

$$\frac{A_03}{26}$$

Daniele Naviglio
Lydia Ferrara

Tecniche estrattive solido-liquido

Teoria e pratica



Copyright © MMVIII
ARACNE editrice S.r.l.

www.aracneeditrice.it
info@aracneeditrice.it

via Raffaele Garofalo, 133 A/B
00173 Roma
(06) 93781065

ISBN 978-88-548-1544-5

*I diritti di traduzione, di memorizzazione elettronica,
di riproduzione e di adattamento anche parziale,
con qualsiasi mezzo, sono riservati per tutti i Paesi.*

*Non sono assolutamente consentite le fotocopie
senza il permesso scritto dell'Editore.*

I edizione: gennaio 2008

*A mia moglie Vittoria
ed ai miei figli Fabio e Simone*

*Durante la propria esistenza,
ciascun uomo fa delle scoperte.
Qualcuna di queste è più utile,
qualcuna è più importante.*

Daniele Naviglio

Indice

<i>Prefazione</i>	13
<i>Introduzione</i>	19

Capitolo I

L'estrazione solido-liquido: evoluzione del processo estrattivo

1. I principi dell'estrazione solido-liquido	23
1.1. Diffusione	24
1.2. Osmosi	25
1.3. Osmosi inversa	26
1.3.1. Applicazioni: ottenimento di acqua potabile da acqua salmastra	27
1.3.2. Valutazioni	29

Capitolo II

Le tecniche di estrazione solido-liquido tradizionali

1. Preparazione della matrice estrattiva	31
2. Tecniche di estrazione solido-liquido	32
3. Tecniche estrattive e loro applicazioni industriali	34
4. Spremitura	36
4.1. Applicazioni: ottenimento di oli vegetali	36
4.2. Valutazioni	38
5. Centrifugazione	38

6. Macerazione	40
6.1. Applicazioni: macerazione della canapa	41
6.2. Applicazioni: macerazione carbonica	43
6.3. Valutazioni	43
7. Infusione	44
7.1. Applicazioni: Preparazione del tè	45
7.2. Valutazioni	45
8. Percolazione semplice	46
8.1. Applicazioni: preparazione del caffè espresso	46
8.2. Valutazioni	47
8.3. Percolazione continua	47
8.4. Applicazioni: produzione di saccarosio dalle barbabietole	48
8.5. Valutazioni	49
9. Distillazione in corrente di vapore	49
9.1. Applicazioni: estrazione degli oli essenziali con processi a distillazione in corrente di vapore	52
9.2. Valutazioni	53
10. Apparecchio di Soxhlet	54
10.1. Applicazioni: Estrazione di microinquinanti organici e grassi da matrici solide: confronto fra i sistemi Soxhlet e Randall	57
10.2. Valutazioni	59
11. Fluidi supercritici	60
11.1. Applicazioni: Processo industriale basato sulla CO ₂ supercritica	67
11.2. Valutazioni	69
12. ASE (Accelerated Solvent Extraction)	71
12.1. Applicazioni	72
12.2. Valutazioni	77
13. Estrazione con ultrasuoni e/o microonde	77
13.1. Applicazioni: estrazione di olio dai semi di tabacco (Nicotiana tabacum L.) mediante ultrasuoni	79
13.2. Valutazioni	80

*Capitolo III**La nuova scienza dell'estrazione rapida solido-liquido dinamica:
dal Naviglio Estrattore[®] al Principio di Naviglio*

1. Il principio di Naviglio.....	84
1.1. Il funzionamento del Naviglio estrattore.....	85
1.2. Confronto con le altre tecniche estrattive.....	89
1.3. Applicazioni	90
2. Elenco lavori pubblicati	92
3. Seminari	95
 <i>Bibliografia</i>	 97

Indice Tabelle

Capitolo II

<i>Tabella 1.</i>	Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica della spremitura	39
<i>Tabella 2.</i>	Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica della macerazione	44
<i>Tabella 3.</i>	Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica della distillazione in corrente di vapore	54
<i>Tabella 4.</i>	Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica del Soxhlet	59
<i>Tabella 5.</i>	Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica dell'estrazione con fluidi supercritici	70
<i>Tabella 6.</i>	Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica dell'estrazione accelerata con solvente	76
<i>Tabella 7.</i>	Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica estrattiva assistita con ultrasuoni	80

Capitolo III

<i>Tabella 1.</i>	Confronto tra le tecniche estrattive solido-liquido attualmente esistenti, in relazione alla granulometria, al tipo di solvente e al rendimento	90
<i>Tabella 2.</i>	Confronto tra le tecniche estrattive solido-liquido attualmente esistenti, in relazione al tempo, alla qualità e alla stabilità dell'estratto	90

Prefazione

L'estrazione solido-liquido comprende una serie di metodiche fondate o su applicazioni sperimentali o su esperienze tramandate, che hanno determinato l'affermazione di una procedura in base ai risultati che essa poteva fornire. Tutte le tecniche estrattive note partono da prove sperimentali che vengono valutate in base al loro risultato: se il risultato è positivo allora la tecnica può essere presa in considerazione.

È stato facile ed intuitivo per l'uomo preistorico o per l'uomo di popolazioni tribali provare a schiacciare delle matrici vegetali al fine di recuperare sostanze coloranti per dare tinte ad amuleti, al vestiario e colori da distribuire sulla pelle in occasioni festose o di guerra; è stato sicuramente facile osservare che foglie e materiali vegetali, in generale, quando cadono nell'acqua possono cedere un po' di colore dando vita al processo della cosiddetta macerazione; altrettanto facile è stato notare che riscaldando l'acqua all'ebollizione e immergendovi un vegetale, si rende più rapida l'estrazione di composti colorati di quando l'acqua è a temperatura ambiente. Da tale osservazione sperimentale sono stati ottenuti infusi e decotti.

Fin dall'antichità, l'uomo ha cercato di procurarsi dalla natura tutto ciò che serviva per la propria sopravvivenza, sfruttando le tecniche più semplici di estrazione solido-liquido, senza nemmeno conoscerne i principi, ma semplicemente seguendone la fenomenologia.

È notevole osservare come la natura possieda tutto ciò che è necessario alla sopravvivenza dell'uomo, che spinto dalla curiosità e dalla necessità tende continuamente a studiare i fenomeni naturali. È questo il caso molto comune nella storia della ricerca, quello cioè di osservare per caso un fenomeno che avviene in natura e sfruttarne tutte le potenzialità e applicazioni, senza interrogarsi o aver bisogno di conoscerne i principi in base ai quali esso avviene. Siamo di fronte allo studio del particolare per risalire all'universale o alla

individuazione di una legge generale che regoli il fenomeno per meglio controllarlo.

Già dal 5000 a.C. i Cinesi possedevano una ricca farmacopea basata su infusi ed estratti di piante; anche gli Assiri e i Babilonesi conoscevano la tecnica dell'estrazione. I Greci conoscevano l'arte di ottenere dalle piante preziosi rimedi per la cura di malattie, come apprendiamo dallo studio dei testi di Aristotele e di Ippocrate. Al tempo di Socrate era molto diffuso ed apprezzato il "ciceone", una bevanda a base di orzo e menta, ed era nota l'azione mortale di una pozione di cicuta.

Fin dal 200 a.C. in Mesopotamia era nota una forma primitiva di distillazione in corrente di vapore per ottenere l'olio di cedro. Questo metodo in realtà ha più di 3000 anni e veniva già praticato in Cina anche se in modo rudimentale; il perfezionamento della distillazione in corrente di vapore come la conosciamo oggi va attribuito agli arabi anche se trovò impiego solo molto più tardi. La parola "alambicco", infatti, con la quale si indica l'apparecchio per la distillazione, deriva dalla lingua araba. Tale metodica veniva applicata per l'estrazione di principi odorosi dalle piante essendo i profumi largamente usati dai popoli antichi non solo per necessità estetiche, ma soprattutto affinché gli agenti battericidi ed antibiotici contenuti negli oli essenziali potessero esercitare azione immunizzante e proteggere da malattie endemiche quali peste e colera. Anche per alimenti quotidiani come olio, vino, birra, venivano impiegate tecniche estrattive valide ancor oggi.

Nonostante la notevole esperienza acquisita nel corso della storia in questo settore e l'elevato livello raggiunto dal progresso scientifico, l'estrazione solido-liquido possiede ancora molti aspetti non noti o comunque che richiedono ulteriori approfondimenti per comprenderne pienamente il meccanismo: ciò dipende essenzialmente dalla varietà e complessità delle matrici solide da estrarre. Questo è il motivo principale per cui negli ultimi quaranta anni si sono viste nascere e sviluppare tecnologie estrattive sempre più sofisticate. La spremitura, l'infusione, la percolazione e la distillazione in corrente di vapore che possono essere indicate come le più antiche tecniche non risolvono sempre e al meglio la problematica estrattiva e non soddisfano sempre le aspettative di chi le applica. Mentre agli albori della fitoterapia un estratto vegetale non sempre presentava una costanza di composizione o per qualità o per inefficienza estrattiva, oggi sono indispensabili li-

velli qualitativi più elevati possibili. Data l'ampia diffusione dei prodotti fitoterapici nella pratica medica, essi sono sottoposti alla normativa vigente che contempla la titolazione dei principali composti attivi contenuti nel preparato in modo da garantire il prodotto che viene somministrato ai pazienti.

Oggigiorno disponiamo di tecniche di estrazione solido-liquido molto più complesse della semplice spremitura o della macerazione, quali l'estrazione con fluidi supercritici, l'estrazione accelerata con solvente oppure l'estrazione solido-liquido assistita da microonde.

Sembrerebbe che con l'aumentare della complessità dei sistemi estrattivi si possa meglio affrontare e risolvere la problematica dell'estrazione solido-liquido, ma non è così. Tecniche di estrazione solido-liquido come la tecnica con fluidi supercritici, per esempio, presentano limiti di applicazione che ne riducono la validità o in alcuni casi ne riducono la versatilità: l'apparecchio di laboratorio per l'estrazione in fase supercritica presenta grande complessità per quanto riguarda il funzionamento e numerose precauzioni da seguire. L'anidride carbonica in fase supercritica, poi, presenta caratteristiche spiccate di apolarità per cui la sua applicabilità è molto ridotta; in aggiunta, matrici che contengono acqua offrono notevoli problemi, riducendo il potere solvente dell'anidride carbonica e rendendo la tecnica non semplice da applicare e poco versatile. Allo stesso modo, l'estrazione accelerata con solvente, sofisticato metodo di estrazione solido-liquido, denominato ASE[®] e brevettato dalla Dionex, consente di estrarre rapidamente, agendo sulla diffusione e utilizzando per l'estrazione alte temperature, spinte oltre il punto di ebollizione del solvente: ciò viene reso possibile da una contro pressione generata dalla tenuta del sistema, che non consente l'evaporazione del solvente. Anche in questo caso il sistema è limitato dal fatto che non tutte le sostanze vegetali possono essere sottoposte ad alte temperature e, pur essendo un metodo sicuramente valido come applicazione a scopo analitico in laboratorio, esso risulta poco adatto per una eventuale applicazione a livello industriale. Per quanto riguarda l'estrazione assistita da microonde, essa sfrutta l'effetto cavitazionale di bolle di aria, che contribuiscono a sfaldare la matrice solida accelerando in tal modo il processo estrattivo. Il sistema risulta notevolmente complesso ed il recupero dei principi attivi di interesse richiede lunghe e costose procedure di purificazione per il loro isolamento.

Come è stato detto sopra, le tecniche di estrazione solido-liquido sono derivate da fatti sperimentali, più che basate su dei principi scientifici: tale limite ha fatto sì che non sia stato ancora possibile trovare una tecnica di estrazione completa fino a che non è stato proposta una recentissima tecnologia di estrazione solido-liquido: il Naviglio Estrattore[®]. Sia le tecniche tradizionali che le tecniche introdotte dopo l'avvento dell'energia elettrica funzionano in base a due principi fondamentali: la diffusione e/o l'osmosi. In base a tali principi è possibile fare alcune previsioni di tipo generale in relazione al sistema estrattivo ed è possibile ipotizzare dei tempi e delle rese estrattive in grosse linee rispetto ad una matrice solida generica. In generale si può affermare che, diminuendo la granulometria del solido aumenta la resa estrattiva; aumentando la temperatura del sistema si accorciano i tempi di estrazione; aumentando l'affinità del liquido estraente verso i composti da estrarre aumenta l'efficacia del processo estrattivo. Tutto ciò comunque porta a concludere che le tecniche basate su tali principi estrattivi non hanno alcun effetto *attivo* nei confronti delle caratteristiche del processo come i tempi di estrazione, la resa e l'efficienza, in quanto, una volta messo in determinate condizioni, il sistema resta passivo finché raggiunge una situazione di equilibrio, stazionaria nel tempo, che non è più possibile alterare se non variando qualche parametro, come ad esempio la temperatura. In effetti la procedura estrattiva in genere si svolge in una unica soluzione e difficilmente si impostano due o più stadi di estrazione.

Grazie alla introduzione, negli ultimi anni, di una nuova tecnologia di estrazione solido-liquido, il Naviglio Estrattore[®], che si basa su un nuovo principio di estrazione, il Principio di Naviglio, è stato possibile iniziare a razionalizzare e a rendere più scientifico il processo di estrazione.

Il Principio di Naviglio recita:

La generazione, con opportuno solvente, di un gradiente di pressione negativo tra l'esterno e l'interno di una matrice solida contenente del materiale estraibile, seguita da un repentino ripristino delle condizioni di equilibrio iniziali, induce l'estrazione forzata dei composti non chimicamente legati alla struttura principale di cui è costituito il solido.

In base a tale principio scaturiscono delle conseguenze interessanti in quanto l'estrazione solido-liquido si rende innanzitutto indipenden-

te dall'affinità che i composti da estrarre dalla matrice solida hanno nei confronti del solvente estraente: essi, in effetti, essendo estratti per una differenza di pressione tra il liquido all'interno della matrice e il liquido all'esterno della stessa, fuoriescono dal solido per un effetto di risucchio e perciò possono essere estratti anche in solventi con opposta o diversa polarità. Inoltre, l'effetto pressorio sulla matrice solida porta a svolgere una azione *attiva* rispetto al processo estrattivo, in quanto ad ogni ciclo di pressione e di depressione viene estratto un piccolo quantitativo di materiale, la cui entità è in stretta correlazione con la differenza di pressione generata tra l'interno e l'esterno della matrice solida.

In base a tale principio estrattivo è stato possibile iniziare a rivedere tutta una serie di estrazioni classiche in una veste completamente nuova che ha portato gli Autori a privilegiare in molti casi l'acqua come solvente estraente, cosa che non è possibile fare con tecniche tradizionali quali la macerazione e la percolazione.

Il Naviglio Estrattore[®] è una tecnica che sostituisce tutte le applicazioni tradizionali in quanto riesce a ridurre i tempi di estrazione, porta a rese più elevate e, non richiedendo il riscaldamento del sistema, recupera i principi attivi non degradati.

Dal principio riportato e dalle considerazioni fatte ne scaturiscono due importanti corollari:

I Corollario: l'effetto estrattivo che si esplica per mezzo del Principio di Naviglio è più efficiente dei fenomeni della diffusione e della osmosi;

II Corollario: tutte le estrazioni che si realizzano attraverso la macerazione, la percolazione, la distillazione e l'apparecchio di Soxhlet sono migliorabili per uno o più aspetti impiegando il Naviglio Estrattore.

Introduzione

La necessità di produrre un'opera sulla estrazione solido-liquido nasce da una duplice motivazione: da una parte, non esiste a tutt'oggi un testo che tratti in modo omogeneo, specifico ed esauriente delle tecniche estrattive e dei principi chimico-fisici che stanno alla base del loro funzionamento evidenziando il fatto che l'estrazione solido-liquido non ha ancora raggiunto il giusto grado di avanzamento e di completezza per essere considerata una vera e propria scienza; dall'altra, in questo libro viene presentata una tecnologia estrattiva completamente innovativa rispetto a quelle tradizionali che cambia la filosofia della estrazione solido-liquido. L'opera pertanto colma una lacuna scientifica e contemporaneamente inizia a tracciare il profilo di una vera e propria scienza: l'estrazione rapida solido-liquido dinamica che viene resa possibile grazie alla invenzione del Naviglio Estrattore[®] e alla scoperta di un nuovo principio di estrazione solido-liquido: il Principio di Naviglio.

Questa opera rappresenta la giusta conclusione di due lustri di lavoro intenso durante i quali è stato possibile, con non pochi sforzi, dimostrare la validità di una nuova tecnica estrattiva e iniziare a gettare le basi per una nuova teoria. Per tale motivo, sono riportati alla fine del III capitolo i riferimenti dei lavori più rappresentativi, che contribuiscono a dimostrare sperimentalmente, nei fatti, la validità del Naviglio Estrattore[®], del relativo Principio e dei Corollari che ne derivano, per tutti coloro che sono ancora scettici o che non hanno ancora avuto la possibilità di sperimentare questa nuova tecnica di estrazione solido-liquido.

Il sottoscritto è la persona chiamata in causa dallo stesso corso degli eventi scientifici e dai risultati raggiunti a doversi prendere la responsabilità di produrre questa opera, che certamente non ha la presunzione di esaurire l'argomento attinente al processo di estrazione

solido-liquido che è cosa molto più complessa di ciò che potrà sembrare dopo avere letto il presente libro. Questo lavoro rappresenta un punto di partenza per dire agli esperti del settore estrattivo come fare al meglio i propri prodotti servendosi delle attuali metodiche. Per essere più chiari, si è di fronte ad una situazione simile a quella a cui venne a trovarsi Antonio Meucci nel 1856 per la sua invenzione del telefono: egli intuiva quali potessero essere le potenzialità del suo trovato, ma agli inizi era necessario impiegare apparecchi con fili e meccanismi di collegamento tra i vari utilizzatori molto complessi e lenti. Probabilmente egli non immaginava che un bel giorno sarebbe scaturito dalla sua idea il telefono senza fili, i cellulari ed i videotelefonati attraverso cui non solo si parla ma è possibile anche vedersi.

Anche nel caso dell'estrazione rapida solido-liquido dinamica possiamo intuire degli impieghi ad ampio spettro con estrattori sempre più sofisticati in futuro, ma oggi siamo solo agli albori di questa nuova applicazione, e non siamo in grado di anticipare tutte le trasformazioni a cui potrà andare incontro. Sicuramente la innovazione più immediata sulle apparecchiature future sarà la possibilità di aumentare la pressione di lavoro che da 10 bar potrà essere portata a valori molto più elevati per studiarne l'effetto sulla velocità e sulle rese estrattive.

Il campo di applicazione della estrazione solido-liquido è molto vasto e ciò rende ancora più importante una opera in questo settore. I livelli in cui può essere inquadrato il testo è sia quello didattico che quello di applicazione e quindi industriale.

Nella Facoltà di Farmacia, nei corsi di laurea in erboristeria, le tecniche estrattive costituiscono un pilastro fondamentale per la preparazione dei prodotti erboristici e fitoterapici. Queste nozioni acquisite durante il corso di laurea sono un bagaglio culturale importante e costituiscono le conoscenze basilari per mettere a punto processi industriali di lavorazione delle piante officinali.

Nelle Facoltà di Agraria e Ingegneria, nell'ambito dei corsi che trattino dei processi unitari è di fondamentale importanza la conoscenza dei processi estrattivi per la realizzazione dell'impianto industriale per la produzione di bevande, alimenti integrati, coloranti alimentari etc.

Nella Facoltà di Scienze, nell'ambito del corso di laurea in chimica è importante impartire nozioni di estrazione solido-liquido nei corsi di chimica analitica, chimica analitica strumentale, chimica applicata,

analisi merceologica, analisi chimica degli alimenti etc. per comprendere quali siano i metodi estrattivi più convenienti da impiegare allorché non esistano indicazioni per l'impiego di un metodo in particolare. Non è difficile trovare laureati in tali settori scientifici che ignorano il funzionamento dell'apparecchio di Soxhlet, riconosciuto come metodo ufficiale nei processi di estrazione a caldo ed a riciclo continuo. Se mancano le conoscenze basilari sul funzionamento delle apparecchiature è chiaro che non si è in grado di scegliere nemmeno la metodica più idonea.

Gli Autori si rendono disponibili a fornire ulteriore materiale di approfondimento degli argomenti trattati ed a fornire alle persone interessate informazioni su applicazioni specifiche del settore estrattivo.

Capitolo I

L'estrazione solido-liquido: evoluzione del processo estrattivo

1. I principi dell'estrazione solido-liquido

L'estrazione solido-liquido è un procedimento attraverso il quale è possibile separare i costituenti desiderati da matrici solide di tipo alimentare, vegetale o animale, mediante l'utilizzo di opportuni solventi. È possibile individuare diverse e separate fasi nel processo attraverso cui essa si realizza: la prima fase consiste in una frantumazione della matrice solida, più o meno spinta, atta a favorire la diffusione del solvente all'interno della stessa; segue la fase imbibente, in cui il solvente aggiunto alla matrice contenente i principi da estrarre, provvede a diffondere in quest'ultima occupando tutti gli spazi vuoti ad esso accessibili; nella terza fase i vari principi passano nel solvente creando una soluzione di una certa concentrazione. A questo punto i principi solubilizzati nel solvente per effetto osmotico o per semplice diffusione a gradiente, migrano verso l'esterno del solido fino all'azzeramento del gradiente di concentrazione del soluto fra l'interno e l'esterno della matrice solida. Raggiunto l'equilibrio il processo estrattivo si arresta e, attraverso processi fisici di sgrondatura, spremitura, filtrazione e centrifugazione, si procede alla separazione della soluzione ricca di composti estratti dalla matrice solida esausta.

Il recupero del soluto dalla soluzione imbibita, non è totale, in quanto, una certa parte di essa, definita dal rapporto di imbibizione, rimane nella matrice per cui occorre ripetere il ciclo estrattivo con solvente fresco fino a un ragionevole esaurimento della matrice stessa.

In genere, in campo alimentare, le matrici estrattive sono di origine vegetale, rappresentate da una struttura cellulare in cui il soluto estraibile può trovarsi o negli spazi intercellulari (peli, canali secretori, tasche lisigene ecc.) o all'interno della cellula confinato in organi cellulari (vacuoli, cloroplasti, cromoplasti ecc.).

