

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA ANIMALI
ALIMENTI RISORSE NATURALI E AMBIENTE

CORSO DI LAUREA
SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

L'USO DI OLI ESSENZIALI CONTRO GLI
INFESTANTI DELLE DERRATE ALIMENTARI

Relatrice
Prof.ssa Isabel Martinez Sanudo

Laurenda
Maddalena Fontana
Matricola n. 1201717

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

INDICE

RIASSUNTO.....	4
ABSTRACT	4
1. INTRODUZIONE	5
1.1 GLI INFESTANTI DELLE DERRATE	5
1.2 L'INTEGRATED PEST MANAGEMENT	5
1.3 I BIOPESTICIDI.....	6
2. CARATTERISTICHE DEGLI OLI ESSENZIALI.....	7
2.1 L'ODORE.....	7
2.2 LA PERSISTENZA E LA BIODEGRADABILITÁ.....	8
2.3 LA BIOATTIVITÁ.....	8
2.4 LA FITOTOSSICITÁ.....	9
3. MODALITÁ.....	11
3.1 STUDI SULL'AZIONE DEGLI OLI ESSENZIALI SUGLI INFESTANTI DELLE DERRATE	12
4. NANOTECNOLOGIE	15
4.1 LE NANOSTRUTTURE	15
4.2 LE NANOEMULSIONI.....	16
5. APPLICAZIONI COMMERCIALI	19
6. CONCLUSIONI	21
7. BIBLIOGRAFIA	23

RIASSUNTO

L'uso degli oli essenziali per la lotta agli infestanti delle derrate alimentari si rivela un'alternativa promettente agli insetticidi chimici. Questa tesi raccoglie gli studi effettuati mettendo in luce vantaggi e svantaggi del loro utilizzo, le modalità d'azione e le tecnologie usate. Gli oli essenziali si sono rilevati efficaci e vantaggiosi in termini di sostenibilità ed efficacia, mostrando però problematiche dovute alla loro variabilità chimica nel tempo, all'odore e alla possibile resistenza che potrebbero indurre. Esercitano la loro efficacia attraverso meccanismi come l'inibizione di enzimi chiave e la riduzione della detossificazione nei parassiti, aumentando così la loro azione insetticida. Tecnologie innovative, come le nanoemulsioni, sono state sviluppate per migliorare la solubilità e la stabilità degli oli essenziali, ottimizzando la loro applicazione. Tuttavia, la commercializzazione di biopesticidi a base di oli essenziali è ostacolata dalla complessità nella standardizzazione e dai processi di approvazione.

ABSTRACT

The use of essential oils for controlling food pests represent a promising alternative to conventional chemical pesticides. This thesis collects the studies carried out highlighting the advantages and disadvantages of their use, the methods of action and the technologies used. Essential oils have proven to be effective and advantageous in terms of sustainability and effectiveness, however they present some problems due to their chemical variability over time, the odor and the possible resistance they could induce. They exert their efficacy through mechanisms such as the inhibition of key enzymes and the reduction of detoxification in pests, thus increasing their insecticidal action. Innovative technologies, such as nanoemulsions, have been developed to improve the solubility and stability of essential oils, optimizing their application. However, the commercialization of essential oil-based biopesticides is hampered by the complexity of standardization and approval processes.

1. INTRODUZIONE

1.1 GLI INFESTANTI DELLE DERRATE

Un infestante è definito come "un qualsiasi organismo dannoso per i prodotti alimentari immagazzinati di tutti i tipi (in particolare cereali e legumi), compresi ortaggi, frutta, semi e diversi tipi di materiali vegetali e animali immagazzinati per uso umano, inclusa un'ampia gamma di alimenti preparati" (Hill, 2002). I principali organismi che possono causare problemi sono insetti, acari, roditori, uccelli e microrganismi. Mentre per uccelli e roditori l'accesso agli alimenti può essere impedito attraverso l'installazione di barriere fisiche, il controllo non è così facile per gli insetti ed i microrganismi. Gli insetti presentano delle caratteristiche che permettono loro di vivere bene all'interno dei magazzini di stoccaggio: sono di dimensioni molto piccole, hanno colori che li aiutano a mimetizzarsi all'interno dei prodotti, sopravvivono a digiuno, a basse concentrazioni di ossigeno e sono polifagi, inoltre sono longevi e hanno un'elevata fecondità, il che permette loro di riprodursi velocemente. Per questi motivi risultano essere un problema per il settore alimentare, non solo dal punto di vista della perdita quantitativa di produzione, stimata attorno al 40%, ma anche per quella qualitativa e per la salute umana, possono essere infatti vettori di allergeni e patogeni (Matthews, 1993).

1.2 L'INTEGRATED PEST MANAGEMENT

L'integrated pest management è uno strumento per la gestione dei parassiti a basso apporto di pesticidi. La gestione integrata mira ad un utilizzo minimo dei prodotti fitosanitari convenzionali e solo se giustificati ecologicamente ed economicamente, con l'obiettivo di ridurre i rischi per la salute umana e per l'ambiente. Incoraggia l'uso di tecniche naturali per il controllo dei parassiti, richiede quindi un'analisi approfondita delle tecniche esistenti, dei prodotti disponibili, della natura degli infestanti. L'industria alimentare vede coinvolte aziende anche molto diverse tra loro in termini di funzione, materie prime, strutture, ambiente, è necessario che l'IPM sia definito in modo specifico per ogni azienda, e che sia flessibile e adattabile ai cambiamenti. Perché sia applicato correttamente si deve conoscere oltre la

struttura ed i processi, anche la tassonomia, il comportamento, l'ecologia delle specie infestanti (Trematerra, 2019).

1.3 I BIOPESTICIDI

Oltre ai prodotti comunemente usati per il controllo degli infestanti, ce ne sono alcuni che stanno attirando l'attenzione dei ricercatori e degli stakeholder, i biopesticidi. Sono prodotti naturali, che presentano capacità tossiche e/o repellenti per numerosi insetti infestanti. Diversi studi hanno dimostrato come i biopesticidi possono essere una valida alternativa agli insetticidi di sintesi, potendo così ottenere lo stesso effetto, senza incorrere negli aspetti negativi dei prodotti chimici. Infatti essendo i biopesticidi ecosostenibili, è possibile usarli senza impattare l'ambiente, la salute umana e le specie utili come gli insetti impollinatori e i biocompetitori (Campolo et al., 2020).

Tra i biopesticidi si includono gli oli essenziali, metaboliti secondari sintetizzati dalle piante, dette aromatiche. Gli oli essenziali sono sostanze che svolgono importanti funzioni utili alla pianta, tra cui la difesa contro lo stress, l'interazione tra specie, la segnalazione e l'attrazione di insetti impollinatori e benefici. Sono sintetizzati da cellule specializzate o ghiandole ed accumulati in vari organi della pianta, in particolare foglie, fiori, radici, frutti, semi. Le specie produttrici di oli essenziali appartengono a poche famiglie, ma sono diffuse in tutto il mondo e disponibili a costi relativamente contenuti (Campolo et al., 2020).

