

Recupero di polifenoli da residui dell'industria alimentare

Da scarti di difficile smaltimento a preziosi ingredienti nel campo cosmetico

Beatrice Ferro, Paulina Tapia, Mònica Reig, Xanel Vecino, Mercè Granados, José Luis Cortina

Universitat Politècnica de Catalunya, Università di Barcellona, Barcellona (Spagna)

bea.ferro@hotmail.it

Parole chiave
B

Recovery of polyphenols from bio-food waste

From waste of difficult disposal to valuable ingredients in the cosmetic field

Summary

There is an increasing trend within the chemical industry to focus on the recovery of compounds of interest from various kinds of residuals. The aim of the industries is to handle properly the residues exploiting their potentiality, so valorizing their content. The attempt is to exploit production waste and obtain valuable compounds, such as polyphenols, that can be reused in different fields as additives, such as cosmetic industry. The cosmetic industry is in constant seek of solutions that may respond to the customers' demand, always looking for effective products, yet safe. Moreover, it would allow these wastes to be managed, since they could be hazardous for the environment if not properly managed and have to be treated properly for their organic content.

Riassunto

L'industria chimica moderna concentra gran parte delle sue risorse nella gestione dei residui che derivano dai diversi processi produttivi. L'obiettivo principale è gestire questi residui nel rispetto dell'ambiente, sfruttando la loro potenzialità e valorizzandone, quindi, il contenuto. L'intento è quello di ottenere, dagli scarti di produzione ricavati lungo tutto il processo, dei composti ad alto valore biologico che possano essere successivamente utilizzati come additivi in differenti campi, tra cui quello cosmetico. L'industria cosmetica è in costante ricerca di soluzioni che possano rispondere alle richieste dei consumatori, sempre più alla ricerca di prodotti efficaci ma imprescindibilmente sicuri. Non meno importante è il riscontro positivo che si otterrebbe dal trattamento di questi residui che, se smaltiti impropriamente, provocano la contaminazione di suolo e acque, proprio per il loro elevato contenuto organico.

Introduzione

Il presente lavoro sperimentale è focalizzato sull'attività di recupero di un tipo specifico di composti: i polifenoli da alcune matrici industriali quali residui che si originano durante il processo produttivo dell'olio di oliva e del vino. In particolare, per questo lavoro sono state impiegate due matrici solide: la sansa di oliva e le fecce di vino. L'obiettivo finale del progetto

di ricerca è l'identificazione dei polifenoli contenuti nelle matrici selezionate, la loro estrazione tramite tecniche specifiche e la loro successiva separazione tramite l'utilizzo di membrane per purificare specifici composti per il successivo utilizzo in campo industriale.

Composti antiossidanti: i polifenoli

I polifenoli appartengono alla famiglia degli antiossidanti, composti che per le loro particolari proprietà consentono di contrastare il fenomeno dell'ossidazione apportando effetti benefici. I polifenoli sono metaboliti secondari delle piante: derivano dalla risposta delle stesse all'ambiente (1). Essi non sono dei nutrienti, tuttavia numerosi studi dimostrano l'azione benefica di questi composti sulle malattie croniche (2).

Per il loro meccanismo di azione i polifenoli sono annoverati tra i composti che permettono di mitigare gli effetti dello stress ossidativo, una delle maggiori cause del fenomeno di invecchiamento della pelle (3). La sinergia di stress ossidativo e radiazioni UV contribuisce, inoltre, al degenerare di questo fenomeno, portando nei casi peggiori allo sviluppo di cancri della pelle. L'azione dei polifenoli per prevenire o mitigare gli effetti di questi problemi è multipla: essi offrono un supporto al sistema antiossidante endogeno della pelle e inibiscono la proteinasi, un enzima responsabile della degradazione del collagene e dell'elastina. Inoltre, l'azione come fotoprotettori permette un ulteriore contributo indiretto al sistema antiossidante proprio della pelle (3).

Si stima che più del 98% dei composti fenolici rimanga all'interno dei sottoprodotti dell'olio di oliva (4). La sansa di oliva è un sottoprodotto eterogeneo, di matrice solido-liquida, con elevato contenuto di umidità e olio; contiene parti di buccia, nocciolo e polpa dell'oliva. È oggetto di studio dato l'elevato contenuto di oleuropeina, acido caffeico, vanillico, cumarico e idrossitirosolo (5,6).

L'idrossitirosolo viene indicato come il polifenolo presente in maggior quantità (4), riconosciuto insieme all'oleuropeina per avere effetti positivi sulla pelle (7).

Le fecce di vino sono residui bifasici generati durante la fase di fermentazione del vino e sono oggetto di studio per l'elevato contenuto di acido gallico, catechina, acido caffeico e quercetina (8). Le applicazioni dei polifenoli estratti possono essere varie in diversi campi industriali; prodotti cosmetici contenenti polifenoli estratti dalla vinaccia sono stati commercializzati con successo (9).

Tecniche di estrazione e di separazione a membrana

Sono state studiate due tecniche di estrazione: l'estrazione accelerata con solvente (*Pressurized-Liquid Extraction*, PLE) e l'estrazione assistita da ultrasuoni (*Ultrasound Assisted Extraction*, UAE).