Qualunque sia la matrice estrattiva utilizzata, i fattori in gioco nel processo di estrazione solido-liquido sono molteplici: dimensione e stato fisico delle particelle della matrice solida, rapporto quantitativo solvente/matrice, tempi di contatto, meccanismo di penetrazione del solvente nelle particelle del materiale in estrazione, temperatura a cui avviene il processo, ecc. Le condizioni operative di estrazione guidano sia l'efficienza quantitativa sia la selettività, ove per "selettività" si intende il fenomeno secondo il quale si condiziona anche quantitativamente il rapporto fra i principi attivi presenti nell'estratto ottenuto. Il fenomeno della estrazione solido-liquido si basa su due processi fisici importanti: il primo regola la diffusione del solvente nella matrice ed è detto diffusione; il secondo regola la successiva estrazione del soluto, veicolato nel solvente, ed è detto osmosi.

1.1. Diffusione

Lo spostamento di massa per diffusione è il trasporto o spostamento naturale di una sostanza sotto l'influenza di un gradiente di concentrazione; le sostanze (molecole di soluto) si spostano da zone a concentrazione maggiore verso zone a concentrazione minore fino al raggiungimento dell'equilibrio.

La velocità di diffusione è regolata dalla legge di Fick:

$$v = D \cdot A \cdot \Delta c / l$$

Dove:

- v = velocità di diffusione delle molecole di soluto fra due punti della soluzione;
- A = area della superficie attraverso la quale avviene la diffusione;
- Δc = differenza di concentrazione fra i due punti;
- l = distanza fra i due punti;

D = coefficiente di diffusività che dipende dal sistema solvente-soluto e dalla temperatura.

Il rapporto $\Delta c/l$ rappresenta il gradiente di concentrazione.

Per una data sostanza in presenza di un insieme specifico di condizioni della soluzione, il coefficiente di diffusione è una costante.

La velocità di diffusione può essere variata influenzando su fattori che interessano a) il sistema nel suo insieme (temperatura e agitazione); b) le caratteristiche del soluto (area di contatto fra solido e liquido e forma cristallina del solido); c) le caratteristiche del solvente (viscosità e tensione interfacciale).

1.2. Osmosi

L'osmosi si può considerare un caso particolare di diffusione in cui si opera una limitazione al movimento delle molecole di soluto. Tale comportamento è conseguente alla particolare struttura di una membrana selettiva, detta semipermeabile, caratterizzata da spazi intermolecolari di dimensioni tali da permettere solo il passaggio delle molecole di solvente e non delle molecole di soluto. Ad esempio, a livello cellulare, essendo la membrana plasmatica molto permeabile all'acqua e scarsamente permeabile ai soluti, quando viene posta in un ambiente la cui concentrazione extracellulare di soluto è bassa, tenderà a rigonfiarsi per il processo diffusivo del solvente verso l'interno di essa, a causa del gradiente di concentrazione esistente sulle due superfici della membrana. L'osmosi è un riflesso della tendenza del solvente a muoversi in qualsiasi direzione che renda la sua attività termodinamica uniforme in tutte le parti del sistema ad esso accessibili. Il conseguente aumento di volume determina una pressione positiva nella cellula, detta pressione osmotica, che tende a spingere il solvente verso l'esterno, in opposizione al flusso generato dal gradiente. Quando le due forze si eguagliano si raggiunge un equilibrio con arresto della diffusione del solvente.

La pressione osmotica viene misurata quantitativamente con la relazione di Vant'Hoff: $\pi = c \cdot R \cdot T \cdot i$

dove:

π = pressione osmotica [atm]

R = costante dei gas = $0.0820 \text{ [l][atm][mol]}^{-1} \text{ [K]}^{-1}$

T = temperatura assoluta in K;

c = concentrazione della soluzione [mol] [l]⁻¹;

i = fattore di correzione che tiene conto del numero di molecole in soluzione (coefficiente di attività).

Il modello descritto porterebbe a pensare che sia impossibile estrarre un soluto da una cellula con un solvente. In realtà una membrana cellulare non è perfettamente semipermeabile, per cui, anche nelle migliori condizioni di attività cellulare, una certa diffusibilità del soluto verso l'esterno della cellula esiste sempre. Inoltre i processi degradativi che seguono la morte cellulare, e la contemporanea perdita delle attività di trasporto di membrana facilitano la diffusione e l'estrazione del soluto.

I fattori in gioco nell'estrazione sono notoriamente numerosi: dimensione e stato fisico delle particelle della matrice, rapporto quantitativo solvente/matrice, tempi di contatto, meccanismo di penetrazione del solvente nelle particelle del materiale in estrazione, ecc. Le condizioni operative di estrazione guidano sia l'efficienza quantitativa sia la selettività. Con il termine "selettività" ci si riferisce al fenomeno secondo il quale, operando in modo differenziato l'estrazione, si condiziona anche quantitativamente il rapporto fra i principi attivi di una matrice nell'estratto derivato.

Poiché gran parte dei principi attivi nei tessuti vegetali sono disciolti in un mezzo acquoso e l'estrazione viene fatta con solventi generalmente apolari il costituente si ripartirà fra i due liquidi immiscibili con un certo rapporto di distribuzione (K) che dipende dalla temperatura.

1.3. *Osmosi inversa*

Mentre l'osmosi è un fenomeno naturale consistente nel passaggio di acqua attraverso una membrana semipermeabile da una soluzione più diluita ad una più concentrata fino al raggiungimento di un equilibrio, la tecnologia dell'osmosi inversa permette, applicando una pressione superiore alla pressione osmotica, di ottenere il passaggio attra-

verso la membrana della sola acqua impedendo il passaggio dei soluti. I buoni risultati dipendono dalla efficienza e dalla porosità della membrana semipermeabile che dovrebbe essere in grado di trattenere non solo sali e prodotti organici, ma anche materiale colloidale, virus e batteri. Lo schema dell'applicazione è rappresentato molto semplicemente in Fig. 1.

L'osmosi inversa è utilizzata nel trattamento dell'acqua, sia per la desalinizzazione, sia per la rimozione di tracce di fosfati, calcio e metalli pesanti, nonché pesticidi, materiali radioattivi e di quasi tutte le molecole inquinanti. Sempre di più va affermandosi, soprattutto nelle grandi città inquinate, la pratica di trattamento dell'acqua che arriva ai rubinetti domestici tramite apparecchiature filtranti basate sul processo dell'osmosi inversa, che garantisce così un'acqua oligominerale assente di cloro, piombo e materiali pesanti rilasciati dalle tubature.

1.3.1 Applicazioni: Ottenimento di acqua potabile da acqua salmastra

Numerose possono essere le applicazioni dell'osmosi inversa per scopi industriali: Industria farmaceutica e cosmetica, Trattamento di

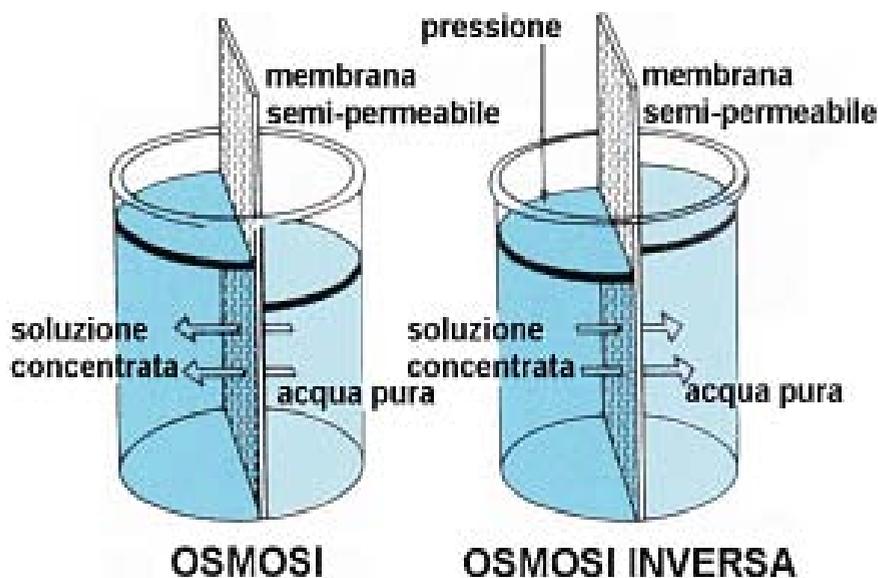


Figura 1. Celle per le tecniche di osmosi

desalinificazione dell'acqua, Trattamento di potabilizzazione dell'acqua superficiale, Trattamento dell'acqua reflua prodotta dall'industria elettronica, galvanica e del vetro, da impianti di soda ed imbottigliamento Acqua per alimentazione di caldaie ad iniezione di vapore, Acque reflue da ospedali e laboratori Ambiente (Riciclaggio).

Per ottenere acqua potabile da acqua salmastra nel processo di osmosi inversa viene utilizzata una membrana generalmente di acetato di cellulosa, in modo che agisca da filtro ed ottenere in tal modo una desalificazione. L'acqua salata viene posta su di un lato della membrana e viene applicata sulla sua superficie una pressione al fine di interrompere in un primo tempo il processo osmotico, e successivamente invertirlo. Generalmente viene applicata una pressione elevata ed il processo è piuttosto lento, ma efficace.

L'osmosi inversa si presenta in natura nelle mangrovie che crescono in acqua di mare. La linfa interna allo xilema è costituita essenzialmente di acqua pura, mentre le radici affondano in acqua salata. Essendo l'osmolalità dell'acqua di mare = 1,08 osmol/L si può calcolare che deve esserci una differenza di pressione osmotica ($p = cRT = 1,08 \times 0,0820 \times 25,9 \text{ atm}$) tale da spingere l'acqua fuori dall'albero immettendola nell'acqua salina e disidratando la pianta. In realtà avviene il contrario, e pertanto assistiamo ad un processo naturale di osmosi inversa. La pressione osmotica (nel verso dall'acqua contenuta nello xilema, all'acqua di mare) è $p = 25,9 \text{ atm}$; per avere osmosi inversa occorre appunto che all'interno dello xilema sia in qualche modo presente una pressione maggiore, p_x , in verso opposto, capace cioè di risucchiare l'acqua internamente allo xilema (osmosi inversa).

Riepilogando: la pressione alla superficie del mare è $p = 1 \text{ atm}$ (la pressione esercitata da un fluido si propaga in tutte le direzioni e dunque p è anche diretta verso l'alto, quindi opposta alla pressione osmotica il cui segno è negativo in quanto ha verso opposto a quello in cui crescono le ordinate), dunque $p + p_x = 0$; $p_x = -p + p = -1 + 25,9 = 24,9 \text{ atm}$, una pressione verso l'alto capace di risucchiare l'acqua.

Questo risultato — ottenimento di acqua potabile da acqua salmastra la cui spiegazione richiederebbe complesse conoscenze di fisiologia vegetale — porta a concludere che la pressione dell'acqua nello xilema della maggior parte degli alberi sia negativa, cioè che l'acqua trattenuta nello xilema sia in tensione: la pianta

risucchia l'acqua tirandola verso l'alto come se fosse una colonna liquida continua.

1.3.2. Valutazioni

Il processo di osmosi inversa è rapido ed efficace e trova applicazioni anche a livello industriale per ottenere acqua pura e riutilizzabile dai reflui di lavorazione, con notevole risparmio nel consumo di acqua. L'inconveniente è legato ai costi di rigenerazione delle membrane che, dopo qualche tempo devono essere sostituite con costi elevati. Inoltre vengono prodotte notevoli quantità di acque salmastre (retentato) che devono essere smaltite previo processo di purificazione.

Capitolo II

Le tecniche di estrazione solido–liquido tradizionali

1. Preparazione della matrice estrattiva

Preliminarmente, al fine di effettuare una efficiente estrazione, occorre operare una rottura o una modifica fisica delle membrane cellulari attraverso l'impiego di mezzi meccanici, trattamenti chimici e, laddove le sostanze da estrarre non siano termolabili, trattamenti termici.

Un sistema meccanico semplice è la macinazione che permette una parziale rottura delle cellule, con conseguente aumento della superficie di contatto matrice–solvente e una maggiore velocità di diffusione della soluzione imbibita verso l'esterno della struttura cellulare. Tale operazione risulta vantaggiosa anche per i soluti confinati negli spazi intercellulari. La macinazione, però, di parti vegetali fresche presenta in generale alcuni inconvenienti a causa della liberazione di enzimi degradativi cellulari che modificano la composizione delle sostanze da estrarre. In tali casi bisogna operare in condizioni di bassa temperatura o impiegare degli inibenti enzimatici, rendendo più complessa la miscela da estrarre.

In base alla consistenza del materiale vengono usate macchine come:

- frantumatori a coltello o a grattugia per corpi duri;
- trituratrici per materiali teneri bulbi o tuberi;
- polverizzatrici a coltello o a martello per rendere il materiale in polvere.

Successivamente i trattamenti chimici si basano su aggiunta di acidi che, abbassando il pH, permettono la rottura delle strutture cellulari

e intercellulari aumentando così la permeabilità del sistema; i trattamenti termici, pur permettendo la distruzione della membrana cellulare con un relativo miglioramento estrattivo, non trovano larga applicazione a causa delle modifiche ossidative che si possono avere a carico dei costituenti della matrice estrattiva.

Ad esempio, un aumento sensibile di temperatura su una matrice alimentare contenente gruppi amminici liberi e zuccheri riducenti, dà origine ad una serie di reazioni complesse che portano alla formazione di prodotti della così detta “reazione di Maillard” responsabili dell'imbrunimento dell'alimento.

Inoltre, l'alta temperatura può facilitare la formazione di radicali liberi che hanno come principale substrato di stabilizzazione gli acidi grassi insaturi dei lipidi che, in sede di stoccaggio e conservazione dei prodotti finali, subiscono fenomeni d'irrancidimento acido, chetonico, perossidico (odori e sapori sgradevoli, alta acidità ecc.).

Una tecnica fisica moderna, utilizzata per potere disgregare a livello molecolare la struttura cellulare e migliorare l'efficienza estrattiva, si basa sull'uso degli ultrasuoni (sonicazione).

Sempre nella fase preparatoria del materiale vegetale, al fine di aumentare la permeabilità dello stesso ed evitare un improvviso rigonfiamento nei diffusori, è opportuno un trattamento imbibente a base di acqua o solventi acquosi che assicura, tra l'altro, un'uniforme diffusione del solvente.

2. Tecniche di estrazione solido-liquido

Le scelte dei metodi e delle tecnologie connesse a un processo estrattivo non sono sempre semplici a causa della complessità strutturale e di composizione della matrice. In genere, il componente o i componenti da estrarre fanno parte di una classe di molecole che hanno caratteristiche chimico-fisiche molto simili. L'estrazione selettiva con un solvente, in questi casi, non può che riguardare l'intera classe dei componenti. Attraverso altri sistemi di isolamento che sfruttino una diversità di proprietà chimico-fisiche dei costituenti nella classe sarà poi possibile isolare il componente o i componenti di interesse. Alcune tecniche di isolamento sono: centrifugazione, di-

stillazione frazionata, distillazione in corrente di vapore, metodi cromatografici, meccanici e chimici.

Un processo di estrazione si compone di due fasi: una fase di estrazione grossolana e una fase di purificazione dell'estratto. Nella scelta delle tecniche più opportune, delle condizioni di esercizio, dei solventi, risulta di fondamentale importanza la conoscenza delle proprietà chimiche delle classi di costituenti e il comportamento in presenza di diversi sistemi solventi.

Le classi di maggior interesse estrattivo per applicazioni farmaceutico-alimentari sono:

- *alcaloidi*: composti ciclici aromatici azotati, eterogenei per struttura chimica con attività farmacologica. L'atomo di azoto conferisce a questi composti una particolare basicità. I sali degli alcaloidi sono solubili in acqua mentre le basi sono solubili nei solventi organici per cui vengono estratti in ambiente basico con solventi organici (etere, cloroformio, acetato di etile). Molecole alcaloidee sono la caffeina (presente nel caffè, cacao, cola), la capsaicina presente nel peperoncino, la teina nel tè;
- *flavonoidi*: derivati del flavone a struttura $C_6-C_3-C_6$. Le classi di interesse estrattivo sono i flavanoli, con colori che vanno dal giallo all'arancione e le antocianidine con colori dal rosso all'azzurro. In natura si possono trovare anche sotto forma di glucosidi e molti di essi vengono usati come coloranti naturali e sono dotati di proprietà antiossidanti. I flavonoidi glicosidici sono solubili in acqua, miscele idroalcoliche ed insolubili in solventi organici; gli agliconi sono insolubili in acqua ma solubili in etere. I flavonoidi sono presenti nell'albedo degli agrumi, nella paprica; gli antociani sono presenti nel vino rosso, nella frutta, le clorofille sono presenti nella verdura, nel carciofo ecc;
- *zuccheri*: i carboidrati, esosi e pentosi, hanno una diversa solubilità in acqua in dipendenza del grado di polimerizzazione. Nelle forme semplici come mono-di-trisaccaridi sono solubili in acqua mentre, sotto forma più complessa di polisaccaridi, sono poco solubili, formando gelatine. Di interesse alimentare sono gli amidi, maltodestrine, agar, gomme, alginati e pectine;
- *oli*: classe di composti, per lo più mono-di-trigliceridici con acidi grassi di tipo saturo e insaturo. Sono composti liposolubili e vengono

- estratti con solventi apolari. L'estrazione comporta anche la separazione di cere, essendo tali sostanze liposolubili. Oltre all'estrazione da semi e frutti oleaginosi, i lipidi possono essere estratti anche da matrici di origine animale. Di particolare importanza è l'estrazione dell'olio di fegato di merluzzo, effettuata in corrente di vapore e in ambiente controllato in CO₂, per evitare fenomeni di ossidazione. Quest'olio è ricco di vitamine del gruppo A e D e acidi grassi della serie omega 3;
- *terpeni*: Sono composti polimerici ottenuti per condensazione di unità isopenteniliche fra cui il più importante è l'isoprene. Sono classificati in mono, sesqui e tetraterpeni (carotenoidi). Oltre al valore noto dei carotenoidi, i monoterpeni sono particolarmente importanti perché sono altamente volatili e aromatici e sono alla base dei costituenti degli oli essenziali nelle spezie. Possono essere formati da monomeri idrocarburici come limonene e pinene, alcoli come geraniolo e mentolo, aldeidi come citronellale, chetoni come canfora e mentone, eteri (eucaliptolo), fenoli (timolo). Sono ottenuti dalle parti aeree o sotterranee delle rispettive omonime piante con estrazioni in corrente di vapore o con nuovi sistemi come l'estrattore Naviglio;
 - *glicosidi*: categoria complessa di composti formati da una parte zuccherina (glicone) e una parte non zuccherina (aglicone). La parte agliconica può essere uno steroide, antrachinone, tiocomposto, saponina, alcol o fenolo, mentre la parte gliconica sono maggiormente pentosi e esosi a diversa polimerizzazione. Gli agliconi vengono estratti per infusione dopo una macerazione con fermentazione che libera l'aglicone dalla parte zuccherina. Un tipico estratto essiccato è la vanillina ottenuta dalla vaniglia e le crocine dallo zafferano.

Le tecniche classiche di estrazione solido-liquido sono: la spremitura, la macerazione con le diversi varianti (digestione, infusione e decozione), la percolazione o lisciviazione, distillazione, distillazione in corrente di vapore e l'estrazione con solvente (Soxhlet).

3. Tecniche estrattive e loro applicazioni industriali

In molti processi industriali la preparazione di un prodotto richiede inizialmente l'applicazione di una tecnica di estrazione solido-liquido

per isolare quantitativamente sostanze estraibili presenti nelle più svariate matrici. I settori industriali che maggiormente impiegano tecniche estrattive sono il fitoterapico che utilizza le piante officinali, da cui si ricavano i principi attivi con proprietà farmacologiche ben determinate per la cura di varie patologie; l'erboristico, cosmetico e profumiero che ricavano i componenti principali dei loro prodotti sottoponendo ad estrazione solido-liquido parti di piante come fiori, foglie, radici, ecc. per la preparazione di creme, profumi, saponi; l'industria delle bevande, che si serve dell'estrazione solido-liquido per ottenere estratti alcolici da bucce di agrumi, fiori, foglie, etc., che mescolati poi ad acqua e zucchero forniscono il prodotto finito; oleifici, che combinando il processo di premitura ed estrazione, producono olio dalla pasta di olive ... e gli esempi potrebbero continuare.

Per effettuare una estrazione che sia il più possibile efficiente, occorre innanzitutto operare una rottura o una modifica fisica delle membrane cellulari della matrice estrattiva attraverso l'impiego di processi meccanici, trattamenti chimici e, laddove le sostanze da estrarre non siano termolabili, trattamenti termici, come già accennato precedentemente.

La scelta dei metodi e delle tecnologie connesse a un processo estrattivo non è semplice e ciò dipende in gran parte dalla complessità strutturale e dalla composizione della matrice; per tali motivi non è semplice trovare leggi universali che regolino il processo in modo da anticipare i risultati.

Molto di frequente, il componente o i componenti da estrarre fanno parte di una classe di molecole che hanno caratteristiche chimico-fisiche simili, per cui l'estrazione selettiva di un solvente, in questi casi, riguarda l'intera classe dei componenti. Poi attraverso sistemi di isolamento quali la centrifugazione, la distillazione frazionata, la distillazione in corrente di vapore, metodi cromatografici, e altri metodi meccanici e/o chimici è possibile isolare il componente o i componenti di interesse.

Nella scelta delle tecniche più opportune, delle condizioni di esercizio, dei solventi, ecc., risulta di fondamentale importanza la conoscenza delle proprietà chimiche delle classi di costituenti e il comportamento alla presenza di diversi sistemi solventi.

Accanto alle tecniche classiche precedentemente citate, nel corso degli anni se ne sono aggiunte delle altre, più complesse ed efficienti,

come l'estrazione con fluidi supercritici, l'estrazione con ultrasuoni e/o microonde, l'estrazione accelerata con solvente (Accelerated Solvent Extraction) ed in ultimo il Naviglio Estrattore[®], che per la sua novità e per le numerose caratteristiche di efficienza e di miglioramento rispetto alle altre tecniche estrattive, sarà oggetto di uno studio più approfondito nella terza parte del testo.

