Borsa di studio attivata ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del 10/08/2021

Titolo del progetto: Valorizzazione di olio ozonizzato per usi veterinari

La borsa sarà attivata sul seguente corso di dottorato accreditato per il XXXVII ciclo:
BIOLOGIA CELLULARE E DELLO SVILUPPO

Responsabile scientifico: Dini Luciana
Area per la quale si presenta la richiesta: GREEN
Numero di mensilità da svolgere in azienda: 6
Numero di mensilità da svolgere all'estero: 6 presso impegno ad identificare nei tempi previsti
Azienda: Azienda Agricola Cerulli Spinozza (Tenuta Cerulli Spinozzi s.r.l. S.S.150 km 17.600 64020 - Canzano (TE) – Italy Phone 0861 57193, info@cerullispinozzi.it
Il Dipartimento è disponibile a cofinanziare per un importo pari a euro: 10000 Euro
Dipartimento finanziatore: DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA E BIOTECNOLOGIE "CHARLES DARWIN" con delibera del 20/09/2021

Progetto di ricerca:
Sia a livello nazionale che europeo, sotto la spinta dei noti eventi pandemici e cambiamenti climatici, si promuovono, in tutti i settori produttivi, attività eco compatibili ed ecosostenibili, sotto l'egida del cambiamento della "transizione ecologica". Ben si inserisce in questa nuova visione dello sviluppo economico la presente proposta progettuale, che vuole valorizzare la produzione di olio di oliva anche in settori solo apparentemente lontani tra loro come quelli biomedici, cosmetici, nutraceutici e veterinari. Nello specifico olio di oliva ozonizzato addizionato o meno con sostanze naturali estratte principalmente dagli scarti del vino (vinacce, vinaccioli). Infatti, nelle vinacce esauste e nei vinaccioli si possono trovare diversi composti bioattivi tra cui: proteine, polifenoli e acidi grassi polinsaturi. La preparazione dell'olio ozonizzato seguirà procedure totalmente ecocompatibili e ecosostenibili in linea con quanto indicato dalla transizione ecologica.
La procedura di ozonizzazione, che è già stata sviluppata durante precedenti attività di ricerca, dovrà subire un sostanzioso miglioramento, con lo scopo di brevettazione, per prevedere non solo l'ozonizzazione di olio di oliva extravergine ma anche oli vegetali diversi, quali quelli provenienti da semi di girasole, uva, sansa e colza. Di conseguenza si potranno prevedere applicazioni aggiuntive a quella qui proposta nell'ambito della zootecnia/veterinaria. L'olio di oliva ozonizzato può avere numerosi campi di applicazione: oltre alla cosmesi, la medicina con diversi aspetti applicativi incluso lo sport, è molto versatile per la veterinaria. In particolare, il campo di impiego proposto sarà quello di sviluppare alcuni prodotti a base di olio di oliva ozonizzato per specifici usi in campo Veterinario e, in particolare, nella prevenzione e nella cura delle mastiti di bovini, ovini e caprini.
L'elevato potenziale dell'olio extravergine di oliva ozonizzato è da ricercare nel fatto che questo prodotto unisce le diverse proprietà dell'olio extravergine di oliva e dell'ozono. Il processo di ozonizzazione dell'olio fa sì che questo mantenga inalterate le sue proprietà antiossidanti (date dal contenuto in polifenoli) e assuma le proprietà antimicrobiche dell'ozono. Questo aspetto lo rende particolarmente efficace nella cura delle infezioni, in quanto l'olio passa facilmente i tessuti e rilascia lentamente ozono che esplica così la sua potente azione antimicrobica. Le peculiari proprietà dell'olio ozonizzato sono date dalla formazione, durante il processo di trasformazione, di molecole come gli OZONIDI, in cui il doppio legame degli acidi grassi dell'olio viene saturato dai tre atomi di ossigeno, imprigionandolo e mantenendolo stabile, rendendolo disponibile e pronto all'uso per applicazioni topiche. Risulta particolarmente indicato per le patologie della pelle, in quanto riduce in maniera quasi assoluta la possibilità di

