, il cui colore distingue la *M. piperita* nera, con scapi rosso-violacei, e la *M. piperita* bianca, con scapi verdi. Il fusto, quadrangolare e canalizzato, un po' peloso, porta le ramificazioni verso l'alto. Le foglie sono opposte e picciolate, la cui forma è ovata-oblunga, acuta all'apice, arrotondata alla base, irregolarmente seghettata al margine. Di colore verde, le foglie sono munite di peli corti e rigidi nella parte inferiore dove si trovano anche delle piccole ghiandole. I fiori, che fioriscono a partire dal basso verso l'alto, sono piccoli e riuniti in infiorescenze terminali, detti spicastri, che hanno calice tubulare, spesso violaceo e corolla, violetta o biancastra, quasi regolare e lembo imbutiforme, campanulato, che presenta quattro lobi quasi uguali. La fioritura avviene in piena estate e prosegue fino all'autunno. La *M. piperita* è considerata una specie che produce pochi frutti e semi di scarsa germinabilità; perciò si propaga quasi esclusivamente per via vegetativa.

L'olio essenziale presenta come elemento principale il mentolo, seguito da mentone; altri componenti importanti, facenti parte del fitocomplesso, sono tannini e flavonoidi.

Presenta un odore solitamente più intenso rispetto alle altre mente, pungente che ricorda il gusto del pepe; il nome infatti deriva dal latino piper, che significa pepe, di cui può ricordarne il sapore.

3.2.2 *Mentha spicata* L.

La *Mentha spicata* L. viene identificata attraverso diversi nomi: Menta romana, crespa, gentile e classificata da Linneo sotto il nome di *Mentha viridis* L.. Perenne e rizomatosa, la pianta, di 30-60 cm di altezza, può essere glabra oppure pubescente e presenta foglie lanceolate con denti acuti e un picciolo molto breve o assente. Il fusto è eretto, quadrangolare, generalmente ramificato nella parte apicale. Gli spicastri sono compatti, glabri e di un verde intenso. I fiori sono piccoli, violetto pallido, raccolti in lunghe infiorescenze a spiga, di 3,5-6 mm, con corolle lilla o rosate, fino a bianche. La fioritura avviene da giugno a settembre. Nell'olio essenziale spicca come elemento principale il carvone. A volte può venir confusa dagli orticoltori come Menta piperita.

3.2.3 *Mentha citrata* L.

La Menta citrata o più comunemente Menta bergamotto, è anch'essa una pianta erbacea perenne, che raggiunge i 30 cm o più di altezza e presenta molte delle caratteristiche generale della famiglia delle *Lamiaceae*. Le foglie, lisce e di forma ovale-ellittica, presentano un colore molto scuro simile al bronzo, mentre i fiori sono di colore porpora. La pianta ha un odore che ricorda quello del limone e le foglie un odore rinfrescante che ricorda quello della lavanda; l'olio essenziale è infatti ricco in linalolo, che conferisce il caratteristico aroma alla pianta.

3.3 Coltivazione

3.3.1 Diffusione

Il genere *Mentha* ha un'ampia diffusione, tanto che è conosciuto e utilizzato in tutto il mondo. La pianta vegeta sotto vari climi e si può incontrare a latitudini anche molto distanti, dall'Alaska al Kenya ma è più frequente dove la primavera è fredda e umida e l'estate calda e asciutta. Infatti la coltura ha bisogno inizialmente di basse temperature ed elevata umidità, successivamente la temperatura media ideale oscilla tra i 20°C e i 40°C. Inoltre non è tollerato il gelo, soprattutto durante la fase fenologica di germinazione (K. V. Peter, 2006). Possono influenzare la produzione e la composizione dell'olio essenziale alcune caratteristiche quali la lunghezza del giorno e l'intensità luminosa. Durante la maggior parte del periodo di crescita è importante un lungo fotoperiodo; infatti per garantire un'ottima resa in olio essenziale di buona qualità sono fondamentali 15-16 ore di luce.

Dall'Inghilterra, dove ebbe inizio la coltivazione di questa pianta, la distribuzione si è prevalentemente diffusa nelle regioni temperate e sub-temperate dell'Eurasia, Australia, Sud Africa e Nord America e gli oli essenziali di *Mentha* sono prevalentemente prodotti in Argentina, Angola, Australia, Brasile, Bulgaria, Cina, Cecoslovacchia, Francia, Ungheria, India, Italia, Paraguay, Svizzera, Thailandia e USA (Z. K. Shinwari et al., 2011; R. S. Verma et al., 2010). Secondo alcuni studi la *Mentha piperita*, che produce la migliore qualità di olio essenziale, fu coltivata nelle regioni situate a nord del 40° parallelo. Un altro studio evidenziò che la *Mentha piperita* poteva essere coltivata con successo anche sopra il 34° parallelo, in particolare nel Mississippi (I. Telci et al., 2011).

3.3.2 Tecniche colturali

Preparazione del terreno ed esigenze nutritive. Il genere *Menta* non è molto esigente in termini di terreno, anche se predilige terreni profondi, piuttosto sciolti, ricchi, freschi, senza ristagni idrici. La sostanza organica può accrescere la resa in erba e in essenza, ma diminuisce i pregi qualitativi. La coltura inoltre non tollera suoli troppo acidi o troppo alcalini ma predilige terreni con un PH prossimo alla neutralità.

Può essere coltivata sia in pianura che in aree pedemontane e la preparazione del terreno deve essere accurata. Le lavorazioni vanno eseguite per tempo: si deve eseguire, interrando letame, un'aratura di 20-25 cm, insieme a lavori complementari ripetuti, per non andare incontro a problemi di durezza e di infestanti (R. Baldoni et al., 1981). Per esempio, le sarchiature frequenti facilitano la crescita della pianta. E' importante svolgere un'aratura medio-profonda a fine ottobre e una seconda aratura molto superficiale a inizio inverno in cui si interrano il letame e i concimi utili.

Per quanto riguarda le esigenze nutritive, la pianta richiede oltre al potassio e al fosforo, un'elevata quantità di azoto, il quale concorre all'aumento della produzione di foglie e la percentuale di olio essenziale. Concimi e fertilizzanti inorganici vengono somministrati al momento della semina e successivamente a diversi stadi di crescita della coltura. I microelementi possono essere somministrati apportando una dose abbondante di letame maturo con la prima lavorazione del suolo. Vengono poi applicate dosi di perfosfato e cloruro di potassio e un terzo o un quarto della dose di urea vengono applicati al momento della messa a dimora. Il letame è mescolato bene con gli strati superficiali del suolo e una combinazione di fertilizzanti inorganici vengono apposti di solito a circa 15 cm di profondità. In alternativa, concimi e fertilizzanti sono applicati tutti insieme prima che il terreno venga preparato. Dosi ugualmente suddivise di urea contribuiscono ad una buona resa se apposte due, tre o più volte, dopo 4/9 settimane dalla semina, dopo le operazioni di diserbo e subito dopo il primo raccolto. L'urea viene applicata a livello superficiale sempre almeno un paio di giorni dopo l'irrigazione sul terreno tra le file di *Menta*; questa operazione evita il contatto di urea con le foglie di menta. Le dosi da apportare sono: durante la preparazione del letto di semina da 10 a 25 tonnellate di letame o da 2 a 5 tonnellate di compost maturo o da 50 a 120 kg di urea, inoltre 40 kg di K_2O e 50 kg di P_2O_5 . Successivamente va apposta urea, suddivisa in dosi uguali (da 50 a 70 kg) dopo circa 5, 9 e 15 settimane dalla messa a dimora delle piante (B. M. Lawrence, 2007).

Tecniche di impianto. Il genere *Menta* è una specie che si moltiplica per via agamica. Dopo la totale eliminazione delle stoppie e di eventuali malerbe, dopo l'aratura e il livellamento e dopo aver regolato le varie sistemazioni idriche e di drenaggio, si procede ponendo a dimora gli stoloni in

autunno, in zone temperate, o all'inizio della primavera, ricavati da colture di Menta di un anno, che non devono essere di lunghezza inferiore ai 15 cm. Tra Gennaio e gli inizi di Febbraio o dopo che è passato il pericolo delle gelate, risulta il miglior periodo per piantare gli stoloni (K. V. Peter, 2006). L'espianto invece è preferibile eseguirlo in autunno. Gli stoloni sono definiti come fusti sotterranei, noti anche come rizomi. E' molto importante la scelta degli stoloni, per evitare la diffusione di parassiti nocivi, malattie ed infestanti. Inoltre è importante eseguire con precisione la preparazione degli stessi; tagliare la parte aerea e disporre i germogli in porche a 40-70 cm di distanza, poi si dispongono orizzontalmente sul fondo del solco di 5-10 cm di profondità, distanti 30-70 cm fra loro. L'interfila della piantagione è di circa 35 cm e viene eseguita su solchi profondi 10-15 cm, che vengono coperti e rullati. La densità dell'impianto ottimale è di 30 piante/m², così da limitare la ramificazione degli steli, che comporta un ritardo nella produzione dell'olio essenziale (R. Baldoni et al., 1981). Possono avere successo, oltre alla propagazione tramite stoloni, tecniche di impianto a partire da piantine già formate, quindi attraverso talee da fusti giovani, impiantate in campo in tarda primavera.

Tecniche di lotta e tecniche irrigue. Il genere Menta presenta diversi patogeni nemici che possono danneggiare la coltura e diminuire la resa finale. Il nemico principale è il bruco *Spodoptera littoralis*. Viene attaccata poi in maniera pericolosa da una ruggine, *Puccinia menthae*, in luoghi umidi, contro la quale si deve tagliare il prodotto appena si manifestano i sintomi della malattia, oltre che da un *Fusarium*, *Phyllosticta menthae*. Un altro agente patogeno è il *Verticillium albo-atrum*, che provoca una tracheo-verticilloso, una malattia che attacca tutti gli organi della pianta, determinando uno scarso e asimmetrico sviluppo. La malattia, che viene favorita da elevate temperature, viene contrastata con diversi metodi di lotta: un metodo di lotta si basa sull'impiego di materiale di propagazione sano, altrimenti in caso di infezione, si ricorre a fungicidi sistemici. Inoltre è consigliato un intervallo di 5-6 anni prima di un nuovo impianto di Menta sullo stesso terreno.

Tra i parassiti animali ricordiamo l'emittero *Philaenus spumarius*, che può danneggiare i giovani germogli. In questo caso, se si tratta con insetticidi, c'è il pericolo di un'alterazione delle molecole che compongono l'olio essenziale, responsabili del profumo, nella coltura trattata (R. Baldoni et al., 1981). Possono essere pericolosi anche afidi, cicaline e alcuni nematodi che attaccano i rizomi: *Pratylenchus*, *Meloydogine*, *Longidorus* e *Xiphinema*. Una tecnica di lotta viene attuata bruciando tutta la zona attaccata, inclusi i rizomi e quelli nelle vicinanze.

In ogni caso, nei confronti di attacchi di patogeni si procede con una gestione del danno in maniera integrata, quindi attraverso ad esempio i monitoraggi, le rotazioni, il controllo biologico e in ultimo i pesticidi.

Per quanto riguarda invece le tecniche irrigue, è importante che il suolo venga mantenuto umido ma allo stesso tempo, ben drenato. Quindi l'irrigazione dev'essere frequente in periodi di elevata siccità: circa 127-152 cm di acqua per stagione o 2,5-5,1 cm per settimana, tenendo conto della temperatura, del tipo di suolo e del tipo di metodo irriguo usato (B.M. Lawrence, 2007). E' fortemente sconsigliato il metodo a pioggia poiché porta ad una diminuzione della produzione in olio essenziale, a causa di una perdita di prodotto per evaporazione. Il metodo usato con più successo è invece quello a infiltrazione da solchi. Una tecnica di grande efficacia è anche la fertirrigazione (R. Baldoni et al., 1981).

Durata della coltivazione e resa. Il genere *Menta* comprende piante erbacee pluriennali ed infatti in alcuni Paesi la coltivazione viene mantenuta per più anni consecutivi, formando un cosiddetto prato di *Menta*, poiché le piante, dopo essere piantate a file, si espandono. Si possono ottenere delle produzioni soddisfacenti, solo se viene effettuata una difesa delle infestanti e delle malattie (R. Baldoni et al., 1981). Solitamente far durare una coltivazione per più anni comporta una diminuzione della resa. In genere infatti l'impianto si distrugge dopo due anni e in alcune località non dura più di un anno.

La resa in media in Italia è di 10-12 t/ha di foglie fresche in ogni taglio. In totale si effettuano tre tagli all'anno per una quantità totale di 30-36 t/ha. Il peso delle foglie poi si riduce con l'essiccazione a un 12-15% dell'iniziale. Poiché la *Menta* essiccata intera è costituita da un 60 % di fusti e un 40 % di foglie, la resa in foglie secche è di 1,2-1,6 t/ha/anno. Il primo taglio è sempre molto produttivo; in ogni caso il terzo anno la resa tende a diminuire (D. N. Gabriele, 2009).

3.4 Tempo balsamico e raccolta

3.4.1 Tempo balsamico

La presenza di costituenti chimici, la composizione chimica dell'olio essenziale e le attività biologiche della pianta, sono influenzate da fattori sia endogeni, quali il patrimonio genetico, sia fattori esogeni, quali i cambiamenti stagionali. Il termine tempo balsamico viene comunemente utilizzato per indicare il periodo dell'anno in cui una certa pianta officinale presenta la più alta

concentrazione di principi attivi ed è quindi il momento più adatto per la raccolta, tenendo però in considerazione la latitudine, il clima, le tecniche di coltivazione e la diversa localizzazione dei vari costituenti chimici nella pianta. In ogni caso, il tempo balsamico tiene conto della maggior concentrazione dei costituenti chimici nella pianta, ma non della composizione qualitativa dell'estratto (F. Firenzuoli et al., 2002). Infatti per decidere il momento di raccolta ottimale devo considerare sia la resa che la qualità dell'olio essenziale.

Per quanto riguarda il genere *Menta*, uno studio afferma che la più alta percentuale di olio essenziale e composti chimici sono prodotti in estate, in quantità maggiore quando la pianta si trova in piena fioritura, rispetto che in inverno, quando le piante hanno raggiunto la fine del loro ciclo vegetativo (A. I. Hussain et al., 2010).

3.4.2 Tempi e tecniche di raccolta

L'ammontare e la composizione dell'olio essenziale è fortemente dipendente dalla fase di sviluppo della pianta, e quindi il tempo di raccolta è uno dei fattori più importanti che influenzano la qualità dell'olio essenziale di *Menta*. La raccolta di una coltura in anticipo o in ritardo comporta una bassa resa in foglie, nonché in contenuto di olio essenziale, data da un raccolto troppo immaturo o sovra maturo. Oltre al momento di raccolta, anche il numero di raccolti per anno influenzano notevolmente il rendimento, e la composizione di olio essenziale di una coltura. Per esempio nella *Menta piperita* l'olio essenziale del primo raccolto è più ricco in mentolo rispetto a quella del secondo raccolto. Anche la concentrazione di carvone nella *Menta spicata* è stata più elevata nell'olio del primo raccolto rispetto al secondo raccolto (A. Aflatuni, 2005).

Il periodo ottimale di raccolta della *Menta* dovrebbe avvenire quando la quota di olio essenziale assume nella pianta i valori più alti, quindi nel momento coincidente al tempo balsamico della pianta; la *Menta* si inizia a raccogliere a giugno/luglio, in corrispondenza della fioritura e con terreno irrigato e ben concimato si può effettuare anche un taglio in settembre-ottobre. Quindi il primo anno, in cui la produzione è leggermente in ritardo, si possono effettuare tre tagli, all'incirca il 15 giugno, il 30 luglio e dal 20 agosto al 10 settembre, anche se si può protrarre la raccolta fino ad ottobre. Il secondo anno si può eseguire il primo taglio 15-20 giorni prima. Il secondo taglio, effettuato in condizioni ottimali, ha rese più basse.

Per la produzione delle foglie, è necessario tagliare prima che la pianta fiorisca, quindi a fine giugno o primi di luglio e una seconda volta in settembre. Per la produzione di olio essenziale si sfalcia in piena fioritura, quindi a metà-fine luglio o agosto e bisogna ricordarsi di non sfalciare la pianta che è stata danneggiata da ruggine.

La raccolta avviene tramite falciatura, con la falce a 8-10 cm dal suolo. La produzione unitaria del taglio è di 200-300 q/ha di foglie di menta e di circa 50 kg/ha di essenza grezza. Il prodotto deve essere subito essiccato e sottoposto a distillazione, per evitare il deposito del materiale vegetale in cumuli, fattore che determinerebbe il danneggiamento e la perdita dei composti chimici presenti nella pianta (D. N. Gabriele, 2009).

3.5 Composizione chimica degli oli essenziali

Gli oli essenziali delle piante sono stati usati per migliaia di anni per scopi religiosi, ornamentali, cosmetici, alimentari o medici e posseggono importanti funzioni biologiche, tra cui la proprietà antimicrobica, che è sicuramente quella maggiormente documentata dalla moderna letteratura scientifica. L'aggettivo "essenziale" indica la tradizione antica per cui tale olio ha catturato la vera essenza della pianta e con essa il suo aroma e le sue proprietà medicinali, anche se oggi questa credenza non è sempre vera in quanto le qualità nel settore erboristico possono o non possono essere attribuite all'olio essenziale. Infatti l'olio essenziale ha spesso un'attività completamente diversa rispetto a quella della pianta. L'estratto di una pianta e l'olio essenziale sono considerati in maniera separata.

Un olio essenziale è un liquido idrofobico, concentrato, contenente composti volatili, ottenuto da distillazione o estrazione con solvente di fiori, foglie, semi o altri organi vegetali di una pianta ed esprime il profumo della stessa. La sintesi e l'accumulo di oli essenziali è localizzata vicino alla superficie all'interno di ghiandole epidermiche, in cavità secretorie o canali secretori delle piante. Nel genere *Menta*, esistono specifici peli, detti tricomi ghiandolari, che possiedono ghiandole secernenti l'olio essenziale, facilmente visibili con una lente di ingrandimento a bassa potenza (B. Marongiu et al., 2012).

Vari fattori ambientali influenzano la produzione e la composizione degli oli essenziali tra cui la temperatura, l'umidità relativa, l'irradiazione solare, il fotoperiodo e le pratiche colturali, nonché il metodo di estrazione. La composizione quantitativa degli oli essenziali di molte piante è inoltre molto influenzato dal genotipo e da condizioni agronomiche, come il tempo di raccolta, l'età della pianta e la densità colturale (A. Aflatuni, 2005).