4. Spremitura

La spremitura è la tecnica estrattiva più antica adottata dagli uomini primitivi che hanno abitato il nostro pianeta, ed attualmente usata da popolazioni che vivono ancora in uno stato tribale, le quali hanno intuito che dai vegetali era possibile estrarre sostanze importanti per la loro sopravvivenza; colori, profumi, veleni e perfino sostanze con spiccate proprietà curative. La tecnica è semplice in quanto consiste in una separazione meccanica solido-liquido basata sull'applicazione di pressioni, generalmente elevate, mediante apparecchi che nel tempo sono diventati più sofisticati come grosse pietre, o pestello e mortaio, molazze, presse, torchio ecc. sulla massa del materiale vegetale. Lo schiacciamento produce la fuoriuscita di tutto l'umore contenuto nel vegetale, che viene però contaminato da una serie di composti indesiderati. Raramente il prodotto risultante da tale processo viene impiegato tal quale, nella maggior parte dei casi bisogna ricorrere a sofisticati processi di separazione per arrivare ad isolare i composti desiderati. Per tale motivo, pur essendo una tecnica molto antica le sue applicazioni più importanti sono in numero molto limitato.

4.1. Applicazioni: ottenimento di oli vegetali

La spremitura trova il suo maggiore impiego nell'industria alimentare, in particolare nell'estrazione degli oli da semi e frutti oleaginosi e per l'estrazione di oli essenziali dai frutti del genere Citrus. Il vantaggio della spremitura è quello di non utilizzare alcun gradiente termico, cosa che potrebbe indurre la perossidazione degli oli estratti.

La prima fase del processo di spremitura consiste nella frantumazione della matrice, che, successivamente, viene sottoposta a forte pressione in particolari torchi. L'azione meccanica conseguente alla

pressione, provoca la rottura delle cellule oleifere o degli otricoli e la fuoriuscita dell'olio che viene quindi separato e raccolto.

Un classico sistema di spremitura viene utilizzato ancora oggi, soprattutto nelle aree meridionali, per estrarre l'olio dalle olive anche se si sta diffondendo sempre di più il sistema per centrifugazione. Secondo il sistema classico, dopo le operazioni di defoliazione e lavaggio, viene effettuata una fase di frangitura, che ha come scopo la rottura della polpa e del nocciolo delle olive con la liberazione della massima quantità di olio possibile dalle cellule della pasta di olive. Segue un'operazione di gramolatura che ha lo scopo di far avvenire il fenomeno della coalescenza cioè la fusione delle microgocce di grasso in una massa più consistente e più facilmente estraibile.

Ottenuta la pasta di olive si procede alla fase dell'estrazione vera e propria, che consiste nella separazione delle tre componenti della pasta, ossia sansa, acqua di vegetazione e olio. L'estrazione avviene per pressione meccanica: la pasta viene posta sui dischi di fibra vegetale, i fiscoli, che vengono impilati su carrelli intervallati da dischi di acciaio e posti sotto una pressa. A questa pressa, per il funzionamento, viene abbinata una pompa idraulica a diversa velocità di avanzamento, in modo da consentire una salita veloce del liquido oleoso nella fase iniziale e lentissima nella fase di spremitura. Il funzionamento della pompa idraulica si basa sul principio di Pascal. La pressione crescendo nell'arco di circa un'ora, permette la fuoriuscita della componente liquida oleosa mentre la parte solida che dopo la spremitura resta aderente ai fiscoli costituisce la sansa.

Un particolare processo di estrazione, molto usato anticamente nell'industria cosmetica è l'enfleurage. Era stato osservato che alcuni grassi avevano la particolarità di assorbire odori da parti delicate di vegetali, generalmente fiori, che poi venivano usati come profumi. Il processo originale di estrazione, sviluppatosi in Provenza grazie al clima favorevole ed alla coltivazione di differenti tipi di piante profumate quali la lavanda, il gelsomino, la rosa e la violetta, prevedeva di porre i fiori di queste piante fra due strati di grasso animale steso su lastre di vetro che venivano poi pressate, facendo in modo che il grasso estraesse l'olio profumato, trattenendone la fragranza. I fiori venivano sostituiti mano a mano che si esaurivano, sino ad ottenere una "pomata floreale" carica di oli essenziali. Il grasso ottenuto, chiamato *concrete*, trovava svariati impieghi che anda-

vano fino all'uso come brillantina; era ancora possibile trattare questo grasso profumato con alcol, in modo da ottenere l'*absolute*, un composto di olio essenziale e pigmenti del fiore che possedeva un colore ricco ed un potente aroma. Questo metodo era molto poco economico, infatti per il gelsomino, era necessario utilizzare circa 1000 chili di fiori, per ottenere un litro di essenza pura, con costi notevoli.

4.2. Valutazioni

Lo svantaggio principale di questo tipo di spremitura applicato all'estrazione dell'olio dalle olive è rappresentato dai fiscoli che presentano delle maglie in cui si accumula una sostanza grassa di difficile lavaggio; i residui, difficilmente eliminabili dai fiscoli, possono inquinare l'olio successivo trasferendo dei difetti. L'operazione si conclude con una fase di chiarificazione del mosto oleoso, una emulsione al 60–70% di olio in acqua, prodotto nella fase di pressatura, con centrifughe ad asse verticale analoghe a quelle utilizzate per la scrematura del latte.

Il metodo classico così descritto presenta non pochi punti deboli: la fase di molitura prolungata può comportare l'alterazione dell'olio per l'ossidazione degli acidi grassi; la fase di gramolazione deve essere controllata per il tempo ma soprattutto per la temperatura che non deve essere eccessiva (irrancidimento); la fase di pressatura comporta degli inconvenienti relativi ai fiscoli che costituiscono un rischio per la purezza dell'olio nella fase successiva.

5. Centrifugazione

Un altro processo di estrazione meccanica, che non può considerarsi un vero e proprio processo di spremitura consiste nella separazione per centrifugazione. Le fasi iniziali di questo processo sono uguali a quelle dell'estrazione per pressione con la differenza che alla pasta oleosa, prima di essere avviata alla centrifuga deve essere aggiunto il 30–40% di acqua rispetto alla massa gramolata per portarla alla giusta viscosità. La miscela oleosa così ottenuta viene avviata al decanter, una centrifuga a tamburo orizzontale che gira ad alta velocità. L'acqua di vegetazione e l'olio, per la diversità dei pesi specifici, vengono sepa-

Tabella 1. Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica della spremitura.

Spremitura	
Antico processo di estrazione dei principi attivi dalle piante officinali	
Principio	Schiacciamento.
Tecnologia	Generatore di pressione meccanica (torchio, macina, pestello e mortaio).
Pregi	Rapidità e completezza dell'estrazione.
Difetti	Estratto contenente sostanze non desiderate insieme ai principi attivi. Principi attivi degradati.

rati e, infine, convogliati verso direzioni di uscita diverse mentre la sansa viene allontanata in direzione opposta da un sistema elicoidale a co-
clea. Un'estrazione per centrifugazione può essere a due o a tre fasi. Nell'estrazione a due fasi si ottengono due correnti di uscita: una liquida oleosa ed un'altra solida costituita dalla sansa imbibita dall'acqua di vegetazione. In quella a tre fasi, da una corrente di ingresso, si ottengono tre correnti di uscita: l'olio, l'acqua di vegetazione e la sansa quasi asciutta. Successivamente l'olio è sottoposto all'azione di un separatore centrifugo per allontanare le impurità e l'acqua; infine l'acqua di vegetazione mescolata ai fanghi che provengono dai separatori centrifughi a scarico automatico viene inviata in un secondo separatore centrifugo per recuperare i modesti contenuti di olio ancora presenti.

Il sistema di estrazione a centrifugazione ha avuto buona diffusione solo nelle zone ove si produce olio di qualità modesta, in quanto tale sistema presenta alcuni svantaggi: un colore decisamente verde a causa della solubilizzazione della clorofilla; profumo e aroma attenuati per l'aggiunta di acqua nella fase di fluidificazione.

Bisogna tener presente che la resa risulta eguale a quella ottenibile dagli impianti a pressione e che gli impianti a centrifugazione hanno sicuramente dei pregi occupando una superficie minore, richiedendo minor mano d'opera, inoltre non utilizzano i fiscoli che possono provocare il deprezzamento dell'olio. Questo esempio di estrazione che ci è stato tramandato pur conservando immutato il suo schema operativo, ha subito successivi miglioramenti riguardo il tempo di estrazione, la resa, la temperatura, tali da poter fornire un prodotto di ottima qualità.

In Tab. 1 vengono riassunte le caratteristiche del processo di spremitura.

6. Macerazione

Un'altra tecnica di separazione semplice ed economica è rappresentata dalla macerazione, che si realizza in contenitori di acciaio che possono avere sia piccole che grandi capacità (1.000–10.000 litri) o altro materiale inerte sia verso la matrice solida che il solvente estraente.

Il solido da estrarre viene introdotto nel contenitore e completamente ricoperto dal solvente, al fine di ottenere l'estrazione più completa possibile. Il processo di estrazione è in genere abbastanza lungo e richiede dei giorni o anche delle settimane per giungere a completezza.

In questo processo estrattivo intervengono sia fenomeni di diffusione che di osmosi, i quali, come è stato precedentemente descritto, sono fortemente dipendenti dalla temperatura. Il processo estrattivo viene velocizzato con l'aumento della temperatura o mediante l'impiego di ultrasuoni o microonde che aumentano l'energia cinetica delle molecole che si trovano all'interno della matrice solida. L'impiego di microonde ed ultrasuoni è molto recente e ancora oggi è in fase di sperimentazione.

Questa tecnica si raccomanda per estrarre principi attivi solubili o termolabili e per quelle matrici che a caldo possono cedere sostanze di scarso interesse terapeutico.

La macerazione richiede solamente una certa agitazione saltuaria per permettere la diffusione delle sostanze estratte in tutta la massa del liquido estraente. È utile sottolineare che è necessario effettuare una macerazione con quantità limitate di solvente in più cicli e sottoporre alla fine il materiale estratto a spremitura, per evitare una forte perdita di principi attivi. Una matrice vegetale seccata e macinata infatti assorbe una certa quantità di solvente e, a seconda della sua assorbibilità, ne trattiene una porzione più o meno elevata nella quale si trovano disciolti i principi attivi.

La tecnica della macerazione per quanto concerne l'estrazione in fase acquosa presenta alcune varianti: l'infusione, rappresentabile come una macerazione per tempi brevissimi (1–2 minuti o sino al raffreddamento) in acqua bollente. In questo caso l'estrazione risulta sicuramente più veloce ma diventa più rapido anche il fenomeno degradativo a carico delle sostanze termicamente labili.

Altra variante della macerazione classica è la decozione. Si esegue ponendo a contatto la matrice con il solvente operando alla temperatu-

ra di ebollizione, per un tempo variabile fino a 30 minuti o più. Il liquido viene filtrato e ad esso viene aggiunto il liquido di spremitura del marco (matrice estratta impregnata di solvente).

Tale tecnica è dunque riservata a materiali compatti che hanno principi attivi termoresistenti, per la cui estrazione si richiede l'intervento del calore. I decotti, come gli infusi, sono facilmente alterabili ed hanno una validità limitata.

Ultima variante della macerazione classica è la digestione, la quale consiste nel riscaldare, da 35 °C a 60 °C, la matrice in contatto con il solvente. Tale tecnica viene usata quando è permesso un calore moderato allo scopo di aumentare il potere estrattivo del solvente: se il solvente impiegato è molto volatile, è necessario che il recipiente in cui viene effettuata la digestione sia munito di un opportuno sistema refrigerante a riflusso per il recupero ed il riciclo del solvente stesso. Le rese della digestione sono maggiori rispetto a quelle ottenute nella macerazione anche se, con il raffreddamento e con il riposo possono però verificarsi intorbidamento e formazione di precipitati.

6.1. Applicazioni: macerazione della canapa

La macerazione è un processo a cui vengono sottoposte le piante produttrici di fibre tessile (canapa, lino, iuta, ecc...) immergendole in acqua, all'aperto o in vasche di opportune dimensioni, per separare la corteccia dal fusto e separare le fibre che poi saranno utilizzate nell'industria.

La coltivazione della canapa è stata molto fiorente in tutta Italia sino alla fine del XIX secolo quando tale coltura è stata abbandonata soprattutto per motivi ambientali.

La raccolta della canapa avveniva ai primi di agosto, e la prima operazione era il taglio dei fusti che doveva essere fatto il più basso possibile, a 5 cm. dall'inizio della radice, usando una falce. I fusti poi venivano posti per terra, intrecciati in modo che la foglia fosse sollevata e si rivoltavano il giorno dopo e per 4-5 giorni ancora, finché le foglie, ormai secche, potessero essere scrollate. Successivamente si mettevano a parte i fusti più alti e più grossi, scelti per la raccolta dei semi; gli altri venivano appoggiati ad un cavalletto lungo circa 3 metri erano selezionati in rapporto alla loro lunghezza, per avere fasci di misura omogenea. Ogni fascio di canapa era costituito

da 30–40 fusti e, posti in fila, erano lasciati essiccare finché i tigli incominciavano a staccarsi.

Aveva poi inizio la seconda fase della lavorazione, la macerazione. I maceri di campagna erano grandi buche rettangolari, scavate lontano dalle case, piene di acqua stagnante, nelle quali la canapa era posta a macerare per una settimana. Di solito delimitati da siepi o più spesso da alberi come pioppi bianchi, salici ed olmi, avevano forma rettangolare e una profondità che variava dal metro e mezzo ai due metri, condizione questa che, insieme alla quantità d'acqua e alla natura del terreno in cui il macero era scavato, permetteva una migliore qualità di macerazione della canapa stessa. Il macero era costituito da due sezioni: una più profonda detta *cantina*, di forma quadrangolare e una più alta, trapezoidale, con pareti leggermente inclinate e ricoperte da graticci di legno o vimini o da pietre, sui quali venivano sistemati i fasci di canapa che si affondavano nell'acqua con il peso di grossi sassi. Il macero veniva riempito con acqua completamente nuova poiché il riutilizzo della precedente, ricca di microrganismi prodotti dalla macerazione, avrebbe potuto danneggiare la fibra della canapa.

A macerazione avvenuta, i fusti diventavano bianchi. Si sollevavano i fasci e si lavava la canapa, fascio su fascio, sbattendolo sulla superficie dell'acqua. Dopo tale operazione si procedeva all'estrazione della fibra ed alla sua lavorazione.

Attualmente il processo di macerazione più noto è quello della vinificazione, durante il quale “il mosto viene lasciato a contatto con le vinacce per periodi più o meno lunghi, allo scopo di estrarre dalle vinacce stesse sostanze nobili che incidono in maniera determinante su colore, profumi e sapore del vino prodotto.

Accanto alla macerazione tradizionale che prevede periodi di permanenza sulle bucce variabili a seconda delle uve impiegate e del tipo di vino che si vuole produrre (si va da poche ore a parecchi giorni), esistono tecniche di macerazione particolari applicate per produrre particolari tipologie di vino o per ottenere specifici risultati nel processo di realizzazione del vino. In particolari casi nel processo di macerazione vi è la possibilità che intervengano anche fenomeni di trasformazione microbica e chimica come avviene nel processo di estrazione dell'indaco.

6.2. Applicazione: macerazione carbonica

Consideriamo infine un particolare tipo di macerazione che rappresenta un metodo alternativo a quello tradizionale, la macerazione carbonica.

La matrice è costituita dall'uva, la quale viene lasciata fermentare spontaneamente entro grandi contenitori ermeticamente chiusi nei quali l'aria viene fatta fuoriuscire iniettando CO₂. I grappoli appena vendemmiati e ancora interi, riempiono interamente il contenitore: la parte di uva più in basso, schiacciata dal peso dell'uva soprastante libera mosto che inizia a fermentare, grazie agli enzimi presenti nell'acino d'uva ancora vivo, producendo alcool e anidride carbonica che satura rapidamente l'ambiente. Gli acini intatti dell'uva intera sono costretti a modificare il loro metabolismo, effettuando un tipo di fermentazione intracellulare completamente diversa dalla fermentazione normale. Nel giro di due o tre settimane, a seconda della temperatura di fermentazione che comunque rimane relativamente alta (circa 35 °C), all'interno dell'acino si accumulano circa 2 gradi di alcol i quali inibiscono il processo enzimatico facendo cessare la fermentazione.

Durante la fase della fermentazione intracellulare si formano significative quantità di glicerolo, metanolo, acetato di etile, acetaldeide e una vasta gamma di amminoacidi. Tutte queste sostanze caratterizzano proprio i vini ottenuti mediante la cosiddetta macerazione carbonica.

6.3. Valutazioni

La macerazione costituisce però una fase preliminare di ulteriori tecniche in quanto, oltre a solubilizzare i principi attivi, rammollisce i tessuti facilitando il lavoro di estrazione successivo (attivazione dell'estrazione).

Lo svantaggio principale di questa tecnica di estrazione è costituito dai lunghi tempi richiesti, e dal fatto che, giunti all'equilibrio, la matrice solida non risulta quasi mai completamente estratta; inoltre è poco conveniente estrarre con acqua, in quanto la maggior parte delle sostanze vegetali, contenendo inevitabilmente delle flore microbiche, imputridiscono più rapidamente rispetto al processo estrattivo.

Tabella 2. Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica della macerazione.

Macerazione Processo di estrazione dei principi attivi dalle piante officinali per infusione	
Principio	Osmosi e diffusione dei principi attivi dalla matrice verso il solvente estraente
Tecnologia	Infusori
Pregi	Principi attivi non degradati Estratto stabile nel tempo
Difetti	Estrazione parziale Tempi lunghi

7. Infusione

L'infusione è una tecnica che viene utilizzata per estrarre principi attivi delle parti più delicate di una pianta officinale: fiori, parti erbacee e foglie. L'infuso viene preparato versando sulle parti idonee della pianta tagliata in maniera opportuna dell'acqua bollente (o calda) e lasciando il tutto a contatto per circa quindici minuti. Passato questo periodo di tempo, si procede alla filtrazione e l'infuso è pronto.

Questo tipo di preparazione viene utilizzato per tutte le droghe ricche di componenti volatili, di aromi delicati e di principi attivi che si degradano per l'azione dell'acqua e del calore. Gli infusi si ottengono facendo bollire la quantità di acqua prevista e versandola subito sulla droga sminuzzata posta in un recipiente di ceramica, di terracotta oppure smaltato. Il tempo di contatto influisce sul colore, sul gusto e sull'attività dell'infuso e può essere regolato da ciascuno a seconda dei propri gusti. Si userà solamente miele per dolcificare se occorre, messo nell'infuso unicamente quando la temperatura sarà adatta per poter essere bevuto. L'utilizzazione degli infusi deve essere immediata; eccezionalmente si possono conservare in luogo fresco per qualche ora ed in frigorifero per non più di 24 ore in quanto i principi attivi sono spesso volatili.

7.1. Applicazioni: preparazione del tè

Nella preparazione del tè l'acqua svolge un ruolo fondamentale: essendo l'elemento principale di tale bevanda preparata per infusione, è necessario che risponda a determinate caratteristiche.

L'acqua deve essere di sorgente o di rubinetto, per contenere la maggior concentrazione di ossigeno, non deve essere troppo alcalina per evitare l'ossidazione e la precipitazione dei polifenoli e non deve contenere metalli pesanti quali ferro e rame perché altererebbero il gusto della bevanda. Si deve evitare di portare l'acqua all'ebollizione, ma appena si formano le prime bollicine si versa l'acqua calda sulle foglie di tè disposte precedentemente in un recipiente di porcellana o metallo smaltato. L'infusione può durare da due a dieci minuti a seconda della specie di tè e durante tale periodo le foglie di tè si aprono, rilasciando il loro colore all'acqua e sprigionando l'aroma caratteristico. Le foglie del tè contengono oltre trecento componenti chimici, presenti in quantità variabili in funzione del tipo, zona di produzione, posizione della foglia nella pianta e i processi di lavorazione.

L'estrazione di queste sostanze dipende dalla dimensione della foglia del tè, le qualità chimiche e fisiche dell'acqua, la temperatura dell'acqua e il tempo di infusione. Le prime sostanze a essere estratte dalle foglie di tè, dopo che si è versata l'acqua calda, sono gli alcaloidi — caffeina, teofillina e teobromina — pertanto un tempo di infusione breve restituisce un infuso ricco di queste sostanze e quindi piuttosto eccitante. Con il prolungarsi dell'infusione, in genere dopo quattro minuti e sempre in funzione del tipo di tè, l'estrazione riguarda prevalentemente le catechine, composti con caratteristiche antiossidanti e altre sostanze polifenoliche. Infine, trascorso il tempo desiderato, l'infuso viene filtrato attraverso un colino ed è pronto per essere bevuto.

7.2. Valutazioni

L'inconveniente più comune che si ha nella infusione è la coagulazione delle albumine cellulari, che può far diminuire la permeabilità del solvente. Gli infusi inoltre sono facilmente alterabili, quindi vanno preparati al momento dell'uso (in genere hanno una validità di 1-2 giorni).

8. Percolazione semplice

Per la realizzazione della tecnica di estrazione per percolazione semplice è necessario disporre di un contenitore particolare (percolatore) riempito della matrice in cui possa essere fatto ricircolare il liquido estraente, mediante l'ausilio di una pompa che lo preleva dal fondo e lo immette dall'alto del contenitore. I percolatori sono apparecchi in vetro, ferro smaltato, porcellana o acciaio che possono avere la forma di imbuto basso e largo, di un tubo cilindrico stretto ed alto oppure forme intermedie tra queste. L'uso di un percolatore di una data forma dipende dalla natura della matrice da estrarre: se questa contiene dei principi attivi molto solubili, la risultante soluzione sarà viscosa e quindi discenderà troppo lentamente se il cammino è lungo.

