

V. MICELI, A. CAMASSA

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Divisione Biotecnologie e agroindustria
Laboratorio Sostenibilità, qualità e sicurezza
delle produzioni agroalimentari
Centro Ricerche Brindisi

D. PIZZICHINI, C. RUSSO

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Divisione Biotecnologie e agroindustria
Laboratorio Bioprodotti e bioprocessi
Centro Ricerche Casaccia, Roma

IL TRATTAMENTO SOSTENIBILE DEI REFLUI PROVENIENTI DAI COMPARTI OLIVICOLO, VITI-VINICOLO E LATTIERO-CASEARIO AL CENTRO DEL PROGETTO BIO-ENERGY SMART SOURCE SYSTEM

RT/2016/39/ENEA



AGENZIA NAZIONALE PER LE NUOVE TECNOLOGIE,
L'ENERGIA E LO SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE

V. MICELI, A. CAMASSA

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Divisione Biotecnologie e agroindustria
Laboratorio Sostenibilità, qualità e sicurezza
delle produzioni agroalimentari
Centro Ricerche Brindisi

D. PIZZICHINI, C. RUSSO

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali
Divisione Biotecnologie e agroindustria
Laboratorio Bioprodotti e bioprocessi
Centro Ricerche Casaccia, Roma

IL TRATTAMENTO SOSTENIBILE DEI REFLUI PROVENIENTI DAI COMPARTI OLIVICOLO, VITI-VINICOLO E LATTIERO-CASEARIO AL CENTRO DEL PROGETTO BIO-ENERGY SMART SOURCE SYSTEM

RT/2016/39/ENEA



AGENZIA NAZIONALE PER LE NUOVE TECNOLOGIE,
L'ENERGIA E LO SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE

I rapporti tecnici sono scaricabili in formato pdf dal sito web ENEA alla pagina <http://www.enea.it/it/produzione-scientifica/rapporti-tecnici>

I contenuti tecnico-scientifici dei rapporti tecnici dell'ENEA rispecchiano l'opinione degli autori e non necessariamente quella dell'Agenzia

The technical and scientific contents of these reports express the opinion of the authors but not necessarily the opinion of ENEA.

IL TRATTAMENTO SOSTENIBILE DEI REFLUI PROVENIENTI DAI COMPARTI OLIVICOLO, VITI-VINICOLO E LATTIERO-CASEARIO AL CENTRO DEL PROGETTO BIO-ENERGY SMART SOURCE SYSTEM

V. Miceli, D. Pizzichini, C. Russo, A. Camassa

Riassunto

Il Progetto Bio-energy Smart Source System (BISSS), realizzato nell'ambito del Programma Operativo Nazionale Ricerca e Competitività 2007-2013 su cofinanziamento del Ministero dell'istruzione, dell'Università e della Ricerca ha visto protagonista l'ENEA attraverso l'utilizzo dei processi a membrana quale tecnologia innovativa per il trattamento dei reflui provenienti dal comparto olivicolo, viti-vinicolo e lattiero-caseario. In particolare gli impianti progettati da ENEA, hanno permesso di trattare, svariate tonnellate di acque di vegetazione (A.V.) provenienti da diverse cultivar presenti in Puglia (Coratina, Leccino, Ogliarola), chiarificate in Microfiltrazione (MF), per ottenere una frazione di permeato limpida, contenente tutte le componenti fenoliche solubili presenti nella polpa di oliva ed una frazione concentrata contenente tutte le componenti in sospensione destinata alla produzione di biogas. Il processo messo in atto ha previsto una serie di passaggi successivi alla MF come l'Ultrafiltrazione (UF) in grado di separare le sostanze proteiche e colloidali presenti nel concentrato, per arrivare dopo separazione in Nanofiltrazione (NF) ad un pool fenolico discriminato tra molecole a peso molecolare superiore a 300-500 kD (oleuropeina, verbascoside, oleocantale, acido elenolico) e molecole a minor peso molecolare come i fenoli più semplici (tirosolo, acido caffeico, idrossitirosolo).

Parole chiave: microfiltrazione, ultrafiltrazione, nanofiltrazione, osmosi inversa, acque di vegetazione, siero di latte, viti-vinicolo

Abstract

The Bio-energy Smart Source System (BISSS) project, implemented under the National Operational Programme for Research and Competitiveness 2007-2013 co-financing of the Ministry of Education, University and Research has seen protagonist ENEA through the use of technology to innovative membrane processes for the treatment of wastewater from the olive growing sector, in wine and milk products. In particular the equipment designed by ENEA, have allowed to treat, several tonnes of the waste water mills coming from different cultivars present in Puglia (Coratina, Leccino, Ogliarola), clarified in Microfiltration (MF), to obtain a fraction of permeate limpida, containing all the soluble phenolic components present in olive pulp and a concentrated fraction containing all the components in suspension intended for the production of biogas. The process has provided a series of successive steps to MF as Ultrafiltration (UF) able to separate the protein and colloidal substances present in the concentrate, to get after separation Nanofiltration (NF) to a pool phenolic discriminated between molecules to molecular weight greater than 300-500 kD (oleuropein, verbascoside, oleocantale, elenolic acid) and molecules with a lower molecular weight as the more simple phenols (tyrosol, caffeic acid, hydroxytyrosol).

Keywords: microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration, reverse osmosis, waste water, milk whey, vine growing

INDICE

1 Introduzione	7
2 SPERIMENTAZIONE E SVILUPPO DI ESTRAZIONI DI MOLECOLE UTILI	8
2.1 Prova pilota di trattamento AV con tecnologie a membrana	11
2.2 Prove sperimentali con gli impianti pilota	14
2.3 Acque di vegetazione	15
2.4 Trattamento delle foglie d'olivo	22
2.5 Trattamento Sanse	29
2.6 Siero di latte	30
3 SVILUPPO DEL PROCESSO DI ESTRAZIONE DELLE COMPONENTI POLIFENOLICA, ANTOCIANICA E FLAVONOIDICA DALLE VINACCE E VINACCIOLI	38
3.1 Le Vinacce	40
3.2 I vinaccioli separati dalle vinacce	43
3.3 Proprietà biomediche dei principi attivi di vinacce e vinaccioli	47
4 ANALISI TECNICO-ECONOMICA DEI PRINCIPI ATTIVI RICAVATI DALLE ACQUE DI VEGETAZIONE (POLIFENOLI), DAGLI ESTRATTI DELLE VINACCE ESAUSTE (ANTOCIANI, FAVONI, FLAVANI, ACIDI FENOLICI) E DAI SIERO DERIVATI	48
4.1 Dati e trend di mercato dei prodotti cosmetici naturali	49
4.2 Dati e trend di mercato degli integratori alimentari	51
4.3 Il mercato degli alimenti funzionali	52
4.4 Prodotti derivanti dalle acque di vegetazione olearie	53
4.5 I prodotti ottenibili dal trattamento delle acque di vegetazione	55
4.6 Stime di massima del valore dei prodotti	57
4.7 Vinacce e sottoprodotti enologici e possibili applicazioni	57
4.8 Stime di massima del valore dei prodotti	61
4.9 Siero derivati	62
5 PROGETTAZIONE DI UN IMPIANTO DI TRATTAMENTO INDUSTRIALE PER LE DUE MATRICI ACQUE DI VEGETAZIONE E VINACCE PER CONSENTIRE LE APPLICAZIONI INDUSTRIALI	64
5.1 Dimensionamento degli impianti di trattamento	66
5.2 Sezione di Microfiltrazione (MF)	67
5.3 Sezione di Ultrafiltrazione (UF)	68
5.4 Sezione di Nanofiltrazione (NF)	68
5.5 Sezione di Osmosi Inversa (OI)	69
5.6 Prodotti recuperati dal processo	70
5.7 Valore commerciale dei prodotti recuperati	72
5.8 Costi di realizzazione degli impianti	73
5.9 Valutazioni economiche: costi-ricavi	74
6 CONCLUSIONI	76
7 REFERENZE	79

1 Introduzione

Dal punto di vista ambientale lo smaltimento al suolo delle acque di vegetazione previsto dal DM 174/2006 comporta una serie di problemi dovuti all'elevato contenuto di sostanze organiche, alla presenza di grassi e composti fenolici, difficilmente degradabili perché antimicrobici e fitotossici. Queste acque sono anche facilmente fermentescibili a causa della presenza di zuccheri e sostanze proteiche, quindi si degradano facilmente soprattutto in presenza di ossigeno, cioè all'aria. Questo progetto ha permesso di valorizzare questo refluo trasformandolo in risorsa, fino all'opportunità di procedere ad una fermentazione anaerobica per produrre biogas e successivamente energia, eliminando l'effetto inibente dei polifenoli sui processi di fermentazione, in particolare di quelle anaerobiche. La flessibilità di questa tecnologia ha permesso inoltre di trattare anche altri reflui particolarmente impattanti per l'ambiente, come ad esempio il siero di latte. Infatti, attraverso una prima separazione in MF per rimuovere batteri ed il grasso residuo, il permeato è stato trattato in UF al fine di separare e concentrare la componente proteica composta da sieroproteine e peptidi. Il permeato di UF è stato poi concentrato in NF per recuperare il lattosio insieme alla vitamina B2 (riboflavina) e ai sali bi e tri valenti. Infine il permeato di NF è stato concentrato in OI per rimuovere i sali monovalenti e le tracce di lattosio permeate in NF e recuperare nella frazione permeato, un'acqua ultra pura da impiegare come base per bevande e/o all'interno del ciclo produttivo dei caseifici. Anche in questo caso il concentrato ricco di lattosio è stato utilizzato come biomassa per la produzione di biogas. Non ultimo, le tecnologie a membrana hanno consentito di recuperare le sostanze flavonoidiche e fenoliche presenti nella buccetta dell'acino d'uva, previa estrazione in acqua di dette molecole.