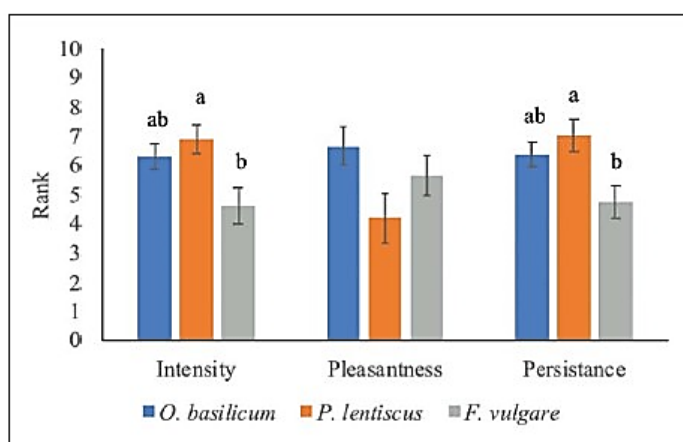
2. CARATTERISTICHE DEGLI OLI ESSENZIALI

Gli oli essenziali sono costituiti da un insieme di 20/70 composti organici, tra questi solo uno o pochi sono presenti in percentuale maggiore e caratterizzano l'attività biologica. Sono sostanze idrofobiche, con affinità lipofiliiche, sono solubili in solventi organici ma immiscibili in acqua. La loro composizione chimica dipende dalla specie vegetale e dall'organo da cui sono estratti, dal clima, dal terreno di coltura. Presentano numerose attività biologiche, tra cui attività antiossidante, antifungina e antinfiammatoria, che li rendono molto usati nella medicina botanica, oltre a ciò presentano marcata attività insetticida e possono agire come tossicanti, deterrenti e repellenti (Isman, 2000; Benelli e Pavela, 2018; Campolo et al., 2018; Isman et al., 2018). Numerosi studi effettuati in laboratorio dimostrano come le loro caratteristiche li rendano adatti all'uso per combattere gli insetti presenti nei prodotti immagazzinati. Nonostante in condizioni di laboratorio gli effetti siano risultati molto promettenti, nell'applicazione in condizioni reali si sono riscontrate alcune problematiche.

2.1 L'ODORE

L'odore è determinato dalla componente volatile, ed è la caratteristica che permette agli oli essenziali di essere usati come repellenti, ma che può risultare negativa a contatto con gli alimenti. Studi effettuati sugli oli essenziali di finocchio, basilico e lentisco hanno analizzato alcuni parametri: l'intensità, una misura di quanto un aroma sia marcato quando percepito; la persistenza, la durata dell'odore percepito; la gradevolezza; il profilo olfattivo, identificando le note vegetative e gli off-flavours; ed infine l'interazione con le cariossidi (Pierattini et al.,

Fig. 1. Analisi sensoriale del grano aromatizzato con OE. I descrittori sensoriali sono stati classificati in base ai componenti del panel su una scala da 0 a 10. Gli istogrammi rappresentano la media dei gradi. I dati rappresentano i valori medi dei ranghi degli odori valutati dai panelisti per i descrittori sensoriali del grano aromatizzato con OE. Le barre rappresentano l'errore standard. Lettere diverse indicano una differenza significativa tra i trattamenti secondo il test post-hoc (b) di Tukey ($p < 0.05$) (PIERATTINI et al., 2019).



2019). È stato dimostrato come tra i tre oli ci fosse una uniformità in termini di efficacia, intensità e persistenza ma un punteggio più alto per la piacevolezza nel caso dell'olio di basilico, che è risultato quindi più adatto all'uso nelle derrate (Fig. 1). Si deduce dunque che sia necessario per la scelta dell'olio essenziale da usare un'analisi sensoriale dello stesso, per evitare che possa risultare sgradevole (Pierattini et al., 2019).

2.2 LA PERSISTENZA E LA BIODEGRADABILITÀ

I componenti degli oli essenziali sono considerati biodegradabili e sicuri per l'ambiente grazie alla loro natura volatile e reattiva. La lipofilia previene la solubilizzazione in acqua, e l'alta reattività con l'ossigeno garantisce una rapida degradazione. Se da una parte queste caratteristiche rendono gli oli essenziali valide alternative ecosostenibili, dall'altra creano difficoltà nell'uso in campo, portando alla necessità di applicazioni frequenti (Turek e Stintzing, 2013).

2.3 LA BIOATTIVITÀ

La repellenza e l'attrattività di un olio essenziale sono determinate dalla sua composizione chimica, si trovano però poche evidenze scientifiche a riguardo, sono più documentati invece gli effetti dei singoli composti volatili. Anche la dose usata può modificare la bioattività; è dimostrato che un olio essenziale può essere repellente o attrattivo se usato a diverse concentrazioni. In particolare, a concentrazioni molto elevate, gli oli essenziali risultano tossici per gli insetti, ma abbassandone la concentrazione diventano prima repellenti e poi attrattivi, fino a non essere più avvertiti (Bedini et al. 2018). Questo influenza molto l'uso pratico, dal momento che sono composti volatili, la loro concentrazione può variare anche rapidamente e così anche la composizione. Dall'altra parte, a dosi adeguate ed inferiori, può esprimere il potenziale attrattivo ed essere usato come esca nelle trappole, in alternativa ai feromoni. Alcuni composti vengono già usati a questo scopo, come eugenolo e geraniolo vengono inseriti ad esempio nelle trappole per il mass tapping di *Popillia japonica* come attrattivi (Ladd et al., 1981; Martins e Simoes, 1986). Per gli oli essenziali usati come repellente, diventa invece necessario preferire un olio con intervallo di attrattività molto

ridotto, per diminuire il tempo in cui risulta attrattivo e evitare di ottenere un'azione contraria da quella ricercata.

Per valutare la repellenza e l'attrattività di un composto, sono stati usati tubi a Y e gallerie del vento, che si sono rivelati utili anche per studiare le differenze comportamentali tra specie diverse e tra individui della stessa specie. Sono stati ottenuti risultati interessanti per l'olio essenziale di *Eupatorium glabratum* contro il punteruolo del mais, *Sitophilus zeamais*, dimostrando la sua attività repellente contro gli individui femmina, ma attrattiva nei confronti dei maschi (Pimienta-Ramirez et al., 2016).

2.4 LA FITOTOSSICITÀ

Un altro limite degli oli essenziali è la fitotossicità, che limita il loro utilizzo contro gli infestanti delle colture. È una caratteristica dose dipendente che può causare necrosi, decolorazioni, dissecazione della vegetazione, può limitare il potere fotosintetico determinando perdite quantitative e qualitative delle colture (Fig. 2). Nonostante la fitotossicità possa essere sfruttata per la creazione di erbicidi ecosostenibili, gli oli essenziali vengono usati più facilmente contro vettori ed infestanti in contesti che non prevedono l'uso diretto nelle colture (Han et al., 2021; Jiang et al., 2022; Mehdizadeh et al., 2020; Taban et al., 2020).



