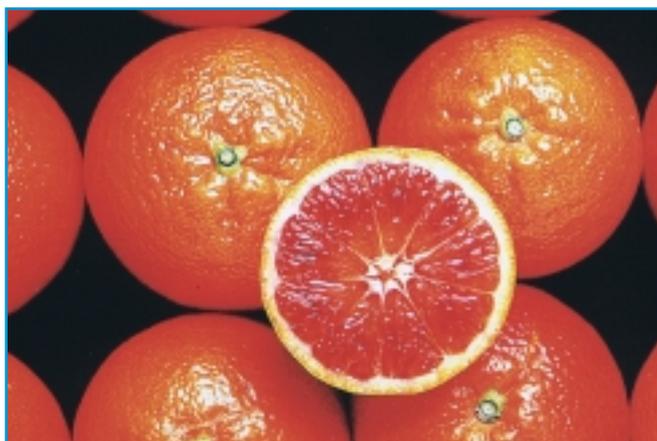


Valorizzazione di reflui agroindustriali

di Raffaele Saladino, Roberta Bernini ed Enrico Mincione

Vengono descritti alcuni esempi di reflui caratteristici della produzione agroindustriale evidenziando la possibilità di un loro impiego come fonti rinnovabili di prodotti organici biologicamente attivi. Tali prodotti possono trovare un impiego diretto dopo estrazione e purificazione, o possono essere utilizzati come substrati (altrimenti difficilmente reperibili o molto costosi) per la sintesi di prodotti della chimica fine, di integratori alimentari, di additivi per la cosmesi, o di farmaci.



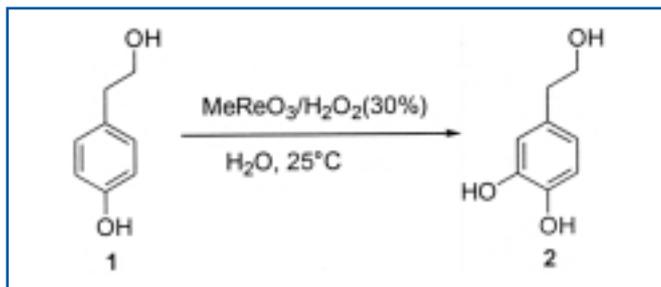
In un recente articolo apparso nella sezione Innovazione su *La Chimica e l'Industria* [1] abbiamo descritto alcuni esempi di applicazione della catalisi eterogenea di ossidazione per la valorizzazione di reflui agroindustriali. Riprendiamo in questo articolo l'argomento arricchendolo di ulteriori informazioni e riportando in maggiore dettaglio alcuni esempi che riteniamo di particolare interesse. Descriveremo quattro diverse tipologie di reflui agroindustriali "valorizzabili": i reflui della produzione elaiotecnica, della produzione enologica, della lavorazione degli agrumi e della produzione degli anacardi.

Reflui della produzione elaiotecnica

Nell'area del bacino del Mediterraneo la produzione di olio di oliva genera annualmente più di 3×10^7 m³ di un effluente comunemente denominato acque reflue di frantoio (ARF) [2]. Le ARF presentano un elevato carico organico e sono caratterizzate da una tossicità non trascurabile attribuita prevalentemente alla componente fenolica, presente in una quantità che può variare da 1,5 a 8,0 g/l in funzione della località di origine e del particolare processo di produzione impiegato [3]. I derivati fenolici di basso e medio peso molecolare sono tossici già a concentrazioni di pochi µg/l e sono persistenti nell'ambiente a causa della loro elevata stabilità e resistenza alla biodegradazione. Queste caratteristiche hanno determinato l'iscrizione di numerosi derivati fenolici nelle liste dell'ente americano Us-Epa (Agenzia di Protezione dell'Ambiente) tra i potenziali agenti inquinanti delle falde freatiche [4] e nella recente direttiva 76/464 della Cee tra le sostanze pericolose per il comparti-

