



Università  
di Genova

DICCA DIPARTIMENTO  
DI INGEGNERIA CIVILE, CHIMICA  
E AMBIENTALE

# Processo e sistema per l'estrazione di molecole da matrici solide particellari (SoLVE)

Categoria: INGEGNERIA INDUSTRIALE

**Responsabile di progetto:**

Patrizia Perego (p.perego@unige.it)

Altri membri del team

*Alessandro Alberto Casazza*

*Margherita Pettinato*

*Roberta Campardelli*

*Junyang Li*

**Genova, 29/06/2022**

# Team

## **Patrizia Perego**

Coordinamento attività e  
sviluppo impianto

## **Alessandro Alberto Casazza**

Sviluppo impianto, verifica  
sperimentale ed elaborazione dei  
risultati

## **Margherita Pettinato**

Sviluppo impianto, verifica  
sperimentale ed elaborazione dei  
risultati

## **Roberta Campardelli**

Sviluppo impianto, verifica  
sperimentale ed elaborazione dei  
risultati

## **Junyang Li**

Analista

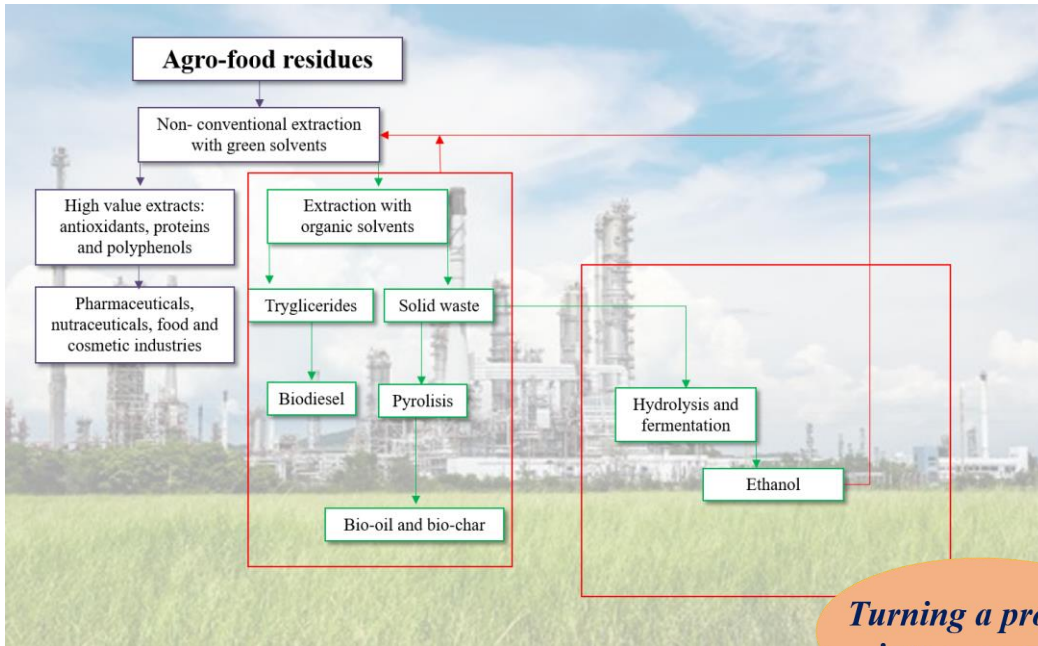
## **Antonio Cosso**

Tecnico di officina

- attività di ricerca: ottimizzazione di processi e innovazione nell'industria agro-alimentare;
- inventore di 3 brevetti.
  
- attività di ricerca: valorizzazione di residui dell'industria alimentare mediante l'estrazione e l'incapsulamento di composti ad alto valore aggiunto; crescita e impiego di microalghe per scopi industriali.
  
- attività di ricerca: estrazione non convenzionale e incapsulamento di composti di interesse da residui dell'industria del caffè e applicazioni in *food active packaging*.
  
- attività di ricerca: sviluppo impianti con fluidi supercritici e l'incapsulamento di composti bioattivi e applicazioni dei prodotti in *smart packaging* e in campo biomedico.
  
- attività di ricerca: estrazione non convenzionale di composti bioattivi da matrici vegetali.

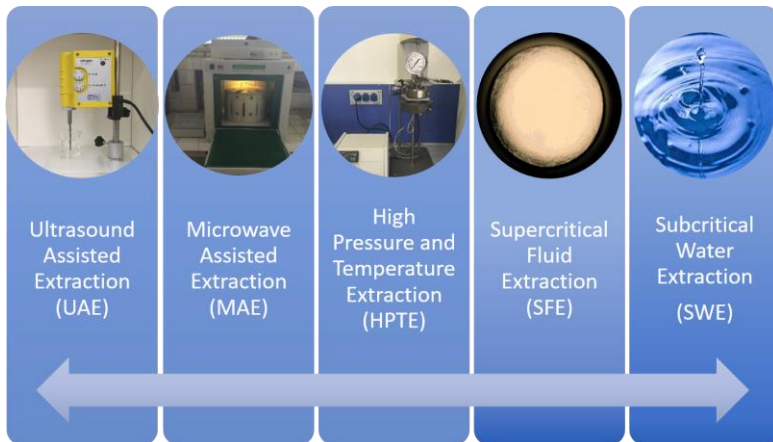
+

Supporto tecnico per lo sviluppo delle strutture di  
supporto, di componenti dell'impianto e assemblaggio  
dello stesso.