Il mercato dei prodotti naturali, in continua espansione, ha spinto i settori farmaceutico, della nutrizione e della cosmesi a puntare su matrici naturali ricche di principi attivi, in particolare su quelli di natura polifenolica. Ad esempio, recenti indagini confermano che i marchi "naturale" e "biologico" sono sempre più richiesti e costituiscono il segmento del mercato cosmetico a maggiore crescita. Lo sviluppo del mercato degli integratori alimentari invece è divenuto ormai un fenomeno consolidato, sia per i consumatori che per gli operatori del settore. Tutti i dati di riferimento e le ricerche sul campo rivelano in modo univoco indici di una crescita sostenuta, in termini di fatturato. Il settore fa registrare un aumento sia di volumi (+5,5%) che di fatturato (+6,5%) tra ottobre 2013 e settembre 2014, con un'offerta diversificata e sempre più capillare. Molti studi eseguiti finora sul

trattamento delle acque di vegetazione si sono principalmente focalizzati sull'abbattimento del carico inquinante e sull'ossidazione dei polifenoli che invece costituiscono la ricchezza di questi effluenti. I risultati di questo progetto invece hanno messo in evidenza come un rifiuto può diventare materia prima ad alto valore aggiunto e potenziale risorsa economica, non solo per la produzione di biogas ma il potere antiossidante legato alle molecole in esse presenti costituisce una proprietà spendibile sia nel settore alimentare che nel settore cosmetico. Nel settore alimentare i processi ossidativi associati agli alimenti possono essere ostacolati grazie all'inserimento di queste sostanze che contrastano la produzione di specie chimiche responsabili dell'ossidazione in particolar modo della matrice grassa degli alimenti (perossidi). Nel settore cosmetico i fenomeni ossidativi derivanti dall'azione dei radicali liberi possono trovare nelle sostanze fenoliche dei validi antagonisti. Preparazioni cosmetiche ormai, riportano sempre più spesso l'inserimento di sostanze antiossidanti di origine vegetale. In questo caso la separazione tra fenoli semplici e complessi consente una notevole diversificazione dei prodotti e anche la possibilità, a partire da una stessa matrice e da un medesimo processo, di realizzare specialità diverse con diverse destinazioni d'uso.

2 SPERIMENTAZIONE E SVILUPPO DI ESTRAZIONI DI MOLECOLE UTILI

La ricerca mirata ai processi di trattamento delle acque di vegetazione delle olive che permette di recuperare i polifenoli, ha consentito il deposito di un brevetto ENEA (sigla internazionale del brevetto W02005123603, esteso all'Europa e all'Australia) in comproprietà con la Società Verdiana. L'invenzione è basata sull'impiego delle tecnologie separative mediante membrana, cioè su processi di filtrazione che permettono di recuperare le molecole polifenoliche ad un elevato grado di purezza, come l'idrossitiroso, con spiccate proprietà biomediche, e contemporaneamente dare una soluzione al grave problema ambientale dovuto allo smaltimento di questi effluenti dell'industria olearia. Il processo ENEA, oltre ai polifenoli permette di recuperare tutte le sostanze organiche e non, presenti nella A.V., compresa l'acqua, per utilizzarle profittevolmente senza problemi di natura ambientale. Le A.V. vengono idrolizzate con enzimi pectolitici in una fase precoce per il rilassamento della matrice cellulosica associata alla parete, quindi centrifugate e successivamente trattate con quattro diverse tecnologie di filtrazione tangenziale, poste in sequenza l'una all'altra. In particolare, i filtrati passano attraverso membrane a porosità sempre decrescente, fino a giungere all'osmosi

inversa (figura 1). Quest'ultimo passaggio permette di concentrare le molecole di polifenoli purificate nelle prime tre filtrazioni, in particolare l'idrossitirosolo, il verbascoside, la diacetossi-oleuropeina aglicone, etc..

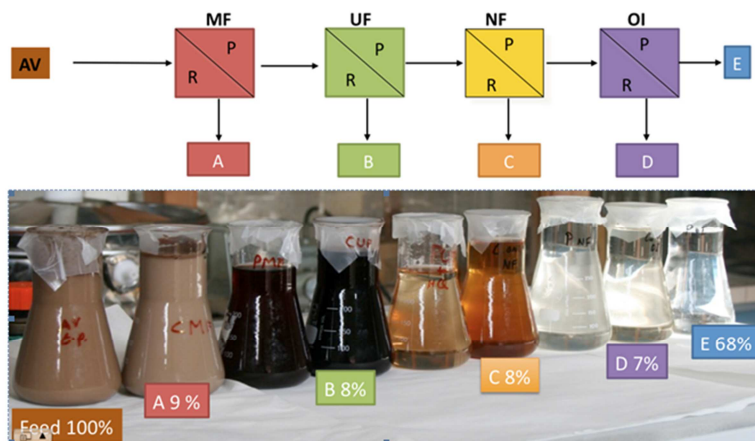


Figura 1 - In alto: schema del processo ENEA di filtrazione tangenziale
In basso: frazioni di processo ottenute

Le sostanze organiche trattenute dalle prime filtrazioni (prodotti A e B fig.1) se impoverite di polifenoli, possono trovare diverse forme di utilizzo, come la produzione di semilavorati alimentari, oppure possono essere destinati alla produzione di compost, o meglio ancora alla produzione di biogas, attraverso un processo anaerobico. I prodotti C e D rappresentano rispettivamente il concentrato contenente polifenoli ad alto peso molecolare. (> 300 da) e il concentrato contenente le molecole polifenoliche più piccole ($MW < 300$ kda) tra queste ultime ricordiamo principalmente l'idrossitirosolo una delle sostanze più attive. Il processo opera con acque di vegetazione olearie derivanti da un processo di molitura delle olive a tre fasi, ma è possibile applicarlo anche a sanse umide derivanti da un processo a due fasi dopo un pretrattamento. Il processo di microfiltrazione realizzato ha come obiettivo la separazione nella frazione concentrata di tutto il contenuto in sospensione presente nelle acque di vegetazione. Il permeato della microfiltrazione è invece una frazione limpida con colore differente secondo la cultivar delle olive trattate contenente tutte le componenti disciolte delle acque di vegetazione/sanse, proteine, zuccheri, sali, polifenoli, acidi organici e varie molecole organiche solubili. In microfiltrazione, impiegando membrane con diametro idraulico 23 canali di 3,5 mm, è possibile concentrare le acque di vegetazione/sanse fino ad ottenere una frazione concentrata con un contenuto in solidi totali di circa il 10-12%. Il concentrato di MF può essere trattato in diafiltrazione, aggiungendo acqua osmotizzata e continuando le operazioni di

filtrazione, al fine di ottenere nella frazione permeato tutto il contenuto polifenolico rimasto nel concentrato. Dopo l'operazione di diafiltrazione, si ottiene un concentrato di microfiltrazione/diafiltrazione privo o impoverito di polifenoli adatto per essere utilizzato per la produzione di biogas in reattori anaerobici o per la produzione di fertilizzanti. Il permeato di microfiltrazione può essere purificato trattenendo colloidali, pectine, macromolecole tipo proteine, con l'impiego di membrane di ultrafiltrazione. L'utilizzo dell' ultrafiltrazione permette di ottenere dunque un concentrato finale con un titolo in polifenoli maggiore. A seconda del prodotto che si vuole ottenere, è possibile impiegare membrane di nanofiltrazione per separare polifenoli con peso molecolare inferiore o per purificare i polifenoli stessi. L'ultimo passaggio di OI consente la concentrazione delle sostanze permeanti dalla NF in particolare polifenoli a basso peso molecolare, monosaccaridi e sali monovalenti. Il concentrato di OI rappresenta la frazione a più alto valore aggiunto in quanto contiene principalmente idrossitiroso la molecola antiossidante più attiva a cui sono state associate le principali proprietà antiossidanti legate all'olio d'oliva. Il concentrato di osmosi inversa (prodotto D, fig. 1) è il prodotto principale, contenente la componente polifenolica concentrata e può essere impiegato come integratore nell'industria alimentare o nel settore cosmetico e farmaceutico eventualmente dopo ulteriori processi di purificazione. Il permeato invece (prodotto E vedi fig. 1) è un'acqua ultrapura di origine vegetale da riutilizzarsi nel settore alimentare o comunque da impiegarsi nel processo produttivo. In figura 2 è riportata per ogni frazione una ipotesi di applicazione commerciale.