mento acquatico. Sebbene l'attuale normativa preveda la possibilità di "sversamento" controllato delle ARF sul terreno la loro tossicità determina importanti problemi di impatto ambientale. Nelle ARF sono presenti numerosi derivati fenolici a basso peso molecolare tra i quali catecolo, acidi 4-idrossi-, 3,4-diidrossi-, 4-idrossi-3,5-dimetossi-benzoico, acidi 4-idrossi- e 3,4-diidrossifenilacetico, 2-(4-idrossi-3-metossi)feniletanolo, 2-idrossi-2-(3,4-diidrossi)feniletanolo, acidi sinapico, idrossicinammico, ferulico, caffeico e, in quantità maggiore, tirosolo (4-idrossifenetil alcol) e idrossitirosolo (3,4-diidrossi fenetil alcol) [5]. La frazione delle ARF contenente questi composti può essere smistata dopo filtrazione dei corpi solidi in sospensione tramite processi di ultrafiltrazione, nanofiltrazione e osmosi inversa [6]. Potenzialmente tutti questi composti possono rivestire un interesse applicativo nella chimica fine o essere trasformati, preferibilmente con tecniche ecocompatibili, in derivati ad alto valore aggiunto, permettendo di considerare le ARF come fonte di prodotti organici alternativa o complementare a quella petrolchimica. Per ragioni di spazio si descriverà in dettaglio l'esempio dell'idrossitirosolo. L'idrossitirosolo è caratterizzato da un'elevata attività antiossidante, che risulta comparabile con quella di usuali antiossidanti sintetici tra i quali 2,6-ditert-butil-*p*-idrossitoluene (BHT) e 3-tert-butil-6-idrossianisolo (BHA) [7]. In particolare, l'idrossitirosolo contribuisce alla stabilità dell'olio di oliva [8] al quale può essere aggiunto come additivo conferendogli proprietà dietetiche [9]. L'idrossitirosolo è un tipico prodotto della chimica fine ottenuto per sintesi totale in piccole quantità e venduto da ditte specializzate a prezzi elevati (mediamente 3.000 euro/g). La sintesi dell'idrossitirosolo avviene in più stadi con la riduzione dell'acido 3,4-diidrossifenilacetico come passaggio più rilevante [10]. La possibilità di disporre di grandi quantità di idrossitirosolo tramite valorizzazione delle ARF rappresenta quindi un

R. Saladino, R. Bernini, E. Mincione, Dipartimento di Agrobiologia ed Agrochimica -Università della Tuscia - Via S. Camillo de Lellis - 01100 Viterbo. saladino@unitus.it



Schema 1 - Ossidazione catalitica del tirosolo 1 ad idrossitirosolo 2

obiettivo di un certo interesse. In questo caso il processo di valorizzazione può consistere non solo nel diretto recupero dell'idrossitirosolo presente nelle ARF ma soprattutto nello sviluppo di metodi catalitici ecocompatibili ed economicamente sostenibili per la trasformazione del tirosolo, l'altro componente prevalente delle ARF, in idrossitirosolo. Esistono diverse procedure catalitiche che possono essere applicate per la reazione di orto-idrossilazione selettiva (che può in linea di principio essere realizzata anche tramite sintesi di un orto-chinone derivato come intermedio), ma nel caso dell'idrossitirosolo queste metodiche non hanno portato ai risultati desiderati soprattutto a causa di una reattività troppo elevata dei sistemi ossidanti. Risultati interessanti possono essere invece ottenuti tramite impiego del metiltrirosso renio (MeReO_3 , MTO), un catalizzatore molto efficiente nelle reazioni di ossidazione con H_2O_2 diluita come ossidante primario [11], da noi recentemente impiegato per esempio nella sintesi selettiva di derivati 5,6-ossiranicici delle basi pirimidiniche implicati nei processi di mutazione degli acidi nucleici. Risultati preliminari indicano la possibilità di impiegare il sistema MTO/ H_2O_2 in H_2O a temperatura ambiente per ossidare il tirosolo 1 ad idrossitirosolo 2 (Schema 1) [12]. Sebbene allo stato attuale la conversione della reazione non sia ancora soddisfacente (pari circa al 30%) la resa nel prodotto (calcolata sul materiale convertito) risulta quantitativa (>98%) facendo ben sperare per una possibile ulteriore ottimizzazione del processo.

