



Paper Details

DOI LINK:	
Paper ID: uHjqF	
Volume: 58	Issue: 11



Title: Chemical constituents and biological activities of two Citrus species essential oils and aqueous extracts compared to basalt "Farina di Basalto"

Abstract: This work aimed to evaluate the phytochemical composition of *C. aurantium* and *C. sinensis* essential oils and aqueous extracts and their antioxidant, insecticidal, repellent and phytotoxic potential. The chemical composition of essential oils, isolated by hydrodistillation, was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). High percentages of monoterpenes hydrocarbons was revealed (93.53 and 98%). Limonene was identified as main compound (88.77 and 95.12% for *C. sinensis* and *C. aurantium*, respectively) in the two analysed species. Nevertheless, *C. sinensis* essential oil was distinguished by the presence of Linalool (5.63%). Aqueous extracts showed considerable contents of total phenols (27.54 and 46.89 mgEGA/mg DW), total flavonoids (7.47-10.18 mg EQ/gDW), and condensed tannins (3.7 and 4.46 mg EC/gDW). The antioxidant capacity determined by 1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) revealed that aqueous extracts exhibited the best activity (IC50= 33.8 µg/mL and 57.41 µg/mL) which was correlated to their phenolic contents. The insecticidal and repellent activities were also evaluated against insect pest of stored wheat, *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae). The Basalt, "Farina di Basalto", which is a volcanic rock and a natural fertilizer rich in nutriment was also used for this test. Significantly higher insecticidal activity of *C. aurantium* essential oil (LC90= 38.173 mg/ml) and basalt (LC90=56.703 mg/ml) were recorded when compared to aqueous extracts. The best repellent capacity was revealed for *C. aurantium* essential oil. The present findings revealed also that basalt powder showed an important germination rate, and stimulated radicle and hypocotyl length.

Journal Citation Reports (JCR2023)®

Source: Thomson Reuters Citation Data

Impact Factor: 0.436
5-Year Impact Factor: 0.534
Average Impact Factor: 12.931
Eigen factor Score: 0.00047
Article Influence Score: 0.083

Indexes:
Science Citation Index Expanded
Scopus

Essential Science Indicators

Biosis Previews

Biological Abstracts

Also Evaluated In:

DOAJ

CIRC

SJR

Languages: Multi-Language

Subjects:

- Theoretical Sciences

- General Life Sciences

- Multidisciplinary Sciences

Top papers in each issue are sponsored by the publisher to be included free of charge.

THOMSON REUTERS

► ISI Index Page

► Search Author(s) / Titles

Keywords: Essential oils, extracts, antioxidant, insecticidal, repellent, phytotoxic, basalt

Authors: Rym Jaouadi^{1*}, Mohamed Elimem¹, Giuliano Ragnoni², Gianluca Pizzuti², Fabio Primavera², Federica Ruggeri², Alessandro Riccini², Yosr Zaouali³, Slim Rouz

¹ Laboratory of Agriculture Production Systems and Sustainable Development, Higher School of Agriculture of Mograne, Department of Agricultural Production, University of Carthage, Mograne-Zaghouan, Tunisia. ² Basalti Orvieto srl-Loc Cornale, Castel Viscardo, Italy. ³ Laboratory of Nanobiotechnology and Valorisation of Medicinal Phytoresources, National Institute of Applied Science and Technology, B.P. 676, Tunis, Cedex 1080, Tunisia.

* Corresponding Author: Rym jaouadi



QRCode to ARTICLE LINK

Paper PDF Link: [View full PDF](#)

2024 - 11 - 18

[Link Agrocienza Journal](#)

Costituenti chimici e attività biologiche di oli essenziali ed estratti acquosi di due specie di *Citrus* confrontati con il basalto "Farina di Basalto®"

AUTORI

Rym Jaouadi^{1*}, Mohamed Elimem¹, Giuliano Ragnoni², Gianluca Pizzuti², Fabio Primavera², Federica Ruggeri², Alessandro Riccini², Yosr Zaouali³, Slim Rouz¹

¹ Laboratory of Agriculture Production Systems and Sustainable Development, Higher School of Agriculture of Mograne, Department of Agricultural Production, University of Carthage, Mograne-Zaghouan, Tunisia.

² Basalti Orvieto srl–Loc Cornale, Castel Viscardo, Italy.

³ Laboratory of Nanobiotechnology and Valorisation of Medicinal Phytoresources, National Institute of Applied Science and Technology, B.P. 676, Tunis, Cedex 1080, Tunisia.

* **Corresponding Author:** Rym jaouadi: jaouadi.rima@gmail.com

DOI:

Sommario

Costituenti chimici e attività biologiche di oli essenziali ed estratti acquosi di due specie di *Citrus* confrontati con il basalto "Farina di Basalto®" 2

Sintesi **4**

Premessa 4

Parole chiave 4

1. Introduzione **5**

2. Materiali e metodi **6**

2.1. Materiale vegetale 6

2.2. Estrazione dell'olio essenziale e analisi GC-MS 7

2.3. Preparazione degli estratti vegetali 7

2.4. Contenuto di fenoli totali, flavonoidi e tannini condensati 7

2.5. Attività antiossidante 8

2.6. Attività insetticida contro *Tribolium castaneum* 8

2.6.1. Allevamento degli insetti 8

2.6.2. Biotest di contatto 8

2.6.3. Attività repellente 9

2.7. Attività fitotossica 9

2.8. Analisi statistica 10

3. Risultati **10**

3.1. Rese e composizione chimica degli oli essenziali 10

3.2. Contenuto fenolico e attività antiossidante degli estratti acquosi di *C. aurantium* e *C. sinensis* 12

3.3. Attività insetticida 12

3.3.1. Tossicità da contatto 12

3.3.2. Saggio di repellenza 15

3.3. Attività fitotossica 16

4. Discussione	17
5. Conclusioni	21
6. Ringraziamenti:	21
7. Riferimenti	21

INDICE DELLE TABELLE E DELLE FIGURE

Tabella 1 Percentuale media dei composti degli oli essenziali di <i>C. aurantium</i> e <i>C. sinensis</i>	10
Figura 1 Cromatogrammi degli oli essenziali delle bucce di <i>C. aurantium</i> (A) e <i>C. sinensis</i> (B)	11
Tabella 2 Contenuto di fenoli totali, flavonoidi e tannini e attività antiossidante degli estratti acquosi e degli oli essenziali (EO) di <i>C. aurantium</i> e <i>C. sinensis</i>	12
Figura 2 Effetto degli oli essenziali di <i>C. aurantium</i> (A), <i>C. sinensis</i> (B) e della Farina di Basalto® (FdB) su <i>T. castaneum</i> (T1: 1 mg/mL, T2: 5 mg/mL, T3: 10 mg/mL, T4: 25 mg/mL).	13
Figura 3 Effetti degli estratti di <i>C. aurantium</i> (A), <i>C. sinensis</i> (B) e Farina di Basalto® (FdB) su <i>T. castaneum</i> . (C1: 100 mg/mL, C2: 50 mg/mL, C3: 25 mg/mL).....	14
Tabella 3 Valori di LC90 (mg/mL) della tossicità da contatto degli oli essenziali testati e della Farina di Basalto® (FdB).	15
Tabella 4 Effetti repellenti degli oli essenziali e degli estratti acquosi di <i>C. aurantium</i> e <i>C. sinensis</i>	15
Tabella 5 Attività fitotossica degli oli essenziali, degli estratti acquosi e della Farina di Basalto® (FdB) su piantine di <i>Triticum aestivum</i> L.....	16

Sintesi

Premessa:

Questo lavoro si è proposto di valutare la composizione fitochimica degli oli essenziali e degli estratti acquosi di *C. aurantium* e *C. sinensis* e il loro potenziale antiossidante, insetticida, repellente e fitotossico. La composizione chimica degli oli essenziali, isolati per idrodistillazione, è stata analizzata mediante gascromatografia-spettrometria di massa (GC-MS). È stata rivelata un'alta percentuale di idrocarburi monoterpeni (93,53 e 98%). Il limonene è stato identificato come composto principale (88,77 e 95,12% per *C. sinensis* e *C. aurantium*, rispettivamente) nelle due specie analizzate. Tuttavia, l'olio essenziale di *C. sinensis* si è distinto per la presenza di linalolo (5,63%). Gli estratti acquosi hanno mostrato notevoli contenuti di fenoli totali (27,54 e 46,89 mg EGA/mg DW), flavonoidi totali (7,47-10,18 mg EQ/g DW) e tannini condensati (3,7 e 4,46 mg EC/g DW). La capacità antiossidante determinata mediante 1,1-difenil-1-picrilidrazile (DPPH) ha rivelato che gli estratti acquosi hanno mostrato la migliore attività (IC50= 33,8 µg/mL e 57,41 µg/mL), correlata al loro contenuto fenolico. Le attività insetticide e repellenti sono state valutate anche contro l'insetto parassita del grano stoccato, *Tribolium castaneum* (Coleoptera, *Tenebrionidae*). Per questo test è stato utilizzato anche il Basalto, "Farina di Basalto®", una roccia vulcanica e un ammendante naturale ricco di sostanze nutritive. L'attività insetticida dell'olio essenziale di *C. aurantium* (LC90= 38,173 mg/ml) e del basalto (LC90=56,703 mg/ml) è stata significativamente più elevata rispetto agli estratti acquosi. La migliore capacità repellente è stata rivelata per l'olio essenziale di *C. aurantium*. I presenti risultati hanno rivelato anche che la Farina di Basalto® ha mostrato un importante tasso di germinazione e ha stimolato la lunghezza delle radichette e degli ipocotili.

