



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

VALUTAZIONE DI BIOMASSA
RESIDUALE DELLE TRASFORMAZIONI
AGRO-INDUSTRIALI NELLA REGIONE
MARCHE

EVALUATION OF RESIDUAL BIOMASS
OF AGRO-INDUSTRIAL
TRANSFORMATIONS IN THE MARCHE
REGION

TIPO TESI: compilativa

Studente:
LUIGI PALANDRANI

Relatore:
PROF.SSA ESTER FOPPA PEDRETTI

ANNO ACCADEMICO 2020-2021

A mio padre, che da lassù mi guarda e mi protegge.
A mia madre, che c'è sempre stata.

SOMMARIO

SOMMARIO.....	3
ELENCO DELLE TABELLE	4
ELENCO DELLE FIGURE.....	5
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI.....	6
1.1 Biomasse Residuali	6
1.2 Panoramica regionale dei quantitativi di scarti	7
1.3 Criteri di suddivisione degli impianti di digestione anaerobica	8
1.4 Obbiettivi.....	9
INQUADRAMENTO DELLA REALTÀ AZIENDALE	10
2.1 Descrizione dell'azienda	10
2.2 Tecnologie per l'utilizzo di biomasse gassose	11
2.3 Impianto generatore di biogas	11
SOLUZIONE ALTERNATIVA ALLA DIGESTIONE ANAEROBICA	13
3.1 Scarti di lavorazione aziendali.....	13
3.2 Componenti bioattivi.....	14
3.3 Quantitativi di componenti bioattivi nello scarto delle colture aziendali.....	16
3.4 Metodi di estrazione	17
3.4.1 Bollitura tradizionale in etanolo.....	17
3.4.2 Ebollizione del reflusso.....	17
3.4.3 Estrattore Soxhlet	18
3.4.4 Estrazione accelerata con solventi PSE.....	18
3.4.5 Estrazione in fase solida SPE	19
3.4.6 Estrazione ad ultrasuoni	19
3.4.7 Estrazione con fluidi supercritici.....	19
3.5 Ipotesi su possibili applicazioni aziendali	19
CONCLUSIONI	21
BIBLIOGRAFIA.....	22

ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1 Sintesi della disponibilità lorda di scarti vegetali a livello regionale: colture erbacee (tonnellate/anno di sostanza secca). Fonte ISTAT/Isprambiente.....	7
Tabella 2 Produzioni e scarti delle colture orticole di Ambruosi e Viscardi anno 2021... 13	
Tabella 3 Componenti bioattivi dell'indivia scarola (fonte CREA)	16
Tabella 4 Componenti bioattivi dello spinacio (fonte CREA)	16

ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1 Schema delle varie tipologie di biomasse e loro provenienza (fonte Energia da biomasse agricola).	6
Figura 2 Schema di un estrattore Soxhlet (sinistra) e relativo funzionamento (destra), fonte Wikipedia.....	18
Figura 3 Procedimento di estrazione in fase solida (fonte Milton Rosero Morean)	19

INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

1.1 Biomasse Residuali

Le criticità legate alla decrescente disponibilità delle fonti energetiche di origine fossile, nonché alla loro distribuzione geografica in aree politicamente instabili, unitamente alle pressanti problematiche ambientali a scala globale, hanno indotto una crescente attenzione verso la ricerca di fonti energetiche alternative intravedendo all'interno di queste il ruolo cruciale che può essere svolto dalle biomasse.

Il termine biomasse del settore agricolo e forestale, inteso come insieme delle sostanze organiche di origine vegetale o animale, racchiude un'ampia gamma di prodotti di origine dedicata o derivanti da scarti e residui di varie produzioni, che spaziano da quelle agricole-forestali e agroindustriali. In Figura 1 è riportata una schematizzazione dei vari tipi di biomasse e della loro provenienza.

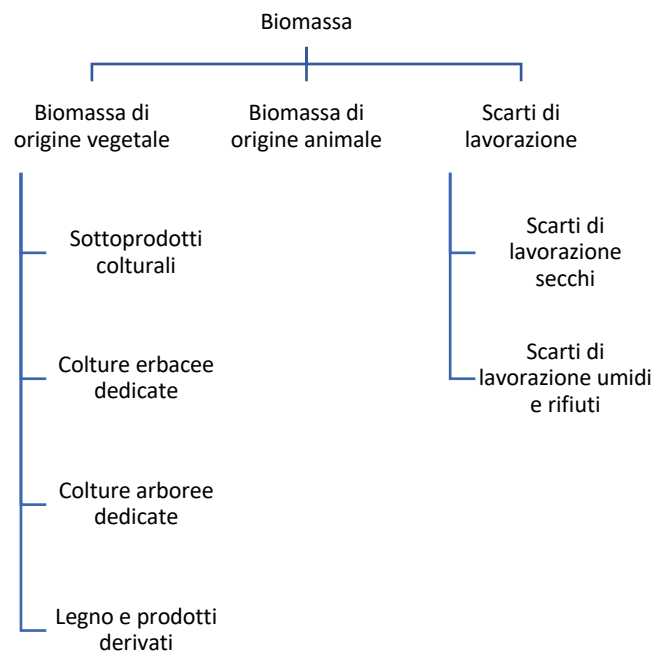


Figura 1 Schema delle varie tipologie di biomasse e loro provenienza (fonte Energia da biomasse agricola).