La percolazione comprende le seguenti operazioni fondamentali:

- preparazione della matrice: in genere è necessaria una buona macinazione. Il grado di polverizzazione influenza notevolmente la facilità e il tempo di estrazione;
- umettamento: l'umidificazione preliminare è necessaria in quanto le particelle della matrice da estrarre a contatto con il solvente tendono a rigonfiarsi. In assenza di questa operazione gli spazi interstiziali diminuirebbero e verrebbe così impedito il deflusso regolare del liquido;
- riempimento del percolatore: dopo aver sistemato sul fondo uno strato di cotone e di sabbia, viene aggiunta la matrice in maniera uniforme e compatta;
- macerazione preventiva: ha lo scopo di rammollire i tessuti e di facilitare l'estrazione;
- percolazione: il liquido estraente è addotto alla testa del percolatore, entra in contatto con la matrice solida esercitando su di essa un'azione dinamica di solubilizzazione. Il percolato così formato, dopo filtrazione su cotone o sabbia, fuoriesce dal percolatore e raccolto.

8.1. Applicazioni: preparazione del caffè espresso

La percolazione è un fenomeno che naturalmente può essere osservato in natura essendo determinato dalla lenta infiltrazione di acqua at-

traverso la massa rocciosa costituente la superficie terrestre. Si verifica in terreni e rocce permeabili, attraverso pori, fratture, stratificazioni, e durante il percorso, l'acqua si arricchisce di sali minerali e varia la sua temperatura, purificandosi contemporaneamente dalla carica batterica.

Un'applicazione molto comune di tale metodica è la preparazione del caffè espresso, bevanda ottenuta dalla percolazione di acqua calda sotto pressione attraverso uno strato di caffè tostato, macinato e pressato. Nel passaggio attraverso la polvere di caffè, la pressione dell'acqua si esaurisce e la bevanda fuoriesce a pressione atmosferica.

L'aroma e la fragranza di tale bevanda sono dovuti al fatto che l'acqua non raggiunge il punto di ebollizione, ma la pressione applicata permette l'estrazione dei principi attivi senza alterarli.

8.2. Valutazioni

Lo scorrimento del liquido sul solido dall'alto verso il basso accelera il processo estrattivo, a causa del rimescolamento continuo delle sostanze estratte in tutta la massa di liquido estraente, consentendo inoltre il raggiungimento dell'equilibrio in modo più rapido. Nelle percolazioni semplici non si raggiungono in genere rese estrattive elevate, ma il processo è molto impiegato industrialmente in quanto si riducono i tempi di estrazione. Il fattore tempo per alcune tipologie di lavorazione è fondamentale, tanto da rinunciare allo sfruttamento totale della matrice solida. In compenso le quantità trattate possono essere anche dell'ordine di tonnellate. La percolazione non richiede personale addestrato per svolgere le operazioni. Anche in questo caso la temperatura e/o gli ultrasuoni e le microonde accelerano il processo estrattivo con le stesse attenzioni riservate per la macerazione relativamente alle sostanze termolabili.

8.3. Percolazione continua

In questa tecnica estrattiva si usano più percolatori in serie, in cui si pone la matrice da estrarre, alimentati continuamente in controcorrente da percolati meno ricchi in sostanze estratte, provenienti da diffusori successivi, dove la matrice si trova in uno stato più esausto. Passando da un diffusore all'altro il solvente si arricchirà sempre più dei com-

ponenti estraibili mentre, in senso inverso, la matrice si impoverirà sempre più in soluti. In questo modo sarà garantito in ogni diffusore un gradiente di concentrazione. Ottimizzando i rapporti di imbibizione e di ripartizione, l'operazione di percolazione può avvenire utilizzando una serie di pochi diffusori (5–10).

8.4. Applicazioni: produzione di saccarosio dalle barbabietole

In campo industriale questa tecnica è largamente utilizzata per estrazione con solvente di oli e grassi da matrici lipidiche come semi e frutti oleaginosi, panelli esausti provenienti da processi di spremitura, oppure per isolare saccarosio da fettucce di barbabietola. Un tipico impianto a diffusori in serie controcorrente viene usato proprio per la separazione dello zucchero dalle fettucce di barbabietola

Nella Fig. 1 sono rappresentati 6 diffusori, ma nella pratica possono essere anche più numerosi. I diffusori sono disposti in serie ed in circolo, alimentati da una serie di valvole di intercettazione, che permettono di escludere periodicamente un diffusore dagli altri per le operazioni di scarico delle fettucce esaurite e carico delle fettucce fresche (diffusore 1).

Partendo da sinistra verso destra (diffusori da 2 a 6) i contenitori contengono fettucce sempre più concentrate in zucchero, fino al sesto

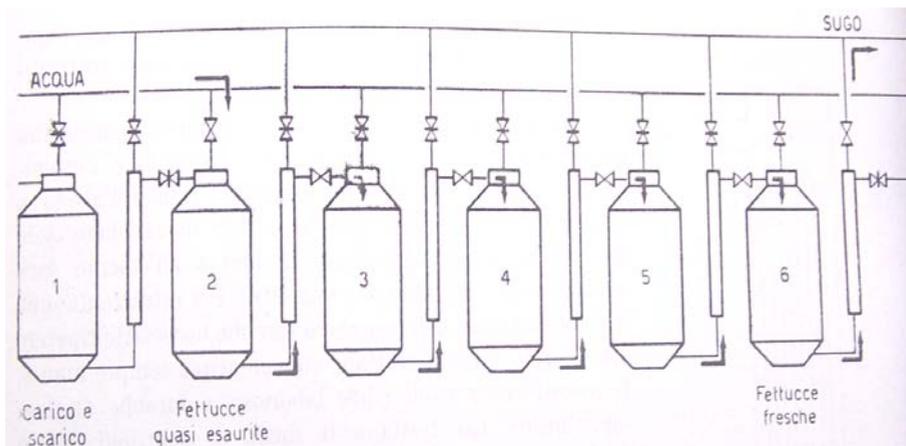


Figura 1. Schema dei diffusori

che contiene fettucce fresche appena caricate. I diffusori sono intercalati da scambiatori di calore, in cui fluisce la soluzione solvente mantenuta calda per accelerare il processo di estrazione. L'acqua entra nel diffusore 2 (testa) alla pressione di circa 1 atm, percorre i vari diffusori (da 2 a 6) ed esce al diffusore 6, coda, sottoforma di sugo. Ogni qual volta si effettua il cambio delle fettucce in un diffusore, il diffusore sulla sinistra diviene quello di coda (fettucce fresche) mentre il contenitore alla destra quello di testa (fettucce esauste).

8.5. Valutazioni

Il sistema permette un risparmio del 40% di acqua, con gran risparmio di manodopera, combustibile (minor trattamenti in concentratori) e maggiore resa in saccarosio.

9. Distillazione in corrente di vapore

La distillazione in corrente di vapore è una metodica di preferenza applicata a sostanze contenenti classi di composti termolabili, perchè ne evita l'alterazione. Il principio di tale tecnica si basa sul fatto che la tensione di vapore di una miscela di due liquidi, tra essi immiscibili, non dipende dal rapporto ponderale dei due liquidi in miscela, ma dalla somma delle singole tensioni di vapore dei liquidi puri. Ognuno dei liquidi, pertanto, si trova in equilibrio col proprio vapore ad una pressione minore di quella alla quale è sottoposta la miscela. Distillando una sostanza termolabile e altobollente in presenza di un liquido con essa immiscibile, si può ottenere l'ebollizione a una temperatura inferiore, determinata da quella temperatura a cui la somma delle pressioni parziali dei fluidi della miscela eguaglia la pressione del sistema. Il fluido ausiliario generalmente è rappresentato dall'acqua sotto forma di vapore, in quanto molto economica, possiede un alto valore del calore latente, e risulta particolarmente adatta per le estrazioni da matrici alimentari.

Il materiale vegetale deve essere opportunamente preparato per ottenere il massimo rendimento nel corso del processo di estrazione (le droghe possono essere contuse prima della distillazione o distillate tal quali, a seconda della matrice da estrarre). La distillazione in corrente

di vapore può essere operata con recipiente metallico costituito da una caldaia (nella parte inferiore), nella quale è posta l'acqua per la generazione del vapore, e da un cestello forato (nella parte superiore), contenente la pianta officinale essiccata, non a contatto con l'acqua. L'apparecchio Fig. 2 deve essere chiuso ermeticamente per non far fuoriuscire i vapori, e deve essere collegato, mediante un raccordo, a un refrigerante raffreddato ad acqua, per la condensazione dei vapori. L'acqua riscaldata evapora, attraversa la droga e trasporta i principi attivi volatili; i vapori attraversano il refrigerante, condensano e sono, infine, raccolti in un recipiente dove si separano dall'acqua per il differente peso specifico.

Questa tecnica è indicata per ricavare oli essenziali da erbe officinali essiccate.

Nel caso in cui si operi per via indiretta, la corrente di vapore riscalda una camicia che è posta esternamente al corpo di distillazione:

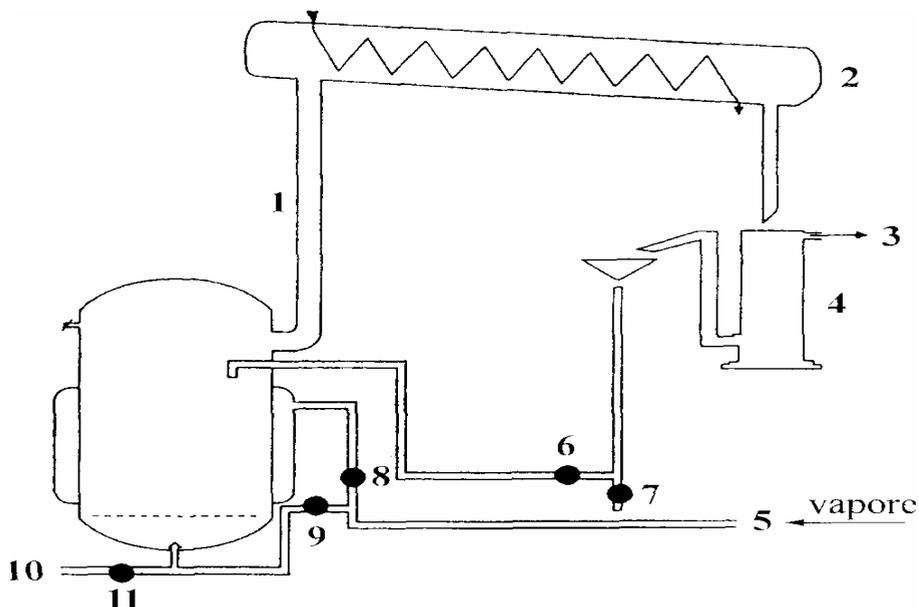


Figura 2. Schema di un distillatore in corrente di vapore diretto (vie 7 e 9 aperte) o indiretto (vie 6 e 8 aperte): 1. colonna; 2. condensatore; 3. recupero dell'olio essenziale; 4. fiorentina; 5. ingresso vapore; 6. 7. 8. 9. 11. valvole; 10. ingresso acqua.

in tal caso il vegetale viene immerso in acqua. Il vapore quindi non investe direttamente il vegetale ma riscalda l'acqua in cui è immerso il vegetale stesso provocando la formazione di vapore. Dopo la fase di condensazione, il distillato acqua/olio essenziale si raccoglie nel sistema a "fiorentina". In tal caso l'acqua separata dal sistema viene recuperata e quindi immessa di nuovo nel corpo di distillazione.

Un sistema di tipo continuo è schematizzato in Fig. 2. Il vapore, anche in tal caso investe il vegetale dal basso verso l'alto, mentre la matrice procede in senso inverso. Il disegno mostra schematicamente il sistema di refrigerazione dell'acqua del condensatore ed il separatore a "fiorentina" per il recupero dell'olio essenziale.

Le parti della pianta fresca o essiccata sono messe in un contenitore chiuso ermeticamente; il vapore in pressione è introdotto nella parte inferiore del contenitore e passa attraverso le parti vegetali per vaporizzare gli oli volatili in esse contenute; la miscela di vapore e olio vaporizzato passa attraverso un condensatore; gli oli essenziali sono estratti dall'acqua aromatizzata alla superficie del separatore mentre l'idrolato viene raccolto nella parte inferiore

L'apparecchio distillatore Fig. 3 deve essere chiuso ermeticamente per non far fuoriuscire i vapori ed è collegato, mediante un raccordo,

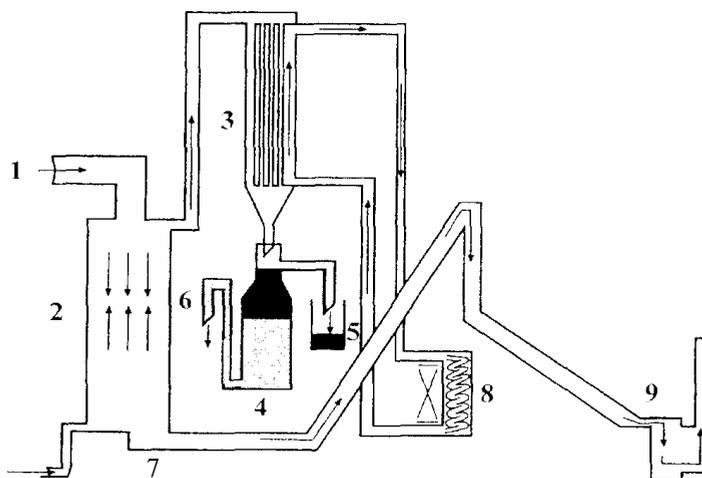


Figura 3. Schema di un distillatore continuo in corrente di vapore: 1. matrice vegetale; 2. alambicco; 3. condensatore; 4. decantatore; 5. recupero dell'olio essenziale; 6. recupero dell'acqua; 7. ingresso vapore; 8. sistema di refrigerazione del condensatore e recupero di calore; 9. scarico matrice esausta.

con un refrigerante raffreddato ad acqua per la condensazione dei vapori. L'acqua, riscaldata evapora ed attraversa la matrice vegetale, provocando l'evaporazione dei principi attivi volatili. I vapori attraversano il refrigerante, condensano e vengono infine raccolti in un recipiente dove si separano dall'acqua per il differente peso specifico.

9.1. Applicazioni: estrazione degli oli essenziali con processi a distillazione in corrente di vapore

La distillazione semplice può essere adottata nel caso degli oli essenziali agrumari di limone, arancia e mandarino, solo per effettuare "recuperi" o "concentrazioni". Gli oli essenziali contenuti in emulsioni stabili o presenti nei residui di trattamento meccanico delle scorze o residuati nelle scorze stesse possono essere "recuperati" per frantumazione, torchiatura e distillazione in corrente di vapore a pressione ridotta. La distillazione si fa avvenire ad una temperatura compresa fra 45 °C–55 °C: la miscela distillata "acqua–olio essenziale" viene fatta separare per gravità in recipienti collettori situati a valle del distillatore (separatori). L'olio essenziale così ottenuto sarà incolore e non conterrà "residuo" non volatile.

Gli oli essenziali agrumari estratti con procedimenti meccanici, quali spugnatura, sfumatura, striatura attraverso l'uso della distillazione possono subire anche un processo di concentrazione e deterpenazione. In tal caso si opera in assenza di acqua e con vuoto spinto e, a seconda della durata della distillazione e delle condizioni di rettifica, si possono ottenere oli più o meno privati di costituenti terpenici nonché concentrati 3–4–5 volte. L'eliminazione dei terpeni non ossigenati migliora le caratteristiche dell'essenza, perché sono i componenti ossigenati a conferire il caratteristico "impatto aromatico" senza contare che l'instabilità degli idrocarburi terpenici e sesquiterpenici è causa ben documentata di alterazioni degli oli essenziali citrici.

La produzione di oli deterpenati si opera in fasi successive (a, b, c) qui descritte brevemente:

- a) si concentra l'olio essenziale a pressione ridottissima (<15 mm Hg) e con colonna di rettifica fino ad un rapporto di peso 10:1 (in gergo si parla di "produzione del decimo"); ciò significa ridurre a 1/10 il peso dell'olio essenziale sottoposto a concentrazione;

- b) ottenuto tale “decimo” si procede all’eliminazione del residuo non volatile: ciò si ottiene per distillazione in corrente di vapore, senza impiego di colonna di rettifica. Si opera quindi la separazione per decantazione fra acqua e olio concentrato;
- c) una concentrazione finale sotto vuoto molto spinto consente di separare “frazioni” con caratteristiche ben definite, deterpenate o anche sesqui-deterpenate.

È tuttavia praticamente impossibile realizzare una completa eliminazione degli idrocarburi terpenici o sesquiterpenici senza realizzare una contemporanea eliminazione di parte dei componenti ossigenati. Ciò è dovuto al fatto che alcuni componenti ossigenati hanno punti di ebollizione più bassi dei punti di ebollizione degli idrocarburi terpenici. L’allontanamento dei terpeni offre allo stesso tempo alcuni svantaggi, come la perdita di alcune frazioni molto volatili a cui è affidato il tono “fresco” e caratteristico degli oli essenziali e la possibilità che scaturiscano processi di formazione di artefatti (idrolisi di esteri). L’isolamento di oli essenziali da erbe aromatiche, per ragioni legate ai caratteri costitutivi delle matrici vegetali stesse, deve avvenire comunque con processi che implicano l’impiego di apparecchiature di distillazione.

9.2. Valutazioni

Nonostante i suoi numerosi vantaggi, la distillazione in corrente di vapore non può essere utilizzabile per tutte le classi di composti organici in quanto le temperature raggiunte nel trattamento possono essere comunque critiche per l’integrità di alcune molecole. Tale tecnica è utile per l’estrazione dei principi attivi da numerose piante aromatiche (Anice, Cannella, Origano, Garofano, Lavanda, Issopo, Geranio, Menta, Basilico, Rosmarino, Timo, Salvia, Sandalo, Ylang-Ylang, Finocchio, Cipresso, Ginepro, ecc.), che contengono oli essenziali scarsamente solubili in acqua e per altri costituenti che non sono decomposti dal calore.

Prima della distillazione il materiale vegetale deve essere convenientemente lavorato per ottenere il massimo rendimento nel corso del processo di estrazione. Gli oli essenziali delle droghe sono contenuti in tasche o canali secretori che vanno finemente contuse, così da facilitare il processo di diffusione dell’olio essenziale, e distillate subito

Tabella 3. Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica della distillazione in corrente di vapore.

Distillazione in corrente di vapore Estrazione per tensione di vapore e trasporto	
Principio	Tensione di vapore e trasporto
Tecnologia	Generatore di vapore e distillatore
Pregi	Estrazione completa Tempi brevi
Difetti	Estratto altamente degradato

dopo, onde evitare le trasformazioni secondarie (innescate da reazioni di ossidazione, ecc.) ed una perdita del prodotto per evaporazione. Al contrario, se l'olio essenziale è contenuto nei peli ghiandolari superficiali, come si verifica nella Lavanda, nella Menta e nella Salvia, le rese più elevate si ottengono distillando la droga integra.

10. Apparecchio di Soxhlet

Il metodo Soxhlet (Fig. 4) viene utilizzato per estrarre a caldo matrici vegetali con solventi organici volatili attraverso un processo simile alla percolazione, ma più efficiente e più veloce.

Il vantaggio principale di questo apparecchio consiste nell'impiego di una minima quantità di solvente, grazie ad una sua continua purificazione e distillazione dopo ogni passaggio effettuato attraverso la matrice.

Il materiale da estrarre viene posto in un ditale poroso sistemato nella "camera di estrazione", collocata su di un pallone da distillazione in cui viene messo il solvente da riscaldare. Appena il liquido bolle i suoi vapori salgono lungo un tubo laterale sino al refrigerante montato sopra l'estrattore. Il liquido ottenuto dalla condensazione di detti vapori cadrà goccia a goccia nella camera di estrazione attraversando il materiale contenuto nel ditale, riempiendola fino a raggiungere il gomito del sifone posto lateralmente. A questo punto, per effetto del suo peso, il liquido percolato viene risucchiato nel pallone sottostante, da dove viene nuovamente distillato.

Il ciclo sopra descritto si ripete più volte finché l'estrazione si considera completa: in questo modo è possibile estrarre tutto il materiale

solubile dalla matrice utilizzando sempre lo stesso volume di solvente caricato in precedenza nella caldaia, rinnovato continuamente dal processo di distillazione.

Sembra superfluo ricordare che il Soxhlet e apparecchiature simili non possono essere utilizzate per l'estrazione di matrici che contengono principi attivi termolabili.

Per diminuire ulteriormente i tempi di estrazione, in campo industriale e nei laboratori alimentari vengono utilizzate batterie di più Soxhlet posti in serie in cui il sifonato del primo apparecchio alimenta direttamente la caldaia del secondo e così via, realizzando una serie di cicli in contemporanea.

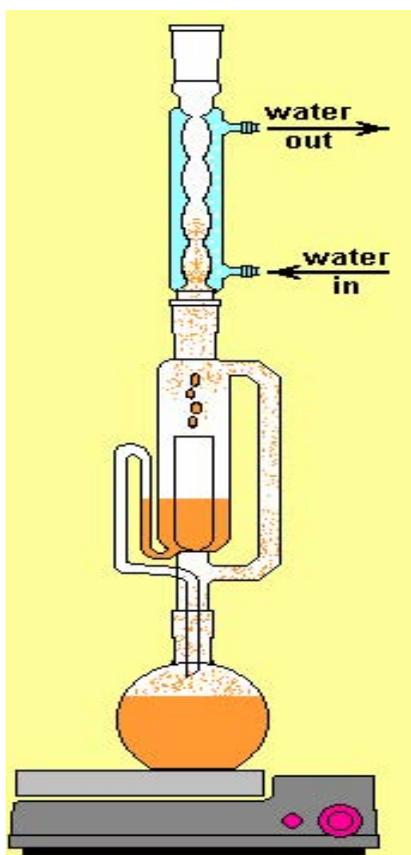


Figura 4. Soxhlet

Attualmente sono in commercio sistemi Soxhlet parzialmente automatizzati, detti sistemi Randall, che combinano l'ebollizione a riflusso con l'estrazione consentendo di diminuire i tempi di estrazione ed inoltre di recuperare il solvente evaporato. Il ditale di cellulosa contenente il campione, per favorire la dissoluzione immediata dei componenti estraibili è immerso nel solvente in ebollizione, che, come in un normale Soxhlet, viene fatto passare attraverso la matrice e continuando ad evaporare e a condensare, completa l'estrazione "a caldo". Successivamente il ditale viene sospeso estraendolo dal recipiente contenente il solvente, che viene evaporato in leggera depressione mediante aspirazione con pompa ottenendo l'estratto secco o un volume ridotto.