Parole chiave: Oli essenziali, estratti, antiossidanti, insetticidi, repellenti, fitotossici, basalto.

DATA DI PUBBLICAZIONE 18-11-2024

1. Introduzione

Il settore del controllo dei parassiti è stato largamente dominato dai prodotti pesticidi di sintesi, che presentano potenziali rischi per la salute pubblica e l'ambiente. Il loro uso prolungato ha sconvolto i sistemi biologici naturali e spesso ha portato allo sviluppo di resistenze (El-Akhal *et al.*, 2015). Il *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) è la specie di coleottero più dannosa per i prodotti conservati. La loro gestione è difficile perché stanno sviluppando resistenza agli insetticidi (Bachrouch *et al.*, 2023). Alla luce di questa situazione, è necessario esplorare metodi alternativi per la gestione dei parassiti agricoli, come gli estratti botanici, noti per le loro caratteristiche generalmente più rispettose dell'ambiente. Inoltre, alcuni antiossidanti sintetici come l'idrossianisolo butilato (BHA) e l'idrossitoluene butilato (BHT) sono stati ampiamente utilizzati nell'industria alimentare, anche se il loro uso ha iniziato a essere messo in discussione a causa della loro tossicità. Pertanto, è auspicabile lo sviluppo e l'uso di insetticidi e antiossidanti più efficaci, ottenuti soprattutto da fonti botaniche (Scalbert *et al.*, 2005).

Recentemente, con la crescente attenzione per i prodotti ecocompatibili, gli oli essenziali e gli estratti vegetali stanno riscuotendo un rinnovato interesse. Queste alternative naturali non solo sono efficaci, ma sono anche considerate più sicure e rispettose dell'ambiente rispetto alle controparti sintetiche. Diversi oli essenziali, compresi quelli derivati dalle specie di agrumi, sono stati designati come "GRAS" (Generally Recognized as Safe) dalla Food and Drug Administration statunitense, sottolineando i loro profili di sicurezza favorevoli. Di conseguenza, gli studi sulle attività biologiche degli oli essenziali di Citrus sono in aumento (Manzur *et al.*, 2005; Khanikor *et al.*, 2021). Il genere Citrus (Rutaceae) è una delle colture più antiche, più commercializzate e più popolari. È ampiamente coltivato nelle aree tropicali e subtropicali del mondo. D'altra parte, il genere *Citrus*, che comprende diversi frutti importanti come arance, mandarini, lime e limoni, è la più grande coltura di frutta al mondo (Velázquez-Nuñez *et al.*, 2013). In tutto il mondo sono state registrate 33 specie di *Citrus*, con molte varietà registrate e inesplorate presenti in diverse parti del mondo (Khanikor *et al.*, 2021). Gli oli essenziali e gli estratti di agrumi sono ricche fonti di sostanze fitochimiche utili, come le vitamine A, C ed E, elementi minerali, flavonoidi, cumarine, limonoidi, carotenoidi, pectine e altri composti (Zhao *et al.*, 2012). Il linalolo, l'acetato di linalile, il terpineolo e il limonene sono i principali componenti attivi degli oli essenziali e degli idrolati di agrumi che hanno diverse proprietà bioattive (Değirmenci *et al.*, 2020).

Tra i principali composti fenolici presenti nel succo d'arancia vi sono l'esperidina e la narirutina, seguite da naringina e didimina (Roussos *et al.*, 2016). Il genere *Citrus* segna la sua presenza nella vita quotidiana nei campi della medicina tradizionale, della cosmesi, dell'industria alimentare e della profumeria.

Il *Citrus aurantium* L. (arancio amaro o arancio acido) è un albero sempre verde di 2-2,5 m di altezza, con fiori bianchi profumati e frutti arancioni, coltivato nelle zone tropicali e subtropicali. Dal fiore dell'arancio amaro si ottengono molti prodotti: l'olio essenziale, assoluto e l'idrolato. La composizione degli oli essenziali di arancio amaro non è la stessa e dipende, in larga misura, dall'origine geografica e dalle parti della pianta (scorza, frutti e fiori) (Değirmenci e Erkurt., 2020). È noto per le sue azioni antimicrobiche, antiossidanti, citotossiche, ansiolitiche, antidiabetiche, antiobesità, gastroprotettive e curative dell'ulcera, per le potenti attività fumiganti, anticolinesterasiche e antinfiammatorie (Badalamenti *et al.*, 2022).

Il *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (arancio dolce) è un albero o arbusto sempreverde (3-15 m). L'albero ha una chioma arrotondata, sferica e compatta, con rami regolari e ramoscelli angolati da giovani. Le spine sono generalmente presenti, soprattutto quando l'albero è in fase giovanile (Swingle e Reece., 1967). È stato riportato che l'olio essenziale di arancio dolce inibisce la crescita di diverse specie batteriche e fungine, ha un'attività larvicida contro il vettore della malaria, è un efficace agente antielmintico contro i nematodi gastrointestinali, è un potente fumigante contro le mosche domestiche e le zanzare (Kammoun *et al.*, 2021).

Pertanto, questo lavoro si propone di determinare e confrontare le composizioni degli oli essenziali e i contenuti fenolici delle bucce di *C. aurantium* e *C. sinensis* coltivate in Tunisia. Inoltre, si cerca di determinare le loro capacità antiossidanti, insetticide, repellenti e fitotossiche.

2. Materiali e metodi

2.1. Materiale vegetale

C. aurantium e *C. sinensis* sono stati raccolti nella regione di Mograne (altitudine: 158m-262m, latitudine: 36°23-36°25', longitudine: 10°7-10°10') in Tunisia. Le bucce sono state poi essiccate all'aria a temperatura ambiente per due settimane e quindi polverizzate finemente.

2.2. Estrazione dell'olio essenziale e analisi GC-MS

L'estrazione dell'olio essenziale è stata ottenuta da 100 g di bucce polverizzate ed essiccate all'aria mediante distillazione in corrente di vapore per 3 ore utilizzando un apparecchio di tipo Clevenger. L'olio essenziale è stato raccolto ed essiccato su una piccola quantità di solfato di sodio anidro. Le rese sono state calcolate come quantità di olio essenziale rispetto al materiale essiccato all'aria (% p/p). Le analisi GC-MS sono state condotte utilizzando un gascromatografo Agilent 7890A dotato di una colonna capillare HP- 5MS (lunghezza 30 m, diametro 0,25 mm, spessore del film 0,25 μm) accoppiata a un rivelatore selettivo di massa (MSD) Agilent 5975C. Come gas di trasporto è stato utilizzato l'elio a una velocità di flusso di 0,8 ml/min. La temperatura del forno è stata portata da 60°C a 240°C a una velocità di 4°C/min. La temperatura dell'iniettore è stata mantenuta a 250°C. Le temperature del quadrupolo e della sorgente ionica sono state impostate rispettivamente a 150°C e a 230°C. Gli spettri di massa sono stati scansionati da 50 a 550 m/z a 70 elettronvolt (eV).

L'identificazione dei componenti negli oli essenziali è stata ottenuta confrontando i loro tempi di ritenzione con quelli di standard autentici analizzati in condizioni cromatografiche identiche, confrontando i loro indici di ritenzione con i valori di letteratura e gli oli essenziali con gli standard autentici disponibili. Inoltre, l'identificazione è stata confermata confrontando gli spettri di massa dei composti terpenici con quelli memorizzati nelle librerie W8N08 e NIST08.

2.3. Preparazione degli estratti vegetali

1 g di bucce essiccate è stato estratto con 10 mL di acqua a temperatura ambiente per 24 ore. I campioni sono stati filtrati e conservati a +4 °C per le analisi generali.

2.4. Contenuto di fenoli totali, flavonoidi e tannini condensati

Il contenuto di fenoli totali è stato determinato utilizzando il saggio colorimetrico di Folin-Ciocalteu come descritto da Chetoui *et al.* (2013). Un volume di 0,5 mL di campione diluito è stato miscelato con 2 mL di reattivo di Folin-Ciocalteu, seguito dall'aggiunta di 2,5 mL di soluzione di carbonato di sodio (7,5%). Dopo un'incubazione di 90 minuti, al buio, l'assorbanza è stata misurata a 760 nm. Il contenuto fenolico totale è stato espresso come milligrammi di acido gallico equivalente per grammo di peso della pianta essiccata (mg GAE/g DW).