Fig. 2: fitotossicità indotta dall'accumulo localizzato di olio essenziale su foglia di zucchini. (CAMPOLO et al., 2019)

3. MODALITÀ D'AZIONE

La fitocomplessità è determinata dai diversi componenti degli oli essenziali, nonostante solo alcune molecole rappresentino la maggior parte della composizione e siano responsabili dell'attività biologica, anche i composti minori influiscono sull'azione dell'olio essenziale (Buriani et al., 2020). Le interazioni che si creano determinano diversi sinergismi, che rendono l'intero composto più efficace dei singoli elementi presenti. Sono state studiate varie ipotesi che possano spiegare questo fenomeno, una di queste propone che i costituenti degli oli essenziali possano agire su diversi target biochimici, causando diversi problemi fisiologici all'insetto, un'altra ipotesi afferma che alcuni componenti non abbiano tossicità diretta ma possono aumentare l'efficacia degli altri, ad esempio favorendo la penetrazione cuticolare dei principi attivi (Tak e Isman, 2017a, 2017b). Gli oli essenziali possono essere applicati come fumiganti, come insetticidi da contatto o da ingestione. I risultati di diversi studi dimostrano che gli effetti sono specifici per le specie trattate e dipendono dalle origini della pianta aromatica, dallo stato fisiologico e dalla parte da cui è estratto l'olio essenziale (Jemâa et al., 2010).

La variabilità d'azione e i diversi componenti attivi presenti in un olio essenziale evitano l'insorgenza di meccanismi di resistenza negli insetti trattati; tuttavia questa impossibilità non è ancora stata dimostrata, il che rende necessario chiarire a priori i meccanismi d'azione e le dosi necessarie per il trattamento.

L'azione degli oli essenziali sulle specie target risulta quindi più efficace rispetto ai singoli componenti ed è attribuibile alle caratteristiche della pianta da cui sono estratti:

- Inibizione dell'acetilcolinesterasi, uno degli enzimi più importanti per la regolazione degli stimoli nervosi e neuromuscolari; è dimostrato per molte specie che la sua inibizione da parte di alcuni terpeni può creare difficoltà locomotorie (da Cunha et al., 2015; Pinho et al., 2014);
- Diminuzione delle esterasi: alcuni oli essenziali possono andare a ridurre il quantitativo di esterasi, causando difficoltà nella detossificazione di composti estranei e degli allelochimici volatili, composti emessi per la comunicazione interspecifica. Questo porta ad una maggiore efficacia sia dell'insetticida stesso che di altri usati

assieme. Analisi comparative del trascrittoma effettuate sul punteruolo del mais *S. zeamais* prima e dopo l'esposizione a olio essenziale di *Malaleuca alternifolia*, evidenziano differenze di espressione nei geni coinvolti nella detossificazione degli insetticidi, in particolare GST e carbossilesterasi, e nelle funzioni mitocondriali che hanno portato al blocco della catena degli elettroni, identificando come target potenziale l'adenosin trifosfatasi (Liao et al., 2016);

- Inibizione del sistema dell'octopamina: alcuni oli essenziali possono competere con l'octopamina legandosi ai recettori. Ad esempio, nella blatta americana *Periplaneta americana*, provocano un aumento del livello di AMP ciclico e di calcio nelle cellule nervose e quindi modificando l'attività dei neuroni (Enan, 2001);
- Alterazione di altri processi biologici: analisi proteomiche su *Sitophilus granarius* rivelano che, a seguito di esposizione ad oli essenziali, molte proteine relative ai sistemi muscolare, nervoso, respiratorio e di detossificazione sono sovraregolate. Questa variabilità d'azione è molto utile per prevenire fenomeni di resistenza nelle specie target (Enan, 2005; Rattan, 2010). Esposizioni effettuate su adulti della tignola fasciata del grano, *Plodia interpunctella* hanno portato a larve con minor contenuto di proteine, lipidi e glicogeno, riducendo il contenuto energetico e sfavorendo la sopravvivenza e la riproduzione nei successivi adulti (Borzoui et al., 2016). In larve di *Trogoderma granarium* si sono riscontrati cambiamenti del tessuto del mesentero, provocando minor differenziazione nelle cellule dell'ipoderma e una minor presenza di cellule rigenerative negli adulti (Osman et al., 2016).

3.1 STUDI SULL'AZIONE DEGLI OLI ESSENZIALI SUGLI INFESTANTI DELLE DERRATE

Le caratteristiche degli insetticidi a base di oli essenziali li rendono adatti all'uso contro gli insetti delle derrate alimentari. Gli insetti su cui si basano gli esperimenti effettuati fanno parte delle famiglie di coleotteri, lepidotteri e psocoptera.

Molti studi effettuati non differenziano la tossicità da contatto da quella per ingestione, ma evidenziano che tra le specie analizzate i coleotteri, in particolare i curculionidi, risultano essere i più suscettibili a questo tipo di applicazione, permettendo l'uso degli insetticidi anche

a concentrazioni molto basse. In particolare, si sono rivelati efficaci contro il punteruolo del riso *Sitophilus oryzae* gli oli essenziali di *Artemisia judaica* (assenzio), *Syzygium aromaticum* (chiodi di garofano) e *Lavandula officinalis* (lavanda) (Abdelgaleil et al., 2016). Le specie di tenebrionidi risultano essere meno suscettibili. Essendo parassiti esterni, cioè parassiti che mantengono tutto il ciclo vitale all'esterno delle cariossidi, è stata analizzata anche la capacità ovicida degli oli essenziali, identificando l'olio essenziale di *Eucalyptus procera* (eucalipto) come particolarmente efficace contro il capuccino dei cereali *Tribolium castaneum* (Nouri-Ganbalani et al., 2016). Uno studio condotto su *T. castaneum*, analizzando la sola tossicità per ingestione, ha evidenziato come solo *Calamintha glandulosa* (mentuccia comune) portasse ad una mortalità del 96%, mentre per tutti gli altri oli essenziali analizzati l'efficacia risultasse molto minore, dimostrando così ulteriormente l'importanza della sinergia per la bioattività dei composti (Popović et al., 2013). Per la famiglia dei lepidotteri sono stati effettuati esperimenti sulla tignola della farina *Ephestia kuehniella* e sulla tignola fasciata *P. interpunctella* individuando come più efficaci gli oli essenziali di *Satureja hortensis* (santoreggia annua) (Maedeh et al., 2011). Infine, per la famiglia degli psocoptera gli studi sono stati effettuati su *Liposcelis bostrychophila*, per la quale si sono rivelati efficaci gli oli essenziali di *Liriope muscari* (giglio turchino) (Wu et al., 2015).

Altri studi analizzano la capacità tossica dei biopesticidi usati come fumiganti. I risultati emersi mostrano come più efficace l'olio essenziale di *Ocimum gratissimum* (basilico africano) contro i coleotteri (Ogendo et al., 2008), quello di *Rosmarinus officinalis* (rosmarino) per i lepidotteri (Mahmoudvand et al., 2011) e quelli di *Artemisia dubia* (assenzio) (Liang et al., 2017) e *Litsea cubeba* contro le specie di psocoptera (Yang et al., 2014).