Tra gli scarti di lavorazione derivati dalla lavorazione di prodotti principali umidi o per via dell'impiego d'acqua nei processi di trasformazione, si originano matrici ricche di acqua che

possono convenientemente essere impiegate in trasformazioni biochimiche. Tali biomasse fanno, in particolare, riferimento a residui del settore dell'agro-industria (scarti della lavorazione dell'ortofrutta, acque di vegetazione, sanse ecc.); il loro impiego in impianti di digestione anaerobica (DA) è assai interessante per l'abbattimento dei costi di produzione e, soprattutto, per l'incremento delle rese energetiche dovute essenzialmente a contenuti di solidi volatili (SV) più elevati rispetto a quelli propri dei reflui zootecnici.

1.2 Panoramica regionale dei quantitativi di scarti

La disponibilità regionale di sottoprodotti agricoli delle colture erbacee, senza considerare la quota attualmente utilizzata, risulta pari a circa 880.000 ton/anno di sostanza secca, con prevalenza di residui delle colture erbacee.

Tabella 1 Sintesi della disponibilità lorda di scarti vegetali a livello regionale: colture erbacee (tonnellate/anno di sostanza secca). Fonte ISTAT/Isprambiente.

Colture erbacee	Tonnellate/anno di sostanza secca
Frumento tenero	73.729
Frumento duro	283.043
Orzo	112.118
Avena	3.953
Mais da granella	67.450
Soia	1.159
Girasole	119.503
Leguminose da granella	5.332
Barbabietola da zucchero	110.727
Patata	8.743
Tabacco	335
Pomodoro	2.127
Carciofo	1.061
Cavolfiore	16.827
Indivia riccia e scarola	76.212
TOTALE	882.319

Il valore riportato precedentemente è ovviamente una stima basata sulle potenzialità produttive per singole colture, moltiplicate per lo specifico fattore di produzione di scarti alla raccolta/lavorazione. Stime più precise o addirittura misure dirette richiederebbero ricerche

particolarmente approfondite che, peraltro, risulterebbero soggette a notevoli variazioni annue e sarebbero legate alle fluttuazioni delle superfici investite dalle diverse coltivazioni erbacee. I ricicli agronomici diretti e indiretti sono preponderanti (per molte colture tale destinazione è impiegato praticamente il 100% delle quantità di scarti prodotti), mentre le valorizzazioni extra-agronomiche, legate a processi energetici e industriali, sono più problematici.

Tuttavia, la necessità di salvaguardare la fertilità dei suoli e l'esigenza di incrementare il reddito dell'agricoltura, attraverso l'aumento della produzione lorda vendibile (PLV) e/o la riduzione dei costi di produzione, fanno ritenere che:

- gli impieghi energetici possano avere un notevole sviluppo, permettendo la combustione degli scarti secchi negli impianti civili di medie dimensioni (in linea indicativa, superiori a 100 - 150 kW termici) e rendendo possibile il riutilizzo agronomico delle ceneri;
- la conservazione della fertilità dei suoli possa essere facilitata dal ritorno degli scarti vegetali al terreno, con particolare riferimento a quelli prodotti dall'industria agro-alimentare, e attraverso l'adozione del compostaggio combinato al riciclo di altre biomasse (es.: paglie con fanghi di depurazione o acque di vegetazione ecc.).

Considerando la relativa semplicità dei processi di trasporto, gestione e valorizzazione delle biomasse ligno-cellulosiche, nel presente studio si focalizzerà l'attenzione principalmente sui residui freschi dell'agroindustria che sono usualmente destinati alle trasformazioni biochimiche.

1.3 Criteri di suddivisione degli impianti di digestione anaerobica

I criteri tecnico-operativi che si possono individuare per suddividere gli impianti di digestione anaerobica sono diversi e i principali vengono di seguito descritti.

Il primo di essi si basa sul tenore di Solidi Totali (ST) (espressi su sostanza secca) del substrato con il quale è alimentato il reattore, individuando tre possibilità:

- 1) *Digestione umida (wet)*, substrato con Solidi Totali dal 4 al 10%. È la tecnica più diffusa operando con reflui zootecnici, liquami (bovini, suini).
- 2) *Digestione semisecca (semi-dry)*, substrato con Solidi Totali dal 10 al 20%.
- 3) *Digestione secca (dry)*, substrato con Solidi Totali dal 20 al 35%; si applica principalmente per la digestione anaerobica di sole colture energetiche (insilati di mais, sorgo zuccherino, triticale ecc.).

Un secondo criterio di differenziazione dei processi di digestione anaerobica è riferito all'eventuale suddivisione nell'impianto delle fasi biologiche di trasformazione:

- I. *Monostadio*, con fase acidogena e metanigena che avvengono contemporaneamente in un unico reattore.
- II. *Bistadio*, con fase acidogena attuata in primo reattore (1° stadio) e fase metanigena in un secondo reattore (2° stadio).