La stima dei valori del contenuto totale di flavonoidi è stata rivelata con il metodo colorimetrico del cloruro di alluminio (AlCl₃), come descritto in precedenza da Chetoui *et al.* (2013). 1 mL di ciascun campione diluito è stato miscelato con 1 mL di soluzione di AlCl₃ (2%), seguito dalla lettura dell'assorbanza a 430 nm dopo 15 minuti di incubazione. Il contenuto totale di flavonoidi è stato espresso come mg di quercetina equivalente per g di peso essiccato della pianta (mg QE/gDW).

La stima dei tannini condensati, come catechina equivalente, è stata valutata utilizzando il metodo della vanillina-HCl (Sun *et al.*, 1998) con lievi modifiche. 500 mL di estratto sono stati aggiunti a 1,5 mL di soluzione di vanillina al 4% di metanolo e a 1,5 mL di HCl concentrato. L'assorbanza è stata misurata a 500 nm, dopo 15 minuti di incubazione al buio a temperatura ambiente. I tannini condensati totali sono stati espressi come mg di catechina equivalente per g di peso essiccato (mg CE/g DW). Le analisi del contenuto di fenoli totali, flavonoidi e tannini condensati sono state eseguite in triplo.

2.5. Attività antiossidante

La capacità antiossidante è stata determinata con il metodo della rimozione dei radicali liberi (DPPH; radicale 1,1-difenil-2-picrile-idrazile (DPPH-), come descritto da Jaouadi *et al.* (2023). In breve, la capacità di scavenging del radicale DPPH è stata determinata a partire da 1 ml di olio essenziale/estratto (a diverse concentrazioni) mescolato con 3 ml di una soluzione di metanolo di DPPH appena preparata (4,10⁻² mM). La miscela è stata lasciata riposare al buio a temperatura ambiente per 30 minuti. Quindi sono stati misurati i valori di assorbanza a 517 nm. I risultati sono stati espressi come IC₅₀ (concentrazione necessaria per inibire il 50% del DPPH-).

2.6. Attività insetticida contro *Tribolium castaneum*

2.6.1. Allevamento degli insetti

Gli adulti di *Tribolium castaneum* sono stati raccolti dal grano infestato conservato presso il Laboratorio di Entomologia della Scuola Superiore di Agricoltura di Mograne.

2.6.2. Biotest di contatto

Un disco di carta da filtro (9 cm) è stato posto in una piastra Petri e imbevuto di diverse concentrazioni di oli essenziali diluiti in acetone (1, 5, 10 e 25 mg/mL) e di estratti acquosi (25, 50 e 100 mg/mL). Un gruppo di 10 adulti di *T. castaneum* è stato posto in ogni piastra Petri. Dopo 24 ore è stato registrato il numero di

insetti morti. Acetone e acqua sono stati utilizzati come controllo negativo. Tutte le piastre di Petri sono state conservate in una camera climatica a $25\pm 1^\circ\text{C}$, con un'umidità relativa del 60-70% e un fotoperiodo di 16:8 (L:D) ore. I tassi di mortalità dei diversi trattamenti sono stati stimati e corretti utilizzando la formula di Abbott (Abbott., 1925).

Sono state applicate anche tre dosi (1,5, 3 e 5%) di Basalto, "Farina di Basalto®" (micronizzata da Basalti Orvieto srl). Il basalto è una famiglia di rocce vulcaniche effusive caratterizzata da una composizione chimica prevalentemente mafica.

Esistono vari tipi di basalto, ognuno con caratteristiche uniche legate alla loro composizione, struttura e origine. In base alla composizione chimica, alla mineralogia e alle caratteristiche fisiche, il basalto utilizzato per la produzione di Farina di Basalto® (FdB®) può essere classificato come basalto fonolitico tefritico e presenta caratteristiche uniche. Il basalto utilizzato per la produzione della Farina di Basalto® è particolarmente pregiato per la sua composizione unica con micro e macro elementi utili per le piante. Infatti, contiene elementi minerali naturali, come l'ossido di silicio (SiO_2) 47%, l'ossido di alluminio (Al_2O_3) 21%, l'ossido di potassio (K_2O) 9%, l'ossido di ferro (Fe_2O_3) 6,85%, l'ossido di calcio (CaO) 8%, l'ossido di magnesio (MgO) 2,25%, ossido di sodio (Na_2O) 3,55%, pentossido di fosforo (P_2O_5) 0,65%, biossido di titanio (TiO_2) 0,6%, manganese (Mn) 636 mg/Kg, zolfo (S) 536 mg/Kg, boro (B) 81 mg/Kg, rame (Cu) 51 mg/Kg e zinco (Zn) 68mg/Kg (Elimem *et al.*, 2021).

2.6.3. Attività repellente

Gli oli essenziali e gli estratti acquosi sono stati valutati per la loro capacità repellente con il metodo della preferenza d'area (Zhang *et al.*, 2022). La carta da filtro (6 cm di diametro) è stata tagliata a metà e 500µl di ciascuna concentrazione sono stati applicati separatamente su metà della carta da filtro, il più uniformemente possibile, con una micropipetta. L'altra metà (controllo) è stata trattata con 500 µl di acetone o acqua. Il numero di insetti presenti sui diversi lati della carta è stato registrato dopo 1, 3, 5 e 24 ore.

2.7. Attività fitotossica

L'attività fitotossica è stata valutata sulla germinazione, sulla radicazione e sull'allungamento ipocotile di *Triticum aestivum* L. I semi sono stati sterilizzati in superficie con ipoclorito di sodio diluito per 15 minuti, quindi risciacquati quattro volte con acqua deionizzata. 2 mL di dosi diverse di oli essenziali (0,1, 0,3, 0,6 e 1 mg/mL), estratti acquosi (2,5, 5, 10, 20 mg/mL) e Farina di Basalto® XF (1,5, 3, 5 e 10% del peso dei

semi campionati) sono stati dispersi in piastre Petri sterili (9 cm di diametro) rivestite con carta da filtro doppiamente sterile. 20 semi di ciascuna specie bersaglio sono stati disposti in ogni piastra Petri e conservati al buio a 25 °C per 7 giorni. Come controllo è stata utilizzata acqua distillata. Tutti i saggi di fitotossicità sono stati condotti in triplo. Dopo 7 giorni è stata determinata la percentuale di germinazione. Alla fine dell'esperimento, il tasso di germinazione finale (GR) è stato calcolato secondo la formula citata da El Rasafi *et al.* (2016).

$$GR = \frac{\text{Semi germinati} \times 100}{\text{Semi totali}}$$

La lunghezza degli ipocotili e delle radichette è stata misurata dopo 7 giorni, utilizzando un calibro digitale.

2. 8. Analisi statistica

L'analisi della varianza (procedura ANOVA) seguita dai test multipli di Duncan (software SPSS versione 26.0 per Windows) è stata utilizzata per determinare la variazione delle composizioni degli oli essenziali e dei contenuti di fenoli e le loro attività biologiche. Le correlazioni tra i dati ottenuti sono state calcolate utilizzando il coefficiente di Spearman (r-Spearman) (a $p < 0,001$). Per l'attività insetticida, i dati del biotest sono stati ottenuti utilizzando l'analisi Probit per trovare i valori LT90.

3. Risultati

3.1. Rese e composizione chimica degli oli essenziali

Le bucce di *C. aurantium* hanno rivelato la più alta resa in olio essenziale (3,77%). Le specie selezionate sono risultate ricche di idrocarburi monoterpenici (93,53 e 98%). Gli idrocarburi sesquiterpenici (0,34 e 0,44%) sono stati osservati in livelli inferiori (Tabella 1, Figura 1). La *C. sinensis* si è distinta per la presenza di monoterpeni ossigenati (5,99%).

Tabella 1 Percentuale media dei composti degli oli essenziali di *C. aurantium* e *C. sinensis*

Compounds	RI _a	KI	<i>C.aurantium</i>	<i>C.sinensis</i>
Yield (%)			3.77	2.69
α-pinene	933	939	0.85	1.63
Sabinene	972	975	0.11	1.30
β-pinene	976	979	0.07	-
β-myrcene	989	990	1.85	1.83
Limonene	1041	1039	95.12	88.77
Linalool	1101	1095	-	5.63
β-fenchol	1112	1115	-	0.36
β-caryophyllene	1411	1419	0.25	-
Germacrene-D	1474	1480	0.09	-
Valencene	1486	1496	-	0.44
Total identified (%)			98.34	99.96
Monoterpenes hydrocarbons (%)			98.00	93.53
Oxygenated monoterpenes (%)			-	5.99
Sesquiterpenes hydrocarbons (%)			0.34	0.44

Le medie di ogni colonna seguite da lettere diverse sono significativamente diverse ($p < 0,05$).

RI: indici di ritenzione relativi agli n-alcani su colonna HP-5MS.