Un'altra capacità che è stata valutata è l'attività repellente, tramite l'uso di tubi ad Y e tunnel a vento, che hanno evidenziato le differenze tra le varie specie e tra individui della stessa specie. Oltre all'esempio riportato in precedenza da cui si evincevano le differenze di attrazione da parte di *Eupatorium glabratum* rispetto maschi e femmine della specie di *S. zeamais* (Pimienta-Ramirez et al., 2016); altri risultati interessanti sono stati riportati per *Pistacia lentiscus* (lentisco), che risulta repellente per molte specie di infestanti delle derrate, tra cui *Rizophertha dominica* (Bougherra et al., 2015). Tra i lepidotteri, *E. kuehniella* risulta meno suscettibile rispetto *P. interpunctella* e sono stati individuati come oli essenziali più

efficaci rispettivamente l'olio di *Laurus nobilis* (alloro) con una percentuale di repulsione dell'84.2% (Salehi et al. 2014) e *Anethum graveolens* (aneto) con efficacia del 100% alla concentrazione di 2 μ l/l (Karahroodi et al., 2009).

4. NANOTECNOLOGIE

Gli aspetti critici degli oli essenziali che si trovano nell'applicazione in campo possono essere in parte risolti con l'uso di nanoformulazioni. Queste proteggono gli oli essenziali migliorando la loro persistenza e la biodisponibilità dell'ingrediente attivo. Aumenta di conseguenza l'efficacia, che consente di ridurre il dosaggio per applicazione. Può essere anche eliminato il problema della lipofilia, rendendoli miscibili in acqua e distribuiti facilmente con i sistemi convenzionali. I nanoformulati si dividono in due categorie principali: le nanostrutture e le nanoemulsioni (Fig. 3) (de Oliveira et al., 2014a; Kah et al., 2013; Pavoni et al., 2019).

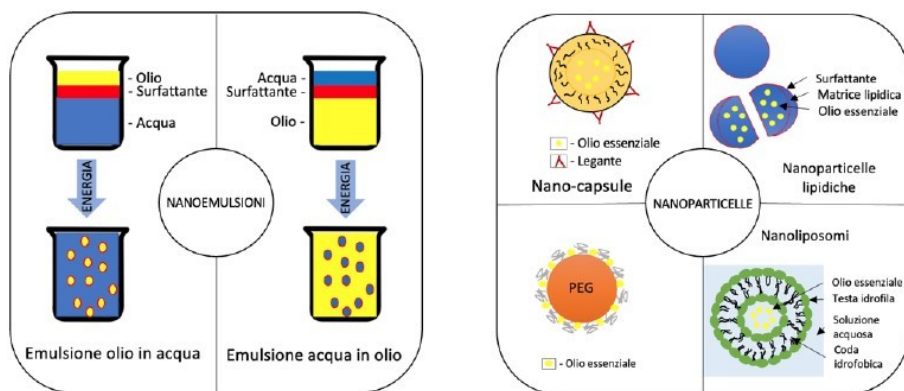


Fig. 3: principali tipologie di nano-carrier impiegate nella formulazione di bio-insetticidi a base di OE. (MODAFERRI et al., 2023)

4.1 LE NANOSTRUTTURE

Le nanostrutture sono strutture solide o liquide create usando polimeri che possano assorbire o contenere gli ingredienti attivi. Si dividono ulteriormente in nanocapsule, il composto attivo è inserito in uno scudo polimerico; nanosfere, il composto è assorbito dal polimero; nanogels, il composto è assorbito dal polimero liquido (Bhagat et al., 2013). A seconda del polimero usato si hanno caratteristiche diverse, in generale assicurano un rilascio controllato, aumento della solubilità in acqua e riduzione della degradazione, forniscono una copertura superficiale maggiore. Tutti i polimeri usati sono ecosostenibili e biodegradabili:

-glicole polietilenico (PEG): è un materiale sintetico, ottenuto dal petrolio, innocuo per l'uomo. È solubile in solventi con diversa polarità, è di facile utilizzo ed è adatto per diversi oli essenziali. Se caricati con oli essenziali di bergamotto e geranio garantisce una maggior efficacia data dal lento e continuo rilascio dei composti attivi e dalla miglior penetrazione della cuticola e del tratto digestivo (Werdin González et al., 2014). La durata prolungata ed il

rilascio costante sono stati dimostrati con nanostrutture caricate con olio essenziale di aglio (Yang et al., 2009). Inoltre, viene ridotta la fitotossicità, causando meno danni alle piante.

-chitosano: è un polimero ottenuto dalla deacetilazione della chitina, è biodegradabile ed economico. Migliora l'efficacia insetticida aumentando la capacità di penetrazione e la biodisponibilità, alterando i meccanismi di detossificazione. Ha una grande capacità di carico e una grande stabilità. Può essere usato anche per il controllo degli insetti minatori fogliari, in quanto la sua carica permette di essere assorbito dalle piante (de Oliveira et al., 2014).

-pectina: è un polisaccaride estratto dalle bucce di mele o agrumi, molto economico ha un rilascio molto lento (Jonassen et al., 2013).

-ciclodestrine: sono oligosaccaridi ciclici, usati per aumentare la solubilità in acqua, senza intaccare le proprietà biologiche. Queste nanostrutture conferiscono maggior biodisponibilità e persistenza. Sono già ampiamente usate in altri settori, come quello tessile (Radu et al., 2016).

-caolino e farina fossile: sono polveri inerti ultrafine in grado di assorbire gli oli essenziali. L'effetto deve però essere preventivamente studiato perché un assorbimento troppo forte potrebbe compromettere la biodisponibilità dei composti attivi. Possono ridurre di 5-10 volte la dose di olio essenziale nel trattamento (Yang et al., 2010). Alcuni oli possono essere più adatti ad essere usati con farina fossile piuttosto di caolino, come nel caso dell'olio essenziale di *Citrus sinensis* (arancio dolce) (Campolo et al., 2014).

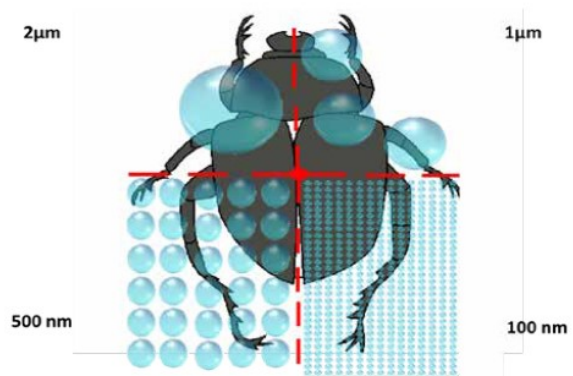
-liposomi: sono vescicole sferiche formate da un doppio strato fosfolipidico che racchiudono una fase acquosa all'interno. Aumentano la solubilità in acqua e sono le strutture più facilmente degradabili (Leitgeb et al., 2020).