# Background del Team

*Turning a problem into a resource*



Non conventional extraction technologies



Valorization of agroindustrial wastes

New cosmetic products

New drugs and pharmaceutical products, engineered biomedical prosthesis

New functional food formulation and active packaging



# Publicazioni

- M. Pettinato, P. Trucillo, R. Campardelli, P. Perego, E. Reverchon. Bioactives extraction from spent coffee grounds and liposome encapsulation by a combination of green technologies. *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification* 151 (2020) 107911.
- A. A. Casazza, M. Pettinato, P. Perego, 2020. Polyphenols from apple skins: a study on microwave-assisted extraction optimization and exhausted solid characterization. *Separation and purification technology*, 240, 116640.
- M. Neviani, B. Aliakbarian, P. Perego, O. Paladino, Extraction of polyphenols from olive pomace: Mathematical modeling and technological feasibility in a high temperature and high pressure stirred reactor, *Chemical Engineering Research and Design*, (2019) 32-46.
- M. Pettinato, A.A. Casazza, P.F. Ferrari, D. Palombo, P. Perego, Eco-sustainable recovery of antioxidants from spent coffee grounds by microwave-assisted extraction: Process optimization, kinetic modeling and biological validation, *Food and Bioproducts Processing*, 114 (2019) 31-42.
- M. Pettinato, A.A. Casazza, P. Perego, The role of heating step in microwave-assisted extraction of polyphenols from spent coffee grounds, *Food and Bioproducts Processing*, 114 (2019) 227-234.
- D. Carullo, B. D. Abera, A. A. Casazza, F. Donsi, P. Perego, G. Ferrari and G. Pataro. "Effect of pulsed electric fields and high pressure homogenization on the aqueous extraction of intracellular compounds from the microalgae *Chlorella vulgaris*." *Algal Research* 31:60-69 (2018) DOI: 10.1016/j.algal.2018.01.017
- M.F. da Silva, A.A. Casazza, P.F. Ferrari, B. Aliakbarian, A. Converti, R.P. Bezerra, A.L.F. Porto, P. Perego, "Recovery of phenolic compounds of food concern from *Arthrospira platensis* by green extraction techniques", *Algal Research*, 25, 391-401, (2017), doi: 10.1016/j.algal.2017.05.027
- M. Mura, D. Palmieri, D. Garella, A. Di Stilo, P. Perego, G. Cravotto, D. Palombo, "Simultaneous ultrasound-assisted water extraction and  $\beta$ -cyclodextrin encapsulation of polyphenols from *Mangifera indica* stem bark in counteracting TNF $\alpha$ -induced endothelial dysfunction", *Journal Natural product research*, 29(17), 1657-1663 (2015), doi:10.1080/14786419.2014.996753
- C.G. Lopresto, F. Petrillo, A.A. Casazza, B. Aliakbarian, P. Perego, V. Calabrò, "A non-conventional method to extract D-limonene from waste lemon peels and comparison with traditional Soxhlet extraction", *Separation and Purification Technology*, 137, 13-20 (2014), doi:10.1016/j.seppur.2014.09.015
- K.S. Duba, A.A. Casazza, H.B. Mohamed, P. Perego, L. Fiori, "Extraction of polyphenols from grape skins and defatted grape seeds using subcritical water: experiments and modeling", *Food and Bioproducts Processing*, 94, 29-38 (2015), doi:10.1016/j.fbp.2015.01.001
- A. Bucić-Kojić, A.A. Casazza, I. Strelec, M. Paini, M. Planinić, P. Perego, "Influence of High-Pressure/High-Temperature Extraction on the Recovery of Phenolic Compounds from Barley Grains", *Journal of Food Biochemistry*, 39(6), 696-707 (2015). doi:10.1111/jfbc.12177
- A.A. Casazza, B. Aliakbarian, M. Mura, M. Chasseur, M. Freguglia, S. Valentini, D. Palombo, P. Perego, "Polyphenols from grape and apple skin: A study on non-conventional extractions and biological activity on endothelial cell cultures", *Chemical Engineering Transactions*, 44 205-210 (2015), doi:10.3303/CET1544035
- M. Kuzmanović, M. Tišma, A. Bucić-Kojić, A.A. Casazza, M. Paini, B. Aliakbarian, P. Perego, "High-pressure and temperature extraction of phenolic compounds from corn silage", *Chemical Engineering Transactions*, 43 133-138 (2015), doi:10.3303/CET1543023
- M. Pettinato, B. Aliakbarian, A. A. Casazza and P. Perego. "Encapsulation of antioxidants from Spent coffee ground extracts by spray drying." *Chemical Engineering Transactions* 57:1219-1224 (2017) DOI: 10.3303/CET1757204
- B. Aliakbarian, F. C. Sampaio, J. T. de Faria, C. G. Pitangui, F. Lovaglio, A. A. Casazza, A. Converti and P. Perego. "Optimization of spray drying microencapsulation of olive pomace polyphenols using Response Surface Methodology and Artificial Neural Network." *LWT* 93:220-228 (2018) DOI: 10.1016/j.lwt.2018.03.048
- P. Trucillo, R. Campardelli, B. Aliakbarian, P. Perego and E. Reverchon. "Supercritical assisted process for the encapsulation of olive pomace extract into liposomes." *Journal of Supercritical Fluids* 135:152-159 (2018)

# Collaborazioni industriali per ottimizzazione di prodotti & processi



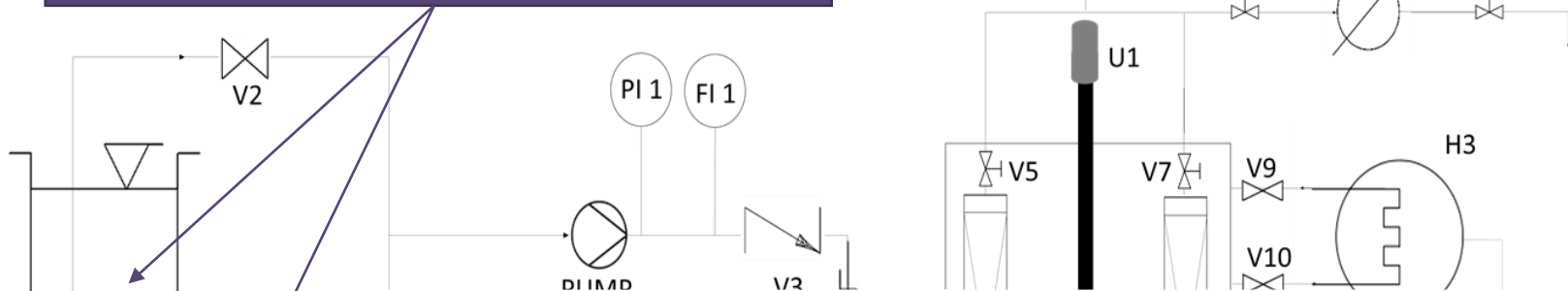
# Processo e sistema per l'estrazione di molecole da matrici solide particellari



## SoLVE-Solid-Liquid multi-Variable Extractor

# SoLVE-Solid-Liquid multi-Variable Extractor

**VARIABLE 1:** Composizione del solvente, che può essere anche variato nel tempo imponendo un gradiente e permettendo l'estrazione in serie di diverse molecole dalla medesima matrice.



	SoLVE	Estrattori solido-liquido	Estrattori ad Alte Pressioni	Estrattori a fluidi supercritici	Estrattori con acqua subcritica	Estrattori a ultrasuoni
Riduzione dei tempi di estrazione	+	-	+/-	-	-	+
Riduzione del numero di pre e post trattamenti di matrice e prodotto	+	-	-	+	+/-	-

H2, H3, H4: HEAT EXCHANGER

# SoLVE-Solid-Liquid multi-Variable Extractor

	SoLVE	Estrattori solido-liquido	Estrattori ad Alte Pressioni	Estrattori a fluidi supercritici	Estrattori con acqua subcritica	Estrattori a ultrasuoni
Versatilità nelle matrici trattabili e nei solventi utilizzabili	+	+	-	-	-	-
Possibilità di impostare diverse temperature anche superiori al punto di ebollizione (P Atm) del solvente	+	-	+	+/-	+	-

SOLVENT A

**VARIABLE 2:** temperatura, che può essere incrementata e/o ridotta in funzione della termolabilità dei prodotti da estrarre.

U1: ULTRA SONIC PROBE  
 EXTRACTION PACKED-BED COLUMNS SUBMERGED IN LIQUID BATH (C1 and C2)  
 H2, H3, H4: HEAT EXCHANGER



# SoLVE-Solid-Liquid multi-Variable Extractor

	SoLVE	Estrattori solido-liquido	Estrattori ad Alte Pressioni	Estrattori a fluidi supercritici	Estrattori con acqua subcritica	Estrattori a ultrasuoni
Possibilità di operare ad alte pressioni	+	-	+	+	+	-
Compattezza della strumentazione e apparecchiature ausiliarie	+	+	-	-	+	+

**VARIABILE 3:** pressione, anche intermittente, che funge anche da forza spingente per la contemporanea filtrazione dell'estratto

OBE  
 EXTRACTION PACKED-BED COLUMNS SUBMERGED IN LIQUID BATH (C1 and C2)  
 H2, H3,H4: HEAT EXCHANGER

# SoLVE-Solid-Liquid multi-Variable Extractor

	SoLVE	Estrattori solido-liquido	Estrattori ad Alte Pressioni	Estrattori a fluidi supercritici	Estrattori con acqua subcritica	Estrattori a ultrasuoni
Riduzione dei tempi di estrazione	+	-	+/-	-	-	+
Riduzione del consumo di solvente	+	-	+	+/-	-	+/-