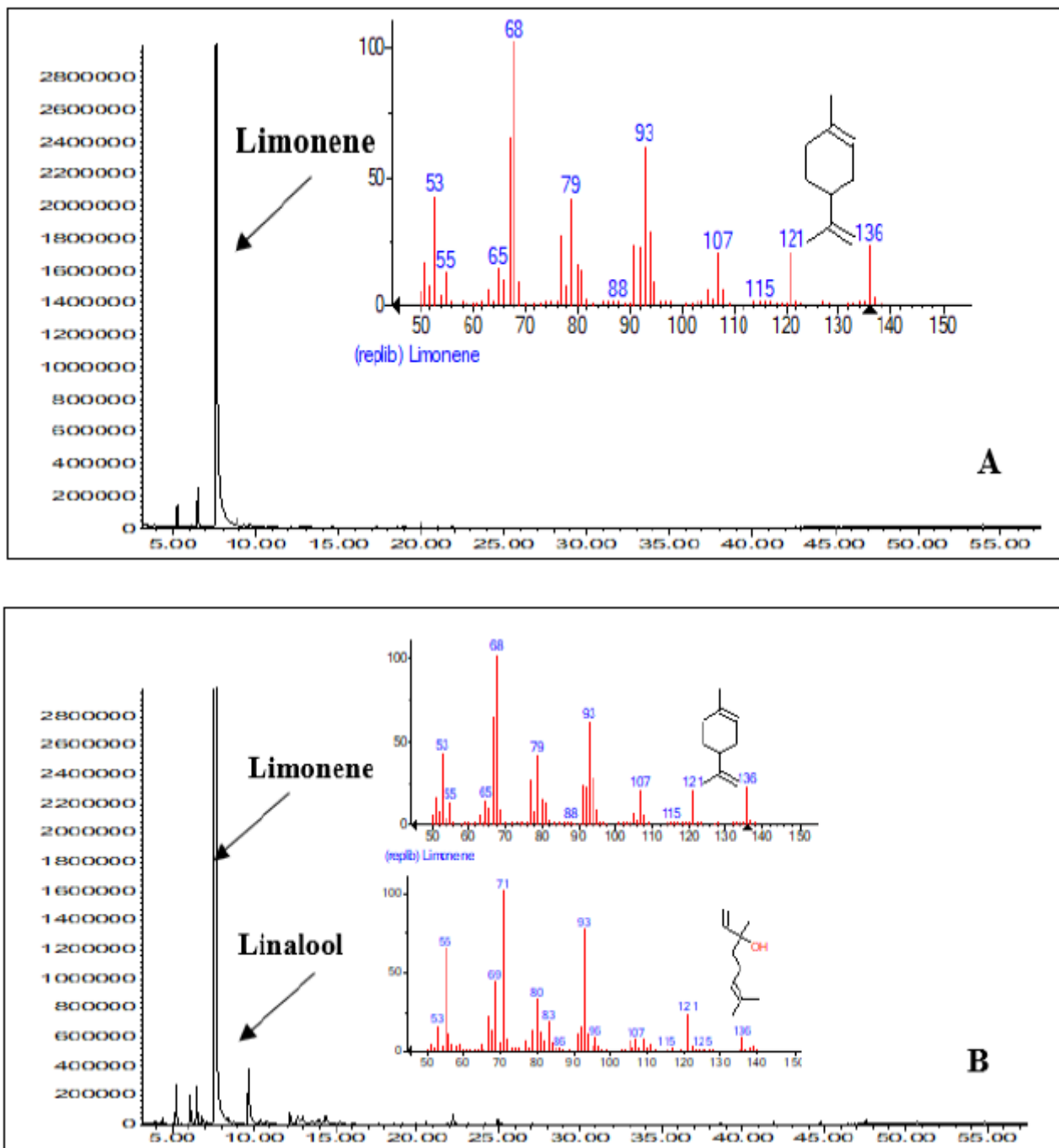


Figura 1 Cromatogrammi degli oli essenziali delle bucce di *C. aurantium* (A) e *C. sinensis* (B)

L'analisi della composizione chimica dell'olio essenziale di *C. aurantium* ha mostrato l'esistenza di sette diversi composti che rappresentano il 98,34% dell'olio totale. Il principale monoterpene è stato il limonene (95,12%), seguito da β -mircene (1,85%), α -pinene (0,85%), sabinene (0,11) e β -pinene (0,07) (Tabella 1, Figura 2). Sono stati identificati otto composti che rappresentano il 99,96% della composizione totale dell'olio di *C. sinensis*. Anche il limonene (88,7%) era il componente principale. D'altra parte, questo olio essenziale si distingue per la presenza di linalolo (5,63%) e valencene (0,64%).

3.2. Contenuto fenolico e attività antiossidante degli estratti acquosi di *C. aurantium* e *C. sinensis*

Il contenuto di fenoli totali, flavonoidi e tannini varia in modo significativo tra gli estratti acquosi testati (Tabella 2). La quantità più elevata di contenuto fenolico totale è stata rilevata per gli estratti di *C. aurantium* (46,89 mgEGA/mg DW). Il contenuto più elevato di flavonoidi è stato rilevato per il campione di *C. aurantium* (10,18 mgEQ/gDW). Per quanto riguarda i tannini condensati, il valore più alto è stato osservato per gli estratti di *C. sinensis* (4,46 mg EC/gDW).

Tabella 2 Contenuto di fenoli totali, flavonoidi e tannini e attività antiossidante degli estratti acquosi e degli oli essenziali (EO) di *C. aurantium* e *C. sinensis*

	Sample	Total polyphenols (mgEGA/mg DW)	Flavonoids (mg EQ/gDW)	Condensed tanins (mg EC/gDW)	DPPH IC ₅₀ (µg/ml)
<i>C.aurantium</i>	EO	-	-	-	580.4± 3,2 ^a
	AE	46.89 ± 1.6 ^a	10.18 ± 0.21 ^a	3.7 ± 0.19 ^a	33.8± 1,4 ^d
<i>C.sinensis</i>	EO	-	-	-	600.3± 3,2 ^b
	AE	27.54 ± 1.22 ^b	7.47 ± 0.01 ^b	4.46 ± 0.09 ^b	57.41± 3,2 ^c
Standard	TROLOX	-	-	-	23.6± 0,8 ^e

Le medie di ogni colonna seguite da lettere diverse sono significativamente diverse (p < 0,05).

Le proprietà antiossidanti degli oli essenziali e degli estratti acquosi testati sono state valutate misurando l'attività di rimozione dei radicali liberi (DPPH) (Tabella 2). Questa attività è espressa dalla concentrazione di antiossidante necessaria per una riduzione del 50% del DPPH· (IC50). I valori differiscono significativamente tra i campioni. Gli oli essenziali e gli estratti analizzati sono stati in grado di ridurre il radicale DPPH, stabile e di colore viola, al DPPH-H, di colore giallo. L'attività più elevata è stata rivelata per gli estratti acquosi di *C. aurantium* e *C. sinensis* (IC50= 33,8 µg/mL e 57,41 µg/mL, rispettivamente). L'attività efficace più bassa è stata osservata per il *C. aurantium*, seguito dagli estratti acquosi di *C. sinensis* (IC50= 580,4 e 600,3 µg/mL, rispettivamente).