Gli oli essenziali sono miscele spesso complesse di molecole organiche liposolubili con strutture abbastanza eterogenee. Sono composti principalmente da C, H e O, e in alcuni casi contengono anche S e N; essi hanno un peso molecolare abbastanza basso e una modesta polarità. Queste ultime due caratteristiche sono responsabili della loro volatilità e insolubilità in acqua. Si può osservare che i principali componenti degli oli essenziali hanno una limitata varietà di catene idrocarburiche

con diversi gradi di insaturazione e con gruppi funzionali aggiuntivi, come il gruppo –OH (alcoli e fenoli), –OR (eteri), >C=O (gruppi carbonilici: aldeidi e chetoni), –C(O)O (esteri). Quindi la struttura della catena carboniosa è utile per classificare i componenti degli oli essenziali; la classe di componenti più rappresentativa è quella dei composti terpenici, che racchiude molecole come il limonene (Fig. 3), il myrcene, il mentolo (Fig. 2), molto diffuse nel genere *Menta*. Questi composti sono costituiti da una catena idrocarburica composta da una ripetizione di un'unità formata da 5 atomi di carbonio, chiamata isoprene (L. Valgimigli, 2012).

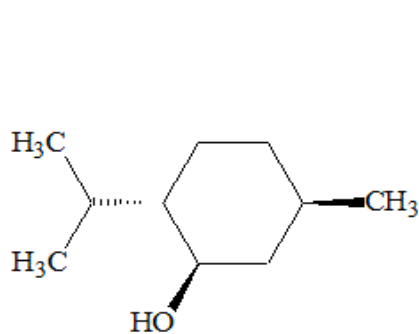


Figura 2. Mentolo

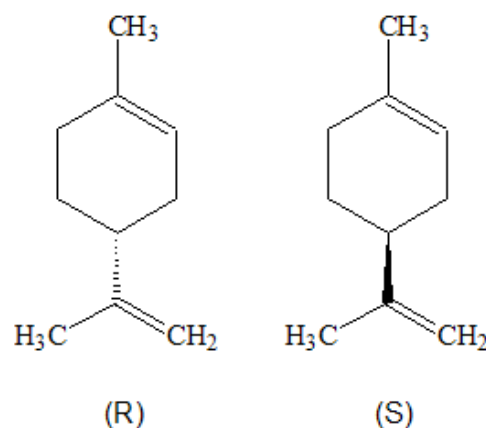


Figura 3. Limonene

I componenti degli oli essenziali sono metaboliti secondari nella fisiologia della pianta e contribuiscono a molte funzioni importanti per la stessa. Molti metaboliti vengono prodotti dalla pianta per proteggersi da virus, batteri, funghi e soprattutto contro animali erbivori ed ogni gruppo di molecole ha le sue specifiche funzioni. Per esempio, il limonene ha dimostrato proprietà insetticide e il carvone è usato come anti germinante (A. Aflatuni, 2005). I principali composti come glucosidi cianogeni, glucosinolati, terpeni, saponine, tannini, antrachinoni e poliacetileni agiscono anche come sostanze allelochimiche, influenzando la crescita e lo sviluppo delle colture vicine.

Gli oli essenziali sono miscele complesse e altamente variabili di costituenti che appartengono a due gruppi: i terpenoidi e i composti aromatici; in ogni caso la maggior parte dei composti sono racchiudibili nel gruppo dei monoterpeni (A. Aflatuni, 2005).

La qualità dell'olio essenziale può essere valutata da varie analisi chimiche, utili a determinare i diversi componenti e le loro concentrazioni. A causa della volatilità degli oli essenziali, solo la gascromatografia, a volte abbinata alla spettrometria di massa (GC-MS), può essere la tecnica scelta; in alcuni casi però, in cui si deve analizzare il profumo o gli aromi, questo metodo può essere

associato a particolari tecniche come per esempio l'analisi *head-space* (HS), *solid-phase-micro-extraction* (SPME) e *purge & trap* (P&T) o approcci simili per utilizzare solo i componenti volatili rilasciati da fiori o foglie (L. Valgimigli, 2012).

3.5.1 Metodi estrattivi

Il più antico metodo conosciuto per l'estrazione dell'aroma di una pianta è il metodo dell'*enfleurage*, sviluppato nel sud della Francia, nel XIX secolo, per la produzione di concentrati da utilizzare per la produzione di profumi e cosmetici. Il materiale vegetale veniva così posizionato sopra uno strato di grasso animale e lasciato riposare per tre giorni; il processo veniva poi ripetuto con del nuovo grasso, fino a che non fosse saturo dell'aroma della pianta. In alcuni casi poi si trattava con alcool etilico. Questo metodo però veniva utilizzato solo per estrarre l'essenza dei fiori e del materiale vegetale delicato; per le restanti parti vegetali veniva già praticata all'epoca la distillazione eseguita con rudimentali alambicchi. La tecnica della distillazione è conosciuta dal 1000 d.C. circa e sono stati trovati dei reperti archeologici che testimoniano la presenza di alambicchi risalenti al II millennio a.C.. Successivamente si perfezionarono le tecniche e modernizzarono gli strumenti e svilupparono dei nuovi metodi di estrazione con solventi chimici (L. Valgimigli, 2012).

L'estrazione di un olio essenziale da materiale vegetale deve essere in grado di dare un estratto concentrato avente le stesse caratteristiche olfattive e aromatizzanti del materiale iniziale fresco. Sono considerati metodi di estrazione tradizionali:

- a) la pressione a freddo: è una tecnica meccanica applicabile solo ad alcuni materiali vegetali, come il pericarpo di frutti maturi del genere *Citrus*, che contiene una grande quantità di olio essenziale. Si applica questo metodo perché l'olio essenziale, che è contenuto sulla superficie del pericarpo, subirebbe delle alterazioni se sottoposto a distillazione quindi ad una fonte di calore. Non applicabile al genere *Menta* (B. Marongiu et al., 2012);
- b) la distillazione o estrazione in corrente di vapore: tecnica estrattiva che permette di estrarre sostanze aromatiche volatili delle piante mediante l'utilizzo del vapore, che viene fatto passare attraverso la massa solitamente allo stato fresco, all'interno di un alambicco. Il vapore rompe così i tessuti trascinando con sé le sostanze odorose, in forma di vapore azeotropico (acqua + olio essenziale). Il vapore viene condensato in un condensatore e si ottiene una miscela liquida di acqua distillata e olio essenziale. Quest'ultimo, avendo una densità inferiore rispetto all'acqua, si deposita sulla superficie e risulta facilmente separabile con l'utilizzo di un imbuto separatore o attraverso flottaggio. La distillazione in corrente di

vapore è una tecnica estrattiva molto antica che ha subito poche modificazioni nel tempo. In Francia e in Piemonte si distilla ancora con alambicchi simili a quelli degli inizi del secolo scorso. Perché il meccanismo funzioni, dev'esserci una fonte di calore, grazie alla quale si genera vapore, che può essere una fornace separata o prossima all'alambicco ed inoltre il vapore può essere generato da una caldaia esterna o all'interno dell'alambicco stesso: in questo caso si separa la pianta dall'acqua attraverso una griglia. C'è poi un ulteriore metodo, riservata in genere per droghe dure e coriacee, che è l'idro-distillazione, in cui la matrice vegetale viene immersa all'interno dell'acqua e si porta così ad ebollizione. Quindi la pianta può trovarsi all'interno dell'alambicco, o sopra l'acqua in leggera ebollizione o immersa nella stessa, oppure ancora essere attraversata da un flusso di vapore prodotto all'esterno, iniettato nell'alambicco dal fondo. Il vapore non deve raggiungere pressioni troppo elevate ed esistono dei sistemi per ridurre la pressione e l'energia cinetica del vapore stesso, in modo che il processo non sia troppo impattante sul materiale. Sotto la pressione atmosferica normale, l'acqua viene portata ad ebollizione ad una temperatura compresa tra 99.48 °C e 99.68 °C ed il vapore in uscita viene condensato a temperature tra i 70 fino ai 30 °C e canalizzato in un contenitore dove avviene la sedimentazione delle due fasi: acqua distillata e olio essenziale (ISMEA – Osservatorio Economico del settore delle piante officinali, 2013). Il processo di distillazione è molto antico ed era in uso diffuso molto prima che ci fosse alcuna conoscenza delle leggi naturali che governano sia le immagini fisse o apparecchiature ausiliarie. Nel corso degli anni, soprattutto negli Stati Uniti, sono stati fatti grandi miglioramenti pratici sui metodi relativamente primitivi ereditati dall'Europa (B. Marongiu et al., 2012);

- c) l'estrazione con solvente: comprende la tecnica della macerazione che si ottiene sommergendo il materiale vegetale per un periodo di tempo variabile in un solvente.

Viene scelto come solvente per l'estrazione

dell'olio essenziale l'alcol oppure composti organici apolari come l'esano, l'eptano o simili (B. Marongiu et al., 2012).

Ogni metodo può avere alcuni svantaggi: per la pressione a freddo, un limitato campo di applicazione; una possibile contaminazione di estratti nel caso dell'estrazione mediante solventi organici; una decomposizione termica nei differenti processi di distillazione. Inoltre, tutte queste



Figura 4. Esempio di alambicco

tecniche richiedono tempo ed energie. Con l'obiettivo di superare questi svantaggi, in particolare per ridurre il tempo del processo, il consumo di energia e l'impatto ambientale, sono state recentemente proposte alcune nuove tecniche. Queste si possono raggruppare in tre principali categorie:

- d) *Headspace methods*: tecniche basate sul campionamento della fase di vapore in equilibrio con la matrice organica che contiene la fonte di odore. Questi metodi non servono a produrre olio essenziale ma sono utili per la caratterizzazione chimica;
- e) *Modified Distillations*: un esempio è la distillazione accelerata, in cui la velocità di distillazione e la resa sono aumentati mediante una smerigliatrice, situata all'interno della caldaia, che continuamente macina il materiale vegetale.
- f) *Modified Solvent Extractions*: un esempio, Pressurized Liquid/Solvent Extraction, PLE, PSE or Accelerated Solvent Extraction, ASE. Questo metodo consiste in un'estrazione con solvente a temperatura nell'intervallo variabile da 40 a 200 °C e a un'alta pressione, da 70 a 150 bar. Il solvente è un liquido ma la sua diffusività aumenta, permettendo di ottenere un consumo di solvente e un tempo di estrazione ridotto (circa 30 min) (B. Marongiu et al., 2012).

3.5.2 Variazione tra le specie di Menta

La composizione chimica risulta essere molto differente da specie a specie, motivo per cui ogni tipologia di Menta viene utilizzata con scopi differenti. Molti studi vengono svolti per individuare i vari componenti chimici all'interno delle varie specie di Menta e capirne così le diverse proprietà.

La Menta piperita è una delle specie maggiormente studiate per la composizione chimica del suo olio essenziale, che è quello maggiormente usato tra le varie specie per la presenza di moltissimi costituenti. I più importanti sono il mentolo e il mentone, i quali possono trovarsi in percentuali variabili a seconda del tipo di coltivazione: il mentolo dal 29 al 55 % e il mentone dal 10 al 40 % . Oltre a questi troviamo il mentil-acetato, il mentofurano e il pulegone (gli ultimi due presenti maggiormente nell'olio prodotto dalla distillazione dei fiori), il limonene, l'eucaliptolo, l'isomentolo e l'isomentone. Secondo uno studio le percentuali sul totale dei tre principali costituenti nell'olio essenziale di Menta piperita sono: 37.4 % per il mentolo, 17.4 % per il mentil-acetato e 12.7 % per il mentone (M. D. Soković et al., 2009).

Per quanto riguarda invece la Menta spicata, i principali componenti sono il carvone, presente per il 49.5 % del totale dei costituenti (Marina D. Soković et al., 2009). Un altro studio (A. I Hussain et al., 2010) indica invece la percentuale di carvone nel periodo estivo al 59.50 %. Altri composti

presenti sono il limonene (10.44 %) e l'eucaliptolo (6.36 %). Un altro studio ancora indica il carvone presente per una percentuale oscillante tra il 51.3 e il 65.1 %, il limonene dal 15.1 al 25.2 %, il β -pinene tra l'1.3 e il 3.2 % e l'eucaliptolo con una percentuale compresa tra valori inferiori allo 0.1 e il 3.6 % (R. C. Padalia et al., 2013). Questi valori sono stati presi analizzando dei campioni di 5 cultivar di *Mentha spicata* L.. Altri risultati riportano come maggiori costituenti il piperitenone-ossido (76.7 %), l' α -terpineolo (4.9 %) e il limonene (4.7 %).

Per quanto riguarda la Menta citrata invece lo stesso studio indica come principali costituenti chimici il linalolo (59.7 %), il linalil-acetato (18.4 %), il nerolo (2.0%), α -terpineolo (1.5%) e il limonene (1.1%) (R. C. Padalia et al., 2013).

3.6 Aspetti economici e mercato degli oli essenziali di Menta

I principali oli essenziali estratti da specie del genere *Mentha*, che hanno raggiunto grande importanza economica, sono l'olio essenziale di *M. x piperita* L., *M. spicata* L. e *M. arvensis* L.. Tuttavia, altri due oli essenziali hanno una loro importanza commerciale ma in misura molto minore; questi sono gli oli essenziali di *M. citrata* L. e *M. pulegium* L..

La Menta piperita è utilizzata in tutto il mondo, in molti modi diversi e per scopi diversi. La produzione di olio essenziale di Menta piperita costituisce un ampio settore negli Stati Uniti e in tutto il mondo. La coltivazione della pianta è necessaria perché le piante che si trovano in natura, non sono sempre adatte al processo di distillazione e le piante coltivate contengono molto più olio essenziale di qualità rispetto a tipologie selvatiche.

Gli Stati Uniti sono il primo produttore di olio essenziale di Menta piperita nel mondo, con gli stati di Michigan, California, Washington, Oregon, Idaho, Indiana, Wisconsin (K. V. Peter, 2006). Le foglie di Menta piperita sono utilizzate singolarmente o come componente principale di una vasta gamma di prodotti digestivi, per il raffreddore comune, integratori alimentari decongestionanti e prodotti farmaceutici, in forme di dosaggio liquide e solide. Le foglie di Menta piperita e il rispettivo olio essenziale sono ufficiali nel *US National Formulary* (K. V. Peter, 2006).

Anche in Germania, le foglie di Menta piperita sono una delle singole erbe economicamente più importanti. Questa pianta è concessa per norma come tè medicinale ed è ufficiale nella farmacopea tedesca, e approvato nelle monografie della Commissione E del Ministero tedesco (foglia e olio essenziale). Le foglie sono usate come una monopreparazione e anche come componente di molti preparati ad azione colagogo-coleretica, per il tratto gastrointestinale e per il fegato, ma anche si ritrovano presenti in alcuni farmaci ipnotici o sedativi (K. V. Peter, 2006).

3.6.1 Produzione mondiale

Dalla metà degli anni sessanta fino al 1987, la superficie coltivata a *Menta piperita* negli Stati Uniti oscillava tra 25.000 e 40.500 ettari, poi l'area è aumentata fino a 60.300 ettari nel 1995. La perdita di superficie è iniziata nel 1996, per arrivare nel 2013 ad una superficie coltivata a *Menta piperita* di 30.000 ettari circa (USDA, United States Department of Agriculture, 2014). E' stata affrontata una recessione economica nei mercati esteri, soprattutto nei paesi del Pacifico, che continua ancora oggi a causa di intense pressioni sui costi globali e tendenze verso sapori di *Menta* ad alta intensità. La coltivazione di *Menta piperita* negli Stati Uniti, di fronte a una maggiore concorrenza con altri produttori stranieri, si è spostata dalle regioni centrali e occidentali dell'Oregon, dove i costi sono elevati, verso la regione centro-sud di Washington e nell'Idaho occidentale, dove i rendimenti sono in generale più elevati. Grazie a questo cambiamento e al notevole impegno dell'Industria di *Menta* degli Stati Uniti verso la ricerca in agricoltura, anche se la superficie coltivata a *Menta piperita* è diminuita, i rendimenti sono aumentati: da una media di circa 60 kg di olio essenziale per ettaro nel 1960 a più di 100 kg di olio essenziale per ettaro e i maggiori incrementi di rendimento sono stati proprio negli stati di Washington e Idaho (B. M. Lawrence, 2007). I rendimenti sono visibili anche sul piano economico, portando una crescita negli ultimi anni. Infatti la produzione totale di olio essenziale di *Menta piperita* negli Stati Uniti misurata in dollari, è aumentata negli ultimi dieci anni, partendo da un ammontare annuo di 74.320.000 dollari nel 2000, per arrivare a 146.678.000 dollari nel 2013 (USDA, United States Department of Agriculture, 2014).

Sebbene la superficie di *Menta spicata* abbia sempre seguito quella di *Menta piperita*, le superfici coltivate a *M. spicata* sono simili a quelle di *M. piperita*.

La superficie coltivata a *Menta spicata* negli Stati Uniti varia da circa 4050 ettari, nel 1966 a circa 18.620 ettari nel 1978. Come la *Menta piperita*, la superficie impiegata a *Menta spicata* si è ridotta dalla metà degli anni '90; nel 2003, la superficie di *Menta spicata* era scesa a circa 7.285 ettari. Negli ultimi anni la produzione si è leggermente rialzata, portando nel 2013 un valore pari a 9.800 ettari. Tuttavia, come la *Menta piperita*, i rendimenti di olio essenziale di *Menta spicata* sono aumentati dal 1960, con un incremento maggiore negli stati occidentali degli Stati Uniti. L'ammontare in dollari infatti equivale a 8.403.000 dollari nel 1971; agli inizi degli anni '90 aumenta per arrivare nel 1992 a 46.645.000 dollari. Successivamente c'è una nuova diminuzione di produzione e nel 2003 la produzione annua totale equivale a 16.521.000 dollari, per ricrescere nuovamente fino al 2013, in cui si arriva ad un ammontare annuo di 55.283.000 dollari (USDA, United States Department of Agriculture, 2014).

Anche l'India è un ottimo produttore del genere *Menta* e del suo olio essenziale. Viene riportato in letteratura che la produzione di olio essenziale del genere *Menta* in India nel 1985 fu di circa 7 tonnellate. Da allora, la produzione di olio essenziale è aumentata a 15 tonnellate nel 1989 e 50 tonnellate nel 1993. L'attuale produzione annuale di olio essenziale, generata dalla coltivazione di *M. arvensis* L., *M. x piperita* L., *M. spicata* L., piuttosto che da *M. citrata* L., è stimata oscillare tra 15 tonnellate e 50 tonnellate a seconda della domanda e dell'offerta, la facilità di vendita, e il ritorno economico.

