

Estrazione sostenibile di biomolecole per usi alimentari, cosmetici e farmaceutici: l'estrazione a fluidi supercritici

G.P. Leone, D. Ferri

Da anni il Laboratorio di Innovazione Agro-industriale (UTAGRI-INN) dell'ENEA propone attività di ricerca e sviluppo di processi estrattivi con fluidi supercritici (SFE, Supercritical Fluid Extraction), puntando sulle caratteristiche di sostenibilità del processo. La tecnica, infatti, non fa uso di solventi organici, ha ridotti consumi energetici e richiede un numero di step di processo inferiori rispetto alle estrazioni tradizionali. Il processo risponde, inoltre, ai requisiti imposti dalla normativa per gli usi alimentari, cosmetici e farmaceutici degli estratti.

Le estrazioni SFE si basano sull'uso come solvente di un gas in condizioni di pressione e temperature superiori ai rispettivi valori critici: nello stato supercritico il fluido esibisce elevata densità e bassa compressibilità, proprie di un classico solvente liquido, elevata diffusività e bassa viscosità, tipiche di un gas. In termini di potere di solvatazione, essendo questa caratteristica direttamente dipendente dalla densità, accade che, per soluti di simile polarità molecolare, il fluido supercritico possa essere considerato un ottimo solvente, capace di sciogliere quantità di sostanza paragonabili a quelle ottenute con eguali quantità di solventi organici. Allo stesso tempo, le ottime capacità di trasporto rendono possibile una più facile penetrazione all'interno delle matrici, consentendo l'estrazione di soluti posti anche ad una certa distanza dalla superficie, con vantaggi in termini di alte rese estrattive e tempi di estrazione ridotti.

Benché siano molte le specie che possono essere spinte in condizioni supercritiche, nella prassi il fluido più comunemente impiegato è il biossido di carbonio (SC-CO_2), poiché esso ha un punto critico ($T_c = 31,08 \text{ }^\circ\text{C}$; $P_c = 73,8 \text{ bar}$) che consente di lavorare con temperature e pressioni relativamente blande, come quelle comunemente utilizzate nei normali impianti industriali, e ciò risulta particolarmente utile sia in termini energetici che per la possibilità di ridurre la degradazione nel caso di estrazione di sostanze termolabili. Inoltre, nella fase di separazione è possibile riportare l'anidride carbonica in condizioni gassose, consentendo il rilascio totale di tale gas da

parte dell'estratto, che dunque risulterà esente dalla presenza di residui di qualsiasi natura. Infine, il biossido di carbonio è atossico, inerte chimicamente, non infiammabile, non esplosivo e poco costoso.

Il frazionamento di liquidi e solidi tramite SFE può essere ottenuto se i costituenti della matrice da frazionare differiscono per volatilità (sono più solubili i composti con più alta tensione di vapore), massa (la pressione necessaria per l'estrazione aumenta con il peso molecolare dei composti) e polarità (un fluido supercritico apolare come l'anidride carbonica è in grado di solubilizzare solo composti apolari): in base a queste considerazioni, attraverso la fase sperimentale è possibile individuare condizioni operative che saranno reputate ottimali in quanto in grado di privilegiare l'estrazione delle molecole di interesse. Questo consente una maggiore purezza dell'estratto ottenuto e, in ultima analisi, una riduzione dei costi e dei tempi di lavorazione, evitando di dover procedere alla purificazione di un estratto grezzo. Lo stesso obiettivo (maggiore purezza dell'estratto) può essere inoltre perseguito attraverso l'impiego di impianti pilota dotati di una sezione di separazione costituita da più vessel estrattivi in serie, dal momento che essi, posti in condizioni di pressione e temperatura differenti, consentono un rilascio frazionato (separazione frazionata) dei costituenti dell'estratto.

In conclusione la SFE costituisce un'alternativa importante ai tradizionali processi di estrazione da matrice solida e liquida come la distillazione frazionata, la distillazione in corrente di vapore, l'estrazione con solventi organici.

All'interno della Hall Tecnologica UTAGRI-INN (Figura 1) del Centro Ricerche ENEA Casaccia sono presenti due impianti che consentono processi estrattivi su scala pilota di matrici solide (vessel: 700 ml - 4 litri) e matrici liquide (colonna piatti forati: 13 litri), sfruttando anche le potenzialità della separazione frazionata. In collaborazione con il Centro di Innovazione Integrato Agrobiopolis del Centro Ricerche ENEA La Trisaia (Rotondella, MT) è possibi-