infezioni, funghi e contaminazioni batteriche. Queste proprietà, che possono essere vantaggiosamente applicate anche all'uomo, risultano ancora più efficaci sugli animali, i cui tempi di guarigione sono molto ridotti. Questo prodotto risulta indicato per le patologie sia degli animali da compagnia che degli animali da latte e da carne, inclusi gli equini in quanto riduce in maniera quasi assoluta la possibilità di infezioni, funghi e contaminazioni batteriche.
L'olio ozonizzato possiede peculiari proprietà che in campo veterinario lo rende particolarmente indicato per applicazioni cutanee, chirurgiche, odontoiatriche e per la cura delle mastiti vaccine, patologia questa per cui risulta essere altamente efficace. Infatti, per quest'ultima patologia, la possibilità di sostituire efficacemente l'uso di antibiotici o farmaci di sintesi con effetti collaterali e di accumulo nelle carni o nel latte, l'olio ozonizzato produce effettivi vantaggi economici per gli allevatori in quanto non si ha bisogno di tempi di sospensione della produzione del latte che si dovrebbero sostenere con l'uso di antibiotici.
In sintesi, questo progetto si propone di sviluppare prodotti specifici e idonei per i diversi animali da allevamento (es. bovini, caprini, ovini) per la produzione di latte per la prevenzione e la cura delle mastiti. La mastite è una delle principali patologie nell'allevamento degli animali da latte, sia considerando la frequenza con cui si presenta sia per l'elevata incidenza dal punto di vista produttivo ed economico. La mammella è l'organo più sottoposto a "stress" funzionale: deve infatti sintetizzare il latte e tutti i suoi componenti a partire dalla circolazione sanguigna, e inoltre subisce una manipolazione meccanica quotidiana in seguito alla mungitura, specialmente in quegli animali con elevata capacità produttiva oramai presenti nei nostri allevamenti. I fattori predisponenti e scatenanti delle mastiti possono essere considerati quasi infiniti, ma si manifestano in un'unica espressione, ovvero la presenza di agenti patogeni all'interno del tessuto ghiandolare mammario. A seconda che si tratti di una forma clinica o subclinica, questa patologia può provocare nell'animale una reazione sistemica che può manifestarsi con sintomi più o meno gravi come febbre, depressione, edema, dolore alla mammella. Provoca, inoltre, l'alterazione delle componenti del latte, con presenza di coaguli ("stoppini") e aumento della conta cellulare. In ogni caso, rappresenta ancora uno dei principali problemi da risolvere nell'allevamento da latte. La presenza di infiammazione, a livello della ghiandola mammaria come in qualsiasi altro organo, provoca una riduzione della funzionalità che si traduce in una produzione ridotta o azzerata. Le bovine che si ammalano di mastite clinica subiscono un calo della produzione temporaneo, a volte anche di entità notevole, che però manifesta degli effetti su tutta la durata della lattazione; infatti, si osserva spesso come la ripresa della capacità produttiva non raggiunga i livelli precedenti l'episodio di malattia. A seguito di studi preliminari eseguiti in collaborazione con alcuni veterinari dell'Università di Bologna, è emerso preponderante un positivo effetto dell'olio di oliva ozonizzato per la prevenzione e la cura delle mastiti negli ovini, caprini e bovini.
A completamento di questa principale attività, una linea di prodotti che verrà sviluppata successivamente è quella indirizzata anche al benessere degli animali da compagnia, con una serie di prodotti per la toletta degli animali.

La prima parte del progetto sarà focalizzata sull'individuazione delle specifiche ottimali del prodotto. A tal fine si procederà con l'analisi delle matrici di partenza di diverse tipologie di olii, selezionati in maniera tale da avere una buona copertura della biodiversità presente all'interno della Regione Lazio, e con l'individuazione di quelle caratteristiche primarie e necessarie per la sua applicazione finale. Le attività per il conseguimento del presente obiettivo realizzativo saranno articolate nella seguente modalità:
– Caratterizzazione chimico-fisica delle matrici di partenza ed individuazione delle caratteristiche finali del prodotto:
– Individuazione di opportuni eccipienti per la formulazione del prodotto commerciale finale con particolare attenzione alle sostanze ottenibili da vinacce e vinaccioli.
Con la seconda parte del progetto le attività saranno focalizzate sull'analisi ed ottimizzazione del processo di ozonizzazione da applicare agli olii scelti durante la prima fase:
– Analisi del processo di ozonizzazione degli olii e definizione dei parametri fondamentali:
– Confronto diretto tra l'olio pre- e post- trattamento per ottenere un quadro preciso dell'evoluzione del sistema, e in particolare del cambiamento delle condizioni chimico-fisiche nel corso del processo di ozonizzazione.
La terza fase del progetto prevede l'allestimento di test di biocompatibilità ed efficacia antibatterica e anti-infiammatoria in vitro e in vivo degli oli ozonizzati scelti.
L'obiettivo di questa fase è testare la reale efficacia dei prodotti ottenuti sia con esperimenti su cellule in vitro, ma

soprattutto stabilendo collaborazioni dirette con gli allevatori, mediante test in vivo, che permetteranno di definire le dosi e i tempi di somministrazione.

Titolo del progetto (inglese): Enhancement of ozonated oil for veterinary applications