Nel corso degli ultimi 100 anni, numerosi altri paesi come Argentina, Australia, Brasile, Bulgaria, Canada, Inghilterra, Francia, Ungheria, India, Italia, Giappone, Marocco, Nuova Zelanda, Polonia, Romania, Russia e dell'ex Unione Sovietica, Serbia e il Montenegro e l'ex Jugoslavia, Sud Africa, e Spagna hanno prodotto olio essenziale di *Menta piperita*. Attualmente, solo l'Argentina, l'Australia, l'India e l'Italia producono quantitativi superiori a 10 tonnellate. Tra questi, l'India, dopo gli Stati Uniti, è di gran lunga il maggior produttore. I livelli di produzione attuali per i quattro paesi sono 25 tonnellate, 15 tonnellate, 350 tonnellate e 30 tonnellate rispettivamente.

Per quanto riguarda invece la *Menta spicata*, l'India produce annualmente circa 2000 tonnellate di olio essenziale di questa specie, mentre si stima che il resto del mondo produca ulteriori 2500 tonnellate. Un'altra stima riporta la produzione annuale indiana arrivare a circa 250 tonnellate. Un importo equivalente è prodotto in Cina. Inoltre, si stima che alcune quantità (<10 tonnellate) sono prodotte in Argentina, Francia e Giappone.

Nel 2004, le vendite totali di olio essenziale di *M. piperita* indiana sono state stimate a circa 1.030 tonnellate, con un incremento apprezzabile da diversi anni (B. M. Lawrence, 2007). La produzione annua mondiale di olio essenziale di *Mentha arvensis* L. e *M. x piperita* L. sono 22.000 e 7.500 tonnellate rispettivamente, mentre l'India sta producendo 16.000 e 100 tonnellate all'anno, rispettivamente (R. S. Verma et al., 2010).

3.6.2 Domanda e offerta di *Mentha x piperita* L.

A partire dal 1990, la domanda mondiale ha subito un notevole incremento: la domanda globale di oggi per l'olio essenziale di *M. piperita* è stimata a 4290 tonnellate all'anno.

Nel 1995, l'industria ha avuto più di 60.000 ettari di *Menta piperita* coltivati e, entro 6 anni, questo livello era stato ridotto a 32.106 ettari, una riduzione del 46,9%. In termini di fornitura di olio essenziale di *Menta piperita*, l'industria ha raggiunto il suo picco nel 1998, quando l'offerta complessiva del Nord America ha raggiunto un totale di 6.067 tonnellate, una quantità di gran lunga

superiore alla domanda mondiale. Fattori di mercato e una comunità agricola reattiva hanno portato la produzione ad un punto in cui è stato raggiunto per varie ragioni un equilibrio (B. M. Lawrence, 2007).

3.6.3 La situazione delle erbe officinali in Italia

In Italia, nel 2010 le aziende con una superficie investita a “piante aromatiche, medicinali e da condimento” sono 2.938 e la superficie investita complessiva è di 7.191 ettari.

Questi dati sono dovuti ad un’evoluzione del settore, tra il 2000 e il 2010, caratterizzata dalla riduzione del numero di aziende coinvolte e da un contemporaneo incremento del numero degli ettari investiti, che nel 2000 era pari a poco meno di 2.300 ettari. Di conseguenza, nel complesso si è registrato un aumento della dimensione media delle superfici aziendali coltivate a officinali, da meno di un ettaro del 2000 (0,55 ettari medi per azienda) a 2,45 ettari del 2010.

L’evoluzione riporta all’espansione produttiva che si è verificata negli ultimi anni, per il forte ridimensionamento del numero delle microaziende coinvolte e per il contemporaneo incremento delle superfici delle aziende medio-grandi (A. Manzo - MiPAAF, 2013).

Per il caso specifico del genere *Menta*, alcune fonti riportano che la superficie nazionale investita a *Menta piperita* è di 253,54 ettari. L’utilizzo annuo sempre in Italia viene calcolato essere pari a 72.000 kg e il suo valore è pari a 327.600 euro (ISMEA – Osservatorio Economico del settore delle piante officinali, 2013).

3.7 Prodotti finali e loro utilizzazione

Gli usi dell’olio essenziale di *Menta* sono svariati. Il loro uso come aroma nella preparazione di alimenti e bevande è il secondo utilizzo per importanza, oggi come 3000 anni fa. La loro importanza inoltre deriva dalle proprietà terapeutiche dell’olio essenziale, sfruttate per milioni di anni. Infatti un’altra applicazione degli oli essenziali è nell’ambito farmaceutico e della medicina moderna, tra cui vengono usati anche nella cura contro malattie virali. Molto studiati dall’attuale ricerca scientifica per le loro ampie applicazioni e proprietà sono alcuni composti come il mentone, il mentolo, l’eucaliptolo e altre (L. Valgimigli, 2012).

3.7.1 Proprietà e applicazioni

Il genere *Menta* comprende varie specie di piante officinali molto utilizzate per le proprietà farmacologiche dei loro oli essenziali. Oltre alle capacità antisettiche e antimicrobiche, gli oli essenziali di alcune specie di *Menta*, tra cui *M. arvensis* L., *M. x piperita* L., *M. longifolia* L. e *M. spicata* L., dimostrano anche attività antiossidante, antiradicalica e citotossica (A. I Hussain et al., 2010).

Uno studio recente dimostra l'attività antimicrobica dell'olio essenziale di *Mentha spicata* L. e *Mentha x piperita* L., contro tre importanti patogeni, *Agaricus bisporus*, *Verticillium fungicola* e *Trichoderma harzianum* e il batterio *Pseudomonas tolaasii*. Inoltre è stato verificato che il mentolo e il carvone posseggono maggiori proprietà antifungine rispetto ad altri composti studiati come il limonene (M. D. Soković et al., 2009).

I principali usi medicinali della *Menta*, che derivano da una tradizione antica, comprendono varie applicazioni per le proprietà carminative, antiinfiammatorie, antispasmodiche, antiemetiche, decongestionanti, stomachiche, diaforetiche, analgesiche, diuretiche, stimolanti, emmenagoghe e anticatarrali (G. İşcan et al., 2002). Inoltre viene anche usata contro nausea, bronchiti, flatulenze, anoressia, colite ulcerosa e problemi al fegato. Gli oli essenziali di alcune specie di *Menta* vengono spesso usati anche per uso esterno con scopo di antipruriginoso, astringente, rubefacente, antisettico, antimicrobico e per il trattamento di nevralgie, mialgie, mal di testa ed emicranie. Lo stesso olio essenziale però può causare bruciori e disturbi gastrointestinali ad alcune persone sensibili ed essere tossica se non viene rispettata la dose terapeutica (G. İşcan et al., 2002).

Un altro problema importante sono i patogeni vegetali e i danni che questi portano all'agricoltura, oltre che i funghi e le micotossine, dannosi per la salute umana, che possono prodursi in molti prodotti alimentari (G. İşcan et al., 2002).

Le proprietà antivirali, antifungine, antibatteriche e antiparassitiche della *Menta*, quindi, sono molto studiate sia in ambito medico, che in agricoltura e non meno nell'ambito della sicurezza alimentare ed è importante osservare le variazioni stagionali dei composti per selezionare il momento ottimale di raccolta in relazione alle proprietà che si vogliono ricavare dalla pianta.

3.7.2 Prodotti

A livello commerciale, le specie di Menta più importanti vengono considerate la *M. x piperita* L., la *M. spicata* L. e la *M. canadensis* L.. L'olio essenziale ricavato dalla Menta piperita è uno dei più conosciuti e utilizzati, soprattutto per l'importanza attribuita ai suoi componenti quali il mentone e il mentolo, trovato anche nella *M. canadensis* L.. Viene mostrato un certo interesse anche nei confronti di specie ricche in carvone, come la *M. spicata* L., coltivata in vari paesi.

L'olio essenziale di *M. piperita* L. è utilizzato per la preparazione di prodotti farmaceutici e preparazioni orali come dentifrici, creme dentali e collutori; inoltre è usata per aromatizzare sciroppi e decongestionanti. Molto utilizzata in medicina per uso interno, risulta essere un ottimo stimolante gastrico (A. Aflatuni, 2005). Molto utilizzato è l'olio essenziale di *M. piperita* L. come agente aromatizzante, carminativo, antisettico e anestetico locale nei prodotti per malattie da raffreddamento e per la tosse (A. Leung et al., 1999). Con le foglie di Menta piperita si possono produrre anche degli infusi, prodotti con le foglie secche, che hanno efficaci effetti nel trattamento di problemi digestivi causati da gas, coliche, calcoli biliari, gengiviti, sindrome del colon irritabile, mal di testa, mal di gola, raffreddori comuni, febbre, insonnia, tensione nervosa, e può anche aumentare il flusso della bile dalla cistifellea.

La Menta spicata invece viene ampiamente apprezzata in tutto il mondo come erba culinaria. Le foglie hanno un aroma caratteristico e sono utilizzate nella preparazione di insalate e cibi cotti; in molti paesi Europei, le foglie vengono inserite come ingrediente di molte preparazioni gastronomiche: salse per dolci o frutta, zuppe come la zuppa di piselli, stufato di agnello e arrostiti, preparazione di pesce e pollame, preparazioni dolci come la gelatina di menta, composte, gelati, tisane e molto consumato è il tè alla Menta, il quale viene indicato per il trattamento di febbre, mal di testa, disturbi digestivi e altri disturbi minori. Anche l'olio essenziale di *M. spicata*, ricco in carvone, viene utilizzato per aromatizzare caramelle, gomme da masticare, dentifrici, ecc. (K. V. Peter, 2006).

4. Scopo della tesi

L'obiettivo principale sul quale si è fondato lo studio in oggetto è stato quello di mettere a confronto tre specie appartenenti al genere *Mentha*, quali *Mentha x piperita* L., *Mentha spicata* L. e *Mentha citrata* L.. E' stata quindi eseguita una prova di coltivazione sperimentale delle specie sopracitate al fine di poter analizzare tramite gascromatografia gli oli essenziali estratti tramite solvente dalle piante in esame, individuando i profili aromatici di ciascuna specie e poterli così mettere a confronto. E' stato inoltre individuato l'andamento stagionale dei vari composti che caratterizzano gli oli essenziali delle tre specie di *Mentha*, e capire come questi possono variare nel tempo, tenendo in considerazione sia le tecniche agronomiche, sia il tempo di campionamento, che il momento di sfalcio completo della pianta, durante tutto il ciclo colturale.

E' stata perciò fatta un'analisi sia qualitativa, quindi sono stati individuati gli analiti caratterizzanti gli oli essenziali, sia quantitativa. Ciò è stato fatto per capire le varie concentrazioni dei composti nelle tre specie e individuare quindi il momento ottimale di raccolta, quindi il momento adatto per poter eseguire la distillazione, al fine di ottenere un olio essenziale con ottime caratteristiche sia qualitative sia in termini di resa.

5. Materiali e metodi

5.1 Coltivazione sperimentale e preparazione dei campioni

Il lavoro di tesi qui descritto è una sezione di una ricerca che comprende lo studio di varie piante, tra cui timo, basilico, santoreggia, mirto, elicriso ed altre. Il genere di nostro interesse è la Menta.



Figura 5. Panoramica della prova sperimentale



Figura 6. Parcelle con piante officinali varie

La prova sperimentale è stata svolta nell'Azienda Agraria Sperimentale "L. Toniolo", situata a Legnaro, in provincia di Padova, dove si sono potute coltivare tutte le piante in oggetto di analisi e

svolgere nella stessa azienda le successive operazioni, come l'estrazione con solvente, la distillazione in corrente di vapore e la conservazione dei relativi campioni.

Per ogni specie del genere *Mentha* sono state comprate dall'Azienda Florovivaistica "Bonato Federico" (PD) 30 piante e messe a dimora in campo a metà aprile 2013. Gli appezzamenti erano suddivisi in parcelle contenenti due repliche per ogni specie e le piante erano predisposte, per ciascuna replica, in 3 file di 5 piante ciascuna.



Figura 7. Parcella di *Mentha citrata* L.



Figura 8. Dettaglio di *Mentha citrata* L.



Figura 9. Parcella di *Mentha x piperita* L.



Figura 10. Dettaglio di *Mentha x piperita* L.



Figura 11. Parcella di *Mentha spicata* L.



Figura 12. Dettaglio di *Mentha spicata* L.

La raccolta è iniziata il 26 luglio 2013 e veniva effettuata una volta a settimana, fino a settembre 2013. Oltre alla raccolta delle foglie, sono stati effettuati degli sfalci completi della pianta, in momenti diversi, per poter valutare le rese in base ai differenti tempi di raccolta. Quindi veniva sfalciata una fila per volta, precisamente la prima fila il 26 luglio 2013, la seconda fila il 1 agosto 2013 e la terza fila il 7 agosto; l'operazione è poi stata ripetuta a settembre, così da permettere alle piante di poter crescere per la raccolta successiva. Questo ha permesso di valutare la qualità dell'olio essenziale in funzione delle condizioni agronomiche diverse e delle diverse epoche di sfalcio.

Una volta raccolte, le foglie venivano pesate e conservate sotto esano a -18°C .

I campioni quindi sono stati conservati per circa 6 mesi ad una temperatura di congelamento, aspettando che fossero pronti per l'analisi chimica. Prima di effettuare l'analisi chimica, i campioni sono stati scongelati e ricongelati dieci volte, per rendere più efficace l'estrazione. Infatti per essere sicuri della riuscita dell'estrazione, avendo dei campioni raccolti in epoche diverse, si è deciso di effettuare dei cicli di congelamento/scongelamento, per riuscire ad estrarre una quantità elevata di olio essenziale, senza dover tritare il materiale vegetale, operazione che avrebbe alterato l'analisi chimica.

5.2 Analisi chimica

5.2.1 La Gascromatografia

E' stata fatta un'analisi chimica attraverso cromatografia, metodo che consente di separare i vari composti del campione e analizzarli sia qualitativamente (rivelazione ed identificazione) che quantitativamente (concentrazione). Il processo di separazione, è attuato grazie alla distribuzione dei componenti tra due fasi, una fissa o stazionaria e una mobile. La miscela viene introdotta nella fase mobile all'inizio del sistema di separazione così i componenti possono interagire con la fase stazionaria. I componenti manifestano poi una certa affinità per la fase stazionaria e vi permangono mentre la fase mobile continua a fluire senza essere trattenuta; i componenti manifestano quindi un ritardo. La sola ritenzione non è sufficiente per separare i componenti ma perché avvenga la separazione, è necessario che il suo valore sia differente per ciascuno di essi.

La più importante forma di cromatografia è quella chiamata cromatografia su colonna, in cui la fase stazionaria è presente in una colonna. La fase mobile può essere un gas (Gascromatografia, GC) o un liquido (Cromatografia Liquida, LC). Per la nostra analisi è stata impiegata come fase mobile un gas, quindi è stata fatta Gascromatografia o GC.

Lo strumento più importante in un sistema GC è rappresentato dal gascromatografo costituito da:

- il sistema di iniezione, è la parte del gascromatografo dove viene introdotto il campione;
- la colonna, il luogo dove avviene la separazione dei vari composti, che deve essere riscaldata;
- il rivelatore, il luogo in cui vengono rivelati i componenti dei campioni, dopo il passaggio nella colonna. Questo quando interagisce con un composto, produce un piccolo segnale elettrico. Il rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) può essere considerato universale per i composti organici.

Questo tipo di sistema e di iniezione funziona ad alte temperature, che devono essere sempre regolate, quindi è necessaria la presenza di un forno dove viene situata la colonna. Il forno deve essere in grado di mantenere la temperatura senza fluttuazioni indesiderate, ma anche di cambiare con precisione e rapidamente la temperatura, secondo i parametri scelti.

La registrazione grafica del segnale in uscita dal rivelatore rispetto al tempo è detto cromatogramma, che consiste in una serie di picchi, corrispondenti ognuno ad un componente della miscela. L'identificazione della sostanza si basa sul tempo che il campione impiega ad apparire come picco dopo la sua iniezione, mentre la quantificazione si basa sulla misura dell'altezza o del volume dei picchi ottenuti.

Successivamente all'iniezione del campione, questo verrà trasportato dalla fase mobile attraverso il sistema. I componenti possono così interagire con la fase stazionaria, verso la quale ci sarà più o meno affinità e più a lungo rimangono nella fase stazionaria, più tempo sarà necessario per uscire dalla colonna. Il trasporto degli analiti avviene solo se questi sono presenti nella fase mobile (B. G. Baars, 1997).

5.2.2 Dati del gascromatografo utilizzato

Il macchinario utilizzato per l'analisi chimica di tutti i campioni presi in esame è un gascromatografo con le seguenti caratteristiche:

- **Marca:** Agilent Technologies
- **Modello:** 7890A GC system
- **Modulatore di flusso:** Agilent G3486A CFT Modulator (serve per mettere in contatto le due colonne utilizzate)
- **Sistema di iniezione:** Split-Splitless a 250°C con rapporto di splittaggio 1/200
- **Tipo di rivelatore:** FID a 250°C

Il gas di trasporto utilizzato è idrogeno con flusso costante di 20 ml/min e aria con flusso di 450 ml/min

Per queste analisi sono state utilizzate due colonne con le seguenti caratteristiche:

- 1) **Tipo:** Varian CP5860 (nome completo: CP-SIL 8 CB LOW BLEED/MS)
Dimensioni: 30 m di lunghezza, 250 µm di diametro interno con film interno di 0,25 µm
Parametri: lavora a 0,6 ml/min
- 2) **Tipo:** Agilent 19091N-030 (nome completo: HP INNOWAX)
Dimensioni: 5 m di lunghezza, 250 µm di diametro interno con film interno di 0,15 µm
Parametri: lavora a 25 ml/min

Il forno è stato programmato con i seguenti parametri:

- **temperatura iniziale:** 60 °C per 1 minuto;
- **incremento di temperatura:** 4 °C/min;
- **temperatura finale:** 250 °C per 4 minuti;
- **tempo totale:** 50 minuti.

Il periodo di modulazione del modulatore di flusso (tempo di campionamento + tempo di iniezione) era pari a 2 secondi. Mentre il tempo di campionamento era pari a 1,870 sec e veniva iniettata una quantità pari a 1,4 µl.

5.2.3 Analisi qualitativa

Per poter fare l'analisi qualitativa dei campioni, quindi individuare i diversi composti presenti all'interno dei campioni, è stato necessario prima individuare le varie sostanze attraverso l'utilizzo di sostanze standard.

