

Università degli Studi di Padova

DIPARTIMENTO DI
AGRONOMIA ANIMALI ALIMENTI RISORSE
NATURALI E AMBIENTE

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

Effetto degli oli essenziali sulla tignola della frutta secca, *Ephestia cautella* (*Pyralidae:Lepidoptera*) dannosa per le derrate alimentari

Relatrice

Prof. Isabel Martinez Sanudo

Correlatori

Dott. Samuele Morao

Prof. Luca Mazzon

Laureanda

Laura Rizzi

Matricola 1201743

Laura Rizzi: *Effetto degli oli essenziali sulla tignola della frutta secca, Ephestia cautella (Pyralidae:Lepidoptera) dannosa per le derrate alimentari*, Tesi di laurea,
© Ottobre 2023.

A chi è stato al mio fianco in questi anni,
anche solo per brevi istanti

Riassunto

Le derrate alimentari stoccate nei magazzini spesso sono target di infestanti di vario genere (insetti, volatili e piccoli mammiferi) i quali possono arrecare danni alle materie prime, ma anche risultare un rischio per la salute umana poiché sono potenziali vettori di vari allergeni e di patogeni trasmissibili all'uomo. Tra i più comuni parassiti tendenzialmente presenti all'interno delle industrie alimentari vi sono le tignole, tra cui *Ephestia cautella* (Pyralidae: Lepidoptera) comunemente chiamata "tignola della frutta secca", un lepidottero infestante che solitamente attacca riso, mais, fagioli, soia, farina, spezie, arachidi e altri tipi di frutta secca. Solitamente la lotta si basa sull'utilizzo di prodotti di sintesi ma ad oggi a causa dei rischi legati ad essi, numerosi biocidi hanno subito delle restrizioni. La ricerca per lo sviluppo di metodi sicuri, non tossici e sostenibili per il controllo di specie infestanti è da ritenersi quindi necessaria. Tra i vari metodi di controllo innovativi, ancora in oggetto di studio, vi sono gli oli essenziali. Lo scopo che si prefigge questa tesi è di verificare l'efficacia su *E. cautella* di questi due prodotti: *Cinnamomum zeylanicum* e *Mentha piperita*.

Abstract

Foodstuffs stored in warehouses are often targets of pests of various kinds (insects, birds and small mammals) that can cause damage to raw materials but also prove to be a risk to human health as they are potential vectors of various allergens and pathogens transmissible to humans. Among the most common pests found within food industries are moths, including *Ephestia cautella* (Pyralidae: Lepidoptera) commonly referred to as the "almond moth", a lepidopteran pest that usually attacks rice, corn, beans, soybeans, flour, spices, peanuts, and other dried fruits. Control of this pest is usually based on the use of pesticides, but to date many biocides have been restricted due to the risks associated with them. Therefore, research for the development of safe, nontoxic and sustainable methods of controlling pest species should be considered necessary. Among the various innovative control methods still under study are essential oils. The aim of this thesis is to test the efficacy on *E. cautella* of these two products: *Cinnamomum zeylanicum* and *Mentha piperita*.

Indice

1	Introduzione	1
1.1	Pest control	1
1.1.1	Gli infestanti alimentari	1
1.1.2	Insetti infestanti degli alimenti: origine, caratteristiche e ripercussioni sulle derrate	2
1.1.3	Metodi di lotta agli infestanti: i pesticidi	3
1.1.4	Integrated Pest Management (IPM) e la 'Strategia in materia di sostanze chimiche sostenibili' (2021)	5
1.2	Gli oli essenziali come metodo alternativo	7
1.3	<i>Ephestia cautella</i>	9
1.3.1	Classificazione, morfologia, ciclo biologico	9
1.3.2	Danni che possono causare e metodi per contenerle in azienda alimentare	11
2	Scopo della tesi	13
3	Materiali e metodi	14
3.1	Oli essenziali usati	14
3.1.1	<i>Mentha peperita</i>	14
3.1.2	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	16
3.2	Materiale biologico/Allevamento	19
3.3	Prova: effetto ovida degli oli essenziali sulle uova di <i>E. cautella</i>	21

3.4	Analisi statistiche	23
4	Risultati	25
5	Discussione	30
6	Conclusioni	31
	Bibliografia	32

Elenco delle figure

1.1	Rappresentazione grafica dell'IPM.	6
1.2	Diversi stadi di <i>Ephestia cautella</i> . Fonti: https://www.jfoakes.com/project/almond-moth/ https://idtools.org/id/lepintercept/cautella.html	10
3.1	Diffusione della <i>Mentha peperita</i> . Fonte: https://www.gbif.org/species/8707933	15
3.2	Metodi di estrazione dell'olio essenziale di menta piperita. Fonte: Zhao <i>et al.</i> , 2022	15
3.3	Diffusione di <i>Cinnamomum verum</i> (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>). Fonte: https://www.gbif.org/species/3033988	17
3.4	Materiale utilizzato in laboratorio	20
3.5	Aspiratore utilizzato per spostare gli adulti di <i>E. cautella</i>	21
3.6	Processo di trattamento e allevamento delle uova	22
4.1	Numero medio di uova schiuse dopo 24 ore di trattamento con cannella. Concentrazioni di olio essenziale utilizzate: 0, 10, 50 e 100 $\mu\text{l/L}$. A lettere differenti corrispondono differenze statisticamente significative (p value < 0.05).	25
4.2	Numero medio di uova schiuse dopo 48 ore di trattamento con cannella. Concentrazioni di olio essenziale utilizzate: 0, 10, 50 e 100 $\mu\text{l/L}$. A lettere differenti corrispondono differenze statisticamente significative (p value < 0.05).	26

4.3	Numero medio di uova schiuse dopo 24 ore di trattamento con menta. Concentrazioni di olio essenziale utilizzate: 0, 10, 30 e 50 $\mu\text{l/L}$. A lettere differenti corrispondono differenze statisticamente significative (p value < 0.05).	27
4.4	Numero medio di uova schiuse dopo 48 ore di trattamento con menta. Concentrazioni di olio essenziale utilizzate: 0, 10, 30 e 50 $\mu\text{l/L}$. A lettere differenti corrispondono differenze statisticamente significative (p value < 0.05).	28

Elenco delle tabelle

3.1	Vari composti chimici che costituiscono la pianta di cannella. Fonte: Kowalska J. <i>et al.</i> , (2021)	18
3.2	Dieta fornita dal laboratorio entomologico Entostudio.	19

1. Introduzione

1.1 Pest control

1.1.1 Gli infestanti alimentari

Un infestante dei prodotti alimentari immagazzinati può essere 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 agenti biotici che possono causare queste perdite consistenti sono: insetti, acari, roditori, uccelli e microrganismi (Gurjar *et al.*, 2022). L'accesso di uccelli e roditori ai prodotti alimentari immagazzinati può essere impedito attraverso l'installazione di barriere fisiche volte allo scopo di prevenire la presenza di questi infestanti, mentre non è possibile escludere gli insetti e i microrganismi, perché i prodotti spesso vengono infestati ancora prima di essere immagazzinati (Somiahnadar, 2005). Un modo per ridurre gli impatti negativi dati dagli insetti delle derrate è attraverso l'implementazione di un'efficace rete di quarantene che contribuiscano a ridurre la diffusione degli infestanti che normalmente si verifica attraverso i container merci infestati o altri mezzi di trasporto utilizzati durante il commercio nazionale e internazionale (Stejskal *et al.*, 2021). Gli insetti che causano perdite di beni immagazzinati di origine agricola e animale sono innumerevoli e diversificati tra di loro. Si calcolano più di 600 specie diverse di coleotteri, 70 specie di falene e 355 specie di acari (Rajendran e Sriranjini, 2008).

1.1.2 Insetti infestanti degli alimenti: origine, caratteristiche e ripercussioni sulle derrate

Non è ben chiaro quale sia la provenienza degli insetti tipici delle derrate alimentari. In principio erano sicuramente insetti di campo ma, col passare dei secoli, gli insetti che venivano involontariamente immagazzinati con le scorte di cibo, trovando nei depositi di scorte alimentari l'habitat ideale per svilupparsi e riprodursi, si sono adattati all'ambiente modificando alcune loro caratteristiche peculiari. Un esempio significativo è l'evoluzione del tonchio del riso/punteruolo del riso (*Sitophilus oryzae*); questo particolare coleottero essendo un tipico insetto delle derrate alimentari ha perso del tutto la capacità di volare dal momento che non necessita più di percorrere grandi distanze per procacciare cibo (Gurjar *et al.*, 2022). Inoltre, in genere gli insetti dei prodotti conservati sono di dimensioni minute, con grandezze medie degli adulti di 3-5 mm, e sono dotati di mimetismo criptico ovvero tendono a confondersi con l'ambiente che li circonda passando inosservati quando presenti nei prodotti alimentari in numero ridotto. Sono inoltre molto prolifici, sono infatti in grado di dare origine a diverse generazioni in un anno (Somiahnadar, 2005). Nel caso del tonchio del riso, si è stimato che una singola femmina ha la capacità biologica di generare 1.500.000 figli attraverso tre generazioni all'anno, i quali consumeranno un totale di circa 30kg di riso (Gurjar *et al.*, 2022). Alcuni insetti delle derrate alimentari completano il loro ciclo di vita all'interno dei cereali. Questa infestazione, detta interna o nascosta, è causa di innumerevole preoccupazione in quanto facile fonte di contaminazione fisica degli alimenti con pezzi e frammenti di insetti (Somiahnadar, 2005). A livello mondiale gli organismi infestanti degli alimenti causano ogni anno danni sostanziali ai prodotti alimentari immagazzinati portando a gravi problemi sanitari, finanziari, legali ed estetici che si traducono in consistenti perdite economiche; ma anche risultano un rischio per la salute umana in quanto sono potenziali vettori di allergeni e di patogeni trasmissibili all'uomo

(Stejskal *et al.*, 2021; Shadia e El-Aziz, 2011). Le perdite finanziarie possono derivare da:

- perdita qualitativa: la presenza degli infestanti può portare all'accumulo di escrementi, esuvie, bave sericee nei prodotti e nei contenitori e alla presenza di insetti vivi o morti;
- perdita quantitativa: perdita diretta di peso dovuta all'alimentazione degli insetti;
- perdita della vitalità dei semi colpiti;
- perdita di fiducia nell'azienda da parte del consumatore a causa di queste condizioni (Gurjar *et al.*, 2022; Shadia e El-Aziz, 2011).