L'estrazione accelerata con solvente è un processo automatico in cui si possono selezionare diversi parametri quali la temperatura del solvente, il numero di cicli di estrazione e la durata degli stessi. Questa tecnica permette di utilizzare minori quantità di solvente mantenendo alta la resa di estrazione. L'estrazione si effettua con il solvente scelto in fase liquida ad alta temperatura: è necessario, perciò, impostare una pressione elevata per mantenerlo allo stato liquido (4). L'estrazione assistita da ultrasuoni è una tra le alternative più promettenti per l'estrazione di polifenoli, grazie alla sua versatilità e alla possibile implementazione a scala

industriale. Si caratterizza per l'impiego di ultrasuoni che permettono di ridurre la quantità di solvente utilizzato e il tempo di estrazione (10).

Per entrambe sono state individuate le condizioni operative ottime che permettono la più alta resa di estrazione.

Per valutare la resa estrattiva è stata utilizzata la cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC), al fine di identificare e quantificare i polifenoli contenuti all'interno delle matrici. Una volta nota la composizione degli estratti in termini di polifenoli, due miscele sintetiche sono state preparate per mimare la composizione degli estratti con cui sono state testate diverse membrane su scala di laboratorio, processando bassi volumi di campione. La separazione dei polifenoli tramite l'utilizzo di membrane è un processo complesso, le cui condizioni di lavoro permettono di evitare la degradazione di questi composti, generalmente sensibili a determinate condizioni di temperatura e pressione. L'assenza del solvente permette di eliminare i dispendiosi processi di rimozione dello stesso dal prodotto finale, così come il suo smaltimento.

La resa di queste tecniche si basa sull'interazione dei composti con la membrana stessa: la ritenzione è direttamente collegata alla grandezza della molecola presente nell'alimentazione. Molecole più grandi dei pori delle membrane verranno trattenute, mentre quelle più piccole permeeranno. È fondamentale, dato il meccanismo di separazione, considerare le possibili interazioni delle molecole target sia con la membrana sia con altri composti. I polifenoli possono per esempio interagire tra loro o con le proteine, creando composti di grandezza più elevata (11,12).

Lo scopo di questo lavoro è quindi quello di valutare l'affinità delle membrane verso i polifenoli selezionati, analizzando il contenuto del volume di permeato e del volume di retentato. In questa fase si utilizzano membrane di microfiltrazione in formato disco e di nanofiltrazione.

Materiali e Metodi

Con l'obiettivo finale di recuperare i polifenoli dalle matrici di derivazione industriale precedentemente indicate, il presente lavoro si sviluppa in due fasi parallele: ottimizzazione delle tecniche di estrazione e identificazione di membrane che posseggono elevata selettività nei confronti di specifici polifenoli. Gli esperimenti sono stati condotti all'Università di Barcellona (UB) e all'Universitat Politècnica de Catalunya (UPC-EEBE). La sansa di oliva è stata fornita dalle industrie Borges; le fecce di vino sono state fornite dalle cantine Torres.

Esperimenti di estrazione

Gli esperimenti relativi alle due tecniche estrattive sono stati condotti in parallelo per poter condurre entrambe le tipologie di estrazione allo stesso tempo e compararne i risultati.

Estrazione con solvente pressurizzata

Per eseguire l'estrazione, 1 g di campione di ogni residuo è stato pesato e successivamente mescolato a 2 g di terra diatomica adsorbente, aggiunto per migliorare l'estrazione rendendo omogenea la *texture* della miscela solida. La miscela ottenuta è stata posta all'interno dell'apposita camera di estrazione in acciaio inossidabile. Sono state condotte tre repliche per ciascun esperimento. Il solvente utilizzato è una soluzione di etanolo e acqua in diverse percentuali: i test sono stati condotti a diverse temperature (80, 100, 120°C) e a diversa percentuale di etanolo (40, 60, 80%). Inizialmente è stato svolto un ciclo di estrazione della durata di cinque minuti; successivamente, una volta individuate la temperatura e la composizione del solvente ottimali, è stato aumentato il numero di cicli (1, 2 o 3) e la durata dell'estrazione (5, 10 e 15 minuti). L'estrazione è stata effettuata in un apparato Dionex ASE 350 a una pressione di 10 bar; l'estratto è stato poi centrifugato per 15 minuti a 3500 rpm e successivamente filtrato con l'aiuto di una siringa e due diversi filtri, un filtro in poliammide da 0,45 µm e uno in Nylon da 0,22 µm, in maniera da rimuovere le particelle residue che avrebbe potuto inficiare l'analisi dei risultati e il corretto funzionamento dell'HPLC.

Estrazione assistita da ultrasuoni

Nel caso di questa tecnica estrattiva, le condizioni ottimali di estrazione erano già state individuate nelle fasi precedenti del progetto di ricerca in cui si inserisce questo lavoro. Anche in questo caso, 1 g di campione è stato pesato per ogni residuo per poter comparare in maniera efficace i risultati delle due tecniche estrattive; ad esso sono stati aggiunti 20 mL di solvente, la cui composizione era già stata stabilita per entrambi i residui: EtOH/H₂O/HCl 80/19,5/0,5 (v/v) per le fecce di vino ed EtOH/H₂O/HCl 60/39/1 (v/v) per la sansa di oliva. Sono state condotte tre repliche per ciascun esperimento in un bagno a ultrasuoni, Branson 5510, con una durata di 30 minuti e una frequenza degli ultrasuoni di 40 kHz. I processi di purificazione e stabilizzazione a valle dell'estrazione sono i medesimi descritti nel paragrafo precedente.