Altro criterio si basa sulla modalità di carico del substrato:

- *Carico discontinuo*, con un'unica immissione nel reattore all'inizio del processo e l'estrazione del digestato a digestione anaerobica conclusa. Risulta attuabile in presenza di matrici a disponibilità ciclica, a elevato tenore di ST e viene frequentemente utilizzato per la digestione anaerobica a secco della FORSU.
- *Carico continuo*, con immissione dell'unica matrice attuata con frequenza elevata e il contestuale scarico di un uguale volume di digestato.

Quarto criterio riguarda la movimentazione della biomassa all'interno del reattore:

- *Non miscelato*, quando la biomassa introdotta non viene rimescolata;
- *Miscelato*, quando si attua una miscelazione continua; è la soluzione più diffusa con la digestione a umido e a secco;
- *Sospinto (sistema a pistone)*, con immissione laterale della biomassa e successiva spinta lungo l'asse longitudinale del digestore, sviluppando con questo spostamento le diverse fasi del processo.

Ultima classificazione vede la differenza di temperatura di digestione:

- Condizioni mesofile, 35-40 °C
- Condizioni termofile, 50-55 °C
- Condizioni psicrofile, 10-25 °C

1.4 Obiettivi

L'elaborato ha lo scopo principale di studiare la disponibilità di biomassa derivante dagli scarti di lavorazione umidi: nello specifico analizzeremo gli scarti di lavorazione delle diverse colture dell'azienda agricola Ambruosi e Viscardi al fine di verificare la presenza o meno di un sistema alternativo o integrativo di valorizzazione della biomassa residuale che non sia quella della produzione di biogas.

In questo caso ci focalizzeremo sulla presenza o meno di componenti bioattivi presenti sugli scarti di lavorazione e sulla loro possibilità di estrazione al fine di ottenere prodotti di interesse alimentare e/o farmaceutico.

INQUADRAMENTO DELLA REALTÀ AZIENDALE

2.1 Descrizione dell'azienda

Ambruosi e Viscardi è un'azienda agricola, una società formata da quattro soci, tre fratelli e una sorella. È nata nel 1992 anche se Marziano Ambruosi (genitore dei quattro soci) negli anni 80 aveva già avviato l'attività. Gli stabilimenti produttivi sono a Sant'Elpidio a Mare, in provincia di Fermo. Si è specializzata sulla coltivazione di scarola, indivia riccia e spinaci. Come indirizzo produttivo nasce per la prima gamma (prodotti freschi) poi nel 2004 è stato aperto lo stabilimento di lavorazione della quarta gamma (prodotti freschi lavorati "ready to eat", "ready to use").



eat", "ready to use").

L'azienda produce circa il 98% della merce che trasforma in un totale di circa 1200 ettari di coltivazioni. Produce spinaci, prezzemolo, cipolle, e con soli tre conferitori

esterni riescono ad integrare alla loro produzione baby leaf, zucchine e pomodorini. Le colture sono per l'80% nelle Marche, nel periodo invernale si spostano in Puglia e Basilicata, a gennaio nel Lazio e poi sugli altipiani, Avezzano e Colfiorito.

Il progetto filiera è stato lanciato dieci anni fa. Parte tutto dal vivaio dove vengono prodotte le piantine che vengono coltivate a basso impatto ambientale, utilizzando i principi della lotta integrata. Per quanto riguarda i residui (oltre che rame e zolfo, utilizzati anche nel biologico) è ammesso solo un principio attivo con un massimo del 33% di residui rispetto ai limiti di legge. Infine, il prodotto viene trasformato e distribuito con una flotta di 30 camion a metano dell'azienda che garantiscono la catena del freddo. Dal punto di vista energetico è stata raggiunta l'autosufficienza energetica sfruttando un impianto fotovoltaico di 1,3 MW (6600 pannelli collocati sui tetti dei fabbricati) che verrà ampliato con altri 200 kW. Con gli scarti di produzione viene alimentato un impianto a biogas di proprietà che produce altra energia elettrica, calore e digestato che viene reimpiegato come vettore di fertilità del suolo.

2.2 Tecnologie per l'utilizzo di biomasse gassose

Dalle biomasse agricole è possibile ottenere energia attraverso il processo di fermentazione anaerobica con il quale, ad opera di microrganismi che operano in assenza di ossigeno, la sostanza organica viene catabolizzata e trasformata in calore e biogas costituito principalmente da metano ed anidride carbonica. A seconda del tipo di sostanza organica digerita e delle condizioni di processo varia la percentuale di metano contenuta e quindi il suo potere calorifico. Il biogas così prodotto viene trattato ed accumulato per ricavarne energia tramite:

- combustione diretta in caldaia per la sola produzione di energia termica;
- combustione in motori azionanti gruppi elettrogeni per la produzione di energia elettrica;
- combustione in cogeneratori per la produzione combinata di energia elettrica e termica. Le utenze interessate sono:
 - allevamenti zootecnici che recuperano energia fermentando i liquami prodotti da propri capi animali;
 - industrie agro-alimentari o settori dove sono disponibili reflui con elevato carico organico da depurare (origine vegetale o animale)
 - imprese interessate a fare della digestione anaerobica una possibile attività economica attraverso il ritiro da terzi di sostanza organica da trattare.