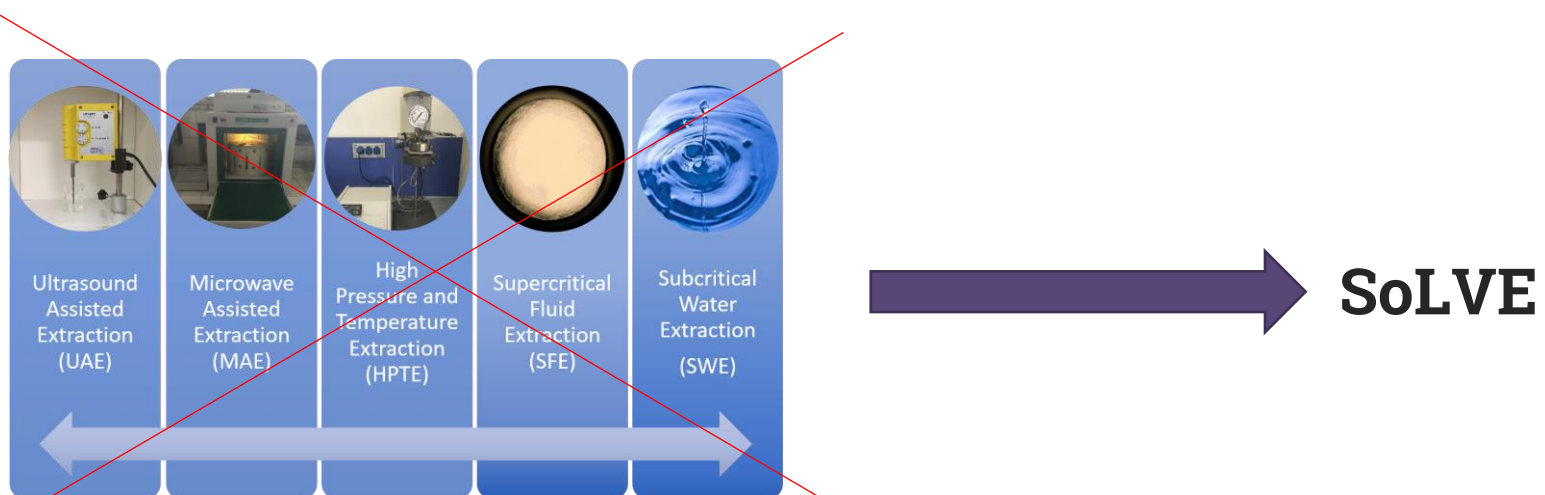
SOLVENT A

**VARIABLE 4:** ultrasuoni, agenti sulla struttura cellulare del solido

U1: ULTRA SONIC PROBE EXTRACTION PACKED-BED COLUMNS SUBMERGED IN LIQUID BATH (C1 and C2)  
 H2, H3,H4: HEAT EXCHANGER

# SoLVE-Solid-Liquid multi-Variable Extractor

	SoLVE	Estrattori solido-liquido	Estrattori ad Alte Pressioni	Estrattori a fluidi supercritici	Estrattori con acqua subcritica	Estrattori a ultrasuoni
Versatilità nel modulare le variabili operative	+	-	+/-	-	+/-	+
Range di applicazioni in laboratori di ricerca	+	-	-	+/-	-	-

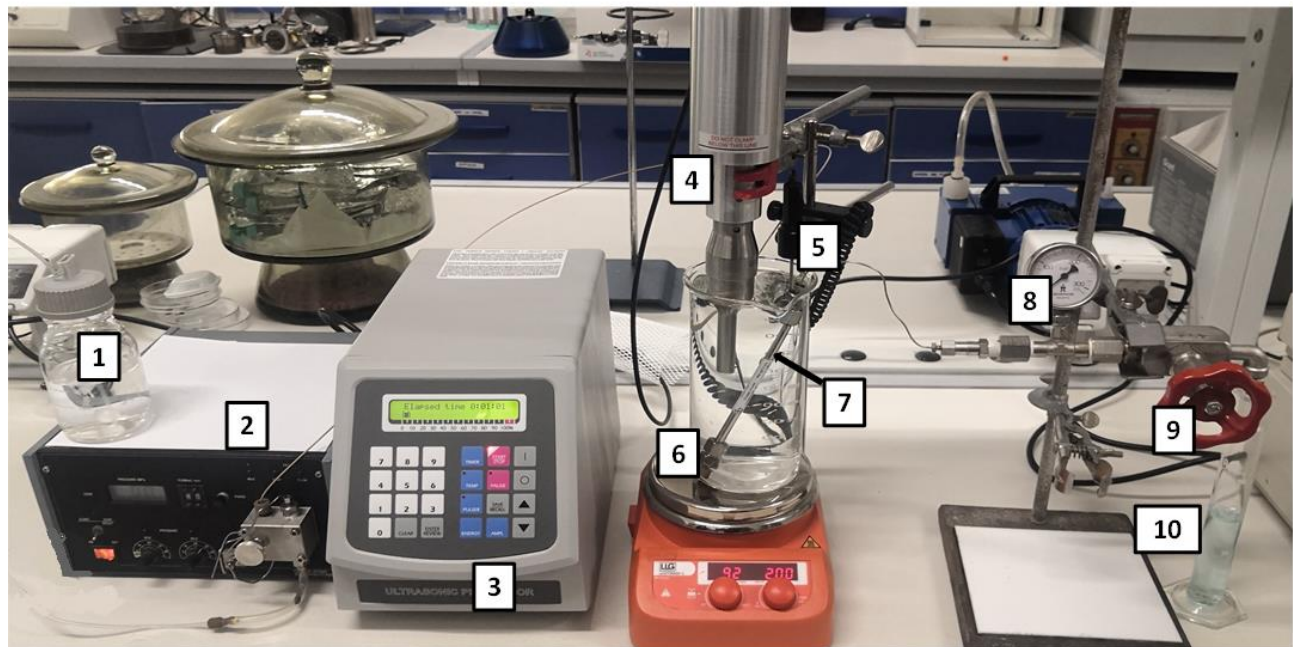
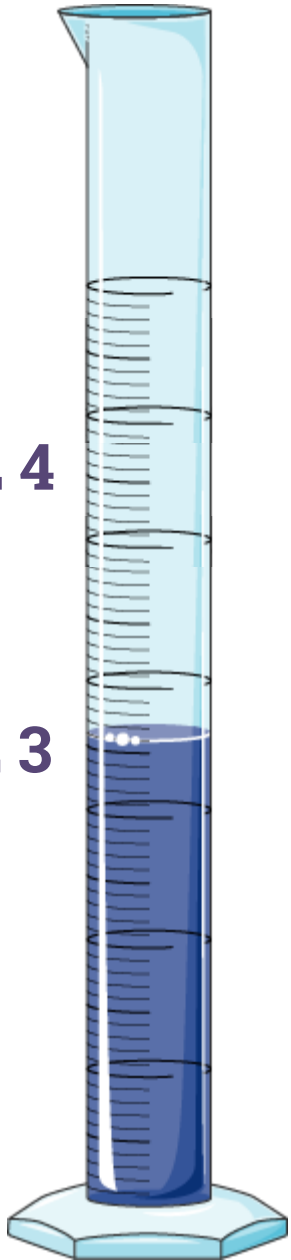


# FASI DEL PROGETTO

**FASE 1. Implementazione del simulacro già sviluppato dal gruppo di ricerca**

TRL 4

TRL 3



*Prototipo da laboratorio disponibile presso i laboratori del gruppo proponente. 1) Solvent tank, 2) Pump, 3) Ultrasound processor, 4) Ultrasound probe, 5) Thermocouple, 6) Heater, 7) Column filled with matrix, 8) Manometer, 9) Outlet valve, 10) Extract.*

