

VIII CONGRESSO NAZIONALE

Bari, 12 - 13 febbraio 2026

[parte 3]

Prosegue su questo numero la pubblicazione degli Atti dell'VIII Congresso Nazionale SIROE.

La prima parte è stata pubblicata sul numero di Natural 1 di aprile 2026.

VALUTAZIONE COMPARATIVA DELL'ATTIVITÀ VIRUCIDA E ANTIVIRALE DI OLI ESSENZIALI SU MODELLI VIRALI SURROGATI DI PATOGENI UMANI

F. Pellegrini¹, G. Lanave¹, C. Catella¹, G. Fracchiolla², V. Martella¹, M. Camero¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria,
Università degli Studi di Bari Aldo Moro, Valenzano (BA), Italia

²Dipartimento di Farmacia,
Università degli Studi di Bari Aldo Moro, Bari, Italia
e.mail: francesco.pellegrini@uniba.it

Introduzione. La crescente resistenza ai farmaci antivirali convenzionali e la continua emergenza di nuove minacce zoonotiche rendono urgente l'identificazione di nuovi agenti terapeutici. In questo contesto, le sostanze naturali, e in particolare gli oli essenziali (EOs) rappresentano candidati promettenti, grazie alla loro complessa composizione chimica e alle documentate proprietà antimicrobiche. La valutazione dell'efficacia *in vitro* di EOs contro virus animali di interesse veterinario, utilizzati anche come modelli surrogati per importanti patogeni umani, costituisce un approccio valido per lo sviluppo di strategie di controllo innovative ed eco-compatibili. In questo studio, le proprietà antivirali di vari EOs chimicamente caratterizzati (di: *Thymus vulgaris*, *Zingiber officinale*, *Citrus x limon*, *Melissa officinalis*) sono state valutate contro un pannello selezionato di virus a DNA e RNA, con e senza *envelope*, di rilevanza veterinaria e come surrogati predittivi per patogeni umani.

Materiali e Metodi. La composizione fitochimica degli EOs è stata determinata mediante gascromatografia-spettrometria di massa (GC-MS). La soglia di citotossicità è stata determinata preliminarmente tramite saggio colorimetrico XTT, calcolando la concentrazione citotossica al 20%, ed osservazione microscopica su linee cellulari (MDBK, CRFK).

Sulla base dei risultati ottenuti, sono stati condotti saggi di inibizione della replicazione virale mediante trattamento pre/post-infezione nonché saggi di attività virucida diretta (incubazione virus-OE a differenti intervalli di tempo), quantificando la riduzione del titolo virale in scala logaritmica (TCID₅₀/50 µL). I virus animali utilizzati come modelli surrogati includevano *Alphaherpesvirus* caprino 1 (CpHV-1, surrogato di *Herpes Simplex Virus*-2), *Coronavirus* felino (FCoV, modello per SARS-CoV-2), *Calicivirus* felino (FCV, surrogato di *Norovirus* umano) e virus della Diarrea Virale Bovina (BVDV, surrogato di *Hepatitis C Virus*).

Risultati. L'OE di *T. vulgaris* (chemotipo timolo 47%) ha dimostrato un duplice meccanismo d'azione contro FCoV, mostrando un'attività antivirale significativa a concentrazioni non citotossiche (27 µg/mL), associata all'inibizione della replicazione virale e una potente attività virucida a concentrazioni superiori (270 µg/mL), con una riduzione del titolo di 3.25 log₁₀ dopo 1h (1). L'EO di *Z. officinale* (zingiberene 32%) ha evidenziato un'attività esclusivamente virucida dose-dipendente contro CpHV-1, determinando la completa inattivazione virale a 139.6 µg/mL, verosimilmente mediante alterazione dell'*envelope* lipoproteico (2). Significativamente, l'EO di *C. x limon* (limonene 53%) ha mostrato efficacia anche contro il virus nudo FCV, notoriamente resistente ai disinfettanti lipofili, inducendo una riduzione del titolo di 1.25 log₁₀ dopo 8h a 3020 µg/mL (3). Gli OEs di *M. officinalis* e *C. x limon* hanno mostrato la maggiore capacità inattivante contro BVDV, con riduzioni rispettive di 2.00 e 2.25 log₁₀ dopo 8h, su BVDV rispetto a salvia, rosmarino e timo (4).

Conclusioni. I dati ottenuti dimostrano come gli OEs possiedano un'attività antivirale e virucida significativa, correlabile alla natura lipofila dei costituenti terpenici che interagiscono con le strutture pericapsidiche o capsidiche, compromettendo l'adsorbimento virale. L'efficacia dimostrata sia su virus provvisti di *envelope* che, seppur in misura minore, nudi, supporta il potenziale traslazionale di questi fitocomplessi. Nel complesso, i risultati pongono le basi per l'identificazione e l'impiego degli OEs come principi attivi in formulazioni disinfettanti *green*, presidi

Formulazione	Resa%	EE%	Diametro medio (µm)	Hausner ratio
F1	44,24 ± 0,81	-	920,07 ± 388,84	1,16 ± 0,07
F2	56,11 ± 3,76	-	918,18 ± 144,81	1,15 ± 0,02
F3	49,97 ± 4,75	39,02 ± 1,79	1712,83 ± 365,09	1,14 ± 0,05
F4	88,06 ± 5,55	78,72 ± 2,36	2045,03 ± 101,54	1,12 ± 0,02

Tabella 1. Resa%, EE%, diametro medio e indice di Hausner delle microparticelle essiccate. I dati sono riportati come media 3 SD.

topici o adiuvanti terapeutici in ambito veterinario e umano, in un'ottica integrata di One Health.

Parole chiave. Oli essenziali, Modelli virali surrogati, Attività virucida, One Health, Antivirali naturali

Bibliografia

- (1) Camero M., Lanave G., *et al.* (2019) - Virucidal activity of Ginger Essential Oil against Caprine Alphaherpesvirus-1. *Vet. Microbiol.*, 230: 150-155.
- (2) Catella C., Camero M., *et al.* (2021) - Virucidal and antiviral effects of *Thymus vulgaris* essential oil on feline coronavirus. *Res. Vet. Sci.*, 137: 44-47.
- (3) Pellegrini F., Camero M., *et al.* (2023) - Virucidal Activity of Lemon Essential Oil against Feline Calicivirus Used as Surrogate for Norovirus. *Antibiotics*, 12(2): 322.
- (4) Lanave G., Pellegrini F., *et al.* (2024) - *In Vitro* Virucidal Activity of Different Essential Oils against Bovine Viral Diarrhea Virus Used as Surrogate of Human Hepatitis C Virus. *Antibiotics*, 13(6): 514.

SISTEMI MICROPARTICELLARI RUMINO-PROTETTI PER IL RILASCIO INTESTINALE DELL'OLIO ESSENZIALE DI AGRUMI IN ANIMALI DA ALLEVAMENTO

M. de Gennaro¹, V. D'Amico¹, A. Maggolino², N. Denora¹, A. Lopodota¹

¹Dipartimento di Farmacia-Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Bari Aldo Moro, Bari, Italia

²Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari Aldo Moro, Bari, Italia
e.mail: milena.degennaro@uniba.it

Introduzione. L'olio essenziale di agrumi (LO), ricco di terpeni come il limonene, è di interesse zootecnico per le sue proprietà antiossidanti, che migliorano la salute dei ruminanti e la qualità dei prodotti lattiero-caseari. La sua volatilità e rapida degradazione nel rumine ne limitano però l'efficacia. Somministrare sostanze bioattive in grado di bypassare i prestomaci è difficile a causa della complessità dell'apparato digerente e dell'attività fermentativa del microbiota ruminale. Durante lo stress termico negli ovini, l'aumento della frequenza respiratoria può alterare l'equilibrio tra CO₂ e HCO₃⁻, favorendo l'acidosi ruminale. In questo contesto, lo studio mira a microincapsulare l'LO per proteggerlo e garantirne il rilascio mirato intestinale, dove può essere assorbito ed esplicare i suoi effetti benefici.

Materiali e Metodi. LO è stato microincapsulato mediante *prilling/vibration* (1), ottenendo microsfeere e microcapsule. Diverse emulsioni olio-in-acqua (O/A) sono state preparate variando il rapporto tra LO e alginato di sodio, e quella più stabile è stata scelta per il successivo processo d'incapsulamento. Le microsfeere sono state prodotte combinando l'emulsione con Eudragit® EPO nei rapporti 1:0,74 e 1:0,37 (F1 e F2). Le microcapsule, invece, erano costituite dall'emulsione come core, rivestita con Eudragit® EPO al 10,72% p/v (F3) o con Eudraguard® Control al 30% p/v (F4). I parametri di processo, inclusi il diametro dell'ugello, la frequenza di vibrazione e il potenziale applicato all'elettrodo, sono stati

preliminarmente ottimizzati. Le microparticelle ottenute sono state quindi caratterizzate in termini di resa produttiva, efficienza di incapsulamento (*Entrapment Efficiency*, EE%), dimensioni, morfologia (*Scanning Electron Microscopy*, SEM) e proprietà di flusso.

Risultati. I dati riportati in Tab. 1, evidenziano che F4 presenta valori di resa e di EE% più elevati. Sebbene il diametro medio delle microparticelle F4 risulti superiore rispetto alle altre formulazioni, esso rimane compatibile con il transito attraverso il rumine. Tutte le formulazioni analizzate hanno mostrato buone proprietà di flusso, tuttavia, solo F3 e F4 sono rimaste strutturalmente integre per 24 h a pH 6,8, condizione utilizzata per simulare l'ambiente ruminale.