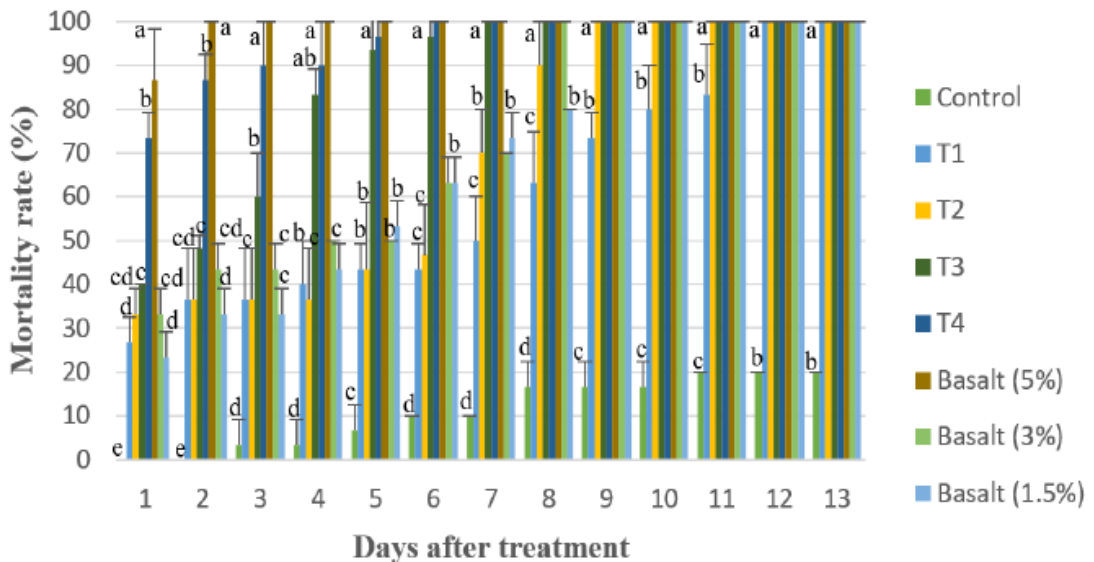
3.3. Attività insetticida

3.3.1. Tossicità da contatto

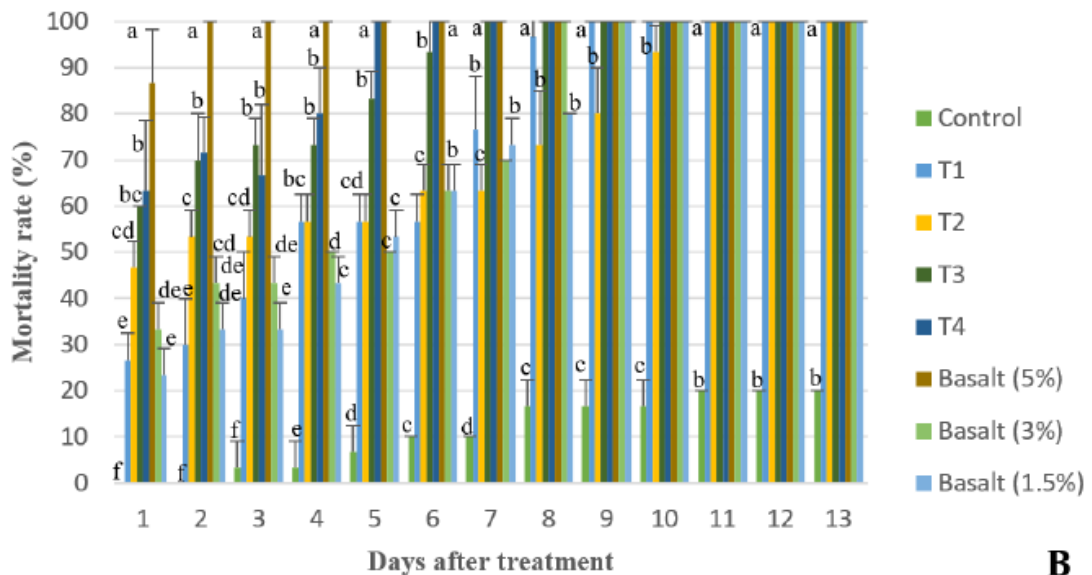
Gli oli essenziali e gli estratti acquosi testati sono stati valutati per il loro effetto insetticida contro il coleottero rosso della farina, *T. castanaeum*. Il grado di attività dei campioni testati è variato in base alla dose utilizzata e alla durata del trattamento (Figure 2 e 3). In tutti i casi, sono state osservate differenze

significative nella mortalità di *T. castaneum* esposto agli oli essenziali, agli estratti acquosi e alla Farina di Basalto® (FdB®).

La mortalità è aumentata con l'aumentare delle concentrazioni e del tempo di esposizione. I risultati hanno rivelato che la percentuale di mortalità nelle piastre di Petri di controllo era molto bassa durante i primi sei giorni di osservazione e variava tra lo 0 e il 10%. L'attività insetticida degli oli essenziali di *C. aurantium* e *C. sinensis* e della "Farina di Basalto®" è stata significativamente più elevata (LC90= 38,173, 49,369 e 56,703 mg/ml, rispettivamente) rispetto agli estratti acquosi (Tabella 3).



A



B

Figura 2 Effetto degli oli essenziali di *C. aurantium* (A), *C. sinensis* (B) e della Farina di Basalto® (FdB) su *T. castaneum* (T1: 1 mg/mL, T2: 5 mg/mL, T3: 10 mg/mL, T4: 25 mg/mL).

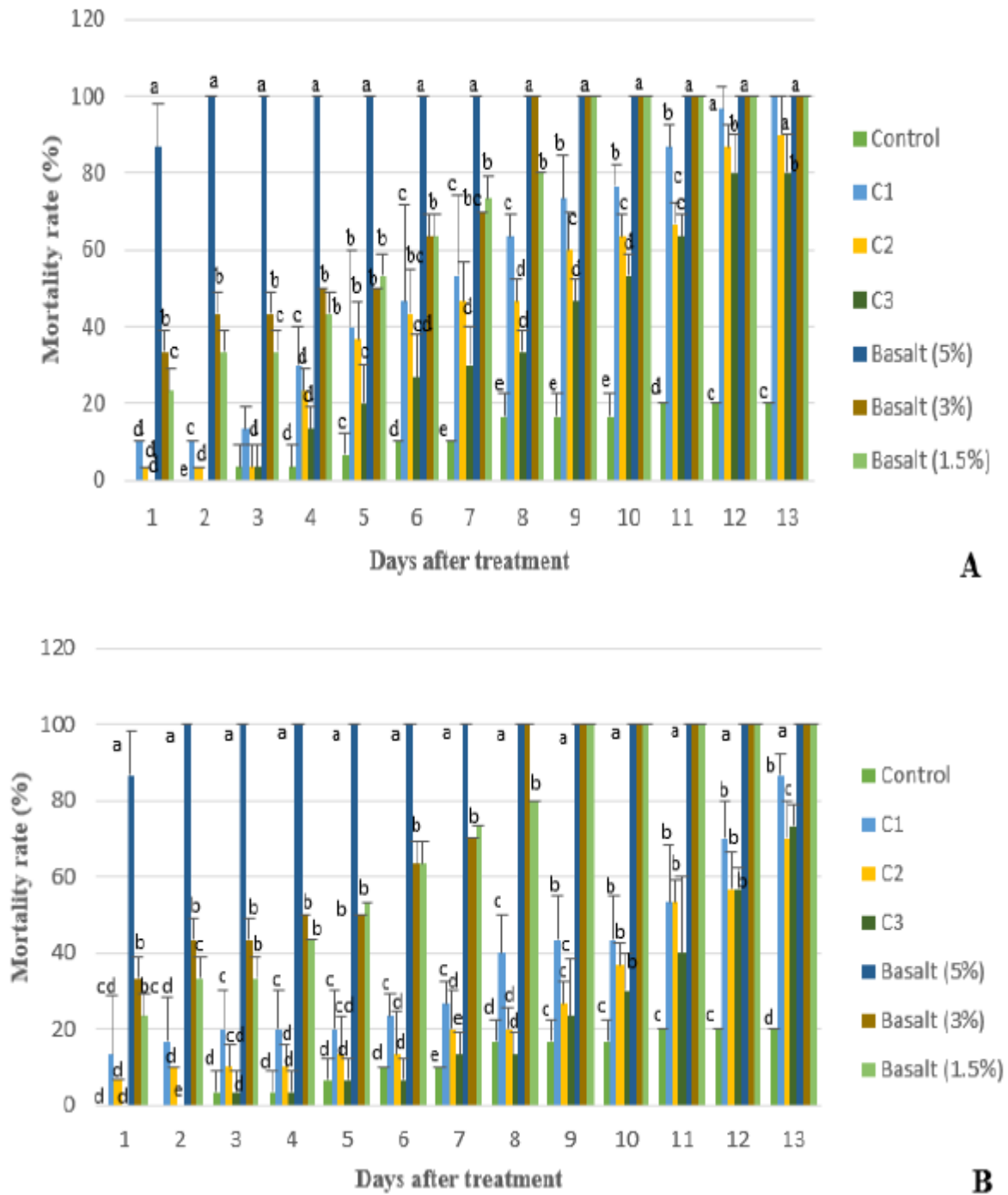


Figura 3 Effetti degli estratti di *C. aurantium* (A), *C. sinensis* (B) e Farina di Basalto® (FdB) su *T. castaneum*. (C1: 100 mg/mL, C2: 50 mg/mL, C3: 25 mg/mL).

Tabella 3 Valori di LC90 (mg/mL) della tossicità da contatto degli oli essenziali testati e della Farina di Basalto® (FdB).

	Essential oils		Aqueous extracts		Farina di Basalto® (FdB)
	<i>C. aurantium</i>	<i>C. sinensis</i>	<i>C. aurantium</i>	<i>C. sinensis</i>	
LC ₉₀	38.173	49.369	260.023	264.368	56.703

3.3.2. Saggio di repellenza

L'attività repellente è stata rivelata anche contro *T. castaneum*. L'attività maggiore è stata osservata a concentrazioni più elevate di tutti gli estratti vegetali. Gli oli essenziali hanno rivelato un maggior grado di repellenza rispetto agli estratti acquosi (Tabella 4).

Tabella 4 Effetti repellenti degli oli essenziali e degli estratti acquosi di *C. aurantium* e *C. sinensis*.