Frazione di processo		Descrizione	Settore applicativo
A	MF Concentrato	→ PRODOTTO RICCO IN FIBRE, PROTEINE, SALI MINERALI	ALIMENTARE, ENERGIA
B	UF Concentrato	→ PRODOTTO RICCO IN ZUCCHERI, IMPOVERITO DI POLIFENOLI	ALIMENTARE, ENERGIA
C	NF Concentrato	→ PRODOTTO RICCO IN POLIFENOLI AD ALTO PESO MOLECOLARE, E ZUCCHERI	ALIMENTARE, COSMETICO, FARMACEUTICO
D	OI Concentrato	→ PRODOTTO RICCO IN IDROSSITIROSOLO	ALIMENTARE, COSMETICO, FARMACEUTICO
E	OI Permeato	→ ACQUA ULTRAPURA	ALIMENTARE, COSMETICO, FARMACEUTICO

Figura 2 - Acque di vegetazione prove trattamento mediante filtrazione tangenziale

2.1 Prova pilota di trattamento AV con tecnologie a membrana

Per definire in maniera ottimale le specifiche degli impianti pilota da realizzare, sono stati valutati differenti parametri di processo quali le pressioni, la portata di alimentazione, la velocità di scorrimento sulla superficie di membrana, il rapporto volumetrico di concentrazione, i flussi di permeato, etc. Allo scopo, è stata effettuata una prova sperimentale preliminare e investigativa su acque di vegetazione provenienti da un frantoio locale, in quanto la stagionalità lo consentiva, utilizzando due impianti pilota mobili di microfiltrazione (MF) con membrane ceramiche tubolari e di ultrafiltrazione/osmosi inversa (UF/OI) con membrane polimeriche a spirale avvolta. Questa prova è servita a dimensionare correttamente gli impianti da acquistare.

Di seguito sono riportati le curve di produttività delle sezioni di MF e di UF.

In OI la produttività è piuttosto costante e compresa tra 20 e 25 L/m²h.

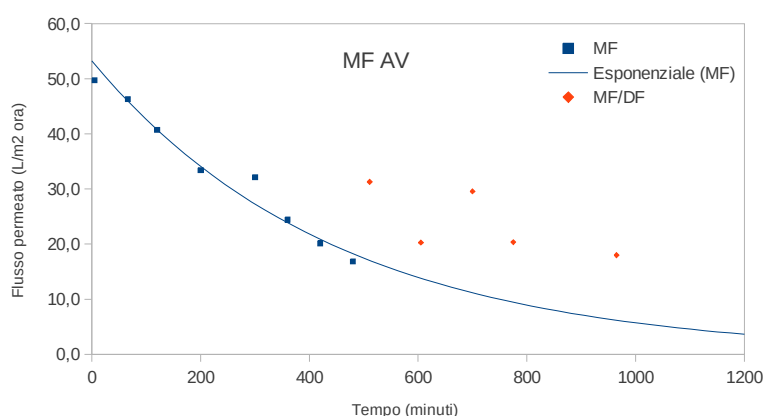


Figura 3- Curva di produttività del processo di MF ceramica tubolare

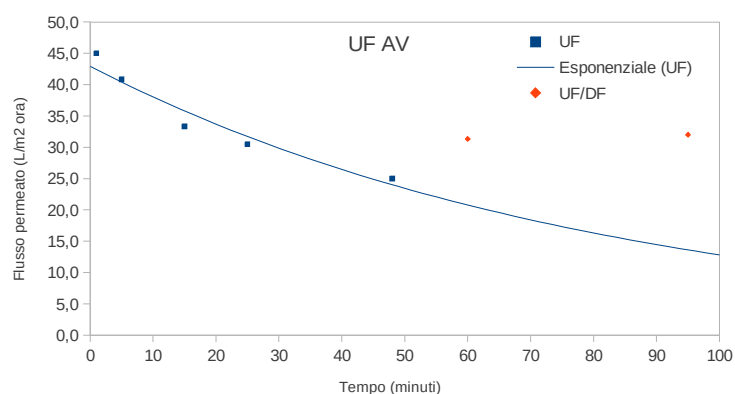


Figura 4 - Curva di produttività del processo di UF polimerica a spirale avvolta

Sono stati trattati circa 250 lt di acque di vegetazione (AV) derivanti da un processo di molitura di olive di cultivar Coratina e Leccino. Le AV sono state chiarificate in MF ottenendo una frazione di permeato limpida contenente tutte le componenti solubili presenti nelle AV ed una frazione concentrata contenente tutte le componenti in sospensione contenute nelle AV. La produttività in MF si è attestata intorno a 17 L/m²h raggiungendo un rapporto volumetrico di concentrazione pari a 4,1. Il permeato di MF è stato in seguito purificato in UF e concentrato in OI, mentre il concentrato di MF è stato destinato alla produzione di biogas. Per diminuire il contenuto di polifenoli nella frazione concentrata, è stata realizzata una fase di diafiltrazione (DF): al concentrato di MF ottenuto è stata aggiunta gradualmente acqua osmotizzata continuando le operazioni di filtrazione, favorendo così la rimozione nella frazione permeato delle componenti solubili delle AV. Durante le operazioni di DF il flusso di permeato è aumentato per effetto della diluizione. Il permeato di MF è stato trattato in UF per purificare i polifenoli da colloidali, pectine solubili e macromolecole come ad esempio le proteine. In particolare durante le operazioni di UF si sono ottenute una frazione permeato contenente principalmente i soluti con bassi pesi molecolari (sali, zuccheri, polifenoli e molecole organiche con bassi pesi molecolari) ed una frazione concentrata contenente le componenti ad alto peso molecolare. La produttività in UF si è attestata intorno ai 25 L/m²h ottenendo un rapporto volumetrico di concentrazione pari a 4,5. Anche in UF, durante le operazioni di DF, si registrata un aumento di produttività per effetto della diluizione. La frazione concentrata di UF, dopo un'adeguata operazione di DF per rimuovere il contenuto polifenolico, può essere destinata alla produzione di biogas, mentre la frazione permeato di UF è stata concentrata in OI al fine di ottenere polifenoli concentrati. Il concentrato di OI, qualora necessario, può essere stoccato dopo un'ulteriore concentrazione con evaporatore sotto vuoto oppure in forma di polvere dopo un'essiccazione con spray-dryer. Le frazioni separate con tecnologie di membrana sono state analizzate per via spettrofotometrica per determinare il contenuto polifenolico totale, esprimendolo come mg/Lt di acido gallico.

I risultati sono riportati nella tabella seguente.

Frazione	Solidi totali (%)	Residuo secco (%)	Polifenoli tot (mg/L Acido Gallico)
Feed	4,17	4,3	6042,60

Conc MF	14,48	15	13176,00
Perm MF	2,74	3,2	2298,60
Conc MF/DF	11,84	12	13383,00
Perm MF/DF	1,12	1,4	1386,60
Conc UF	4,36	4,5	5155,40
Perm UF	1,96	2,4	1397,50
Conc UF/DF	1,85	2,3	3594,45
Perm UF/DF	0,3	0,6	270,65
Conc OI	9,7	11,2	7006,90
Perm OI	0,11	0,4	56,58

Tabella 1- Risultati analitici frazione AV separate con tecnologie di membrana

I risultati di questa prova ci hanno permesso di fare alcune considerazioni:

- le operazioni di DF devono essere prolungate sia in MF che in UF al fine di abbattere il contenuto polifenolico nelle frazioni concentrate di MF/DF e di UF/DF da destinare al biogas;
- In OI i polifenoli contenuti nel permeato di UF e di UF/DF possono essere concentrati maggiormente operando a pressioni di esercizio superiori a 20-30 bar e con membrane di maggiore selettività. Infatti il leggero contenuto polifenolico presente nel permeato di OI è legato all'utilizzo in questa prova di una membrana con minore selettività.

I dati ottenuti ci hanno permesso di progettare gli impianti pilota da utilizzare per l'intera campagna sperimentale prevista dal progetto, per poi redigere le specifiche tecniche di un impianto pilota su skid carrellabile con membrane ceramiche tubolari in grado di operare nelle condizioni di microfiltrazione, ultrafiltrazione e nanofiltrazione e di un impianto pilota su skid carrellabile con membrane polimeriche a spirale avvolta da 4" in grado di operare nelle condizioni di ultrafiltrazione, nanofiltrazione ed osmosi inversa.

Progettando gli impianti con una tecnologia finalizzata al recupero delle biomolecole presenti nei reflui, ci ha permesso di trattare le acque di vegetazione, ma

anche scarti come le sanse e le foglie di olivo, come residui della potatura e le componenti polifenoliche, antocianiche e flavonoidiche delle vinacce e i reflui provenienti dal settore lattiero-caseario.

Gli impianti richiesti (fig. 5) sono stati realizzati (fig. 6) ad esecuzione alimentare ed in accordo alle norme UNI collegate a ISO o equivalenti. In particolare norme AISI per gli acciai inossidabili ed attacchi - connessione DIN11851 o CLAMP fino a 16 bar, ed attacchi CLAMP ad alta pressione oltre 16 bar. Piping e valvolame in acciaio inossidabile, tubazione di distribuzione aria compressa per la manovra delle valvole e per i segnali pneumatici, strutture per il sostegno delle apparecchiature (skid) e supporti per le tubazioni in AISI304, cablaggi elettrici tra strumenti e quadro di controllo e collegamenti pneumatici necessari per il funzionamento dell'impianto.