1.1.3 Metodi di lotta agli infestanti

Il problema degli insetti infestanti nella conservazione delle eccedenze alimentari e dei vari prodotti immagazzinati, come abbiamo accennato precedentemente, ha origini antichissime. L'uomo fin dall'antichità si è prodigato per contrastare gli infestanti delle derrate; i primi tentativi di controllare i parassiti dei cereali immagazzinati si basavano su metodi rudimentali ma efficaci come la miscelazione di terra secca e cenere di legno con i cereali (Shadia e El-Aziz, 2011). Questo metodo viene tutt'ora utilizzato nei paesi in via di sviluppo in quanto la cenere e la terra agiscono come riempitivi inerti occupando lo spazio intorno al seme, impedendo il movimento degli insetti e, in contenitori sigillati, riducendo il volume d'aria a disposizione. Inoltre, la presenza del materiale inerte comporta un effetto negativo sullo sviluppo delle uova e causa numerosi danni agli insetti infestanti danneggiando la loro cuticola e portando così l'animale alla morte per disidratazione (Wambugu *et al.*, 2009). Tra i primi prodotti insetticidi utilizzati dall'uomo possiamo trovare vari estratti tossici delle piante. Le sostanze più conosciute sono il piretro (ottenuto da una pianta simile al crisantemo), il rotenone (estratto dalla radice di Derris, una

pianta leguminosa) e la nicotina (dal tabacco) (Van Emden, 1989). La continua ricerca di nuove sostanze antiparassitarie ha portato dall'estrazione di sostanze tossiche di origini minerali e vegetali alla produzione di sostanze completamente nuove attraverso la manipolazione delle molecole in laboratorio. Nel secolo scorso la produzione di questi antiparassitari sintetici negli Stati Uniti passò in soli 13 anni da 56 milioni di chilogrammi nel 1947 a 290 milioni nel 1960 (Carson, 1999). La seconda guerra mondiale ebbe un ruolo importante nell'impressionante sviluppo improvviso dell'industria che produceva insetticidi sintetici. Al termine del conflitto, infatti, molti stabilimenti furono convertiti da arsenali per la produzione di materiale bellico a industrie chimiche e innumerevoli sostanze furono adattate a usi secondari come appunto gli insetticidi (Carson, 1999). Questi insetticidi sintetici differivano di molto rispetto a quelli inorganici utilizzati nel periodo anteguerra in quanto oltre ad essere estremamente efficienti si notò che possedevano una lunga vita residua di contatto, caratteristica che all'epoca era ricercata e ritenuta ideale in quanto permettevano di garantire una dose letale di pesticida anche per quegli insetti che entravano in contatto con la sostanza ormai essiccata sulla foglia. Per questo motivo i primi insetticidi di contatto residuali sintetizzati dai chimici, gli organoclorurati persistenti, furono accolti con enorme favore, tra questi il più famoso (e famigerato) è stato il DDT (dicloro-difenil-tricloroetano) (Van Emden, 1989), che venne utilizzato nelle famiglie in modo generale e del tutto senza limiti su piante, animali e persone (Carson, 1999). Col passare degli anni si scoprì che il DDT, appartenente agli inquinanti organici persistenti (POPs=persistent organic pollutants), insieme a molti altri di questi composti possiede una grande capacità di bioaccumulo e di amplificazione nella catena alimentare grazie alla sua natura tossica, lipofila e persistente. Ciò comporta un importante impatto sulle specie predatrici, uomo incluso (Deribe et al, 2013). Si dovette arrivare agli anni '50 perché iniziassero ad affiorare i primi avvertimenti sui rischi degli insetticidi sintetici in seguito ai primi segnali dei risultati catastrofici provocati dall'uso eccessivo di questi (Stenberg,

2017). La contaminazione di acqua, aria e suolo, l'insorgenza di nuove malattie su uomini, flora e fauna e lo sviluppo di resistenze da parte degli insetti parassiti han portato una nuova consapevolezza nel consumatore e solo allora si è iniziato a sentire la pressante necessità di trovare metodi ecologici più sicuri ed efficienti per il controllo degli infestanti (Gurjar *et al.*, 2022).

1.1.4 Integrated Pest Management (IPM) e la "Strategia in materia di sostanze chimiche sostenibili" (2021)

Quando parliamo di Integrated Pest Management (IPM) intendiamo un "sistema di supporto alle decisioni per la selezione e l'uso di tattiche di controllo dei parassiti, messe in atto singolarmente o armonizzate in una strategia di gestione, basata su analisi costi/benefici che tengono conto degli interessi e degli impatti sui produttori, sulla società e sull'ambiente" (Kogan, 1998). L'IPM dunque è una strategia usata per far fronte alle problematiche relative agli organismi infestanti ed è caratterizzata dal fatto che attinge a tutti i metodi disponibili, con applicazioni minime di pesticidi chimici. L'obiettivo non è estirpare i parassiti, ma gestirli mantenendo le loro popolazioni al di sotto dei livelli economicamente dannosi. Questo cambio di prospettiva permette di ridurre l'esposizione degli agricoltori, dei consumatori e dell'ambiente ai composti tossici, ma anche permette di ridurre i problemi causati dai parassiti resistenti ai pesticidi (Stenberg, 2017). In Europa l'applicazione dell'IPM e dei suoi principi è stata resa obbligatoria con La Direttiva Europea 2009/128/CE riguardante l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi, entrata in vigore a partire dal 1° gennaio 2014 (<https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2009/128/oj>).

L' IPM viene comunemente rappresentato graficamente come una piramide caratterizzata da una base che include azioni di controllo preventivo, un'ampia sezione centrale con metodi basati sull'ecologia e la parte superiore più piccola per i controlli chimici. (figura 1.1). I pesticidi come rappresentato sulla piramide possono essere

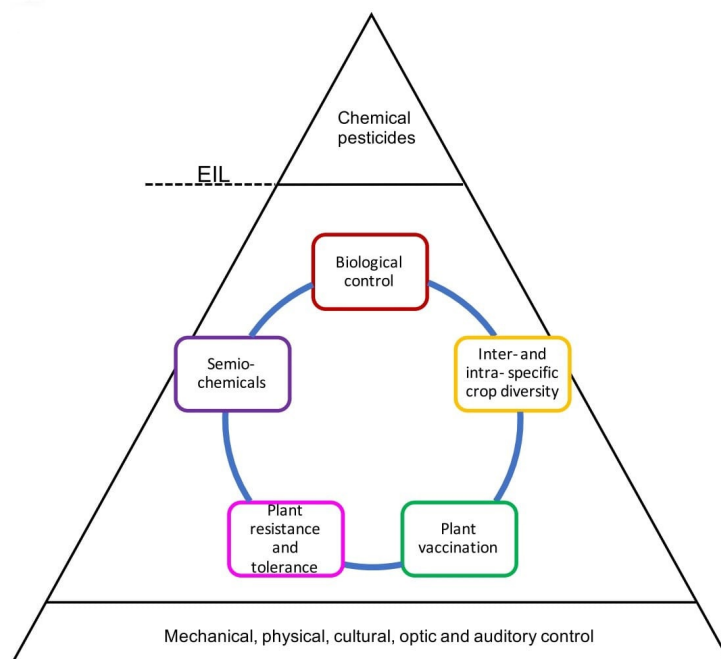


Figura 1.1: Rappresentazione grafica dell'IPM.

applicati solo ed esclusivamente se è stato raggiunto il livello di danno economico (EIL=Economic Injury Level) (Karlsson Green *et al.*, 2020). Recentemente grazie ad una sempre maggiore attenzione alla ripercussione delle sostanze chimiche sulla salute dell'uomo e dell'ambiente, il giorno 15 marzo 2021 il Consiglio europeo ha approvato la "Strategia in materia di sostanze chimiche sostenibili - Verso un ambiente privo di sostanze tossiche"; una strategia presentata dalla Commissione europea il 14 ottobre 2020 al fine di perseguire l'obiettivo "inquinamento zero" del Green Deal. Questa strategia mira a realizzare un ambiente privo di sostanze tossiche per una maggiore protezione della salute umana e dell'ambiente, riducendo al minimo e sostituendo le sostanze chimiche che destano preoccupazione ed eliminando gradualmente quelle più nocive. Tra i vari ambiti che sono soggetti a questa strategia vi è ovviamente anche l'industria alimentare. Per questo motivo, dunque, quando andiamo ad adottare una strategia di lotta contro degli infestanti è sempre preferibile l'utilizzo di metodi alternativi ai pesticidi di sintesi. Nel caso non siano possibili alternative ecologiche, andranno scelti prima quei pesticidi che

a parità di efficacia sono meno dannosi per la salute dell'uomo e dell'ambiente (<https://www.consilium.europa.eu/it/>).