Discussione e Conclusioni. La formulazione F4 ha mostrato le migliori prestazioni in termini di resa, EE% e stabilità a pH 6,8, risultando la più promettente. Sono necessari ulteriori studi in ambiente ruminale simulato per confermare la protezione dell'olio essenziale di agrumi e il rilascio intestinale.

Bibliografia

- (1) Lopodota A.A., *et al.* (2021) - From oil to microparticulate by prilling technique: production of polynucleate alginate beads loading *Serenoa repens* oil as intestinal delivery systems. *Int J Pharm*, 599: 120412.

Parole chiave. Microincapsulazione, Ruminanti, Rilascio sito-specifico

FORMULAZIONE, OTTIMIZZAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI NANOEMULSIONI BIOATTIVE A BASE DI OLI ESSENZIALI DI SALVIA ROSMARINUS E THYMUS VULGARIS

J. Forte¹, F. Cappiello², C. Vetrano³, M. G. Ammendolia⁴, B. Casciaro³, F. Rinaldi⁵, M. Carafa⁵, M. L. Mangoni³, C. Marianecci⁵

¹Dipartimento di Scienze biotecnologiche di base, cliniche intensivologiche e perioperatorie, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia

²Dipartimento di Ambiente e Salute, Sezione Meccanismi, Biomarcatori e Modelli, Gruppo Stabilità del Genoma, ISS, Roma, Italia

³Dipartimento di Scienze Biochimiche, Laboratorio Affiliato all'Istituto Pasteur Italia-Fondazione Cenci Bolognietti, "La Sapienza" Università di Roma, Roma, Italia

⁴Centro Nazionale per le Tecnologie Innovative in Sanità Pubblica, ISS, Roma, Italia

⁵Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, "La Sapienza" Università di Roma, Roma, Italia
e.mail: jacopo.forte@unicatt.it

Introduzione. La resistenza antimicrobica (AMR) è una crescente minaccia per la salute pubblica globale, rendendo urgente lo sviluppo di strategie terapeutiche alternative o complementari agli antibiotici. In questo contesto, la nanotecnologia applicata al *drug delivery* rappre-

senta un approccio promettente. Gli oli essenziali (OE) sono noti per la loro attività antimicrobica, ma il loro impiego clinico è limitato dalla loro volatilità, scarsa solubilità e potenziale citotossicità. La loro strutturazione in nanoemulsioni (NEs) potrebbe superare tali limiti, trasformando tali *nanocarriers* in composti bioattivi capaci di combinare la funzione di veicolazione alla loro attività biologica intrinseca.

Materiali e Metodi. È stato inizialmente costruito un diagramma di fase pseudo-ternario per identificare le composizioni ottimali degli OE di *Salvia rosmarinus* e *Thymus vulgaris*, del Tween® 85 e della fase acquosa per la preparazione di NEs stabili (Fig. 1; Tab. 1). Le formulazioni selezionate (NEs-1 e NEs-2), ottenute mediante metodi ad alta energia, sono state caratterizzate mediante D.L.S. (*Dynamic Light Scattering*), fluorimetria, stabilità, morfologia (TEM: *Transmission Electron Microscopy*), resistenza ai fluidi biologici simulati ed al processo di nebulizzazione, nonché per citotossicità e attività antimicrobica.

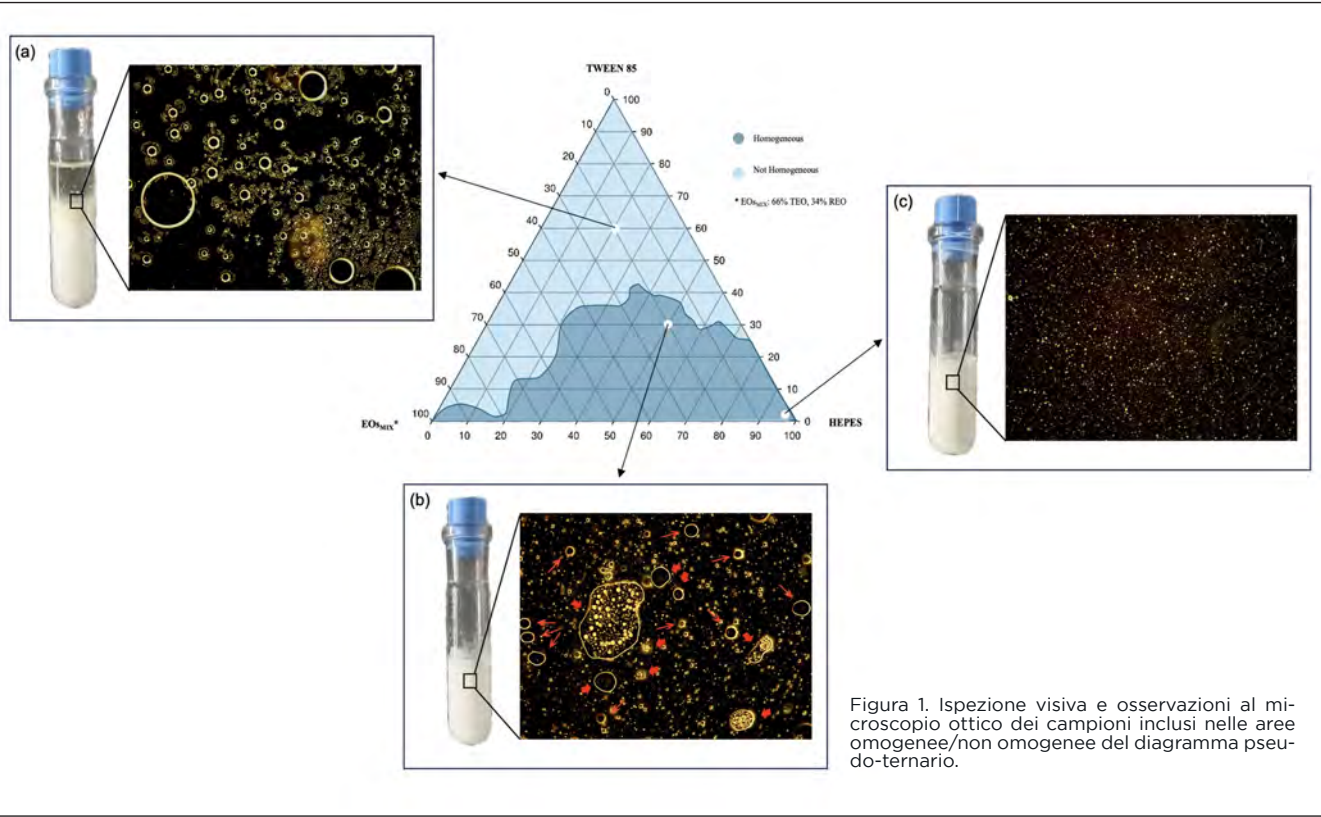
Risultati. Le NEs ottenute mostrano dimensioni minori di 200 nm, indice di polidispersione (PDI) pari a 0,1 (sinonimo di un sistema altamente monodisperso) e valori di potenziale ζ (carica superficiale apparente

del *nanocarrier*) sufficientemente negativi per garantire una buona stabilità colloidale (Tab. 2). Le formulazioni sono risultate stabili nel tempo e resistenti sia ai fluidi biologici simulati sia al processo della nebulizzazione. *In vitro*, NEs-2 non ha evidenziato citotossicità sulle cellule epiteliali alveolari ed ha rallentato significativamente la crescita di *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

Discussione. I risultati dimostrano che le NEs consentono di preservarne l'attività antimicrobica degli OE, migliorandone al contempo la stabilità e la citotossicità.

Conclusioni. Le NEs a base di OE potrebbero rappresentare una promettente strategia per lo sviluppo di sistemi inalabili sicuri e bioattivi, con attività antimicrobica intrinseca. Questo approccio potrebbe migliorare l'efficacia locale delle terapie polmonari e ridurre gli effetti collaterali nel trattamento delle infezioni respiratorie resistenti.

Parole chiave. Oli essenziali, Nanoemulsioni, Attività antimicrobica, Drug Delivery systems



Campione	EOs MIX (mg/mL)	Tween® 85 (mg/mL)
NEs-1	34	200
NEs-2	4,68	3,12

Tabella 1. Composizione quali-quantitativa delle nanoemulsioni NEs-1 e NEs-2.

Campione	Diametro idrodinamico (nm) ± SD	PDI ± SD	Potenziale ζ ± SD	Anisotropia U.A.
NEs-1	176 ± 1	0,13 ± 0,01	-3,40 ± 1,69	0,17
NEs-2	163 ± 4	0,13 ± 0,01	-27,60 ± 2,81	0,13

Tabella 2. Caratteristiche fisico-chimiche delle nanoemulsioni NEs-1 e NEs-2 in termini di diametro idrodinamico, PDI, potenziale ζ e valore di anisotropia.