# Implementazione del simulacro per riprodurre le aspettative analitiche

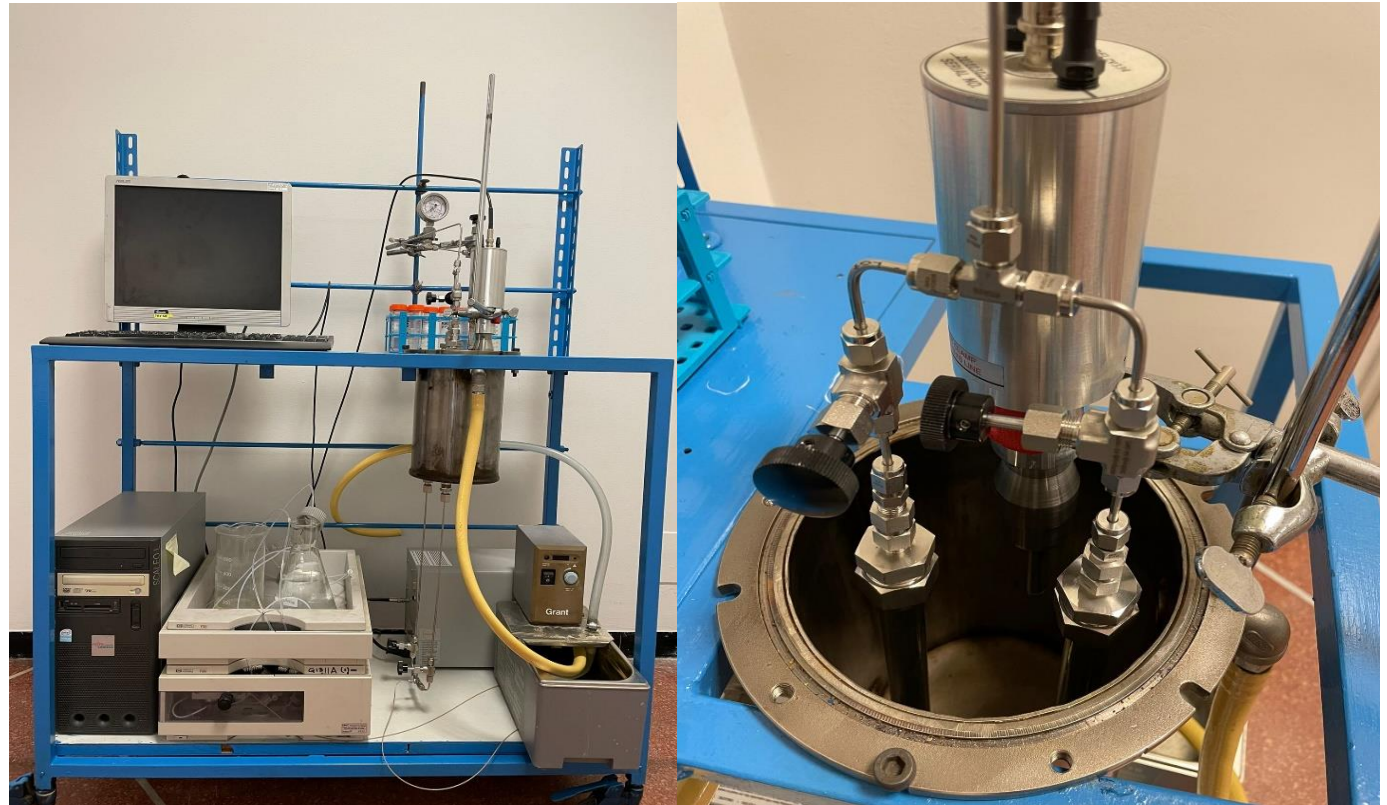
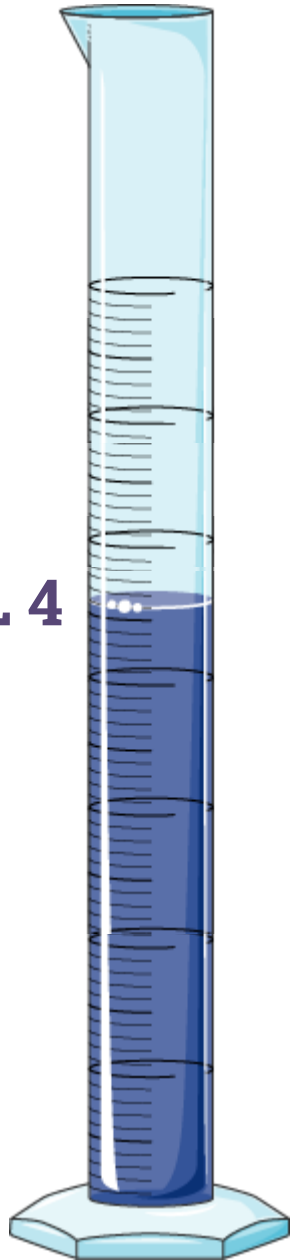


## Variabili controllabili

- Fino a 4 solventi diversi per gestire la composizione del solvente nel
- Rapporto solido/liquido
- Volume della camera di estrazione
- Portata di solvente
- Pressione (modalità statica, dinamica e pulsata)
- Temperatura nelle diverse sezioni dell' impianto
- Intensità e rapporto di pulsazione degli ultrasuoni

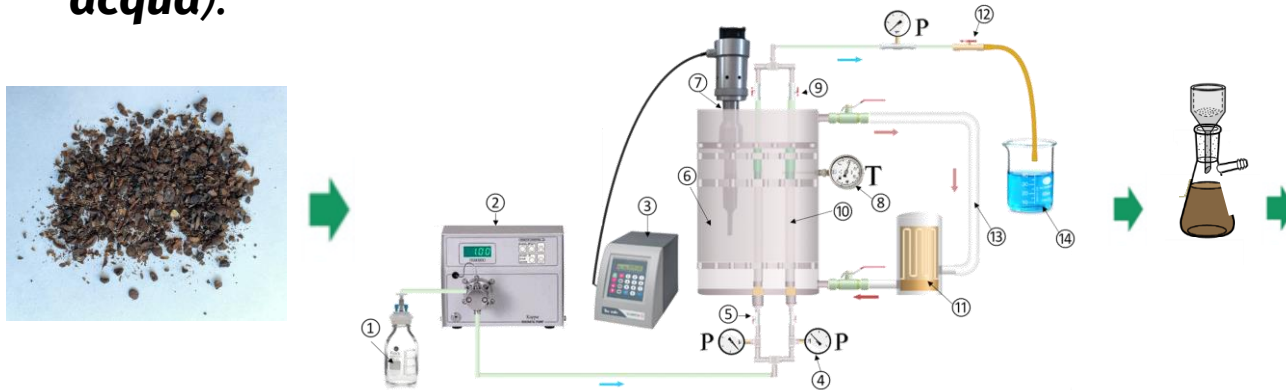
# Sviluppo del prototipo a bassa affidabilità per dimostrare in laboratorio la tecnologia

TRL 4



# Test su matrici per la verifica delle potenzialità di SoLVE

- **Matrice 1: caffè esausto, prodotto recuperato polifenoli (composti termolabili e polari) e caffeina (composto termostabile e poco solubile in acqua).**



Constant values:  
*L/S=30 ml/g*  
*T= 80 °C*  
*Flow rate= 1 mL/min*  
*t=30 min*  
*On/off pulsed ratio= 30 s/30 s*  
*P=100 bar*



Folin-Ciocalteu's assay for **total polyphenols** content (TP).



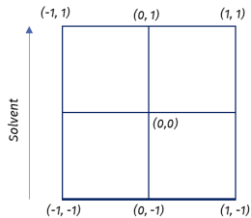
ABTS assay for **antiradical power** (ARP).



Extract **total solids** (ETS).