Concentrations (mg/mL)	Period of exposure (h)				Response class			
	1	3	5	24				
Essential oils								
<i>C. aurantium</i>								
1	33.33	26.67	13.33	6.67	II	II	I	I
5	60.00	40.00	20.00	13.33	IV	III	II	I
10	100.00	73.33	33.33	26.67	V	IV	II	II
25	100.00	86.67	46.67	33.33	V	V	III	II
<i>C. sinensis</i>								
1	26.67	20.00	13.33	6.67	II	II	I	I
5	46.67	33.33	26.67	20.00	III	II	II	II
10	86.67	46.67	33.33	26.67	V	III	II	II
25	100.00	80.00	60.00	46.67	V	V	IV	III
Aqueous extracts								
<i>C. aurantium</i>								
25	6.67	33.33	13.33	40.00	I	II	I	II
50	13.33	20.00	33.33	26.67	I	II	II	II
100	13.33	20.00	40.00	53.33	I	II	II	III
<i>C. sinensis</i>								
25	6.67	13.33	13.33	38.33	I	I	I	II
50	11.67	33.33	40.00	46.67	I	II	III	III
100	11.67	26.67	33.33	60.00	I	II	II	IV
Farina di Basalto® (FdB) (%)								
1.5	26.67	13.33	13.33	6.67	II	I	I	II
3	33.33	33.33	26.67	13.33	II	II	II	I
5	86.67	46.67	33.33	26.67	V	III	II	II

Classi di repellenza: O = < 0,1: non è repulsivo; classe I = 0,1-20: repulsivo molto debole; classe II = 20,1-40: debolmente repulsivo; classe III = 40,1-60: moderatamente repulsivo; classe IV = 60,1-80: repulsivo; classe V = 80,1-100: molto repulsivo.

I risultati hanno rivelato che gli oli essenziali testati hanno mostrato il miglior effetto repellente nei confronti di *T. castaneum* utilizzando la percentuale di repellenza. Il potenziale repellente più elevato (100%) è stato rilevato alla dose di 10 mg/mL dopo 1 ora di esposizione, per l'olio essenziale di *C. aurantium*. Tuttavia, dopo 24 ore di esposizione a tutte le concentrazioni, i valori medi di repellenza percentuale variavano dal 6,67 al 33,33% (stato di repellenza di classe II).

3.3. Attività fitotossica

Il potenziale fitotossico degli oli essenziali di *C. aurantium* e *C. sinensis*, degli estratti acquosi e del basalto Farina di Basalto® (FdB) è stato testato in termini di tasso di germinazione e inibizione della crescita delle plantule di *Triticum aestivum* L. (Tabella 5). In generale, hanno mostrato un effetto di germinazione e di crescita delle plantule che dipendeva dalla concentrazione. Il tasso di germinazione più alto (100%) è stato rilevato in presenza del trattamento con basalto FdB®. Tuttavia, il tasso di germinazione più basso (5%) è stato rilevato in presenza di olio essenziale di *C. sinensis*. Gli oli essenziali sembrano anche diminuire l'allungamento ipocotile e radicale. Tuttavia, è stata osservata una stimolazione della lunghezza dell'ipocotile e delle radichette in presenza della polvere di basalto Farina di Basalto® (FdB).

Tabella 5 Attività fitotossica degli oli essenziali, degli estratti acquosi e della Farina di Basalto® (FdB) su piantine di *Triticum aestivum* L.

		Germination rate	Hypocotyl length (cm)	Radicle length (cm)
Essential oils (mg/mL)				
	0	100±1	5.05±0.74	8.94±0.49
<i>C. aurantium</i>	0.1	56.67±7.64	4.95±0.23	5.92±0.34
	0.3	46.67±10.41	4.84±0.97	4.98±0.43
	0.6	31.67±10.41	4.52±1.01	4.67±0.96
	1	16.67±2.89	3.01±0.35	4.40±0.20
	0	100±1	5.05±0.74	8.94±0.49
<i>C. sinensis</i>	0.1	48.33±2.89	3.45±0.04	4.42±0.46
	0.3	33.33±2.70	3.34±0.03	3.48±0.41
	0.6	28.33±5.77	3.02±0.25	3.17±0.26
	1	5±1.00	1.51±0.11	2.90±0.19
	0	100±2.00	3.84±0.21	6.44±0.35
Aqueous extracts (mg/mL)				
<i>C. aurantium</i>	2.5	90±5.00	3.96±0.23	5.93±2.84
	5	73.33±7.64	4.52±0.47	9.99±0.93
	10	51.67±2.87	4.2±0.25	7.65±0.26
	20	25.00±5.00	2.02±0.35	4.22±1.05

	0	100±2.00	3.84±0.21	6.44±0.35
	2.5	60.00±13.23	5.77±1.00	6.45±1.08
<i>C. sinensis</i>	5	55.00±5	4.35±0.55	5.08±0.55
	10	33.33±2.87	2.84±0.59	3.72±0.51
	20	21.67±5.77	1.83±0.28	1.33±0.27
"Farina di Basalto® type XF"				
	0	100±1	2.67±0.43	6.1±1.73
Farina di				
Basalto® (FdB)	1.5%	90±1	3.48±1.44	8.71±2.37
	3%	90±2	3.76±0.31	9.12±0.53
	5%	100±0	4.56±0.20	10.02±0.80
	10%	100±0	3.47±0.80	8.67±1.21

4. Discussione

Il limonene è stato il composto dominante rivelato negli oli essenziali analizzati. I nostri risultati sono simili a quelli riportati da Dosoky e Setzer (1966), Sarrou *et al.* (2013) e Trabelsi *et al.* (2014), che hanno riferito che gli oli essenziali di *C. aurantium* sono composti principalmente da limonene. Tuttavia, questi risultati non sono in accordo con quelli effettuati da Abderrazek *et al.* (2014) sull'olio essenziale di *C. aurantium* algerino, caratterizzato dalla ricchezza di linalolo, trans-carveolo e ossido di cis-linalolo. Per l'olio essenziale di *C. sinensis* lo stesso risultato è stato riportato da Oyedji *et al.* (2020) e Manzour *et al.* (2005), rivelando che il limonene è il composto principale.

Il limonene è il composto principale. Tuttavia, in precedenza è stata riportata una quantità variabile di costituenti dell'olio essenziale di *C. sinensis* (González-Mas *et al.*, 2019). Le variazioni qualitative e quantitative rispetto a questo studio possono essere dovute a vari fattori come il genotipo, la stagione, lo stadio di maturazione e i fattori pedoclimatici che si verificano nel luogo di origine della pianta Dosoky e Setzer (1966).

L'estratto di *C. aurantium* ha rivelato i migliori contenuti di fenoli e flavonoidi totali. In linea con ciò, il nostro precedente lavoro su *C. aurantium* ha rivelato l'identificazione di sette derivati flavonoidi, tra cui cinque flavanoni (eriodictyol, esperidina, naringenina-rutinoside, eriocitrina, brutieridina), un flavonolo (quercetina) e un limonoide (limonina), dove l'esperidina era il principale (Elimem *et al.*, 2023). Tuttavia, i nostri risultati sono inferiori a quelli riportati per altre specie di *Citrus* come *C. reticulata*, *C. Unshiu* (Ghasemi *et al.*, 2009) e *C. aurantifolia* (Loizzo *et al.*, 2012). Inoltre, i nostri risultati sono inferiori a quelli

rivelati per gli estratti di metanolo provenienti dalla Turchia (Değirmenci e Erkurt., 2020). Questa variazione potrebbe essere dovuta al solvente utilizzato o al processo di estrazione.

Gli oli essenziali e gli estratti acquosi sono stati esaminati anche per la loro attività antiossidante. Diversi studi sulla composizione chimica e sulla bioattività di diversi oli di agrumi hanno riportato la loro forte attività di rimozione dei radicali (El-Akhal *et al.*, 2015). La capacità antiossidante totale degli estratti di piante/oli essenziali è influenzata dalla loro composizione chimica e dal contenuto di antiossidanti. Secondo i nostri risultati, tutti gli estratti acquosi studiati hanno mostrato una capacità antiossidante maggiore rispetto agli oli essenziali. È stata osservata una correlazione diretta tra attività DPPH, polifenoli totali, flavonoidi e tannini condensati ($r=-0,952$, $r=-0,979$, $r=-0,961$, $p<0,01$). Infatti, i fenoli sono composti vegetali molto significativi e possiedono un'importante attività antiossidante grazie ai loro gruppi idrossilici. Diversi studi hanno riportato che il contenuto di fenoli è ricco negli estratti di agrumi e ha diversi livelli di cattura dei radicali liberi. In linea con ciò, Zou *et al.* (2016) hanno riportato che è stata trovata un'alta correlazione tra l'attività di scavenging e il contenuto di flavonoidi nei rami di Citrus. Tra i flavonoidi di Citrus, l'effetto antiossidante di naringina, esperidina e naringenina è comunemente studiato. Inoltre, i diversi limonoidi hanno capacità antiossidanti variabili e alcuni sono addirittura migliori della vitamina C. Tuttavia, la capacità dei composti fenolici di ridurre il radicale DPPH varia da un composto all'altro ed esiste una sinergia tra questi e/o altri costituenti presenti negli estratti (Lagha-Benamrouchea e Madani., 2013).

