

# ESTRATTI NUTRACEUTICI STANDARDIZZATI ED ENERGIA DA TESSUTI VEGETALI E SOTTOPRODOTTI AGRO-INDUSTRIALI

ANNALISA ROMANI, ARIANNA SCARDIGLI, LISA BANELLI, PATRIZIA PINELLI,  
Dipartimento di Scienze Farmaceutiche - Laboratorio di Merceologia e Qualità delle Risorse  
Università degli Studi di Firenze  
Via Ugo Schiff 6 50019 Sesto F.no (Firenze)  
e-mail: annalisa.romani@unifi.it

## **Riassunto**

*È stato studiato un processo di estrazione di principi attivi naturali, utilizzabile per la filiera viti-vinicola, olivicola e ortofrutta in genere, riportando come esempio materiale vegetale di scarto della filiera produttiva del carciofo (*Cynara scolymus* L.). Il processo è basato sull'impiego di tecnologie a membrana, a partire da estratti acquosi, ottenuti a caldo mediante processo pneumatico a ricircolo, successivamente purificati da fasi di filtrazione; una di microfiltrazione tangenziale (MF) con membrane ceramica, seguita dall'ultrafiltrazione (UF) a basso taglio molecolare. Il permeato di UF viene poi concentrato in osmosi inversa (OI). Il concentrato di OI in uscita dall'impianto viene successivamente concentrato in due diversi evaporatori a pompa di calore e, se necessario, successivamente ridotto in polvere micronizzata. Il processo, dopo premacerazione dinamica, è applicabile sia a tessuto vegetale fresco che essiccato. Con tale procedimento è possibile ottenere soluzioni concentrate o semi-solide (acqua residua 20-30%) e polveri, standardizzate in contenuto di principi attivi di natura polifenolica, ad elevato valore biologico, che possono collocarsi nei settori: alimentare, cosmetico e farmaceutico. Il titolo in componenti bioattivi, del genere *Cynara*, presa come esempio, è stato espresso come singoli composti delle sottoclassi polifenoliche (esteri mono e dicaffeoilchinici e flavonoidi) analizzati per HPLC/DAD/MS. Il residuo post estrazione, a seconda delle tipologie di biomassa utilizzata, può essere collocato nel settore della mangimistica animale, nel settore agricolo ed agroindustriale o sottoposto ad un processo di digestione anaerobica, per l'ottenimento di biogas ed energia. Mediante l'utilizzo delle soluzioni concentrate, paste concentrate e prodotti in polvere sono stati progettati e messi in commercio, alimenti da forno stabilizzati naturalmente o arricchiti, prodotti cosmetici e integratori per la modulazione e riduzione del colesterolo e dei trigliceridi nell'uomo.*

## **Introduzione**

Il settore agricolo ed agro-industriale in Italia, pur essendo uno dei settori portanti della nostra economia, ha bisogno in alcuni sottosettori, di essere qualificato, potenziato e sfruttato secondo criteri moderni, basati sulla flessibilità produttiva, la sostenibilità economico-ambientale e il rilancio delle tradizioni. Molti sono i prodotti alimentari tipici, base della nostra cultura e tradizione alimentare mediterranea, che si possono prestare a diventare modello di sfruttamento a ciclo chiuso, volto a potenziare la qualità degli alimenti, recuperare sottoprodotti e scarti per nuove produzioni in diversi settori e non ultimo permettere la produzione di biocarburanti ed energia da nuove biomasse. I prodotti, ottenuti mediante l'utilizzo di tecnologie rispettose dell'ambiente e della biodiversità, possono essere utilizzati in settori, food-innovativi, cosmetico, fitoterapico e veterinario (PCT/IT2008/000135); il residuo post estrazione, a seconda delle tipologie di biomassa utilizzata, può essere collocato nel settore della mangimistica animale, nel settore agricolo ed agroindustriale o sottoposto ad un processo di digestione anaerobica, per l'ottenimento di biogas ed energia (PCT/IT2009000246). I settori pronti ad essere modello di sfruttamento in tal senso sono il settore enologico, quello olivicolo, oltre a tutto il settore orto-frutta in genere. Precedenti studi e brevetti sono stati riportati per il settore olivicolo, in questo lavoro si riporta in particolare l'esperienza produttiva in un settore orto-frutta quale quello della produzione del carciofo.