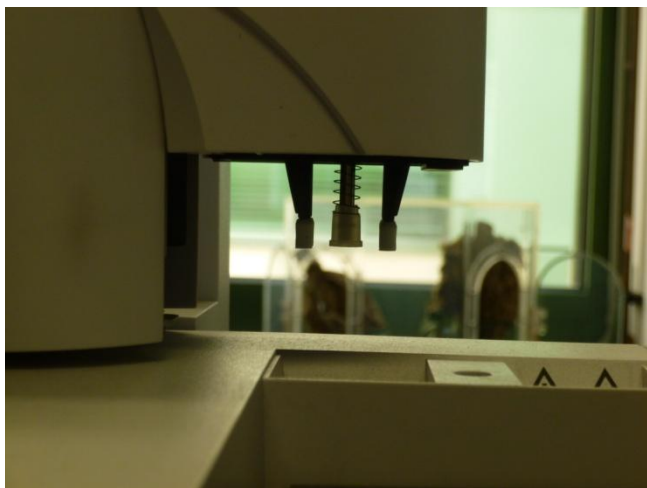


Figura 13. Campionatore automatico del GC

L'analisi qualitativa riguarda l'identificazione di un composto che corrisponde ad un picco sul cromatogramma, specifico per ogni sostanza e dipendente dal tempo di ritenzione, che serve a identificare quel determinato composto. Importante quindi è il confronto tra il tempo di ritenzione di un composto da riconoscere con quello di un composto noto che viene chiamato appunto standard. Se i tempi di ritenzione dei due composti sono identici, è possibile riconoscere e dare un nome al composto da

individuare, visibile con un picco sul cromatogramma.

Prima di fare l'analisi dei campioni quindi sono stati inseriti nel gascromatografo i vari standard per poter poi identificare i vari analiti presenti all'interno dei campioni di Menta e i loro tempi di ritenzione. Successivamente, è stato possibile dare un nome alle sostanze rappresentate con dei picchi nei cromatogrammi di tutti i campioni di Menta, attraverso un confronto con il tempo di ritenzione degli standard.

Nei campioni però erano presenti moltissime sostanze da analizzare, in numero superiore alla

quantità di standard utilizzati. In questo caso è possibile identificare i composti con un confronto

dei tempi di ritenzione delle sostanze dalla letteratura scientifica, per altre non è stato possibile il riconoscimento. Vengono qui riportati solamente i dati delle sostanze identificate tramite standard per una maggiore attendibilità dei risultati.

A livello pratico sono stati inseriti i vari standard in gruppi di tre e di volta in volta veniva salvato il tempo di ritenzione di ciascuna sostanza. Quindi si è preso una piccolissima quantità del composto

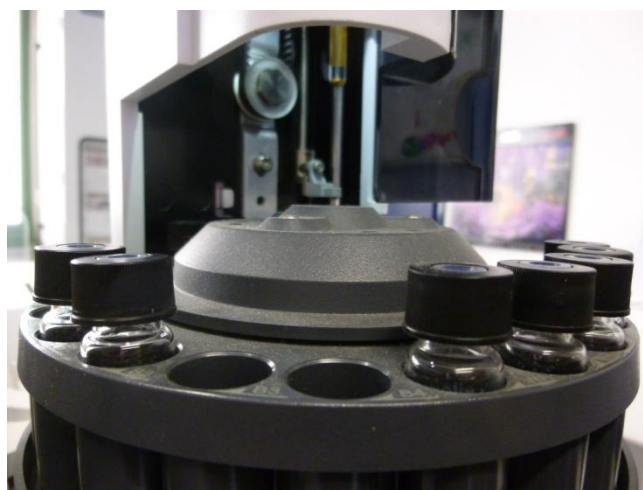


Figura 14. Dettaglio del campionatore automatico del GC utilizzato

noto, questo veniva miscelato con una quantità nota di esano (1 ml), e la miscela veniva iniettata nel gascromatografo. Si è iniziato ad identificare l'alpha-pinene, il myrcene ed il limonene (con quantità circa di 0.2/0.3 mg) e così tutti gli altri standard.



Figura 15. Vial contenente la miscela da analizzare al GC

Terminato il riconoscimento degli stessi, si è iniziato ad analizzare i campioni di Menta. Da ogni campione, dopo il decimo scongelamento, è stata presa una certa quantità di miscela e versata nelle *vials*. Terminato il lavoro, si è potuto analizzare i vari campioni con il gascromatografo. Quindi le *vials* venivano preparate per l'iniezione all'interno della macchina.

Al termine della corsa di tutti i campioni, delle tre specie di Menta, è stato fatto un lavoro di controllo e rielaborazione dei dati, che sono stati successivamente analizzati a livello statistico. I risultati vengono riportati, esposti e discussi nelle seguenti pagine.



Figura 16. Vials ordinate con campioni di Menta



Figura 17. Vials pronte per l'analisi con GC

6. Risultati

In questa sezione vengono riportati i risultati provenienti dall'analisi chimica dei campioni, eseguita tramite gascromatografia. Dopo aver analizzato tutti i campioni delle tre specie di Menta con il gascromatografo, i dati sono stati ordinati e successivamente è stata fatta un'analisi statistica in funzione delle variabili interessanti ai fini di individuare gli obiettivi dello studio in oggetto.

L'analisi con Gascromatografo ha riportato un cromatogramma per ogni campione delle tre specie di Menta, di cui riportiamo un esempio per ciascuna di esse.

In ognuno di questi cromatogrammi riportati, si possono distinguere le varie sostanze che si trovano all'interno degli oli essenziali della pianta. Ogni sostanza presente, quindi, è caratterizzata da un picco di concentrazione che si presenta sotto forma di macchia o *blob* che può allargarsi e allungarsi, quanto più la sostanza è presente. Il *blob* corrisponde infatti alla somma di vari picchi di concentrazione che rileva il macchinario. Il tempo di ritenzione delle sostanze determina l'uscita ad un tempo specifico del picco di concentrazione e ci permette di distinguere una sostanza da un'altra.

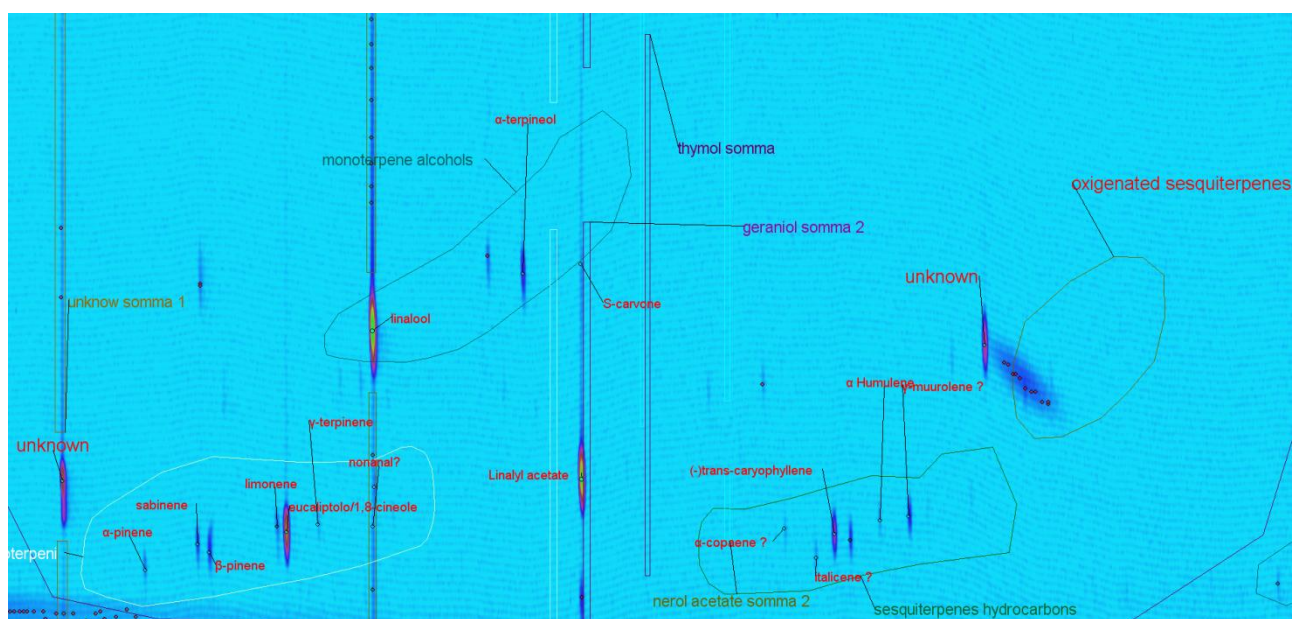


Figura 3. Cromatogramma del campione di *M. citrata* L. del 22/08

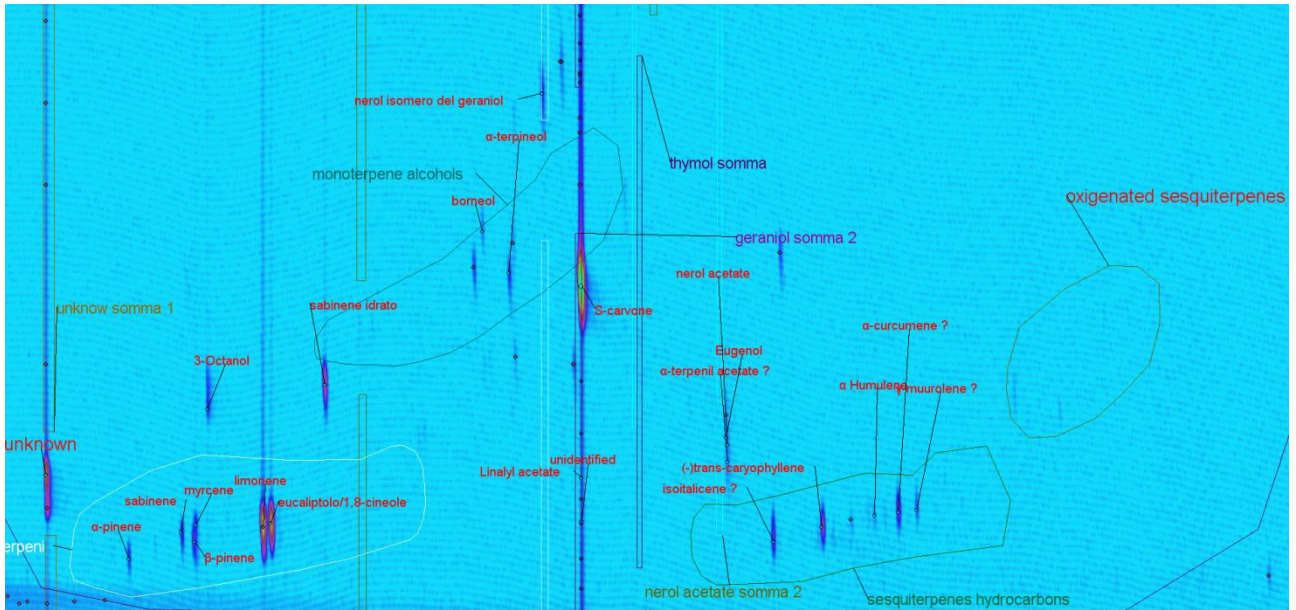


Figura 4. Cromatogramma del campione di *M. x piperita* L. del 22/08

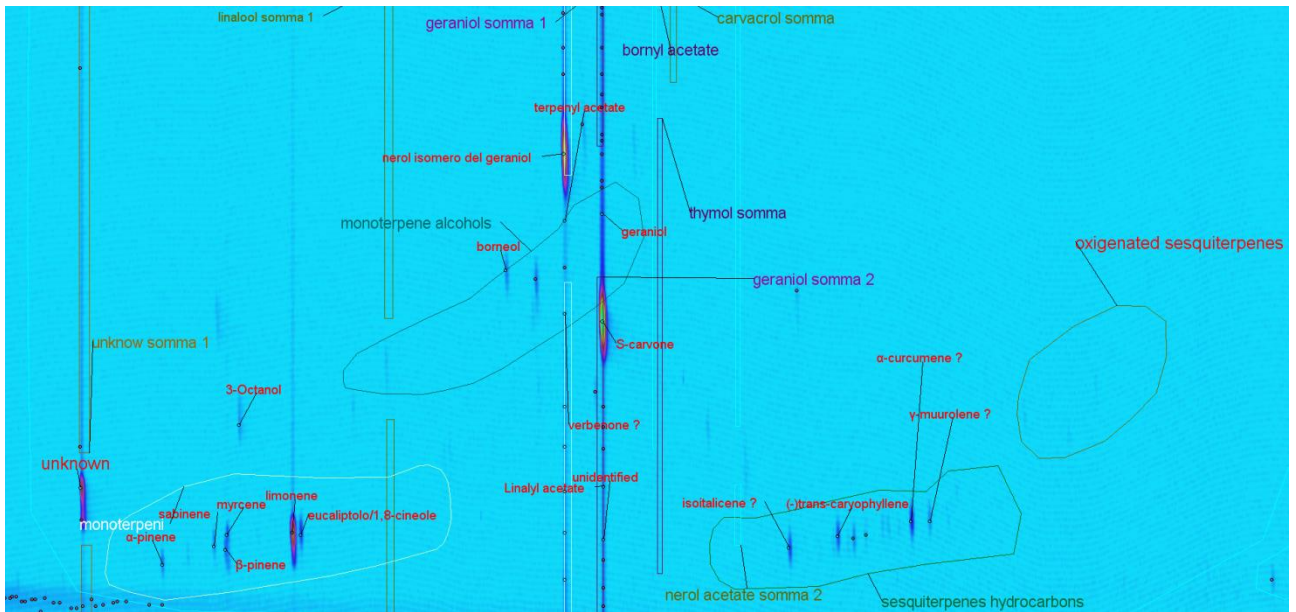


Figura 5. Cromatogramma del campione di *M. spicata* L. del 22/08

I dati relativi alle analisi con gascromatografia sono stati poi analizzati statisticamente attraverso l'analisi della varianza, con l'utilizzo del programma statistico, Statgraphics, facendo emergere vari aspetti, in funzione di alcune variabili.

Quindi sono stati realizzati dei grafici che fanno emergere l'interazione tra le variabili considerate, per ogni sostanza presa in esame, nelle tre specie di *Menta* studiate. Le sostanze di cui è stata fatta analisi statistica sono solo quelle riconosciute da standard. I grafici vengono esposti nelle pagine seguenti.

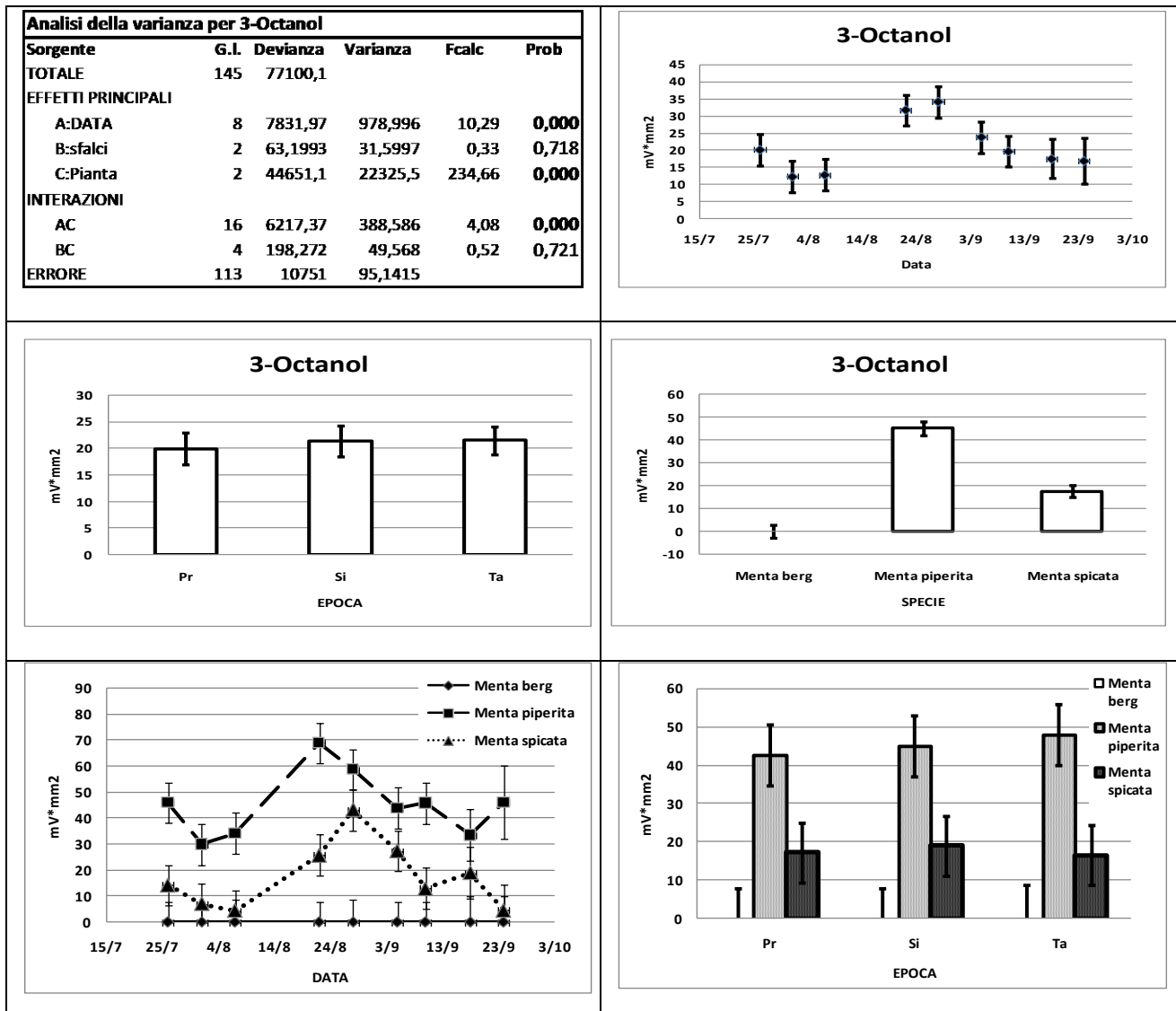


Tabella 1 – Analisi della varianza del 3-octanolo ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del 3-octanolo. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di Menta considerate.