4.2 LE NANOEMULSIONI

Le nanoemulsioni sono sistemi dispersi composti di liquidi immiscibili mediante un emulsionante. Si possono avere due tipi di nanoemulsioni: olio in acqua, dove la fase dispersa è l'olio, e acqua in olio, dove la fase dispersa è l'acqua. La stabilità di queste emulsioni dipende da molti fattori, la temperatura, la grandezza delle particelle create, la differenza di densità tra i composti, la natura e la quantità dell'emulsionante. Le nanoemulsioni che ne

derivano devono essere biodegradabili, sicure, solubili in acqua e devono prolungare la persistenza ed aumentare la bioattività dell'olio essenziale (Pavoni et al., 2019). A dimostrazione dell'efficacia di queste tecnologie vi sono alcuni studi, tra cui uno condotto su *T. castaneum*, sottoposto a trattamento con olio essenziale di *Pimpinella anisum* (anice stellato) in nanoemulsione al 10%, il quale ha mostrato una mortalità dell'81,33% dopo 12 giorni di esposizione. Il trattamento ha inoltre influenzato lo sviluppo della progenie e portato ad una riduzione della perdita di peso delle cariossidi (Hashem et al., 2018). Un altro studio vede invece l'uso di una nanoemulsione di *Eucalyptus globulus* contro la specie di *S. granarius*, riportando una maggiore efficacia rispetto l'olio essenziale libero (Mossa et al., 2017).

Fig. 4: differente copertura superficiale di uno stesso volume di soluzione in base alle dimensioni delle goccioline che la compongono. (MODAFERRI et al., 2023)



Per raggiungere questo scopo è necessario scegliere l'emulsionante adeguato, ogni olio essenziale infatti necessita di un tensioattivo con uno specifico valore di HLB (bilancio idro-lipofilo) perché possa risultare solubile in acqua (Campolo et al., 2020). È importante, inoltre, che le gocce prodotte siano di piccole dimensioni e omogenee tra loro, perché dimensioni non omogenee possono aumentare la fitotossicità del sistema (Zhang et al., 2021). Questo tipo di formulazioni sono già in uso per i prodotti cosmetici e farmaceutici, ma non esistono ancora insetticidi disponibili (Palermo et al., 2021). Uno studio effettuato usando olio di neem contro *T. castaneum* e *S. oryzae* ha dimostrato che l'efficacia non dipende solo dai principi attivi ma anche dalle formulazioni. In questo studio è stato effettuato un confronto tra nanoemulsioni ottenute usando polisorbato e achilpoliglucoside come tensioattivi, le prime mostrano gocce più piccole e più stabilità rispetto le seconde, oltre a maggiore efficacia grazie alla migliore penetrazione cuticolare (Fig.4). Inoltre, ha riportato una mortalità del 100% in 48 ore, migliore rispetto i prodotti commerciali (Choupanian et al., 2017).

Un altro tipo di nanoemulsioni sono i concentrati emulsionabili, già usati per insetticidi convenzionali, ma in fase di studio anche per bioinsetticidi. Tendenzialmente quando sciolti in acqua, producono emulsioni con gocce di dimensioni più grandi e con minor stabilità, ma sono facili da produrre e applicare in campo.

5. APPLICAZIONI COMMERCIALI

Pochi biopesticidi a base di oli essenziali sono presenti sul mercato, molti di questi sono registrati negli Stati Uniti a causa di un minor costo e una maggior facilità di registrazione dei prodotti. La complessità degli oli essenziali, se da un lato è un aspetto positivo per la bioattività, dall'altro rende complessa la standardizzazione dei prodotti e quindi la commercializzazione di insetticidi a base di questi. Ad esempio, come già riportato, la composizione può variare non solo a seconda della pianta, ma anche dal metodo di estrazione, dalla temperatura, dalla zona di coltivazione. Tuttavia, con l'uso di chemiotipi questa problematicità può essere contenuta. Rimane la difficoltà di individuare gli ingredienti attivi, infatti, l'efficacia degli oli essenziali è data dall'azione sinergica di tutti i composti presenti (Németh-Zámoriné, 2016). L'azione ad ampio spettro degli oli essenziali potrebbe causare problemi anche ad insetti utili, ad esempio la menta usata contro il moscerino dei piccoli frutti *Drosophila suzukii*, influenza negativamente anche la vespa usata per la lotta biologica, riducendone l'efficacia (Gowton et al., 2020). I nanoformulati inoltre possono alterare la fertilità del suolo modificandone il sistema microbico che regola i cicli biogeochimici (Campolo, 2020) si rende necessario studiare la biocompatibilità dei formulati utilizzati. Un altro aspetto da considerare e valutare è la sostenibilità dei bioinsetticidi, analizzando ogni aspetto della loro produzione, dalla coltivazione delle piante, all'estrazione e formulazione dei composti. La fase più impattante è l'estrazione, le tecnologie usate infatti usano molta energia per il processo, si ottengono dei sottoprodotti di scarto che devono essere correttamente smaltiti. Per minimizzare gli scarti si stanno ricercando metodi di estrazione che non prevedano l'uso di solventi (Meziane et al., 2020).

La commercializzazione dei biopesticidi risulta rallentata anche dai processi di approvazione degli stessi che prevedono costi elevati e criteri rigidi. Negli Stati Uniti il procedimento è alleggerito per molti oli essenziali perché i prodotti naturali non sono soggetti alle procedure di approvazione previste per altri tipi di insetticidi, mentre nell'Unione europea sono soggetti agli stessi regolamenti dei pesticidi convenzionali e sintetici. Solo le sostanze attive riconosciute come non dannose per l'uomo, l'ambiente, gli animali possono essere esonerate (Czaja et al., 2015), ma la registrazione rimane comunque limitata in Europa per i criteri di ammissione vaghi e la libertà di interpretazione da parte delle commissioni. Inoltre, per

quanto riguarda i nanoformulati, devono soddisfare anche i criteri per i nanomateriali imposti dalle organizzazioni internazionali e locali (Laux et al., 2017; Vurro et al., 2019).

Sul mercato sono disponibili alcuni prodotti a base di oli essenziali, principalmente usati in agricoltura, ma che risultano efficaci anche nella lotta agli infestanti dei magazzini:

-Ecovenger (Fig. 5): è un prodotto a base di estratti botanici ed oli essenziali, come il geraniolo. Efficace contro formiche, scarafaggi e altri parassiti anche in aree dove sono immagazzinate derrate alimentari.

-Prev-Am Plus (Fig. 6): è un prodotto a base di olio essenziale di arancio dolce. è un insetticida-acaricida-fungicida che agisce per contatto, provocando disseccamento della cuticola degli insetti con esoscheletro molle.

-Aptus dislike (Fig. 7): è un prodotto costituito da cinque diversi oli essenziali e viene usato come repellente per gli insetti infestanti dei magazzini di stoccaggio.