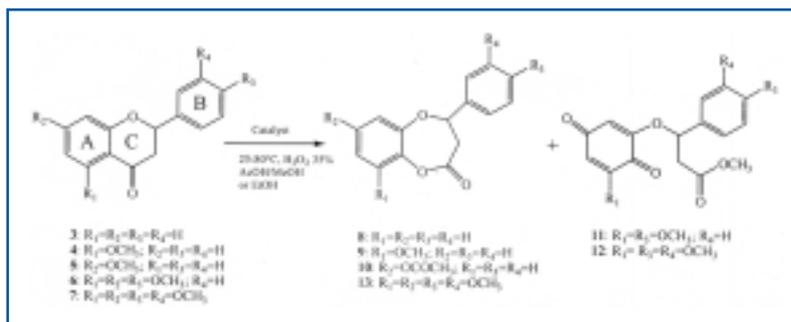
È importante sottolineare come in questo esempio al processo di "valorizzazione" sia associata anche una parziale rimozione della componente organica tossica del refluo, un obiettivo importante che bisognerebbe tentare di raggiungere in tutte le situazioni possibili.

Reflui della produzione enologica e dell'industria degli agrumi

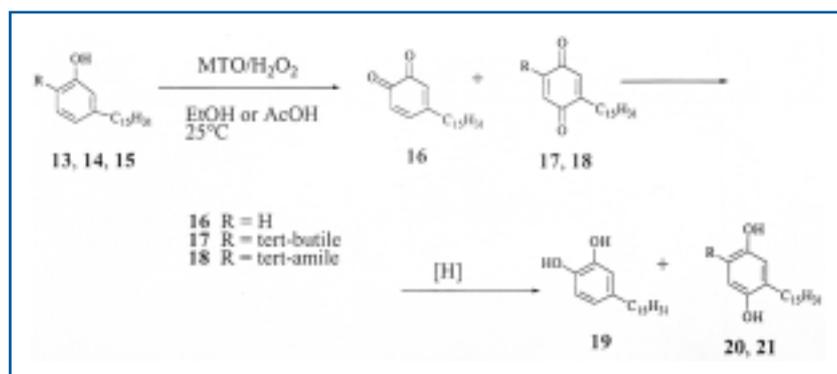
La produzione media annuale di vino a livello mondiale ammonta a 265 milioni di ettolitri (media dai dati FAO per gli anni 1990/1994), di cui 168 milioni proveniente dai paesi dell'Unione Europea (media dati UE per gli anni 1990/1994). L'attività vitivinicola rappresenta un settore di rilievo nell'ambito del sistema agroalimentare italiano che coinvolge almeno un milione di aziende agricole e circa 9.000 imprese industriali. L'attività di vinificazione produce come residuo la vinaccia, che è costituita in generale dalla buccia, dal raspo a dai vinaccioli degli acini, e un refluo acquoso che comprende anche le acque di lavaggio delle cantine [13]. Indicativamente per 100 kg di uva si