La differenza sostanziale con i tradizionali Soxhlet è che il solvente passa in continuo attraverso il contenitore del campione, senza essere sifonato. Con tale tecnica si può recuperare fino al 70% del solvente, che dunque può essere riutilizzato in successive estrazioni, con notevoli vantaggi economici e ambientali. Rispetto ai tradizionali Soxhlet si ha un notevole risparmio di tempo di un fattore di ordine 5–10, nonché un guadagno in termini di ripetibilità e sicurezza, perché tutto il sistema è controllato da un microprocessore attraverso appropriate sonde di temperatura, in accordo con le norme internazionali di sicurezza IP55. Il sistema di controllo permette di operare con solventi con punti di ebollizione fino a 150 °C: tutte le quattro fasi (estrazione, lavaggio, immissione del gas e riduzione del volume, sostituzione del campione e recupero del solvente) vengono gestite automaticamente. In questo modo, con un unico sistema, si può ottenere la riduzione di volume, evitando così il passaggio con evaporatore rotante, mediante l'immissione di un gas inerte.

Vi è anche in commercio un estrattore basato su un principio simile al Soxhlet, ma con alcune importanti peculiarità: tra il blocco riscaldante contenente il solvente ed il campione contenuto nell'estrattore superiore, viene posto un filtro a membrana in PTFE. In questo modo i vapori del solvente passano attraverso il campione prima di condensare e ricadono poi sempre attraverso il campione. Si ottiene così un'estrazione a caldo solido–fluido a letto continuo. Il particolare sistema di raffreddamento adottato crea automaticamente una depressione al termine dei cicli di estrazione, permettendo quindi una filtrazione automatica del campione.

10.1. Applicazioni: estrazione di microinquinanti organici e grassi da matrici solide. Confronto tra i sistemi Soxhlet e Randall

A causa della loro persistenza e tossicità, con effetti anche cancerogeni, i policlorodifenili (PCB) in questi ultimi anni sono stati oggetto di un assiduo monitoraggio volto ad individuarne la presenza ed il comportamento nell'ambiente a causa della loro elevata persistenza ed elevata lipofilicità, per cui tendono ad accumularsi nelle reti trofiche per esplicare effetti ecologici devastanti su alcune specie particolarmente sensibili. Lipidi animali, sedimenti e suoli sono i siti preferenziali di accumulo di microinquinanti persistenti poco solubili in acqua.

Queste matrici vengono quindi monitorate frequentemente in ambienti acquatici e terrestri per valutare il livello di rischio associato alla loro presenza. Risulta di rilevante importanza sviluppare metodiche di laboratorio con le quali determinare con precisione la presenza delle molecole di sintesi nell'ambiente e seguire l'evoluzione temporale e la distribuzione spaziale di questa forma di inquinamento.

L'estrazione di grassi e di sostanze accumulabili da matrici solide viene inoltre eseguita ordinariamente nei laboratori di controllo su alimenti e rifiuti industriali dal momento che l'ambiente e specialmente i cibi sono veicoli di trasmissione all'uomo di questi inquinanti. I PCB sono una classe di idrocarburi aromatici clorurati utilizzati in passato in grosse quantità come fluidi dielettrici, e per i quali sono in atto misure legislative per ridurre i livelli di contaminazione ambientale. È teoricamente possibile l'esistenza di 209 congeneri diversi di PCB, anche se non tutti sono stati identificati e solo un centinaio è stato utilizzato nell'industria sotto forma di miscele commerciali. La persistenza e la bioaccumulabilità di questi composti cresce al crescere del numero di atomi di cloro presenti sui due anelli, mentre la tossicità dipende dalla posizione dei sostituenti; è di fondamentale importanza quindi determinare con esattezza la concentrazione dei singoli congeneri.

La determinazione dei policlorobifenili consta di tre fasi distinte: l'estrazione, la purificazione e l'analisi gas-cromatografica. Durante l'estrazione si procede a separare nel campione i PCB accumulati nella matrice organica. Lo scopo della purificazione è quello di ricavare dall'estratto una soluzione il più possibile priva di impurità che possono interferire nella successiva analisi gas-cromatografica tramite la quale

vengono quantificati i singoli congeneri di PCB. Per i PCB esistono materiali di riferimento disponibili presso il BCR (Community Bureau of Reference) che sono stati certificati in seguito alle analisi di 18 diversi laboratori, ognuno con le proprie metodiche. Uno stesso campione di sedimento certificato è stato sottoposto a tecniche di estrazione con estrattore Soxhlet e con estrattore a caldo mod. SER 148 della Velp.

Come solvente di estrazione è stata usata una miscela acetone/esano, per lo più al 50%, in alcuni casi con più alte percentuali di esano. Per la fase di purificazione, nella maggior parte dei casi si è effettuata l'idrolisi del materiale organico con idrossido di potassio e metanolo, purificando in seguito i campioni con allumina o gel di silice. Tutte le analisi, infine, sono state effettuate impiegando gas-cromatografia con colonna capillare e rivelatore a cattura di elettroni. Il primo è un apparecchio tradizionale le cui capacità estrattive sono già state dimostrate. Lo strumento è formato da una serie di unità uguali (fino a 8 elementi) ciascuna delle quali è costituita da una camicia riscaldante a temperatura regolabile che, a contatto con un pallone di vetro, fa evaporare il solvente ivi contenuto. Il vapore si trasferisce in una struttura di vetro sovrastante contenente il campione da analizzare (inserito in ditali di cellulosa) e dotato di una serpentina di vetro in cui scorre l'acqua di raffreddamento. Il vapore condensa sulla serpentina e si accumula sul fondo del recipiente fino ad una certa altezza oltre la quale ritorna nel pallone sottostante trasportando le sostanze estratte.

L'estrattore a caldo SER 148, invece, è un'apparecchiatura di dimensioni più contenute, controllato da un microprocessore con 2 sonde di temperatura Pt 100, ed in accordo con le norme di sicurezza internazionali IP 55. Per effettuare l'estrazione viene sfruttato il sistema Randall: il ditale di cellulosa contenente il campione è immerso nel solvente in ebollizione che, continuando ad evaporare e a condensare, esegue l'estrazione "a caldo". Successivamente il ditale viene sospeso estraendolo dal recipiente contenente il solvente che viene raccolto nel condensatore ed utilizzato per il lavaggio finale del campione. Infine, tutto o parte del solvente viene evaporato in leggera depressione mediante aspirazione con pompa ottenendo l'estratto secco od in piccolo volume di solvente.

Un campione di tessuto muscolare di trota è stato pesato e suddiviso in sei aliquote di 2 g ciascuna. Si è proceduto quindi all'estrazione dei

Tabella 4. Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica di Soxhlet.

Soxhlet Estrazione a ricadere del solvente	
Principio	Diffusione ed osmosi
Tecnologia	Impaccamento del materiale in colonne e riscaldamento del solvente
Pregi	Volumi minimi di solvente utilizzato Estrazione esauriente
Difetti	Estratto degradato Tempi lunghi

lipidi utilizzando per due sub-campioni l'estrattore Soxhlet e per i rimanenti l'estrattore SER 148. In entrambi i casi sono stati utilizzati 100 ml di n-esano come solvente. I tempi di estrazione sono stati di 330 minuti con l'estrattore Soxhlet e di 90 minuti con l'estrattore SER 148.

Dai sei estratti è stato fatto evaporare il solvente prima con l'evaporatore rotante e poi, dopo aver trasportato i campioni in piccoli matracci di vetro, sotto flusso di azoto fino a peso costante. Si è infine proceduto alla misurazione del peso dei lipidi ed al calcolo delle percentuali rispetto al peso del liofilizzato.

Dalla analisi dei risultati si può notare la sostanziale equivalenza dei due sistemi utilizzati (la piccola differenza a favore del Soxhlet, per quanto riguarda i valori ottenuti, può essere facilmente bilanciata considerando la maggiore velocità operativa del sistema. SER 148).

10.2. Valutazioni

In entrambe tali esperienze è stato osservato che le capacità estrattive del sistema SER 148 sono decisamente superiori a quelle del sistema Soxhlet nel caso in cui si utilizzi n-esano come solvente per l'estrazione dei PCB. Probabilmente ciò è dovuto al fatto che il numero di ricicli di solvente in 6 ore di esercizio non è sufficiente a completare l'estrazione. D'altra parte prolungare i tempi comporta una notevole riduzione nel numero di campioni che possono essere analizzati.

La miscela di solvente n-esano-acetone consente di ottenere recuperi simili con i due sistemi di estrazione e paragonabili a quelli ottenuti con n-esano utilizzando l'estrattore SER 148. Apparentemente

alcuni congeneri mostrano un recupero superiore con uno dei due sistemi. Poiché tali differenze sono di leggera entità e sembrano del tutto casuali si ritiene che tale variabilità sia da imputare alle determinazioni analitiche.

È stato utilizzato come solvente anche il toluene che estrae in modo altrettanto efficiente ma richiede temperature più elevate che possono alterare la composizione della matrice organica. Questo potrebbe generare inconvenienti qualora fosse necessario quantificare i lipidi estratti dai tessuti o la sostanza organica estratta dai sedimenti.

Verosimilmente, dato l'elevato potere solvente dell'acetone, la miscela acetone-esano è in grado di accorciare i tempi di estrazione e di migliorare i rendimenti. Inoltre essa dovrebbe consentire di recuperare anche altri composti più polari come pesticidi clorurati ed idrocarburi policiclici aromatici. Il sistema di estrazione a caldo consente, in ogni caso, un notevole risparmio di tempo rispetto al più tradizionale sistema Soxhlet, sia in fase di estrazione, sia in fase di evaporazione del solvente. Per quanto riguarda i consumi energetici, il sistema riscaldante per il Soxhlet utilizzato ha un consumo orario di circa 0,2 kW, paragonabile a quello del sistema SER 148; se però si calcola il consumo effettivo per un'analisi completa, il consumo del Soxhlet sale a circa 1,2 kW, mentre quello del SER 148 arriva a circa 0,4 kW, con un evidente risparmio di energia oltre che di tempo.

11. Fluidi supercritici

L'estrazione con fluidi supercritici è una tecnologia estrattiva solido-liquido recente e molto complessa. La tecnica si basa sulla possibilità di poter utilizzare come solvente estrattivo un fluido (in genere l'anidride carbonica) con proprietà intermedie tra quelle dei gas e dei liquidi. Attraverso modeste variazioni di temperatura o pressione si possono infatti modulare in un ampio range le proprietà dei gas e utilizzare la loro "criticità" per controllare il comportamento di fase nei processi di separazione (SCF, estrazione). In pratica, al di sopra della temperatura critica, è possibile regolare continuamente la solubilità del fluido in un ampio intervallo, o con un piccolo cambiamento di pressione isothermico o con un piccolo cambiamento isobarico di tem-

peratura. Questa possibilità di regolare il potere solvente di un fluido supercritico è la caratteristica principale su cui si basano i sistemi estrattivi SCF, potendo essere usata per estrarre e poi recuperare in maniera efficiente i prodotti selezionati.

Il diagramma di stato del biossido di carbonio (Fig. 5), visualizza le varie fasi (solido, liquido, vapore) in funzione della pressione e della temperatura. Alla temperatura di 37,7 °C e pressione di 68 atm corrisponde il punto critico del biossido di carbonio, in cui non c'è distinzione fra fase vapore e fase liquida. Aumentando la temperatura a pressione costante (68 atm), o anche, aumentando la pressione a temperatura costante (37,7 °C) si individuano due semirette, rispettivamente parallele all'asse delle temperature ed a quello delle pressioni, che definiscono la zona in cui si ha lo stato supercritico. All'interno di questo stato, le possibili combinazioni di pressione e temperatura variano il potere solvente del biossido di carbonio.

I fluidi supercritici hanno densità, viscosità ed altre proprietà che sono intermedie tra quelle della sostanza allo stato gassoso e allo stato

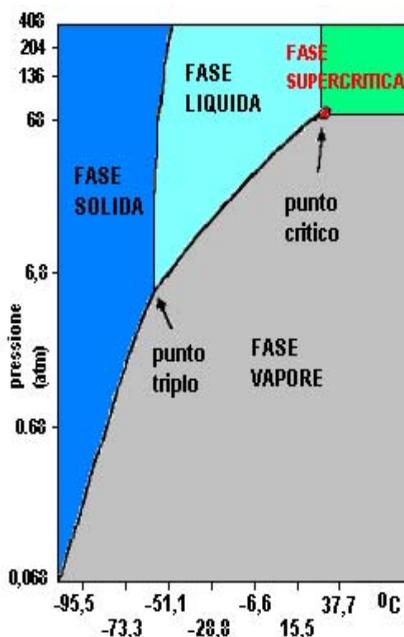


Figura 5. Diagramma di fase per CO₂

liquido. Un'importante proprietà dei fluidi supercritici, che è correlata alle loro elevate densità (da 0,2 a 0,5 g/cm³), è la notevole capacità di solvatare molecole grandi e non volatili. Per esempio il biossido di carbonio supercritico scioglie facilmente n-alcanti che contengono da 5 a più di 30 atomi di carbonio; n-alcil ftalati in cui i gruppi alchilici contengono da 4 a 16 atomi di carbonio; vari idrocarburi policiclici aromatici costituiti da molti anelli condensati.

Un apparecchio per SFE (Supercritical Fluid Extraction) è costituito essenzialmente dalle seguenti parti: un erogatore di CO₂ e dei modificanti, una pompa, la cella di estrazione, il restrittore, il sistema di raccolta dell'analita estratto. Lo strumento può essere dotato di auto-campionatore, sia per l'introduzione che per la raccolta degli estratti.

Il parametro critico in SFE è il volume totale di fluido supercritico che passa attraverso la camera di estrazione. La pompa deve essere in grado di erogare volumi riproducibili a flusso costante ed elevate pressioni. In SFE si utilizzano sia le pompe alternative che quelle a siringa: entrambe devono essere in grado di fornire il fluido ad un flusso costante tra 0,5 e 4 ml/min. Il vantaggio delle pompe a siringa è la capacità di mantenere una pressione costante anche se vi sono variazioni di flusso. Le pompe alternanti devono invece ripressurizzare ad ogni mandata del pistone.

Vi sono pompe a siringa per volumi fino a 260 ml, con pressioni di esercizio fino a 7500 psi. Con le nuove pompe a siringa, con raffreddamento a camicia d'acqua, è possibile utilizzare CO₂ direttamente da bombole, senza pressurizzazioni con elio che ne riducono la densità. Esse possono lavorare a pressione costante o a flusso costante. Si può avere un campo di lavoro a flussi ridotti, a livello di microlitri al minuto, accoppiando direttamente ad un gascromatografo o SFC, fino a 10–20 ml/min per raccolte off-line rapide. La possibilità di utilizzare più pompe contemporaneamente rende il sistema assai versatile: la seconda pompa può essere infatti utilizzata sia per mantenere flussi elevati senza la sosta per il riempimento, sia per l'aggiunta del modificante. Utilizzando una terza pompa si può avere un flusso ininterrotto, con aggiunta continua del modificante.

La cella di estrazione può essere molto semplice, ad esempio un tubo di acciaio con chiusura a pressione, oppure molto complessa con sistemi di chiusura filettati autosigillanti. La cella deve sopportare le pressioni

generate dalla pompa e deve essere anche inerte. Le pressioni di esercizio arrivano fino a 150 atm. La maggior parte dei campioni ha una massa inferiore a 10 g: tale quantità viene scelta per eseguire l'analisi sia evitando un volume eccessivo di fluido supercritico ai fini di un'estrazione quantitativa, sia per operare su di una quantità che sia rappresentativa del campione in esame e permetta di determinare elementi presenti anche in tracce. Le dimensioni delle celle di estrazione commerciali vanno da 50 ml a 100 ml. In genere la quantità di fluido necessaria per un'estrazione è di almeno tre volte il volume della cella di estrazione. La cella di estrazione è posta di solito in una camera termostata, perché la temperatura è correlata alla densità del fluido supercritico e quindi al suo potere solvente. Si può ottenere la termostatazione mediante un forno a circolazione d'aria, oppure mediante un blocco riscaldante che permette un controllo più rapido ed efficiente del riscaldamento-raffreddamento. La capacità di controllare la densità, la composizione del fluido e la temperatura danno la possibilità di frazionare selettivamente il campione. La raccolta in frazioni distinte di diverse classi di analiti per variazioni discrete di potere solvente è detta programmazione di densità o "density stepping". La diffusione di questa tecnica nelle metodiche analitiche è infatti legata non tanto all'efficienza totale nel recupero, ma alla sua selettività e al minor tempo di operazione. Una volta che si sono raggiunte condizioni ottimali di estrazione, aumentando il flusso è possibile diminuire il tempo totale di analisi: questo risultato può essere ottenuto anche aggiungendo mediante una pompa ausiliaria un opportuno modificante (metanolo, acetone etc.) che ha lo scopo di aumentare la polarità del fluido. La maggior parte delle separazioni in SFE richiedono 20–30 min. Le estrazioni possono essere effettuate nel modo statico, dinamico o a ciclo chiuso. Nel modo statico la cella di estrazione viene posta sotto pressione con il fluido supercritico per un certo tempo, in modo che si stabilisca l'equilibrio prima di procedere alla raccolta dell'analita estratto.

Nel modo dinamico si fa passare in continuo il fluido supercritico nella cella di estrazione e l'estratto viene raccolto in continuo. La direzione preferenziale del flusso è dal basso verso l'alto, per mantenere il campione come letto statico, anche in caso di mancato riempimento completo della cella, il che consente di porre il campione su un letto di materiale assorbente (come il solfato di magnesio), per prevenire la co-estrazione dell'acqua.

Nel ciclo chiuso lo stesso fluido viene pompato più volte attraverso il campione: dopo un certo tempo viene dirottato al sistema di raccolta.

Non vi sono studi sistematici sui tre diversi modi operativi, ma sembra che il modo dinamico sia da preferire, anche se è il più dispendioso, in quanto passa fluido sempre fresco attraverso il campione.

Un modo semplice alternativo di utilizzare il modificante, senza avere a disposizione una pompa ausiliaria, è di aggiungerlo direttamente nella cella di estrazione; ciò è possibile però solo nel modo statico o a ciclo chiuso.

Per mantenere il fluido allo stato supercritico nella cella di estrazione è necessario adottare a valle della cella un restrittore. Si possono utilizzare restrittori fissi consistenti in capillari che forniscono l'opportuna contropressione in funzione del diametro e della lunghezza. L'uso di restrittori fissi, però, impone di avere a disposizione un numero elevato di restrittori da sostituire tra un'estrazione e l'altra, per essere in grado di variare la pressione del sistema mantenendo un flusso costante. Sono ancora diffusi come restrittori per il loro basso costo i capillari in silice fusa (in genere con diametro esterno da 0,375 mm e interno da 20 a 50 micron). Il problema principale è quello che tendono a fratturarsi quando vengono esposti a CO₂ supercritica modificata con un solvente polare come il metanolo. Si è adottata allora la soluzione di inserire un capillare di vetro in un tubo di acciaio scaldato a 240°C. Questa elevata temperatura richiede l'utilizzo di una linea ulteriore di trasferimento alla zona di raccolta in vetro, dove però tende a depositarsi il materiale estratto. Sono stati proposti anche capillari in acciaio che possono essere utilizzati con tutti i modificanti, ma solo per campioni con basso contenuto di umidità. Essi sono disponibili per flussi di 1, 1,5, 2, 10 e 20 ml/min a 5000 psi.

Per evitare il raffreddamento dovuto all'espansione della CO₂ si possono adottare sistemi di riscaldamento ad aria o acqua.

Un primo tipo di restrittori è costituito da capillari in acciaio riscaldati in modo coassiale lungo l'intera lunghezza mediante il passaggio di corrente regolata da un circuito di retroazione: questo tipo può essere utilizzato per un campo più vasto di applicazioni.

Un secondo tipo di restrittori utilizza valvole a spillo regolabili manualmente. Quando si utilizzano questi dispositivi la pompa opera a pressione costante, mentre il flusso viene regolato manualmente con la valvo-

la. Tale tipo di valvole è soggetto a problemi di occlusioni per il deposito dell'eluato dopo l'espansione del gas. Per minimizzare questi depositi e le fluttuazioni del flusso dovute al raffreddamento dopo l'espansione del gas, si devono adottare sistemi di riscaldamento e materiali adatti.

È disponibile un sistema costituito da un orifizio, regolato manualmente con una valvola a spillo, posto dopo un restrittore fisso costituito da un capillare con riscaldamento coassiale, che limita i problemi dovuti ai depositi. Sono stati introdotti restrittori variabili mediante i quali è possibile regolare la pressione indipendentemente dal flusso, variando automaticamente le dimensioni di un orifizio mediante una valvola a spillo. In un caso si regola il flusso nel sistema con una pompa alternativa, mentre si controlla la pressione mediante un restrittore variabile con un circuito di retroazione automatico. Nel secondo dispositivo si adotta una pompa a siringa con controllo di pressione, mentre si regola il flusso a livello del restrittore costituito da acciaio riscaldato. Quando il fluido supercritico passa attraverso il restrittore, si ha l'espansione del fluido, che può trasformarsi in gas, come nel caso del biossido di carbonio.

L'analita può essere raccolto con un sistema off-line oppure on-line (Fig. 6). Nei sistemi on-line l'analita viene concentrato direttamente in testa ad un sistema di analisi GC, SFC o HPLC.