Attualmente, in regione, sono più diffuse esperienze che riguardano aziende agricole che intendono diversificare la propria produzione. Un esempio è l'azienda "Ambruosi e Viscardi", leader nel confezionamento e nella distribuzione di insalata, che ha raggiunto un bilancio energetico neutro anche attraverso un impianto biogas da 250 kW nel quale si recuperano, come sottoprodotti, gli scarti della lavorazione giornaliera della materia prima, integrandoli con insilato di mais che viene prodotto in successione alle colture orticole negli stessi campi di proprietà.

2.3 Impianto generatore di biogas

L'azienda agricola Ambruosi e Viscardi usufruisce di un impianto di digestione anaerobica dove ogni giorno vengono immesse nel digestore circa 10 tonnellate di materiale vegetale composto da un 70% di scarti di lavorazione giornaliera delle insalate e verdure non lavorate e il restante 30% viene utilizzato l'insilato di mais al fine di ottenere una giusta miscela di matrice organica con caratteristiche più idonee per il processo di trasformazione cercando di massimizzare la resa in termini di efficienza impiantistica.

Nel digestore avviene un processo biologico anaerobico (assenza di O₂) e termofilo (temperatura di esercizio che varia tra 55 e 60 °C) attraverso il quale la sostanza organica viene metabolizzata producendo gas naturale.

Il processo avviene in fasi legate dall'azione di gruppi di microrganismi metanigeni: i primi trasformano la massa in idrogeno, acido acetico e CO₂, un secondo gruppo porta a termine il lavoro producendo metano che viene utilizzato per produrre energia, utilizzata negli stabilimenti di Ambruosi e Viscardi. Tale impianto produce 110 m³/h di biogas con un potenziale produttivo di 70 m³/h di metano.

SOLUZIONE ALTERNATIVA ALLA DIGESTIONE ANAEROBICA

3.1 Scarti di lavorazione aziendali

Prima di definire le possibili alternative alla trasformazione in biogas dei sottoprodotti di trasformazione, è doveroso fare una premessa sui quantitativi degli stessi che ogni anno l'azienda Ambruosi e Viscardi produce dalle relative produzioni colturali. La tabella riportata di seguito illustra gli scarti di lavorazione divisi per processo produttivo (I gamma e IV gamma) e per tipi di coltivazione.

Tabella 2 Produzioni e scarti delle colture orticole di Ambruosi e Viscardi anno 2021.

Materia Prima	Kg Materia Prima	Kg Prodotto Finito	Scarto
<u>I GAMMA</u>			
BIETOLA	439.383	383.497	12,72%
CICORIA	257.267	222.548	13,50%
RICCIA	4.114.728	1.871.401	54,52%
INDIVIA SCAROLA	8.658.739	4.358.002	49,67%
PAN DI ZUCCHERO	672.331	413.205	38,54%
RADICCHIO	1.041.959	683.426	34,41%
VERZA	274.355	172.730	37,04%
<u>IV GAMMA</u>			
CAVOLO CAPPuccio GREZZO	190.043	152.310	20,00%
BIETOLA GREZZA	1.326.527	668.007	47,00%
CICORIA GREZZA	694.123	441.096	36,00%
CAROTE GREZZE	583.854	389.388	33,00%
CIPOLLE GREZZE	114.998	61.485	46,00%
FINOCCHI GREZZI	94.280	38.004	59,00%
ICEBERG GREZZO	121.645	63.681	50,00%
LATTUGHINO GREZZO	104.472	100.045	6,00%
PORRO GREZZO	50.124	40.349	20,00%
PREZZEMOLO GREZZO	58.823	24.471	55,00%
RUCOLA GREZZA	419.073	391.167	7,00%
SPINACI GREZZI	2.321.905	1.903.962	18,00%
SPINACINO GREZZO	1.835	1.572	7,00%
ZUCCHINE GREZZE	15.665	12.456	25,00%
RAPE GREZZE	208.278	110.520	30,00%
RAPE ROSSE GREZZE	7.747	6.548	14,00%
VALERIANA GREZZA	155.523	150.052	4,00%

È possibile notare come per certe coltivazioni si arrivi a uno scarto corrispondente a percentuali superiori al 50% del prodotto raccolto. Questo giustifica sicuramente l'investimento dell'azienda verso l'installazione di un impianto di digestione anaerobica per il riutilizzo di tali scarti nella produzione di biogas. Tuttavia, lo studio è rivolto a trovare un sistema integrativo di riutilizzo di questo residuo che parte con la ricerca dei componenti bioattivi.