1.2 Gli oli essenziali come metodo alternativo

Le conseguenze ecotossicologiche, ambientali e sociali della diffusione di insetticidi chimici nell'agricoltura ha portato innumerevoli ricercatori ad indagare sul possibile utilizzo di sostanze alternative più sostenibili. Per quel che riguarda la protezione dagli infestanti delle derrate alimentari, negli ultimi anni hanno attratto molto interesse gli oli essenziali (OE) (Campolo *et al.*, 2018). A contribuire in questa massiccia attenzione nei loro confronti vi è il fatto che gli OE presentano una bassa tossicità per i mammiferi, sono in grado di svolgere un'ampia gamma di attività che riduce il rischio di sviluppare ceppi patogeni resistenti, sono naturali e biodegradabili (scongiurando così il rischio di bioaccumulo nell'ambiente) e sono in grado di svolgere simultaneamente la funzione di più di uno dei loro equivalenti sintetici. (Figueiredo, 2008). Ad oggi si è dimostrato che i pesticidi a base di oli essenziali sono efficaci contro parassiti domestici, parassiti che si nutrono di sangue e alcuni parassiti agricoli a corpo molle, nonché contro alcuni funghi fitopatogeni delle piante responsabili di malattie in pre e post raccolta (Koul *et al.*, 2008). Inoltre una delle caratteristiche più importanti degli oli essenziali è la loro fitotossicità. Possono dunque essere utilizzati come erbicidi, ma saranno difficilmente dei buoni candidati nella protezione delle colture (Campolo *et al.*, 2018). Gli OE sono prodotti da piante dette "piante aromatiche" che sono diffuse in tutto il mondo e contano più di 17'500 specie, le quali sono raggruppate in un numero contenuto di famiglie; tra queste le più conosciute e più utilizzate per la produzione di OE sono: Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae, Asteraceae, Rutaceae e Apiaceae (Regnault-Roger *et al.*, 2012; Isman e Machial, 2006).

La sintetizzazione di questi composti avviene in ghiandole secretorie delle piante (sia superficiali che interne) e hanno un ruolo di fondamentale importanza nella difesa

della pianta da situazione di stress biotico e abiotico e nei processi di segnalazione, tra cui anche l'attrazione di impollinatori e insetti benefici (Campolo *et al.*, 2018). Una volta sintetizzati gli OE possono essere immagazzinati in innumerevoli strutture istologiche ad esempio fiori (arancio, bergamotto), foglie (citronella, eucalipto), legno (sandalò), radici (erba vetiver), rizomi (zenzero, curcuma), frutti (anice) e semi (noce moscata) (Regnault-Roger *et al.*, 2012). La quantità di olio essenziale presente nella maggior parte delle piante è dall'1% al 2%, ma può variare molto in un range che si aggira dallo 0,01% al 10% (Koul *et al.*, 2008). La variazione di quantità, composizione e resa di OE possono dipendere da innumerevoli fattori, tra i principali possiamo trovare:

- i. tipo di materiale vegetale utilizzato per l'estrazione (fiori, parti verdi, legno, radici. . .);
- ii. variazioni stagionali e clima (ad esempio le variazioni di temperatura, umidità, velocità del vento, lunghezza del giorno, siccità, alluvioni. . .);
- iii. presenza di lesioni meccaniche o chimiche. Dal momento che la produzione di OE ha anche un ruolo difensivo, quando sottoposte a lesioni traumatiche può avvenire una produzione indotta di nuovi o ulteriori composti;
- iv. zona geografica. Riflette le diverse condizioni ambientali di ciascun luogo, le condizioni della coltura, le differenze genetiche che una pianta tipica di un determinato luogo può possedere;
- v. fattori genetici;
- vi. metodo di conservazione del materiale vegetale da sottoporre all'estrazione (Figueiredo, 2008).

Dal punto di vista chimico, gli OE sono miscele altamente complesse di composti organici naturali prevalentemente costituite da terpeni (Koul *et al.*, 2008): monoterpeni (C10), sesquiterpeni (C15) e fenoli biogeneticamente correlati (fenilpropeni e

cinnamati) (Isman e Machial, 2006). Questi composti sono solitamente responsabili degli odori e dei sapori caratteristici delle piante da cui sono ottenuti. A causa dei loro punti di ebollizione generalmente bassi, sono tutti relativamente volatili, il che spiega il loro uso come profumi e come repellenti per gli insetti. Sebbene molti di questi composti siano chimicamente stabili a temperatura ambiente, la loro volatilità li rende generalmente non persistenti (Isman e Machial, 2006). Tra le varie caratteristiche fisiche degli OE inoltre, possiamo osservare che sono composti generalmente idrofobi e lipofili; per questo la loro densità è spesso inferiore a quella dell'acqua e sono solubili nei solventi organici (Campolo *et al.*, 2018) Gli OE sono ampiamente utilizzati come repellenti per gli insetti perchè molti presentano un ampio spettro di attività utili per la protezione dagli infestanti (attività insetticida, antifeedante, repellente, deterrente per l'ovodeposizione, attività regolatrici della crescita...). Inoltre, diversi studi dimostrano che gli OE non si limitano a respingere gli insetti, ma agiscono anche su di essi come composti neurotossici interferendo con vari bersagli molecolari: enzimi acetilcolinesterasi, recettori GABA, recettori dell'octopamina. Quest'ultimo sito bersaglio si è rivelato particolarmente interessante perchè specifico degli invertebrati e non presente nei mammiferi; per questo la maggior parte delle sostanze chimiche dell'olio essenziale sono relativamente non tossiche per mammiferi e pesci nei test tossicologici e soddisfano i criteri per i pesticidi a "rischio ridotto" (Koul *et al.*, 2008; Jankowska *et al.*, 2018).

1.3 *Ephestia cautella*

1.3.1 Classificazione, morfologia, ciclo biologico

La tignola della frutta secca, *Ephestia cautella*, è un importante parassita cosmopolita dei prodotti conservati, appartenente alla grande famiglia delle Pyralidae (Garre *et al.*, 2022). Come tutti i lepidotteri anche questo tipico infestante alimentare da adulto è costituito da 4 ali ed è caratterizzato da corpo, ali e varie appendici

completamente rivestite da squame e peli (Scott, 1963). (figura 1.2a) In particolare le ali di *Ephestia cautella* si distinguono da altri infestanti simili perché quelle anteriori sono di colore grigio screziato con linee più scure verso l'estremità, quelle posteriori sono più chiare (Malik *et al.*, 2019).

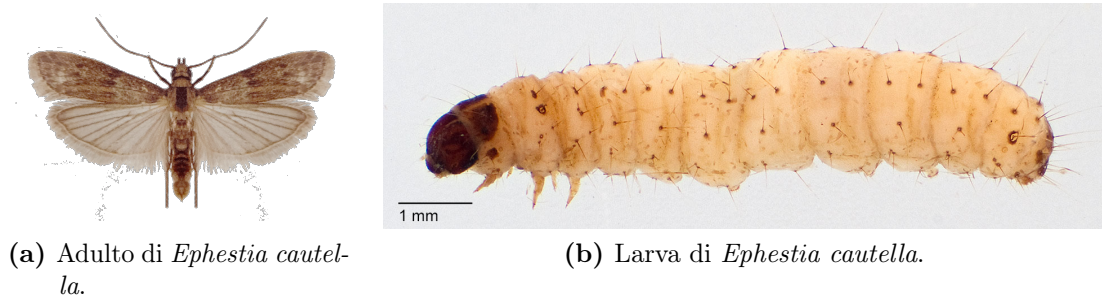


Figura 1.2: Diversi stadi di *Ephestia cautella*. Fonti: <https://www.jfoakes.com/project/almond-moth/> <https://idtools.org/id/lepintercept/cautella.html>

Sono insetti che si sviluppano per metamorfosi completa e il loro ciclo vitale è caratterizzato da quattro stadi: uovo, larva, pupa e adulto. Nelle condizioni più favorevoli (30-32°C e 70-80% di U.R) si è potuto osservare che lo sviluppo completo richiede circa 29-30 giorni; di questi l'uovo occupa circa il 10% del ciclo di sviluppo, la larva circa il 70% e la pupa il 20% (Burges e Haskins, 1965). La durata della vita degli adulti invece si aggira attorno ai 6 giorni per i maschi e 9 per le femmine (Setyaningrum, 2016). Una singola femmina è in grado di deporre dalle 150 alle 300 uova, singolarmente o in gruppo. Appena deposte si presentano ricoperte da un guscio relativamente duro e caratterizzate da un colore bianco/sabbia che col passare del tempo tenderà a scurirsi. Le uova si schiudono dopo 4-5 giorni circa (Setyaningrum, 2016). Con il passare degli stadi l'apparato boccale della tignola, come negli altri lepidotteri, si modifica. Presentano infatti un apparato boccale masticatore nello stadio larvale e un apparato boccale succhiatore arrotolato quando adulti. Le larve, inoltre, sono dotate di zampe addominali (pseudozampe) (Scott, 1963). (figura 1.2b). La determinazione del sesso in questa tignola è possibile in tutti e tre gli stadi del loro ciclo vitale. Nello stadio larvale è particolarmente facile perché

il maschio presenta una macchia nera/marrone nella parte dorsale dell'addome che la femmina non possiede. Nello stadio pupale, il maschio è identificabile attraverso la presenza di linee dal colore scuro che la femmina non presenta. Infine nello stadio adulto il sesso è identificabile dalla punta dell'addome: se biforcuta e slanciata è maschio mentre se ha un aspetto simile ad un tubo è femmina (Setyaningrum, 2016).