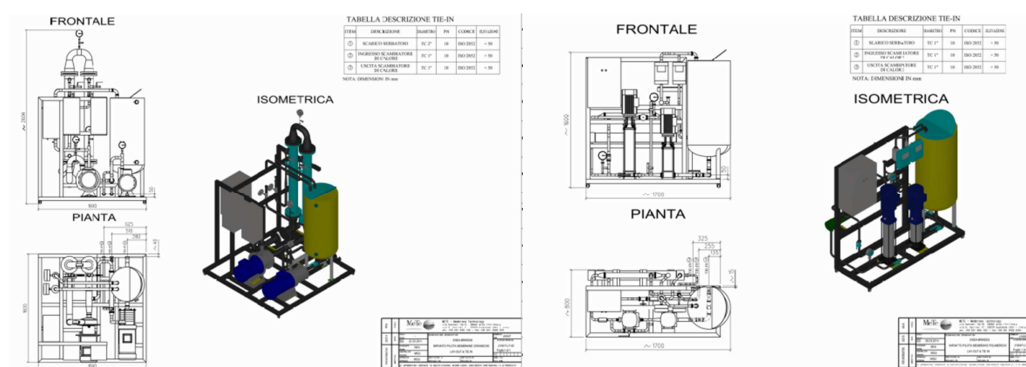


Figura 5 – Layout impianto pilota a membrane ceramiche e a membrane polimeriche

2.2 Prove sperimentali con gli impianti pilota

La campagna sperimentale si è svolta principalmente presso gli opifici del territorio salentino, procedendo a testare sperimentalmente, con l'utilizzo degli impianti di Microfiltrazione/Ultrafiltrazione e Nanofiltrazione/Osmosi Inversa, le performance delle membrane montate, attraverso l'estrazione dei polifenoli contenuti nelle acque di vegetazione, raccolte nei giorni precedenti dai processi di molitura.

2.3 Acque di vegetazione

La 1^a sperimentazione è stata condotta presso il Frantoio Margheriti, sito nella località Erchie – Brindisi, (fig. 7) in collaborazione con GENELAB ed è stata necessaria per verificare la fattibilità che il trattamento produca:

- 1) Un concentrato impoverito di polifenoli da inviare, come biomassa, al trattamento di produzione di energia;
- 2) Un permeato da inviare a successivi trattamenti per il recupero dei polifenoli;
- 3) Un campionamento per le relative determinazioni analitiche.

Dopo aver verificato la corretta installazione e collegamento a tutte le utilities disponibili (energia elettrica, acqua calda, acqua fredda, aria compressa), si è proceduto con un test in bianco per verificare lo stato dei flussi e la performance delle membrane. Per motivi logistici e di contenimento dei consumi si è deciso di non utilizzare l'acqua fredda per l'alimentazione dello scambiatore di raffreddamento anche perché si è stimato che le temperature raggiunte sarebbero state ampiamente al di sotto dei limiti di processo e di impianto.

L'impianto utilizzato di Microfiltrazione/Ultrafiltrazione è di tipo ceramico in esecuzione alimentare così composto:

- Serbatoio di alimentazione della capacità di circa 200 Lt;
- Pompa di prealimento al circuito delle membrane, comandata tramite inverter;
- Pompa di circolazione circuito membrane, comandata da inverter;
- Due housing per membrane ceramiche posti in serie: superficie totale 6m²;
- Dispositivo per il Back-Pulse;
- Uno scambiatore di calore inserito nel circuito di ricircolo delle membrane;
- Misuratori di portata, valvole di regolazione, indicatori di pressione, valvole isola campioni;
- Quadro elettrico con PLC touch-screen per il controllo del processo e la registrazione dei dati di pressione, temperatura e portata;
- Materiale: AISI 316



Figura 6 – Impianti pilota a membrana



Figura 7 – Fasi di caricamento delle acque di vegetazione presso frantoio “Margheriti”

E' stato effettuato un test con acqua, sia per eliminare le eventuali perdite che via via, all'aumentare della pressione di esercizio, si manifestano, sia per prendere un valore di produttività delle membrane con l'acqua di rete locale. Tale valore servirà come dato di riferimento a fine prova per la fase di lavaggio.

Dopo aver caricato il serbatoio con acqua di rete, sono state impostate le condizioni di esercizio e di produttività riportate in tabella 2:

Descrizione	Condizione 1	Condizione 2
Inverter pompa 1	30 Hz	27 Hz

Inverter pompa 2	20 Hz	60 Hz
Pressione ingresso membrane PT1200	4,4 bar	6,6 bar
Pressione uscita membrane PT1300	4,0 bar	3,0 bar
Temperatura di esercizio TT1100	22 °C	29 °C
Portata circuito di ricircolo membrane FT1200	15,2 m ³ /h	46,7 m ³ /h
Portata ritorno concentrato al serbatoio FT1300	7.200 Lt/h	6.850 Lt/h
<i>Produttività membrane FT1400</i>	<i>4.595 Lt/h</i>	<i>5.404 Lt/h</i>

Tabella 2 - Condizioni di test con acqua di rete

La prova sperimentale è stata effettuata utilizzando circa 400 L di acque di vegetazione (A.V.), provenienti da due cultivar differenti, ossia Leccina e Ogliarola, partendo da un primo batch di circa 187 L, in microfiltrazione ceramica fino ad arrivare ai 400 L totali e registrando il livello di partenza del serbatoio, per calcolare il valore di Hold-Up dell'impianto (circa 42 L totali). Inoltre è stato avviato il processo settando il Back-Pulse ogni 3 minuti e per la durata di 15 secondi.

La MF è rimasta in esercizio per circa 3h, attestandosi ad un valore medio di circa 50 L/m²h (fig. 8), con un valore massimo di temperatura pari a 52°C.

Dopo circa 1h 30min di esercizio è stata osservata una riduzione del volume alimentato al punto da suggerire l'inizio delle operazioni di Diafiltrazione, con lo scopo di forzare il passaggio dei polifenoli ancora presenti nella soluzione concentrata. In totale si sono operati 4 Dia volumi (tabella 3) con un incremento del flusso di permeato ad ogni aggiunta, visibile nella curva estratta dal sistema di registrazione dei dati dell'impianto e riportata in fig. 9. Il fattore di concentrazione

raggiunto infatti, considerando sia il volume di concentrato nel serbatoio, sia quello presente nell'impianto come Hold-Up, è stato pari a circa $VCR = 5$. Anche in condizioni di elevato VCR la membrana ha continuato a mostrare un flusso di permeato, a fronte di un concentrato dall'aspetto semisolido. Nella figura successiva è stata riportata la produttività della membrana di MF ed il tempo di lavoro espresso in minuti, ottenuto dai dati presi manualmente dalla strumentazione di campo.

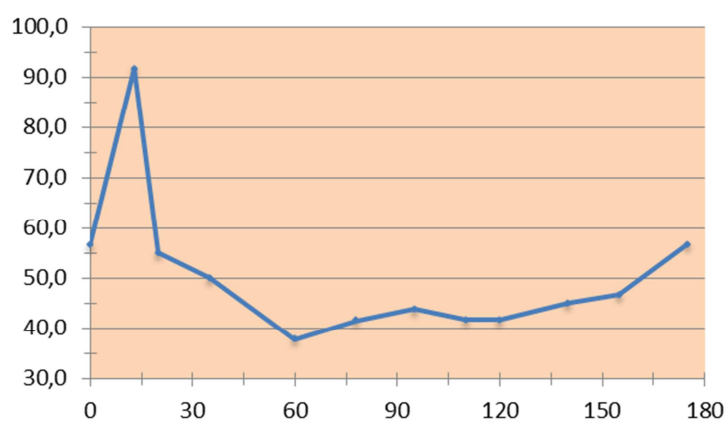


Figura 8 - Andamento del flusso di permeato di MF vs il tempo reale di lavoro

	Con Dia filtrazione
Alimento = 397 Lt	Alimento = 678 Lt
Permeato MF = 317 Lt	Permeato MF = 598 Lt
Concentrato MF = 80 Lt	Concentrato MF = 80 Lt
VCR = 4,96	

Tabella 3 - Bilancio dei volumi con e senza Diafiltrazione

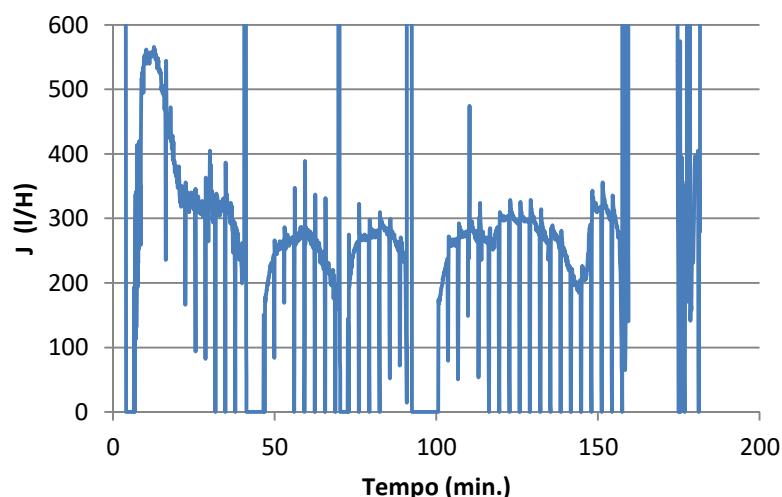


Figura 9 - Andamento del flusso di permeato di MF vs il tempo reale di lavoro dal PLC

La 2^a sperimentazione è stata condotta al fine di ottenere alcune frazioni arricchite in polifenoli dalle acque di vegetazione per valutarne le caratteristiche e la loro applicabilità come semilavorati ad alto valore aggiunto. Il processo a membrana ha impiegato tre stadi di filtrazione: MF, UF e OI. Utilizzando gli impianti pilota di microfiltrazione (MF) ceramica con membrane ceramiche tubolari in ossido di allumina, (strato selettivo in ossido di zirconia, diametro esterno 25 mm, lunghezza 1178 mm, 23 canali, diametro idraulico del canale di 3,5 mm, superficie filtrante di 0,35 m² e taglio molecolare rispettivamente di 0,14 micron – 300 kDa e di ultrafiltrazione (UF) con membrana polimerica a spirale avvolta in poli-etersulfone, il permeato di UF è stato trattato in OI con una membrana in poliammide ad alta reiezione salina con una superficie filtrante di 7 m². Le fasi di processo sono illustrate nello schema di fig. 10.