STUDIO DELL'ATTIVITÀ ANTIMICROBICA, PREBIOTICA E PROTEOMICA *IN VITRO* DEGLI IDROLATI DI *ORIGANUM HERACLEOTICUM* SUBSP. *VRIDULUM* OTTENUTI MEDIANTE DISTILLAZIONE DI DUE COLTURE ITALIANE

A. Percio¹, S. Rizzo¹, F. Schiavone Pani¹, M. Di Vito¹, S. Garzoli³, S. Biffi⁴, D. Coggiatti¹, M. Sanguinetti^{1,2}, A. Urbani^{1,2}, V. Greco^{1,2}, F. Bugli^{1,2}

¹Dipartimento di Scienze Biotechnologiche di Base, Cliniche Intensivologiche e Perioperatorie, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia

²Dipartimento di Scienze Biotechnologiche di Base, Cliniche Intensivologiche e Perioperatorie, Fondazione Policlinico Universitario "A. Gemelli" IRCCS, Roma, Italia

³Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Università di Roma Sapienza, Roma, Italia

⁴Il Giardino delle Erbe, Casola Valsenio, Ravenna, Italia
e.mail: anna.percio@unicatt.it

Introduzione. *Origanum vulgare* subsp. *viridulum* (frequentemente indicato con il nome comune *Origanum heracleoticum*) è una pianta aromatica molto diffusa in Italia, tradizionalmente utilizzata per le sue proprietà antimicrobiche e antiossidanti, principalmente attribuite al suo olio essenziale. Durante la distillazione in corrente di vapore, oltre all'olio essenziale, si ottiene un co-prodotto acquoso denominato idrolato, la cui composizione chimica e attività biologica risultano ancora poco investigate. Il presente studio si propone la caratterizzazione in termini della composizione chimica, del proteoma, dell'attività antimicrobica, prebiotica degli oli essenziali e degli idrolati di *O. heracleoticum* ottenuti da due coltivazioni distinte, rispettivamente localizzate in Basilicata (idrolato Lucano) e in Emilia-Romagna (idrolato di Casola Valsenio).

Materiali e Metodi. Le piante di *O. vulgare* subsp. *viridulum* sono state ottenute da semi autoprodotti a partire da piante madri di origine siciliana e coltivate contemporaneamente in due diverse aree geografiche italiane (Basilicata ed Emilia-Romagna), al fine di valutare l'influenza delle condizioni ambientali sulla resa e composizione dei prodotti di distillazione. Le parti aeree fresche, raccolte in piena fioritura, sono state sottoposte a distillazione in corrente di vapore per un'ora, utilizzando un apparato di tipo Clevenger modificato, al fine di ottenere oli essenziali e idrolati. La composizione chimica dei campioni è stata analizzata mediante Headspace-Microestrazione in fase solida (HS-SPME) e Gas Cromatografia accoppiata a Spettrometria di massa (GC-MS). L'attività antimicrobica degli oli essenziali e idrolati è stata valutata su *Escherichia coli* e *Lactobacillus rhamnosus* mediante test di microdiluzione in brodo e analisi delle cinetiche di crescita. Gli effetti biologici degli idrolati su *L. rhamnosus* sono stati ulteriormente investigati mediante analisi proteomica *label-free* condotta sia sul proteoma cellulare, sia sul secretoma, utilizzando un approccio di proteomica basato sulla cromatografia liquida accoppiata a spettrometria di massa (LC-MS/MS). Infine, la citotossicità dei campioni è stata valutata su cellule intestinali umane Caco-2 mediante saggio AlamarBlue.

Risultati. Il carvacrolo è risultato il composto principale, con una percentuale compresa tra il 71% e il 91%, seguito da γ -terpinene e timolo negli oli essenziali e negli idrolati (relativamente alla frazione volatile estratta con HS-SPME) rispettivamente. Sia gli oli essenziali sia gli idrolati hanno mostrato attività antimicrobica nei confronti dei ceppi batterici testati, sebbene i composti attivi degli idrolati siano risultati relativamente più efficaci rispetto a quelli degli oli essenziali. *L. rhamnosus* ha mostrato una maggiore resistenza agli oli essenziali rispetto a *E. coli*, mentre gli idrolati hanno evidenziato una maggiore attività nei confronti del ceppo probiotico, senza che fosse rilevata una MIC specifica per *E. coli*. È in-

teressante notare che concentrazioni sub-inibitorie di idrolati (3-6% v/v) hanno stimolato la crescita di *L. rhamnosus*, favorendo un ingresso più precoce nella fase esponenziale e una maggiore densità cellulare finale. L'analisi proteomica del secretoma ha evidenziato, nel trattamento con idrolato di Casola Valsenio, una sovraespressione di proteine coinvolte nella comunicazione cellula-cellula e nel trasporto dei metalli, in particolare trasportatori del manganese, mentre il trattamento con idrolato lucano ha determinato una loro riduzione. L'analisi del proteoma totale ha rivelato, in presenza di idrolato Lucano, un aumento dell'espressione di enzimi chiave del metabolismo dei carboidrati e della risposta allo stress ossidativo. Al contrario, il trattamento con idrolato di Casola Valsenio ha favorito l'attivazione della via dei pentoso-fosfati e di percorsi metabolici alternativi al metabolismo energetico.

Discussione e Conclusioni. I risultati ottenuti evidenziano le proprietà chimiche e biologiche degli idrolati, dimostrando la loro attività come agenti funzionali in grado di stimolare la crescita di ceppi microbici benefici.

Lo studio apre nuove prospettive sulla valorizzazione degli idrolati, spesso considerati un sottoprodotto della distillazione, ma dotati di interessanti proprietà applicabili in diversi ambiti industriali. Nel complesso, i nostri dati suggeriscono gli idrolati come un coprodotto prezioso e sostenibile della distillazione degli oli essenziali, con un potenziale contributo allo sviluppo di strategie eco-compatibili ed efficienti per la produzione industriale su larga scala di probiotici.

Parole chiave. Idrolato, *Lactobacillus rhamnosus*, *Escherichia coli*, Distillazione in corrente di vapore, *Origanum*, Proteomica

PROFILO AROMATICO E CONTENUTO IN CANNABINOIDI DELL'OLIO ESSENZIALE DI *CANNABIS SATIVA* L. E DI OLI ALIMENTARI AROMATIZZATI

M. Guida¹, M. Tura^{1,2}, M. Mandrioli¹, E. Casadei^{1,2}, A. Bendini^{1,2}, T. Gallina Toschi^{1,2}, E. Valli^{1,2}

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Cesena e Bologna, Italia

²Centro Interdipartimentale di Ricerca Industriale sull'Agroalimentare, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Cesena, Italia
e.mail: mario.guida2@unibo.it

Introduzione. *Cannabis sativa* L. è una pianta erbacea annuale di grande importanza per i suoi molteplici usi (tessile, farmaceutico, alimentare). In ambito alimentare, i semi di canapa possono essere consumati tal quali o trasformati in olio o farina; anche l'olio essenziale (OE), estratto dalle infiorescenze, ha suscitato un crescente interesse nel settore agro-alimentare.

Materiali e Metodi. L'OE, ottenuto da infiorescenze essiccate di *C. sativa* L. (varietà Enctaliana), mediante distillazione in corrente di vapore, è stato aggiunto, con diverse diluizioni, ad un olio di oliva vergine e ad un olio di semi di canapa spremuto a freddo, ottenendo così degli oli aromatizzati. I composti volatili dell'OE e degli oli aromatizzati sono stati analizzati mediante SPME-GC-MS; i principali cannabinoidi nelle infiorescenze di canapa e nell'OE sono stati determinati mediante HPLC-UV.

Risultati. L'OE aggiunto ad un olio vergine di oliva e ad un olio di semi di canapa ha fortemente modificato gli oli tal quali in termini di profilo aromatico. L'OE e le infiorescenze di canapa dopo la distillazione hanno mostrato un contenuto di CBD (Cannabidiolo) più elevato rispetto a quan-

to riscontrato nelle infiorescenze tal quali, per la decarbossilazione del CBDA (Acido cannabidiolico).

Discussione. Dall'analisi dei composti volatili dell'OE, sono state identificate diverse molecole comuni ad altri oli essenziali, delle quali alcune con note proprietà bioattive (1). La conversione del CBDA in CBD nell'OE e nelle infiorescenze dopo la distillazione può contribuire a rendere interessanti questi prodotti o co-prodotti per l'industria agro-alimentare e cosmetica.

Conclusioni. L'OE, per la composizione peculiare, le caratteristiche aromatiche e il contenuto in cannabinoidi, può avere un interessante potenziale di mercato. Inoltre, sono in corso la valutazione sensoriale descrittiva e la determinazione quali e quantitativa dei composti terpenici dell'OE mediante SPME-GC-O-MS.

Bibliografia

(1) Sartori Tamburlin I., Roux E., Feuillée M., Labbé J., Aussaguès Y., El Fadle F.E., *et al.* (2021) - Toxicological safety assessment of essential oils used as food supplements to establish safe oral recommended doses. Food and Chemical Toxicology, 157: 112603.

Parole chiave. Infiorescenze di canapa, Oli aromatizzati, Composti volatili, Cannabinoidi

Nota. Studio condotto nell'ambito del Centro Nazionale AgriTech, finanziato dall'Unione Europea-NextGenerationEU (PNRR-missione 4 componente 2, investimento 1.4-d.d. 1032 17/06/2022, CN00000022).

EFFETTO DELL'OLIO ESSENZIALE DI ALLORO, A DIVERSE CONCENTRAZIONI, SULLA DIGERIBILITÀ RUMINALE *IN VITRO*

N. Parabita, G. Calzaretto, G. Incampo, L. Forte, A. Maggiolino, P. De Palo

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Bari, Bari, Italia
e.mail: n.parabita@phd.uniba.it

Introduzione. L'impiego di oli essenziali nelle diete dei ruminanti può rappresentare una valida alternativa all'uso di antibiotici per ottimizzare l'efficienza alimentare e ridurre le perdite di energia e proteine. È inoltre fondamentale definire fino a quali dosaggi possano essere utilizzati senza alterare l'ecosistema ruminale (1). Pertanto, questo studio si propone di valutare l'effetto dell'olio essenziale di alloro (*Laurus nobilis* L.), a diverse concentrazioni, sulla digeribilità *in vitro*.