1.3.2 Danni che possono causare e metodi per contenerle in azienda alimentare

Per quel che riguarda le sue peculiarità in quanto infestante alimentare, *Ephestia cautella* predilige alimenti essiccati di vario genere come cereali, frutta secca, frutta essiccata. . . I prodotti colpiti dall'azione di questo insetto saranno danneggiati sia in modo diretto che indiretto causando la perdita di peso dei prodotti conservati, producendo filamenti sericei che in caso di forti infestazioni possono causare l'intasamento dei mulini, contaminando gli alimenti con materiale fecale ed esuvie, risultando così una seria minaccia per la salute umana. Inoltre, in alcuni casi possono causare muffe e l'aumento del riscaldamento dei prodotti conservati (Yildiz e Sezen, 2017; Hamza *et al.*, 2022). Per contrastare questo insetto infestante, per anni molti insetticidi chimici e fumigati sono stati usati come protettivi contro le infestazioni di insetti nella frutta e nei cereali immagazzinati ma il loro uso indiscriminato e la loro tossicità residua si ripercuote sugli animali non bersaglio e sull'uomo. (El Shafei *et al.*, 2022). Alcune possibili alternative sostenibili ai pesticidi sono:

- il controllo biologico che potrebbe contribuire a ridurre l'uso di insetticidi sintetici sfruttando al loro posto virus, batteri, funghi e nematodi specifici per gli insetti; (El Shafei *et al.*, 2022);

- l'uso delle radiazioni gamma per ridurre le dimensioni della popolazione e la capacità di accoppiamento; (Hamza *et al.*, 2022);
- sostanze alternative con basso impatto ambientale e bassa tossicità nell'uomo e negli animali non bersaglio.

2. Scopo della tesi

Le derrate alimentari durante la fase di conservazione sono facilmente attaccate da insetti infestanti di vario genere; tra questi le tignole. *Ephestia cautella* è una tignola appartenente alla grande famiglia delle Pyralidae, costituita da oltre 6000 specie (Garre *et al.*, 2022), ed è particolarmente dannosa per le derrate perché caratterizzata dal fatto di essere cosmopolita e legata all'habitat umano; dunque, in grado di arrecare gravi infestazioni in case e magazzini nutrendosi e svolgendo il proprio ciclo biologico nelle più variegata derrate. La necessità di salvaguardare i prodotti immagazzinati e la sempre più pressante richiesta da parte dell'Unione Europea di trovare sostanze chimiche sostenibili in alternativa alle sostanze tossiche comunemente presenti sul mercato, hanno portato ad una massiccia ricerca di tecniche e sostanze sostenibili. Gli oli essenziali sono sicuramente un'alternativa interessante perché hanno un costo contenuto, sono facilmente reperibili in grande quantità ma anche perché sono sostanze abitualmente utilizzate dall'uomo a livello mondiale per i più svariati motivi (fragranze, condimenti, spezie, medicinali. . .) e quindi apprezzate perché riconosciute facilmente dai consumatori come sostanze generalmente sicure. L'obiettivo di questa tesi è quella di verificare l'efficacia di due oli essenziali noti per la loro azione insetticida (*Cinnamomum zeylanicum* e *Mentha piperita*) sulle uova di *Ephestia cautella*. Durante lo studio è stato valutato l'effetto degli oli essenziali testati a diverse concentrazioni e diversi tempi di esposizione.

3. Materiali e metodi

3.1 Oli essenziali usati

3.1.1 *Mentha peperita*

La menta piperita è un'erba aromatica perenne ampiamente distribuita e coltivata nelle zone temperate del mondo (figura 3.1), appartenente alla famiglia delle Labiate (*Lamiaceae*) e al genere *Mentha*. È un ibrido di *Mentha aquatica* e *Mentha spicata* (detta anche *Mentha viridis* e comunemente chiamata mentuccia). La pianta di menta piperita raggiunge solitamente un'altezza che si aggira sui 50-90 cm, ha steli squadrati, fusti ramificati dal colore violaceo o grigiastro e foglie ovato-oblunghe, distintamente picciolate, di colore verde scuro e con i margini seghettati. Inoltre, l'infiorescenza si presenta come spicasteri lunghi di fiori bianchi o viola/rosa che raramente portano semi in quanto la pianta è generalmente sterile (Singh *et al.*, 2015). Come gli altri tipi di menta, anche la menta piperita si diffonde facilmente, grazie alla presenza di stoloni, ovvero rami lunghi e sottili che strisciano sul terreno. Dai nodi degli stoloni spuntano radici che permettono alla gemma contigua di svilupparsi, contribuendo così allo sviluppo e propagazione della pianta (<https://www.britannica.com/plant/peppermint>).

Viene coltivata a partire da rizomi e raccolta all'inizio della fioritura per ottenere la massima resa di oli essenziali di alta qualità (Zhao *et al.*, 2022). La menta piperita ha un odore dolciastro, un gusto intenso e pungente con un retrogusto fresco. Il suo olio essenziale viene ampiamente utilizzato come aroma in molti prodotti farmaceutici, tra cui dentifrici, collutori e prodotti gastrointestinali da banco ma anche in innumerevoli altri settori come in profumeria, in pasticceria,

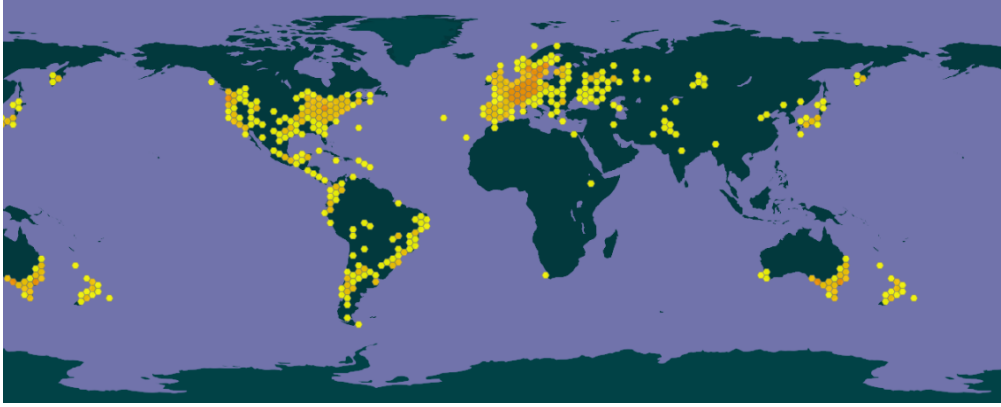


Figura 3.1: Diffusione della *Mentha peperita*. Fonte: <https://www.gbif.org/species/8707933>

in medicina e cosmetica (Kligler e Chaudhary, 2007). Le foglie di menta piperita contengono circa l'1.2 - 3.9% di olio essenziale, il quale è caratterizzato da una grande varietà di composti che sono classificati come oli essenziali di menta piperita (PEO=peppermint essential oils) e componenti non-essenziali che includono steroidi, flavonoidi, triterpenoidi, acidi fenolici ed altri composti. I costituenti principali sono il mentolo e i suoi derivati (mentone, isomentone, mentil-acetato ecc) e l'eucaliptolo (Radivojac *et al.*,2021; Zhao *et al.*, 2022). La composizione chimica delle foglie di menta piperita e del loro olio essenziale si diversifica in relazione all'età della pianta, alla cultivar e alla zona nella quale è coltivata (Radivojac *et al.*,2021).

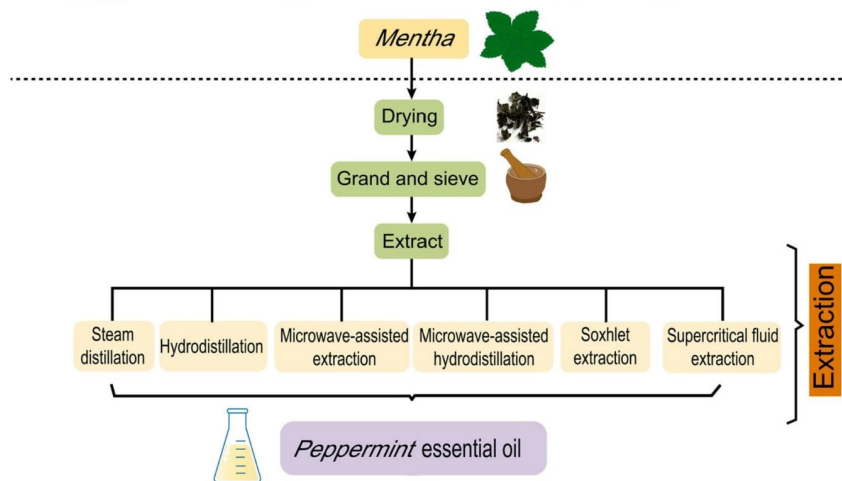


Figura 3.2: Metodi di estrazione dell'olio essenziale di menta piperita. Fonte: Zhao *et al.*, 2022

L'olio puro di menta piperita dopo l'estrazione si presenta come un liquido incolore; per poterlo ottenere dalle erbe sono disponibili innumerevoli metodi. (figura 3.2). Tra i metodi di estrazione quelli più tradizionali sono l'idrodistillazione (HD) e l'estrazione con solventi organici; entrambi i metodi però hanno alcuni svantaggi, sia per quel che riguarda l'elevata manodopera richiesta sia in termini di qualità dell'estratto. Le principali preoccupazioni sono per i possibili residui di solventi organici che possono restare nell'estratto e la possibile degradazione di composti sensibili dell'olio essenziale. Tecnologie di estrazione avanzate, ad esempio idrodistillazione assistita da microonde (MWHD), estrazione assistita da microonde (MAE), estrazione con fluido supercritico (SFE) e l'estrazione assistita da ultrasuoni (UAE) sono emerse recentemente come soluzioni a questi inconvenienti tipici dei metodi tradizionali (Radivojac *et al.*,2021).