3.2 Componenti bioattivi

I componenti bioattivi sono sostanze che possono influenzare positivamente determinando un beneficio fisiologico e/o una riduzione del rischio di sviluppare alcune patologie. Si dicono "bioattivi" perché sono in grado di modulare alcune importanti funzioni biologiche tanto che il consenso scientifico riconosce loro le seguenti potenzialità:

- diminuzione dello stress ossidativo (attività antiossidante);
- miglioramento delle risposte del sistema immunitario (attività antinfiammatoria e immunomodulatori);
- modulazione degli attacchi dei microrganismi patogeni (attività antibatterica, antivirale e antimicotica);
- miglioramento del sistema cardiovascolare (riduzione della pressione sanguigna e attività ipocolesterolemizzante);
- miglioramento del benessere gastrointestinale (attività pro-cinetica e osmotica);
- miglioramento della funzione epatica (modulazione degli enzimi di detossicazione);
- mantenimento della salute visiva (attività neurotrofica);
- mantenimento della salute del tratto urinario (attività antimicrobica);
- riduzione del rischio tumorale (attività anti-proliferativa e pro-apoptica).

I componenti bioattivi si possono suddividere, in base alla struttura chimica e alla classe di appartenenza in:

Vitamine. Le vitamine sono sostanze organiche di diversa natura chimica necessarie in piccole quantità per lo svolgimento del metabolismo cellulare, e quindi indispensabili per la crescita e il mantenimento delle funzioni vitali. In seguito, vengono descritte alcune:

- *vitamina C (o acido ascorbico AA)*, appartenente alle vitamine idrosolubili. È usato in particolare per la sua azione profilattica contro influenza e raffreddore, nelle condizioni di stress fisico ed emozionale e per facilitare la cicatrizzazione delle ferite.

- *vitamina A*, appartenente alle vitamine liposolubili, importante per la vista, per lo sviluppo delle ossa e per la sua capacità di fornire una risposta immunitaria. Studi recenti dimostrano che la vitamina A presenta anche capacità antitumorali;
- *vitamina K*, vitamina liposolubile con azione coagulante e per questo utilizzata nel trattamento di emorragie;
- *acido folico*, indicata come vitamina emopoietica perché partecipa alla sintesi dei globuli rossi.

Acidi fenolici. Sono composti organici dalle proprietà antiossidanti. Tra di essi quelli di interesse funzionale sono:

- *l'acido caffeico*, presente nella bardana, melissa, nel propoli, nel caffè, nella cicoria, nei carciofi e in altra frutta e verdura, con proprietà antinfiammatorie;
- *l'acido ferulico*, presente nei vegetali, nella crusca e nel mais, dotato di azione citoprotettrice.

Carotenoidi. Sono sostanze liposolubili molto sensibili alla luce, alle temperature elevate e all'ossigeno. Sono una parte molto importante degli organuli fotosintetici delle piante. Sono precursori della vitamina A e alcuni di loro hanno un ruolo specifico nel prevenire i danni da ossidazione, genotossicità e insorgenza di tumori. I più importanti sono elencati di seguito:

- *licopene*, presente principalmente nei pomodori ma anche nelle arance rosse, nel pompelmo rosa, nell'anguria, nelle carote e nelle albicocche, la sua attività è antiossidante e neuroprotettrice, antitumorale specifica a livello della prostata e del collo dell'utero, anti-aging e fotoprotettrice;
- *beta-carotene*, contenuto in molti vegetali tra cui le carote, nella zucca, nelle patate dolci, nelle verdure a foglia verde, nei peperoni e nelle albicocche, vanta proprietà antiossidanti e protettive per la retina e la funzione visiva;
- *luteina e zeaxantina*, presenti nei vegetali con colorazione dal giallo al rosso, sono pigmenti dalle proprietà antiossidanti e protettive sulla funzione visiva, ne sono ricchi il tuorlo d'uovo, gli spinaci, il prezzemolo e i cavoletti di Bruxelles.

Composti solforati. Sono composti organici dello zolfo responsabili del caratteristico odore sulfureo di alcuni alimenti. Sono molecole importantissime a livello cellulare per la detossificazione e l'eliminazione dei radicali liberi.

- *ditiolioni*, sono presenti in tutti i vegetali appartenenti alla famiglia delle crucifere, broccoli, cavoli, cavolfiori, cavoletti di Bruxelles. Sono caratterizzati da una potente azione antiossidante e detossificante sul fegato;

- *glucosinolati*, composti che in seguito a una reazione enzimatica formano *isotiocianati*, tra cui il sulforafano presente in tutte le crucifere (broccoli, cavoli, cavolfiori, rucola, senape), con proprietà antitumorali.

Flavonoidi. Sono dei composti polifenolici presenti negli alimenti di origine vegetale. Le loro azioni a livello molecolare sono di tipo antiossidante e di modulazione dell'attività enzimatica, e il loro consumo risulta avere un effetto protettivo su un ampio spettro di patologie croniche come le malattie neurodegenerative, quelle cardiovascolari e il cancro. In base alla loro struttura chimica si possono distinguere in:

- *flavonoli* (quercetina, kempfenolo, miricetina) contenuti in cipolle, mele, broccoli, tè, olive, insalata, sono potenti antiossidanti, antimicrobici e svolgono un'azione protettiva nelle patologie cardiovascolari, nelle allergie e nell'infiammazione.