Materiali e Metodi. L'effetto dell'impiego dell'olio essenziale di alloro sulla digeribilità è stato valutato a diverse concentrazioni: 0, 25, 50 e 100 mg/L. I campioni di succo ruminale sono stati raccolti in termos e la fermentazione *in vitro* è stata condotta per 48 ore utilizzando il sistema di incubazione Daisy II (ANKOM Tech., Fairport, NY). La digeribilità *in vitro* è stata calcolata come (PB - PA)/PB, dove PB rappresenta la percentuale del parametro nei campioni prima della digestione e PA la percentuale dello stesso parametro dopo la digestione, entrambe espresse su base di sostanza organica. I lipidi e la proteina grezza sono stati determinati secondo le procedure descritte dall'AOAC (2). La fibra grezza è stata determinata con il metodo di Weende. I parametri NDF (*Neutral Detergent Fiber*), ADF (*Acid Detergent Fiber*) e ADL (*Acid Detergent Lignin*) sono stati determinati secondo il metodo descritto da Van Soest e Robertson (1991) (3). Per l'analisi dei gas è stato utilizzato un sistema automatizzato di tra-

sduzione della pressione (Ankom Technology, Macedon, NY). I dati sono stati testati per la normalità della distribuzione (test di Shapiro-Wilk) ed è stata eseguita un'ANOVA considerando la tesi come effetto fisso (SAS, 2018). Il confronto *post hoc* tra le medie è stato effettuato mediante test di Tukey.

Risultati. Dall'analisi è emerso che l'integrazione con olio essenziale ha ridotto significativamente la digeribilità e, di conseguenza, anche la produzione di gas ($P < 0,01$). Gli altri parametri, in particolare la digestione della fibra grezza, hanno mostrato una tendenza alla diminuzione alla concentrazione massima.

Discussione. I risultati ottenuti indicano un effetto dose-dipendente dell'olio essenziale di alloro sulla fermentazione ruminale *in vitro*. Alle concentrazioni più basse, l'integrazione sembra associarsi a un miglioramento dei parametri di digeribilità, suggerendo una modulazione favorevole dell'attività microbica e un uso più efficiente del substrato. Al contrario, all'aumentare della dose, e in particolare alla concentrazione massima, si osserva un peggioramento della digeribilità accompagnato da una riduzione della produzione di gas. Ne deriva l'ipotesi di un *cut-off* di dosaggio, oltre il quale l'effetto passa da potenzialmente positivo a negativo, in accordo con quanto riportato in letteratura (1).

Conclusioni. Sono necessarie ulteriori ricerche per chiarire gli effetti della somministrazione a lungo termine degli oli essenziali e per valutare in che misura essi possano influenzare il metabolismo e la ripartizione energetica nei ruminanti.

Bibliografia

- (1) Joch M., Kudrna V., Haki J., Božik M., Homolka P., Illek, J., ... & Výborná A. (2019) - *In vitro* and *in vivo* potential of a blend of essential oil compounds to improve rumen fermentation and performance of dairy cows. Animal Feed Science and Technology, 251: 176-186.
(2) Association of Official Analytical Chemists (2000) - Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (Vol. 11). The Association.
(3) Van Soest P.V., Robertson J.B., Lewis B.A. (1991) - Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of dairy science, 74(10): 3583-3597.

Parole chiave. Oli essenziali, Digeribilità, Produzione di gas

BYPASS RUMINALE DI LIMONENE: CONFRONTO *IN VITRO* DI FORMULAZIONI MICROINCAPSULATE

M. Santoro¹, L. Forte¹, G. Natrella³, V. D'amico², A. Lopodota², M. de Gennaro², N. Denora², P. De Palo¹, A. Maggiolino¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Bari A. Moro, Bari, Italia

²Dipartimento di Farmacia, Università di Bari A. Moro, Bari, Italia

³Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università di Bari A. Moro, Bari, Italia
e.mail: martasantorogiurd@gmail.com

Introduzione. Il presente lavoro si propone di individuare strategie tecnologiche in grado di favorire il bypass ruminale, preservando l'integrità degli oli essenziali fino alle porzioni distali del tratto gastrointestinale.

Materiali e Metodi. Sono state sviluppate tramite tecnica prilling/vibrazione tre formulazioni contenenti limonene puro al 99,98% (LO) sottoforma di microsfere e microcapsule. Diverse emulsioni olio-in-acqua (O/A) sono state preparate variando il

rapporto tra LO e alginato di sodio e quella più stabile è stata scelta per il successivo processo di incapsulamento. Le microsfere sono state prodotte combinando l'emulsione con polimetacrilato (Eudragit® E PO) per ottenere F1, mentre le microcapsule erano costituite dall'emulsione nel core e nella shell rispettivamente Eudragit® E PO nella F2 e Eudraguard® nella F3. Le tre formulazioni sono state sottoposte a digeribilità in vitro (IVD) in cinque replicati. L'incubazione è stata condotta per 6, 12, 18 e 24 ore mediante sistema Daisy II (ANKOM Tech) (1). La *disappearance* è stata calcolata secondo Besharati *et al.* (1). Il fluido ruminale è stato campionato per la quantificazione del limonene, determinato mediante SPME/GC-MS (1). I dati sono stati verificati per la normalità (Shapiro-Wilk) e analizzati con ANOVA (SAS 2018). Il confronto post hoc è stato effettuato con test di Tukey.

Risultati. La *disappearance* è risultata significativamente più elevata nelle tesi F1 ed F2 rispetto a F3 ai diversi tempi di incubazione ($P < 0,01$). La concentrazione di limonene nel fluido ruminale ha mostrato valori significativamente più bassi nella tesi F3 rispetto alle altre ($P < 0,01$).

Discussione. Le formulazioni F1 ed F2 evidenziano una scarsa resistenza in ambiente ruminale. Al contrario, la formulazione F3 presenta un comportamento più idoneo al bypass con maggiore capacità di contenimento e protezione del composto.

Conclusioni. I risultati indicano che la formulazione F3 è in grado di resistere all'ambiente ruminale e di favorire il bypass, supportandone il potenziale impiego in future sperimentazioni *in vivo*.

Bibliografia

(1) Besharati M., Palangi V., Salem A.Z.M., De Palo P., Lorenzo J.M., Maggiolino A. (2022) - Substitution of raw lucerne with raw citrus lemon by-product in silage: In vitro apparent digestibility and gas production. *Frontiers in Veterinary Science*, 9: 1006581.

Parole chiave. Microincapsulato, By-pass ruminale, Limonene

CARATTERIZZAZIONE DEI CHEMOTIPI E VALUTAZIONE BIOLOGICA DEGLI OLI ESSENZIALI DI DIVERSE SPECIE VEGETALI DELLA REGIONE PUGLIA

L. Capasso¹, R. Tardugno¹, A. Spano¹, D. Freschini¹, G. Lo Vecchio², L. De Maria², N. Cicero², F. Corbo¹

¹Dipartimento di Farmacia-Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Bari "A. Moro", Bari, Italia

²Dipartimento di Scienze Biomediche, Odontoiatrica e delle Immagini Morfologiche e Funzionali, A.O.U. Policlinico "G. Martino", I Piano, Padiglione G ("Torre Biologica") "Agatino Santoro", Messina, Italia
e.mail: l.capasso2@phd.uniba.it

Introduzione. Gli oli essenziali (OE) sono miscele complesse di composti volatili, principalmente terpenoidi e composti fenolici, ampiamente riconosciuti per il loro ampio spettro di attività biologiche (1, 2).

Sitarama®

Via Michelucci, 9
50028 Barberino Tavarnelle (FI)

presenta **Henné Color:**

una gamma completa di colorazioni naturali a base di henné, pianta tintoria conosciuta per le sue proprietà benefiche e coloranti. Senza ossidanti, ammoniaca, acqua ossigenata: composta da 6 linee di prodotti:

- **Polvere Henné Color**
riflessanti naturali, di erbe tintorie, disponibile in 7 colorazioni
- **Polvere naturale NON colorante fortificante**
Neutro
- **Crema Colorante Henné Nuance**
colorazione dolce pronta all'uso, per uso frequente, disponibile in 12 colorazioni
- **Hair Mascara** per un ritocco rapido del colore; disponibile in 7 colorazioni
- **Shampo Henné mantenimento del colore**
disponibile in 7 colorazioni oltre al neutro
- **Balsamo Henné Ristrutturante**
doppio utilizzo: aggiunto nella preparazione fissa il colore e dopo la tinta rimuove le particelle dalla radice dei capelli lasciandoli morbidi e lucenti.



www.sitarama.com



In questo studio, gli OE derivanti da dieci specie vegetali diverse originarie della regione Puglia (Italia): *Calamintha nepeta* (L.) Savi, *Citrus × limon* (L.) Osbeck, *Cupressus sempervirens* L., *Daucus carota* L., *Juniperus communis* L., *Laurus nobilis* L., *Myrtus communis* L., *Pistacia lentiscus* L., *Rosmarinus officinalis* L. e *Thymus vulgaris* L., sono stati ottenuti mediante idrodistillazione in corrente di vapore e sono stati caratterizzati dal punto di vista chimico per la valutazione delle loro attività antimicrobica e antiossidante.