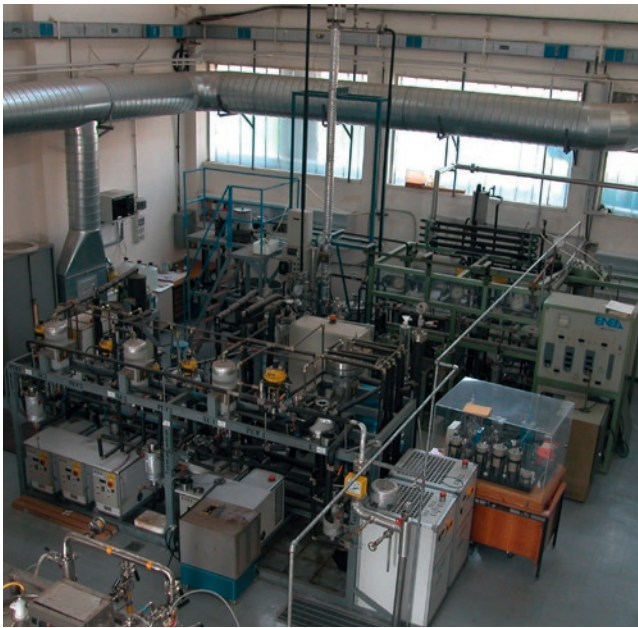


Figura 1
HALL Tecnologica UTAGRI-INN

le, inoltre, accrescere la scala estrattiva sino a quella pre-industriale.

Tra le attività realizzate nel Laboratorio UTAGRI INN può essere annoverata l'estrazione di olio arricchito in α -tocoferolo a partire da *vinaccioli* essiccati, scarto dell'industria vinicola (Figura 2). L' α -tocoferolo si caratterizza per l'elevato potere antiossidante, inibendo stress ossidativi coinvolti nell'invecchiamento, e per gli effetti protettivi nei confronti delle malattie coronariche inibendo l'ossidazione LDL: essendo una molecola liposolubile, essa risulta facilmente estraibile con SC-CO₂ in alternativa all'estrazione con esano, rappresentando di fatto un prodotto in grado di avere un intrinseco valore commerciale nel settore nutraceutico e/o cosmetico. I tocoferoli, infatti, possono essere aggiunti agli alimenti per la stabilizzazione degli acidi grassi polinsaturi. L'aggiunta di tocoferoli in forma di miscele è un modo efficace per migliorare la stabilità ossidativa degli oli, perché nelle miscele essi si proteggono e si rigenerano l'un l'altro. L'integrazione di α -tocoferolo è particolarmente adatta a gruppi di soggetti a rischio di stress ossidativi (es. fumatori, pazienti diabetici, atleti).

Nella stessa ottica vanno annoverate le campagne esplorative volte allo studio del processo di estrazione di olio da *semi di canapa*: da tali semi si estrae un olio caratterizzato da un elevato contenuto in acidi grassi polinsaturi (PUFA), tra i quali alcuni acidi gras-

si essenziali come l'acido linoleico e α -linolenico che non possono essere sintetizzati dai mammiferi e devono essere introdotti attraverso la dieta. Gli acidi grassi essenziali sono materie prime dei lipidi strutturali e sono precursori di sostanze biochimiche che regolano molte funzioni del corpo. Recenti ricerche hanno infatti evidenziato che i PUFA, con diversi meccanismi, svolgono funzioni metaboliche indispensabili, consentendo la formazione di molecole che intervengono positivamente nei processi infiammatori. Oltre ad avere effetti positivi sulle sindromi carenziali, si è dimostrato che i PUFA hanno un'attività più ampia, che comprende funzioni plastiche, strutturali, funzionali.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) da anni raccomanda l'assunzione di omega 6 e omega 3 in rapporto da 3:1 a 5:1. L'olio di semi di canapa, come l'olio di pesce, contiene naturalmente omega 6 e omega 3 nel rapporto ottimale di 3:1 e la sua assunzione non ha controindicazioni. L'olio di canapa contiene, inoltre, tocoferoli (α -, β -, γ -, δ -tocoferolo e plastochromanolo-8 (P-8), un derivato di γ -tocotrienolo), sostanze ad attività antiossidante che agiscono impedendo l'ossidazione degli acidi grassi insaturi e che riducono il rischio di malattie cardiovascolari. L'estrazione di olio dai semi di *Cannabis sativa* è generalmente eseguita con sistemi di spremitura a freddo o impiegando solventi organici con fattori limitanti, legati sia al recupero della frazione oleosa che alla sostenibilità ambientale. In tal senso, il Laboratorio UTAGRI-INN ha svolto lavori di ricerca e sviluppo sull'estrazione di tali oli con SFE, dimostrando che tale tecnica estrattiva le ha rese comparabili con le tecniche tradizionali e, a determinate condizioni operative, prodotti finali con maggiore stabilità ossidativa.