3.1.2 *Cinnamomum zeylanicum*

La cannella è una spezia aromatica ricavata dalla parte interna della corteccia di alcune specie di alberi appartenenti al genere *Cinnamomum*. Si presenta come un bastoncino legnoso dal colore brunoastro, dal profumo e dall'aroma dolce ed intenso. Viene normalmente utilizzata per aromatizzare una grande varietà di alimenti e il suo olio essenziale, spesso distillato in corrente di vapore o tramite idrodistillazione dalla corteccia o dalle foglie, può essere usato in profumeria, nella preparazione di liquori, nelle aziende alimentari ed in farmacologia (Jayaprakasha e Jagan Mohan Rao, 2011). Dal punto di vista economico le quattro principali specie sono: la cannella di Ceylon o dello Sri Lanka (*Cinnamomum verum*), la cannella cinese (*Cinnamomum cassia*), la cannella vietnamita o di Saigon (*Cinnamomum loureiroi*) e la cannella indonesiana (*Cinnamomum burmannii*). Il nome botanico "*Cinnamomum zeylanicum*" deriva dal vecchio nome dello Sri Lanka ed è il nome tradizionale per identificare *Cinnamomum verum*. Oltre alle quattro specie principali nominate, ce ne sono molte altre meno note e meno commercializzate, usate principalmente nel commercio locale come

spezia o come ingrediente nelle preparazioni medicinali. (Chen *et al.*, 2014). Dal punto di vista botanico l'albero di cannella cresce solitamente in luoghi con clima tropicale, (figura 3.3) a bassa altitudine e su terreni umidi e ben drenati. La pianta in natura raramente raggiunge più di 15 metri di altezza; tuttavia, nelle piantagioni è facile trovarla a meno di 3 metri perché i fusti sono continuamente tagliati per l'estrazione della corteccia e per creare nuovi germogli. Le foglie sono spesse, hanno margini lisci e sono generalmente ovali, hanno un odore speziato e se sfiorate lasciano sulle dita un sapore piccante. Le foglie giovani sono rosse mentre quelle mature sono di un bel verde intenso. I fiori son piccoli, vanno dal verdastro al giallo e si presentano a grappoli; il frutto invece è una drupa scura contenente un singolo seme. (<https://www.britannica.com/plant/cinnamon>; Jayaprakasha e Jagan Mohan Rao, 2011).



Figura 3.3: Diffusione di *Cinnamomum verum* (*Cinnamomum zeylanicum*). Fonte: <https://www.gbif.org/species/3033988>

La cannella è costituita da una grande varietà di composti resinosi. I principali sono: cinnamaldeide (che conferisce il tipico sapore e la tipica fragranza speziata), cinnamato e acido cinnamico. Inoltre, sono presenti una vasta gamma di oli essenziali come: eugenolo, trans-cinnamaldeide, acetato di cinnamile, L-borneolo, ossido di cariofillene, b-cariofillene, terpinolene e molti altri (Pasupuleti e Siew, 2014). Gran parte dei composti nominati sono a basso peso molecolare, quindi si vaporizzano facilmente a temperatura ambiente (Jayaprakasha e Jagan Mohan Rao, 2011). La composizione può variare molto in base all'origine geografica della pianta,

ai metodi di lavorazione, ma anche molto banalmente dalla parte della pianta che viene utilizzata per estrarre l'olio essenziale (tabella 3.1) (Kowalska J. *et al.*, 2021).

Part of the plant	Compound
Leaves	Cinnaldehyde: 1.00 to 5.00%
	Eugenol: 70.00 to 95.00%
Bark	Cinnaldehyde: 65.00 to 80.00%
	Eugenol: 5.00 to 10.00%
Root bark	Camphor: 60.00%
Fruit	<i>trans</i> -Cinnamyl acetate (42.00 to 54.00%) and caryophyllene(9.00 to 14.00%)
Buds (<i>C. zeylanicum</i>)	Terpene hydrocarbons: 78%
	α -Bergamotene: 27.38%
	α -Copaene: 23.05%
	Oxygenated terpenoids: 9.00%
Flowers (<i>C. zeylanicum</i>)	(E)-Cinnamyl acetate: 41.97%
	<i>trans</i> - α -Bergamotene: 7.97%
	Caryophyllene oxide: 7.20%

Tabella 3.1: Vari composti chimici che costituiscono la pianta di cannella. Fonte: Kowalska J. *et al.*, (2021)

Nella medicina tradizionale di innumerevoli culture ha un ruolo di spicco nel contrastare i mali più disparati, ad esempio mal di denti, irritazione allo stomaco, infezioni del tratto urinario, reumatismi, punture di insetto, dolori mestruali ecc. Al giorno d'oggi innumerevoli studi in vitro hanno provato le numerose proprietà dell'olio essenziale e degli estratti di cannella, le principali sono le sue funzioni batteriostatiche, antimicrobiche, fungicide, insetticide (Peter, 2012).

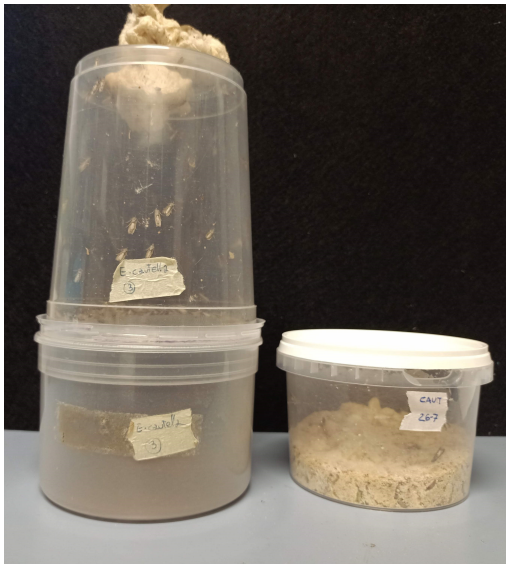
3.2 Materiale biologico/Allevamento

Le prove per determinare la possibile azione ovicida degli oli essenziali in esame sulle uova di tignola, sono state effettuate nel Dipartimento di Entomologia dell'Università di Padova (Viale dell'Università, 16, 35020 Legnaro), il quale ha provveduto anche a fornire il materiale biologico impiegato. Le uova utilizzate provengono da una colonia di tignole della frutta secca, *E. cautella*, allevate nel laboratorio del dipartimento in un ambiente controllato con temperatura che si aggira sui 25°C e umidità relativa di 60±5%. Le larve di *E. cautella* iniziali che hanno permesso l'avvio dell'allevamento della colonia sono state fornite dal laboratorio entomologico Entostudio (Viale del Lavoro, 66, 35020, Ponte San Nicolò). Gli individui nel loro stadio larvale sono stati allevati in barattoli di plastica caratterizzati dalle seguenti dimensioni: 11,7 cm di diametro e 7,9 cm di altezza, e provvisto di un foro sul coperchio di diametro 6 cm, rivestito poi con una retina anti-acaro con fori da 160µm. I barattoli inoltre contenevano al loro interno un substrato nutritivo costituito principalmente da farina di mais (2/3) e farina di frumento (1/3) a cui sono stati aggiunti una bustina di lievito vanigliato per dolci, crusca, muesli, miele e glicerolo (tabella 3.2). Il substrato nella fase di preparazione è stato mescolato accuratamente in modo da risultare omogeneo e privo di grumi.

Ingredienti	Peso
Farina di mais	1kg
Farina di grano tenero	0,5kg
Lievito	16g
Crusca	50g
Muesli	50g
Miele	400g
Glicerolo	200ml

Tabella 3.2: Dieta fornita dal laboratorio entomologico Entostudio.

Gli adulti sfarfallati nei barattoli sono stati successivamente liberati in una bug-dorm e da lì trasferiti, grazie all'utilizzo di un aspiratore (figura 3.5), in altri barattoli di plastica di 14 cm di altezza e 11,5 cm di diametro con una rete in plastica sull'apertura e un foro sul fondo (figura 3.4a, figura 3.4b). In questo modo, tenendo capovolto il barattolo, è possibile raccogliere facilmente le uova prodotte dagli adulti in un altro barattolo sottostante. Inoltre, il foro effettuato sul barattolo contenente gli adulti permette un rapido inserimento delle tignole aspirate e, quando viene chiuso con un batuffolo di cotone inumidito, consente alle tignole di avere una costante fonte di acqua.