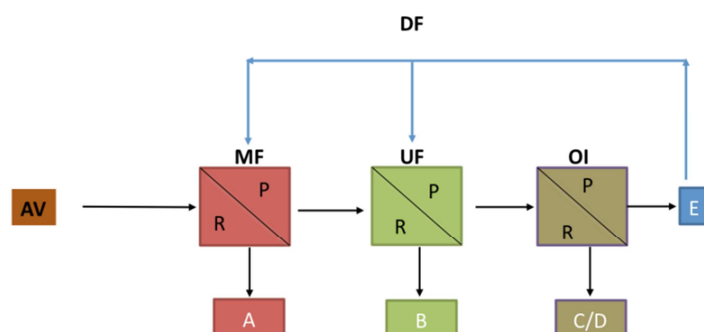


Figura 10 - Layout di processo della prova pilota sulle AV Frantoio pugliese

Sono stati trattati complessivamente 250 lt di acque di vegetazione (AV) derivanti da un processo di molitura di olive di cultivar Coratina e Leccino.

Le AV sono state microfiltrate ottenendo una frazione di permeato MF limpida contenente tutte le componenti solubili presenti nelle AV ed una frazione concentrata contenente tutte le componenti in sospensione contenute nelle AV (concentrato MF) fig. 11.



Figura 11 - Frazioni derivanti dal primo stadio del processo la microfiltrazione

In tabella 4 sono riassunti i dati di input e output della prova in termini di volumi, tempi, parametri di esercizio e prestazioni per ogni sezione.

	MF	MF/DF	UF	UF/DF	OI
Cut-off	0,14 micron	0,14 micron	30 kda	30 kda	-
superficie (m²)	0,7	0,7	6	6	7
Polimero	ceramica	ceramica	PES	PES	PAM
tempo (min)	480	485	48	47	75,00
t media (°C)	20	20,2	18,16	18,85	19,07
Produttività media (L/m²h)	23,07	23,9	34,93	31,67	30,86
Ricircolo(Lt/h)	10062,5	9940	5140	5100	541,67
Pressione in ingresso (bar)	2,9125	3,03	5,46	5,55	23,33

Pressione in uscita (bar)	0,925	0,87	3,96	4,05	-
Volume feed (Lt)	242	59+177	183	41+166	142+164
Volume concentrato finale (Lt.)	59	59	41	41	50,00
Volume permeato (lt.)	183	176	142	164	305
VCR	4	-	4,5	-	-

Tabella 4 - dati di processo della prova di trattamento AV

La produttività in MF si è attestata intorno a 17 L/m²h a fine prova mentre la produttività media per questa sezione è stata di circa 23 L/m²h, con una concentrazione 1:4 (rapporto volumetrico di concentrazione pari a 4,1). Il permeato di MF è stato successivamente ultrafiltrato (cut-off 30 Kda) e concentrato in OI, mentre il concentrato di MF è stato stoccato per eseguire successivamente prove di utilizzo come feed per la digestione anaerobica.

Per ridurre il contenuto polifenolico nel concentrato, è stata condotta una fase di diafiltrazione (DF) aggiungendo gradualmente acqua osmotizzata al concentrato di UF e continuando le operazioni di filtrazione, favorendo così la rimozione nella frazione permeato delle componenti solubili delle AV.

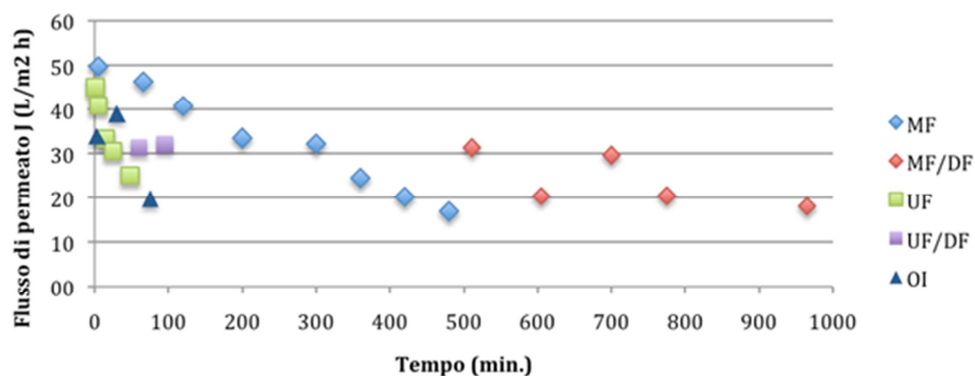


Figura 12 - produttività MF, UF, OI nella prova di trattamento AV

Il permeato di MF è stato trattato in UF per purificare i polifenoli da colloidi, pectine solubili e macromolecole come ad esempio le proteine. In particolare durante le operazioni di UF sono state ottenute una frazione permeato contenente principalmente i soluti con bassi pesi molecolari (sali, zuccheri, polifenoli e molecole organiche con bassi pesi molecolari) ed una frazione concentrato contenente le componenti ad alto peso molecolare.

La produttività in UF si è attestata al termine della prova intorno ai 25 L/m²h anche in questo caso con un fattore di concentrazione pari a 4,5.

La frazione concentrato di UF, dopo un'adeguata operazione di DF per ridurre il contenuto polifenolico, è stata destinata alla produzione di biogas, mentre la frazione permeato di UF è stata concentrata in OI al fine di ottenere polifenoli concentrati.

In fig. 13 sono riportati i campioni liquidi associati alle varie frazioni di processo.

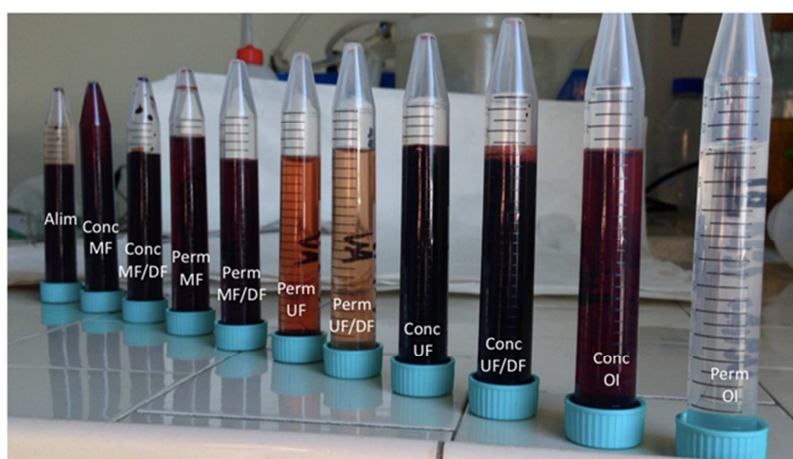


Figura 13 - campioni liquidi delle frazioni di processo

2.4 Trattamento delle foglie d'olivo

Le potature dell'olivo rappresentano una importante biomassa che può essere con profitto impiegata per la produzione di energia mediante combustione, tuttavia la parte fogliare dell'olivo è ricca di sostanze fenoliche, tra cui l'oleuropeina che può arrivare fino al 10-20 % in peso rispetto alla foglia. L'oleuropeina costituisce in tal senso, il componente fenolico più importante nel distretto fogliare, associata alle proprietà benefiche delle foglie d'olivo in particolare come agente antiossidante cardioprotettivo in grado di ridurre i fenomeni ipertensivi (visioli et al 05).

È stata condotta una sperimentazione pilota su un quantitativo campione di foglie di ulivo durante la campagna olearia. Lo scopo del trattamento delle foglie di ulivo consiste nel dimostrare la fattibilità tecnica di un nuovo processo dedicato al recupero e riutilizzo di componenti fenolici presenti nelle foglie, con l'obiettivo di ottenere estratti standardizzati in una formulazione adatta per applicazioni nel mercato alimentare, cosmetico o fitoterapico.

Sono state necessarie cinque fasi di produzione:

1 . estrazione di acqua del materiale vegetale (foglie di ulivo);

2 . pre-filtrazione per la rimozione dei solidi sospesi;

e due fasi di filtrazione a membrana a flusso tangenziale in sequenza:

3 . microfiltrazione (MF);

4 . osmosi inversa (RO);

allo scopo di ottenere un estratto in polvere a partire dalle frazioni liquide, è stata prevista una quinta fase di essiccazione a spruzzo su retentato di osmosi previa aggiunta di maltodestrine (5%).