Esperimenti di separazione con membrane

Diverse tipologie di membrane sono state testate per individuare quale tra queste possedesse maggiore affinità con

i polifenoli studiati. I test sono stati condotti con miscele sintetiche di polifenoli per mimare la composizione degli estratti effettivi e porre le basi alla successiva fase di sperimentazione, dove gli estratti vengono trattati attraverso le membrane selezionate in questa fase.

Le due miscele sintetiche, una per ogni tipo di residuo, sono state ottenute nota la composizione dei vari estratti. La composizione di ogni miscela è presentata nella *Tabella 1* e nella *Tabella 2*.

Polifenoli standard	Concentrazione (mg/L)
Acido Omogentisico	9
2- (3,4 diidrossifenil) Etil Alcol	17
Acido Caffeico	12
Acido p-cumarico	4
Oleuropeina	44
Luteolina	15

Tabella 1 - Composizione iniziale della miscela sintetica (sansa di oliva)

Polifenoli standard	Concentrazione (mg/L)
Acido Gallico	5
Acido 3,4 diidrossibenzoico	8
Catechina	12
Acido 4-idrossibenzoico	14
Acido Siringico	7
Etil Gallato	25
Esperidina	7
Resveratrolo	3
Quercetina	127

Tabella 2 - Composizione iniziale della miscela sintetica (fecce di vino)

Per valutare la resa e i risultati delle diverse tecniche, si è quantificata per ogni esperimento la concentrazione nell'alimentazione e nel permeato, in modo da calcolare per ogni polifenolo l'efficienza di ritenzione come da seguente formula.

$$R = 1 - \frac{C_p}{C_A}$$

I valori C_p e C_A si riferiscono alla concentrazione del composto nel permeato e nell'alimentazione (kg/m^3), rispettivamente.

Due diverse tecniche sono state testate: microfiltrazione con dischi e nanofiltrazione. Per ogni membrana sono state effettuate due ripetizioni.

Microfiltrazione

Tre diversi filtri sono stati testati, differenti per dimensione dei pori, rispettivamente di 0,1, 0,45 μm (Sartorius Stedim Biotech SA) e 0,22 μm in nylon (FILTER-LAB). Per operare la filtrazione, nella parte inferiore del dispositivo (in vetro, capacità 25 mL) è stato creato il vuoto, in modo da permettere la filtrazione di 5 mL di miscela inseriti dall'alto. Il volume permeato è stato analizzato tramite HPLC.

Nanofiltrazione

Cinque diverse membrane sono state testate: sono state ricavate con un'area di circa 7 cm^2 e immerse in acqua Milli-Q per rimuovere i residui formati durante il periodo di conservazione. Le membrane utilizzate sono la NF270 (DOW Chemical), NF90 (DOW Chemical), TFCS (Koch Membrane Systems), TFC-HR (Koch Membrane Systems) e DURACID (Suez Environment). Inizialmente è stata utilizzata aria pressurizzata a 7 bar; tuttavia, data l'elevata resistenza dimostrata da alcune membrane al passaggio di liquido, è stato successivamente utilizzato azoto, con una pressione che andava dagli 8 agli 11,5 bar. 3 mL di miscela sono stati processati e il volume di permeato è stato utilizzato per le successive analisi. I campioni ottenuti sono stati analizzati tramite HPLC.

Analisi dei risultati tramite HPLC

HPLC è stata utilizzata per ottenere i risultati dei processi di estrazione e di separazione. L'apparecchio è un cromatografo Agilent Series 1100 (Agilent Technologies, Palo Alto, California, USA) accoppiato a una colonna cromatografica che lavora a fase inversa Kinetex C18 (100 mm x 4,6 mm, 2,6 μm). La fase mobile è formata da una fase acquosa con lo 0,1% di acido formico e da acetonitrile. I gradienti utilizzati sono diversi a seconda che si analizzino i risultati dei processi di estrazione o di separazione.

I cromatogrammi vengono ottenuti a 3 diverse lunghezze d'onda: 280, 310 e 370 nm. Ogni picco individuato corrisponde a un composto specifico e l'area sottesa al picco è proporzionale alla sua concentrazione.

Per questa ragione, data la sensibilità dell'apparecchiatura nei confronti dei vari polifenoli, viene costruita una retta di calibrazione per ciascuno di essi per poter valutare i risultati ottenuti.

Sono state effettuate tre diverse repliche per i processi estrattivi (per ogni combinazione di solvente/temperatura) e due diverse repliche per i processi di separazione tramite membrana. È stato poi calcolato il valore medio per poter analizzare e comparare i risultati.

Discussione e Conclusioni

Risultati dei processi di estrazione

I risultati ottenuti con le due tecniche estrattive introdotte in precedenza sono mostrati nella *Tabella 3* e nella *Tabella 4*.