L'interazione tra specie di Menta e data risalta una differenza significativa: infatti le varie Mente hanno un comportamento differente, in relazione al 3-octanolo, durante il periodo analizzato. La *M. piperita* L., per tutto il periodo, riporta valori sempre più alti, con un picco di concentrazione al 22/08; questo vuol dire che questa specie reagisce meglio al tempo in cui viene effettuato il prelievo. In *M. citrata* L. la sostanza è assente.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

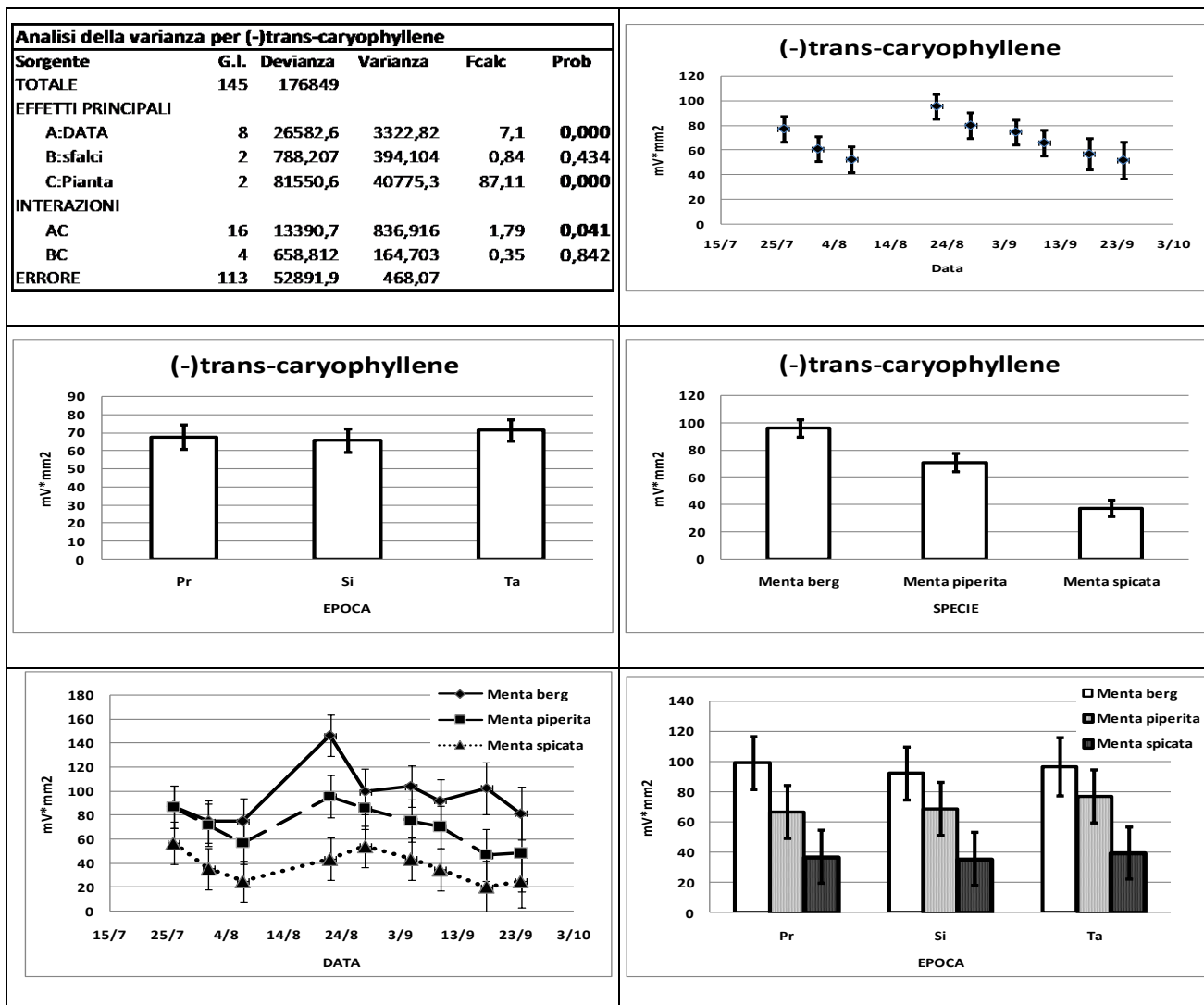


Tabella 2 – Analisi della varianza del (-)trans-caryophyllene ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del (-)trans-caryophyllene. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalci precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di *Menta* considerate.

L'interazione tra specie di *Menta* e data risalta una differenza significativa: infatti le varie *Mente* hanno un comportamento differente, durante il periodo analizzato. La *M. spicata* L. riporta dei valori sempre più bassi rispetto alle altre specie. Il 22/08 viene messo in risalto un picco di concentrazione per *M. citrata* L. e *M. x piperita* L., che si differenzia maggiormente in *M. citrata*, in cui la sostanza è presente sempre con concentrazioni maggiori; questo vuol dire che questa specie reagisce meglio al tempo in cui viene effettuato il prelievo.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

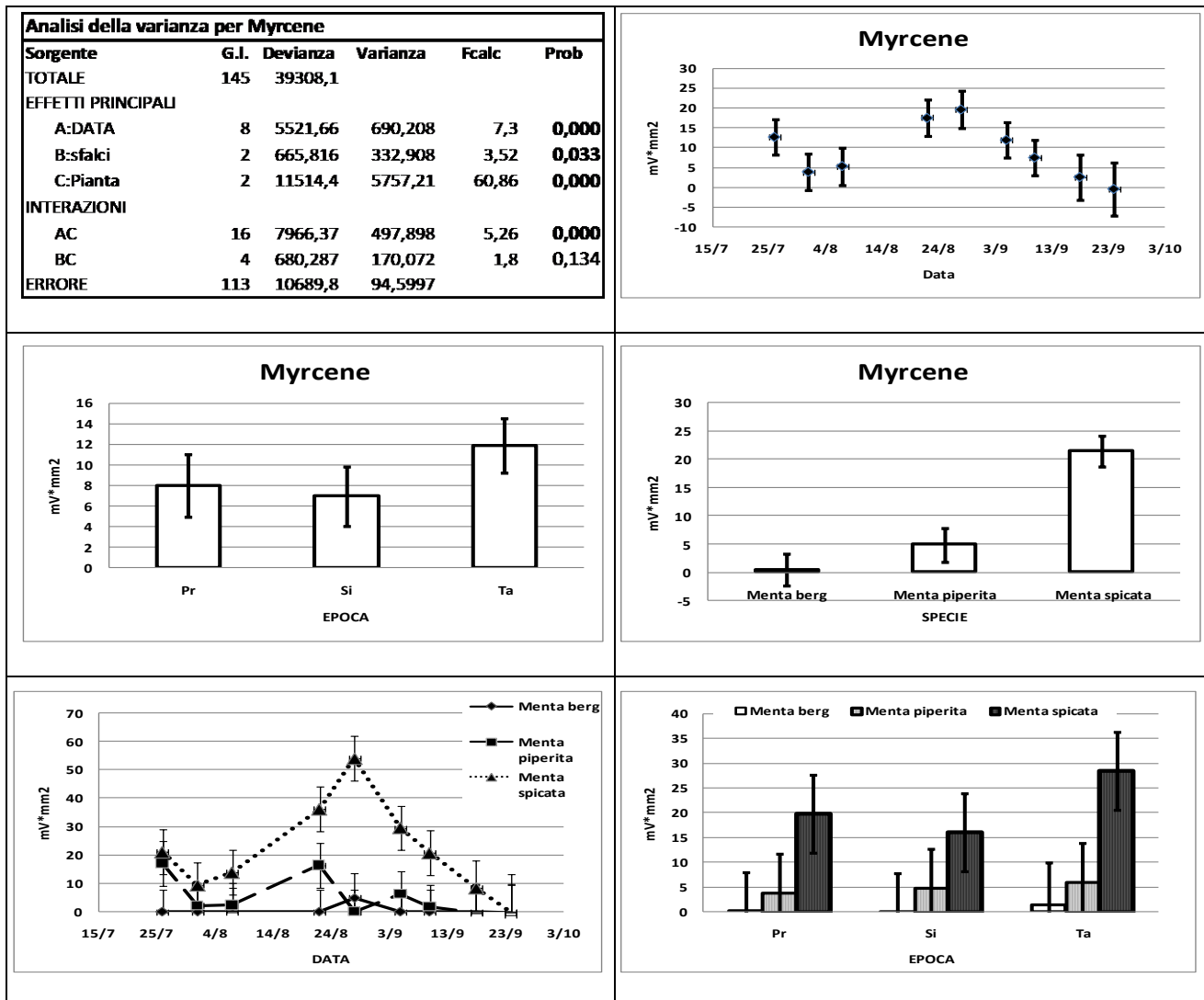


Tabella 3 – Analisi della varianza del Myrcene ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del myrcene. Inoltre è l'unica sostanza tra tutte quelle analizzate che rileva una differenza statisticamente significativa per quanto riguarda la gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva. In realtà questa differenza non è molto visibile dal grafico, ma la conferma viene data dall'analisi della varianza. C'è differenza statisticamente significativa anche tra le diverse specie di Menta considerate.

Anche nell'interazione tra specie di Menta e data si osserva una differenza significativa: infatti le varie Mente hanno un comportamento differente, durante il periodo analizzato. La *M. spicata* L. riporta dei valori sempre più alti rispetto alle altre specie, con un picco di concentrazione a fine agosto. In *M. x piperita* L. c'è un picco di concentrazione il 22/08, e poi vengono trovati valori bassi; in *M. citrata* è assente per tutto il periodo tranne dal 22/08 al 05/09.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

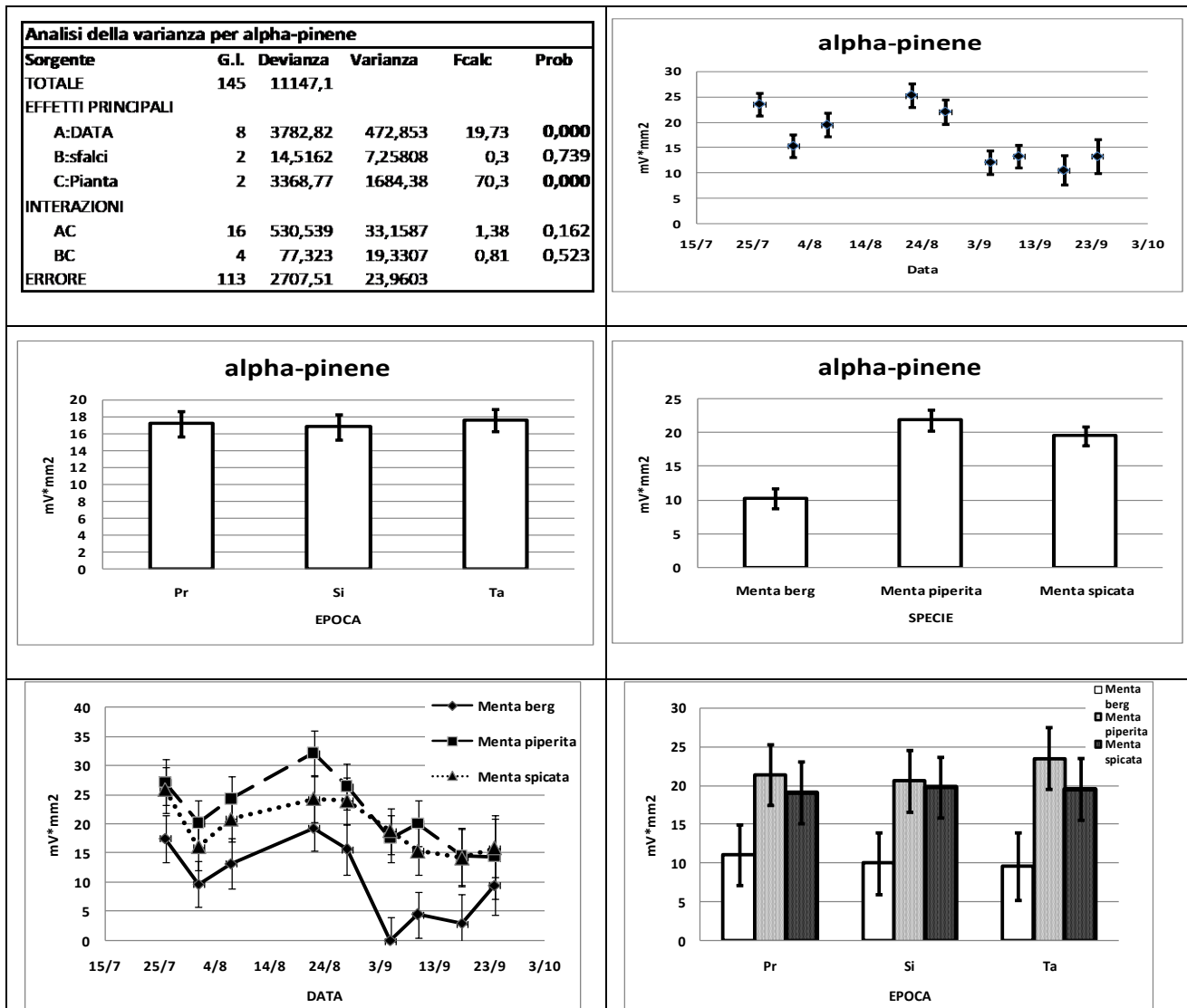


Tabella 4 – Analisi della varianza del alpha-pinene ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del alpha-pinene. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di Menta considerate.

L'interazione tra specie di Menta e data non denota una differenza significativa: infatti le varie Mente hanno un comportamento abbastanza simile, a parte per una data agli inizi di settembre, in cui la concentrazione in *M. citrata* L. è molto bassa, tanto che la sostanza risulta assente. Nella stessa data, anche le altre specie di Menta presentano un calo di concentrazione ma in maniera inferiore. Tutte e tre le specie presentano un picco di concentrazione il 22/08.

Per quanto riguarda l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

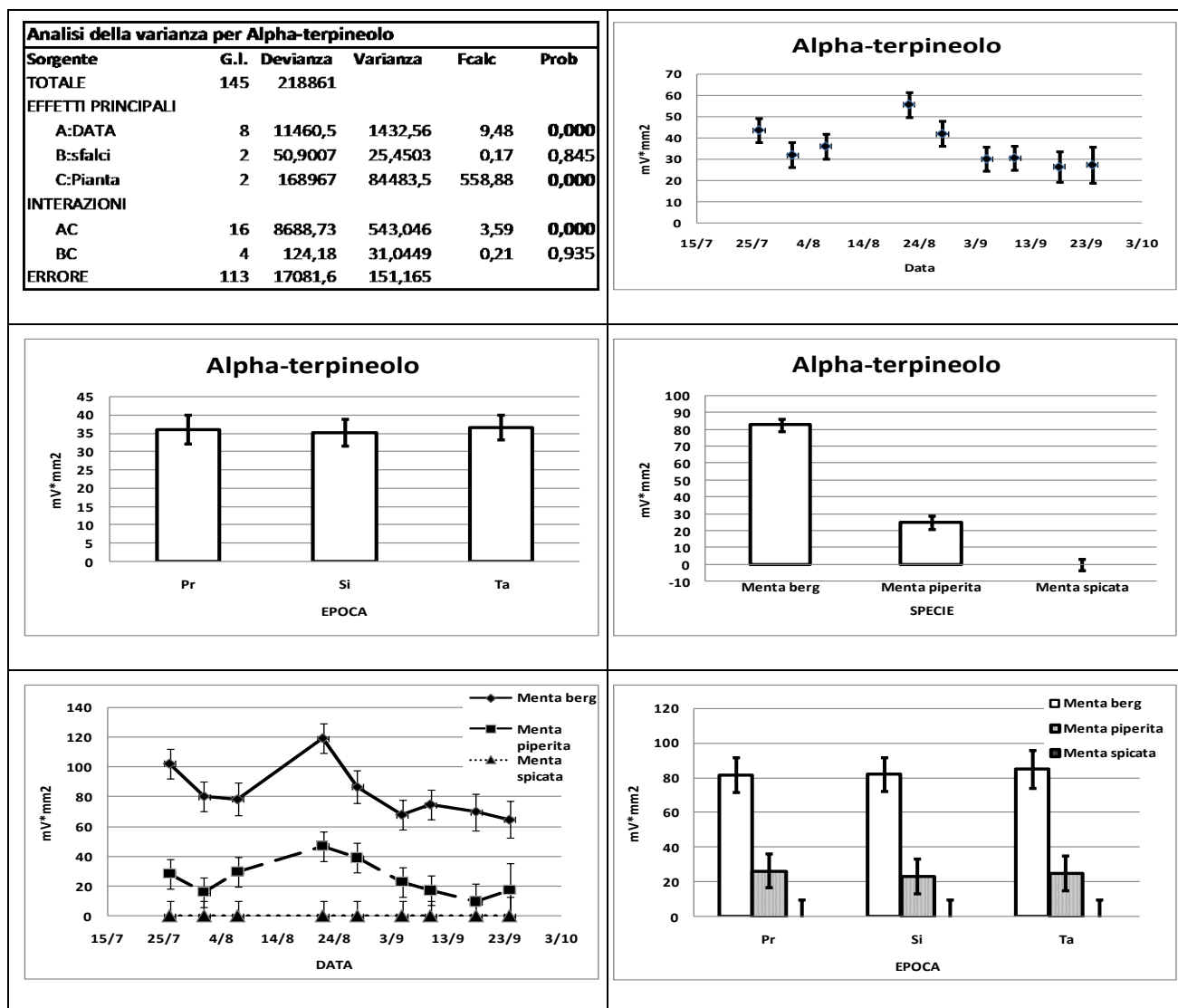


Tabella 5 – Analisi della varianza del alpha-terpineolo ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del alpha-terpineolo. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di Menta considerate.