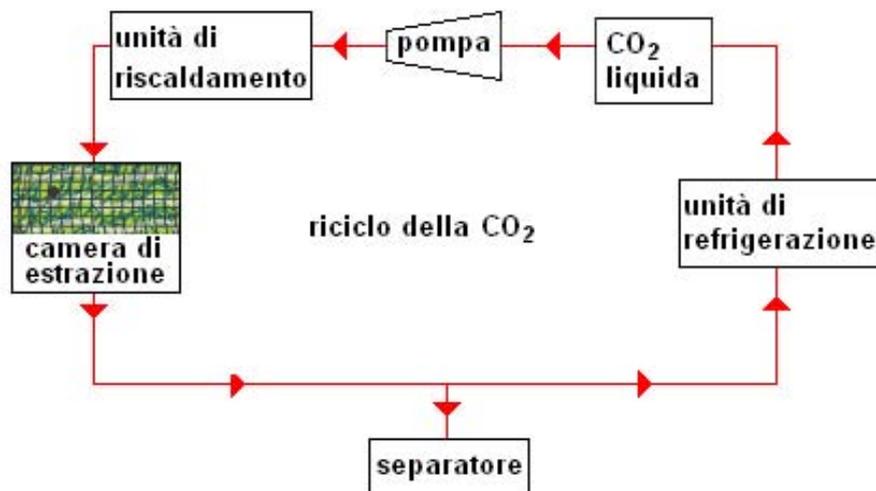


Figura 6. Ciclo per il recupero dell'anidride carbonica

Nel caso di un accoppiamento SFE–SFC o SFE–GC il campione viene crioconcentrato in testa alla colonna capillare a -50°C dopo aver eseguito l'evaporazione del fluido supercritico. Con un metodo di riscaldamento balistico (fino a 200°C) viene poi trasferito direttamente nella colonna di analisi. Questo approccio, benché di grande efficacia dal punto di vista della sensibilità e riproducibilità, ha lo svantaggio di operare su un solo campione alla volta. Inoltre, il medesimo campione estratto non può essere analizzato con metodi diversi. Sono attualmente disponibili in commercio sistemi accoppiati SFE–FTIR, che utilizzano delle speciali celle IR ad alta pressione che possono essere montate sulle diverse marche di spettrometri.

Speciali celle sono disponibili anche per accoppiamenti con diode array, spettrometri UV–VIS e rivelatori a dicroismo circolare. In qualche caso vi è anche la possibilità di accoppiare il sistema SFE in flusso a rivelatori come FID, MS, ed anche a rivelatori evaporativi a diffusione di luce.

Nella raccolta off–line l'effluente, dopo essere stato portato a pressione ambiente, viene raccolto direttamente in solvente, in contenitore aperto, oppure adsorbito su un supporto solido di intrappolamento quali le colonnine usate in SPE (estrazione in fase solida), senza alcuna limitazione nel tipo di materiale adsorbente o di supporto. I sistemi off–line sono più semplici e il campione raccolto può essere suddiviso e sottoposto a più analisi anche con metodi diversi.

Se, inoltre si utilizzano adsorbenti solidi, l'uso di miscele diverse di solventi per l'eluizione aumenta la possibilità di purificare e frazionare selettivamente il campione. La condensazione diretta in contenitori aperti è invece sconsigliabile, in quanto nella fase di depressurizzazione si possono formare aerosol con perdite di analita.

La raccolta diretta nel solvente ha invece alcuni vantaggi: il campione risulta già pronto per essere soggetto alla successiva analisi; è inoltre il sistema più efficace di raccolta per composti molto polari, specie nel caso in cui si utilizzino modificanti polari, che potrebbero avere un effetto di trascinarsi sull'analita concentrato su un adsorbente solido. La raccolta diretta in solvente limita il tipo di restrittore utilizzabile: i restrittori fissi costituiti da capillari sono i più adatti in quanto possono pescare direttamente nel solvente, mentre i restrittori riscaldati possono essere utilizzati solo aggiungendo una linea di trasferimento fredda, nella quale si

possono però avere depositi con conseguenti ripercussioni negative sull'accuratezza e l'assenza di interferenti.

L'automazione, che rende la SFE adatta per le analisi di routine, è uno dei maggiori vantaggi di questa tecnica di estrazione. Sono commercializzati dei sistemi automatizzati (estrattori simultanei) in grado di estrarre più di un campione alla volta; in questo caso si possono caricare pochi campioni alla volta (8 o 9). Nel caso degli estrattori sequenziali, invece, si estrae un campione dopo l'altro in modo seriale; in questo caso si possono caricare molti più campioni (fino a 50) rendendoli ideali per l'utilizzo durante la notte. Gli estrattori sequenziali presentano una maggior flessibilità, poiché si possono programmare metodi differenti per ogni campione.

Il processo estrattivo avviene dunque immettendo sotto pressione in un sistema chiuso l'anidride carbonica, che può essere immagazzinata sia in fase gassosa che liquida. Mediante l'utilizzo di una pompa e di un riscaldatore, vengono raggiunti determinati valori di pressione e di temperatura per i quali la CO_2 assume lo stato di fluido supercritico, avente caratteristiche chimico-fisiche molto simili al n-esano (l'estrazione è dunque preferita per i composti non particolarmente polari).

Il solvente circola poi attraverso una camera d'estrazione (autoclave) ad una pressione relativamente alta per estrarre i componenti di interesse dalla matrice esaminata. I prodotti uscenti dall'estrattore sono poi inviati a un separatore dove vengono sottoposti a depressurizzazione. L'abbassamento della pressione determina la transizione della CO_2 supercritica alla fase gassosa, separandosi così dall'estratto che viene abbattuto in fase liquida o solida in torri a pioggia oppure in un separatore gravitazionale e convogliato all'esterno, dove verrà poi recuperato. La CO_2 invece passa ad una unità refrigerante dove viene condensata e purificata in separatori ciclonici e rimessa in circolo o rimandata ai serbatoi.

11.1. Applicazioni: processo industriale basato sulla CO_2 supercritica

Lo schema riportato in Fig. 6 mostra i componenti fondamentali che costituiscono un sistema di estrazione a CO_2 supercritica e il relativo impianto di riciclo. Il biossido di carbonio, che può essere immagazzinato sia in fase gassosa che liquida, viene compresso mediante

una pompa al di sopra della sua pressione critica e riscaldato in un riscaldatore, o in una camera detergente. Tutte le parti della camera di pulizia sono pulite dall'esposizione alla CO₂ supercritica. Tipicamente la camera di pulizia include un agitatore per accelerare il processo. Il solvente circola poi attraverso una camera d'estrazione (autoclave) ad una pressione relativamente alta per estrarre i componenti di interesse dalla matrice generalmente di natura alimentare.

I prodotti uscenti dall'estrattore sono poi inviati a un separatore dove vengono sottoposti a depressurizzazione. L'abbassamento della pressione determina la transizione della CO₂ supercritica alla fase gassosa, che si separa dall'estratto, il quale viene poi inviato, in fase liquida o solida, in torri a pioggia o in un separatore gravitazionale e, infine, recuperato.

L'anidride carbonica, invece, passa ad una unità refrigerante dove viene condensata e purificata in separatori ciclonici e rimessa in circolo o immagazzinata in serbatoi.

Questo ciclo chiuso per il recupero della CO₂ risulta vantaggioso perché solo una piccola parte di essa deve essere aggiunta per compensare le perdite del sistema.

Le parti pulite possono essere rimosse dalla camera e sono pronte per la fase successiva del processo di lavorazione, dal momento che non è richiesta alcuna procedura di essiccazione e risciacquo.

Attualmente l'anidride carbonica in fase supercritica viene impiegata per diversi processi industriali come la decaffeinizzazione del caffè, la rimozione della nicotina dal tabacco, l'estrazione di oli da semi, estrazione da alimenti e da prodotti farmaceutici, estratti aromatici dalle infiorescenze e colesterolo e grassi dalle uova.

Tale tecnica si è dimostrata efficace anche nella estrazione di classi di sostanze che necessitano di particolare attenzione o che sono presenti in piccole concentrazioni essendo caratterizzanti di un determinato campione alimentare.

Utilizzando l'anidride carbonica in fase supercritica, modificata con il 15% di etanolo alla pressione di 95 bar ed a 58,6 °C, è stata evidenziata la più alta resa di naringina, il principale flavonoide presente nelle bucce del genere Citrus, rispetto alle tecniche tradizionali quali macerazione, estrazione con Soxhlet.

Particolarmente efficiente risulta tale metodica applicata all'estrazione di olio dai semi di alcune piante.

L'estrazione di olio dalle mandorle con CO₂ supercritica veniva eseguita a 50 °C ed alla pressione di 330 bar su tre campioni di mandorle; mandorla intera, mandorla sbucciata e mandorla tostata. Si ottenevano tre differenti tipi di oli con percentuale variabile dal 15–16% al 27–33% al 49–64% benché nessuna sostanziale variazione venisse osservata nel contenuto in acidi grassi tra campioni freschi e parzialmente sgrassati, l'analisi dei carboidrati su questi ultimi campioni rivelava importanti variazioni dei polisaccaridi delle pareti cellulari delle mandorle. Pertanto, ad una bassa percentuale estrattiva (approssimativamente oltre il 33%) le pectine tra i polisaccaridi e gli xiloglucani tra le emicellulose sono i principali tipi di polimeri trovati, suggerendo una modificazione della matrice della parete cellulare sebbene senza rottura della parete stessa. Infine continuando l'estrazione con fluido supercritico a più elevate velocità di estrazione (approssimativamente oltre il 64%), avveniva una maggiore distruzione della parete cellulare come indicato dalla perdita di un maggior numero di tipi di polisaccaridi cellulari, come la cellulosa.

Questi risultati mostrano che sotto le condizioni usate per l'estrazione di olio con CO₂ supercritica le catene di acidi grassi vengono estratte dalle cellule senza rottura della parete cellulare; le modificazioni della rete pectina-emicellulosa potrebbe essere aumentata per la porosità della parete. Tuttavia applicando alte pressioni, avviene una progressiva rottura delle pareti cellulari seguita dalla fuoriuscita degli acidi grassi dalla cellula. Tali indizi possono contribuire a migliorare ed ottimizzare il processo di estrazione SCFE quando lo si vuol applicare alla estrazione di piante per uso alimentare.

11.2. Valutazioni

Il primo ed evidente vantaggio di tale tecnica è che alla fine del processo estrattivo l'anidride carbonica viene portata a temperatura e pressione ambiente e di conseguenza gassifica lasciando le sostanze estratte dalla matrice solida.

Un secondo vantaggio è rappresentato dalle migliori velocità di trasporto: sebbene le densità dei fluidi supercritici si approssimano a quelli dei liquidi convenzionali, le loro proprietà di trasporto sono più vicine a quelle dei gas. Per esempio, la viscosità è di molti ordini di

Tabella 5. Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica dell'estrazione con fluidi supercritici.

Estrazione con fluidi supercritici Estrazione mediante gas liquefatti	
Principio	Diffusione ed osmosi
Tecnologia	Sistema per gas supercritici
Pregi	Tempi brevi Estratto non degradato
Difetti	Estrazione parziale

grandezza più bassa di quella dei liquidi e gli stessi coefficienti di diffusione sono 100 volte più grandi di quelli tipici osservati nei liquidi convenzionali.

La scelta della CO₂ come fluido supercritico, offre i seguenti vantaggi:

- diffonde attraverso matrici estrattive in modo più veloce dei solventi tipici che hanno una dimensione molecolare più grande; è poco costosa e si ottiene facilmente;
- possiede coefficienti di diffusione più alti e viscosità più basse rispetto al solvente liquido;
- ha una forte permeabilità, dunque il tempo di estrazione può essere notevolmente più breve di quello richiesto dall'estrazione con il comune solvente;
- è inodore, non è tossica, non brucia, non esplosiva e non danneggia lo strato di ozono;
- la temperatura di lavoro è vicina alla temperatura ambiente (31,1 °C), particolarmente adatta a materiale sensibile al calore, che verrebbe decomposto dal trattamento termico;
- il recupero è semplice e conveniente e può essere riciclata senza alcun trattamento;
- riunisce l'estrazione e la rimozione in una tecnica unica, abbreviando notevolmente i tempi di lavorazione in modo semplice e conveniente;
- possiede un potere solvente variabile, dipendente dalle condizioni operative (pressione e temperatura) prescelte.

La limitazione di questa tecnica consiste in una minor capacità solubilizzante per i composti solubili in acqua.

Un motivo del calo di domanda può essere il fatto che, dopo un decennio di studi, questa strumentazione non può essere ancora utilizzata da qualunque operatore come una scatola nera, cioè senza comprenderne i meccanismi intrinseci. Questa riduzione della domanda ha permesso però di selezionare le ditte in grado di assicurare strumenti di elevata qualità, proponendosi così per un mercato specializzato.

12. ASE[®] (Accelerated Solvent Extraction)

Il sistema ASE è stato brevettato dalla americana Dionex e rappresenta un approccio utile ed innovativo per l'estrazione di una vasta classe di composti da matrici di complessa entità chimico-fisica.

L'estrazione degli analiti dalle matrici avviene impiegando un solvente mantenuto in fase liquida a temperature al di sopra della temperatura di ebollizione per l'applicazione di alta pressione.

L'aumento della temperatura infatti accelera il desorbimento degli analiti dal campione e la loro solubilizzazione nel solvente permettendo un'estrazione efficace in breve tempo. La matrice viene posta in un contenitore cilindrico di acciaio in cui viene pompato il solvente fino a riempimento (Fig. 7). Si chiude la valvola statica di sfiato, e si continua a pompare e a riscaldare fino a raggiungere i valori d'estrazione programmati. Il processo può essere ottimizzato operando sul tipo di solvente, sulla pressione e sulla temperatura. Al termine del programma di estrazione prefissato, si apre automaticamente la valvola statica, facendo cadere l'estratto nel contenitore di raccolta mentre viene immesso solvente fresco per lavare la cella e i tubi di collegamento. Si chiude poi la valvola della pompa e con un flusso di azoto si drena il letto della matrice, convogliando anche il solvente di lavaggio nel contenitore di raccolta.

Nell'impiego dei solventi sotto pressione ad alta temperatura è possibile influire sul processo estrattivo modificando alcuni parametri chimico-fisici del sistema solvente-matrice. Tra questi i più importanti sono:

- diminuzione della viscosità del solvente;
- diminuzione della tensione superficiale del solvente;

- incremento della velocità di diffusione;
- aumento solubilità.

12.1. Applicazioni

Un approccio innovativo, proposto per l'estrazione di una vasta classe di composti da matrici difficili come terreni e sedimenti, è l'estrazione accelerata con solvente (ASE), messa a punto dalla Dionex. La ASE Dionex utilizza molto meno solvente (da 10 a 15 ml per un campione da 10 g) rispetto al metodo Soxhlet o l'estrazione con ultrasuoni e consegue una notevole riduzione dei tempi anche rispetto al forno a microonde.

Il procedimento ASE si basa sull'estrazione degli analiti dalle matrici solide ad alta temperatura sotto pressione: ciò accelera il desorbimento degli analiti dal campione e la loro solubilizzazione nel solvente. L'aumento della temperatura, infatti, accelera la cinetica di estrazione, mentre l'alta pressione mantiene il solvente allo stato liquido sotto il punto d'ebollizione, consentendo in tal modo estrazioni rapide e sicure. La riduzione delle quantità di solvente e dei tempi di estrazione è ottenuta mettendo a contatto il solvente con il campione entro una cella di acciaio mantenuta sotto pressione e ad alta temperatura.

Questa tecnica è stata sviluppata dalla Dionex in un apparecchio compatto nel quale l'intero procedimento ha luogo automaticamente: utilizzando due giostre, una per le celle d'estrazione contenenti il campione e l'altra per le vial di raccolta (si può effettuare l'estrazione in sequenza fino a 24 campioni). Il sistema, molto flessibile, permette di programmare condizioni diverse di estrazione, con celle di dimensioni diverse, adeguando automaticamente il volume del solvente in funzione del volume della cella.

L'apparecchio da banco di minimo ingombro (57 x 58 x 59 cm) comprende in un corpo unico tutte le funzioni del sistema e cioè nella parte sinistra la camera di erogazione del solvente sormontata dalla stazione di controllo, e nella parte destra il sistema di estrazione costituito dalla due giostre sovrapposte, con i vassoi per le celle d'estrazione di sopra e per le vial di raccolta di sotto, e dal forno di termostatazione per il processo.

Lo schema di funzionamento riportato nella Fig. 7 mostra il percorso del solvente nelle diverse fasi operative: il solvente viene prelevato

dal serbatoio per mezzo di una pompa controllata da una valvola e introdotto dall'alto nella cella di estrazione, a valvola statica aperta, fino a che un piccolo volume compare entro la vial di raccolta; dopo chiusura della valvola statica e ulteriore pompaggio di solvente fino a raggiungere la pressione prefissata, la cella viene posta nel forno, dove è portata alla temperatura operativa.

La pressione nella cella durante il riscaldamento viene controllata dalla valvola statica, che si apre periodicamente per pulsazione automatica in modo da regolare la pressione necessaria a mantenere il solvente allo stato liquido durante il processo d'estrazione. Al termine, per apertura della valvola statica, l'estratto passa per gravità nella vial di raccolta, mentre viene pompato solvente fresco nella cella. A questo punto si chiude la valvola della pompa e si apre la valvola di spurgo, introducendo un flusso di azoto che provvede a spurgare il residuo della matrice dal solvente di lavaggio drenandolo nella stessa provetta di raccolta.

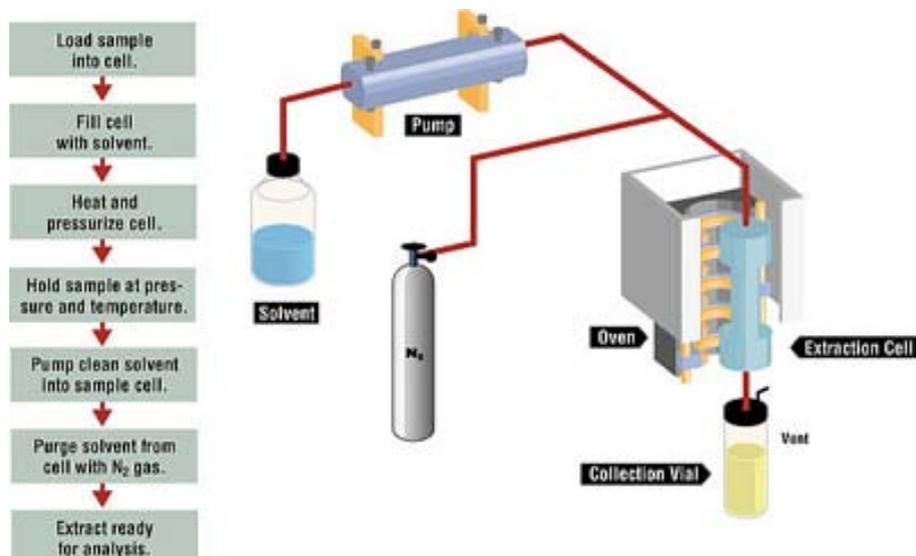


Figura 7. Rappresentazione schematica di un sistema ASE®

Le celle d'estrazione da 11, 22 e 33 ml con diametro interno di 19,1 mm, sono costruite in tubi d'acciaio chiusi ermeticamente da tappi d'acciaio avvitabili a mano, aventi una cavità forata al centro con setti a tenuta che fungono da valvola: quello superiore per l'introduzione e quello inferiore per il drenaggio del solvente. Esse sono sospese verticalmente nella giostra superiore, recante un vassoio a 24 posti per le celle e tre posizioni per il risciacquo, e dotata di rilevazione automatica della posizione di base.

Le celle vengono posizionate nel forno mediante un attuatore autosigillante a movimento pneumatico con aria compressa, formato da due bracci disposti a morsa verticale e terminanti in due tubi a spinotto contrapposti che si inseriscono a tenuta nell'incavo centrale dei tappi della cella, permettendo al solvente di essere introdotto da quello sovrastante e scaricato da quello sottostante. Il tubo superiore è collegato alla valvola della pompa d'erogazione e quello inferiore alla valvola statica di sfiato. La cella viene prelevata automaticamente dalla giostra dall'attuatore autosigillante e posizionata nel forno posto nella parte posteriore dello strumento; si pompa il solvente nel suo interno e si chiude a comando la valvola statica di sfiato; la cella è portata ad una temperatura tra 50 e 200°C, (in media a 100°C) e mantenuta per 8–9 min per compiere l'estrazione statica sotto pressione (1200–1500 psi di solito, con un massimo di 3000 psi).

Quando l'estratto scende per gravità nella vial di raccolta, il livello di riempimento è controllato da un sensore ottico IR che segnala alla stazione di controllo l'eventuale eccesso di solvente che viene scaricato nel serbatoio di emergenza. A scarico avvenuto la cella è riportata al vassoio della giostra dall'attuatore.

Il sistema di raccolta del campione è costituito dalla giostra con vassoio estraibile a 26 posti per le provette, più quattro per il risciacquo e la raccolta dei lavaggi; il posizionamento della vial viene effettuato spostando, mediante un braccio pneumatico ad aria compressa, la vial dalla giostra allo scomparto di raccolta, che contiene l'ago di scarico collegato alla valvola statica e l'ago di sfiato.

Il corretto posizionamento della vial è controllato da un sensore ottico IR che dà il consenso all'abbassamento degli aghi di scarico e di sfiato, perché forino il setto del tappo della vial in modo perfettamente centrato, e poi all'apertura della valvola statica.

Nello stesso scomparto è sistemato anche il sensore di livello che controlla il riempimento della vial. Le provette di raccolta hanno una capacità di 40 e 60 ml e sono chiuse da cappucci con un setto solvente-resistente rivestito di TFE sul lato di contatto con il solvente.

Le provette contrassegnate sono identificate dalla stazione di controllo. Il risciacquo della linea tra un campione e l'altro è effettuato da un apposito tubo che scarica i solventi adoperati nelle provette poste sulla giostra di raccolta.

L'intero processo dura da 12 a 14 minuti. L'inizio del trattamento del successivo campione è dettato dal programma prefissato per ogni singolo campione solo dopo il segnale di fine del processo precedente.

La descrizione funzionale dei componenti mette in risalto l'importanza del cervello elettronico del sistema contenuto nella stazione di controllo. Fissati i parametri operativi, quali il volume di solvente, la temperatura, la pressione e il tempo di estrazione, oppure richiamato il metodo dalla memoria, l'analisi procede automaticamente.

Possono essere eseguite estrazioni in sequenza con un solo metodo per lo stesso tipo di campione, oppure per campioni multipli si può variare il metodo a seconda delle specifiche esigenze: è sufficiente selezionare i metodi per ciascun campione e inserirli nel programma secondo l'ordine dei campioni nella giostra. Su ogni cella si possono pure effettuare estrazioni multiple quando prescritte dal metodo.

Per la sicurezza d'uso dello strumento i sensori di temperatura, pressione e di perdite di solvente provvedono ad azionare automaticamente segnali acustici d'allarme o a disattivare il sistema nel caso di anomalie.