L'Italia, con una superficie coltivata a carciofo di circa 50.283 ha, ed una produzione stimata attorno alle 530.000 ton/anno, con rese unitarie medie di 10,6 t/ha, è il maggior paese produttore in Europa, seguito da Spagna (19.200 ha) e Francia (13.000 ha). La parte edule del carciofo è rappresentata dalle infiorescenze (capolini) raccolte prima che le brattee induriscano e prima che i fiori centrali si accrescano, essa rappresenta il 40-55% in peso del capolino intero. La parte restante, costituita da foglie e gambi, non viene utilizzata in

nessun settore produttivo e costituisce un materiale di scarto spesso da smaltire. Nella coltivazione del carciofo i sottoprodotti si attestano intorno al 60%. La ricerca intende valorizzare e riutilizzare la biomassa vegetale, ricavandone prodotti per l'industria alimentare e farmaceutica, con un processo che rispetta l'ambiente e l'ecosistema. La fibra grezza totale ammonta all'1,4% della sostanza fresca ed è costituita per il 65% da cellulosa, per il 21% da emicellulose e per il 14% da lignina (Bruni, 1999). Il carciofo è un alimento nobile per l'abbondanza di sostanze azotate e per il contenuto di carboidrati, è inoltre ricco di sali minerali (K, Na, Ca, P, Fe), vitamine (A, B1, C) e zuccheri (inulina) e di antiossidanti polifenolici. Questi ultimi sono principalmente costituiti da esteri caffeoilchinici, tra cui la cinarina (Lattanzio et al., 1978). In virtù di tale composizione, estratti e tinture di carciofo sono da tempo utilizzati nelle affezioni epato-biliari, come coleretici e ipocolesterolemici (Gebhardt, 1997). I principi attivi del *Cynara* hanno importanti applicazioni anche in fitoterapia (Dogan et al., 2005): le foglie e i capolini contengono metaboliti secondari polifenolici, quali: luteolina, acidi mono e dicaffeoilchinici (ad es. ac. clorogenico e cinarina), (Slanina et al., 1993; Wang et al., 2003). I metaboliti secondari, di cui è ricco *Cynara*, hanno diverse proprietà: (i) proteggono proteine, lipidi e DNA da ossidazioni causate da radicali liberi (Gebhardt, 1997; Coinu et al., 2007), mostrano un'attività coleretica, diuretica ed epatoprotettiva (Gebhardt, 1998) inibiscono la biosintesi del colesterolo, quindi agiscono nella prevenzione dell'arteriosclerosi (Preziosi 1963; Dogan et al., 2005), inoltre inibiscono l'HIV integrasi, un enzima chiave nella replicazione dell' HIV (Slanina et al., 2001) e possiedono un'attività antibatterica (Zhu et al., 2005). Obiettivo di questo lavoro è stato inoltre la progettazione, produzione e commercializzazione di: alimenti da forno stabilizzati naturalmente o arricchiti, prodotti cosmetici e integratori per la modulazione e riduzione del colesterolo e dei trigliceridi nell'uomo. Fase finale di questo lavoro è la possibilità di dimensionare cogeneratori e mini-cogeneratori alimentati sia dallo scarto di tali produzioni, sia con miscele che possano utilizzare deiezioni animali e scarto del settore lattiero-caseario.