Lo schema generale del processo di frazionamento è mostrato in figura 20, dove sono anche indicate le destinazioni ultime del pannello delle foglie residuo, che possono essere impiegate per la produzione di energia o come fertilizzante.

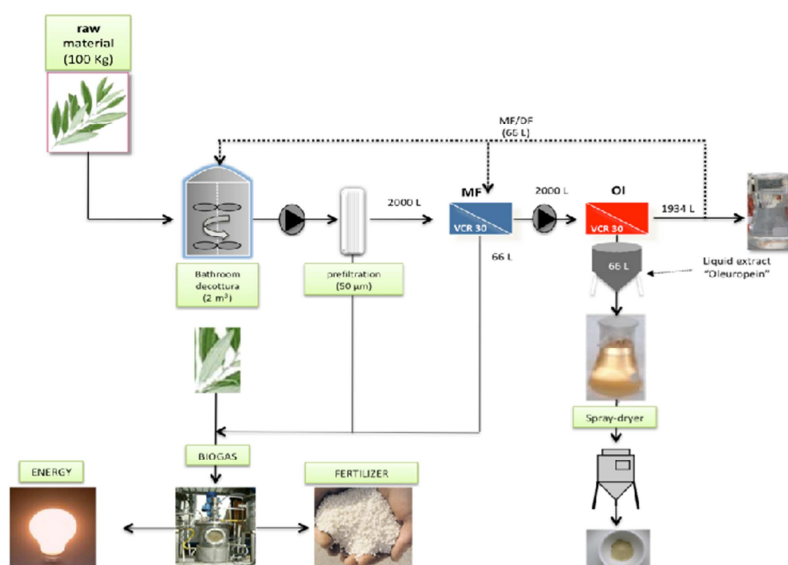


Figura 20 - lay out di processo per il trattamento delle foglie

Le prove di estrazione e filtrazione sono state eseguite presso il centro ricerche ENEA della Casaccia Roma. Le foglie opportunamente lavate sono state immerse in acqua demineralizzata.

Al fine di conseguire una estrazione quantitativa di principio attivo, sono stati previsti due diversi cicli di estrazione:

1. primo ciclo - 100 kg di foglie di ulivo fresche immerse in circa 1000 lt di acqua demineralizzata e mantenute sotto agitazione idraulica per 90 minuti a 70-90°C. L'estratto è stato poi recuperato;
2. secondo ciclo - aggiunta di un nuovo carico di acqua fresca demineralizzata (1000 lt) e ripetendo le condizioni di estrazione operative del primo ciclo.

A seguito dell'estrazione in acqua l'estratto grezzo è stato pre-filtrato su filtro cut-off 50 micron per la rimozione delle sostanze corpuscolari e delle particelle più grossolane.

Le condizioni operative dei due cicli sono riassunte in tabella 7.

Foglie / rapporto acqua	1:20
Temperatura (°C)	70-90
Tempo di contatto (minuti)	180
Solvente	Acqua demineralizzata

Tabella 7 - Condizioni operative del processo di estrazione in acqua

L'estratto grezzo che è stato ottenuto è di colore giallo-verde, leggermente opaco per la presenza di solidi sospesi (colloidi e fibre insolubili). Dopo il drenaggio dell'estratto grezzo, le foglie contengono ancora il 10% del volume iniziale di acqua aggiunta. L'estratto pre-filtrato è stato sottoposto ad un doppio stadio di filtrazione tangenziale: microfiltrazione (MF) e permeato di MF concentrato successivamente mediante osmosi inversa (RO).

Microfiltrazione: la MF è stata condotta sull'intero batch fino al raggiungimento di un VCR 30. Durante la MF l'estratto pre-filtrato è stato purificato dai solidi sospesi, dalle fibre e dalle cellule residue. I polifenoli e i principi attivi in grado di attraversare la membrana si ripartiscono tra permeato e concentrato. Il permeato

MF è una soluzione limpida di colore giallo paglierino, senza alcun solido in sospensione contenente tutti i componenti solubili appartenenti alle foglie di ulivo.

Diafiltrazione: Al fine di aumentare la resa in polifenoli, una fase di diafiltrazione (DF) è stata eseguita sul permeato. In questo caso dopo la MF è stato eseguito un solo ciclo DF (aggiunta di un solo Dia-volume). Questa procedura aumenta la resa di polifenoli nel flusso permeato di circa il 20 %.

La produttività della membrana ceramica, raggiungendo un tasso di concentrazione del volume (VCR) di 30, è di circa 35 L/m²h, come si può vedere dalla curva di permeabilità di figura 11. La DF è stata condotta sul retentato MF, aggiungendo 66 L (DV) di acqua distillata a 66 L di retentato prodotto da MF.

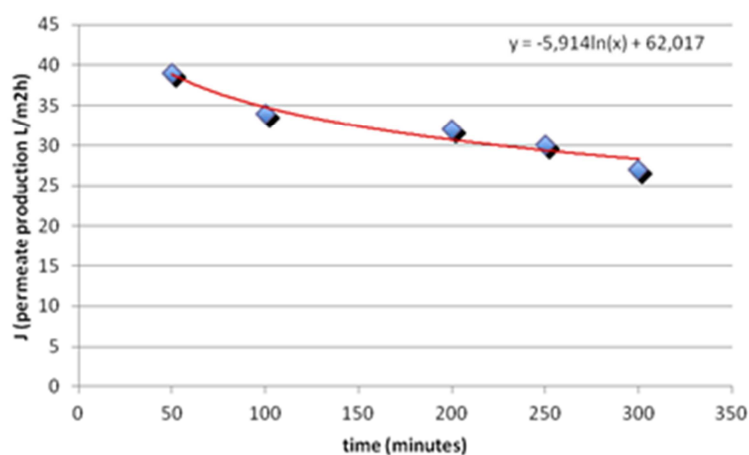


Figura 11 - produttività MF nella prova di trattamento foglie

I circa 2000 L di permeato MF/DF sono stati concentrati in OI. L'andamento della produttività per la sezione di OI è riportata in figura 12.

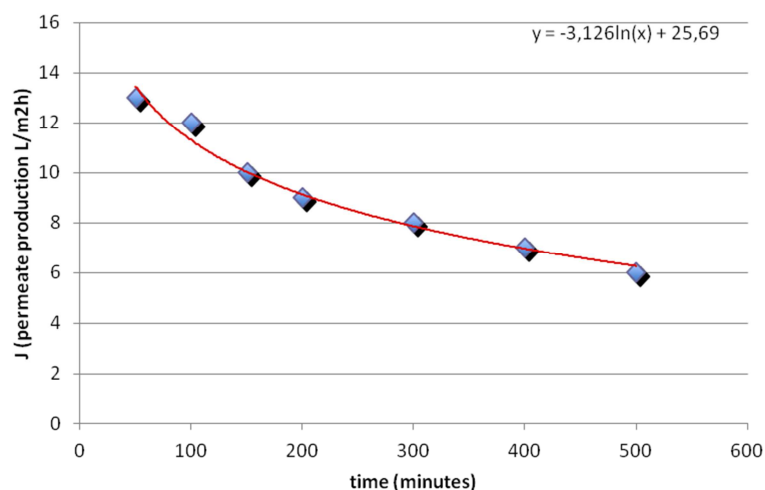


Figura 12 - produttività OI nella prova di trattamento foglie

Osmosi inversa: il permeato MF/DF è stato ulteriormente trattato in OI per la concentrazione finale. Durante la OI è stata osservata una diminuzione di circa il 60 % del flusso di permeato e questo potrebbe essere dovuto alla mancanza della fase intermedia di nanofiltrazione NF sul permeato MF. La NF può concentrare tutte le molecole con peso molecolare superiore a 300 Da e inoltre trattenere nel permeato gli zuccheri i polialcoli e altre molecole organiche. Grazie alla NF è possibile in tal modo discriminare all'interno del pool fenolico tra composti fenolici a più elevato peso molecolare (come l'oleuropeina 540 Da) e molecole più piccole come l'idrossitirosolo (154 Da) e tirosolo (138 Da). Lo scopo dell'impiego della OI consiste nell'ottenere una frazione liquida concentrata in cui tutte le famiglie polifenoliche siano contenute anche per questo motivo la NF non è stata impiegata.

In MF raggiungendo VCR 30, è stato ottenuto un concentrato (66 L retentato MF) con 85 g /L di residuo secco e 10 g/L di polifenoli totali (acido gallico equivalenti) come riportato nella tabella 8.

FRAZIONI DI PROCESSO	POLIFENOLI TOTALI (GAE – g/L)	RESIDUO SECCO (%)
ESTRAZIONE (1° BATCH)	0,6	0,4
ESTRAZIONE (2° BATCH)	1	0,4

ALIMENTO	0,8	0,4
CONCENTRATO MF/DF	7,7	2,7
CONCENTRATO OI	10	8,5
ESTRATTO SECCO	74	95

Tabella 8 - Quantificazione dei fenoli e residuo secco negli estratti liquidi e in polvere

In OI il VCR raggiunto è stato di 34, il permeato ottenuto in OI rappresenta circa il 90-95 % del volume iniziale di alimentazione, ed è un' acqua che contiene ancora alcune molecole aromatiche e fenoliche (1-2 g/l) che può essere impiegata con successo nella formulazione di bevande. Tra gli obiettivi del presente lavoro c'è anche la formulazione di un estratto polifenolico stabile. L'estratto liquido (retentato OI) pertanto è stato essiccato per ottenere una polvere fine (fig. 13).