Fig. 5: Ecovenger. Fonte: https://www.ecovengerpro.com/insect_killer_rtu-2/



Fig. 6: Prev-Am Plus. Fonte: <https://ascenza.it/it/products/prev-am-plus>

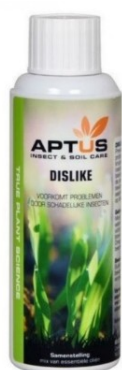


Fig. 7: Aptus dislike. Fonte: <https://mygrass.it/antiparassitari-bio/aptus-dislike-100ml>

6. CONCLUSIONI

L'uso degli oli essenziali nella lotta contro gli infestanti delle derrate alimentari si è rivelato un approccio innovativo e sostenibile, capace di offrire un'alternativa valida agli insetticidi chimici tradizionali. In questa tesi sono state esaminate le caratteristiche, le modalità d'azione e le applicazioni commerciali degli oli essenziali, evidenziando sia i loro vantaggi che le problematiche associate. I principali vantaggi degli oli essenziali includono la loro capacità tossica nei confronti degli infestanti, la loro origine naturale e la possibilità di ridurre l'impatto ambientale rispetto ai pesticidi chimici. Inoltre, la variabilità d'azione e la presenza di diversi componenti attivi negli oli essenziali possono contribuire a ridurre il rischio di insorgenza di resistenza negli insetti trattati, nonostante siano necessarie ulteriori conferme scientifiche a riguardo. È importante considerare anche le limitazioni associate all'uso degli oli essenziali. La fitotossicità, che può variare in base alla dose e alla specie vegetale, rappresenta una sfida significativa, limitando l'applicazione diretta nelle colture. Inoltre, la complessità chimica degli oli essenziali rende difficile la standardizzazione dei prodotti, complicando la loro commercializzazione e l'identificazione degli ingredienti attivi.

Le nanotecnologie emergono come una potenziale soluzione per migliorare l'efficacia e la stabilità degli oli essenziali, consentendo una formulazione più precisa e controllata. Tuttavia, è necessario continuare la ricerca in questo campo per ottimizzare le tecniche di estrazione e applicazione, garantendo al contempo la sicurezza per l'ambiente e la salute umana.

In conclusione, sebbene gli oli essenziali presentino delle sfide, il loro utilizzo nella gestione degli infestanti offre opportunità significative per sviluppare strategie di controllo più sostenibili. È fondamentale promuovere ulteriori studi e sperimentazioni per esplorare appieno il potenziale di questi composti naturali, contribuendo così a una gestione degli infestanti più sostenibile e rispettosa dell'ambiente.

7. BIBLIOGRAFIA

- Abdelgaleil, S.A.M., Mohamed, M.I.E., Shawir, M.S., Abou-Taleb, H.K. (2016). Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of essential oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *Journal of Pest Science*, vol. 89, no. 1. Pag 219–229.
- Bedini, S., Farina, P., Conti, B. (2019). Bioattività degli oli essenziali: luci e ombre del loro utilizzo nella gestione degli insetti dannosi. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia Anno LXVII, 2019*. Pag 201-206.
- Bedini, S., Flamini, G., Ascriczzi, R., Venturi, F., Ferroni, G., Bader, A., Girardi, J., Conti, B. (2018). Essential oils sensory quality and their bioactivity against the mosquito *Aedes albopictus*. *Sci. Rep.*, 8: 17857. doi:10.1038/s41598-018-36158-w
- Benelli, G., Pavela, R. (2018a). Repellence of essential oils and selected compounds against Ticks-a systematic review. *Acta Tropica* 179. Pag 47-54. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2017.12.025>.
- Bhagat, D., Samanta, S.K., Bhattacharya, S. (2013). Efficient management of fruit pests by pheromone nanogels. *Scientific Reports* 3. <https://doi.org/10.1038/srep01294>.
- Borzoui, E., Naseri, B., Abedi, Z., Karimi-Pormehr, M.S. (2016). Lethal and sublethal effects of essential oils from *Artemisia khorassanica* and *Vitex pseudo-negundo* against *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental entomology*, vol. 45, no. 5. Pag 1220-1226.
- Bougherra, H.H., Bedini, S., Flamini, G., Cosci, F., Belhamel, K., Conti, B. (2015). *Pistacia lentiscus* essential oil has repellent effect against three major insect pests of pasta. *Industrial Crops and Products*, vol. 63. Pag 249–255.
- Buriani, A., Fortinguerra, S., Sorrenti, V., Caudullo, G., Carrara, M. (2020). Essential oil phytocomplex activity, a review with a focus on multivariate analysis for a network pharmacology-informed phylogenomic approach, 2020 *Molecules* 25, 1833. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25081833>.

- Campolo, O., Giunti, G., Laudani, F., Palmeri, V. (2019). Formulazioni a base di oli essenziali: proprietà chimico-fisiche e attività insetticida. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia Anno LXVII, 2019*. Pag 207-212.
- Campolo, O., Giunti, G., Laigle, M., Michel, T., Palmero, V. (2020). Essential oil-based nano-emulsions: effect of different surfactants, sonication and plant species on physicochemical characteristics. *Industrial crops and products* 157, 112935. doi:10.1016/j.indcrop.2020.112935
- Campolo, O., Giunti, G., Russo, A., Palmeri, V., Zappalà, L. (2018). Essential oils in stored product insect pest control. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2018/6906105>.
- Campolo, O., Romeo, F.V., Malacrino, A., Laudani, F., Carpinteri, G., Fabroni, S., Rapisarda, P., Palmeri, V. (2014). Effects of inert dusts applied alone and in combination with sweet orange essential oil against *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) and wheat microbial population. *Ind. Crops and Prod.*, 61. Pag 361-369. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.028>.
- Choupanian, M., Omar, D., Basri, M., Asib, N. (2017). Preparation and characterization of neem oil nanoemulsion formulations against *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum* adults. *J. Pestic. Sci.* 2017, 42. Pag 158-165.
- Czaja, K., Góralczyk, K., Struciński, P., Hernik, A., Korcz, W., Minorczyk, M., Ludwicki, J.K. (2015). Biopesticides-towards increased consumer safety in the European Union. *Pest Management Science* 71 (1). Pag 3-6.
- da Cunha, F.A.B., Wallau, G.L., Pinho, A.I., Nunes, M.E.M., Leite, N.F., Tintino, S.R., da Costa, G.M., Athayde, M.L., Boligon, A.A., Coutinho, H.D.M., Pereira, A.B., Posser, T., Franco, J.L. (2015). *Eugenia uniflora* leaves essential oil induces toxicity in *Drosophila melanogaster*: involvement of oxidative stress mechanisms. *Toxicology Research (Cambridge)* 4. Pag 634-644. <https://doi.org/10.1039/C4TX00162A>.
- de Oliveira, J.L., Campos, E.V.R., Bakshi, M., Abhilash, P.C., Fraceto, L.F. (2014). Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for