ricavano 80-85 kg di mosto, 9-10 kg di bucce, 3-4 kg di raspi e 3-4 kg di vinaccioli. La vinaccia (privata dalla componente del raspo) può essere distillata producendo la grappa e lasciando come residuo la "vinaccia esausta" che normalmente viene utilizzata nella preparazione di mangime per gli animali, e per l'estrazione dell'olio di vinaccioli. Nella vinaccia sono state identificate numerose sostanze organiche tra le quali alcoli, acidi volatili (che con la distillazione passano nella grappa), acidi fissi, aldeidi, esteri, e componenti fenolici quali il resveratrolo (caratterizzato da un'importante attività cardiovascolare), i tannini, gli antociani, e i flavonoidi. Questi ultimi sono presenti in grandi quantità anche nei reflui di lavorazione degli agrumi, come ad esempio nei reflui dei processi di lavorazione del limone [14]. In questo secondo caso durante la manifattura del limone (*Citrus genus*) che interessa quantità ragguardevoli di prodotto (per esempio nella regione della Murcia, la principale area di produzione del limone in Spagna, si lavorano 200.000 t/anno di agrumi) si ha la produzione di un refluo solido e un refluo acquoso che attualmente non hanno specifiche applicazioni e che invece causano problemi di inquinamento ambientale. La quantità di flavanoidi contenuta in tali reflui è ragguardevole e pari a circa 13 kg per tonnellata di frutti processati. I flavanoidi sono caratterizzati da numerose proprietà biologiche tra le quali proprietà antinfiammatorie, antitumorali, antivirali, antiipertensive, diuretiche e antiossidanti [15], e si presentano quindi come candidati per il processo di valorizzazione. Tra le diverse possibilità di utilizzo di tali sostanze è interessante evidenziare il loro impiego per la sintesi di derivati non naturali dotati di una maggiore attività biologica e di una minore tossicità. Per esempio, abbiamo recentemente descritto la possibilità di utilizzare il MTO per il riarrangiamento catalitico di Baeyer-Villiger con H_2O_2 diluita di diversi derivati flavanonici. Si tratta di uno dei pochi esempi di metodi per l'espansione selettiva dell'anello C dei flavanoni. In questo modo è stato possibile sintetizzare nuovi derivati benzodiossapirocinici-2-onici e *para*-benzochinonici che sono stati valutati per determinarne sia l'attività antigerminativa che l'attività apoptotica [16] (Schema 2).

I composti 7 e 11 sono risultati i più attivi sull'inibizione della germinazione del grano (*Triticum durum*) con un valore di ID_{50} (che rappresenta la quantità di composto che inibisce il 50% della germinazione) pari a 14 e 56 μM , rispettivamente. Inoltre il derivato 10 è risultato attivo nell'inibizione della germinazione del ravanello con un valore di ID_{50} pari a 3 μM . Questi livelli di attività sono comparabili a quelli di molti erbicidi commerciali e valori di concentrazioni superiori a 1×10^{-4} sono considerati nell'intervallo di interesse per le applicazioni agronomiche. Per quanto riguarda l'effetto sulla apoptosi sia i flavanoni di



Schema 2 - Riarrangiamento catalitico di Baeyer-Villiger di derivati flavanonici tramite impiego del sistema catalitico MTO/ H_2O_2



Schema 3 - Ossidazione del cardanolo e di alcuni suoi derivati con il sistema catalitico MTO/H₂O₂

partenza sia i loro derivati sono stati saggiati su linee cellulari di linfoma B-umano e la loro tossicità è stata valutata sia come induzione di apoptosi che come effetto citostatico e blocco del ciclo cellulare e della mitosi. I risultati hanno mostrato una correlazione diretta fra potere ossidante e tossicità e, in particolare, mostrano che il riarrangiamento dell'anello C del nucleo flavanonico e la formazione del derivato benzochinonico determinano una sostanziale diminuzione della tossicità e del potere pro-ossidante.