In pratica per l'uso dello strumento il minimo volume di solvente totale (estrazione + lavaggio del residuo) da utilizzare per avere un'estrazione completa dell'analita deve essere 1,2-1,5 volte il volume della cella vuota. La massa del campione non ha influenza sul tempo d'estrazione, mentre il volume di solvente deve essere rapportato alla capacità della cella usata.

L'effetto maggiore sull'estrazione è dato dalla temperatura, che influenza le proprietà fisiche del solvente e l'interazione tra la fase liquida e il materiale; meno significativo è l'effetto della pressione che già a bassi valori facilita la penetrazione del solvente nei pori del

Tabella 6. Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica dell'estrazione accelerata con solvente.

ASE Estrazione per diffusione	
Principio	Aumento della diffusione per agitazione termica
Tecnologia	Contenitori capaci di sopportare alte pressioni e temperature
Pregi	Tempi brevi
Difetti	Estrazione parziale Degradazione dei principi attivi

campione, mentre la sua funzione essenziale è quella di mantenere il solvente allo stato liquido durante il processo.

Nel caso di campioni molto polverulenti viene consigliato di versarli su un dischetto di cellulosa posto sopra il frit d'acciaio inox d'uscita nel fondo della cella mescolati ad un coadiuvante di filtrazione, come l'Hydromatix (terra di diatomee espansa) per facilitare la diffusione del solvente nella massa del materiale.

La valutazione e il collaudo delle prestazioni dell'ASE 200 è stato condotto effettuando una serie di numerose prove di comparazione con le tecniche di estrazione in fase liquida (Soxhlet tradizionale e automatico, sbattimento) accettate come standard nei metodi ufficiali EPA (Agenzia Americana per la protezione ambientale) per l'estrazione di sostanze organiche inquinanti da diversi tipi di materiali (terreni, fanghi, sedimenti marini e lacustri, pesci etc.). Il disegno sperimentale iniziale ha previsto l'estrazione di quattro classi di composti (pesticidi cloroorganici (OCP), pesticidi fosfororganici (OPP), semivolatili basici, neutri e acidi (BNA) e erbicidi clorurati) a tre concentrazioni (bassa media e alta) da tre matrici (sabbia, limo, argilla) con sette ripetizioni di ogni campione per ogni tecnica a confronto per un totale di circa 600 estrazioni, oltre alle prove con aggiunte di standard e di controllo di qualità. La sperimentazione è stata estesa ai policlorobifenili (PCB) e agli idrocarburi aromatici (PAH).

In base ai risultati ottenuti da questo studio come conclusione è stato dimostrato che l'estrazione accelerata con solvente ASE, tecnica di microestrazione automatica è equivalente alle tecniche ufficiali d'estrazione EPA da matrici solide e semisolidi delle classi di composti sperimentate.

Un'ulteriore serie di prove sono state effettuate per la valutazione dello strumento soprattutto nel campo ambientale. Esso si è dimostrato valido per l'estrazione dei PAH (idrocarburi policiclici aromatici) dai terreni contaminati, dalle polveri urbane, dai sedimenti marini e fluviali, dei PCB e delle diossine e furani dalle ceneri e dai mattoni dei camini. Fuori del campo ambientale è stata applicata ai prodotti naturali, per l'estrazione dei grassi dagli alimenti, alle formulazioni farmaceutiche, alle micotossine nei grani, ai pesticidi negli alimenti zootecnici, ai polimeri, agli esplosivi, ai componenti dei detersivi e ai carburanti.

12.2. Valutazioni

Un vantaggio nell'impiego dei liquidi ad alta temperatura sotto pressione rispetto ai fluidi supercritici è determinato dal fatto che i primi hanno una forza solvente maggiore e che, essendo già utilizzati nei metodi che prevedono estrazioni a pressione atmosferica, non rendono necessarie modificazioni, né prove preliminari per la valutazione della loro efficienza estrattiva. L'altro vantaggio è rappresentato dal fatto che, usando solventi liquidi, non vi sono cambiamenti di fase nel ritorno del sistema alle condizioni atmosferiche e quindi non servono restrittori o trappole liquide o impaccate per il recupero degli analiti dall'estratto.

13. Estrazione con ultrasuoni e/o microonde

In campo estrattivo, questa tecnica usa le frequenze degli ultrasuoni per aggredire e rompere la struttura cellulare e facilitare i processi diffusivi. La tecnica di "sonicazione" consiste nel far passare attraverso sonde al titanio immerse in un mezzo liquido una serie di cicli di impulsi ultrasonori a intensità crescente. Le sonde convertono l'energia elettrica pulsante applicata ai loro capi in un impulso vibrazionale, che in un mezzo gassoso, si trasforma in ultrasuono, mentre in un mezzo liquido, a causa della sua incompressibilità, si trasforma in implosione (Fig. 8).

Le onde generate dall'impulso di pressione, in tali particolari condizioni vibrazionali, sono causa della cavitazione, fenomeno che consiste nella formazione, durante la fase di pressione negativa, di milioni di

piccole bolle che, in una delle successive fasi di compressione, implodono. L'implosione di ciascuna bolla causa, nell'interno di questa ultima, un improvviso cambiamento di temperatura e di pressione. Il collasso della cavità vicino ad un'interfaccia liquido-solida, però, differisce notevolmente dalla cavitazione in un liquido omogeneo. Infatti attraversando un liquido, i cicli di espansione degli ultrasuoni esercitano una pressione negativa sul liquido, con allontanamento delle molecole l'una dall'altra: se l'ultrasuono è sufficientemente intenso, la pressione negativa supera la resistenza alla trazione delle molecole del liquido generando una cavità (Fig. 9). Le bolle di cavitazione si formano nei punti deboli preesistenti del liquido ed internamente agli spazi del solido, sia riempiti di gas nella materia polverizzata sospesa sia di microbolle precedenti alla cavitazione, sospese nel liquido irradiato, producendo in tal modo effetti devastanti sulla struttura cellulare.

Alle alte intensità, poi, per effetto inerziale, una piccola cavità potrà svilupparsi velocemente durante il semiciclo di espansione e non avrà tempo di ricompimersi durante il semiciclo di compressione. La bolla così formata, nel ciclo successivo subirà lo stesso effetto aumentando di grandezza ed il fenomeno si ripeterà nei cicli successivi fino a quando la bolla raggiungerà una dimensione critica tale da farla collassare (il collasso produce un aumento di energia termica). Alle intensità acustiche più basse, invece, lo sviluppo della cavità può presentarsi con un processo più lento, denominato "diffusione rettificata". In queste condizioni, una cavità oscillerà in dimensione fino a raggiungere la dimensione critica, definita come dimensione risonante, dove può assorbire efficientemente l'energia proveniente dall'irradiazione ultrasonica. Questa dimensione critica dipende dal liquido e dalla frequenza dell'onda di pressione sonora: a 20 KHz, per esempio, è approssimativamente 170 micrometri. Nel microambiente di una bolla viene prodotto un punto caldo di breve durata, con una temperatura approssimativa di 5000 °C, una pressione di circa 1000 atmosfere, in un tempo di vita inferiore ad un microsecondo e la velocità di riscaldamento e raffreddamento supera i 10 miliardi di gradi Celsius/sec.

Il range di frequenze di utilizzo degli ultrasuoni è al di fuori del limite di sensibilità dell'orecchio umano per cui è possibile produrre fasci stretti di ultrasuoni molto intensi ma completamente "silenziosi".

13.1. Applicazione: estrazione di olio dai semi di tabacco (*Nicotiana tabacum L.*) mediante ultrasuoni

La “sonicazione” è una tecnica che trova utilizzo in molti campi: le applicazioni di laboratorio più diffuse sono nel campo della ricerca biomedica e farmaceutica per ottenere la lisi di batteri o di cellule in coltura; nel campo delle analisi ambientali per l’ estrazione di varie

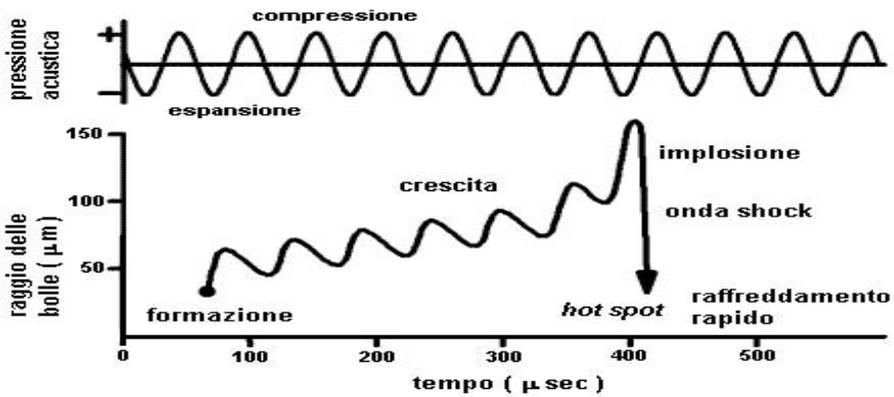


Figura 8. Andamento del raggio delle bolle indotte dalla pressione acustica

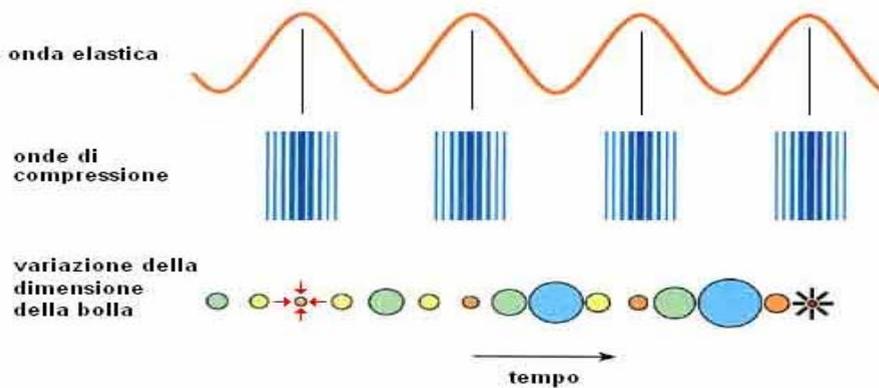


Figura 9. Diagramma grafico della induzione delle bolle cavitazionali

Tabella 7. Schema riassuntivo delle caratteristiche principali della tecnica estrattiva assistita con ultrasuoni.

Estrazione con ultrasuoni	
Estrazione per sfaldamento della matrice	
Principio	Frantumazione della matrice e rottura delle cellule
Tecnologia	Generatore di ultrasuoni
Pregi	Tempi brevi Estrazione completa
Difetti	Estrazione di sostanze indesiderate insieme ai principi attivi Degradazione dell'estratto

molecole; nell'industria cosmetica e farmaceutica per la preparazione di creme ed emulsioni; nelle biotecnologie per l'omogenizzazione di liquidi immiscibili e la solubilizzazione di composti difficili. In campo estrattivo, questa tecnica usa la frequenza degli ultrasuoni per aggredire e rompere la struttura cellulare e facilitare i processi diffusivi.

Vengono riportati i risultati dell'estrazione con ultrasuoni di olio dai semi di una pianta di tabacco di origine semiorientale (*Nicotiana tabacum* L.) usando n-esano ed etere di petrolio a differenti temperature e differenti rapporti di solvente. La resa di olio dipendeva dalla finezza delle particelle, dalla temperatura di estrazione, dal rapporto semi/solvente e dal tipo di solvente adoperato. La resa di olio era molto più alta se i semi erano macinati prima dell'estrazione. La resa di olio aumentava aumentando la temperatura di estrazione e diminuendo il rapporto semi/solvente. Come solvente il n-esano si dimostrava più efficiente dell'etere di petrolio. Ai fini del recupero dell'olio dei semi di tabacco, il metodo della sonicazione risultava meno efficiente dell'estrazione in Soxhlet. Il vantaggio principale consisteva in una relativamente maggiore resa di olio a 25 °C in tempo più breve.

13.2. Valutazioni

L'impiego degli ultrasuoni nell'estrazione a solvente rappresenta un buon rimedio agli inconvenienti legati alla diffusione, ma non sempre risulta efficiente. Molte sono le variabili da considerare per ottenere una buona resa per cui spesso la messa a punto dei vari parametri allunga il tempo della sperimentazione.

Nell'estrazione di principi attivi dalle piante, per esempio, i risultati sono paragonabili all'estrazione per spremitura, se non peggiori, per il riscaldamento del sistema a causa del tempo prolungato. La matrice solida viene completamente frantumata e si ottiene un miscuglio impossibile da separare nei suoi costituenti, cosa che rende questa tecnica di difficile applicazione a livello industriale.

Capitolo III

La nuova scienza dell'estrazione rapida solido-liquido dinamica: dal Naviglio Estrattore[®] al Principio di Naviglio

L'estrattore rapido solido-liquido dinamico, di cui è rappresentato il primo prototipo in Figura 1, rappresenta una tecnologia innovativa di estrazione che permette di esaurire in tempi brevi, paragonato alle altre tecniche estrattive attualmente esistenti, le matrici solide contenenti principi attivi estraibili in un solvente organico, inorganico ed in loro



Figura 1. Primo prototipo da banco del Naviglio Estrattore[®] (1998)

miscele. La novità della metodica consiste in un cambiamento della filosofia estrattiva, poiché viene invertita la tendenza dei metodi attuali che mirano all'impiego del calore, basandosi, invece, sui fenomeni della diffusione e dell'osmosi, per aumentare la resa ed accelerare i tempi di estrazione grazie alla scoperta di un nuovo principio di estrazione, il "Principio di Naviglio".

1. Il Principio di Naviglio

La maggior parte delle tecniche descritte nella prima parte del testo basano il processo di estrazione solido-liquido sui principi fisici dell'osmosi e della diffusione. Recentemente, accanto a tali due principi ne è stato introdotto un terzo, che rende possibile impostare un processo estrattivo solido-liquido in una maniera più rapida ed efficace. Tale principio innovativo detto "principio di Naviglio" viene enunciato nel modo seguente:

La generazione, con un opportuno solvente, di un gradiente di pressione negativo tra l'esterno e l'interno di una matrice solida contenente del materiale estraibile, seguita da un repentino ripristino delle condizioni di equilibrio iniziali, induce l'estrazione forzata dei composti non chimicamente legati alla struttura principale di cui è costituito il solido.

Le conseguenze più importanti di tale principio sono le seguenti:

- è possibile estrarre a temperatura ambiente o sub ambiente, in quanto non v'è più l'effetto diffusivo (che dipende dalla temperatura) a prevalere, ma è una depressione istantanea del liquido estraente, che segue una fase di pressione, a consentire l'estrazione forzata dei principi attivi o sostanze non chimicamente legate alla matrice solida;
- l'estrazione diventa non più un processo passivo in cui bisogna attendere che la diffusione e l'osmosi spingano le sostanze estraibili verso l'esterno della matrice solida, ma un processo controllabile, consentendo con ripetuti aumenti di pressioni e repentine depressioni, di giungere a completo esaurimento della matrice in tempi brevi.

Secondo tale nuovo principio è possibile affermare che l'estrazione solido-liquido, che fino ad oggi si era basata sull'esperienza e sull'os-

servazione, diviene un processo sperimentalmente controllabile e dunque una vera e propria scienza.

1.1. Il funzionamento del Naviglio Estrattore[®]

Il sistema base dell'apparecchio è costituito da due camere di estrazione (due cilindri muniti di pistone mobile) sul fondo delle quali sono posti due setti porosi che lasciano passare il liquido e le sostanze in esso disciolte, mentre bloccano le particelle grossolane di materiale solido. Le due camere di estrazione sono messe in comunicazione tramite un condotto su cui viene inserita una elettrovalvola che resta chiusa per tutto il tempo dell'estrazione ed è utilizzata solo per la raccolta del solvente.

Il materiale solido da estrarre viene posto nelle camere di estrazione che in seguito vengono riempite completamente con il solvente estraente (organico o inorganico o loro miscele). Quando i pistoni spingono contemporaneamente si ha l'aumento di pressione e di conseguenza la "fase di statica"; quando i pistoni vengono spostati dalla posizione di equilibrio inizia la "fase di dinamica", che viene completata con l'alternarsi delle spinte dei due pistoni.

Il riempimento della camera di estrazione con la matrice solida ed il solvente avviene a pressione atmosferica e l'indicatore di pressione indica il valore zero (Fig. 2).

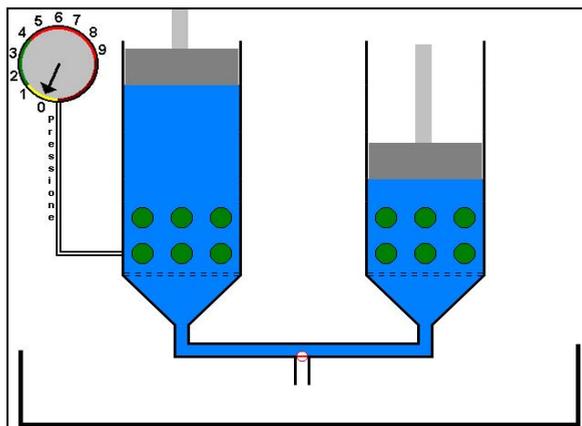


Figura 2. Caricamento delle camere estrattive con matrice solida (cerchi verdi) e solvente estraente (colore blu).

Il sistema, dopo il riempimento, viene chiuso e messo sotto pressione dall'azione meccanica di due pistoni spinti ad aria compressa.

La pressione esercitata dai pistoni viene trasferita al liquido (Fig. 3) poiché le due camere di estrazione sono collegate tramite un condotto.

Quando viene raggiunto il valore massimo di pressione impostato, il sistema resta fermo per un tempo necessario a stabilire un equilibrio pressorio tra l'interno e l'esterno della matrice solida: questa situazione è identificata come la fase di statica (Fig. 4). Trascorso questo pe-

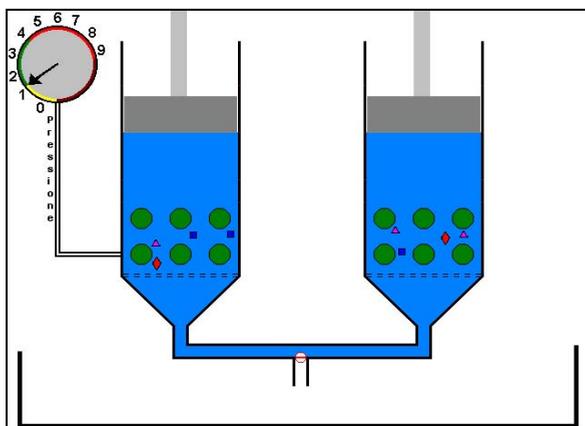


Figura 3. Chiusura del sistema ed inizio della compressione del solvente (Le figure geometriche variamente colorate rappresentano i principi attivi).

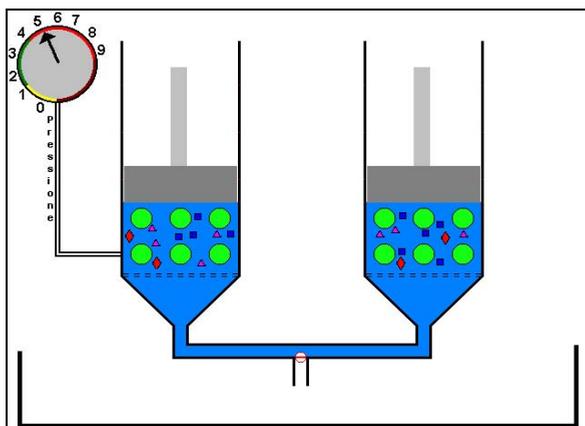


Figura 4. Massima compressione del sistema ed inizio della fase di statica.

riodo i pistoni vengono rapidamente rimossi dall'equilibrio statico per la fuoriuscita rapida dell'aria dal sistema, generando un abbassamento immediato della pressione all'interno della camera di estrazione e dando luogo alla fase di dinamica (Fig. 5) in cui si realizza il principio estrattivo (Principio di Naviglio). Le sostanze estraibili vengono trasferite nel solvente per un effetto di "risucchio" dovuto al gradiente di pressione negativo venuto a crearsi tra l'interno e l'esterno della matrice solida.

Tale meccanismo è ben rappresentato nelle Figg. 6 e 7 dove si evidenziano rispettivamente il raggiungimento dell'equilibrio di pressio-

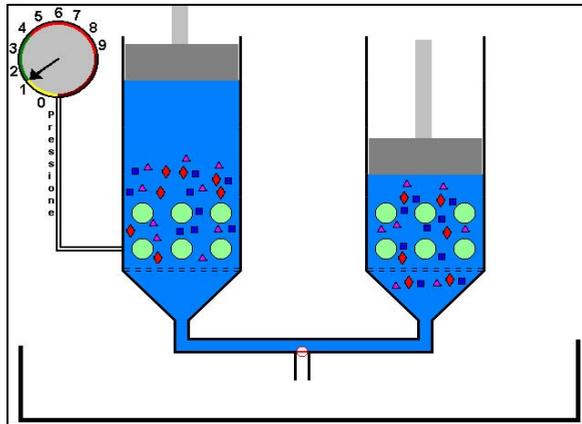


Figura 5. Fine della fase di *statica* ed inizio della fase di *dinamica* (decompressione del solvente).

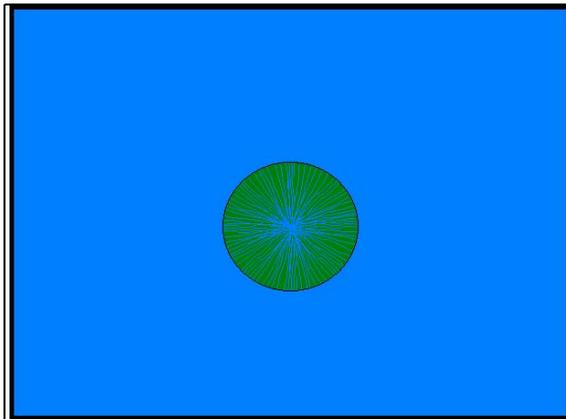


Figura 6. Equilibrio di pressione tra il solvente esterno e quello contenuto all'interno della matrice.

ne (la matrice solida è completamente permeata dal liquido estraente) e la fuoriuscita delle sostanze estraibili dalla matrice solida.