- sustainable agriculture: Prospects and promises. *Biotechnology Advances* 32. Pag 1550-1561. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2014.10.010>.
- Enan, E. (2001). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology* 130. Pag 325-337. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(01\)00255-1](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00255-1).
- Enan, E.E. (2005). Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 35. Pag 309-321. <https://doi.org/10.1016/J.IBMB.2004.12.007>.
- Giunti, G., Campolo, O., Laudani, F., Palmeri, V., Spinozzi, E., Bonacucina, G., Maggi, F., Pavela, R., Canale, A., Lucchi, A., Benelli, G. (2023). Essential oil-based nanoinsecticides: ecological costs and commercial potential. *Development and commercialization of biopesticides*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95290-3.00002-9>.
- Gowton, C.M., Reut, M., Carrillo, J. (2020). Peppermint essential oil inhibits *Drosophila suzukii* emergence but reduces *Pachycrepoideus vindemmia* parasitism rates. *Scientific Reports* 101 (10). Pag 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65189-5>.
- Han, C., Shao, H., Zhou, S., Mei, Y., Cheng, Z., Huang, L., Lv, G. (2021). Chemical composition and phytotoxicity of essential oil from invasive plant, *Ambrosia artemisiifolia* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 211, 111879. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2020.111879>.
- Hashem, A.S., Awadalla, S.S., Zayed, G.M., Maggi, F., Benelli, G. (2018). *Pimpinella anisum* essential oil nanoemulsions against *Tribolium castaneum*-Insecticidal activity and mode of action. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2018, 25, 18802–18812.
- Hill, D.S. (2002). Pests of stored foodstuffs and their control. *Dordrecht, kluwer academic publishers*.
- Isman, M.B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection* 19. Pag 603-608. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X).
- Isman, M.B., Seffrin, R., Seffrin, R. (2018). Essential Oils as Green Pesticides for Plant Protection in Horticulture. Pag 217-260. <https://doi.org/10.1201/B22430-26>.

- Jemâa, J.M.B., Bachrouch, O., Marzouk, B., Abderrabba, M. (2010). Fumigant toxicity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) against stored-product insects. *Acta Horticulturae*, vol. 853. Pag 397–402.
- Jiang, C.Y., Zhou, S.X., Toshmatov, Z., Mei, Y., Jin, G.Z., Han, C.X., Shao, H. (2022). Chemical composition and phytotoxic activity of the essential oil of *Artemisia sieversiana* growing in Xinjiang, China. *Natural Product Research* 36 (9). Pag. 2434-2439. ISO 690.
- Jonassen, H., Treves, A., Kjøniksen, A.-L., Smistad, G., Hiorth, M. (2013). Preparation of ionically cross-linked pectin nanoparticles in the presence of chlorides of divalent and monovalent cations. *Biomacromolecules* 14. Pag 3523-3531. <https://doi.org/10.1021/BM4008474>.
- Kah, M., Beulke, S., Tiede, K., Hofmann, T. (2013). Nanopesticides: state of knowledge, environmental fate, and exposure modeling. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 43. Pag 1823-1867. <https://doi.org/10.1080/10643389.2012.671750>.
- Karahroodi, Z.R., Moharramipour, S., Rhabarpour, A. (2009). Investigated repellency effect of some essential oils of 17 native medicinal plants on adults *Plodia interpunctella*. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, vol. 3, no. 2. Pag 181–184.
- Ladd, JR. T.L., Klein, M.G., Tumlinson, J.H. (1981). Phenethyl propionate + eugenol + geraniol (3:7:3) and Japonilure: a highly effective joint lure for *Japanese beetles*. *J. Econ. Entomol.*, 74. Pag 665-667.
- Laux, P., Tentschert, J., Riebeling, C., Braeuning, A., Creutzenberg, O., Epp, A., Fessard, V., Haas, K.H., Haase, A., Hund-Rinke, K., Jakubowski, N., Kearns, P., Lampen, A., Rauscher, H., Schoonjans, R., Störmer, A., Thielmann, A., Mühle, U., Luch, A. (2017). Nanomaterials: certain aspects of application, risk assessment and risk communication. *Archives of Toxicology* 92. Pag 121-141. <https://doi.org/10.1007/S00204-017-2144-1>.
- Leitgeb, M., Knez, Ž., Primožič, M. (2020). Sustainable technologies for liposome preparation. *The Journal of Supercritical Fluids* 165, 104984. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2020.104984>.

- Liang, J.Y., Guo, S.S., Zhang, W.J. et al. (2017). Fumigant and repellent activities of essential oil extracted from *Artemisia dubia* and its main compounds against two stored product pests. *Natural Product Research*, vol. 32, no. 10. Pag 1234–1238.
- Liao, M., Xiao, J.-J., Zhou, L.-J., Liu, Y., Wu, X.-W., Hua, R.-M., Wang, G.-R., Cao, H.-Q. (2016). Insecticidal activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and RNA-seq analysis of *Sitophilus zeamais* transcriptome in response to oil fumigation. *PLoS One* 11, e0167748. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0167748>.
- Maedeh, M., Hamzeh, I., Hossein, D., Majid, A., Reza, R.K. (2011). Bioactivity of essential oil from *Satureja hortensis* (Lamiaceae) against three stored-product insect species. *African Journal of Biotechnology*, vol. 10, no. 34. Pag 6620–6627.
- Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Basij, M., Hosseinpour, M.H., Rastegar, F., Nasiri, M.B. (2011). Fumigant toxicity of some essential oils on adults of some stored-product pests. *Chilean Journal of Agricultural Research*, vol. 71, no. 1. Pag 83–89.
- Martins, A., Simoes, N. (1986). Population dynamics of the *Japanese beetle* (Coleoptera: Scarabaeidae) in Terceira Island. *Azores. - Arquipelago*, 6. Pag 57-62.
- Matthews, G.A. (1993) Insecticide application in the stores. *Application technology for crop protection*.
- Mehdizadeh, L., Taheri, P., Pirbalouti, A.G., Moghaddam, M. (2020). Phytotoxicity and antifungal properties of the essential oil from the *Juniperus polycarpus* var. *turcomanica* (B. Fedtsch.) R.P. Adams leaves. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 26, 759. <https://doi.org/10.1007/S12298-020-00776-4>.
- Meziane, I.A.A., Maizi, N., Abatzoglou, N., Benyoussef, E.H. (2020). Modelling and optimization of energy consumption in essential oil extraction processes. *Food and Bioproducts Processing* 119. Pag 373-389. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2019.11.018>.
- Modafferi, A., Latella, I., Campolo, O., Palmeri, V. (2023). Nanotecnologie per lo sviluppo di insetticidi a base di oli essenziali. *Entomata n. 20 del 29 aprile 2023*. Pag 39-45.