Gli oli essenziali analizzati hanno rivelato un'attività inferiore. Infatti, l'olio essenziale è solitamente caratterizzato da una composizione complessa ed è difficile attribuire l'effetto antiossidante di un olio essenziale totale a uno o pochi composti attivi. Sia i composti minori che quelli maggiori dovrebbero contribuire in modo significativo all'attività dell'olio (Jaouadi *et al.*, 2023). Si suggerisce che, anche a basse concentrazioni, i componenti dell'aroma autentico come il γ -terpinene, il terpinolene, il geraniolo, il β -pinene e il mircene abbiano elevate attività antiossidanti (Sarrou *et al.*, 2013). L'attività insetticida contro il *Tribolium castaneum* ha indicato che gli oli essenziali e la "Farina di Basalto®" erano significativamente più efficaci degli estratti acquosi. I nostri risultati evidenziano lavori recenti che hanno rivelato il ruolo della farina di basalto di Farina di Basalto® (FdB) nel migliorare la tolleranza delle colture ai parassiti (Elimem *et al.*, 2021; Elimem *et al.*, 2023). Per quanto riguarda gli oli essenziali, è generalmente nota la loro buona efficacia in termini di tossicità. Gli oli essenziali fanno parte del sistema di difesa naturale delle piante e molti di essi si sono dimostrati efficaci e alcuni sono sfruttati per le pratiche di gestione integrata

di parassiti e patogeni. È già stato stabilito che gli oli essenziali di diverse specie di agrumi sono efficaci contro un'ampia gamma di parassiti e patogeni (Khanikor *et al.*, 2021). In linea con ciò, un buon numero di studi ha riportato il potenziale insetticida degli oli essenziali di *Citrus* estratti da diverse specie di *Citrus* e dei loro costituenti in tempi diversi, alcuni dei quali sono stati commercializzati per essere utilizzati dai consumatori contro gli insetti nocivi.

Gli oli essenziali di semi di *Citrus reticulata* var. *kinnow*, *Citrus reticulata* var. *freuttrall*, *Citrus sinensis* e *Citrus jambhiri* sono stati testati contro *Tribolium castaneum* con un'efficacia promettente in termini di LC50 per *Citrus jambhiri*, seguito da *Citrus reticulata* e *Citrus sinensis* (Bilal *et al.*, 2015). Analogamente Oboh *et al.* (2017) hanno registrato un'efficacia insetticida dell'olio essenziale di buccia di *C. sinensis* contro *Callosobruchus mamulatus*, *Tribolium confusum*, *Sitophilus oryzae* (Khanikor *et al.*, 2020) [5]. Su questa linea, Oyedeji *et al.* (2020) hanno rivelato anche che la buccia contiene oli essenziali che mostrano attività insetticida contro diversi insetti come mosche domestiche, zanzare, tonchi del riso e coleotteri della farina rossa. In effetti, la capacità insetticida è giustificata dal meccanismo d'azione dei loro singoli composti principali (Benelli *et al.*, 2019). Nel nostro caso, il limonene potrebbe essere il componente principale che esercita una buona efficacia insetticida.

La valutazione individuale della proprietà insetticida di questo composto comune è stata eseguita da diversi ricercatori e alcuni di essi sono risultati attivi contro gli insetti nocivi. In effetti, il limonene e altri limonoidi di *Citrus* sono stati segnalati come repellenti per gli insetti, deterrenti per l'alimentazione, distruttori della crescita e inibitori della riproduzione contro un'ampia gamma di complessi di parassiti Khanikor *et al.* Inoltre, composti dell'olio essenziale come il linalolo, l' α -pinene, il β -micrene, sono stati segnalati in letteratura per la loro tossicità da contatto contro *S. zeamais* e *T. castaneum* (Kim e Lee., 2014). In effetti, è stato ben documentato che i monoterpeni sono attivi come fumiganti, repellenti o insetticidi nei confronti degli insetti dei prodotti conservati. Tuttavia, il potenziale dei composti dell'olio essenziale potrebbe portare allo sviluppo di sinergici, utilizzati in combinazione per aumentare la letalità e l'efficacia contro gli insetti nocivi (Isman., 2006; Ismail., 2021).

L'efficacia repellente complessiva degli oli essenziali testati è risultata superiore a quella degli estratti acquosi. Gli oli essenziali sono miscele volatili di idrocarburi con una diversità di gruppi funzionali e la loro attività repellente è stata collegata alla presenza di monoterpeni e sesquiterpeni. In linea con ciò, un precedente studio condotto da Deletre *et al.* (2016) ha confermato che gli oli essenziali possono mostrare

un'efficacia repellente anche senza alcun contatto diretto con gli insetti. Tale azione repellente potrebbe essere ottenuta grazie alla penetrazione dei costituenti volatili degli oli essenziali nel sistema respiratorio dell'insetto bersaglio. Infatti, alcuni monoterpeni come l' α -pinene e il limonene presenti negli oli essenziali da noi testati sono costituenti comuni di numerosi oli essenziali descritti in letteratura come dotati di attività repellente nei confronti delle zanzare (2010). Khanikor *et al.* (2020) hanno rivelato che il limonene e i limonoidi degli agrumi sono segnalati come repellenti per gli insetti, deterrenti per l'alimentazione, distruttori della crescita e inibitori della riproduzione contro un'ampia gamma di complessi di parassiti. Inoltre, l'attività insetticida di questo composto è stata segnalata come efficace contro la Tuta assoluta (Lepidoptera: Gelechiidae). Inoltre, Da-Camara *et al.* (2015) hanno riportato che il limonene ha una forte attività repellente contro il *Tribolium confusum* e il gene TconOR93 è stato determinato come uno dei principali effettori nella percezione di questo composto. Tuttavia, la maggiore potenza insetticida o repellente degli oli testati può riferirsi a effetti sinergici, antagonisti o additivi tra il limonene e gli altri costituenti minori di questi oli.

Il presente studio ha inoltre rivelato che l'aumento della concentrazione degli oli essenziali testati ha ritardato la germinazione dei semi e ridotto la crescita delle radichette e la lunghezza dell'ipocotile di *Triticum aestivum* L. Nel nostro lavoro, il limonene è stato il principale costituente degli oli essenziali studiati. In letteratura, diversi studi hanno riportato la possibile fitotossicità del limonene, il principale costituente degli oli essenziali studiati.

Infatti, Caputo *et al.* (2020) hanno rivelato che questo componente è in grado di inibire, in modo significativo, la germinazione di *Raphanus sativus* L. e l'allungamento radicale di *L. sativum*. Tuttavia, questo composto non ha mostrato effetti significativi contro i semi di *Avena fatua*, *Echinochloa crus-galli*, *Phalaris minor* e *Zea mays*. Tuttavia, il limonene è risultato debolmente fitotossico contro *Amaranthus retroflexus* L., *Centaurea salsotitialis* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Rumex nepalensis* Spreng., *Sinapis arvensis* L. e *Sonchus oleraceus* L.. Alla luce di ciò, è possibile postulare che l'attività fitotossica osservata per l'olio essenziale di *Citrus* possa essere correlata al suo costituente principale, anche se non si può escludere un'attività sinergica con altri composti minori.

5. Conclusioni

L'analisi comparativa della composizione chimica degli oli essenziali tunisini di *C. aurantium* e *C. sinensis* ha rivelato la loro ricchezza di limonene. Gli estratti acquosi hanno mostrato la migliore capacità di scavenging dei radicali, correlata al loro contenuto fenolico, il che suggerisce che dovrebbero essere considerati una fonte naturale di alimenti benefici e salutari. D'altra parte, gli oli essenziali testati e la Farina di Basalto® (FdB) hanno rivelato un'importante attività insetticida contro *T. castaneum*. Pertanto, possono rappresentare alternative naturali e sicure per il controllo dei parassiti. I nostri risultati hanno anche rivelato che la Farina di Basalto® (FdB) ha un impatto positivo sui parametri di crescita del *Triticum aestivum* L. Questi risultati sottolineano l'importanza della composizione fitochimica delle specie di agrumi e della Farina di Basalto® (FdB) e potrebbero supportarne l'utilizzo in un ampio campo di applicazione.

6. Ringraziamenti:

Gli autori ringraziano il Ministero tunisino della Ricerca Scientifica e della Tecnologia, Scuola Superiore di Agricoltura di Mograne e Basalti Orvieto S.R.L.

Finanziamenti: L'APC è stato finanziato da Basalti Orvieto S.R.L.

Conflitto di interessi. Gli autori non dichiarano alcun conflitto di interesse.