## **Materiali e metodi**

### Estrazione idroalcolica

Utilizzando una miscela EtOH/H<sub>2</sub>O acida per HCOOH (pH 3.2) in rapporto 70/30 sono stati ottenuti gli estratti contenenti l'intero corredo polifenolico dei tessuti vegetali analizzati. Sono stati preparati estratti idroalcolici al 12% p/V nel caso delle foglie di carciofo fresche ed estratti al 6% p/V per le foglie essiccate.

### Analisi HPLC/DAD

Gli estratti sono stati sottoposti ad analisi HPLC/DAD (High Performance Liquid Chromatography/ Diode Array Detector) per la valutazione quali-quantitativa del profilo polifenolico.

I campioni sono stati analizzati impiegando una colonna Luna C18 5 µm (Phenomenex), 4,6 mm ID e 150 mm di lunghezza, con precolonna della stessa fase, termostata a 27°C.

Sono stati utilizzati come fase mobile H<sub>2</sub>O a pH 3.2 per HCOOH e CH<sub>3</sub>CN con un gradiente lineare a tre rampe riportato in un precedente lavoro (Pinelli et al., 2007) per l'analisi dei derivati caffeoilchinici e flavonici. Gli spettri UV sono stati acquisiti fra 190 e 600 nm e i cromatogrammi registrati a 350-330-280-254 nm.

### Analisi HPLC/MS

L'analisi HPLC/MS è stata svolta utilizzando un cromatografo liquido HP 1100L dotato di un detector di massa e un HP 1100 MDS API-electrospray (Agilent Technologies, Palo Alto, USA).

Le condizioni operative dello spettrometro di massa sono: temperatura del gas 350°C, flusso di azoto 10 L/min, pressione del nebulizzatore 40 psi, temperatura del quadrupolo 40°C, voltaggio del capillare 3500 V. Gli esperimenti sono stati condotti in ionizzazione negativa e/o positiva, con valori di fragmentor variabili in un intervallo compreso tra 80 e 200 eV, allo scopo di ottimizzare le condizioni di frammentazione dei diversi composti analizzati. La presenza del rivelatore UV-VIS ha permesso di acquisire in serie con lo spettro UV-Vis e di massa dei segnali registrati nei cromatogrammi alle lunghezze d'onda di interesse.

L'identificazione delle varie molecole è stata condotta confrontando il tempo di ritenzione, lo spettro UV-Vis e quello di massa con quelli di composti standard di riferimento, quando disponibili.

## Analisi Quantitativa

I derivati caffeoilchinici, sia mono- che di-sostituiti, sono stati calibrati mediante analisi HPLC/DAD, a 330 nm, usando curve di calibrazione a 6 punti costruite iniettando gli standard, acido clorogenico e cinarina, acquistati dalla Roth (Germania), in un range di concentrazione 0-100 µg ( $r^2 \geq 0,998$ ). Analogamente i flavoni sono stati quantificati a 350 nm, usando uno standard puro di luteolina 7-O-glucoside (Extrasynthèse S.A. Lione, Nord-Genay, Francia) come composto di riferimento.

## Impianto di produzione estratti

L'impianto dove avviene l'estrazione della biomassa vegetale è un impianto di estrazione pneumatica a pressione (tale impianto viene utilizzato anche per altre specie alimentari e/o farmaceutiche). Le foglie o altri tessuti vegetali della pianta di carciofo, inizialmente stoccati in appositi contenitori, vengono prelevati nella misura del 10-15% del peso dell'estratto acquoso che si intende ottenere per essere sottoposti ad una fase di lavaggio.

Successivamente, le foglie possono essere sottoposte ad essiccazione o destinate fresche direttamente alla fase di triturazione in base al tipo di estratto che si intende ottenere.

Nel caso di essiccazione, le foglie vengono sottoposte ad un processo che si basa sull'asportazione di umidità dalle matrici vegetali tramite circolazione di aria riscaldata che raggiunge una temperatura di 60 °C per 48h. Tale processo consente di preservare intatte le qualità e le caratteristiche organolettiche della matrice oggetto di estrazione.