L'interazione tra specie di Menta e data risalta una differenza significativa: infatti le varie Mente hanno un comportamento differente, durante il periodo analizzato. La *M. citrata* L. si differenzia molto rispetto a *M. piperita*, riportando valori sempre più alti. Il 22/08 notiamo un picco di concentrazione in tutte le specie, che sarà maggiore in *M. citrata*. In *M. spicata*, la sostanza analizzata è assente.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

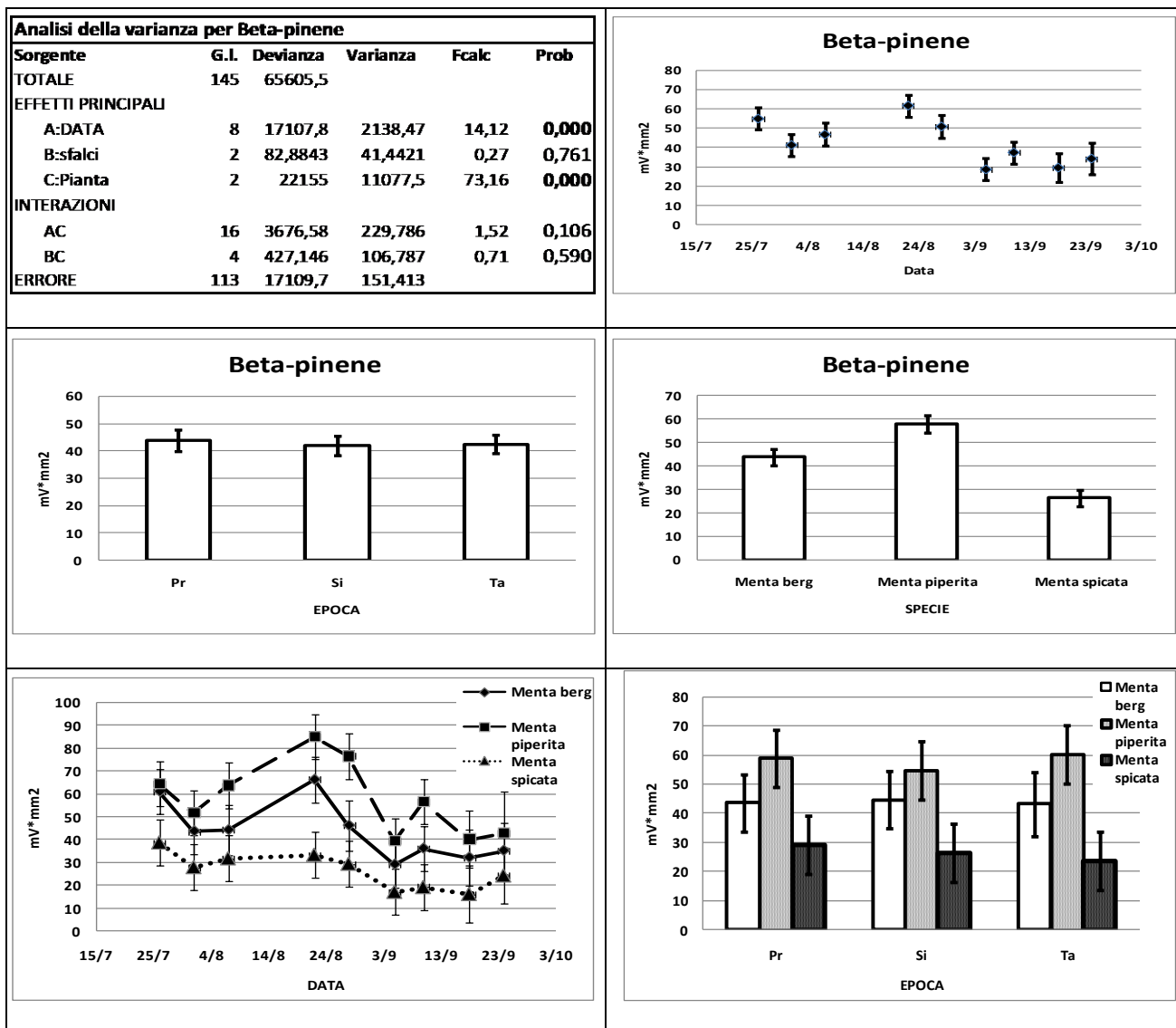


Tabella 6 – Analisi della varianza del beta-pinene ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del beta-pinene. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di Menta considerate.

L'interazione tra specie di Menta e data non denota una differenza significativa: infatti le varie Mente hanno un comportamento abbastanza simile, anche se le concentrazioni sono differenti: maggiormente presente in *M. x piperita* L., meno presente in *M. spicata* L. e con picco di concentrazione più alto il 22/08 in tutte le tre specie.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

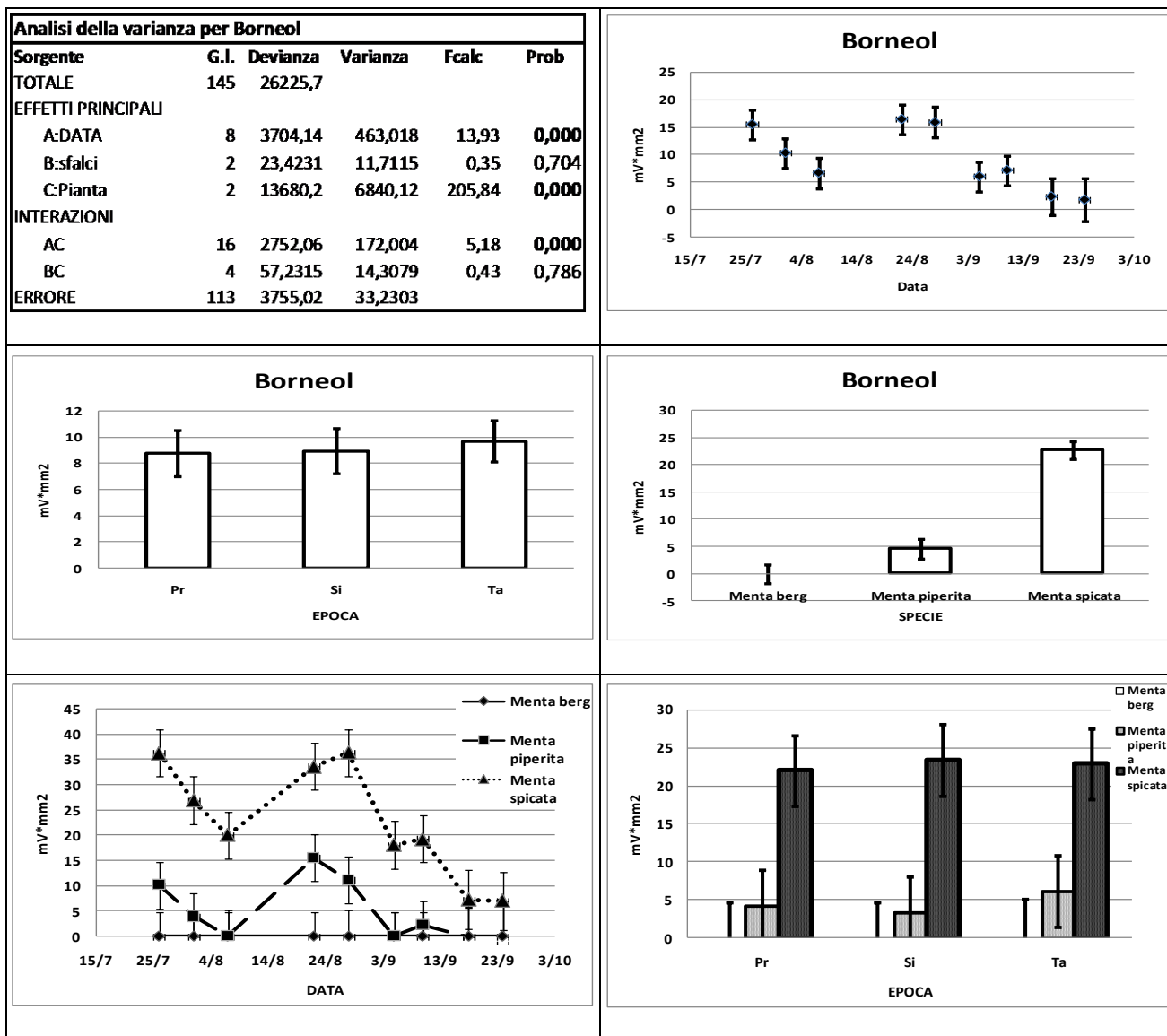


Tabella 7 – Analisi della varianza del borneolo ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del borneolo. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di Menta considerate.

L'interazione tra specie di Menta e data risalta una differenza significativa: infatti le varie Mente hanno un comportamento differente, durante il periodo analizzato. La *M. spicata* L. riporta dei valori sempre più alti rispetto alle altre specie, con picco di concentrazione a fine agosto, e in *M. citrata* L. è assente. In *M. x piperita* L. c'è un picco di concentrazione il 22/08.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

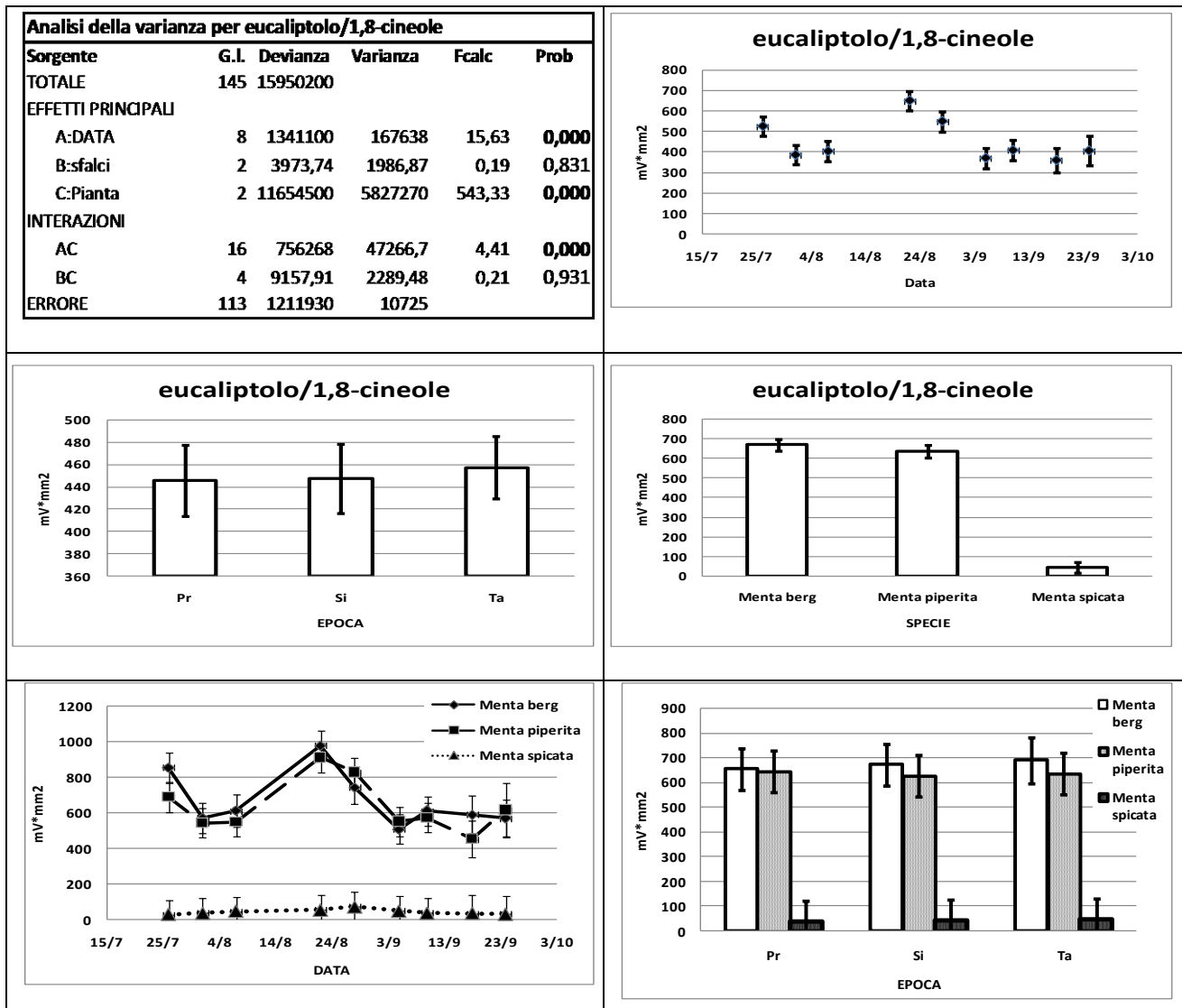


Tabella 8 – Analisi della varianza del eucaliptolo/1,8-cineolo ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione dell'eucaliptolo. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di *Menta* considerate.

L'interazione tra specie di *Menta* e data risalta una differenza significativa: infatti le varie *Mente* hanno un comportamento differente, durante il periodo analizzato. La *M. citrata* e la *M. x piperita* L. riportano dei valori molto simili, con picco di concentrazione il 22/08, relativamente più alti rispetto alla *M. spicata* L., che presenta valori costanti, senza oscillazioni evidenti, prossimi allo zero.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

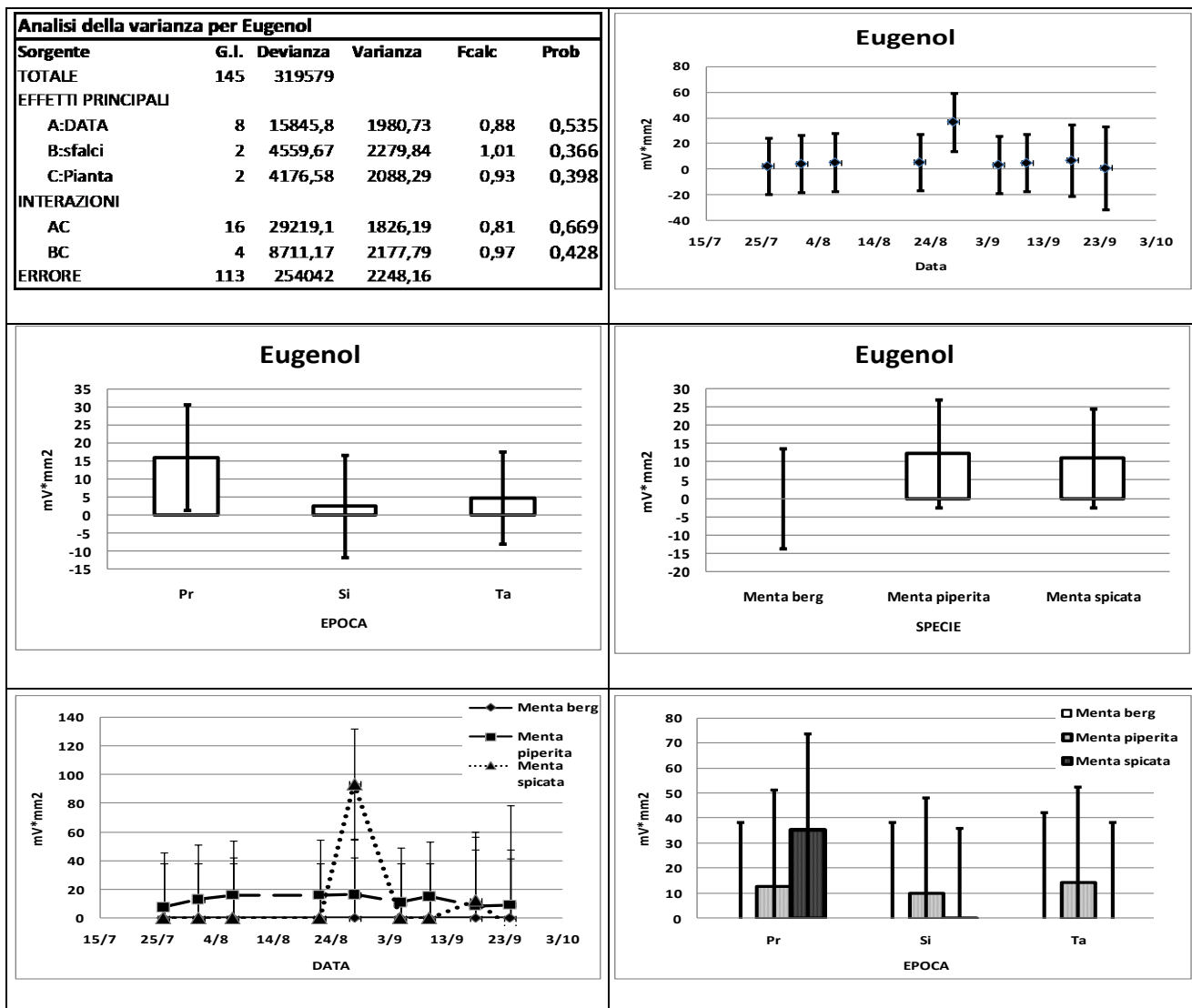


Tabella 9 – Analisi della varianza del eugenolo ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che non viene evidenziata nessuna differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del eugenolo, né tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva, né tra le diverse specie di *Menta* considerate.

Anche nell'interazione tra specie di *Menta* e data non appare alcuna differenza significativa: la *M. x piperita* L è presente in maniera costante, senza evidenti oscillazioni, con valori sempre bassi. In *M. citrata* L. questa sostanza è assente e in *M. spicata* L., è presente solo in due momenti: verso la fine di agosto, con una concentrazione molto elevata rispetto all'andamento della sostanza e rispetto le altre *Mente*. Dopo aver raggiunto un valore massimo, ritorna a scendere fino ad un valore pari a zero. Un altro momento si verifica verso la metà di settembre, questa volta con valori piuttosto bassi.

Non c'è differenza statisticamente significativa neanche nell'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta.

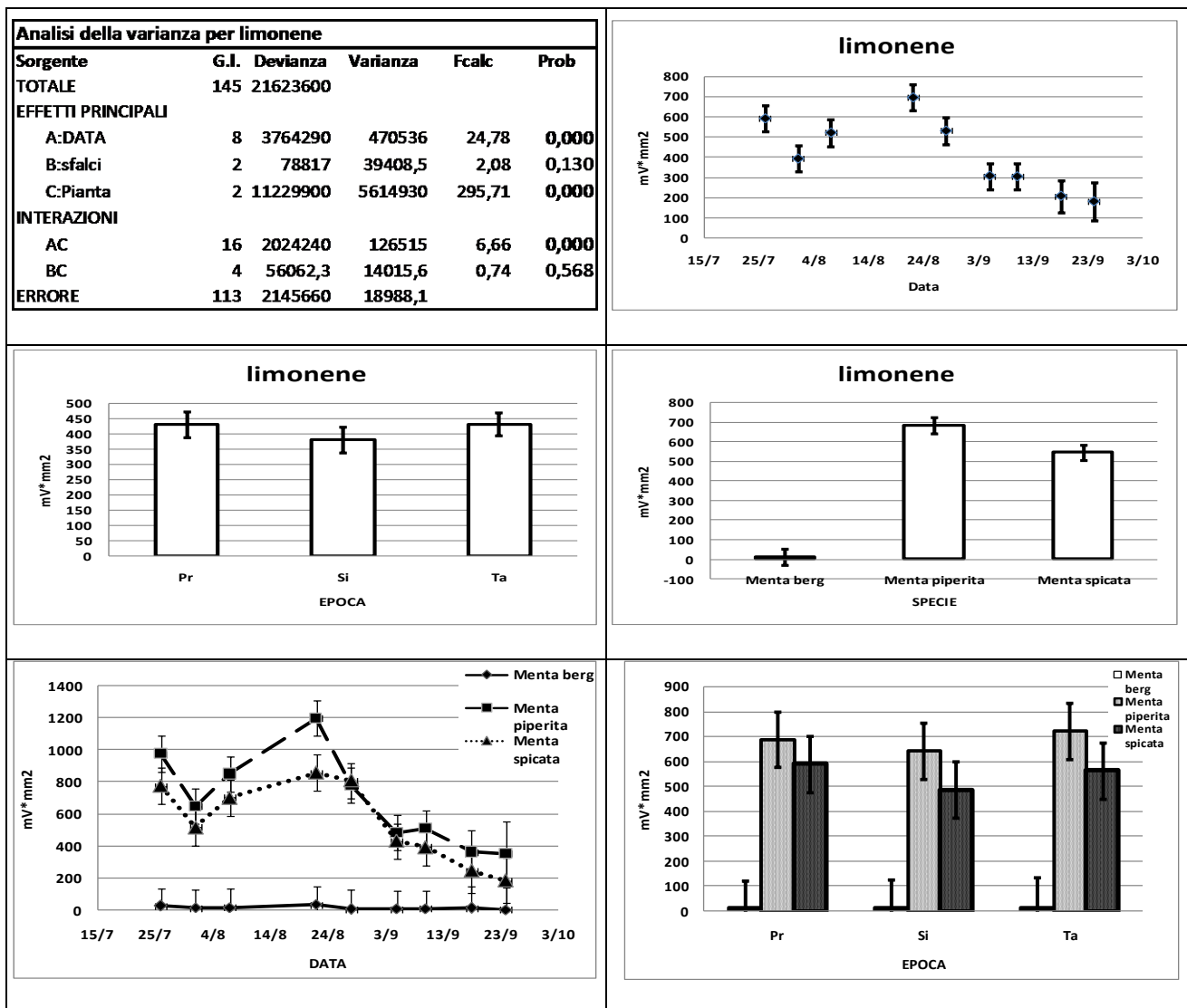


Tabella 10 – Analisi della varianza del limonene ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del limonene. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di Menta considerate.