**Caffeine and chlorogenic acid** by HPLC



$$Y = a_0 + \sum_{n=1}^2 a_n X_n + \sum_{n=1}^2 a_{nn} X_n^2 + \sum_{n=1}^2 \sum_{j=1}^2 a_{nj} X_n X_j$$

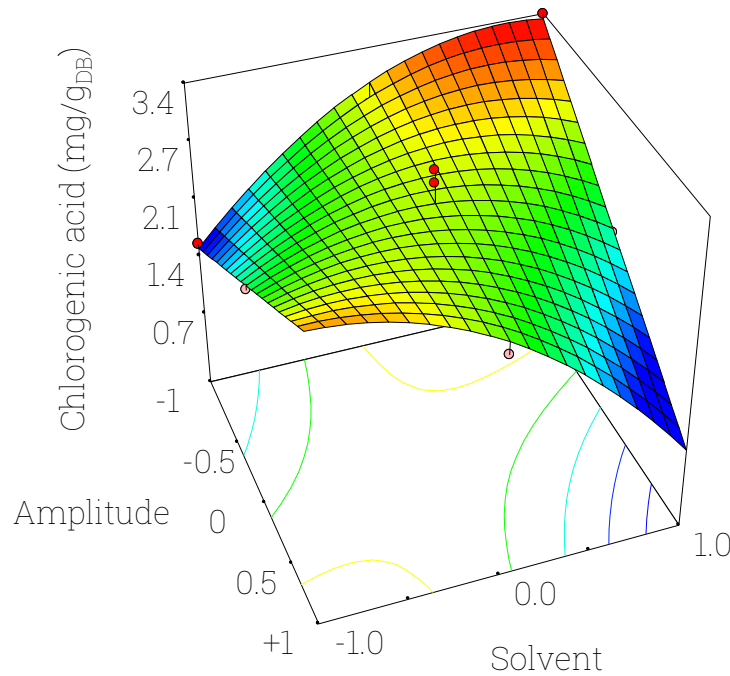
**Input variables**

**Levels**

$X_1$ – Solvent (-)	ethanol 54% (-1)	water (0)	ethanol 54% +water (+1)
$X_2$ – Amplitude (%)	20 (-1)	50 (0)	80 (+1)

# Test su matrici per la verifica delle potenzialità di SoLVE

3.4  
1.6



\*Solvent (**S**)                      \*Amplitude (**A**) (%)  
 Ethanol 54% (-1)                20(-1)  
 Water (0)                            50 (0)  
 Ethanol 54% + Water (+1)      80 (+1)

$$\text{Chl. Ac.} = 2.79 - 0.23 \cdot \mathbf{A} - 0.15 \cdot \mathbf{S} - 1.06 \cdot \mathbf{AS} - 0.59 \cdot \mathbf{S}^2$$

Model  $p=0.0026$   
 $R^2=0.9298$   
 $\text{Adj}R^2=0.8876$

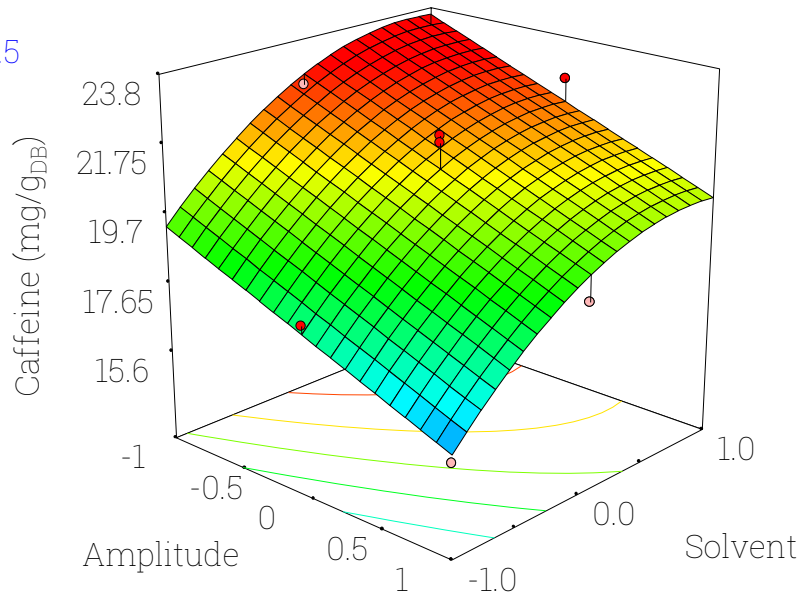
**A**  $p=0.0160$   
**S**  $p=0.0081$   
**S<sup>2</sup>**  $p=0.0796$

Run	Amplitude (%)	Solvent	Chlorogenic acid (mg/g <sub>DB</sub> )
1	20 (-1)	Ethanol 54% + Water (+1)	<b>3.4±0.3</b>
2	80 (+1)	Ethanol 54% + Water (+1)	2.4±0.3
3	80 (+1)	Water (0)	2.4±0.0
4	50 (0)	Water (0)	3.0±0.1
5	50 (0)	Water (0)	3.1±1.0
6	20 (-1)	Water (0)	2.8±0.2
7	50 (0)	Ethanol 54% (-1)	2.3±0.7
8	50 (0)	Water (0)	2.6±0.0
9	80 (+1)	Ethanol 54% (-1)	1.8±0.3
10	20 (-1)	Ethanol 54% (-1)	<b>1.6±0.0</b>
11	50 (0)	Ethanol 54% + Water (+1)	2.6±0.0



# Test su matrici per la verifica delle potenzialità di SoLVE

22.9  
14.5



\*Solvent (**S**)                      \*Amplitude (**A**) (%)  
 Ethanol 54% (-1)                  20(-1)  
 Water (0)                              50 (0)  
 Ethanol 54% + Water (+1)        80 (+1)

$$\text{Caffeine} = 20.98 - 1.77 \cdot \mathbf{A} + 2.10 \cdot \mathbf{S} - 1.26 \mathbf{S}^2$$

Model  $p=0.0026$   
 $R^2 = 0.9298$   
 $\text{Adj}R^2 = 0.8876$

**A**  $p=0.0160$   
**S**  $p=0.0081$   
**S<sup>2</sup>**  $p=0.0796$

Run	Amplitude (%)	Solvent	Caffeine (mg/g <sub>DB</sub> )
1	20 (-1)	Ethanol 54% + Water (+1)	<b>22.9±1.4</b>
2	80 (+1)	Ethanol 54% + Water (+1)	17.1±0.6
3	80 (+1)	Water (0)	18.4±0.0
4	50 (0)	Water (0)	21.7±0.1
5	50 (0)	Water (0)	21.9±3.0
6	20 (-1)	Water (0)	22.4±0.7
7	50 (0)	Ethanol 54% (-1)	17.9±3.7
8	50 (0)	Water (0)	20.4±0.0
9	80 (+1)	Ethanol 54% (-1)	15.6±0.4
10	20 (-1)	Ethanol 54% (-1)	<b>14.5±1.1</b>
11	50 (0)	Ethanol 54% + Water (+1)	20.4±0.0