Il materiale, fresco o secco, può essere caricato all'interno di una tramoggia e triturato attraverso l'azione di coltelli di pre-taglio e contro coltelli calettati su disco ruotante, per poi raccogliere il materiale da destinare alla fase di estrazione. La fase di triturazione può essere effettuata per massimizzare l'efficienza estrattiva, poiché, la pezzatura fine del tessuto vegetale consente l'aumento della superficie di contatto con il solvente (H<sub>2</sub>O).

La fase di estrazione della matrice vegetale avviene in un impianto pneumatico TIMATIC (TECNOLAB, Spello, PG) mostrato in Figura 1.



**Figura 1. Estrattore e fusore TIMATIC (Tecnolab, Spello, PG)**

Gli scarti rimasti dopo la fase di estrazione a caldo, impoveriti o privi dei composti polifenolici e caffeoilchinici particolarmente amari, possono costituire un interessante materia prima per la mangimistica dei ruminanti, anche con integrazione di altre matrici (foraggio, erba medica, trifoglio, etc.).

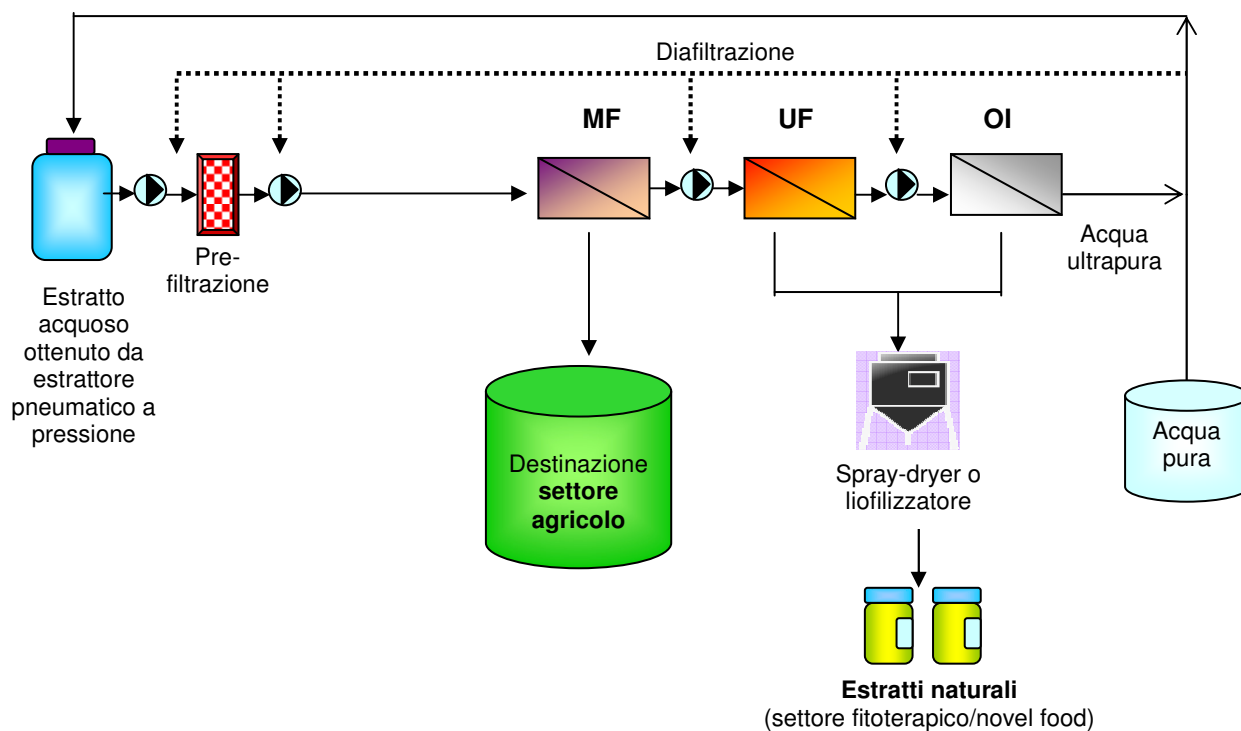
L'estratto è quindi trattato con tre tecniche di membrana: microfiltrazione (MF), ultrafiltrazione (UF) ed osmosi inversa (OI). La MF trattiene tutto il materiale in sospensione, l'UF trattiene gli aggregati molecolari, colloidali e sostanze organiche a più alto peso molecolare, l'OI ha la funzione di concentrare i principi attivi del carciofo permeati in UF.