Figura 2
Vinaccioli essiccati



Figura 3
Impianto pilota Luwar

L'uso dell'impianto pilota Luwar (Figura 3), dotato di tre separatori in serie, ha inoltre permesso di arrivare ad una formulazione maggiormente pura dell'estratto finale grazie alla separazione della frazione oleosa dalla frazione cerosa co-estratta.

Il *narciso* è una pianta erbacea bulbosa della famiglia delle amarillidacee dai cui fiori (Figura 4) è possibile ricavare un olio essenziale impiegato nell'industria profumiera, per il suo caratteristico bouquet, che ne permette l'utilizzo nelle note di testa di molti profumi. Allo scopo di perseguire un'innovazione di processo/prodotto e al contempo di valorizzare una coltura locale (*Narcissus poeticus* di Rocca di Mezzo), sono state poste in essere delle campagne sperimentali di estrazione di tale olio attraverso tecniche tradizionali e tecniche SFE, arrivando a dimostrare che in quest'ultimo caso le rese estrattive sono comparabili con quelle ottenute con solvente organico. L'adozione di un primo separatore a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, ha permesso di ottenere un prodotto finale privo di cere, eliminando così la necessità di successive separazioni con solventi.

La caratterizzazione dell'estratto SFE, effettuata con analisi GC/MS, ha dimostrato infine che gli estratti SFE contengono tutti i principali composti trovati nel caso di estrazioni con esano. La maggiore sostenibilità ambientale del processo supercritico ci consente di valutare positivamente l'adozione di tale tecnica al fine della valorizzazione del narciso di Rocca di Mezzo.

Sempre relativamente alla pianta di narciso, ma con attenzione al suo bulbo (Figura 5), sono state effettuate campagne di ricerca volte all'uso comparato di

SFE e altre tecniche tradizionali ai fini dell'estrazione di molecole di interesse farmacologico, tra cui la galantamina, considerata un importante agente terapeutico per il trattamento sintomatico del morbo di Alzheimer. Le attività di ricerca dell'ENEA si pongono in questo senso il duplice obiettivo di rispondere alla domanda crescente di principi attivi da matrici vegetali e di arrivare a prodotti innovativi, basati su una miscela di estratti vegetali che, grazie alla loro azione sinergica, spesso risultano avere un'azione farmacologica più efficace e duratura nei confronti delle monoterapie.

Molecole di forte interesse possono essere contenute anche in scarti agro-industriali quali *bucce e semi di pomodoro* (Figura 6) da cui si può estrarre il licopene, un carotenoide che mostra un elevato potere antiossidante, in virtù della sua struttura achilica, del numero di doppi legami coniugati e della sua elevata idrofobicità. In generale i carotenoidi sono efficaci antiossidanti, grazie alla loro azione di *scavenger* di radicali liberi. Tra i carotenoidi il licopene sembra essere il più efficiente *oxygen quencher*, grazie alla presenza di due ulteriori doppi legami rispetto alla struttura degli altri carotenoidi. Il licopene, come altri carotenoidi, ha attività di prevenzione dei tumori, in particolare quello della prostata. Da una semplice estrazione SFE, senza dover ne-



Figura 4
Narciso



Figura 5
Bulbo del narciso

cessariamente fare ricorso ad una separazione frazionata, si ottiene una miscela di composti naturali in cui, oltre al licopene, sono presenti antiossidanti, vitamine, amminoacidi ed altre sostanze, molto importanti per la salute umana.

Possibili future attività del Laboratorio UTAGRI-INN nel campo dell'estrazione di biomolecole di interesse, potranno riguardare l'estrazione di astaxantina dall'*Haematococcus pluvialis*, una microalga verde appartenente alla classe Cloroficeae. L'*Haemato-*



Figura 6
Bucce e semi di pomodoro

coccus pluvialis in condizioni di stress accumula grandi quantitativi di astaxantina nel citosol. Questo aspetto risulta di grande interesse in quanto il potere ossidante dell'astaxantina è parecchie volte più forte di quello di qualsiasi altro carotenoide, come zeaxantina, cantaxantina, β -carotene, luteina e fino a 500 volte più forte della vitamina E. Inoltre, ha un'attività contro l'infiammazione, il cancro, l'invecchiamento e le malattie legate all'età, e rafforza l'apparato immunitario. L'astaxantina appartiene ai carotenoidi, la sua molecola ha una forma estesa con una struttura polare (idrofila) ad entrambe le estremità e una zona non polare (idrofobica/lipidica) nel centro, e per le sue caratteristiche è solubile in SC-CO₂.

Per approfondimenti: gianpaolo.leone@enea.it, donatella.ferri@enea.it

Gian Paolo Leone, Donatella Ferri
ENEA, Divisione Biotecnologie e agroindustria