- Mossa, A.T.H., Abdelfattah, N.A.H., Mohafrash, S.M.M. (2017). Nanoemulsion of camphor (Eucalyptus globulus) essential oil, formulation, characterization and insecticidal activity against wheat weevil, *Sitophilus granarius*. *Asian J. Crop Sci.* 2017, 9, 50-62.
- Németh-Zámboriné, E. (2016). Natural variability of essential oil components. *Baser, K.H.C., Buchbauer, G. (Eds.), Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. CRC Press, Boca Raton.* Pag 87-125
- Nouri-Ganbalani, G., Ebadollahi, A., Nouri, A. (2016). Chemical composition of the essential oil of *Eucalyptus procera* dehn. And its insecticidal effects against two stored product insects. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, vol. 19, no. 5. Pag 1234–1242.
- Ogendo, J.O., Kostyukovsky, M., Ravid, U. et al. (2008). Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. *Journal of Stored Products Research*, vol. 44, no. 4. Pag 328–334.
- Osman, S.E.I., Swidan, M.H., Kheirallah, D.A., Nour, F.E. (2016). Histological effects of essential oils, their monoterpenoids and insect growth regulators on midgut, integument of larvae and ovaries of khapra beetle, *Trogoderma granarium* everts. *Journal of biological sciences*, vol. 16, no. 3. Pag 93-101.
- Palermo, D., Giunti, G., Laudani, F., Palmeri, V., Campolo, O. (2021). Essential oil-based nano biopesticides: formulation and bioactivity against the confused flour beetle *Tribolium confusum*. *2021 Sustainability* 13. Pag 9746. <https://doi.org/10.3390/SU13179746>.
- Pavoni, L., Pavela, R., Cespi, M., Bonacucina, G., Maggi, F., Zeni, V., Canale, A., Luchhi, A., Bruschi, F., Benelli, G. (2019). Green micro-and nano emulsions for managing parasites, vectors and pests. *Nanomaterials* 2019. <https://doi.org/10.3390/nano9091285>.
- Pierattini, E., Bedini, S., Venturi, F., Ascrizzi, R., Flamini, G., Bocchino, R., Girardi, J., Giannotti, P., Ferroni, G., Conti, B. (2019). Sensory quality of essential oils and their synergistic effect with diatomaceous earth, for the control of stored grain insects. *Insects* 2019. <https://doi.org/10.3390/insects10040114>
- Pimienta-Ramirez, L., Garcia-Rodriguez, Y.M., Rios-Ramirez, E.M., Lindig-Cisneros, R., Espinosa-Garcia, F.J. (2016). Chemical composition and evaluation of the essential oil

from *Eupatorium glabratum* as biopesticide against *Sitophilus zeamais* and several stored maize fungi. *Journal of essential oil research*, vol. 28, no. 2. Pag 113-120.

- Pinho, A.I., Wallau, G.L., Nunes, M.E.M., Leite, N.F., Tintino, S.R., Da Cruz, L.C., Da Cunha, F.A.B., Da Costa, J.G.M., Douglas Melo Coutinho, H., Posser, T., Franco, J.L. (2014). Fumigant activity of the *Psidium guajava* var. *pomifera* (Myrtaceae) essential oil in *Drosophila melanogaster* by means of oxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014, 696785. <https://doi.org/10.1155/2014/696785>.
- Popović, A., Šučur, J., Orčić, D., Štrbac, P. (2013). Effects of essential oil formulations on the adult insect *Tribolium castaneum* (Herbst) (Col., Tenebrionidae). *Journal of Food Quality Central European Agriculture*, vol. 14, no. 2. Pag 181–193.
- Radu, C.D., Parteni, O., Ochiuz, L. (2016). Applications of cyclodextrins in medical textiles-review. *Journal of Controlled Release* 224. Pag 146-157. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2015.12.046>.
- Rattan, R.S. (2010). Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection* 29. Pag 913-920. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2010.05.008>.
- Salehi, T., Karimi, J., Hasanshahi, G., Askarianzadeh, A., Abbasipour, H., Garjan, A.S. (2014). The effect of essential oils from *Laurus nobilis* and *Myrtus communis* on the adults of Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* zeller (Lep.: Pyralidae). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, vol. 17, no. 4. Pag 553–561.
- Taban, A., Saharkhiz, M.J., Khorram, M. (2020). Formulation and assessment of nanoencapsulated bioherbicides based on biopolymers and essential oil. *Industrial Crops and Products* 149, 112348. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2020.112348>.
- Tak, J.-H., Isman, M.B. (2017a). Penetration-enhancement underlies synergy of plant essential oil terpenoids as insecticides in the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Scientific Reports* 71 (7). Pag 1-11. <https://doi.org/10.1038/srep42432>.
- Tak, J.-H., Isman, M.B. (2017b). Enhanced cuticular penetration as the mechanism of synergy for the major constituents of thyme essential oil in the cabbage looper,

Trichoplusia ni. *Industrial Crops and Products* 101. Pag 29-35.

<https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2017.03.003>.

- Trematerra, P. (2019). Strumenti decisionali e integrated pest management nelle filiere alimentari. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia Anno LXVII, 2019*. Pag 189-193.
- Turek, C., Stintzing, F.C. (2013). Stability of essential oils: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12. Pag 40-53. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12006>.
- Vurro, M., Miguel-Rojas, C., Pérez-de-Luque, A. (2019) Safe nanotechnologies for increasing the effectiveness of environmentally friendly natural agrochemicals. *Pest Management Science* 75. Pag 2403-2412. <https://doi.org/10.1002/PS.5348>.
- Werdin González, J.O., Gutiérrez, M.M., Ferrero, A.A., Fernández Band, B. (2014a). Essential oils nanoformulations for stored-product pest control-characterization and biological properties. *Chemosphere* 100. Pag 130-138. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2013.11.056>.
- Wu, Y., Zhang, W.J., Wang, P.J et al. (2015). Contact toxicity and repellency of the essential oil of *Liriope muscari* (Decn.) bailey against three insect tobacco storage pests. *Molecules*, vol. 20, no. 1. Pag 1676–1685.
- Yang, F.L., Li, X.G., Zhu, F., Lei, C.L. (2009). Structural characterization of nanoparticles loaded with garlic essential oil and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57. Pag 10156-10162. <https://doi.org/10.1021/JF9023118>.
- Yang, F.L., Liang, G.W., Xu, Y.J., Lu, Y.Y., Zeng, L. (2010). Diatomaceous earth enhances the toxicity of garlic, *Allium sativum*, essential oil against stored product pests. *J. Stored Prod. Res.*, 46: 118-123.
- Yang, K., Wang, C.F., You, C.X. et al. (2014). Bioactivity of essential oil of *Litsea cubeba* from China and its main compounds against two stored product insects. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, vol. 17, no. 3. Pag 459–466.

Zhang, Z., Tan, Y., McClements, D.J. (2021). Investigate the adverse effects of foliarly applied antimicrobial nanoemulsion (carvacrol) on spinach. *LWT. Food Science and Technology* 141, 110936. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.110936>.

URL: https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/sustainable-use-pesticides/integrated-pest-management-ipm_en.

URL: https://www.ecovengerpro.com/insect_killer_rtu-2/

URL: <https://ascenza.it/it/products/prev-am-plus>

URL: <https://mygrass.it/antiparassitari-bio/aptus-dislike-100ml>