I prodotti in uscita dall'impianto di filtrazione a membrana sono infine sottoposti a concentrazione in un impianto di evaporazione a pompa di calore (C&G Depurazione Industriale, Rosano, Firenze). Con tale procedimento è possibile ottenere soluzioni concentrate o semi-solidi (acqua residua 20-30%), standardizzate in contenuto di principi attivi, commercializzabili direttamente.

Il permeato di OI è costituito da acqua demineralizzata, riutilizzata, con un modesto reintegro, nella preparazione del bagno di estrazione, per migliorare le rese. Il processo non prevede l'uso di sostanze contaminanti, di solventi e reagenti, opera a temperatura ambiente, è perfettamente sterilizzabile e sicuro da eventuali contaminazione microbiche. Viene inoltre totalmente riutilizzata nel processo tutta l'acqua di evaporazione, ottenuta dai concentratori a pompa di calore.

Lo schema complessivo dell'impianto è mostrato schematicamente in Figura 2.

**Figura 2. Schema generale del processo**



Al momento, l'impianto di proprietà della azienda Biotechnology Power (Milano), realizzato in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e il Laboratorio di Merceologia e Qualità delle Risorse (MerQuRIS – Università degli Studi di Firenze), il consorzio CRISA della Cittadella di Ricerca di Brindisi, S.T.I.M.A. s.r.l. (Torremaggiore, FG), ISR-Ecoindustria (LT), è ubicato presso la zona industriale di Fasano e, oltre ad essere la testa di produzione di sostanze bioattive, fornisce parte della matrice di scarto per la produzione di mangimistica animale alla azienda vicina, parte ad un microgeneratore energetico sperimentale.

## Risultati e Discussione

### Estrazione idroalcolica

Le foglie di carciofo fresche e/o sottoposte a processo di essiccamento sono state inizialmente estratte con miscele idroalcoliche per l'ottenimento di estratti esaurienti contenenti l'intero corredo polifenolico delle matrici vegetali. I dati quali-quantitativi HPLC/DAD/MS sono riportati in Tabella 1.

	<b>Estratto idroalcolico Foglie Fresche</b>	<b>Estratto idroalcolico Foglie Essiccate</b>
MCC	0.25	1.23
Acido clorogenico	7.07	36.92
DCC	7.69	10.55
Luteolina 7-O-glucoside	2.72	5.37
<b>Polifenoli totali</b>	<b>17.73</b>	<b>54.07</b>

**Tabella 1.** Dati quantitativi HPLC/DAD/MS dei singoli composti e delle sottoclassi polifenoliche in estratti idroalcolici da foglie di carciofo fresche ed essiccate. MCC = derivati monocaffeoilchinici; DCC = derivati dicaffeoilchinici. *I dati sono espressi in mg/g.*

Mediante analisi HPLC/DAD/MS, negli estratti di foglie di carciofo sono state identificate le seguenti molecole antiossidanti: acido clorogenico ed altri derivati monocaffeoilchinici, acido p-cumaroilchinico, derivati dicaffeoilchinici (cinarina) e, tra i composti flavonoidici, luteolina 7-O-rutinoside, luteolina 7-O-glucoside, apigenina 7-O-rutinoside, apigenina 7-O-glucoside, luteolina 7-O-malonilglucoside, apigenina 7-O-glucuronide e i rispettivi agliconi. I risultati riportati in Tabella 1 mostrano le concentrazioni di alcune molecole prese singolarmente e la sommatoria relativa alle principali sottoclassi polifenoliche (esteri dell'acido caffeico e flavonoidi) in estratti ottenuti rispettivamente da foglie di carciofo fresche ed essiccate.