$\frac{\text{g}_{\text{estratto(GAE)}}}{\text{kg}_{\text{residuo}}}$ Sansa di oliva (Borges)			
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	80	100	120
40% EtOH	4,19 \pm 0,38	4,74 \pm 0,36	4,59 \pm 0,39
60% EtOH	4,54 \pm 0,22	4,69 \pm 0,27	4,67 \pm 0,01
80% EtOH	2,87 \pm 0,49	2,32 \pm 0,40	3,68 \pm 0,73

Tabella 3 - Risultati PLE (sansa di oliva)

$\frac{\text{g}_{\text{estratto(GAE)}}}{\text{kg}_{\text{residuo}}}$ Fecce di vino (Bodega Torres)			
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	80	100	120
40% EtOH	1,08 \pm 0,09	1,30 \pm 0,22	1,12 \pm 0,09
60% EtOH	1,82 \pm 0,04	1,93 \pm 0,10	1,75 \pm 0,04
80% EtOH	1,36 \pm 0,29	1,74 \pm 0,29	2,17 \pm 0,10

Tabella 4 - Risultati PLE (fecce di vino)

Ciascun risultato riportato è la media dei tre valori di estrazione ottenuti nelle tre diverse repliche effettuate per ogni combinazione di temperatura e percentuale di solvente. Come si può vedere dalle due tabelle precedenti, è stato possibile individuare le condizioni ottime di estrazione, nonostante la differenza tra i valori ottenuti sia in alcuni casi minima. Date queste minime discrepanze è possibile valutare in maniera critica i risultati per individuare la condizione ottimale che permetta di ottenere un compromesso tra resa estrattiva, consumo di solvente e consumi energetici in termini di temperatura. Nel caso della sansa di oliva, la concentrazione di estratto maggiore si ottiene lavorando a 100 $^{\circ}\text{C}$ con una soluzione al 40% di etanolo. La *Figura 1* mostra l'andamento dell'estrazione con temperatura e percentuale di etanolo.

Come si può vedere, la composizione del solvente è il fattore che influenza maggiormente la resa estrattiva, con valori minimi ottenuti quando si opera con una percentuale pari all'80%. La concentrazione maggiore si ottiene lavorando a 100 $^{\circ}\text{C}$ con una soluzione al 40% di etanolo.

È possibile quindi lavorare con la percentuale minima di solvente, riducendo i costi del solvente stesso e delle eventuali operazioni successive per la sua rimozione dal prodotto finale.

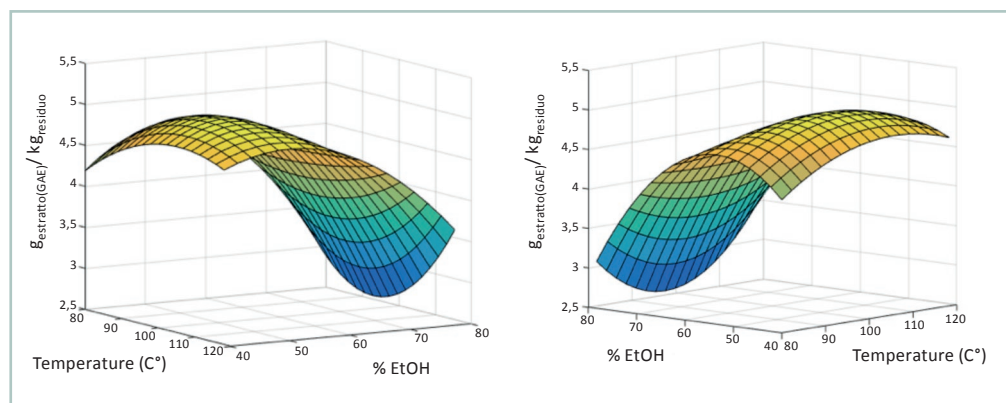


Figura 1 - Rappresentazione 3D dei risultati del PLE per la sansa di oliva

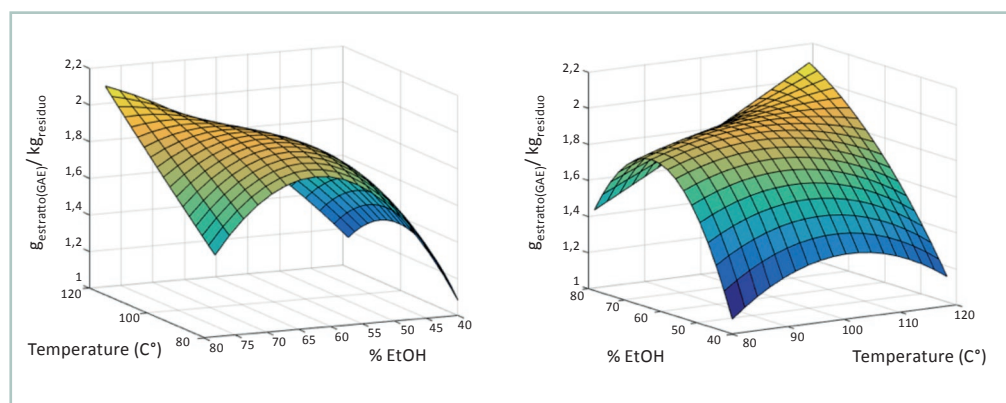


Figura 2 - Rappresentazione 3D dei risultati del PLE per le fecce di vino

La Figura 2 invece mostra i risultati dell'estrazione delle fecce di vino.