3.3 Quantitativi di componenti bioattivi nello scarto delle colture aziendali

Una volta riportata la panoramica generale dei componenti bioattivi più importanti, andiamo a quantificare indicativamente la loro presenza all'interno degli scarti. Per fare ciò vengono consultati dati presenti in letteratura. Le colture che vengono approfondite sono quelle che presentano lo scarto maggiore al momento della lavorazione e quindi l'indivia scarola lavorata in I gamma e lo spinacio grezzo lavorato nella linea di produzione della IV gamma.

Tabella 3 Componenti bioattivi dell'indivia scarola (fonte CREA)

Descrizione Nutriente	Valore per 100 g
Tiamina (mg)	0.05
Riboflavina (mg)	0.37
Niacina (mg)	0.3
Vitamina C (mg)	35
Vitamina A retinolo equivalente (ug)	213

Tabella 4 Componenti bioattivi dello spinacio (fonte CREA)

Descrizione Nutriente	Valore per 100 g
Tiamina (mg)	0.07
Riboflavina (mg)	0.37
Niacina (mg)	0.4
Vitamina C (mg)	54
Vitamina A retinolo equivalente (ug)	485
Carotene alfa (ug)	0
Carotene beta (ug)	1915
Criptoxantina (ug)	0

Dalla tabella sopra riportata è possibile notare la presenza di Vitamina C in quantitativi rispettivamente di 35 mg per l'indivia scarola e 54 mg per lo spinacio su 100 grammi di prodotto fresco.

È noto che l'acido ascorbico è un composto sensibile e termolabile, quindi la sua estrazione con alta resa e senza alcuna scomposizione è una questione abbastanza laboriosa per gli analisti. In alcuni studi si è riscontrato alcune tecniche per evitare ciò: ad esempio il metodo di preparazione del campione con congelamento previene l'ossidazione e la degradazione dell'acido ascorbico e offre sufficiente sensibilità e selettività nell'estrazione dell'acido ascorbico nella rosa canina (a tre stadi di maturità) e nel campione di arancia (S. Nojavan et al. 2007).

3.4 Metodi di estrazione

L'estrazione è un processo industriale o di laboratorio che consente la separazione dei principi attivi desiderati da droghe vegetali (parte vegetale contenente principi attivi) per mezzo di opportuni solventi. Tale processo può variare in base alla natura della droga, presenza del principio attivo negli spazi intercellulari o all'interno della cellula, permeabilità della parete cellulare, utilizzo di mezzi meccanici, chimici o termici facilitanti.

Esistono diversi metodi di estrazione, alcuni di questi richiedono l'essiccazione della foglia altri invece utilizzano la foglia fresca. Il processo di essiccazione serve per allontanare l'acqua dalla droga e consiste nell'utilizzo di essiccatori. Per questo processo non si usano temperature troppo elevate che potrebbero causare delle fermentazioni, la foglia deve mantenere sempre il suo stesso colore e non deve mostrare alterazioni. Per le droghe termolabili si esegue prima la liofilizzazione con azoto liquido in modo da abbassare la temperatura di -20/-40 °C, poi si esegue la lavorazione ad alta pressione e si ottiene la sublimazione dell'acqua. Alcune tecniche di estrazione sono descritte in seguito.

3.4.1 *Bollitura tradizionale in etanolo*

Sistema di estrazione aperto che consiste nel bollire, per esempio, un precipitato in un solvente per una o più sessioni, la sostanza ricercata sarà estratta. La filtrazione è necessaria dopo le estrazioni prima di analizzare ulteriormente l'estratto. L'estraente viene poi separato dall'estratto attraverso processi di distillazione frazionata.

3.4.2 *Ebollizione del reflusso*

Sistema di estrazione a ciclo chiuso dove il campione e il solvente sono posti in un pallone a fondo rotondo dotato di un condensatore. La miscela viene riscaldata per un tempo

predeterminato. Durante il tempo della sessione, per analizzare il progresso della reazione, il campione sarà eventualmente prelevato. Alla fine, tutto il soluto è estratto dalla matrice senza troppo consumo di solvente.

3.4.3 Estrattore Soxhlet

È un sistema più avanzato: facendo riferimento alla figura 2, tra il condensatore (9) e il recipiente a fondo rotondo (2) che contiene il solvente è posto un estrattore di Soxhlet che contiene una camera che porta un 'ditale' (4), fatto di carta da filtro spessa, confezionato con il solido da estrarre (5). Il solvente (1) viene riscaldato a riflusso, il vapore viaggia attraverso il passaggio dell'estrattore (3) e il condensato gocciola di nuovo giù nel materiale solido. Il solvente riempie la camera mentre il materiale viene estratto dal solido. Quando il volume del solvente ha quasi riempito la camera, il solvente contenente l'estratto rifluisce nel recipiente a fondo rotondo attraverso un tubo a sifone (7). Il processo viene ripetuto per un certo numero di cicli e l'estratto si accumula nel pallone a fondo rotondo. L'esecuzione dell'estrazione per un periodo prolungato può estrarre materiale che è solo leggermente solubile nel solvente. Non è indicato per principi attivi termolabili.