Le prove di essiccazione spray sono state eseguite presso il centro di ricerca ENEA Casaccia. L' estratto secco è stato ottenuto operando nelle seguenti condizioni:

- 98 °C temperatura di ingresso;
- 78 °C temperatura di uscita;
- flusso alimento 0,5 ml / min;
- pressione 2 bar;
- 5 % di maltodestrine.



Figura 13 - Estratto secco (polvere) di foglie di *Olea europaea*

Le frazioni di processo liquide ottenute in fase di filtrazione a membrana sono state caratterizzate, per quanto riguarda il loro residuo secco e il contenuto fenolico totale (tabella 8).

Il tenore di sostanza secca è stato misurato con Termobilancia infrarossi. 5 grammi di ogni frazione sono stati riscaldati a 105°C per 45 min. fino a raggiungere un 0,1 % di Umidità residua.

I composti fenolici negli estratti liquidi e nell'estratto in polvere sono stati stimati attraverso il saggio colorimetrico di Folin Ciocalteu, come descritto in Singleton & Rossi 1965. Come riportato in tabella 9 è stato osservato che il secondo estratto ha un contenuto polifenolico del 60-65 % maggiore rispetto primo batch di estrazione, il conc. OI mostra un 25-30 % in più di polifenoli rispetto al conc MF ed espone circa il 3 % della materia solida per via dell' elevato VCR raggiunto. Il prodotto in polvere come atteso mostra il più alto livello di polifenoli (74 mg/g - GAE).

ANALISI HPLC *	λ nm	[] mg/Kg
IDROSSITIROSOLO	280	10432
OLEUROPEINA E DERIVATI	280	30303
LIGSTROSIDE E DERIVATI	280	432
VERBASCOSIDE	280	2570
OLEOCANTALE	280	403
LIGNANI (acetossipinoresinolo e pinoresinolo)	280	679
ACIDI FENOLICI TOTALI (acido protocatecoico, acido caffeico, acido ferulico, acido O-Cumarico)	280	2537
FLAVONOIDI TOTALI	280	10435
TOTAL PHENOLIC		57791

Tabella 9 - Analisi HPLC estratto secco da fogli e d'olivo
(*Dati espressi utilizzando tirosolo come standard esterno)

Le analisi in HPLC sono state condotte sull'estratto in polvere, per valutare il profilo polifenolico di foglie di ulivo nel prodotto finale. Il profilo polifenolico dell'estratto è stato determinato mediante HPLC con rivelatore IR operante a 280 nm. La quantificazione dei principali composti fenolici è riportata nella tabella 9. Il contributo più abbondante è associato, come previsto, all'oleuropeina e all'idrossitirosolo, e anche ad alcuni acidi fenolici (acido ferulico e acido cumarico e acido protocatecuico). I derivati dell'oleuropeina (acido elenolico, iso-oleuropeina, deacetossioleuropeina aglicone DACOLAG) sono stati accorpati al dato inerente l'oleuropeina (sono infatti considerati come un'unica famiglia sotto il profilo merceologico).

2.5 Trattamento Sanse

La sansa costituisce il 50% del quantitativo della biomassa residuale derivante dalla molitura delle olive. Il trattamento delle sanse ai fini estrattivi sulle sostanze fenoliche presenti si basa su vari approcci:

- trattamento enzimatico,
- trattamento in alta pressione e in condizioni acide
- estrazione in acqua a caldo (70-80°)
- estrazione con solventi

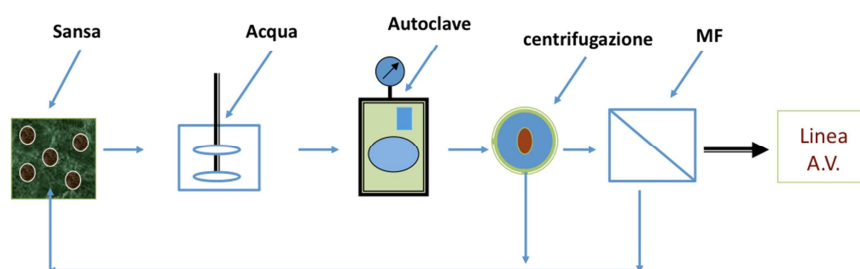


Figura 19 - Layout di processo pre-trattamento sanse (sansa denocciolata)

Le sanse umide possono essere denocciolate, diluite e prefiltrate con taglio di circa 0,7 mm (ad esempio con vibro-vaglio) e poi trattate con impianti a membrana, oppure possono essere trattate in decanter a tre fasi con eventuali diluizioni e riprocessamenti prima di essere trattate con processi a membrana. Il passaggio

estrattivo in acqua consente l'ottenimento di una sospensione che si avvicini alla struttura delle acque di vegetazione, per poter essere trattata secondo il modello ENEA basato su 4 filtrazioni tangenziali successive vedi sopra. Pertanto le sanse sono in tal senso riconvertite a refluo liquido (previa denocciolatura) per poter permettere la separazione delle famiglie fenoliche e la loro concentrazione selettiva. In figura 19 è riportato lo schema di processo per il trattamento delle sanse.

È opportuno osservare che il processo prevede oltre alla denocciolatura (non descritta nel layout) la dissoluzione della matrice solida in acqua anche un successivo passaggio di trattamento in alta pressione (autoclave), per poter rendere più fine la tessitura della matrice solida associata alla sansa e incrementare il passaggio in soluzione delle sostanze fenoliche. Tale processo porta all'ottenimento di un prodotto che presenta caratteristiche simili alle acque di vegetazione almeno in termini di solidi totali 4-7% mentre per quanto attiene ai polifenoli totali si osserva un contenuto pari al 3-4 % (complessivamente calcolati).

Il processo ad ogni modo consente il recupero di frazioni utili ai fini della valorizzazione delle componenti biochimiche di pregio in particolare dei polifenoli. Tali frazioni sono da considerarsi comparabili sotto il profilo qualitativo delle specie biochimiche presenti.

A seconda della efficacia estrattiva delle fasi precoci del processo si avranno delle variazioni nelle concentrazioni di alcune specie come idrossitiroso, oleuropeina, verbascoside e altri composti minori. Le variazioni a carico di questi titoli possono essere normalizzate attraverso il raggiungimento di più elevati rapporti volumetrici di concentrazione. In tal senso, è possibile mediante processi di DF e di ottimizzazione dei parametri di pre-trattamento determinare un incremento sostanziale delle rese di estrazione dei polifenoli ottenuti dalle sanse.

2.6 Siero di latte

I reflui generati nel settore lattiero-caseario sono uno tra i maggiori problemi dell'agro-industria in Italia. Tale problema non è legato unicamente all'elevato carico inquinante ma anche ai volumi prodotti estremamente grandi ed alla diffusa presenza di caseifici nel territorio. Il refluo più abbondante della lavorazione casearia è la scotta, la frazione liquida rimanente dopo la produzione per trattamento termico della ricotta dal siero di latte acidificato, a sua volta derivante dal processo di caseificazione. In Italia se ne produce circa 1 milione di ton/anno.

Una parte è impiegata nell'alimentazione dei suini, mentre quella destinata allo smaltimento necessita di ulteriori trattamenti a causa del suo carico inquinante estremamente alto (BOD: 50 g/l; COD: 80 g/l). In realtà, seppur sia generalmente considerata uno scarto, la scotta è a tutti gli effetti una materia prima contenente importanti costituenti quali lattosio, peptidi e poche sieroproteine native, vitamine e non per ultimo l'acqua derivante dal latte.

Valorizzare la scotta recuperando tutte le componenti di interesse è un obiettivo particolarmente importante sia dal punto di vista ambientale sia dal punto di vista economico.

Obiettivo della sperimentazione è stato quello di ottimizzare un processo di frazionamento della scotta al fine di riutilizzarne tutte le componenti in differenti campi di applicazione. In estrema sintesi il processo ha permesso di ottenere a partire dalla scotta:

- una frazione contenente la frazione proteica da riutilizzare nel processo di produzione della ricotta o per la produzione di peptidi bioattivi da riutilizzarsi come integratori in nuovi prodotti;
- una frazione contenente lattosio da utilizzarsi oppure, dopo trattamento enzimatico, per la produzione di lattulosio, acido lattobionico o galatto-oligosaccaridi.

A partire da una matrice liquida, a seguito di un processo separativo a membrana, sono state ottenute due frazioni liquide: una definita permeato, costituita dal solvente della matrice (generalmente acqua) contenente tutte le componenti che riescono ad attraversare la membrana; l'altra definita concentrato, costituita dal solvente della matrice contenente oltre alle componenti in grado di attraversare la membrana (presenti per un equilibrio di concentrazione) anche tutte le componenti che non riescono ad attraversare la membrana.