Reflui della produzione dell'anacardio

L'ultimo esempio considerato in questa rassegna riguarda l'olio del guscio della noce di anacardio (CNSL). Il CNSL è un sottoprodotto dell'industria dell'anacardio, la cui noce commestibile è di elevato valore commerciale. La produzione globale di anacardio è in costante aumento e ha raggiunto attualmente le 550.000 t/anno. Secondo recenti stime economiche l'importazione mondiale delle noci di anacardio è aumentata in cinque anni (1991-1995) del 4,84% e il valore complessivo della produzione è stato nel 1995 pari a 557.707.000 US\$. Il CNSL corrisponde a circa il 10% in peso della noce. Si tratta di un liquido composto da acido anacardico (la cui quantità iniziale diminuisce considerevolmente in seguito a decarbossilazione termica durante le fasi finali della lavorazione della noce), da cardanolo (il componente principale), cardolo, e metilcardolo [17]. Nonostante siano state già proposte diverse applicazioni industriali per il CNSL, come ad esempio il suo impiego per la produzione di additivi per lubrificanti, di resine, di abrasivi, di vernici e altro, circa il 40% del CNSL annualmente prodotto (10.000 t/anno) non trova impiego e rappresenta a tutti gli effetti un refluo tossico che necessita di adeguati trattamenti prima di poter essere smaltito in discarica [18]. La possibilità di trasformare il CNSL da refluo inquinante in una materia prima rinnovabile, a basso costo e ampiamente disponibile, rappresenta quindi un importante obiettivo della valorizzazione. Anche in questo caso è possibile proporre un esempio concreto. Il cardanolo idrogenato e alcuni suoi semplici derivati, come ad esempio il tert-butilcardanolo, o il tert-amilcardanolo, possono essere trasformati dal sistema catalitico MTO/H₂O₂ nei corrispondenti orto- e para-benzochinoni, i quali a loro volta possono essere facilmente ridotti a catecoli o idrochinoni derivati [19] (Schema 3).

Sono stati realizzati studi di attività antiossidante di questi derivati del cardanolo tramite misura delle costanti di velocità assolute delle loro reazioni con i radicali perossilici. Questi studi

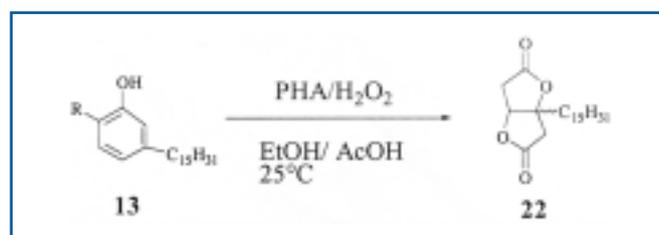
indicano che l'idrochinone del tert-butil cardanolo 20, e l'idrochinone del tert-amilcardanolo 21, hanno dei valori di costante di velocità, pari a 3,6x10⁵ e 3,5x10⁵, rispettivamente, del tutto comparabili a quelli di antiossidanti commerciali come il DBHA (1,4x10⁵) e il BHT (2,6x10⁴) [20]. È interessante sottolineare che cambiando il tipo di catalizzatore è possibile modificare profondamente la selettività della reazione. Così, dati preliminari da noi recentemente ottenuti indicano la possibilità di ossidare direttamente il cardanolo 13 al corrispondente bis-lattone 22, tramite impiego di polieteroacidi (PHA) come catalizzatori e di H₂O₂ diluita come ossidante primario (Schema 4) [21].

La reazione, che procede probabilmente tramite apertura ossidativa dell'anello chinonico per dare un acido muconico intermedio, è caratterizzata da una conversione e una resa nel bis-lattone che dipendono dalla percentuale di vanadio presente nel catalizzatore. Bis-lattone del tipo di 22 sono ampiamente diffusi in natura e presentano numerose proprietà biologiche.

Chiaramente, il passaggio da una catalisi di tipo omogeneo a quella eterogenea è auspicabile nei processi di valorizzazione considerando i numerosi vantaggi che presenta quest'ultima [1]. Catalizzatori eterogenei del MTO, ottenuti tramite eterogeneizzazione della specie attiva su matrici polimeriche inerti, di basso costo ed elevata reperibilità, sono stati recentemente da noi preparati, e la loro efficienza valutata nella reazione di epossidazione delle olefine [22]. La loro utilità per le trasformazioni precedentemente descritte è in corso di valutazione.