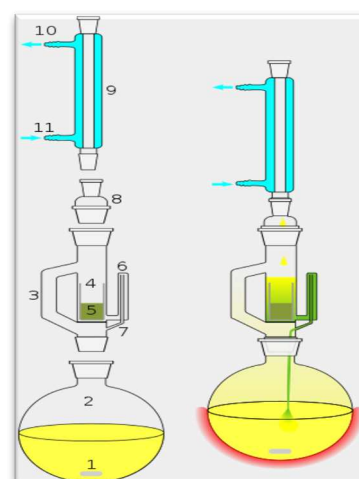


Figura 2 Schema di un estrattore Soxhlet (sinistra) e relativo funzionamento (destra), fonte Wikipedia.

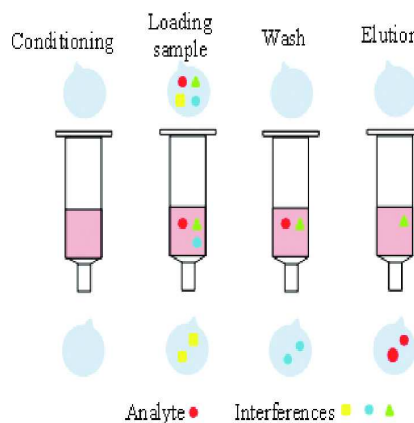
3.4.4 Estrazione accelerata con solventi PSE

La tecnica di estrazione a pressione che si svolge in condizioni sub-critiche. Sfrutta l'alta pressione e la temperatura controllata per ottenere un tempo di estrazione ridotto e un minor consumo di solvente. Con l'alta pressione il solvente che altrimenti bollirebbe nell'atmosfera può essere sfruttato al massimo, inoltre rende l'estrazione più efficiente forzando il solvente nella matrice. Utilizzando una bassa quantità di solvente si può definire un metodo più sostenibile rispetto agli altri (anche se non è detto che sarà la metodologia più efficiente). La procedura seguita è la seguente: il solvente arriva nella cella di estrazione, il riscaldamento fa espandere il solvente. Dopo che gli apparati raggiungono un determinato valore impostato, il solvente viene forzato nel campione da estrarre, questo verrà fatto durante un tempo predeterminato e un determinato numero di cicli in cui il solvente viene sostituito da quello fresco.

3.4.5 Estrazione in fase solida SPE

L'estrazione con fasi solide prevede l'utilizzo di una fase estraente, appunto, solida, normalmente costituita da una colonna impaccata con materiale avente proprietà sorbenti. Si tratta di una tecnica molto diffusa e utilizzata in tutti i campi della chimica analitica, sia per estrarre selettivamente gli analiti di interesse, sia per purificare i campioni che si vogliono analizzare.

La tecnica sfrutta quindi l'affinità di una fase **Figura 3 Procedimento di estrazione in fase solida (fonte Milton Rosero Morean)** sorbente per alcune sostanze presenti nel campione, che possono essere sia gli analiti di interesse sia sostanze interferenti che si desidera eliminare dal campione. La scelta del materiale sorbente più opportuno rende possibile modulare la procedura a seconda delle necessità.



3.4.6 Estrazione ad ultrasuoni

Si usano gli ultrasuoni affinché si vada a produrre calore per l'estrazione di principi attivi. Attraverso questa tecnica si riesce a rompere la parete cellulare della cellula vegetale in modo che dal vacuolo fuoriescano tutti i principi attivi. Le onde acustiche generano un aumento di energia cinetica delle molecole del solvente, quest'energia si estende poi dal solvente alla matrice. L'energia cinetica permette di vincere le forze di interazione che tengono uniti i principi attivi. Il solvente usato deve essere chiaramente affine agli analiti da estrarre.

3.4.7 Estrazione con fluidi supercritici

Utilizza la CO₂ in condizioni supercritiche, quindi che ha caratteristiche in comune con il fluido. Affinché avvenga ciò bisogna cambiare i parametri di pressione e temperatura della CO₂ nello stato supercritico sotto forma di fluido viscoso che può essere usato come solvente di estrazione. Questa estrazione è usata per sostanze lipofili.

3.5 Ipotesi su possibili applicazioni aziendali

Secondo le caratteristiche aziendali di Ambruosi e Viscardi, in uscita dalla trasformazione delle colture prese in esame di I e IV gamma si ottiene uno scarto di circa t 4.300 di indivia scarola e circa t 410 di spinacio grezzo. Per avere uno scenario generale di sintesi di vitamina C in questo caso aziendale, si riporta metodologie di letteratura cercando di personalizzarle in questo studio (Lozano, Bertolin, Zufiaurre, Diaz et al., 2020). Per ridurre al minimo

l'ossidazione dell'AA prima di procedere con l'estrazione bisognerebbe preparare tali quantitativi in diverse fasi:

- *Congelamento*, usando azoto liquido a -80 °C così è possibile utilizzarli in qualsiasi momento.
- *Liofilizzazione*, asciugatura per eliminare l'acqua e per garantire un'accurata quantificazione del contenuto di vitamina C e manipolare facilmente il materiale.
- *Conservazione*, il materiale completamente asciutto può essere conservato per alcuni giorni a 4 °C, per mesi a -20 °C o per anni a -80 °C.