Progetto di ricerca (inglese):
Both at the national and European level, under the pressure of known pandemic events and climate change, eco-compatible and eco-sustainable activities are promoted in all production sectors, under the aegis of changing the "ecological transition". This project proposal, which aims to enhance the production of olive oil even in sectors that are only apparently distant from each other, such as biomedical, cosmetic, nutraceutical and veterinary sectors, fits well into a new vision of economic development. The project involves ozonated olive oil with or without added natural substances extracted mainly from wine waste (pomace, grape seeds). Indeed, various bioactive compounds can be found in the exhausted pomace and grape seeds, including proteins, polyphenols and polyunsaturated fatty acids. The preparation of the ozonated oil will follow totally environmentally friendly and eco-sustainable procedures in line with what is indicated by the ecological transition.
The ozonation procedure, which has already been developed during previous research activities, need to undergo a substantial improvement with the aim of patenting thus providing not only the ozonation of extra virgin olive oil but also different vegetable oils, such as those coming from sunflower seeds, grapes, pomace and rapeseed. Consequently, additional applications to the ones proposed here may be envisaged in the field of animal husbandry / veterinary. Ozonated olive oil can have numerous fields of application: in addition to cosmetics, medicine with different application aspects including sport, it is very versatile for the veterinarian application. In particular, the proposed field of use will be to develop some products based on ozonated olive oil for specific uses in the veterinary area and, in particular, in the prevention and treatment of mastitis in cattle, sheep and goats.
The high potential of ozonated extra virgin olive oil is to be found in the fact that this product combines the different properties of extra virgin olive oil and ozone. The ozonation process of the oil ensures that it maintains its antioxidant properties (given by the polyphenol content) and takes on the antimicrobial properties of ozone. This aspect makes it particularly effective in treating infections, as the oil easily passes the tissues and slowly releases ozone which thus exerts its powerful antimicrobial action. The peculiar properties of ozonated oil are given by the formation, during the transformation process, of molecules such as OZONIDES, in which the double bond of the fatty acids of the oil is saturated by the three oxygen atoms, imprisoning it and keeping it stable, making it available and ready to use for topical applications. It is particularly suitable for skin diseases, as it almost absolutely reduces the possibility of infections, fungi and bacterial contamination. These properties, which can also be advantageously applied to humans, are even more effective on animals, whose healing times are very short. This product is indicated for the pathologies of both pets and dairy and meat animals, including horses as it almost absolutely reduces the possibility of infections, fungi and bacterial contamination.

Ozonated oil has peculiar properties that in the veterinary field make it particularly suitable for skin, surgical, dental applications and for the treatment of vaccine mastitis, a pathology for which it is highly effective. Indeed, for the latter pathology, the possibility of effectively replacing the use of antibiotics or synthetic drugs with side effects and accumulation in meat or milk, ozonated oil produces real economic benefits for farmers as there is no need for withdrawal periods of milk production which should be supported by the use of antibiotics.
In summary, this project aims to develop specific products suitable for different farm animals (eg cattle, goats, sheep) for the production of milk for the prevention and treatment of mastitis. Mastitis is one of the main diseases in dairy farming, both considering the frequency with which it occurs and the high incidence from a production and economic point of view. The udder is the organ most subjected to functional "stress": it must in fact synthesize milk and all its components starting from the blood circulation, and also undergoes daily mechanical manipulation following milking, especially in those animals with high production capacity now present in our farms. The predisposing and triggering

factors of mastitis can be considered almost infinite, but they manifest themselves in a single expression, namely the presence of pathogens within the mammary glandular tissue. Depending on whether it is a clinical or subclinical form, this pathology can cause a systemic reaction in the animal that can manifest itself with more or less severe symptoms such as fever, depression, edema, breast pain. It also causes alteration of the milk components, with the presence of clots ("wicks") and an increase in cell count. In any case, it still represents one of the main problems to be solved in dairy farming. The presence of inflammation, at the level of the mammary gland as in any other organ, causes a reduction in functionality which results in reduced or zero production. Cows that fall ill with clinical mastitis suffer a temporary decrease in production, sometimes even of a considerable extent, which however manifests effects on the entire duration of lactation; in fact, it is often observed that the recovery of production capacity does not reach the levels prior to the episode of the disease. Following preliminary studies carried out in collaboration with some veterinarians of the University of Bologna, a positive effect of ozonated olive oil emerged for the prevention and treatment of mastitis in sheep, goats and cattle.

The activities or research will be expanded including a line of products that will be developed later is also addressed to the welfare of pets, with a series of products for the grooming of animals.

The first part of the project will be focused on identifying the optimal product specifications. To this end, we will proceed with the analysis of the starting matrices of different types of oils, selected in such a way as to have a good coverage of the biodiversity present within the Lazio Region, and with the identification of those primary and necessary characteristics for its final application. The activities for the achievement of the objectives of this project will be articulated in the following ways:

- Chemical-physical characterization of the starting matrices and identification of the final characteristics of the product:
- Identification of suitable excipients for the formulation of the final commercial product with particular attention to the substances obtainable from pomace and grape seeds.

With the second part of the project, the activities will be focused on the analysis and optimization of the ozonation process to be applied to the oils chosen during the first phase;

- Analysis of the ozonation process of oils and definition of the fundamental parameters;
- Direct comparison between the pre- and post-treatment oil to obtain a precise picture of the evolution of the system, and in particular of the change in the chemical-physical conditions during the ozonation process.

The third phase of the project involves the preparation of biocompatibility and antibacterial and anti-inflammatory efficacy tests in vitro and in vivo of the chosen ozonated oils.

The goal of this phase is to test the real effectiveness of the products obtained both with in vitro cell experiments, but above all by establishing direct collaborations with breeders, through in vivo tests, which will allow to define the doses and times of administration.