Dalla Figura 2 si può notare come a 120°C e all'80% di etanolo si registra un insolito incremento nella resa di estrazione. La formazione di nuovi picchi e la scomparsa di altri nel cromatogramma hanno però portato a scartare questi dati, poiché questi cambiamenti si possono addurre alla degradazione di alcuni composti fenolici presenti nelle matrici da trattare. La concentrazione più elevata si ottiene a 100°C, con una percentuale di etanolo pari al 60%. In questo caso, diminuendo la temperatura è comunque possibile ottenere una buona resa estrattiva, riducendo i costi energetici.

Una volta ottenute le condizioni ottimali per un ciclo della durata di 5 minuti, il numero dei cicli e la durata degli stessi sono stati incrementati. Nel caso della sansa di oliva, le condizioni ottimali di estrazione si sono confermate operando con un unico ciclo di 5 minuti; diversamente, per l'estrazione delle fecce di vino, incrementare il numero di cicli a 2 ha migliorato la resa di estrazione, mantenendone la durata a 5 minuti. Incrementando il numero di cicli si è ottenuta una concentrazione pari a $2 \pm 0,23$ g_{estratto(GAE)}/kg_{residuo}.

La Tabella 5 riassume le condizioni operative determinate in

questa fase per entrambe le tecniche di estrazione.

In seguito alla determinazione delle condizioni operative, è necessario determinare per ogni residuo quale tecnica permette la migliore estrazione. La Figura 3 mostra il confronto tra le due tecniche per la sansa di oliva. L'estrazione pressurizzata con solvente permette una resa estrattiva maggiore, con una concentrazione finale di $4,74 \pm 0,36$ g di estratto per kg di residuo, paragonata all'estrazione assistita da ultrasuoni con la quale si ottiene una concentrazione inferiore di $4,12 \pm 0,17$ g di polifenoli estratti per kg di residuo. Con le stesse modalità, la Figura 4 mostra il confronto fra le due tecniche per l'estrazione di fecce di vino.

Diversamente dal caso precedente, l'estrazione assistita da ultrasuoni permette una resa estrattiva più elevata delle fecce di vino, con una concentrazione di $3 \pm 0,16$ g di polifenoli estratti per kg di feccia di vino. In uno studio simile, è stata implementata la medesima tecnica su questo residuo specifico: in questo caso la composizione del solvente è risultata differente, ovvero EtOH/H₂O 50/50 (v/v) (13). Questa differenza può dipendere dal fatto che la composizione di ogni residuo può variare a seconda delle condizioni climatiche e di altri fattori che influenzano la produzione stessa. Altri studi si sono concentrati sull'applicazione dell'e-

Matrice	Tecnica	Condizioni operative ottime
Sansa di oliva	PLE	EtOH/H ₂ O 40/60 (v/v) 100°C 1 ciclo 5 minuti
	UAE	EtOH/H ₂ O/HCl 60/39,9/0,1 (v/v/v) 30 minuti
Fecce di vino	PLE	EtOH/H ₂ O 60/40 (v/v) 100°C 2 cicli 5 minuti
	UAE	EtOH/H ₂ O/HCl 80/19,5/0,5(v/v/v) 30 minuti

Tabella 5 - Condizioni di estrazione ottime per PLE e UAE

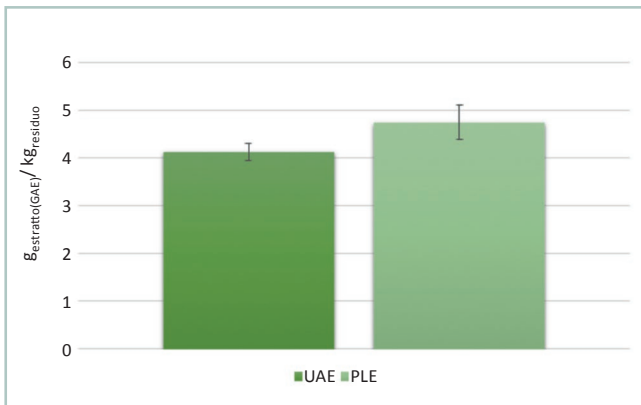


Figura 3 - Confronto tra le tecniche estrattive (sansa di oliva)

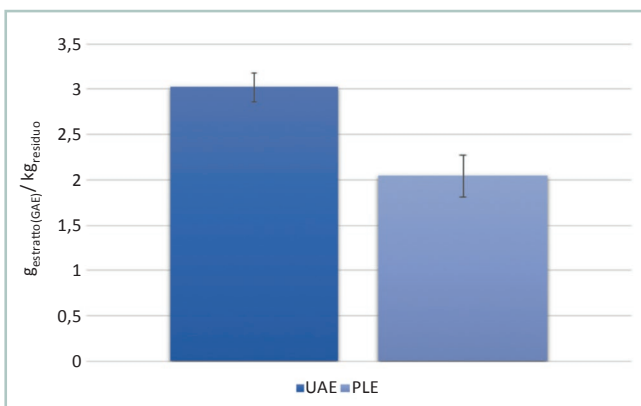


Figura 4 - Confronto tra le tecniche estrattive (fecce di vino)

strazione pressurizzata con solvente. Nonostante in questo caso risulti la meno efficace tra le due tecniche studiate, la differenza in termini di resa non è elevata; è quindi interessante valutare la possibilità di implementare questa tecnica utilizzando come solvente l'acqua, sostituendo solventi più cari e potenzialmente tossici (14).