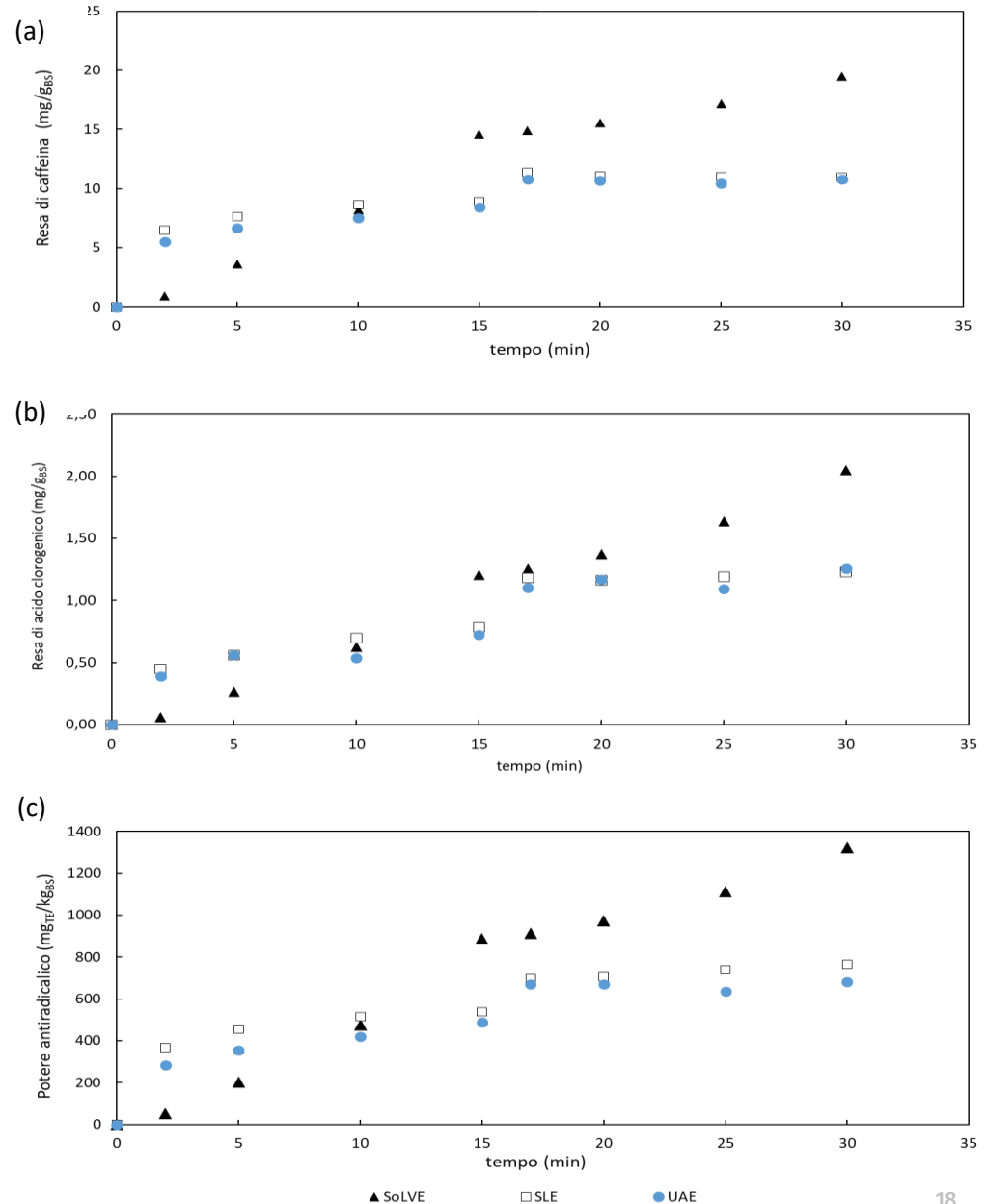
# Test su matrici per la verifica delle potenzialità di SoLVE

Un confronto, a parità di condizioni, è stato effettuato tra l'estrazione con:

**SoLVE** (solvente: etanolo 54% per 15 min e acqua per altri 15 min;  $T= 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , Portata solvente:  $1.0\pm 0.2\text{ mL/min}$ ; rapporto liquido solido pari a  $30\text{ mL/g}$ , intensità degli ultrasuoni =50%; rapporto di pulsazione=  $30\text{ s}/30\text{ s}$ )

**solido liquido convenzionale** (solvente: etanolo 54% per 15 min e acqua per altri 15 min;  $T= 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ; rapporto liquido solido pari a  $30\text{ mL/g}$ )

**estrazione assistita da ultrasuoni** (solvente: etanolo 54% per 15 min e acqua per altri 15 min;  $T= 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ; rapporto liquido solido pari a  $30\text{ mL/g}$ , , intensità degli ultrasuoni =50%; rapporto di pulsazione=30 s/30 s)



# Test su matrici per la verifica delle potenzialità di SoLVE

- Matrice 2: bucce di pomodoro, prodotto recuperato licopene (composto **termolabile e apolare**).

RUN	X <sub>1</sub> -Temperature (°C)	X <sub>2</sub> -time (min)	X <sub>3</sub> -L/S (mL/g)	X <sub>4</sub> -Amplitude(%)	X <sub>5</sub> -pulse ratio (on/ 30 s off)
1	50	35	<b>54</b>	48	50
2	65	50	<b>27</b>	30	70
3	50	35	54	<b>48</b>	50
4	65	50	27	<b>65</b>	30
5	50	35	54	48	50
6	65	50	80	30	30
7	50	35	54	48	50
8	<b>35</b>	20	80	65	70
9	65	20	80	<b>30</b>	70
10	50	35	54	75	50
11	50	35	<b>95</b>	48	50
12	50	35	54	<b>20</b>	50
13	65	20	<b>80</b>	65	30
14	50	35	54	48	<b>81</b>
15	50	35	54	48	50
16	<b>50</b>	35	54	48	<b>19</b>
17	35	50	80	30	<b>70</b>
18	35	20	27	30	30
19	35	50	27	65	70
20	50	35	<b>12</b>	48	50
21	<b>73</b>	<b>35</b>	54	48	<b>50</b>
22	50	<b>12</b>	54	48	50
23	<b>27</b>	35	54	48	50
24	50	<b>58</b>	54	48	50
25	<b>65</b>	<b>20</b>	27	65	70
26	35	<b>50</b>	80	65	<b>30</b>

Central Composite Design  
26 run



1.0 g of dry biomass  
Flow rate≠constant= f(t, L/S)  
Heating time of 7 min  
P=66 bar

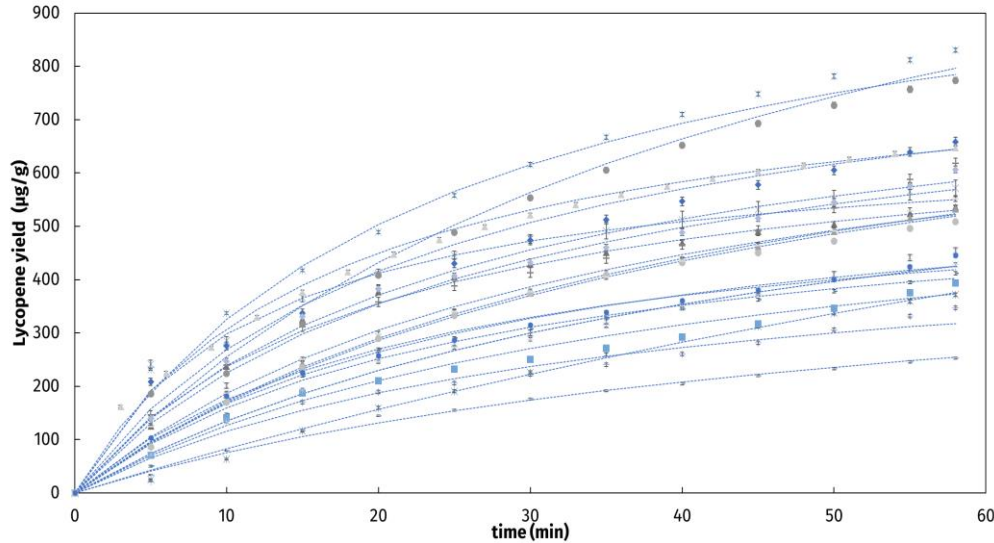
$$\frac{dC(t)}{dt} = \frac{k_1}{(k_1 + k_2 \cdot t)^2}$$