### Impianto di estrazione a membrane

Il ciclo estrattivo della matrice vegetale inizia con l'utilizzo di un estrattore pneumatico TIMATIC (TECNOLAB, Spello, PG). Tale impianto è basato su un processo di estrazione solido – liquido che alterna una fase dinamica, ottenuta a pressione programmata, ad una fase statica necessaria per il trasferimento della sostanza estraibile in acqua, riscaldata parallelamente in un apposito contenitore a T controllata mediante camicia ad olio o altro sistema a controllo termico (1500 litri di acqua a 90° per 5 ore). Il carico può essere effettuato con una quantità di biomassa fresca che oscilla dagli 80 ai 100 kg o con biomassa pre-essiccata in armadi o sale essiccanti con aria a ricircolo a 40° C. In tal caso il carico di biomassa essiccata oscilla dai 20 a 25 kg per cestello. L'impianto è inoltre dotato di vasche di pre-macerazione dimaniche, a 4 cestelli di carico dei diversi estrattori pneumatici. In tal caso il solvente di estrazione utilizzato è costituito unicamente da acqua, ottenuta dal riciclo dei successivi processi di frazionamento ed evaporazione. Durante la fase dinamica si genera una percolazione forzata con ricircolo del liquido estraente e nello stesso tempo viene evitata la formazione di canali preferenziali e sovra-saturazione del prodotto. Tale tecnologia permette di incrementare la produttività estrattiva lasciando inalterate le caratteristiche qualitative ed organolettiche dei principi attivi, permette inoltre di utilizzare o sola acqua o miscele di liquidi (es. acqua/etanolo) in casi di necessità di coestrazione anche di sostanze poco idrosolubili o liposolubili.

Alla fine del ciclo, con controllo automatico della pressione nella camera di estrazione, il prodotto è premuto per ottenere la massima estrazione. La doppia azione di pistoni, spingendo il solvente nel materiale vegetale, genera un movimento di liquido nella camera di estrazione.

L'impiego della tecnologia estrattiva TIMATIC si caratterizza per i seguenti requisiti:

- Rapidità di estrazione e costi di gestione ridotti;
- Produzione di estratti limpidi e pre-filtrati;
- Controllo delle fasi del trattamento con MICRO-PROCESSORI;
- Semplicità di utilizzo, manutenzione e pulizia;
- Massima affidabilità ed alto rendimento dell'impianto;
- Flessibilità e riproducibilità costante delle varie estrazioni;
- Estrazione a temperatura ambiente e quindi con ridotti consumi energetici;
- Caratteristiche organolettiche dei principi attivi estratti inalterate;
- Minima perdita di solvente durante le varie fasi.

L'estratto tal quale proveniente dall'impianto TIMATIC, le frazioni separate su membrana, in particolare il COI (Concentrato da Osmosi Inversa) e la polvere ottenuta per liofilizzazione degli estratti sono stati analizzati per la determinazione del contenuto polifenolico con un sistema HPLC/DAD/MS.

Ciascuna molecola viene quantificata singolarmente, ed il titolo dell'estratto viene espresso in polifenoli totali.

In Tabella 2 e Tabella 3 si riportano i risultati quantitativi HPLC/DAD/MS relativi alle sottoclassi polifenoliche ed ad alcune singole molecole identificate nell'estratto acquoso di partenza, nella pasta concentrata ottenuta mediante evaporatore con pompa di calore e nel relativo liofilo, rispettivamente per le foglie fresche che per le foglie essiccate.