L'interazione tra specie di Menta e data risalta una differenza significativa: infatti le varie Mente hanno un comportamento differente, durante il periodo analizzato. La *M. x piperita* L. riporta dei valori sempre più bassi rispetto alle altre specie, quasi prossimi allo zero. Le altre due specie presentano delle concentrazioni più elevate e hanno un andamento simile, con un picco di concentrazione il 22/08.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

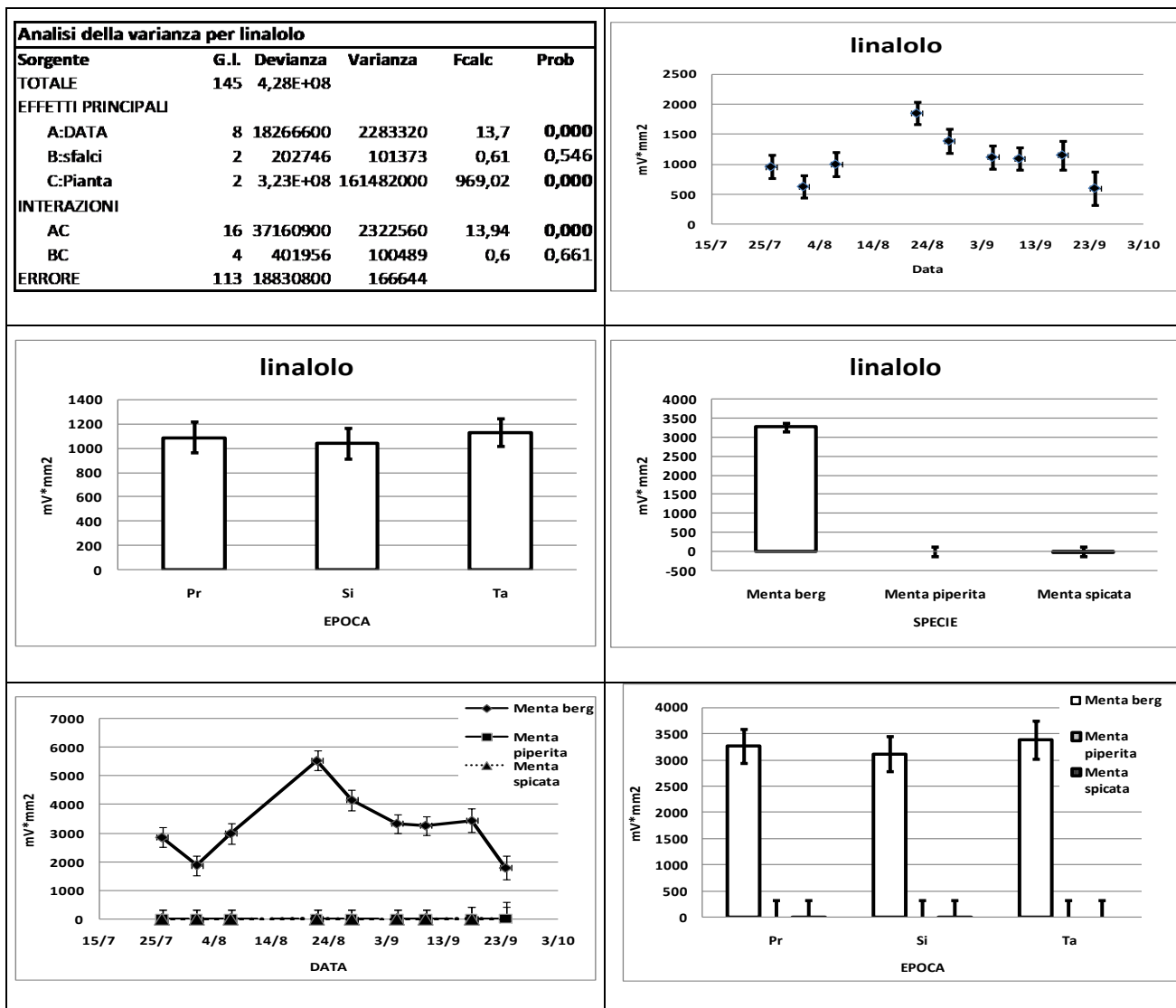


Tabella 11 – Analisi della varianza del linalolo ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del linalolo. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di Menta considerate.

L'interazione tra specie di Menta e data risalta una differenza significativa: infatti questa sostanza è presente solo in una delle tre specie analizzate, ovvero in *M. citrata* L., nella quale viene rilevato un picco di concentrazione il 22/08.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

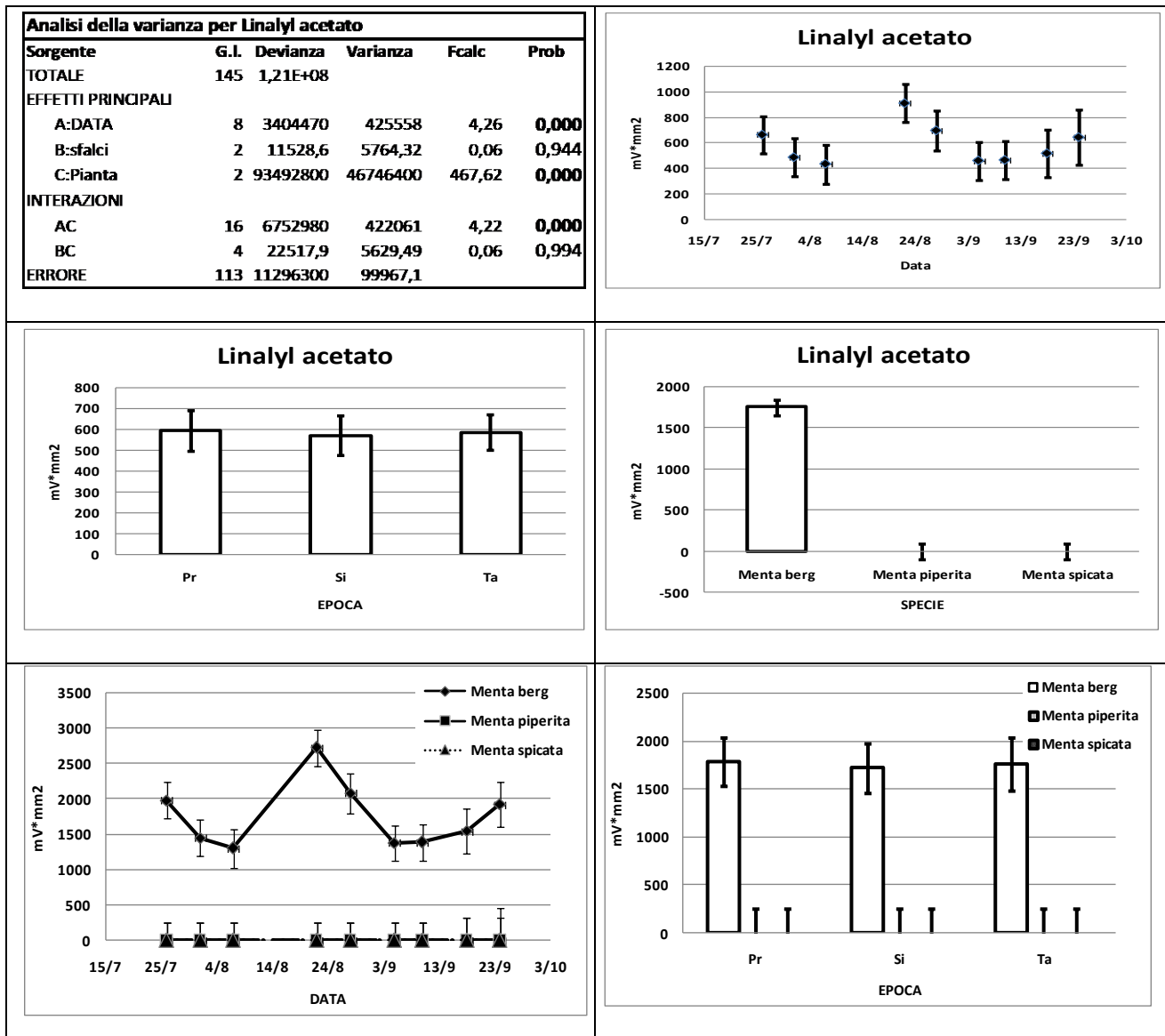


Tabella 12 – Analisi della varianza del linalyl-acetato ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del linalyl-acetato. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di Menta considerate.

L'interazione tra specie di Menta e data risalta una differenza significativa: infatti questa sostanza è presente solo in una delle tre specie analizzate, ovvero in *M. citrata* L., nella quale viene rilevato un picco di concentrazione il 22/08.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

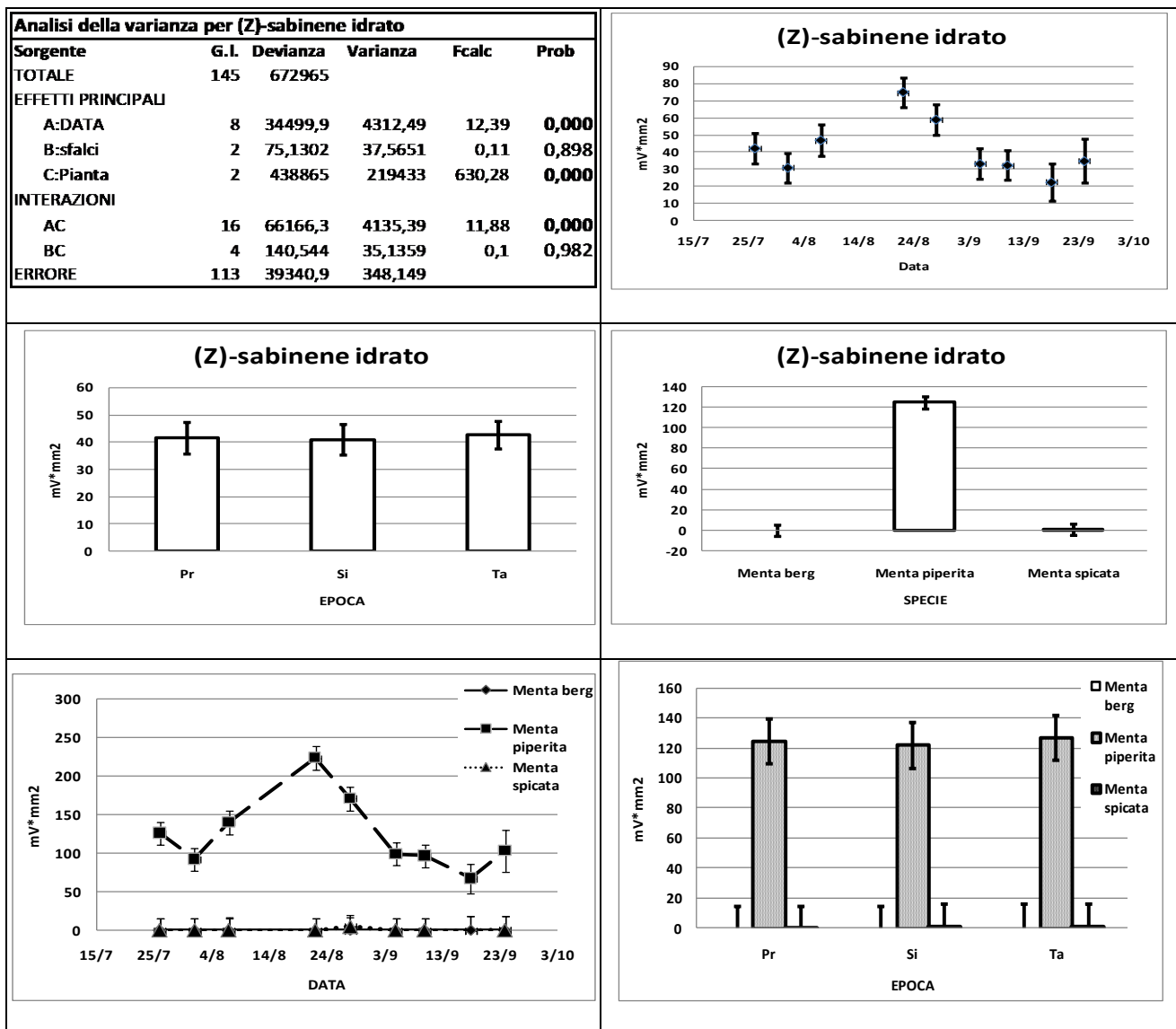


Tabella 13 – Analisi della varianza del (Z)-sabinene idrato ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del (Z)-sabinene idrato. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di Menta considerate.

L'interazione tra specie di Menta e data risalta una differenza significativa: infatti questa sostanza è presente solo in una delle tre specie analizzate, ovvero in *M. x piperita* L., nella quale viene rilevato un picco di concentrazione il 22/08.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

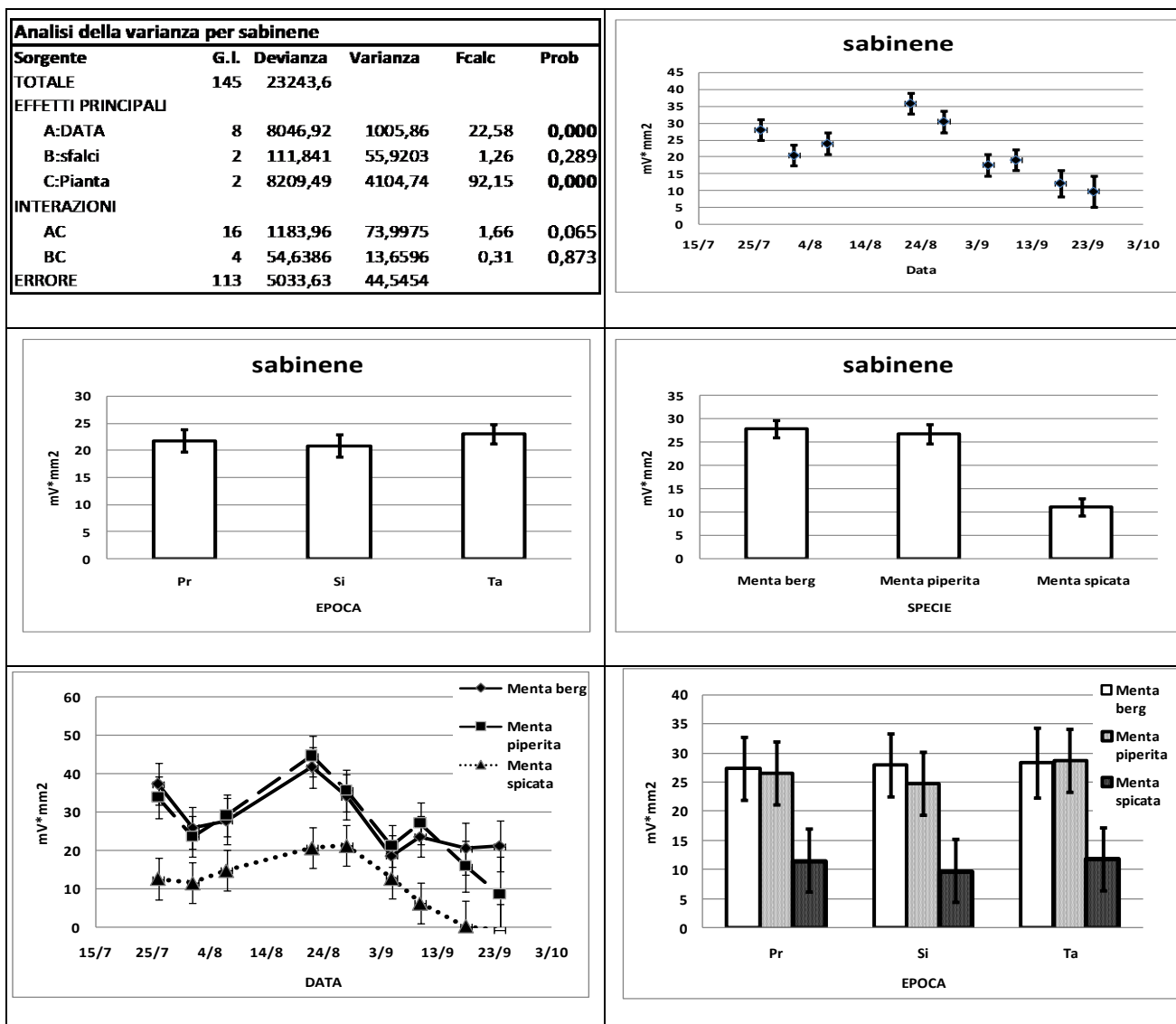


Tabella 14 – Analisi della varianza del sabinene ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del sabinene. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di Menta considerate.

Nell'interazione tra specie di Menta e data non viene rilevata una differenza significativa: due specie, quali la *M. x piperita* L. e la *M. citrata* L., hanno un andamento e dei valori molto simili, con picco di concentrazione il 22/08, mentre la *M. spicata* L. ha per tutto il periodo valutato dei valori sempre più bassi rispetto alle altre due.

Non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa neanche nell'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta.