Dai risultati ottenuti, la sansa di oliva risulta una fonte più ricca in polifenoli delle fecce di vino. L'estrazione assistita da ultrasuoni permette tuttavia applicazioni a scala industriale, diversamente dal PLE, e un minor uso di solvente.

Separazione tramite membrana

L'efficienza di ritenzione è stata calcolata secondo l'equazione 1 per valutare il rendimento di ogni membrana testata. L'obiettivo di ritenzione è stato fissato al 70%.

Microfiltrazione: fecce di vino e sansa di oliva

Due composti appartenenti alla miscela corrispondente agli estratti di fecce di vino hanno

mostrato una ritenzione diversa da zero, l'acido gallico e la quercetina, ma i valori di ritenzione ottenuti sono troppo bassi per ritenere la separazione attuata efficace. La microfiltrazione è stata oggetto di studio nella separazione dei polifenoli: in uno studio del 2015 (15) è stata provata l'efficienza di questa tecnica, separando il 21% dei polifenoli nel permeato. Questa discrepanza dei risultati si può addurre alle possibili interazioni tra i diversi polifenoli; inoltre, nel sopramenzionato studio gli effluenti vengono processati direttamente, mentre qui si lavora con miscele sintetiche.

Dopo un'accurata pulizia, la seconda miscela corrispondente agli estratti di sansa di oliva è stata processata per microfiltrazione. L'andamento riscontrato è differente dal precedente: con il filtro da 0,45 µm nessun polifenolo ha mostrato ritenzione, mentre gli altri due filtri hanno permesso la separazione di alcuni polifenoli, ma con valori troppo bassi per essere ritenuti validi allo scopo prefissato. Anche in questo caso la microfiltrazione si è dimostrata inefficace.

Nanofiltrazione: fecce di vino

Cinque diverse membrane sono state testate: nel caso specifico di questa miscela è stato necessario scartare una membrana, la TFC-HR, poiché i risultati di una ripetizione non hanno trovato corrispondenza nell'altra, rendendo inservibili i valori riscontrati. Tra i polifenoli contenuti nella miscela, la quercetina ha dimostrato un'elevata ritenzione con tutte le membrane, intorno al 100%. La Figura 5 mostra i valori di ritenzione per i polifenoli che hanno mostrato elevata affinità con la membrana, oltre la quercetina.

Come si può notare dalla figura precedente, gli unici valori di ritenzione competitivi con quelli della quercetina sono

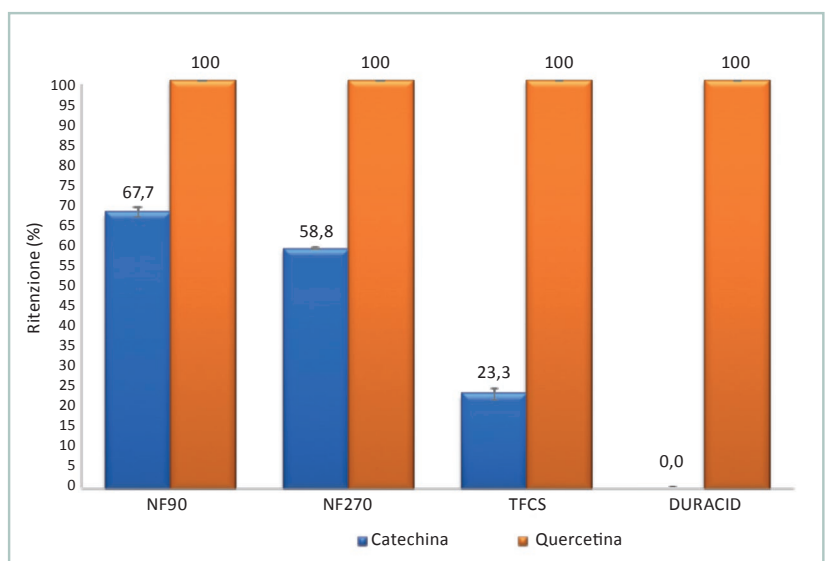


Figura 5 - Risultati della nanofiltrazione per la catechina e la quercetina

quelli relativi alla catechina, nonostante siano essi inferiori all'obiettivo stabilito del 70%. La membrana DURACID ha mostrato un'elevata selettività per la quercetina, per cui è possibile ottenere una completa separazione dagli altri composti presenti. Per questo motivo, questa specifica membrana è un'ottima candidata per implementare la separazione di questo composto. La *Figura 6* è uno schema della membrana stessa, dove si può notare il grado di separazione nei due volumi generati. La quercetina è un flavonoide anticancerogeno, antivirale e antinfiammatorio, nonché un agente antiobesità (16). Dato l'elevato interesse di questo composto e la sua bassa biodisponibilità, la quercetina è oggetto di numerosi studi che tentano di risolvere il problema legato alla sua somministrazione.

Nanofiltrazione: sansa di oliva

Successivamente, la seconda miscela è stata processata: in questo caso la prestazione di tutte le membrane è stata valutata con successo. Tuttavia, non è stato possibile valutarla per uno specifico composto, l'acido omogentisico, poiché non è stato possibile individuarlo nel cromatogramma corrispondente alla miscela iniziale. Il lasso di tempo intercorso tra gli esperimenti di microfiltrazione e nanofiltrazione può aver permesso l'innesco di meccanismi di degradazione a carico di questo composto. I risultati relativi ai composti che hanno mostrato alti valori di ritenzione sono mostrati in *Figura 7*.