Conclusioni

Abbiamo descritto alcuni esempi di reflui caratteristici della produzione agroindustriale evidenziando la possibilità di un loro impiego come fonti rinnovabili di prodotti organici biologicamente attivi, che possono trovare un impiego diretto dopo estrazione e purificazione, o che possono essere utilizzati come substrati (altrimenti difficilmente reperibili o molto costosi) per la sintesi di prodotti della chimica fine, di integratori alimentari, di additivi per la cosmesi, o di farmaci. Le potenzialità di questi processi di valorizzazione sono a nostro avviso di rilevante interesse per l'industria, e rappresentano un adeguato compromesso ai problemi etici legati all'impiego diretto di materiale edibile (fondamentalmente prodotti dell'agricoltura) per tali scopi, là dove numerosi paesi sottosviluppati del nostro pianeta non riescono a sostenere il fabbisogno alimentare delle loro popolazioni. Affinché la valorizzazione dei reflui divenga una realtà nel panorama produttivo è necessario fare ancora diversi investimenti, rivolti soprattutto al finanziamento nel settore della ricerca e sviluppo. Infatti, le problematiche re-



Schema 4 - Ossidazione del cardanolo con polieteroacidi

lative al processamento dei reflui agroalimentari sono ancora numerose e legate soprattutto alla complessità della frazione organica e alla necessità di sviluppare metodi di trattamento altamente selettivi, sostenibili da un punto di vista economico e ambientale. In questo ambito il ruolo che potrà svolgere la catalisi è notevole soprattutto in tutte quelle applicazioni in cui si opera con sistemi stabili e attivi in acqua, utilizzando sostanze ecocompatibili come ossidanti primari.

Bisogna infine sottolineare come lo sviluppo di un processo di valorizzazione non possa dare un esito positivo se non tramite un approccio multidisciplinare che veda coinvolte diverse figure professionali (agronomi, ingegneri, chimici, farmacologi e altri) ciascuna apportando il proprio essenziale contributo al risultato finale.

Bibliografia

- [1] R. Saladino *et al.*, *Chimica e Industria*, 2001, 1041.
[2] S. Sayadi, R. Ellouz, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, **61**, 1098.
[3] M.A. Puebla, C. Ruiz, *Environ. Toxicol. Chem.*, 1994, **42**, 87.
[4] EPA method 604, phenols, in Federal Register, 26 October, Environmental Protection Agency, Part VIII, 40 CFR, Part 136, p. 58, 1984.
[5] a) R. Capasso *et al.*, *J. Agric. Food. Chem.*, 1999, **47**, 3535.
[6] P. Canepa *et al.*, *Inquinamento*, 1987, **13**, 73.
[7] H. Chimi *et al.*, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1988, **8/9**, 339.
[8] F. Angerosa *et al.*, *J. Agr. Food. Chem.*, 1995, **43**, 1802.
[9] C. Galli *et al.*, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 1994, **2**, 67.
[10] R. Papasso *et al.*, *J. Agr. Food. Chem.*, 1999, **47**, 1754.
[11] C. Romao *et al.*, *Chem. Rev.*, 1997, **97**, 3197.
[12] R. Saladino *et al.*, Environmentally benign 4-polyvinylpyridine supported methyltrioxorhenium complexes as novel heterogeneous catalysts for oxidation of phenol and methoxy benzene derivatives, National American Chemical Society Congress, San Francisco, 26-30 March 2000.
[13] J. Mata-Alvarez, *Alimentacion, Equipos y Tecnologia*, 1995, **14**, 39.
[14] M.D. Coll *et al.*, *Z Lebensm Unters Forsch A*, 1998, **206**, 404.
[15] a) T. Jean, M.C. Bodinier, *Angiology*, 1994, **45**, 554; b) M.A. Read, *Am J. Pathol.*, 1995, **147**, 235; c) J.A. Vinson *et al.*, *J. Agr. Food. Chem.*, 1995, **43**, 2800.
[16] R. Bernini *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 5401.
[17] Per maggiori informazioni è possibile consultare i siti www.sbindo.co.id e www.pworld.net.ph.
[18] a) O.A. Attanasi *et al.*, *Chimica e Industria*, 1996, **78**, 693; b) O.A. Attanasi *et al.*, *Chimica e Industria*, 1979, **61**, 718.
[19] R. Saladino *et al.*, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2000, 581.
[20] R. Amorati *et al.*, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2*, 2001, 2142.
[21] R. Saladino, E. Mincione, F. Trifirò, F. Cavani, O.A. Attanasi *et al.*, dati ancora non pubblicati.
[22] R. Saladino *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2002, in stampa