

Estrazione, quantificazione e nanoincapsulazione di acido clorogenico dai carciofi

Marianna Pepe

Abstract

L'obiettivo principale del presente lavoro di tesi è quello di testare la cinetica di estrazione solido-liquido, mediante la tecnica di macerazione, al variare della temperatura.

È stato messo a punto un metodo per quantificare gli acidi clorogenici tramite l'utilizzo dell'HPLC, e dai relativi dati raccolti, mediante l'utilizzo di standard, è stato possibile ricavare le rette di taratura.

È stato osservato che la macerazione in etanolo è una tecnica efficace al fine di estrarre l'acido clorogenico e l'acido neoclorogenico dai carciofi. Dall'analisi dei risultati relativi alle cinetiche di estrazione risulta che l'efficacia di estrazione aumenti all'aumentare della temperatura di processo e del tempo di macerazione raggiungendo un massimo a 48 h. Dopo tale tempo, le quantità estratte non aumentano e addirittura in alcune estrazioni si nota una diminuzione della concentrazione, facendo ipotizzare la presenza di fenomeni degradativi. È possibile quindi affermare che un tempo di macerazione di 48 h sia l'ottimo per il processo in esame. Nello specifico la macerazione a 65°C permette di estrarre in 48 ore circa 5.7 g di acido clorogenico per kg di carciofi secchi e circa 0.08 g di acido neoclorogenico per kg di carciofi secchi. L'estratto è stato incapsulato in liposomi mediante tecnica dell'antisolvente ricorrendo all'utilizzo di un sistema a getto coassiale allo scopo di migliorarne la biodisponibilità e la stabilità. Dalla caratterizzazione con il *Dynamic Light Scattering* (DLS), si ricava che le vescicole liposomiali inglobanti acido clorogenico hanno presentato una Z-average di circa 46 nm con PI di 0.49.

Mediante l'analisi all'HPLC e filtrazione tangenziale del prodotto, è stato possibile quantificare l'efficienza di incapsulamento e il carico degli acidi clorogenici nei liposomi. Tali esperimenti hanno fornito efficienze di incapsulamento e carichi bassi (EE=circa 15% e carico circa 0.2%) per l'acido clorogenico e ancor più basse, tendenti a zero, per l'acido neoclorogenico.

¹ Relatori: Prof. Ing. Diego Caccavo, Prof. Ing. Gaetano Lamberti, Ing. Raffaele Mancino

L'estratto è stato incapsulato in liposomi mediante tecnica dell'antisolvente ricorrendo all'utilizzo di un sistema a getto coassiale allo scopo di migliorarne la biodisponibilità e la stabilità. Dalla caratterizzazione con il Dynamic Light Scattering (DLS), si ricava che le vescicole liposomiali inglobanti acido clorogenico hanno presentato una Z-average di circa 46 nm con PI di 0.49.

Mediante l'analisi all'HPLC e filtrazione tangenziale del prodotto, è stato possibile quantificare l'efficienza di incapsulamento e il carico degli acidi clorogenici nei liposomi. Tali esperimenti hanno fornito efficienze di incapsulamento e carichi bassi (EE=circa 15% e carico circa 0.2%) per l'acido clorogenico e ancor più basse, tendenti a zero, per l'acido neoclorogenico. In questo lavoro di tesi è stata testata la cinetica di estrazione polvere di carciofo-etanolo, tramite tecnica di macerazione, al variare della temperatura.

È stato messo a punto un metodo per quantificare gli acidi clorogenici tramite l'utilizzo dell'HPLC, e dai relativi dati raccolti è stato possibile ricavare le rette di taratura per i due acidi standard.

È stato osservato che la macerazione in etanolo è una tecnica efficace al fine di estrarre l'acido clorogenico e l'acido neoclorogenico dai carciofi. In particolare, dall'analisi dei dati raccolti si evince che la quantità di acido clorogenico estratto è concorde con i risultati ottenuti da altri studi, mentre, la quantità di acido neoclorogenico estratto risulta essere inferiore.¹

Bibliografia

1. Mulinacci N, Prucher D, Peruzzi M, et al. Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compounds content. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2004;34(2):349-357, doi:[https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(03\)00552-1](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(03)00552-1)
2. Nicoletto C, Santagata, S., Tosini, F., & Sambo, P. Qualitative and healthy traits of different Italian typical artichoke genotypes. . *CyTA-Journal of Food* , 2013 11 (2)(108-113).
3. Yoo KS, et al. "Development of an automated method for Folin-Ciocalteu total phenolic assay in artichoke extracts." *Journal of Food Science* 7712 2012;C1279-C1284.
4. Craig AP, Fields C, Liang N, et al. Performance review of a fast HPLC-UV method for the quantification of chlorogenic acids in green coffee bean extracts. *Talanta* 2016;154(481-485, doi:<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.101>
5. <https://www.humanitascatania.it/enciclopedia-medica/integratori-alimentari/acido-clorogenico/>.
6. Merck. [https://www.sigmaaldrich.com/IT/it/substance/chlorogenicacid35431327979?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=20849933445&utm_content=158103660633&gclid=CjwKCAjw9eO3BhBNEiwAoc0-jeezD4tZ5JJ4q80L8u9YUTN5szzr-g-](https://www.sigmaaldrich.com/IT/it/substance/chlorogenicacid35431327979?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=20849933445&utm_content=158103660633&gclid=CjwKCAjw9eO3BhBNEiwAoc0-jeezD4tZ5JJ4q80L8u9YUTN5szzr-g-g1OdYzEQowwSf_6HS3FPuJzhoC3iwQAvD_BwE)
7. Merck. https://www.sigmaaldrich.com/IT/it/product/sigma/94419?srsId=AfmBOoqPat3bKAd8qS6jnCa_faeWIXPCEp3z1rW8TkQWjYMTIEblcB3J.
8. Information NCFB. PubChem Compound Summary for CID 1794427, Chlorogenic Acid. Retrieved September 29, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorogenic-Acid>. 2024.
9. company Cc. <https://fnkprddata.blob.core.windows.net/domestic/data/datasheet/CAY/70930.pdf>.
10. Akbarzadeh A R-SR, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y, Samiei M, Kouhi M, Nejati-Koshki K. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett.* 2013 Feb 22;8(1):102. doi: 10.1186/1556-276X-8-102. PMID: 23432972; PMCID: PMC3599573. 2013.
11. Mozafari MR. Nanoliposomes: preparation and analysis." *Liposomes: Methods and protocols*,". 2010.
12. Lamuela-Raventós RM. Folin-Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity." *Measurement of antioxidant activity & capacity: recent trends and applications* 2018.