I.C.:  $C(t = 0) = 0$

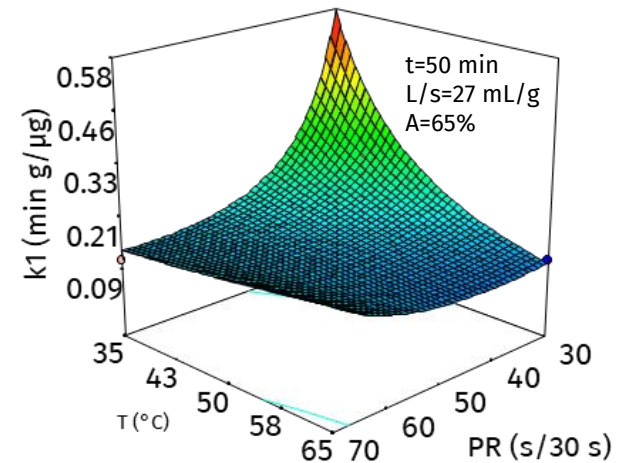
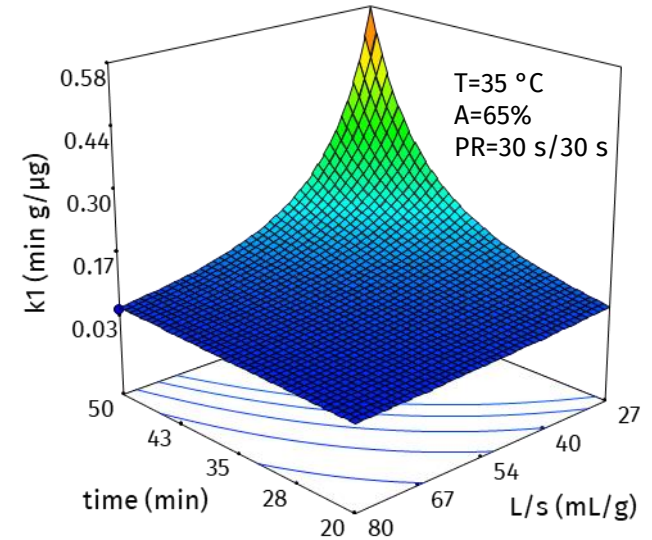
+

RSM  $\longrightarrow$   $k_1, k_2 = f(X_1, \dots, X_5)$

# Test su matrici per la verifica delle potenzialità di SoLVE

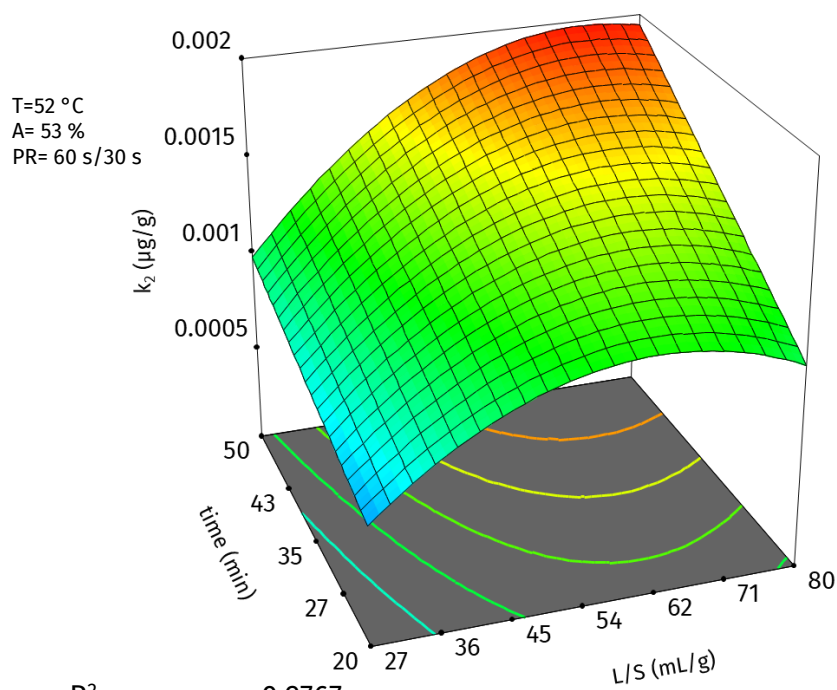


$R^2$             0.9169  
 $Adj R^2$        0.8635  
 $Pred R^2$        0.7676  
 $p < 0.0001$

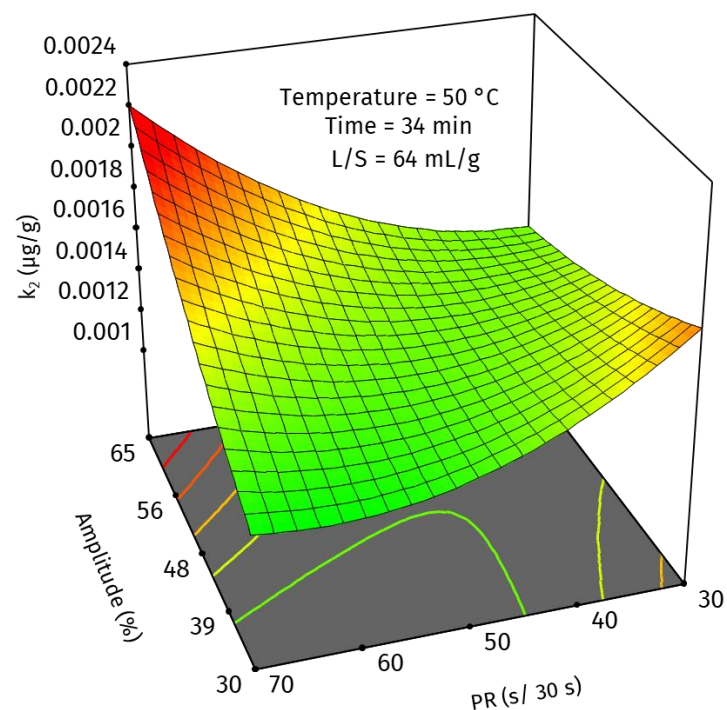


$$\sqrt{\frac{1}{k_1}} = 0.62 - 0.114 T - 0.12 t - 0.044 \frac{L}{S} - 0.035 A + 0.208 PR - 1.88 \cdot 10^{-3} T \cdot PR + 1.13 \cdot 10^{-3} t \cdot L/S + 7.43 \cdot 10^{-4} L/S \cdot A - 1.08 \cdot 10^{-3} PR^2$$

# Test su matrici per la verifica delle potenzialità di SoLVE



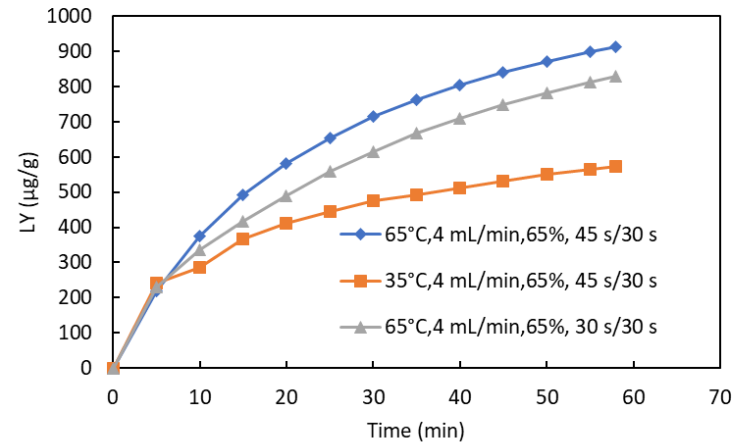
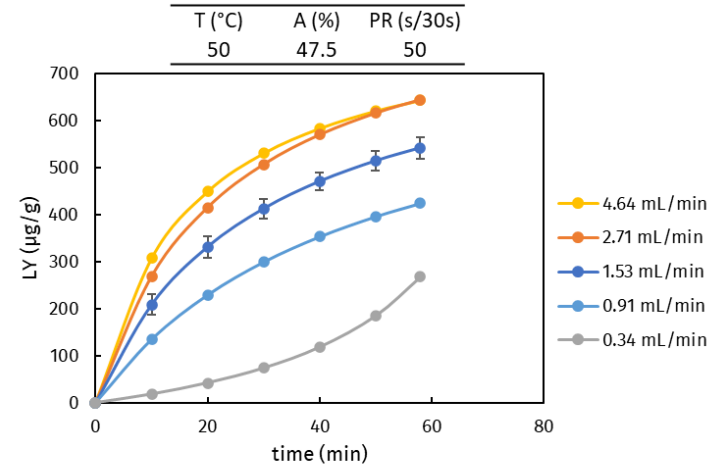
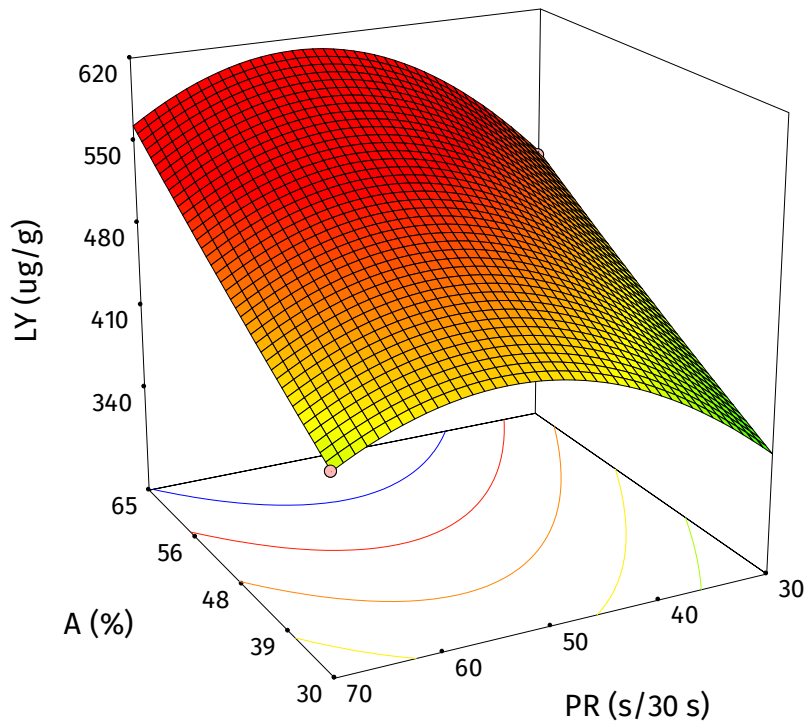
R<sup>2</sup> 0.9767  
Adj R<sup>2</sup> 0.9404  
Pred R<sup>2</sup> 0.7570  
p<0.0001