I polifenoli per cui si sono registrati valori significativi di ritenzione sono la luteolina e l'oleuropeina, rispettivamente del 97,6 e 78,5%, utilizzando la membrana

TFC-HR. Per l'acido caffeico, presente in *Figura 7*, è stata registrata una ritenzione del 62,3%, elevata ma al di sotto della soglia prestabilita. Un quadro più completo si può evincere dalla *Figura 8*, dove quest'ultimo composto viene riportato nella corrente di permeato.

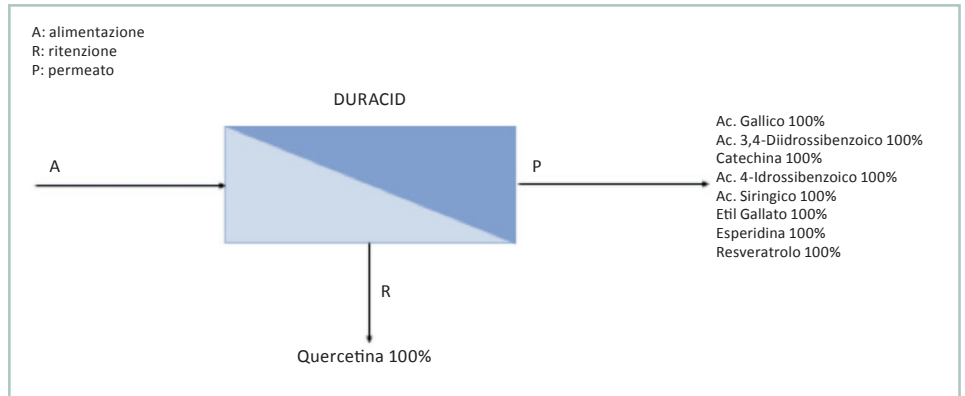


Figura 6 - Schema DURACID

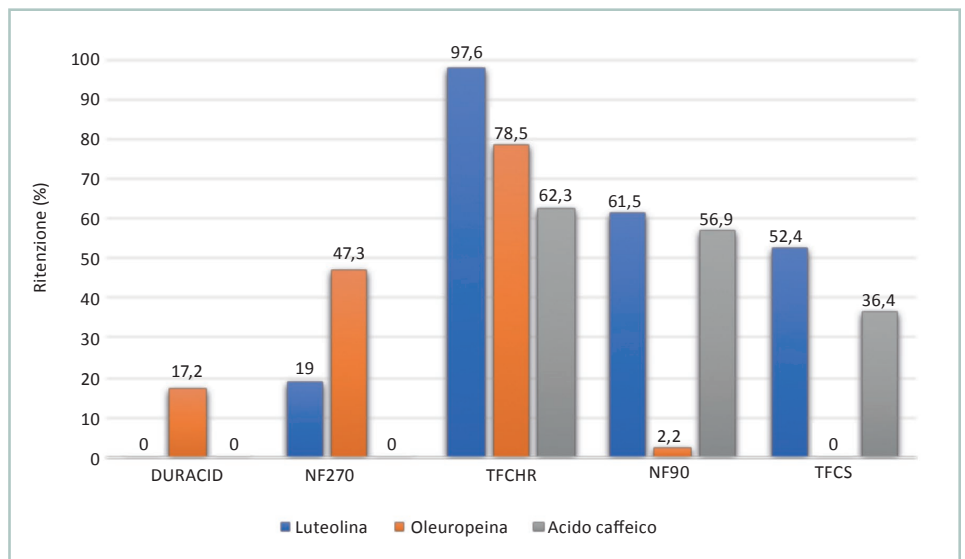


Figura 7 - Risultati della nanofiltrazione per la luteolina, oleuropeina e l'acido caffeico

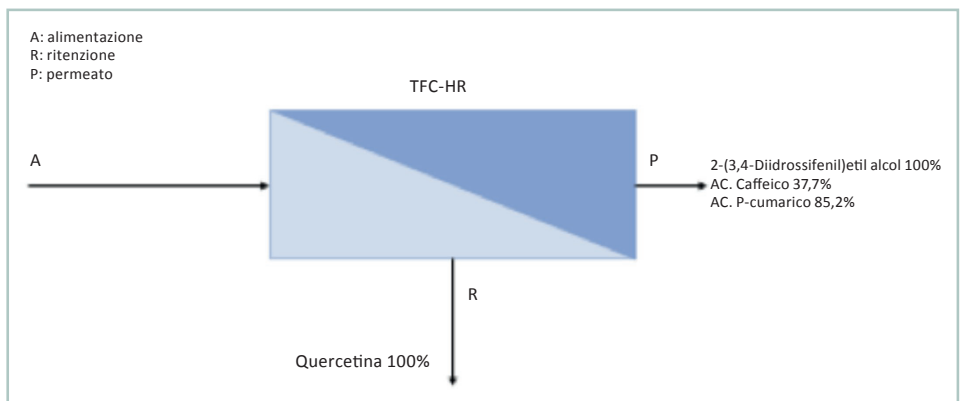


Figura 8 - Schema TFC-HR

Dalla figura precedente si può notare la possibilità di sfruttare entrambi i volumi derivanti dalla filtrazione, rendendo questa membrana la più efficiente tra le cinque testate. Tra i polifenoli già menzionati troviamo l'idrossitrisolo e la oleuropeina, la cui separazione è di elevato interesse in campo cosmetico.