	<b>Estratto TIMATIC foglie fresche</b>	<b>Pasta concentrata foglie fresche</b>	<b>Liofilo Pasta Concentrata foglie fresche</b>
	<b>mg/L</b>	<b>mg/g</b>	<b>mg/g</b>
MCC	132.71	4.08	8.14
Clorogenico	219.57	2.08	3.12
DCC	216.62	0.62	1.48
Cinarina	41.57	1.90	4.86
Luteolina 7-O- glucoside	51.31	0.00	0.56
<b>Polifenoli totali</b>	<b>661.79</b>	<b>8.68</b>	<b>18.16</b>

**Tabella 2.** Dati quantitativi HPLC/DAD dei singoli composti e delle sottoclassi polifenoliche presenti nell'estratto acquoso da TIMATIC (dati espressi in mg/L), nella pasta concentrata e nel corrispondente liofilo (dati espressi in mg/g), ottenuti da foglie di carciofo fresche (rapporto foglie/solvente 10 %).

	<b>Estratto TIMATIC foglie essiccate</b>	<b>Pasta concentrata foglie essiccate</b>	<b>Liofilo Pasta Concentrata foglie essiccate</b>
	<b>mg/L</b>	<b>mg/g</b>	<b>mg/g</b>
MCC	103.57	3.90	12.53
Clorogenico	294.00	18.39	44.53
DCC	98.10	4.95	14.80
Cinarina	9.29	3.45	2.57
Luteolina 7-O- glucoside	67.45	1.96	4.71
<b>Polifenoli totali</b>	<b>572.41</b>	<b>32.64</b>	<b>79.13</b>

**Tabella 3.** Dati quantitativi HPLC/DAD dei singoli composti e delle sottoclassi polifenoliche presenti nell'estratto acquoso da TIMATIC (dati espressi in mg/L), nella pasta concentrata e nel corrispondente liofilo (dati espressi in mg/g), ottenuti da foglie di carciofo essiccate (rapporto foglie/solvente 2 %).

Gli estratti dai residui di carciofo possono essere utilizzati come principi attivi ad attività fitoterapica e come possibili additivi per migliorare la qualità di alimenti (diminuire la perossidazione dei lipidi, aumentare le proprietà salutari e fornire fibre). Il processo di trattamento a membrana dei residui di lavorazione del carciofo è particolarmente efficace e versatile perché può essere applicato facilmente all'estrazione di principi attivi a partire da scarti agro-industriali del carciofo (gambi e brattee), ed anche da altre specie arboree (cardo, lupino, mirto, foglie di olivo etc.). Il processo consente di purificare gli estratti acquosi da proteine, cellulosa, emicellulosa e parzialmente dagli zuccheri, sostanze normalmente presenti nelle matrici vegetali. Ciò consente di aumentare il titolo degli estratti, che può attestarsi intorno al 10 % nel prodotto finito, sia in forma liquida che in polvere. Il processo consente ulteriori miglioramenti per superare anche il 20 % in principi attivi. Si tratta di spingere la resa di estrazione, i VCR del processi a membrana, ottimizzando i processi finali di evaporazione. Il processo è particolarmente semplice e sostenibile. Il residuo post-estrazione, a seconda delle tipologie di biomassa utilizzata, può essere collocato nel settore della mangimistica animale, nel settore agricolo ed agroindustriale o sottoposto ad un processo di digestione anaerobica, per l'ottenimento di biogas ed energia. Mediante l'utilizzo delle soluzioni concentrate, paste concentrate e prodotti in polvere sono stati progettati e messi in commercio alimenti da forno stabilizzati naturalmente o arricchiti, prodotti cosmetici e integratori per la modulazione e riduzione del colesterolo e dei trigliceridi nell'uomo e, assieme ad altri estratti o molecole isolate da genere *Vitis*, *Olea* e altre specie della macchia mediterranea, possono essere progettati fitoterapici e integratori per la prevenzione e cura delle patologie invecchiamento correlate. Le suddette attività sono state svolte in collaborazione con Enti di ricerca pubblici anche mediante la costituzione di new-co con la presenza di giovani ricercatori e spin-off universitari.