Materiali e Metodi. La composizione chimica degli OE è stata determinata mediante gascromatografia accoppiata a spettrometria di massa (GC-MS). Le analisi sono state eseguite utilizzando un sistema HP GC/MS 6890N-5973N equipaggiato con una colonna capillare HP-5MS. L'identificazione dei composti è stata effettuata mediante confronto degli spettri di massa con la libreria NIST MS Search 2.0 e con i dati di letteratura, nonché mediante il calcolo degli indici di ritenzione lineari (LRI) ottenuti per co-iniezione di una miscela di *n*-alcani C₈ - C₂₄ (2). L'attività antiossidante è stata valutata mediante i saggi di *scavenging* dei radicali DPPH• e ABTS•+, nonché mediante il saggio di riduzione del ferro (FRAP). L'attività antimicrobica degli OE è stata valutata nei confronti di *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076 e *Listeria monocytogenes* ATCC 13932. L'attività antibatterica è stata inizialmente valutata mediante test di diffusione su agar Mueller-Hinton, seguita dalla determinazione della concentrazione minima inibente (MIC) mediante microdiluzione in brodo secondo le linee guida CLSI (3).

Risultati. Le analisi GC-MS hanno evidenziato che il limonene rappresenta il principale costituente dell'OE di *C. limon*. Gli OE di *L. nobilis* e *R. officinalis* risultavano principalmente caratterizzati da elevate quantità di 1,8-cineolo e α -pinene. Gli OE di *C. sempervirens* e *J. communis* risultavano particolarmente ricchi in α -pinene.

Il pulegone è stato identificato come principale costituente dell'OE di *C. nepeta*, mentre l'OE di *T. vulgaris* è risultato altamente ricco in carvacrolo e timolo.

Gli OE di *P. lentiscus*, *T. vulgaris* e *L. nobilis* mostravano la più elevata capacità antiossidante nei saggi DPPH•, ABTS•+ e FRAP. I test antimicrobici hanno rivelato che gli OE di *T. vulgaris*, *O. vulgare*, *C. verum* e *C. sempervirens* erano i più efficaci OE ad azione antibatterica, in particolare nei confronti di *S. Enteritidis*.

Conclusioni. Questo studio evidenzia la variabilità della composizione chimica e delle attività biologiche degli oli essenziali ottenuti da diverse specie vegetali pugliesi.

I risultati indicano che gli effetti antiossidanti e antimicrobici sono strettamente correlati alla composizione fitochimica e, in particolare, alla presenza di costituenti fenolici, che sembrano svolgere un ruolo centrale nel determinare la bioattività.

Bibliografia

(1) Rosato A., Maggi F., Cianfaglione K., Conti F., Ciaschetti G., Rakotosaona R., Corbo F. (2018) - Chemical composition and antibacterial activity of seven uncommon essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 30(4): 233-243.

(2) Tardugno R., Serio A., Purgatorio C., Savini V., Paparella A., Benvenuti S. (2022) - *Thymus vulgaris* L. essential oils from Emilia Romagna Apennines (Italy): Phytochemical composition and antimicrobial activity on food-borne pathogens. *Natural Product Research*, 36(3): 837-842.

(3) Tuttolomondo T., Dugo G., Ruberto G., Leto C., Napoli E.M., Cicero N., La Bella S. (2015) - Study of quantitative and qualitative variations in essential oils of Sicilian *Rosmarinus officinalis* L. *Natural product research*, 29(20): 1928-1934.

Parole chiave. Analisi GC-MS, Oli essenziali, Saggi antiossidanti, Attività antimicrobica

OLIO ESSENZIALE DI SATUREJA MONTANA PER LA FORMULAZIONE DI NANOCARRIER BIOATTIVI: VEICOLAZIONE DEL PEPTIDE ANTIMICROBICO HYP6.2PRO

E. Martino¹, J. Forte³, L. Maurizi², G. Bevivino², B. Arcà², F. Lombardo², C. Longhi², C. Marianecci¹, M. Carafa¹, F. Rinaldi¹

¹Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Sapienza Università di Roma, Italia

²Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Sapienza Università di Roma, Italia

³Dipartimento di Scienze biotecnologiche di base, cliniche intensivologiche e perioperatorie, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia
e-mail: elvira.martino@uniroma1.it

Introduzione. I *drug delivery systems* (DDS) rappresentano, oggi, un approccio promettente per migliorare stabilità ed efficacia di molecole farmacologicamente attive e, quando formulati con oli essenziali, questi ultimi possono contribuire all'effetto biologico complessivo grazie alle loro proprietà bioattive intrinseche. In particolare, in questo studio sono stati sviluppati *nanocarrier* a base di olio essenziale di *Satureja montana* L. (SEO) per veicolare e potenziare l'attività di Hyp6.2pro, un peptide con attività antimicrobica di carattere lipofilo (1).

Materiali e Metodi. I niosomi (NioV) formulati con SEO, Tween 85, Span 20 e tampone HEPES (pH 7,4), sono stati preparati con Hyp6.2pro (NioP), e quindi ampiamente caratterizzati dal punto di vista chimico-fisico. L'attività antimicrobica di NioV e di Hyp6.2pro tal quale ed incluso nei niosomi è stata saggiata nei confronti di *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P.

Risultati e Discussione. I risultati della caratterizzazione chimico-fisica sono riportati in Tab. 1. L'incapsulamento di Hyp6.2pro nei niosomi ha aumentato le dimensioni rispetto ai niosomi vuoti, in linea con un'efficienza di intrappolamento del 60% e indotto un potenziale ζ più negativo, probabilmente per la presenza di porzioni idrofile del peptide sulla superficie vescicolare. I valori di anisotropia, polarità e microviscosità hanno confermato la sua principale localizzazione nel *bilayer* niosomiale. L'inclusione del peptide nei niosomi ha contribuito a migliorarne la stabilità fino ad una settimana (Fig.1). Nei confronti di *S. aureus*, NioV è risultato più attivo rispetto a Hyp6.2pro libero, evidenziando la bioattività intrinseca del *nanocarrier*.

Campione	Diametro idrodinamico (nm)	PDI	Potenziale ζ (mV)	Anisotropia	Polarità	Microviscosità	E.E. %
NioV	194,11	0,18	-27,82	0,17	0,81	2,43	-
NioP	248,2	0,18	-34,60	0,22	1,06	1,38	60%

Tabella 1.
Caratteristiche chimico-fisiche di NioV e NioP.

Ceppi Batterici	CTRL	Hyp 6.2 pro	NioV				NioP	
		75 µM	37,5 µM	75 µM	37,5 µM	75 µM	37,5 µM	75 µM
<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	1,06 x 10 ⁸ UFC/ml	9,80 x 10 ⁸ UFC/ml	7,65 x 10 ⁷ UFC/ml	6,50 x 10 ⁵ UFC/ml	1,77 x 10 ⁷ UFC/ml	8,30 x 10 ⁴ UFC/ml	9,80 x 10 ⁶ UFC/ml	

Tabella 2. Attività antimicrobica di Hyp 6.2 pro, NioV e NioP.

Considerando che i NioP sono caratterizzati da una capacità di rilascio del peptide elevata, ma non totale (Fig.2), è possibile assumere che il *nanocarrier* svolga un'attività sinergica con quella del peptide incluso nella formulazione, migliorandone l'attività (Tab.2).

Conclusioni. I niosomi a base di SEO consentono un'efficace inclusione del peptide Hyp6.2pro, migliorandone la stabilità e potenziandone l'attività antimicrobica rappresentando una strategia promettente per una futura ap-

plicazione topica.

Bibliografia

(1) Bevivino G. *et al.* (2024) - Peptides with antimicrobial activity in the saliva of the malaria vector *Anopheles coluzzii*. *Int J Mol Sci*, 25(10): 5529.

Parole chiave. *Nanocarrier*; *Olio essenziale*, *Satureja montana L.*, *Peptidi antimicrobici*

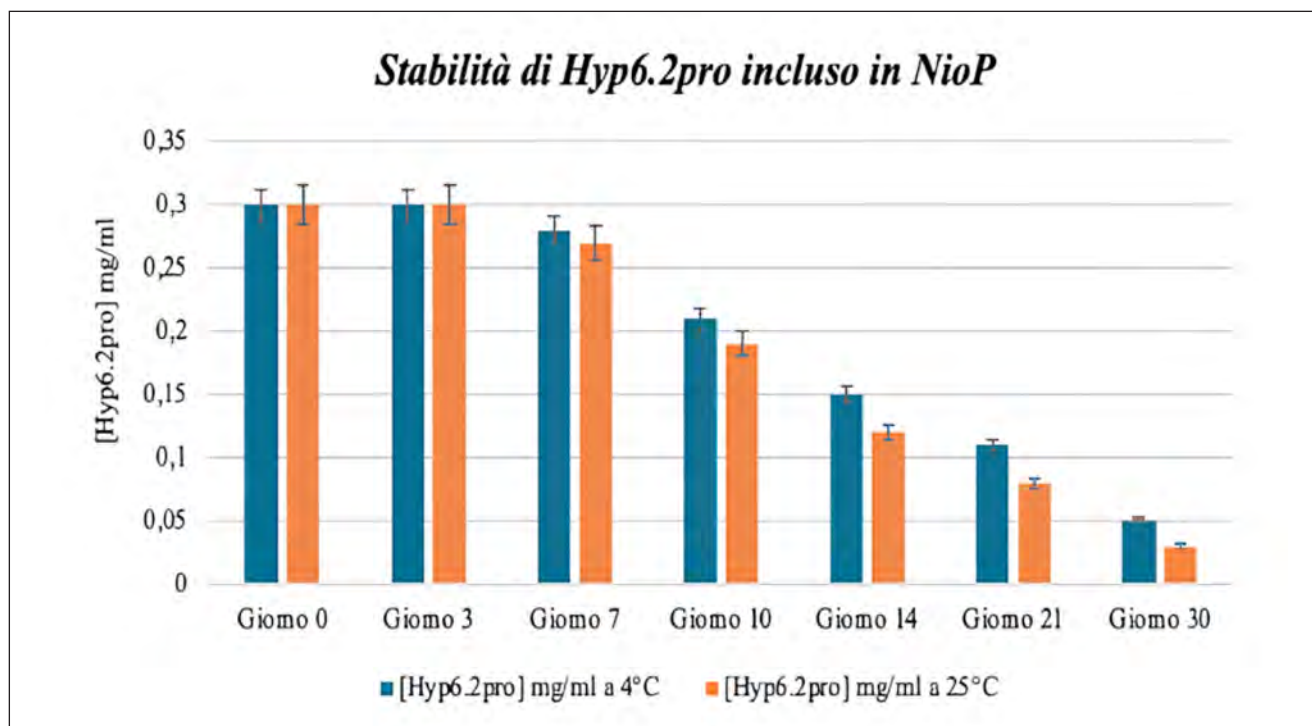


Figura 1. Studio di stabilità nel tempo di Hyp6.2pro incluso in NioP.