(a) barattoli per l'allevamento delle larve e barattoli per la riproduzione degli adulti e la raccolta delle uova



(b) bug-dorm utilizzata per il travaso degli adulti sfarfallati

Figura 3.4: Materiale utilizzato in laboratorio

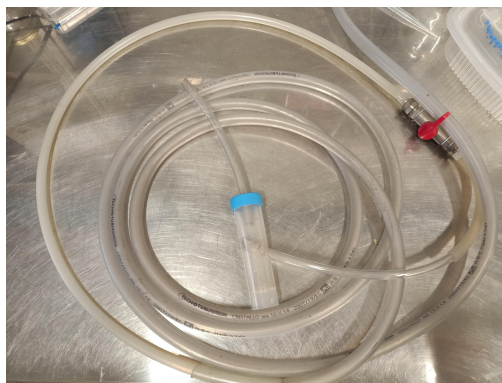


Figura 3.5: Aspiratore utilizzato per spostare gli adulti di *E. cautella*

3.3 Prova: effetto ovicida degli oli essenziali sulle uova di *E. cautella*.

La prova prevede di chiudere un ben preciso quantitativo di uova (50) in un barattolo che funge da camera di fumigazione grazie alla presenza di una strisciolina di carta assorbente imbevuta di olio essenziale (figura 3.6a). Dopo un periodo di trattamento di 24 o 48h le uova sono state spostate dal barattolo ad una piastra Petri provvista di substrato alimentare (figura 3.6b). Passato il tempo necessario affinché si possa presumere che tutte le uova siano schiuse (circa 10 giorni), sono state contate le uova schiuse e quelle non schiuse. Si distinguono facilmente le une dalle altre per la colorazione: quelle schiuse si presentano come sfere vuote e trasparenti mentre quelle non schiuse sono ancora piene e possiedono il tipico colore giallino/scuro (figura 3.6c). Sono state effettuate 10 prove per ogni variabile per un totale di 120 prove. In particolare, 30 prove per valutare l'effetto dell'olio essenziale di cannella con trattamento di 24h e 30 per la cannella con trattamento di 48h. Inoltre sono state condotte 30 prove per valutare l'effetto dell'olio essenziale di menta con trattamento di 24h e 30 prove per la menta con trattamento di 48h. Oltre alle repliche con gli oli essenziali, ogni volta che queste venivano fatte sono state effettuate in contemporanea anche 2 prove senza trattamento (controllo), per verificare che non ci fossero anomalie nelle uova utilizzate, per un totale di 10

controlli. Nelle fasi iniziali di questo studio oltre a tener conto dei risultati delle uova si è controllato anche se il numero di larve presenti coincidesse con le uova schiuse per escludere un eventuale effetto larvicida degli oli essenziali. I numeri, tenendo conto di un margine di errore, coincidevano. Per tutta la durata della prova le uova sono state conservate in ambiente controllato con temperatura di 25°C e l'umidità relativa di 60±5%.



(a) Barattolo contenente la cartina con le 50 uova di *E. cautella* e striscetta di carta assorbente imbevuta di olio essenziale nell'estremità superiore.



(b) Petri provvista di substrato alimentare con le uova precedentemente trattate (sulla cartina con le uova: 6=numero della prova, 10= μ l di olio essenziale, C=cannella, 48=h del trattamento).



(c) Uova di *E. cautella* al microscopio. L'unica schiusa è cerchiata in rosso.

Figura 3.6: Processo di trattamento e allevamento delle uova

Per queste prove sono state utilizzate:

- 50 uova di *E. cautella* (per prova) incollate su un pezzetto di carta con della colla arabica liquida. Sono state usate solo uova prodotte nelle 24h precedenti;

- dei barattolini in plastica dal volume di 100ml usati come camere di fumigazione e sigillati con del parafilm;
- olio essenziale puro di cannella e menta (*Cinnamomum zeylanicum* e *Mentha piperita*). Con una micropipetta è stato trasferito il quantitativo necessario sull'estremità superiore di una strisciolina di carta assorbente dalle dimensioni 9,5cm x 1,5cm. La quantità di olio essenziale utilizzato varia in base al tipo di olio essenziale. Dopo alcune prove si è constatato che, nel caso del trattamento a 48h della menta, già a 5 μl si raggiungeva la DL50 e non risultavano dunque significative le differenze fra 5 μl e 10 μl . È stato dunque scelto di utilizzare le seguenti dosi:

- uno, cinque e dieci μl per l'OE di cannella;
- uno, tre e dieci μl per l'OE di menta.

Dato che ci troviamo in un ambiente chiuso dal volume di 100mL otteniamo una concentrazione pari a:

- 10 $\mu\text{l/L}$ di aria, 50 $\mu\text{l/L}$, 100 $\mu\text{l/L}$ per la cannella;
 - 10 $\mu\text{l/L}$, 30 $\mu\text{l/L}$ e 50 $\mu\text{l/L}$ per la menta.
- piastre di Petri monouso in plastica dal diametro di 5,5 cm;
 - substrato alimentare.

3.4 Analisi statistiche

I dati sono stati analizzati tramite il software R (R Code Team, 2021). Per valutare l'efficacia degli oli essenziali si è utilizzato un modello di regressione lineare (ANOVA ad una via). La variabile risposta è rappresentata dal numero di uova schiuse di *E. cautella* dopo un'esposizione di 24 o 48 ore ad uno dei due oli essenziali. La variabile esplicativa invece è rappresentata dalla tipologia di tesi, ossia la concentrazione di

olio essenziale (variabile categorica con quattro livelli: 0 $\mu\text{l/L}$, 10 $\mu\text{l/L}$, 50 $\mu\text{l/L}$, 100 $\mu\text{l/L}$ per quanto riguarda la cannella, 0 $\mu\text{l/L}$, 10 $\mu\text{l/L}$, 30 $\mu\text{l/L}$, 50 $\mu\text{l/L}$ per la menta). Per entrambi gli oli essenziali è stata fatta un'ulteriore analisi usando un'ANOVA a 2 vie. La variabile esplicativa è rappresentata dal numero di uova schiuse di *E. cauteilla* mentre le variabili esplicative sono date dalla concentrazione di olio essenziale (variabile categorica con quattro livelli, come scritto in precedenza) e la durata del trattamento (24 o 48 ore). In tutti i casi, l'analisi post hoc è stata eseguita utilizzando il test di Tukey per determinare le differenze tra le varie concentrazioni di oli essenziali. In questo contesto, i p-value vengono considerati significativi qualora inferiori a 0.05.

4. Risultati

L'obiettivo di questa prova è stato quello di valutare l'eventuale azione ovidica nei confronti delle uova della tignola della frutta secca (*E. cautella*) in seguito a trattamenti di fumigazione con gli oli essenziali in esame.

Trattamento effettuato con cannella, tempo di esposizione di 24 ore

Dai risultati è emersa una differenza significativa (p value < 0.05) tra il controllo e la concentrazione di $10\mu\text{l/L}$. Sono inoltre presenti differenze significative (p value < 0.01) tra le varie concentrazioni, così come tra la concentrazione di $50\mu\text{l/L}$ e il controllo e la concentrazione di $100\mu\text{l/L}$ e il controllo. I risultati sono visionabili nel grafico a [figura 4.1](#).

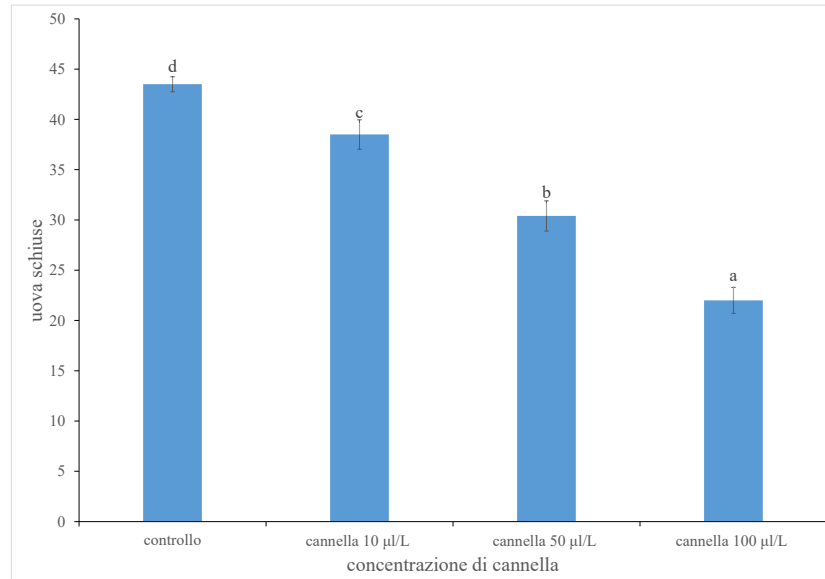


Figura 4.1: Numero medio di uova schiuse dopo 24 ore di trattamento con cannella. Concentrazioni di olio essenziale utilizzate: 0, 10, 50 e $100\mu\text{l/L}$. A lettere differenti corrispondono differenze statisticamente significative (p value < 0.05).