Le proprietà dei composti fenolici rendono questa classe di antiossidanti oggetto di innumerevoli studi e accrescono l'interesse nel loro recupero da residui industriali. L'industria cosmetica si sta muovendo verso prodotti sempre più naturali ma parimenti efficaci. Il valore aggiunto nell'utilizzo di questi composti così recuperati risiede nella possibilità di poter ridare vita a ciò che altrimenti verrebbe dismesso, con le conseguenti problematiche ambientali implicate nel processo di smaltimento.

In questo lavoro due tecniche di estrazione non convenzionali sono state investigate per poter individuare le migliori condizioni estrattive in termini di resa, costi e caratteristiche del solvente. Un approccio più innovativo consiste nell'accoppiare il processo di estrazione con processi di separazione a membrana per ottimizzare la separazione e purificazione dei polifenoli.

Con i risultati iniziali di questa ricerca, è stata dimostrata la possibilità di poter utilizzare tecniche estrattive in maniera efficace, controllando i parametri in modo da ottenere una resa estrattiva ottimale. È stato inoltre possibile evidenziare l'efficacia dell'implementazione di processi di separazione a membrana, che permettono non solo di separare i differenti composti estratti, ma anche di isolarne di specifici, giocando con le combinazioni tra le diverse tipologie di membrane.

Questa ricerca muove i primi passi nel riconoscimento delle potenzialità dei residui industriali, della loro ricchezza e possibile riutilizzo di composti ad alto valore biologico.

I passi successivi consisteranno nel proseguire con i test di separazione utilizzando gli estratti reali con le diverse membrane identificate negli step precedenti. In questa fase sarà fondamentale identificare in maniera completa la composizione dei volumi estratti per ottimizzare l'abbinamento estrazione-separazione e portare a una completa purificazione composti di interesse cosmetico come l'idrossitrisolo e la quercetina, di cui i residui trattati sono ricchi.

Bibliografia

- Oroian M, Escriche I (2015) Antioxidants: Characterization, Natural Sources, Extraction and Analysis. *Food Res Int* 74:10-36
- Acosta O, Vaillant F, Pérez AM *et al* (2014) Potential of Ultrafiltration for Separation and Purification of Ellagitannins in Blackberry (*Rubus sdenotrichus* Schldl.) Juice. *Sep Purif Technol* 125:120-125
- Zillich OV, Schweiggert-Weisz U, Eisner P *et al* (2015) Polyphenols as Active Ingredients for Cosmetic Products. *Int J Cosmet Sci* 37(5):455-464
- Araújo M, Pimentel FB, Alves RC *et al* (2015) Phenolic Compounds from Olive Mill Wastes: Health Effects, Analytical Approach and Application as Food Antioxidants. *Trends Food Sci Tech* 45(2):200-211
- Ruiz E, Romero-García JM, Romero I *et al* (2017) Olive-Derived Biomass as a Source of Energy and Chemicals. *Biofuel Bioprod Bior* 11(6):1077-1094
- Nunes MA, Pimentel FB, Costa ASG *et al* (2016) Olive By-Products for Functional and Food Applications: Challenging Opportunities to Face Environmental Constraints. *Innov Food Sci Emerg* 35:139-148
- Rodrigues F, Pimentel FB, Oliveira MBPP (2015) Olive By-Products: Challenge Application in Cosmetic Industry. *Ind Crop Prod* 70:116-124
- Kopsahelis N, Dimou C, Papadaki A *et al* (2018) Refining of Wine Lees and Cheese Whey for the Production of Microbial Oil, Polyphenol-rich Extracts and Value-added Co-products. *J Chem Technol Biot* 93(1):257-268
- Beres C., Costa GNS, Cabezedo I *et al* (2017) Towards Integral Utilization of Grape Pomace from Winemaking Process: A Review. *Waste Management* 68:581-594
- Tiwari BK (2015) Ultrasound: A Clean, Green Extraction Technology. *Trends Anal Chem* 71:100-109
- Cassano A, De Luca G, Conidi C *et al* (2017) Effect of Polyphenols-Membrane Interactions on the Performance of Membrane-Based Processes. A Review. *Coord Chem Rev* 351:45-75
- Bazinet L, Doyen A (2017) Antioxidants, Mechanisms, and Recovery by Membrane Processes. *Crit Rev Food Sci Nutr* 57(4):677-700
- Tao Y, Wu D, Zhang Q-A *et al* (2014) Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolics from Wine Lees: Modeling, Optimization and Stability of Extracts during Storage. *Ultrason Sonochem* 21(2):706-715
- Poveda JM, Loarce L, Alarcón M *et al* (2018) Revalorization of Winery By-Products as Source of Natural Preservatives Obtained by Means of Green Extraction Techniques. *Ind Crop Prod* 112:617-625
- Giacobbo A, Matos J, Meneguzzi A *et al* (2015) Microfiltration for the Recovery of Polyphenols from Winery Effluents. *Sep Purif Technol* 143:12-18
- Maalik A, Khan FA, Mumtaz A *et al* (2014) Pharmacological Applications of Quercetin and Its Derivatives: A Short Review. *Trop J Pharm Res* 13(9):1561-1566