$$k_2 = 4.59 \cdot 10^{-3} + 2.4 \cdot 10^{-5} T - 1.2 \cdot 10^{-4} t + 9.4 \cdot 10^{-5} (L/S) - 7.62 \cdot 10^{-5} A - 1.40 \cdot 10^{-4} PR - 4.7 \cdot 10^{-7} T \cdot L/S + 3.4 \cdot 10^{-7} t \cdot L/S + 1.02 \cdot 10^{-6} A \cdot PR - 4.9 \cdot 10^{-7} (L/S)^2 + 1.9 \cdot 10^{-7} A^2 + 5.5 \cdot 10^{-7} PR^2$$

# Test su matrici per la verifica delle potenzialità di SoLVE

T (°C)	L/s (mL/g)	F (mL/min)	t (min)	K1 (min g/μg)	K2 (g/μg)	LY (μg/g)
65	80	4	20	0.02	0.0008	590



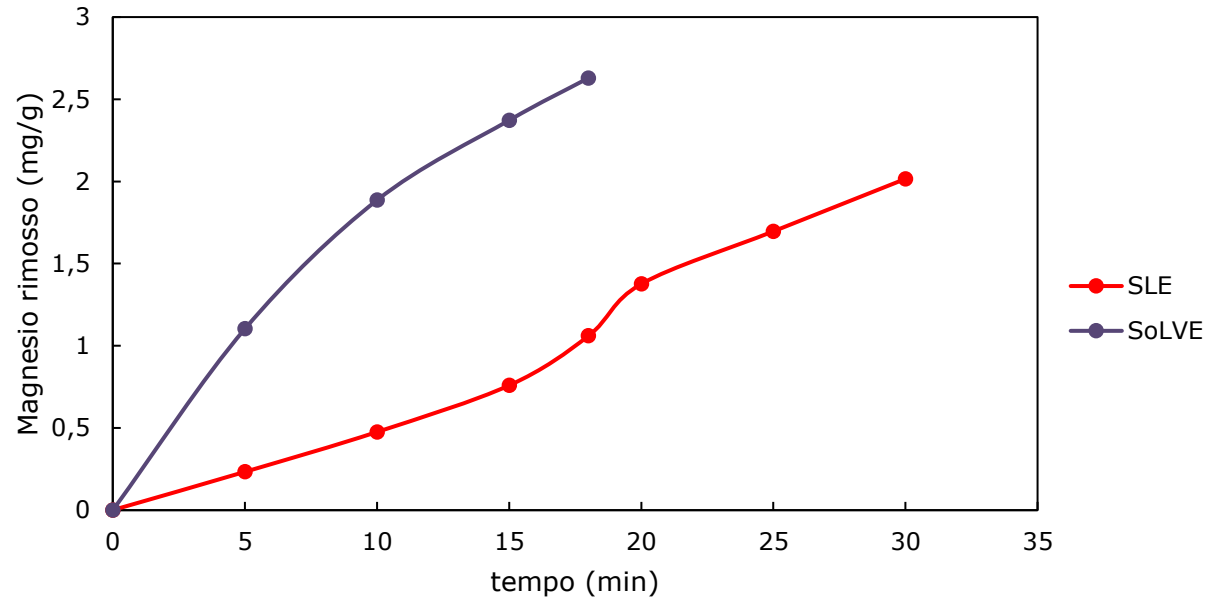
# Test su matrici per la verifica delle potenzialità di SoLVE



- Matrice 3: Rimozione di **inquinanti da una matrice solida**. Per le prove sarà impiegata una **resina a scambio ionico esausta**.

SoLVE (acqua, temperatura di 40 °C, pressione di 110 bar, un'ampiezza degli ultrasuoni pari al 70 %, un rapporto di pulsazione pari a 30 s/30 s e una portata di solvente 3 mL/min, tempo di estrazione di 18 min.

SLE (acqua, temperatura di 25 °C, rapporto solido liquido di 5 ml/, tempo di estrazione di 30 min.

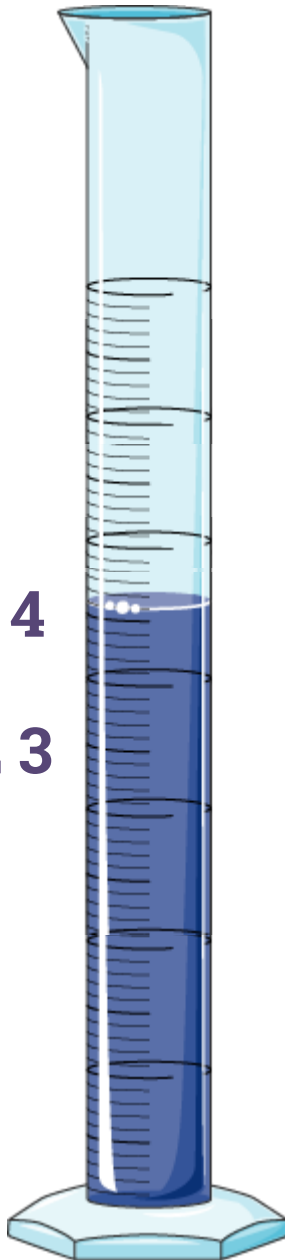


# Conclusioni

1. Implementazione del prototipo;
2. Test di Collaudo;
3. Test su matrici note;
  - Matrice 1: **bucce di pomodoro**, prodotto recuperato **licopene** (composto **termolabile e apolare**).
  - Matrice 2: **caffè esausto**, prodotto recuperato **polifenoli** (composti **termolabili e polari**) e **caffeina** (composto **termostabile e poco solubile in acqua**).
  - Matrice 3: Rimozione di **inquinanti da una matrice solida**. Per le prove sarà impiegata una **resina a scambio ionico esausta**.

TRL 4

TRL 3





**UniGe**  

---

**DICCA**