La fase di dinamica ha inoltre la funzione di rimescolare il liquido, evitando la formazione di gradienti di concentrazione nelle immediate vicinanze della superficie esposta al solido.

L'alternarsi di una fase di statica con una di dinamica costituisce un ciclo estrattivo: reiterando più cicli estrattivi si giunge al completo esaurimento della matrice solida. Alla fine dell'estrazione il solvente viene espulso attraverso una elettrovalvola e raccolto in un apposito contenitore (Fig. 8).

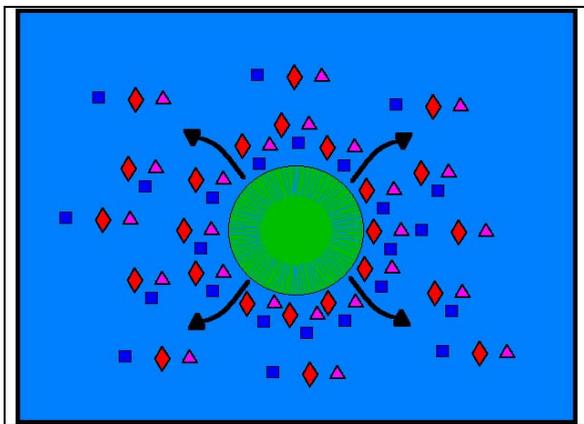


Figura 7. Effetto di "risucchio" generato dal gradiente di pressione (Principio di Naviglio).

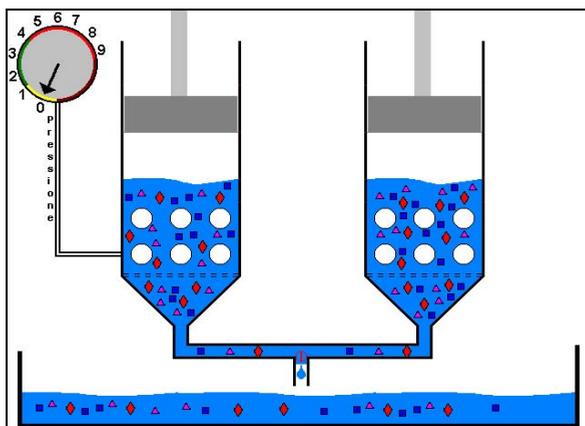


Figura 8. Fine dell'estrazione ed inizio fase di scarico.

1.2. Confronto con le altre tecniche estrattive

Il Naviglio Estrattore[®] sostituisce ottimamente tutte le tecniche estrattive solido-liquido attualmente esistenti ed apporta delle considerevoli novità e vantaggi nell'ottenimento di estratti di qualità. Innanzitutto non è necessario riscaldare il sistema estrattivo in quanto l'azione esercitata è di tipo meccanico; le tecniche estrattive attuali (percolazione, Soxhlet, distillazione in corrente di vapore, ultrasuoni), basandosi sui principi dell'osmosi e della diffusione, tendono ad aumentare la temperatura per aumentare l'efficienza estrattiva; nel caso di composti termolabili però l'aumento di temperatura contribuisce alla loro degradazione.

Con il Naviglio Estrattore bastano pochi cicli estrattivi, circa venti (che si concludono in circa due ore), per portare a completo esaurimento una grande quantità di matrici vegetali. Nei confronti della macerazione, metodo ufficiale di estrazione per molti processi, tale metodo si dimostra rapido ed esauriente allo stesso tempo. Inoltre, è possibile impiegare l'acqua come liquido estraente per molte applicazioni, grazie ai ridotti tempi di estrazione, mentre il contatto prolungato delle matrici solide vegetali con acqua è improponibile per macerazione.

Il Naviglio Estrattore[®] è una tecnica poco costosa e richiede un dispendio energetico minimo, se paragonata all'estrazione con fluidi supercritici (anidride carbonica supercritica) o all'estrattore ASE (Accelerated Solvent Extraction), che tra l'altro contempla l'utilizzo di temperature elevate.

I principali vantaggi del Naviglio Estrattore sono:

- esaurimento in tempi brevi delle matrici solide contenenti sostanze estraibili, a temperature operative basse (ambiente o sub-ambiente);
- riproducibilità dell'estrazione essendovi la reale possibilità di standardizzare gli estratti per il contenuto in principi attivi, con la garanzia di produzione di estratti di qualità.

Da un attento confronto tra le caratteristiche principali di ognuna delle tecniche estrattive solido-liquido descritte nel capitolo precedente, è possibile affermare che, oggi, nessuna tecnica fornisce contemporaneamente tutti i vantaggi offerti dal Naviglio Estrattore[®],

Tabella 1. Confronto tra le tecniche estrattive solido-liquido attualmente esistenti, in relazione alla granulometria, al tipo di solvente e al rendimento.

TECNICA ESTRATTIVA	GRANULOMETRIA	SOLVENTE	RENDIMENTO
spremitura	non importante	indifferente	esauriente
macerazione	importante	fondamentale	esauriente
percolazione	importante	fondamentale	parziale
soxhlet	importante	fondamentale	esauriente
distillazione in c.v.	non importante	indifferente	parziale
gas supercritici	importante	fondamentale	parziale
ultrasuoni	non importante	indifferente	esauriente
ASE	importante	fondamentale	esauriente
Naviglio estrattore	non importante	indifferente	esauriente

Tabella 2. Confronto tra le tecniche estrattive solido-liquido attualmente esistenti, in relazione al tempo, alla qualità e alla stabilità dell'estratto.

TECNICA ESTRATTIVA	TEMPO	QUALITÀ ESTRATTO	STABILITÀ ESTRATTO
spremitura	minimo	scadente	scarsa
macerazione	lungo	ottima	ottima
percolazione	medio	buona	buona
soxhlet	lungo	scadente	scarsa
distillazione in c.v.	medio	scadente	scarsa
gas supercritici	medio	ottima	ottima
ultrasuoni	medio	scadente	scarsa
ASE	minimo	scadente	scarsa
Naviglio estrattore	minimo	ottima	ottima

in termini di granulometria del materiale solido, del tipo di solvente, del rendimento, del tempo, della qualità e della stabilità dell'estratto (Tab. 1 e Tab. 2).

Infine, è da tenere in considerazione il fatto che data la facilità di impiego, il basso consumo energetico e la rapidità del processo estrattivo, il Naviglio Estrattore[®] può essere impiegato come tecnica esplorativa e di ricerca per matrici solide non ancora conosciute e per trattare materiali che devono subire dei processi di lavaggio, come polimeri

con clatrati, sughero etc. Il Naviglio Estrattore[®] è stato vantaggiosamente impiegato nell'operazione di concia delle pelli sia impiegando soluzioni al cromo che soluzioni contenenti tannini naturali.

1.3. Applicazioni

Il Naviglio Estrattore[®] trova importanti applicazioni nell'industria delle bevande per la preparazione di molte bibite alcoliche derivanti sia da estratti in alcol etilico di bucce di agrumi (limone, mandarino, arancio etc.) sia di tonici ed amari da estratti di erbe. Nell'industria dei profumi, inoltre, è possibile ottenere estratti di piante odorose e aromatiche sostituendo la macerazione; allo stesso modo migliora la formulazione dei preparati nella cosmesi e nella fitoterapia rispetto alle tecniche classiche, che tendono a produrre estratti più alterati e quindi meno attivi.

Diversi lavori di ricerca sono stati attuati (si veda l'elenco dei lavori pubblicati riportati nel paragrafo seguente) e diversi altri sono in via di realizzazione, alcuni dei quali assumono importante rilevanza anche in campo medico. Attualmente, molteplici sono i lavori coordinati dall'Autore presso il Dipartimento di Scienza degli Alimenti dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II". Un esempio è il lavoro riguardante l'estrazione di licopene da bucce di pomodoro e da altri vegetali (es. anguria), mettendo a punto una procedura estrattiva ed un successivo processo di purificazione che, a partire da bucce di pomodoro, conducono all'ottenimento del licopene ad alto grado di purezza. In campo farmacologico si ricorda la caratterizzazione chimica e biochimica di droghe quali lo zafferano, i cui estratti sono stati dimostrati da diversi ricercatori essere potenti antitumorali. In tal caso l'estrazione per pressione impiegando il Naviglio Estrattore[®] porta all'ottenimento di estratti più ricchi di componenti ad alta attività biochimica, che non è possibile ottenere mediante altre tecniche.

Altri lavori, invece, sono volti a migliorare la produzione di taluni preparati alimentari, quali la produzione di bevande alcoliche ottenute da matrici vegetali (limoncello), con elevato grado di standardizzazione, riduzione dei tempi di lavorazione e ottimizzazione del recupero degli scarti. Si ricorda inoltre la produzione di liquore di mirto con e-

levato grado di standardizzazione e tra le ultime ricerche l'estrazione di rovere e successiva concentrazione per ottimizzare nel tempo l'invecchiamento di vini e grappe. Infine, degna di nota è l'ottimizzazione dell'estrazione del luppolo per la produzione della birra, che ha condotto ad un estratto più ricco di composti aromatici che hanno migliorato il sapore e l'aroma della bevanda finale.

In conclusione è oggi possibile affermare che, dopo circa dieci anni di ricerca, sia nata la nuova scienza dell'estrazione solido-liquido, grazie all'estrazione rapida solido-liquido dinamica, al Naviglio Estrattore[®] e al Principio di Naviglio.

2. Elenco lavori pubblicati

- 1) Naviglio D., *Estrattore rapido solido-liquido dinamico operante ad alte pressioni e basse temperature per l'ottenimento in tempi ridotti di soluzioni contenenti sostanze inizialmente presenti in matrici solide insolubili nel solvente estraente*. Domanda per il deposito del brevetto per invenzione industriale registrata con il n. NA98A000046 e depositata il 06.07.1998 all'Ufficio Brevetti di Napoli a nome di Naviglio Daniele residente ad Ercolano (NA) al Corso Italia n. 75. Brevetto concesso in data 6 novembre 2000 – n. 1303417
- 2) Naviglio D., *Estrazione rapida ed esauriente a temperatura ambiente dei principi attivi contenuti nelle piante officinali mediante una tecnologia estrattiva innovativa basata su un nuovo principio di estrazione*. Atti del VI Congresso Nazionale di Fitoterapia. Viterbo 2-4 giugno 2000, 21.
- 3) Naviglio D., *Naviglio Estrattore[®]: estrattore rapido solido liquido dinamico*. Atti del V Congresso Italiano di Scienza E Tecnologia degli Alimenti (CISETA). Cernobbio (CO) 2001, 14.
- 4) Ferrara L., Montesano D., Naviglio D., *Confronto tra le tecniche estrattive ufficiali e il Naviglio Estrattore[®] nell'estrazione dei principi attivi dalle piante officinali*. Atti del VII Congresso Nazionale di Fitoterapia. Pescara 1-3 giugno 2001, 15.
- 5) Naviglio D., *Estrazione solido-liquido: stato dell'arte. Presentazione di una tecnologia di estrazione solido-liquido innovativa, il Naviglio Estrattore, basata su un nuovo principio di e-*

- strazione: il Principio di Naviglio*. Atti del XVI Congresso Nazionale di Chimica Analitica. Portonovo (AN) 24–28 settembre 2001, 9–11.
- 6) Naviglio D., Ferrara L., Montesano D., Mele G., Naviglio B., Tomaselli M., Martini F., Pintonello M., Diana S., Saggiomo S., *Application of a new solid-liquid extraction technology for the production of lemon liqueur: Extractor Naviglio*. Italian Food & Beverage Technology 10 (26), 19–27, 2001.
 - 7) Naviglio D., Raia C., *Produzione del liquore e di estratti officinali dalle bacche e dalle foglie di Myrtus communis mediante impiego del Naviglio Estrattore®*. Atti del XVII Congresso Nazionale di Chimica Analitica, Viareggio (LU) 24–28 giugno 2002, 249.
 - 8) Naviglio D., *Naviglio's Principle and presentation of an innovative solid-liquid extraction technology: Extractor Naviglio®*. The 2002 Younger European Chemists' Conference, Heidelberg (Germany) 30 September–2 October 2002.
 - 9) Naviglio D., Raia C., Amato I., Villanova L., Troisi L., *Estrazione dei polifenoli dai residui di potatura dell'ulivo mediante impiego del Naviglio Estrattore®*. Atti del VII Congresso Nazionale di Chimica Ambientale, Venezia 11–14 giugno 2002, 155.
 - 10) Naviglio D., Raia C., Naviglio B., Tomaselli M., *Possibilità di impiego di una nuova tecnologia di estrazione solido-liquido nell'industria conciaria*. Atti del 37° Convegno Nazionale dei Chimici del Cuio – Poli Conciari e Confronti Tecnici, Serino (AV) 11–13 ottobre 2002.
 - 11) Ferrara L., Montesano D., Naviglio D., Chiantese C., *Estrazione e attività biologica di coloranti naturali: indaco e zafferano. Studio preliminare*. Atti del VIII Congresso Nazionale di Fitoterapia. Pontignano (Siena) 31 maggio–2 giugno 2002, 29.
 - 12) Ferrara L., Montesano D., Naviglio D., *Metodo rapido di estrazione per i coloranti naturali*. Piante Medicinali, 2002, vol. 1, n. 3, 142–144.
 - 13) Naviglio D., Raia C., Naviglio B., Tomaselli M., Bolognese A., Correale G., Manfra M., Saggiomo S., *Organoleptic evaluation of lemon liquors deriving from organic agriculture*. Italian Beverage Technology 32 (2), 8–14, 2003.

- 14) Naviglio D., *Naviglio's Principle and presentation of an innovative solid-liquid extraction technology: Extractor Naviglio®*. Analytical Letters 36 (8), 1647-1659, 2003.
- 15) Naviglio D., Raia C., Russo M., Aceto C., Somma A., Ferrara L., Montesano D., Manfra M., Correale G., Bolognese A., *Estrazione dell'olio essenziale di bergamotto*. Ingredienti Alimentari, vol. 2 n. 5 (10), 13-18, 2003.
- 16) Naviglio D., Raia C., Russo M., Senape V., Oriano A., Scarica P., *Studio di estratti di zafferano ottenuti per macerazione e con il Naviglio Estrattore®*. Atti del IX Congresso Nazionale di Fitoterapia. Salsomaggiore Terme (PR) 30 maggio-1 giugno 2003, 34.
- 17) Naviglio D., Raia C., Russo M., Aceto C., Guastaferrò R., D'Olivo E., *Estrazione dell'olio essenziale di bergamotto mediante l'impiego del Naviglio Estrattore®*. Atti del IX Congresso Nazionale di Fitoterapia. Salsomaggiore Terme (PR) 30 maggio-1 giugno 2003, 35.
- 18) Naviglio D., *Estrazione mediante l'impiego del Naviglio Estrattore®, del licopene dalle bucce di pomodoro e del legno di rovere per l'invecchiamento del vino e dei liquori*. Atti del X Congresso Nazionale di Fitoterapia. Fuggi (FR) 4-6 giugno 2004, 32-33.
- 19) Micali G., Cappellano G., Lo Coco F., Mondello F., Lanuzza F., *Nuova tecnologia di estrazione di principi attivi da piante officinali*. XXI Congresso Nazionale di Merceologia con partecipazione internazionale, Foggia 22-24 settembre 2004 (CD-ROM ISBN 8884590396 WIP Edizioni Bari).
- 20) Naviglio D., *Stato dell'arte del Naviglio Estrattore®. Apparecchi di seconda generazione: i modelli Timatic*. Atti del XI Congresso Nazionale di Fitoterapia. Chianciano Terme (SI) 3-5 giugno 2005, 33-36.
- 21) Naviglio D., Galardo G., *Metodologia analitica per il controllo della qualità dello zafferano e recupero degli scarti di lavorazione del liquorificio Strega-Alberti*. Atti del XI Congresso Nazionale di Fitoterapia. Chianciano Terme (SI) 3-5 giugno 2005, 36-37.
- 22) Basile A., Ferrara L., Del Pezzo M., Mele G., Sorbo S., Bassi P., Montesano D., *Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from Paullinia cupana*, Mart. Journal of Ethnopharmacology, 102 (1), 32-36, 2005.

- 23) Naviglio D., Pizzolongo F., Santini A., Ferrara L., Naviglio B., *Estrazione del licopene ad elevato grado di purezza dagli scarti di pomodoro*. Ingredienti Alimentari, n. 24, 2006, 11–14.
- 24) Naviglio D., Calabrese F., Pizzolongo F., Di Rubbo L., Mascolo N., Ludovici S., Polcaro A., *Produzione di amari ed elisir con impiego del Naviglio Estrattore in alternativa alla macerazione*. Industrie delle Bevande, n. 35, 2006, 561–572.
- 25) Naviglio D., *Naviglio's Principle and presentation of an innovative solid-liquid extraction technology: Extractor Naviglio®*. The 29th International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda (Italy) May 29–June 2, 2006.
- 26) Naviglio D., Polcaro A., *Produzione innovativa di amari ed elisir mediante impiego del Naviglio Estrattore nella fase di macerazione in alternativa alla macerazione*. Atti del XIII Congresso Nazionale di Fitoterapia. Tirrenia (PI) 1–3 giugno 2007, 38.
- 27) Naviglio D., Pizzolongo F., Romano R., Ferrara L., Naviglio B., Santini A., *An innovative solid-liquid extraction technology: use of the Naviglio Extractor for the production of lemon liquor*, African Journal of Food Science, 1, 42–50, 2007.

3. Seminari

- 1) Naviglio D., *Presentazione di una nuova tecnologia di estrazione, il "Naviglio Estrattore" (Brevettato), basata su un principio estrattivo innovativo. L'estrattore permette la realizzazione di una estrazione solido-liquido rapida e dinamica ed opera a basse temperature e ad alte pressioni; esso costituisce una valida alternativa ai metodi di estrazione solido-liquido attualmente esistenti*. Università degli Studi di Napoli "Federico II", Facoltà di Agraria, 21 luglio 2000.
- 2) Naviglio D., *Metodi innovativi di estrazione solido-liquido su matrici di interesse ambientale ed alimentare: presentazione di un nuovo metodo estrattivo*. Seconda Università degli Studi di Napoli, Facoltà di Scienze Ambientali, 27 novembre 2000.
- 3) Naviglio D., *Estrazione solido-liquido: stato dell'arte. Presentazione di una tecnologia di estrazione innovativa, il Naviglio E-*

strattore[®], basata su un nuovo principio di estrazione. Università degli Studi di Salerno, Facoltà di Scienze, 31 gennaio 2001.

- 4) Naviglio D., *Principio di Naviglio (Sulla estrazione solido-liquido)*. Convegno in memoria del prof. Arnaldo Liberti. Università La Sapienza, Roma 20–22 febbraio 2002.

Bibliografia

- Aa.Vv., *Le tecniche di estrazione di analiti da matrici alimentari complesse*, Atti Convegno n. 7, Lab2000Food, Morgan Edizioni Tecniche, 1999.
- Barnabas I.J., Dean J.R., Tomlison W.R., Owen S.P., *Experimental design approach for the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil using supercritical carbon dioxide*. *Anal. Chem.* 67, 2064–2069 (1995).
- Daneshfar A., Barzegar M., Ashraf-Khorassani M., Levy J.H., *Supercritical fluid extraction of phenoxy acids from water*. *J. High Resol. Chromatogr.* 18. 446–448 (1995).
- Femenia A., García-Marín M., Simal S., Rosselló C., Blasco M., *Effects of supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) oil extraction on the cell wall composition of almond fruits*. *J. Agric Food Chem.* 2001 Dec; 49 (12): 5828–34.
- Fritz S., *Analytical Solid-Phase Extraction*, Wiley-VCH, New York 1999.
- Giannuzzo A.N., Boggetti H.J., Nazareno M.A., Mishima H.T., *Supercritical fluid extraction of naringin from the peel of Citrus paradisi*. *Phytochem Anal.* 2003 Jul-Aug; 14 (4): 221–3.
- Hawthorne S.B., Galy A.B., Schmitt V.O., Miller D.J., *Effect of SFE flow rate on extraction rates: classifying sample extraction behavior*. *Anal. Chem.* 67, 2723–2732 (1995).
- Hills J.W., Hill H.H., *Carbon dioxide supercritical fluid extraction with a reactive solvent modifier for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons*. *J. Chromatogr. Sci.* 31, 6–12 (1993).
- Kenneth S., *Suslick*, *The Chemistry of ultrasound* (from *The Yearbook of Science & the Future* 1994; *Encyclopaedia Britannica*: Chicago 1994, pp. 138–155.).
- King J.W., Johnson J.H., Eller F.J., *Effect of supercritical carbon dioxide pressurized with helium on solute solubility during su-*

- percritical fluid extraction*. Anal. Chem. 67. 2288–2291 (1995).
- Polesello S., *Guida alla scelta: Metodi analitici con fluidi supercritici: Cromatografia in fase supercritica (SFC), estrazione in fase supercritica (SFE)*, Laboratorio 2000 gennaio/febbraio 1995.
- Reverchon E., Scherardi A., Fantozzi P., *Fluidi supercritici: applicazioni agroalimentari*, Raisa, Milano, 1993.
- Richter B.E. *et al*; *An accelerated solvent extraction system for the rapid preparation of environmental organic compounds in soil*, International laboratory, Maggio 1995, 18.
- Romele L., Polesello S., *Come minimizzare l'uso dei solventi*, Laboratorio 2000, Agosto–Settembre 1997, 102.
- Ruiz–Gutierrez V., Perez–Camino M.C., *Update on solid–phase extraction for the analysis of lipid classes and related compounds*. J. Chromatogr. A, 885, 321–341 (2000).

Siti internet visitati

<http://it.wikipedia.org>
<http://www.galenotech.org>
<http://www.nuovaestrazione.it>
<http://www.dionex.com>
<http://www.depurex88.it>

Finito di stampare nel mese di gennaio del 2008
dalla tipografia «Braille Gamma S.r.l.» di Santa Rufina di Cittaducale (Ri)
per conto della «Aracne editrice S.r.l.» di Roma

CARTE: Copertina: *Patinata opaca Bravomatt 300 g/m²* plastificata opaca; Interno: *Usomano bianco Selena 80 g/m²*
ALLESTIMENTO: Legatura a filo di refe / brossura

Stampa realizzata in collaborazione con la Finsol S.r.l. su tecnologia Canon Image Press