7. Riferimenti

- [1]. Abbott WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18 (2): 265–267.
- [2]. Abderrezak MK, Abaza I, Aburjai T, Kabouche A, Kabouche Z. 2014. Comparative compositions of essential oils of *Citrus aurantium* growing in different soils. *Journal of Materials and Environmental Sciences*. *Journal of Materials and Environmental Science* 5 (6), 1913-1918.
- [3]. Bachrouch, O, Zarroug Y, Bourgou S, Charradi K, Sriti J, Msaada K, Jallouli S, Chaibi K, Haouel Hamdi S, Abderraba M, Médiouni Ben Jemâa J. 2023. Pennyroyal Essential Oil as a Green Pesticide for *Tribolium castaneum* (Herbst) Management and its Effects on Substrate Quality and Acetylcholinesterase Inhibition. *Journal of the Mexican Chemical Society* 67(2).
- [4]. Badalamenti N, Bruno M, Schicchi R, Geraci A, Leporini M, Gervasi L, Tundis R, Loizzo MR. 2022. Chemical Compositions and Antioxidant Activities of Essential Oils, and Their Combinations, Obtained from Flavedo By-Product of Seven Cultivars of Sicilian *Citrus aurantium* L.. *Molecules* 27, 1580.
- [5]. Benelli G, Pavelab R, Maggid F, Wandjoud JGN, Fofiee GBY, Koné-Bambae D, Sagratini G, Vittorid S, Capriolid G. 2019. Insecticidal activity of the essential oil and polar extracts from *Ocimum*

- gratissimum* grown in Ivory Coast: Efficacy on insect pests and vectors and impact on non-target species. *Industrial Crops and Products* 132, 377-385.
- [6]. Bilal H, Akram W, Hassan SA, Zia A, Bhatti AR, Mastoi MI, Aslam S. 2015. Insecticidal and repellent potential of citrus essential oils against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *Pakistan Journal of Zoology* 47(4).
- [7]. Caputo L, Cornara L, Bazzicalupo M, De Francesco C, De Feo V, Trombetta D, Antonella S. 2020. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from Peels of Three *Citrus* Species. *Molecules* 25, 1890.
- [8]. Chetoui I, Messaoud C, Boussaid M, Zaouali Y. 2013. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content variation among Tunisian natural populations of *Rhus tripartita* (Ucria) Grande and *Rhus pentaphylla* Desf. *Industrial Crops and Products* 2013, 51, 171–177.
- [9]. Da Camara CAG, Akhtar Y, Isman MB, Seffrin RC, Born FS. 2015. Repellent activity of essential oils from two species of *Citrus* against *Tetranychus urticae* in the laboratory and greenhouse. *Journal of Crop Protection* 74, 110e115.
- [10]. Değirmenci H, Erkurt H. 2020. Relationship between volatile components, antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil, hydrosol and extracts of *Citrus aurantium* L. flowers. *Journal of Infection and Public Health* 13 (1): 58-67.
- [11]. Deletre E, Schatz B, Bourguet D, Chandre F, Williams L, Ratnadass A. Thibaud Martin. Prospects for repellent in pest control: current developments and future challenges. *Chemoecology* 26: 127–142.
- [12]. Dosoky NS, Setzer WN. 2018. Biological Activities and Safety of *Citrus* spp. Essential Oils. *International Journal of Molecular Sciences* 19, 1966.
- [13]. El Rasafi T, Nouri M, Bouda S, Haddioui A. 2016. The Effect of Cd, Zn and Fe on Seed Germination and Early Seedling Growth of Wheat and Bean. *Ekológia (Bratislava)* 35(3):213-223.
- [14]. El-Akhal F, El Ouali Lalami A, Guemmouh R. 2015. Larvicidal activity of essential oils of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantium* (Rutaceae) cultivated in Morocco against the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 5(6): 458-462.
- [15]. Elimem M, Jaouadi R, Bouslema T, Kalboussi M, Lahfef C, Rouz S, Kharroubi H, Boulila A, Kouki S, Ragnoni G, Pizzuti G, Primavera F, Alessandro Riccini A. 2023. Assessing the insecticidal effect of *Citrus aurantium* and *Nerium oleander* extracts and basalt "Farina di Basalto®" as biological alternatives to control *Aphis punicae* and *Planococcus citri* in an organic pomegranate orchard. *Plant Protection Sciences* 59(4):356-368.
- [16]. Elimem M, Kalboussi M, Lahfef C, Rouz S, Kharroubi H, Kouki S, Ragnoni G, Pizzuti G, Primavera F, Riccini A, Cari A. 2021. Evaluation of insecticidal efficiency of Basalt powder "Farina di Basalto®" to control *Tribolium castaneum* (Coleoptera; Tenebrionidae) *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera; Bostrichidae) and *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera; Pyralidae) on stored wheat. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, e-ISSN: 2319-2380, p-ISSN: 2319-2372. 14, 5 Ser. I, pp 01-06.
- [17]. Ghasemi K, Ghasemi Y, Ebrahimzadeh MA. 2009. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 *Citrus* species peels and tissues. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 22 (3): 277-281.
- [18]. González-Mas MC, Rambla JL, López-Gresa MP, Blázquez MA, Granell A. 2019. Volatile Compounds in Citrus essential oils: A Comprehensive Review. *Frontiers Plant Science* 10, 12.
- [19]. Ismail SM. Synergistic Efficacy of Plant Essential Oils with Cypermethrin and Chlorpyrifos Against *Spodoptera littoralis*, Field Populations in Egypt. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research* 9 (2), 128-137.

- [20]. Isman MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual review of Entomology* 51, 45e66.
- [21]. Jaouadi R, Boussaid M, Zaouali Y. 2023. Variation in essential oil composition within and among Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss et Reut. (Lamiaceae) populations: Effect of ecological factors and incidence on antiacetylcholinesterase and antioxidant activities. *Biochemical Systematics and Ecology* 104543.
- [22]. Kammoun A, Ahmed E, Altyar AE, Gadc HA. 2021. Comparative metabolic study of *Citrus sinensis* leaves cultivars based on GC–MS and their cytotoxic activity. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 198, 113991.
- [23]. Khanikor B, Adhikari K, Rabha, B. 2021. *Citrus* Essential Oils: A Suite of Insecticidal Compounds. 2021, DOI: 10.5772/intechopen.95887.
- [24]. Kim S, Lee DW. 2014. Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 17, 13-17.
- [25]. Lagha-Benamrouchea S, Madani KP. 2013. Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. *Industrial Crops and Products* 723–730.
- [26]. Loizzo MR, Tundis R, Bonesi M, Menichini F, De Luca D, Colicad C, Menichinia F. 2012. Evaluation of *Citrus aurantifolia* peel and leaves extracts for their chemical composition, antioxidant and anti-cholinesterase activities. *Journal of Science Food and Agriculture* 92(15):2960-7.
- [27]. Manzur M, Luciardi MC, Amparo Blázquez A, Alberto MR, Cartagena E, Arena ME. 2023. *Citrus sinensis* Essential Oils an Innovative Antioxidant and Antipathogenic Dual Strategy in Food Preservation against Spoilage Bacteria. *Antioxidants*. *Antioxidants* 12, 246.
- [28]. Nerio LS, Olivero-Verbel J, Stashenko E. 2010. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresour. Technol* 101, 372–378.
- [29]. Oboh G, Ademosun AO, Olumuyiwa TA, Olasehinde TA, Ademiluyi AO, Adeyemo AC. 2017. Insecticidal activity of essential oil from orange peels (*Citrus sinensis*) against *Tribolium confusum*, *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus oryzae* and its inhibitory effects on acetylcholinesterase and Na⁺/K⁺-ATPase activities. *Phytoparasitica* 45(4): 501-8.
- [30]. Oyedeji AO, Okunowo WO, Osuntoki AA, Olabode TB, Ayo-folorunso F. 2020. Insecticidal and biochemical activity of essential oil from *Citrus sinensis* peel and constituents on *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus zeamais*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 104643.
- [31]. Roussos PA. 2016. Orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). In: *Nutritional composition of fruit cultivars*. Academic Press: Cambridge, UK. 469-496.
- [32]. Sarrou E, Chatzopoulou P, Dimassi-Theriou K, Therios L. 2013. Volatile Constituents and Antioxidant Activity of Peel, Flowers and Leaf Oils of *Citrus aurantium* L. Growing in Greece. *Molecules* 18, 10639-10647; doi: 10.3390/molecules180910639.
- [33]. Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical reviews in food science and nutrition* 45, 287–306.
- [34]. Sun B, Richardo DSJM, Spranger I. 1998. Critical factors of vanillin assay for catechin and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 4267–4274.
- [35]. Swingle WT, Reece PC. 1967. The botany of citrus and its wild relatives, p. 389–390. In: W. Reuther, H.J. Webber, L.D. Batchelor (eds.). *The citrus industry*, Vol.1. University of California Press, Berkley, CA.
- [36]. Trabelsi D, Haj Ammar A, Bouabdallah F, Zagrouba, F. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils and Methanolic Extracts of Tunisian *Citrus aurantium* L. *IOSR journal of environmental science, toxicology and food technology* 2319-2402, p- ISSN: 2319-2399. Volume 8, Issue 5 Ver. II, PP 18-27.

- [37]. Velázquez-Nuñez MJ, Raúl Avila-Sosa R, Palou E, López-Malo A. 2013. Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control* 31, 1-4.
- [38]. Zhang JW, BY L, XX L, ZhengY, Wang D, Zhang Z, Zeng D, Du SS. 2022. Chemical Diversity and Anti-Insect Activity Evaluation of Essential Oils Extracted from Five *Artemisia* Species. *Plants* 2022, 11: 1627.
- [39]. Zhao HY, Yang L, Wei J, Huang M, Jiang JG. 2012. Bioactivity evaluations of ingredients extracted from the flowers of *Citrus aurantium* L. var. amara. *Food Chemistry* 135:1275–81.
- [40]. Zou Z, Xi W, Hu Y, Chao N, Zhou Z. 2016. Antioxidant activity of *Citrus* fruits. *Food Chemistry* 885–896.