### **Summary**

#### **NUTRACEUTICAL STANDARDIZED EXTRACTS AND ENERGY FROM PLANT TISSUES AND AGRO-INDUSTRIAL BY-PRODUCTS**

*A process of extraction of natural active ingredients, suitable for winegrowing chain, olive growing, fruit and vegetables in general, bringing as an example the plant material from artichoke (*Cynara scolymus* L.) production wastes, has been studied. The process is based on membrane technologies applied at aqueous extracts obtained by heating in a pneumatic extractor, then purified by filtration: MF treatment followed by an UF on the previous permeate, successively concentrate with RO (Reverse Osmosis). The RO extract is*

then concentrate by two different Heat-Pump evaporators, and, if necessary, finally reduced to micronized powder. After an initial step of dynamic pre-maceration, the process is applicable on green and dried vegetal tissues. With this procedure it is possible to obtain concentrated or semi-solid solutions (20-30% residual water) and powders standardized in polyphenol content, with a high biological value, suitable for food, cosmetic and pharmaceutical industries. The title in bioactive components of *Cynara*, as an example, was expressed by HPLC / DAD / MS monitoring two subclasses of polyphenolic compounds (mono- and dicaffeoylquinic esters and flavonoids). The post-extraction residue, depending upon the used biomass, can be employed for animal feeding, agricultural and agro-industrial products or subjected to an anaerobic digestion process for the production of biogas and energy. Through the use of concentrated solutions and pastes or powders, baked foods, naturally stabilized, or enhanced products, cosmetics and supplements, for modulation and cholesterol/triglycerides reduction in humans, are designed and marketed.

## Bibliografia

- Bruni A. (1999) Farmacognosia generale e applicata. I farmaci naturali. (ed. Piccin), pp 294-295.
- Coinu R., Carta S., Urgeghe P. P., Mulinacci N., Pinelli P., Franconi F., Romani A. "Dose-Effect study on the antioxidant properties of leaves and outer bracts of extracts obtained from Violetto di Toscana artichoke", Food Chemistry, 101, 524-531, 2007.
- Dogan S et al., Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 776-785, 2005.
- Gebhardt R (1997) Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. Toxicol .Appl. Pharmacol. 144: pp 279-286.
- Gebhardt, R. "Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts". Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 287, 1122-1128, 1998.
- Lattanzio V., Vanadio S., Taranto G. "Distribuzione di composti ortodifenolici in estratti di differenti parti del carciofo", Ind. Conserve, 53, pp 29-33, 1978.
- PCT/IT2008/000135, data di deposito 01/04/08. Pizzichini M., Romani A., Pizzichini D., Russo C., Pinelli P. "Process for producing refined nutraceutic extracts from artichoke waste and from other plants of the *Cynara* genus".
- PCT/IT2009000246, data di deposito 05/06/09. RACE s.r.l. "Integrated process for recovery of a polyphenol fraction and anaerobic digestion of olive mill wastes".
- Pinelli P., Agostini F., Comino C., Lanteri S., Portis E., Romani A. "Polyphenolic Composition of Wild and Cultivated Cardoon Leaves", Food Chemistry, 105 (4): 1695-1701, 2007.
- Preziosi P. Il Farmaco (Ed. Sc.), 17, 701-745, 1962.
- Slanina J, et al. Cesko-SloV Farm, 42, 265-268, 1993.
- Slanina J., Taborska E., Bochorakova H. et al. "New and facile method of preparation of the anti-HIV-1 agent, 1,3-dicaffeoylquinic acid". Tetrahedron Letters, 42 (19), 3383-3385, 2001.
- Wang M.F., Simon J.E., Aviles I.F., He K., Zheng Q.Y., Tadmor Y. "Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.)". Journal of Agricultural and Food Chemistry 51 (3), 601-608, 2003.
- Zhu XF. et al., Fitoterapia, 76: 108-111, 2005.