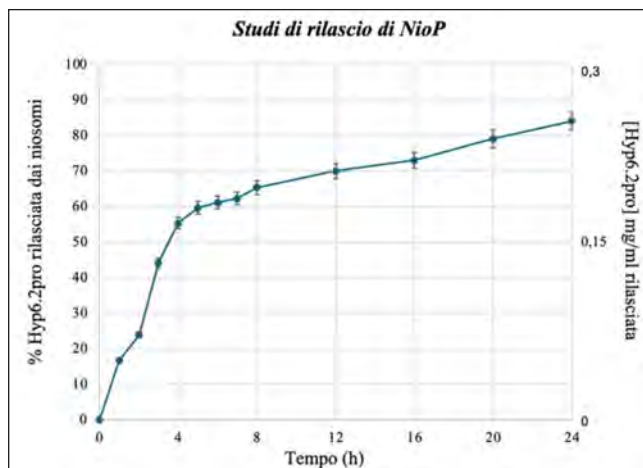


Figura 2. Studio di rilascio nel tempo di NioP in Tampone Hepes.

OLI ESSENZIALI PER IL CONTROLLO DELLE MALATTIE FUNGINE DELLA VITE: STATO DELL'ARTE, LACUNE E PROSPETTIVE

M. Fittipaldi Broussard^{1,2}, C. Campana^{1,2}, V. Rossi^{1,2}, T. Caffi^{1,2}, I. Salotti^{1,2}

¹Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali Sostenibili, Università Cattolica dal Sacro Cuore, Piacenza, Italia

²Centro di ricerca Plant Health Modelling (PHEM), Università Cattolica dal Sacro Cuore, Piacenza, Italia
e.mail: irene.salotti01@unicatt.it

Introduzione. La viticoltura rappresenta uno dei sistemi culturali con il più alto impiego di fungicidi. Il controllo delle malattie in vigneto è infatti largamente basato sull'impiego di fungicidi di sintesi, a base di rame o zolfo; ciò desta crescenti preoccupazioni per i rischi alla salute e la sostenibilità ambientale. In questo contesto, gli oli essenziali (OE) hanno

risco un diffuso interesse come potenziali nuovi principi attivi per lo sviluppo di prodotti fitosanitari grazie al loro ampio spettro d'azione, alla loro complessa composizione chimica, al basso rischio di sviluppo di resistenze nelle popolazioni dei patogeni e alla limitata persistenza dei residui. Nonostante ciò, la ricerca sull'applicazione di OE per la difesa della vite rimane estremamente frammentata, e le pubblicazioni disponibili che riassumono lo stato dell'arte si limitano a reviews narrative. Questo lavoro, si pone l'obiettivo di: i) fornire una panoramica qualitativa della letteratura disponibile sull'uso di OE per la difesa della vite, ii) valutare quantitativamente la loro efficacia in diverse condizioni sperimentali attraverso una meta-analisi, iii) identificare le principali lacune presenti in letteratura e le tematiche di ricerca da affrontare per colmare tali mancanze. Per fare ciò, è stata condotta una revisione sistematica della letteratura e una meta-analisi per delineare lo stato dell'arte e valutare l'efficacia degli OE. Una stringa di ricerca *ad hoc* è stata utilizzata su due diversi database, restituendo un totale di 458 articoli. Di questi, 53 hanno soddisfatto i criteri di eleggibilità e 25 sono risultati idonei per la successiva meta-analisi.

Materiali e Metodi. Sono state identificate le combinazioni OE-patogeno più frequentemente sperimentate e gli intervalli di concentrazione più testati, unitamente alle potenziali fonti di errore. I risultati della meta-analisi hanno mostrato un'efficacia media degli OE di circa il 68%, confermando il potenziale interesse per il controllo delle malattie.

Risultati. L'efficacia degli OE è risultata maggiormente influenzata dal metodo di applicazione rispetto che dalla loro origine botanica; tale risultato deve però essere interpretato con cautela, a causa dell'elevata eterogeneità degli studi. Gli studi in condizioni controllate hanno mostrato un'efficacia superiore e una maggiore robustezza statistica rispetto alle prove *in vivo*, e differenze significative sono state osservate tra gli OE e i loro singoli composti. Nessuno studio in pieno campo è risultato idoneo per la meta-analisi, evidenziando così una grave lacuna nella ricerca.

Discussione e Conclusioni. In conclusione, questo lavoro sottolinea il ruolo promettente degli oli essenziali per il controllo delle malattie della vite, evidenziando al contempo la necessità di metodologie standardizzate, e validazioni in pieno campo per far progredire lo sviluppo di strategie di controllo basate sugli oli essenziali.

Parole chiave. Oli essenziali, Vite, Malattie, Difesa

COMPOSTI NATURALI COME STRATEGIE ALTERNATIVE PER MODULARE LA VIRULENZA E LA RESISTENZA AGLI AGENTI ANTIMICOTICI IN *CANDIDA PARAPSILOSIS*

A. Giammarino¹, G. Giusiano², L. Angiolella¹

¹Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Università di Roma "La Sapienza", Italia

²Dipartimento di Micologia, Instituto de Medicina Regional, UNNE, Resistencia, Argentina
e.mail: andrea.giammarino@uniroma1.it

Introduzione. Le infezioni invasive da *Candida parapsilosis*, complesso di specie strettamente correlate che include *C. parapsilosis sensu stricto*, *C. metapsilosis* e *C. orthopsilosis*, *C. theae* e *C. margitis*, rappresentano una quota crescente delle candidemie a livello globale, in particolare in ambito nosocomiale e nei pazienti fragili. In questo contesto, lo studio dei principali fattori di virulenza, quali adesione, formazione di biofilm e resistenza allo stress osmotico, è fondamentale per comprendere i meccanismi di persistenza e di fallimento terapeutico. L'impiego di oli essenziali o dei loro componenti è una strategia promettente per po-

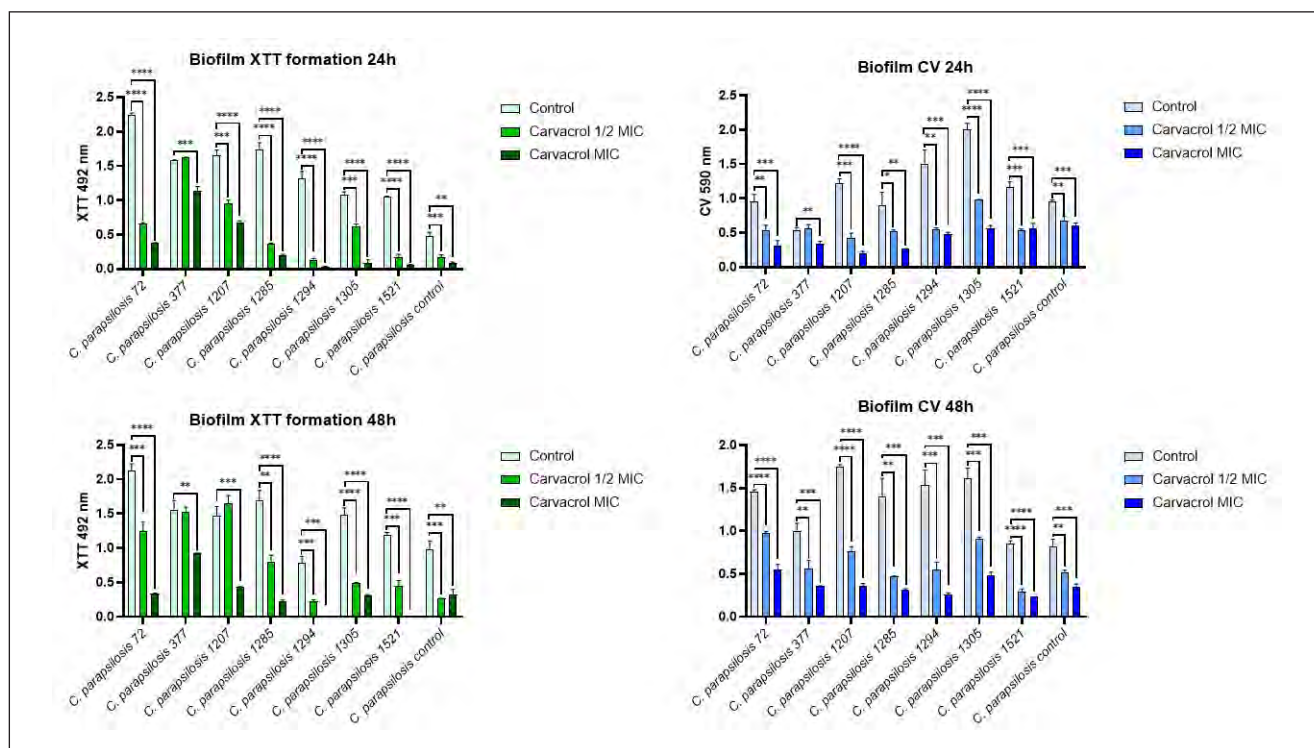


Figura 1. Formazione di biofilm in presenza di Carvacrolo valutata mediante i seguenti saggi colorimetrici CV e XTT a 24h e 48h.

tenziare l'effetto degli antifungini convenzionali; tra questi, il carvacrolo, monoterpene fenolico costituente di numerosi oli essenziali ha dimostrato spiccata attività antifungina.