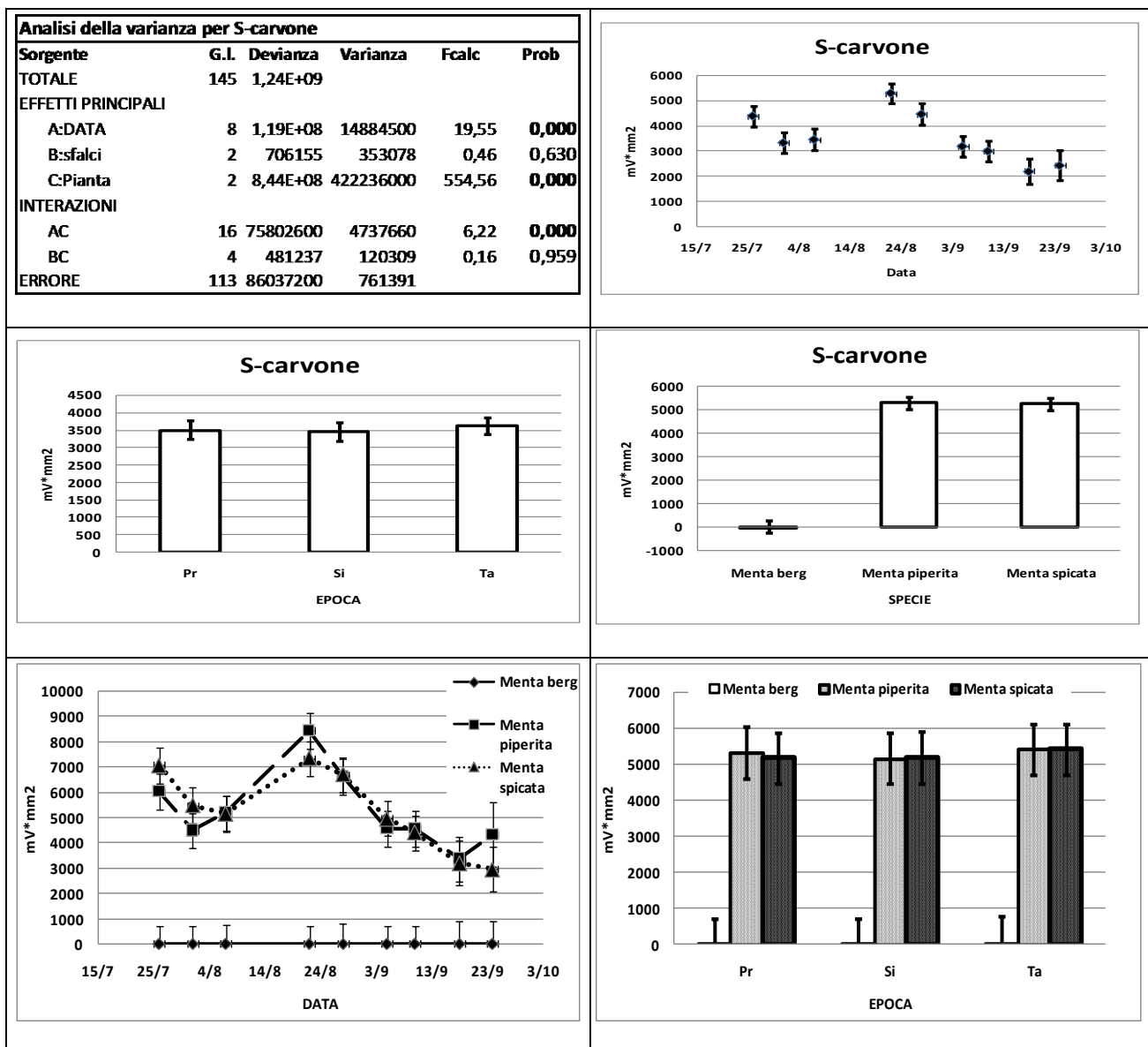


Tabella 15 – Analisi della varianza del S-carvone ed effetti dei fattori di classificazione e loro interazioni.

Si può affermare che c'è differenza statisticamente significativa tra le singole date in relazione alla concentrazione del S-carvone. Invece non viene individuata una differenza statisticamente significativa tra gestione di sfalcio precoce, intermedia e tardiva e c'è differenza statisticamente significativa tra le diverse specie di Menta considerate.

L'interazione tra specie di Menta e data risalta una differenza significativa: infatti due specie, quali la *M. x piperita* L. e la *M. spicata* L., hanno un andamento e dei valori molto simili, con un picco di concentrazione il 22/08, mentre la *M. citrata* L. ha per tutto il periodo dei valori nulli.

Per quanto riguarda invece l'interazione tra gestione precoce, intermedia e tardiva degli sfalci e la pianta, non viene trovata nessuna differenza statisticamente significativa.

7. Discussione

7.1 Riconoscimento

Il riconoscimento botanico delle varie specie all'interno del genere *Menta* è un'operazione molto complessa, per l'elevata incidenza di scambio di materiale genetico tra le specie, l'elevata quantità di specie poliploidi e la graduale variazione morfologica, sia intra- che inter-specifica. Questi fattori sono aggravati negli incroci, come per esempio in *Mentha x piperita* L., poiché all'interno della stessa specie si possono manifestare dei caratteri non sempre costanti, che possono essere predominanti di uno o dell'altro progenitore. Fino ad oggi sono stati pubblicati circa 900 binomi, dei quali si possono riconoscere circa 25 specie e vari ibridi, che continuano a incrociarsi fra loro (N. E. Bonzani et al., 2007).

Analizzando i risultati derivanti dall'analisi eseguita al gascromatografo, sono emerse alcune incongruenze per quanto riguarda l'appartenenza del campione in nostro possesso alla specie *Mentha x piperita* L.. Per poter fare un confronto tra le tre specie analizzate, in base ai componenti chimici presenti all'interno dell'olio essenziale di ciascuna, abbiamo costruito una tabella che indica la media delle concentrazioni espressa in $mV \cdot mm^2$ per ogni componente. Vengono apposte delle lettere maiuscole, che indicano, se la lettera è la stessa, che non c'è differenza statisticamente significativa tra le specie; diversamente, ci sarà differenza. Hanno più rilevanza le differenze che emergono in sostanze con concentrazioni elevate come per esempio nel carvone dato che costituiscono una percentuale rilevante dell'olio essenziale.

	<i>M. x piperita</i> L.		<i>M. spicata</i> L.		<i>M. citrata</i> L.	
3-octanolo	45.25	A	17.56	B	0	C
(-)-trans-caryophyllene	70.92	B	37.52	C	96.04	A
Myrcene	4.90	B	21.45	A	0.48	B
alpha-pinene	21.86	A	19.50	A	10.24	B
alpha-terpineolo	25.10	B	0	C	82.88	A
beta-pinene	57.95	A	26.45	C	43.80	B
Borneolo	4.57	B	22.78	A	0	C
Eucaliptolo	635.99	A	42.93	B	671.67	A
eugenolo	12.41		11.03		0	
Limonene	684.59	A	546.42	B	13.26	C
Linalolo	0	B	0.27	B	3259.33	A
linalyl acetato	0	B	0	B	1753.56	A
(Z)-sabinene idrato	124.60	A	0.55	B	0	B
Sabinene	26.69	A	11.10	B	27.89	A
Carvone	5298.61	A	5259.52	A	7.31	B

Tabella 16. Concentrazione dei composti, in ordine alfabetico, nelle tre specie di *Menta* analizzate.

Questa tabella è stata fatta per poter individuare somiglianze e differenze nella composizione chimica degli oli essenziali delle tre specie e mettere in evidenza alcune caratteristiche emerse dai risultati precedentemente esposti.

I risultati portano in luce che la qui denominata *Menta piperita* non può essere tale poiché la sua composizione chimica differisce moltissimo da quella tipica della *Mentha x piperita* L., i cui principali componenti sono il mentone, il menthyl acetato, il limonene e l'isomentone (Hussain et al., 2010). Altri componenti importanti sono l'alpha- e il beta-pinene, il piperitone e il pulegone; inoltre molte fonti attestano che il principale costituente dell'olio essenziale di *M. piperita* sia il mentolo, che può avere concentrazioni comprese tra il 29 % e il 55 %. Le altre sostanze presentano percentuali più basse: per esempio il menthyl acetato tra 1 e 10 % e il limonene tra 0.2 e 6 %. In varie analisi con gascromatografia sono state trovate anche basse percentuali di eucaliptolo, myrcene, carvone e linalolo (K. V. Peter, 2006). Quindi non essendo state rilevate nell'analisi con gascromatografia le sostanze che dovrebbero essere i componenti principali della *Menta piperita*, tra cui il mentolo e il mentone, si può affermare che la *Menta* vendutaci come *M. piperita*, non possa essere tale; probabilmente c'è stato un errore nel riconoscimento della specie ed è stata confusa con un'altra.

Un altro dato interessante da sottolineare è che è presente un'elevata concentrazione di carvone sia in *M. spicata* che nella specie di *Menta* sconosciuta, precedentemente identificata come *M. piperita*. Questa osservazione può far ipotizzare una possibile appartenenza delle due alla medesima specie. Il carvone, che nei nostri campioni è risultato molto abbondante, tranne che in *M. citrata*, è infatti un composto solitamente presente, in così alte concentrazioni, solo in *M. spicata*, con percentuali variabili tra 51.3 e il 65.1%. Gli altri componenti prevalenti della *M. spicata* sono il limonene e l'eucaliptolo (R.S. Verma et al., 2010; K. V. Peter, 2006).

Quindi il fatto che tale specie di *Menta* erroneamente identificata contenga elevatissime percentuali di carvone, allo stesso modo della *M. spicata*, oltre che una rilevante quantità di limonene, superiore anche alla *M. spicata* ed un'elevata quantità di eucaliptolo, di cui invece la *M. spicata* analizzata ne ha molto poco, possono sostenere l'ipotesi dell'appartenenza della pianta denominata *M. x piperita* L. alla specie *M. spicata* L..

Dunque, nonostante le tre specie, durante la coltivazione, presentassero caratteristiche morfologiche e un aroma nettamente diverso tra loro, l'ipotesi che è stata avanzata, valutando i risultati ottenuti, è che questa specie sconosciuta possa essere una varietà di *M. spicata*, anche se differendo per molti altri composti da quest'ultima; tuttavia non abbiamo condotto ulteriori sperimentazioni che possano confermare quest'ipotesi.

7.2 Gestione dell'epoca di sfalcio

Un importante risultato viene messo in risalto dal fatto che in tutte e tre le specie analizzate, per tutte le sostanze studiate, ad eccezione del myrcene, la differente gestione dell'epoca degli sfalci non ha portato una differenza statisticamente significativa. Ciò è importante dal punto di vista agronomico ed economico poiché lo sfalcio della pianta può essere effettuato nel momento più conveniente per l'azienda, in relazione quindi alla crescita di biomassa e alle problematiche logistico-organizzative, quindi in base a disponibilità di operai, macchinari e in base alle condizioni climatiche; in ogni caso, la composizione degli oli essenziali rimane invariato.

Per quanto riguarda il myrcene, l'analisi statistica che è stata fatta riporta una differenza statisticamente significativa, per quanto riguarda la gestione delle epoche di sfalcio precoce, intermedia e tardiva. Essendo il myrcene presente con concentrazioni molto più basse rispetto alle altre sostanze, questa differenza non è rilevante e non è sufficiente per dimostrare il contrario di quanto detto. Quindi si può affermare che il risultato qualitativo rimane invariato, sia che si attui una gestione di sfalcio precoce, tardiva o intermedia.

7.3 Migliore epoca di campionamento

Un altro aspetto da considerare, rispetto ai risultati ottenuti, è l'andamento delle varie sostanze all'interno degli oli essenziali durante la prova sperimentale.

Ci sono diversi grafici precedentemente esposti che mettono in risalto il fatto che ci siano dei momenti, durante il ciclo colturale, in cui i componenti degli oli essenziali si trovano con concentrazioni molto superiori, rispetto ad altri periodi. Questo è fondamentale ai fini della raccolta per poter ottenere un olio essenziale di qualità. L'andamento tipico delle sostanze si sviluppa partendo all'inizio con una concentrazione bassa, che tende con l'avanzare della stagione a crescere, fino ad arrivare ad un picco di massima concentrazione; successivamente decresce nuovamente fino ad arrivare a irrilevanti concentrazioni nell'ultima fase di crescita.

Notiamo che il periodo in cui tutte le sostanze presentano il picco di concentrazione più alto si colloca nella seconda metà del mese di agosto. Interessante è notare che quasi tutte le sostanze considerate, nelle tre specie, hanno un picco di concentrazione che coincide con il giorno di campionamento del 22 agosto; altre hanno concentrazioni maggiori verso la fine di agosto.

Questo è un dato rilevante poiché potrebbe far affermare che tale data possa coincidere con il tempo balsamico per le tre specie di Menta, quindi con il tempo migliore per poter effettuare la raccolta e a seguito dell'estrazione, ottenere un olio essenziale di ottima qualità, quindi adatto ed efficace per lo scopo per cui è stato prodotto. Infatti in tal periodo, all'interno dell'olio essenziale, si trova la concentrazione più alta dei composti chimici che racchiudono le proprietà degli oli essenziali delle piante.

8. Conclusioni

In questo lavoro di tesi si è potuto verificare che durante il ciclo colturale delle specie di *Menta* selezionate la concentrazione dei metaboliti secondari delle piante variano e sono maggiormente presenti in un periodo che si aggira intorno al 22 agosto, momento che potrebbe quindi coincidere con il tempo balsamico della pianta. Questa osservazione è molto importante ai fini della raccolta e di ottenimento di un olio essenziale di qualità.

Un altro aspetto emerso è che la qualità dell'olio essenziale non viene influenzata da una accurata gestione dell'epoca di sfalcio; ciò è importante dal punto di vista agronomico poiché vuol dire che la pianta può essere sfalciata quando è più conveniente ovvero quando la quantità di biomassa è elevata.

Un ultimo aspetto riguarda il riconoscimento della specie. La pianta deve sempre essere analizzata accuratamente; vanno analizzati oltre che lo stelo e le foglie anche gli organi sessuali e sarebbe importante poter fare un confronto con varie piante della stessa specie. Successivamente, per il confronto tra le specie, è possibile basarsi sulle analisi chimiche, individuando i vari metaboliti presenti.

Bibliografia

A. Ceruti, G. V. (1997). *Botanica medica farmaceutica e veterinaria*. Bologna: Zanichelli.

Abdullah I Hussain, F. A. (2010). Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture* .

Aflatuni, A. (2005). *The yield and essential oil content of mint (Mentha ssp.) in Northern Ostrobothnia*. Oulu: University of Oulu.

Albert Y. Leung, S. F. (1999). *Enciclopedia delle piante medicinali : utilizzate negli alimenti, nei farmaci e nei cosmetici* . Roma: Aporie.

Alberto Manzo, G. B. (2013). *Piano di Settore della filiera delle Piante Officinali*.

Baars, B. G. (1997). *Introduzione pratica alla gascromatografia*. Milano: Morgan Edizioni Tecniche.

Brian, M. L. (2007). *Mint : the genus mentha*. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group.

Bruno Marongiu, S. P. (2012). Traditional and modern methods for the preparation of essential oils. In L. Valgimigli, *Essential oils as natural food additives*. New York: Nova Science Publishers, Inc.

Bunsawatt, J. (2002). *Mentha (Lamiaceae) Phylogenetic Analysis Using Chloroplast TRNL-TRNF and Nuclear Ribosomal DNA ITS Sequences*. Bowling Green: Western Kentucky University.

Debuigne, G. (2004). *Enciclopedia delle piante della salute*. Roma: Gremese editore.

Firenzuoli, F. (2002). *Fitoterapia*. Milano: Masson.

Francesco Corbetta, A. D. (2001). *Piante officinali italiane*. Bologna: Edagricole.

Gökalp Işcan, N. K. (2002). Antimicrobial Screening of *Mentha piperita* Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* .

İsa Telci, O. K. (2011). The effect of ecological conditions on yield and quality traits of selected peppermint (*Mentha piperita* L.) clones. *Industrial Crops and Products* .

Ismea. (2013). *Piante officinali in Italia: un'istantanea della filiera e dei rapporti tra i diversi attori*.

J. Rameshwar Naidu, R. B. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of the crude methanolic extracts of *Mentha spicata*. *Journal of Phytology* .

Marina D. Sokovic, J. V. (2009). Chemical Composition of Essential Oils of *Thymus* and *Mentha* Species and Their Antifungal Activities. *Molecules* .

Maugini, E. (1994). *Manuale di botanica farmaceutica, VII edizione aggiornata*. Padova: Piccin.

Nadai, G. D. (2009). *Produzione di piante officinali in un'azienda di montagna*. Padova: Università degli Studi di Padova.

Norma E. Bonzani, M. C. (2007). Estudios anatómicos en especies de *Mentha* (Fam. Lamiaceae) de Argentina. *Arnaldoa : revista del Herbario HAO* .

Peter, K. V. (2006). *Handbook of herbs and spices (volume 3)*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.

R. S. Verma, L. R. (2010). Essential Oil Composition of Menthol Mint (*Mentha arvensis*) and Peppermint (*Mentha piperita*) Cultivars at Different Stages of Plant Growth from Kumaon Region of Western Himalaya. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants* .

Rajendra C. Padalia, R. S. (2013). Essential oil composition of sixteen elite cultivars of *Mentha* from western Himalayan region, India. *Maejo International Journal of Science and Technology* .

Remigio Baldoni, L. G. (1981). *Coltivazioni erbacee*. Bologna: Patron editore.

Valgimigli, L. (2012). Essential oils: an overview on origins, chemistry, properties and uses. In L. Valgimigli, *Essential oils as natural food additives*. New York: Nova Science Publishers, Inc.

Z. K. Shinwari, S. S. (2011). Molecular and morphological characterization of selected *Mentha* species. *Pakistan Journal of Botany* .

<http://www.venetoagricoltura.org/>

<http://www.ilpuncoldiretti.it/Pagine/Home.aspx>

<http://www.istat.it/it/>

<http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome>

<http://www.fippo.org/index.php?menid=520>

<http://www.fao.org/home/en/>

Ringraziamenti

Ci tengo a spendere poche ma significative parole per ringraziare le persone che sono state importanti per poter arrivare a questo punto.

Un grazie a Lorenzo, che mi è vicino e mi ha accompagnato in questi anni con costanza e affetto, spronandomi e rassicurandomi in ogni circostanza.

Ringrazio tutta la mia famiglia, quindi i miei genitori, che mi hanno sempre sostenuto, mia sorella, che è la più brava di tutti a consolarmi e il mio fratellino, a cui voglio bene.

Non posso che dire grazie di cuore a Beatrice, perché non ce l'avrei fatta senza (in moltissimi sensi) e Mara, per la sua sincera amicizia e compagnia in questi anni.

Inoltre ringrazio sentitamente anche il Professor Bona per l'opportunità di svolgere questo lavoro, Giulia ed in particolare Elisa, che mi ha seguito, nonostante i tanti impegni con pazienza, dedizione e passione per l'argomento.