Infine, si procede con la triturazione del materiale con un'intensità e tempo necessari affinché si ottenga una polvere molto sottile.

Una volta ottenuto il materiale nella giusta composizione, si procede con la ricerca della tecnica più appropriata di estrazione tenendo in considerazione tale caso aziendale: detto ciò, la strada più opportuna potrebbe essere quella di portare la matrice da lavorare in un laboratorio terzo che abbia un estrattore industriale ad ultrasuoni (visto i grandi quantitativi di scarti di lavorazione). Si preferisce questa tecnica perché avendo la necessità di preparare un fitoestratto composto da vegetali diversi (fitocomplesso), è possibile effettuare un'unica estrazione del mix frantumato (mix contenente sia indivia scarola che spinacio) anziché fare singole estrazioni e miscelare successivamente i liquidi ottenuti. Varie ricerche e controlli analitici qualitativi e quantitativi effettuati presso laboratori specializzati, università, istituti politecnici, hanno ampiamente dimostrato che la tecnica ad ultrasuoni realizza un'estrazione totale, completa sia per quanto riguarda i principi attivi di base contenuti nella materia prima trattata, che per quelli così detti secondari, non meno importanti (Mengoli).

Una volta inquadrata la tecnica più opportuna, l'estrazione della vitamina C può essere effettuata in mezzi acidi, dato che contribuiscono alla sua stabilità. Infatti, per 50 g di campione si utilizza 8% di acido acetico, 1% di MPA (acido meta-fosforico) e 1 mM EDTA (acido etilendiamminatetraacetico) (Lozano, Bertolin, Zufiaurre, Diaz et al., 2020). Da questa analisi di estrazione si può ottenere un quantitativo di AA pari a circa 20-27 mg. Questo risultato non è sempre fisso ma può subire variazioni in relazione a fattori esogeni (temperatura, latitudine, altitudine, luce, terreno) e in relazione alla qualità della foglia analizzata.

CONCLUSIONI

Il presente studio si è posto l'obiettivo di analizzare la biomassa residuale proveniente dagli scarti di lavorazione dell'agroindustria con lo scopo di trovare composti bioattivi (di possibile interesse alimentare, farmaceutico e cosmetico) al loro interno. Successivamente sono state valutate alcune tipologie di estrazione di tali componenti. L'azienda agricola di riferimento è Ambruosi e Viscardi mentre le colture aziendali cui ci si è focalizzati sono l'indivia scarola e lo spinacio.

Dai dati forniti in letteratura è stato riscontrato la presenza di un'importante vitamina essenziale per l'uomo: la vitamina C (AA). Come già citato, la sua importanza deriva dal fatto che le sue funzioni principali gravitano attorno alla riparazione dei tessuti corporei, alla produzione di alcuni neurotrasmettitori, al funzionamento di numerosi enzimi, alla funzione immunitaria e a quella antiossidante. Viene impiegata come additivo alimentare, per integratori e cosmetici. Trattasi della vitamina maggiormente interessata dall'industria dell'integrazione alimentare soprattutto per il suo ruolo immunitario e antiossidante.

In conclusione, la letteratura ci riporta un lavoro di estrazione della vitamina C (S. Nojavan et al. 2007) con reali tecniche di laboratorio, effettuato partendo dai cinorodi di *Rosa canina* (falsi frutti dell'omonima pianta contenenti grandi quantitativi di vitamina C di circa 400 mg su 100 g di prodotto). Facendo un paragone con questi dati, le colture prese in esame in questo elaborato hanno nettamente un minor quantitativo di vitamina C. Tuttavia, è bene ricordare che non si è parlato di una coltura dedicata con unica finalità l'estrazione dell'AA, ma ci si è focalizzati su degli scarti di lavorazione che a prescindere da tutto vengono prodotti al momento della lavorazione di tali colture. Ciò non giustifica che tali scarti devono essere destinati per l'estrazione della vitamina C, però può essere un punto di inizio verso prospettive future per lo studio e soprattutto lo sviluppo dell'estrazione di questo componente bioattivo.

BIBLIOGRAFIA

ambruosieviscardi.it. (s.d.). Tratto da *ambruosieviscardi.it*: <https://www.ambruosiviscardi.it>

crea.gov.it. (s.d.). Tratto da <https://www.alimentinutrizione.it/tabelle-nutrizionali/005700>

Fiala, M. (2012). *Energia da biomasse agricole*. Santarcangelo di Romagna: Maggioli editore.

giovanapitotti.it. (s.d.). Tratto da *giovanapitotti.it*:
<https://www.giovanapitotti.it/articoli/componenti-bioattivi-degli-alimenti/>

Inés Medina-Lozano, J. R. (2020). Metodo UPLC-UV migliorato per la quantificazione della vitamina C nelle varietà di lattuga (*Lactuca sativa* L.) e nei parenti selvatici delle colture (*Lactuca* spp.).

isprambiente.gov.it. (s.d.). Tratto da *isprambiente.gov.it*: <https://www.isprambiente.gov.it/it>

Saeed Nojavan, A. R. (2008). Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of *Rosa canina* L. Fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*.