Materiali e Metodi. Isolati clinici di *C. parapsilosis sensu stricto* sono stati selezionati per questo studio. La concentrazione minima inibente (MIC) del carvacrolo è stata determinata secondo il protocollo standard internazionale (CLSI M27-A4). La metodologia della microdiluzione è stata utilizzata anche per la valutazione della resistenza allo stress osmotico a concentrazioni scalari di NaCl, in assenza e in presenza di carvacrolo. La variazione della capacità di adesione su materiale plastico è stata valutata mediante il saggio del Cristallvioletto (1). L'effetto del carvacrolo sulla formazione di biofilm è stato studiato tramite saggio al Cristallvioletto, andando a quantificare la biomassa totale, e saggio XTT-menadione, per la valutazione delle cellule metabolicamente attive (2).

Risultati. I valori di MIC ottenuti per il carvacrolo sono risultati compresi tra 0,195 e 0,390 mg/mL. La resistenza allo stress osmotico, osservata in assenza di trattamento in un intervallo di concentrazioni di NaCl tra 7,5% e 15,0%, si è ridotta in presenza di carvacrolo sia a concentrazioni di MIC che di ½ MIC.

L'aderenza utilizzando concentrazioni di MIC, è diminuita solo in alcuni isolati clinici. La presenza di carvacrolo a concentrazioni di MIC si è dimostrata efficace nel ridurre la formazione di biofilm di tutti i ceppi testati a 24 h e 48 h, con entrambi i metodi di valutazione, mentre concentrazioni di ½ MIC sono risultate efficaci solo su una parte dei microrganismi utilizzati (Fig. 1).

Discussione e Conclusioni. L'impiego del carvacrolo come modulatore dei fattori di virulenza di *C. parapsilosis*, in grado di ridurre significativamente diversi fattori di virulenza tra cui la formazione di biofilm già a concentrazioni inferiori alla MIC, emerge come potenziale opzione terapeutica.

Bibliografia

- (1) Angiolella L., Rojas F., Giammarino A., Bellucci N., Giusiano G. (2024) - Identification of Virulence Factors in Isolates of *Candida haemulonii*, *Candida albicans* and *Clavispora lusitanae* with Low Susceptibility and Resistance to Fluconazole and Amphotericin B. *Microorganisms*, 12(1).
- (2) Giammarino A., Verdolini L., Simonetti G., Angiolella L. (2025) - Fungal Biofilm: An Overview of the Latest Nano-Strategies. *Antibiotics* (Basel), 14(7): 718.

Parole chiave. *Candida parapsilosis*, *Biofilm*, *Aderenza*, *Stress osmotico*, *Carvacrolo*

BIOSTIMOLANTI E TECNICHE ESTRATTIVE INNOVATIVE PER L'OTTIMIZZAZIONE PRODUTTIVA DI *THYMUS VULGARIS* L. IN PIENO CAMPO

G.N. Basile, C. Ruta, G. De Mastro

Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti (DiSSPA), Università degli Studi di Bari, Bari, Italia
e.mail: giuseppe.basile@uniba.it

Introduzione. Le piante officinali rivestono un ruolo strategico nei sistemi agricoli mediterranei per il loro valore economico, ambientale e multifunzionale, in particolare nella produzione di oli essenziali e composti naturali ad alto valore. Tuttavia, la loro coltivazione è spesso penalizzata dalla indisponibilità di prodotti fitosanitari e nutrizionali specificamente registrati, rendendo complessa la gestione agronomica in condizioni di

crescente stress climatico e di riduzione degli input chimici (1). In questo scenario, l'adozione di approcci alternativi e a basso impatto, quali i biostimolanti, emerge come una strategia promettente per sostenere la produttività e la qualità della coltivazione di timo (*Thymus vulgaris* L. var. Varico 3), migliorando l'efficienza d'uso delle risorse e la resilienza dei sistemi colturali (2).

Materiali e Metodi. La sperimentazione è stata condotta in pieno campo in agro di Specchia (Le) presso l'azienda a conduzione biologica Sandemetro s.r.l., su suolo caratterizzato da una tessitura franco sabbiosa argillosa e clima mediterraneo caldo-secco. Le lavorazioni hanno previsto un'aratura superficiale pre-trapianto e fresature interfila per il controllo meccanico delle infestanti.

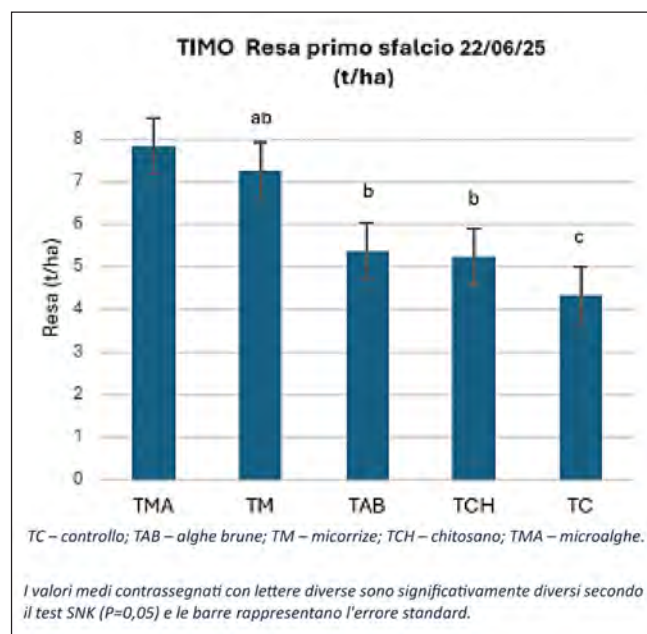


Figura 1. Effetto di trattamenti biostimolanti sulla produzione di biomassa secca di timo alla prima raccolta (22/6/2025).

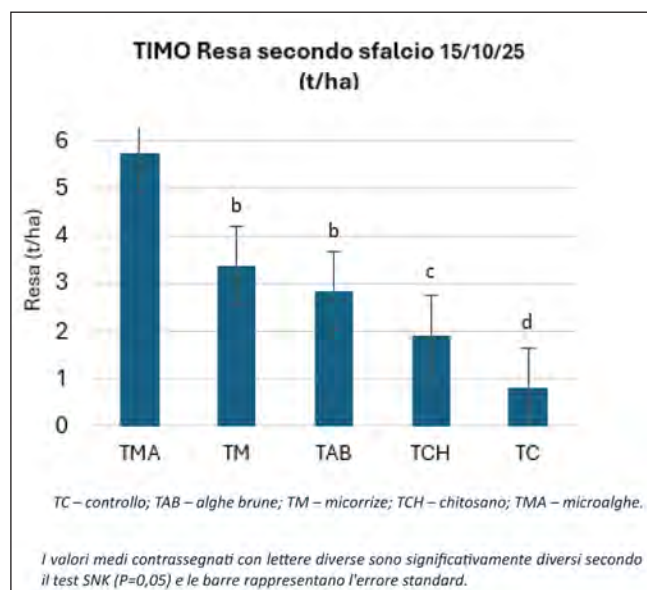


Figura 2. Effetto di trattamenti biostimolanti sulla produzione di biomassa secca di timo alla seconda raccolta (15/10/2025).

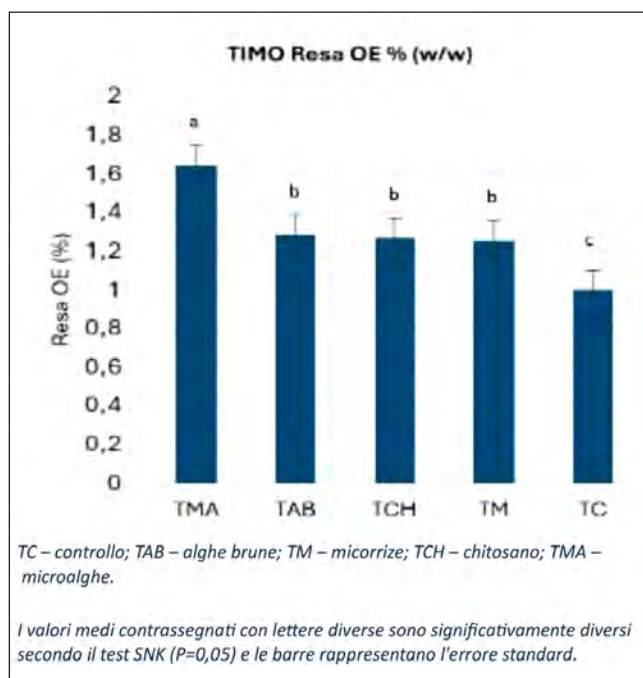


Figura 3. Effetto di trattamenti biostimolanti sulle rese in olio.

Il disegno sperimentale attuato è a blocchi randomizzati con tre repliche per trattamento.