Trattamento effettuato con cannella, tempo di esposizione di 48 ore

Come per il trattamento con cannella a 24 ore, anche per quello a 48 è possibile riscontrare delle differenze significative tra le varie concentrazioni (p value < 0.01), tra le varie concentrazioni e la prova di controllo (p value < 0.01). I risultati sono visionabili nel grafico a [figura 4.2](#)

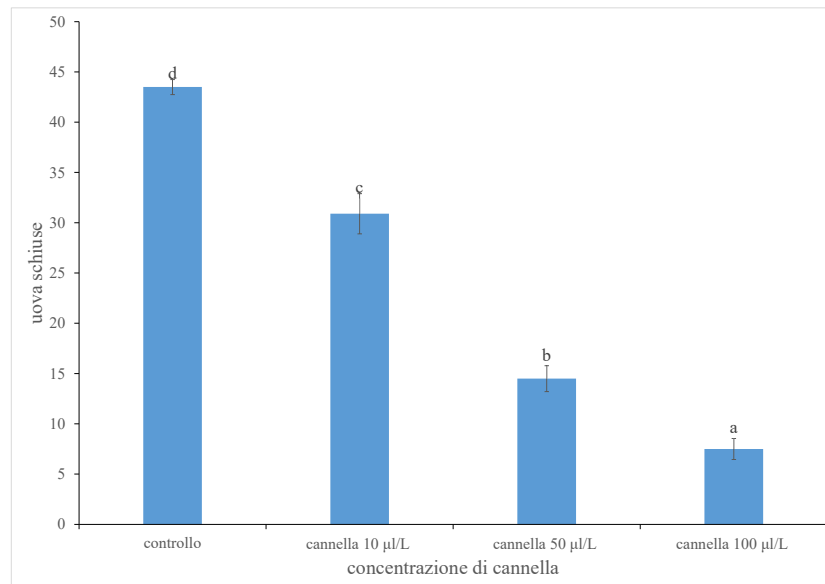


Figura 4.2: Numero medio di uova schiuse dopo 48 ore di trattamento con cannella. Concentrazioni di olio essenziale utilizzate: 0, 10, 50 e 100 $\mu\text{l/L}$. A lettere differenti corrispondono differenze statisticamente significative (p value < 0.05).

Trattamento effettuato con menta, tempo di esposizione di 24 ore

Nel caso del trattamento con la menta a 24 ore, a tutte le varie concentrazioni si può notare una differenza significativa con il controllo (p value < 0.01), tuttavia se confrontate fra di loro non presentano differenze statisticamente significative (p value > 0.05). I risultati sono visionabili nel grafico a [figura 4.3](#)

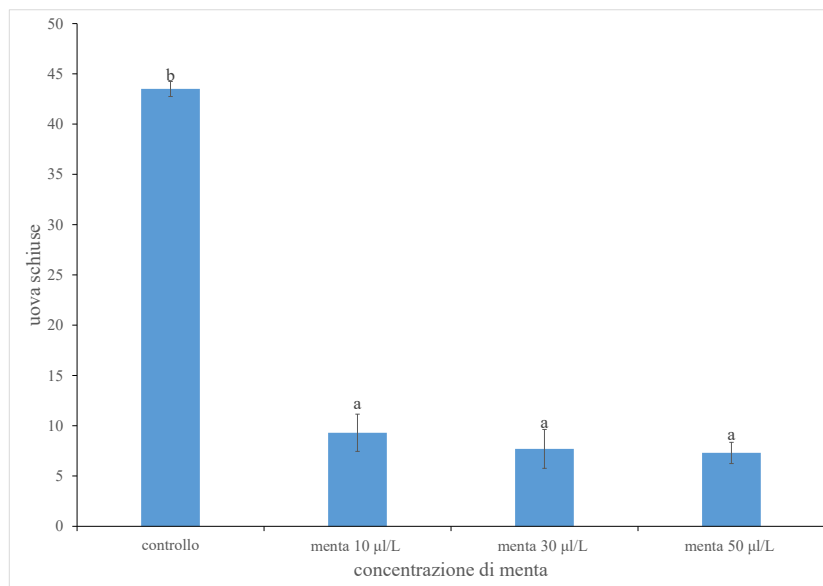


Figura 4.3: Numero medio di uova schiuse dopo 24 ore di trattamento con menta. Concentrazioni di olio essenziale utilizzate: 0, 10, 30 e 50 $\mu\text{l/L}$. A lettere differenti corrispondono differenze statisticamente significative (p value < 0.05).

Trattamento effettuato con menta, tempo di esposizione di 48 ore Infine, nel caso del trattamento con la menta a 48 ore, tutte le concentrazioni differiscono dal controllo in modo significativo (p value < 0.01). Esiste inoltre una differenza significativa tra 10 $\mu\text{l/L}$ e 50 $\mu\text{l/L}$ (p value < 0.05), tuttavia non è stata riscontrata una differenza significativa tra la concentrazione 30 e 10 e nemmeno tra 30 e 50 (p value > 0.05). I risultati sono visionabili nel grafico a [figura 4.4](#)

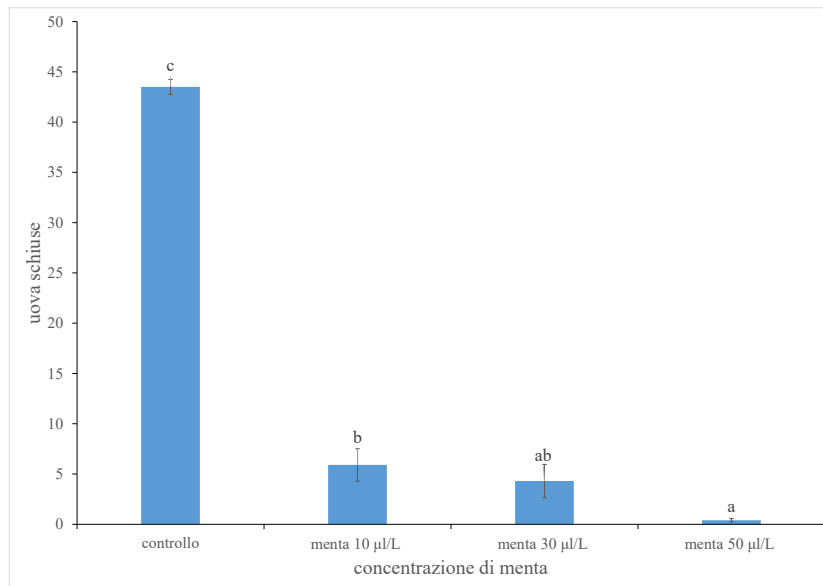


Figura 4.4: Numero medio di uova schiuse dopo 48 ore di trattamento con menta. Concentrazioni di olio essenziale utilizzate: 0, 10, 30 e 50 $\mu\text{l/L}$. A lettere differenti corrispondono differenze statisticamente significative (p value < 0.05).

Differenze tra i trattamenti di 24 ore e i trattamenti a 48 ore: cannella

Tutti i risultati dei vari trattamenti effettuati (alle varie concentrazioni di OE e ai vari tempi di trattamento), sono stati confrontati fra di loro e si è osservato che in tutti i casi presentano delle differenze statisticamente significative (p value < 0.01), con l'eccezione della concentrazione di 50 $\mu\text{l/L}$ relativa al periodo di tempo di 24 ore e la concentrazione di 10 $\mu\text{l/L}$ relativa al periodo di tempo di 48 ore.

Differenze tra i trattamenti di 24 ore e i trattamenti a 48 ore: menta

Anche in questo caso sono stati confrontati i vari risultati dei trattamenti effettuati. Si sono notate delle differenze significative tra il trattamento a 50 $\mu\text{l/L}$ e 48 ore e tutti i trattamenti a 24 ore (10, 30, 50 $\mu\text{l/L}$) (p value < 0.01 tra 50 $\mu\text{l/L}$ e 48 ore e 10 $\mu\text{l/L}$ e 24 ore; p value < 0.05 tra 50 $\mu\text{l/L}$ e 48 ore e 30 $\mu\text{l/L}$ e 24 ore e tra 50 $\mu\text{l/L}$ e 48 ore e 50 $\mu\text{l/L}$ e 24 ore); questi ultimi, come nelle analisi precedenti non hanno evidenziato alcuna differenza statisticamente significativa tra loro (p value > 0.05). Per quanto riguarda invece i due trattamenti rimasti a 48 ore (10 e 30 $\mu\text{l/L}$), non hanno evidenziato alcuna differenza significativa sia con il trattamento

a 50 $\mu\text{l/L}$ e 48 ore, sia con tutti i trattamenti a 24 ore (10, 30, 50 $\mu\text{l/L}$) (p value > 0.05).

5. Discussione

Dalle prove effettuate per questa tesi, il cui obiettivo è quello di verificare l'effetto ovicida degli oli essenziali di *Mentha piperita* e *Cinnamomum zeylanicum* su uova di *E. cautella*, è stato possibile osservare che entrambi gli oli essenziali risultano efficaci nella loro azione ovicida (differenza sostanziale tra le prove utilizzate per il controllo e quelle trattate), seppur con gradi di efficienza diversa. Dallo studio è infatti emerso fin da subito che il potere ovicida della menta è molto maggiore rispetto a quello della cannella dal momento che le uova schiuse con *M. piperita* sono numericamente minori.

Per quel che riguarda i trattamenti con la cannella, sia quelli a 24 ore che quelli a 48 hanno riportato differenze sostanziali tra le varie concentrazioni, dimostrando che ad ogni concentrazione (10, 50 e 100 $\mu\text{l/L}$) si verifica un potere ovicida ben preciso.

I trattamenti con la menta invece, dopo 24 ore non hanno riportato differenze sostanziali di risultato tra le varie concentrazioni (10, 30 e 50 $\mu\text{l/L}$). Visti i risultati la scelta migliore da fare per altri trattamenti alle stesse condizioni è quello di utilizzare la minor concentrazione di OE (1 μl) per avere un buon risultato al minor costo possibile. Nel caso dei trattamenti a 48 ore invece sono stati riscontrati differenze rilevanti solo tra le concentrazioni 10 e 50 $\mu\text{l/L}$, mentre a concentrazione 30 $\mu\text{l/L}$ si ottiene un risultato intermedio.

Cambiando il tempo di trattamento da 24 a 48 ore nel caso della cannella c'è un'importante differenza del potere ovicida quindi è altamente consigliato prolungare il trattamento a 48 ore per avere un risultato migliore.