Le piante di *T. vulgaris* L. var. Varico 3 (Svizzera, *Agroscope Changins-Wädenswil Research Station*) moltiplicate in vivaio per taleaggio, sono state trapiantate a marzo 2024 su baule bio-pacciamate con un sesto d'impianto a file binate di 0,35 m x 1,80 m. e predisposizione di un impianto di irrigazione a micro-portata. A partire da aprile 2025 è stata condotta una prova comparativa su diversi prodotti ad azione biostimolante. In particolare, sono stati valutati biostimolanti microbici granulari a base di AMF (*Rhizophagus intraradices*), applicati alla dose di 30 g pianta⁻¹ il primo anno e di 15 g pianta⁻¹ alla ripresa vegetativa del secondo anno.

Sono stati inoltre confrontati biostimolanti non microbici per via fogliare, tra cui: estratti di microalghe contenenti prevalentemente proteine, peptidi e amminoacidi liberi derivati dal fitoplancton (2 L ha⁻¹ dalla ripresa vegetativa fino alla fioritura e 1 L ha⁻¹ nel periodo post-sfalcio); estratti di alghe marine *Ascophyllum nodosum* al 17% p/v (2,5 L ha⁻¹ dalla ripresa vegetativa fino alla fioritura e 2,5 L ha⁻¹ dopo lo sfalcio); e formulati a base di chitosano cloridrato (4,5 L ha⁻¹ dalla ripresa vegetativa fino alla fioritura e 4,5 L ha⁻¹ nel periodo post-sfalcio). Il protocollo sperimentale ha previsto quattro applicazioni durante la ripresa vegetativa (aprile–giugno) e tre applicazioni successive al primo sfalcio (agosto–settembre), confrontate con un controllo non trattato. Sono stati rilevati resa in biomassa secca (t ha⁻¹) al primo e secondo sfalcio e resa in olio essenziale (w/w).

L'olio essenziale è stato estratto mediante tecniche differenti: idrodistillazione (apparecchio Clevenger), distillazione in corrente di vapore (Estrattore

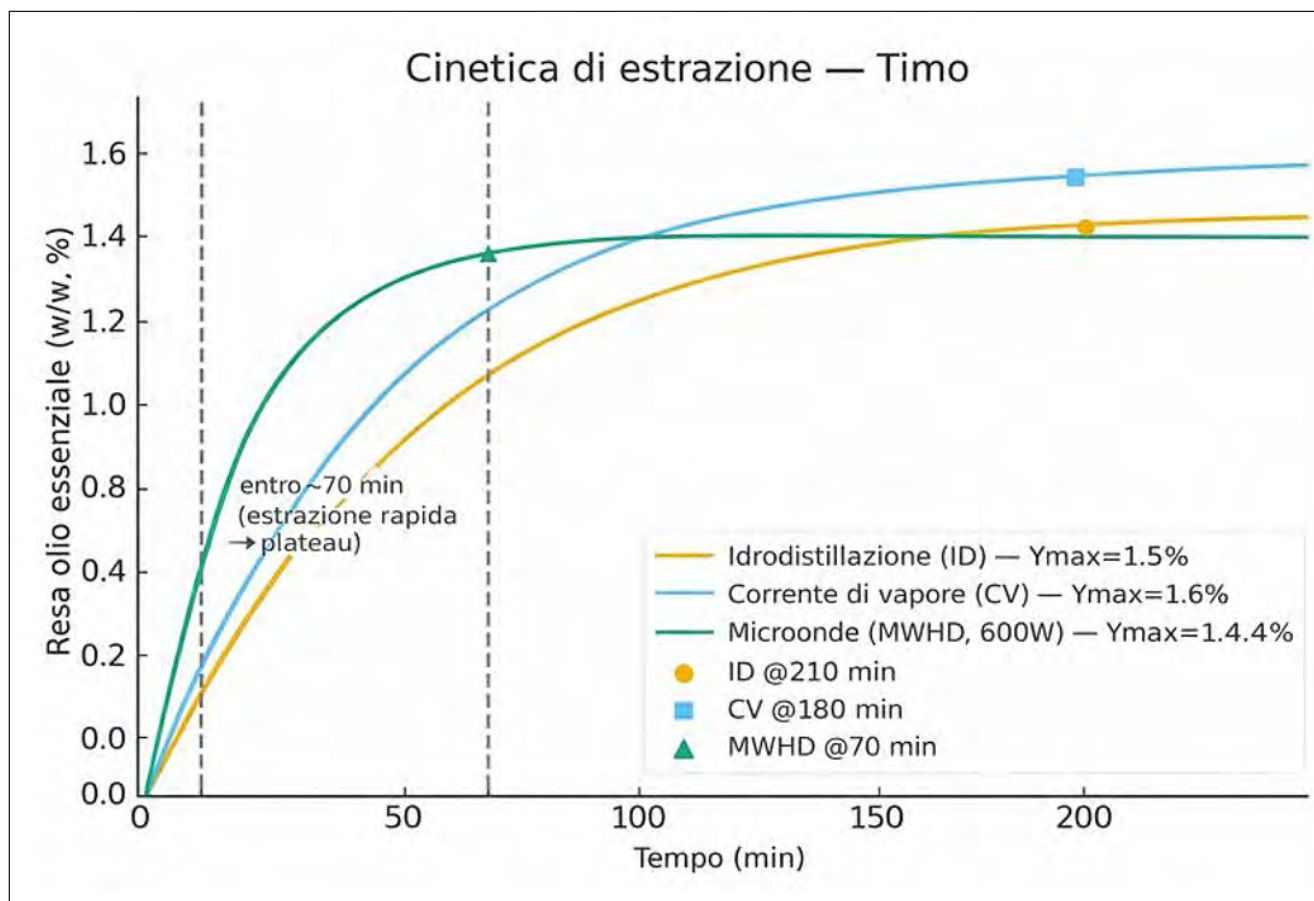


Figura 4. Curve di cinetica di estrazione delle tre tecniche a confronto.

Inherba Inox Plus) ed estrazione assistita a microonde (ETHOS X Advanced Microwave Extraction System, Milestone Srl).

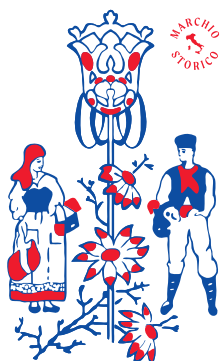
Risultati. Nel primo sfalcio, il controllo ha mostrato una resa media di circa 4 t ha^{-1} di biomassa secca, mentre i trattamenti biostimolanti hanno determinato incrementi significativi (Fig.1). In particolare, l'applicazione di estratti di microalghe ha consentito di superare le 7 t ha^{-1} , mentre AMF e chitosano hanno raggiunto valori intermedi compresi tra 5 e 7 t ha^{-1} . Al secondo sfalcio, la resa è risultata complessivamente inferiore, ma con differenze marcate tra i trattamenti (Fig.2). Le microalghe hanno mantenuto una produzione superiore a 5 t ha^{-1} , evidenziando una maggiore capacità di sostenere il ricaccio post-sfalcio, mentre il controllo e il chitosano hanno mostrato un drastico calo produttivo ($< 2 \text{ t ha}^{-1}$). La resa in olio essenziale ha raggiunto valori massimi prossimi all'1,6 – 1,7% (w/w) partendo dalle biomasse secche derivanti dal trattamento con le microalghe (Fig.3). Per quanto riguarda le tecniche estrattive, l'idrodissillazione ha richiesto tempi superiori alle due ore per raggiungere la massima resa (1,64% w/w), mentre l'estrazione assistita da microonde ha consentito di ottenere rese comparabili in tempi ridotti del 40–50% (Fig.4), in accordo con quanto riportato da Gavrila et al. (2023) per sistemi combinati microonde–ultrasuoni (3).

Discussione e Conclusioni. I risultati indicano che l'impiego di biostimolanti, in particolare estratti di microalghe, non solo incrementa la produzione di biomassa nel timo, ma contribuisce a mantenere una maggiore stabilità produttiva nel secondo sfalcio, suggerendo un effetto positivo sulla resilienza fisiologica della coltura. Dal punto di vista estrattivo, le tecniche assistite da microonde rappresentano una valida alternativa ai metodi convenzionali, permettendo una significativa riduzione dei tempi e dei consumi energetici a fronte di rese sovrapponibili. Sebbene preliminari, questi risultati supportano l'integrazione di strategie agronomiche e tecnologiche orientate alla sostenibilità della filiera delle piante officinali.

Bibliografia

- (1) Spina D., Barbieri C., Carbone R., Hamam M., D'Amico M., Di Vita G. (2023) - Market trends of medicinal and aromatic plants in Italy: Future scenarios based on the Delphi method. *Agronomy*, 13(7):1703.
- (2) Rouphael Y., Colla G. (2018) - Synergistic biostimulatory action. *Scientia Horticulturae*, 234: 337-344.
- (3) Gavrila A.I., Pintilie L., Timpu D., Doni M., Vochita G., Gherghel D. (2023) - Enhancing the Extraction Process Efficiency of Thyme Essential Oil by Combined Ultrasound and Microwave Techniques. *Agronomy*, 13(9): 2331.

Parole chiave. *Thymus vulgaris*, *Varico 3*, Chitosano, Microalghe, Olio essenziale, Estrazione sostenibile



A. MINARDI & FIGLI
S.R.L.



Via Boncellino 32 - 48012 Bagnacavallo (Ra)

**90 anni di esperienza
nella lavorazione e nel commercio all'ingrosso
delle piante officinali**

Tel. (0545) 61460 – Fax (0545) 60686 – <http://www.minardierbe.it> – e-mail: info@minardierbe.it