Nel caso della menta possiamo notare un cambiamento rilevante alla concentrazione 50 $\mu\text{l/L}$, mentre per le concentrazioni inferiori (10 e 30 $\mu\text{l/L}$) la variazione è presente

ma non è rilevante. Dunque nel caso della menta ha senso prolungare il tempo di esposizione da 24 a 48 ore solo nel caso della concentrazione $50 \mu\text{l/L}$.

6. Conclusioni

Ephestia cautella è una tignola particolarmente dannosa per le derrate alimentari per il suo tipico comportamento cosmopolita che permette all'insetto di compromettere facilmente una grandissima quantità di alimenti rendendo così insalubri e non sicuri dal punto di vista igienico sanitario gli ambienti di lavorazione e di stoccaggio. L'utilizzo di sostanze di sintesi, oltre alle recenti restrizioni imposte dalla Comunità Europea, è ampiamente sconsigliato in queste fasi perché essendo a contatto diretto con il prodotto è facile che si verifichino contaminazioni e quindi possono avere dannose ripercussioni sui consumatori e sugli operatori dell'azienda. Per questo motivo al giorno d'oggi sono sempre più ricercate sostanze alternative che non risultino tossiche per i mammiferi e che siano in grado di svolgere attività di protezione degli alimenti dagli infestanti. Gli oli essenziali sono ritenuti una buona opportunità; negli ultimi periodi hanno attratto infatti una grande attenzione in campo scientifico, portando alla produzione di innumerevoli nuove ricerche e pubblicazioni sull'ambito. Questo studio, dunque, può essere inteso come un piccolo tassello che, insieme alle innumerevoli altre pubblicazioni sull'argomento, può aiutare nella comprensione di queste sostanze e delle loro innumerevoli proprietà. Il fatto che da questo lavoro sia emerso il rilevante effetto ovicida di entrambi gli oli essenziali in esame, attraverso la significativa riduzione delle uova schiuse in seguito ai trattamenti, mette in ulteriore evidenza la potenzialità che queste sostanze hanno nella strategia di lotta contro gli infestanti delle derrate e suggerisce il loro possibile utilizzo in ambienti come le industrie alimentari con l'obiettivo finale di trovare soluzioni applicabili nella vita di tutti i giorni per garantire una protezione degli alimenti e delle derrate sicura ed ecologica.

Bibliografia

URL: <https://www.consilium.europa.eu/it/press/press-releases/2021/03/15/council-approves-conclusions-on-the-eu-chemicals-strategy-for-sustainability/>.

URL: <https://www.britannica.com/plant/peppermint>.

URL: <https://www.britannica.com/plant/cinnamon>.

URL: <https://www.gbif.org/species/3033988>.

URL: <https://www.gbif.org/species/8707933>.

URL: <https://www.jfoakes.com/project/almond-moth/>.

URL: <https://idtools.org/id/lepintercept/cautella.html>.

(2009) *Direttiva 2009/128/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 21 ottobre 2009, che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi (Testo rilevante ai fini del SEE)*.

El-Aziz, Shadia E. Abd. «Control strategies of stored product pests». In: *Journal of Entomology* vol 8(2), pag 101-122 (2011).

Burges H.D., Haskins K.P.F. «Life-cycle of the tropical warehouse moth, *Cadra cautella* (Walker), at controlled temperatures and humidities». In: *Bulletin of Entomological Research* vol 55, 4, pag 775-789 (1965).

Carson, R. *Primavera Silenziosa*. trad. it. Feltrinelli Editore, Milano: 330pp., 1999.

- Chen P. Sun J., Ford P. «Differentiation of the Four Major Species of Cinnamons (C. burmannii, C. verum, C. cassia, and C. loureiroi) Using a Flow Injection Mass Spectrometric (FIMS) Fingerprinting Method». In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* vol 62, pag 2516-2521 (2014).
- El Shafei W.K.M. Mahmoud R.H., Mohamed S.S.A. «Efficacy of some entomopathogens against *Ephestia cautella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) in stored date fruits». In: *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 32,45 (2022).
- Hamza A. Zahran N., Sawires S. «Impact of substerilizing dose on histological changes in gonads and ovaries of *Ephestia cautella* (Lepidoptera: Pyralidae) by gamma radiation». In: *Scientific Reports* vol 12, 13265 (2022).
- Hill, D.S. *Pests of stored foodstuffs and their control*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 478pp, 2002.
- Isman M.B., Machial C.M. «Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization». In: *Advances in phytomedicine* vol 3, pag 29-44 (2006).
- Jayaprakasha G. K., Jagan Mohan Rao L. «Chemistry, Biogenesis, and Biological Activities of *Cinnamomum zeylanicum*». In: *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* vol 51:6, pag 547-562 (2011).
- Karlsson Green K. Stenberg J. A., Lankinen Å. «Making sense of Integrated Pest Management (IPM) in the light of evolution». In: *Evolutionary Applications* vol 13(8), pag 1791-1805 (2020).
- Kligler B., Chaudhary S. «Peppermint oil». In: *American Family Physician* vol 75, pag 1027-1030 (2007).
- Kogan, M. «Integrated Pest Management: historical perspectives and contemporary developments». In: *Annual Review of Entomology* vol 43, pag 243-270 (1998).

- Koul O. Walia S., Dhaliwa G.S. «Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints». In: *Biopesticides International* vol 4 (1), pag 63-84 (2008).
- Malik A. Erten H., Erginkaya Z. «Health and safety aspects of food processing technologies». In: *Springer Nature Switzerland* pag 166-167 (2019).
- Pasupuleti V. R., Siew H.G. «Cinnamon: A Multifaceted Medicinal Plant». In: *Hindawi Publishing Corporation* vol 2014, 1-12 (2014).
- Peter, K.V. *Handbook of herbs and spices, volume 1*. A cura di Cambridge. Woodhead Publishing, 2012.
- Rajendran S., Sriranjini V. «Plant products as fumigants for stored-product insect control». In: *Journal of Stored Product Research* vol 44, pag 126–135 (2008).
- Regnault-Roger C. Vincent C., Arnason J.T. «Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World». In: *Annual Review of Entomology* vol 57, pag 405-424 (2012).
- Scott, H.G. *Household and stored-food insects of public health importance and their control*. U.S. Department of Health, Education, e Welfare, Public Health Service, Center Disease Control, 1963.
- Setyaningrum, H. «Effect of delayed mating and sex ratio on biological performance of almond moth, *Ephestia Cautella* (Walker)(Lepidoptera:Pyralidae)». In: *Integrating Bio-Resources and Advanced Technology for Sustainable Development* pag 31-36 (2016).
- Singh R. Shushni A. M. M., Belkheir A. «Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L». In: *Arabian Journal of Chemistry* vol 8, pag 322-328 (2015).
- Somiahnadar, R. «Detection of insect infestation in stored foods». In: *Advances in Food and Nutrition Research* vol 49(4), pag 163-232 (2005).

- Stenberg, J.A. «A Conceptual Framework for Integrated Pest Management». In: *Trends in Plant Science* vol 22(9), pag 759-769 (2017).
- VanEmden, H.F. *Pest control*. A cura di Cambridge. Cambridge University Press: 128pp, 1989.
- Wambugu P.W. Mathenge P.W., Auma E.O. e Van Rheenen H.A. «Efficacy of traditional maize (*Zea Mays* L.) seed storage methods in western Kenya». In: *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development* vol 9(4) (2009).
- Yıldız I., Sezen K. «Microbial control using bacteria of the almond moth, *Cadra* (*Ephestia*) *cautella* Walker (Lepidoptera: Pyralidae)». In: *Journal of Stored Products Research* vol 74, pag 98-105 (2022).

Ringraziamenti

Ed eccoci qui, tra le ultime pagine.

Spero di non dimenticare niente e nessuno ma l'emozione è tanta e la stanchezza di più, nel dubbio ringrazio tutte le persone che direttamente o indirettamente mi hanno aiutata a portare a termine questa avventura, in particolar modo:

la relatrice Prof. Isabel Martinez Sanudo e il Prof. Luca Mazzon, per aver scandagliato tutte le possibili opzioni per questa tesi con infinita pazienza e disponibilità;

Samuele, correlatore più inafferrabile della storia e re indiscusso dei tonnarelli cacao e pepe. Per avermi spalancato le porte all'heavy metal finnico, per avermi insegnato a marchiare col fuoco i giusti barattoli di tignole e per essere (quasi) riuscito a convincermi che pulire un laboratorio è il male assoluto, disonore su di te e sulla tua mucca se lo fai (18.16);

i due Andrea, per essere stati degli ottimi compagni nello scovare larve in barattoli ammuffiti e per quelle volte in cui vi ho incastrato senza alcuna pietà con le mie prove;

i miei genitori, Nadia e Franchino, per avermi supportata con il loro amore incondizionato anche in questo impervio e spesso non poco demoralizzante percorso;

mia nonna Lina, professionista nel tirare i santi e le madonne giù dal cielo ma che quando sapeva di un esame imminente andava in chiesa di nascosto perché "non se sa mai, magari te juta";

Eugenio, Valeria e Benedetta, esperti di nuggets di pollo e unici che possono capire a fondo il disagio di questa triennale;

e ultimi ma non per importanza (più in stile ciliegina sulla torta) Beatrice, Alessandro, Alberto, Gabriele, Eugenio ed Enrico per essere le persone più adorabili del globo terracqueo.

Ora mi fermo altrimenti sull'onda dell'emozione ringrazio cose senza senso come i muffin al pistacchio, le aule studio UniPD o le kuehniella per essere le più belle e paciose tignole mai viste.

*Nel dubbio, grazie a tutt**

Padova, Ottobre 2023

Laura Rizzi