Per purificare le componenti del concentrato, trattenute dalla membrana, è stato necessario operare anche in diafiltrazione (DF). In DF si continuano le operazioni di filtrazione aggiungendo al concentrato il solvente (acqua) fino a rimuovere nel permeato tutte le componenti in grado di permeare. I processi a membrana utilizzati sono stati la microfiltrazione (MF), l'ultrafiltrazione (UF), la nanofiltrazione (NF) e l'osmosi inversa (OI). La MF trattiene i solidi sospesi, batteri, grasso; l'UF trattiene macromolecole tipo proteine; la NF trattiene zuccheri e sali bi e tri valenti; l'OI trattiene i sali monovalenti e lascia passare solo l'acqua.

I meccanismi di trasporto dei soluti si differenziano a seconda della tecnologia di filtrazione impiegata: in estrema sintesi il trasporto può considerarsi convettivo in MF ed UF, mentre è di tipo diffusivo e di solubilità in NF ed OI.

In particolare, il lavoro realizzato nell'ambito del progetto è stato proprio quello di individuare la tipologia di membrana migliore (materiale, conformazione, taglio molecolare, etc.) e le condizioni di processo ottimali (pressione di transmembrana, velocità di scorrimento sulla superficie di membrana, rapporto volumetrico di concentrazione, etc.) al fine di migliorare le prestazioni di membrana sia in termini di produttività che di selettività. In particolare la MF è stata impiegata per rimuovere i batteri ed il grasso residuo contenuti nella scotta. Questa operazione, seppur non prevista nel progetto di ricerca specifico, è risultata particolarmente utile qualora si vogliano ottenere polveri di sieroproteine e peptidi, concentrate nel successivo stadio di UF, con un elevato grado di purezza. Il permeato di MF è stato trattato in UF al fine di separare e concentrare la componente proteica, sieroproteine e peptidi. Il permeato di UF è stato concentrato in NF per recuperare il lattosio insieme alla vitamina B2 (riboflavina) e ai sali bi e tri valenti.

Il permeato di NF può essere concentrato in OI per rimuovere i sali monovalenti e le tracce di lattosio permeate in NF e recuperare nella frazione permeato, un'acqua ultra pura di origine animale da utilizzarsi come base per bevande e/o all'interno del ciclo produttivo anche come solvente per la DF. Tale attività non è stata realizzata nelle prove sperimentali in quanto le frazioni proteiche recuperate in UF non necessitano di un grado di purezza elevato ai fini di un eventuale loro riutilizzo nel processo di produzione della ricotta.

Uno schema generale del processo di trattamento e frazionamento della scotta con tecnologie a membrana, così come previsto per il progetto, è riportato nella fig. 14.

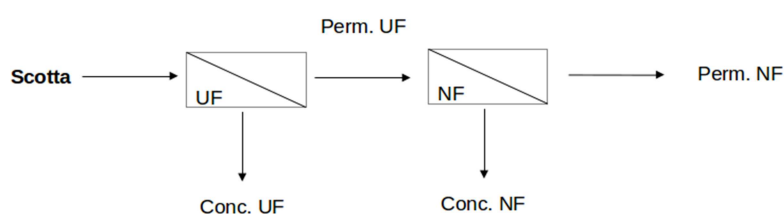


Figura 14 – Schema di processo trattamento della scotta

L'UF è stata realizzata provando due membrane polimeriche a spirale avvolta differenti per taglio molecolare e materiale, al fine di verificare le selettività nei confronti della frazione proteica e le produttività. In particolare sono state impiegate le seguenti membrane:

Membrana UF 30 kDa

ISUH030 4040 C1 Microdyn-Nadir

Materiale: PESH (polietersulfone)

Spaziatore: 44 mil

Superficie di membrana: 6 m²

Membrana UF ca 100 kDa (0,04 micron)

EW4040F1020 GE Osmonics Desal membrane

Materiale: Polisulfone

Superficie di membrana: ca 8 m²

La NF è stata invece realizzata con un'unica membrana che si è mostrata la migliore al fine di concentrare il lattosio fino a valori di circa 180-200 g/L con la minor perdita possibile nella frazione permeato.

Le caratteristiche della membrana sono riportate di seguito:

Membrana NF DL

DL4040FM1020 Desal

Materiale: thin-film

Spaziatore: 30 mil

Superficie di membrana: ca 8,5 m²

Reiezione MgSO₄: 96%

Membrane di NF con reiezioni maggiori come ad esempio la NF DK, applicate direttamente sul permeato di UF, impediscono invece di raggiungere elevate concentrazioni di lattosio.

Un processo alternativo, al fine di recuperare la frazione di lattosio non trattenuta nel primo stadio di NF, può prevedere un secondo stadio di NF impiegando la membrana NF DK.

In queste prove sperimentali non è stato realizzato il secondo stadio di NF perché si è puntato sulla concentrazione del lattosio al fine di un successivo riutilizzo in processi fermentativi per la produzione di biogas.

La 1^a sperimentazione è stata condotta con circa 850 L di scotta, derivante dal processo di produzione di mozzarella e ricotta, sono stati trattati in UF 30 kDa ottenendo circa 765 L di permeato. Nella prova di UF 30 kDa si è raggiunto quindi un rapporto volumetrico di concentrazione (VCR) pari a circa 10.

La curva di produttività nel tempo è riportata nella fig. 15:

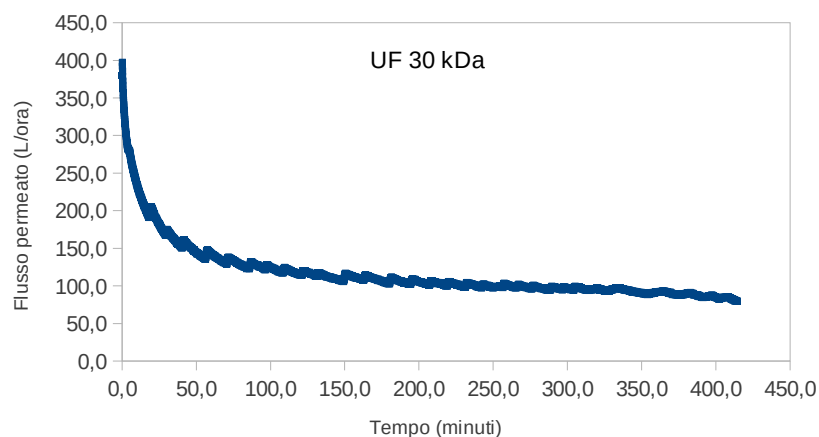


Figura 15 - Andamento del flusso di permeato di UF vs il tempo reale di lavoro dal PLC

La prova di UF 30 kDa è stata realizzata operando a circa 4,3 bar di pressione in ingresso con una portata di alimentazione di circa 6800 L/ora con temperatura iniziale di circa 10 °C.

La produttività scende rapidamente nella fase iniziale della prova e si stabilizza intorno al valore di 100 L/ora.

Considerando che la membrana impiegata ha una superficie filtrante di 6 m², la produttività ottenuta è stata pari a circa 17 L/m²h.

Tale valore di produttività rimane stabile anche ad elevati VCR, confermando la fattibilità industriale del processo.

Il permeato di UF 30 kDa è stato trattato in NF DL (NF DL 1) per concentrare il lattosio.

La curva di produttività ottenuta in NF DL è riportata di seguito in fig. 16:

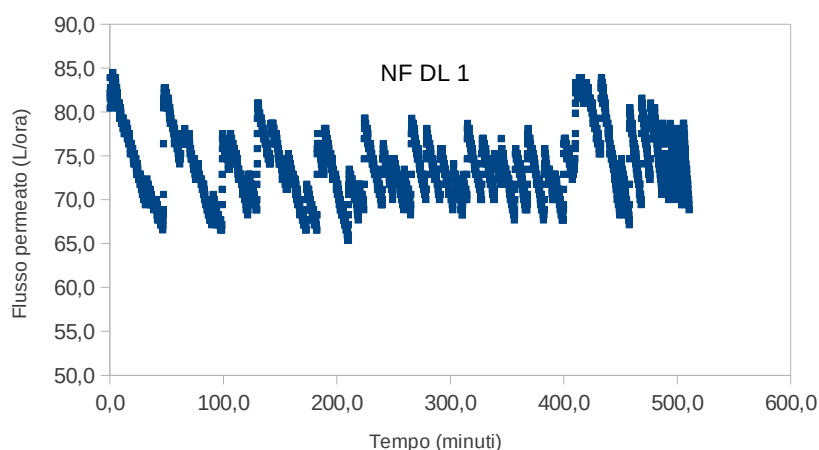


Figura 16 - Andamento del flusso di permeato di NF vs il tempo reale di lavoro dal PLC

In NF si è operato a pressioni crescenti da 8 bar a 35 bar per mantenere il flusso di permeato intorno al valore di 70 L/h, corrispondente a circa 8 L/m²h. La portata di alimentazione è stata circa 2500 L/h e la temperatura di esercizio è compresa tra 8°C e 12°C.

In NF DL è stato raggiunto VCR pari ad 8,1, ottenendo circa 95 L di concentrato (23,3° brix).

Dal punto di vista di processo, anche la NF DL non presenta particolari problematiche permettendo di concentrare il lattosio ai valori prefissati mantenendo la produttività costante.

I risultati analitici della prima prova sono riportati nella tabella 5.

				zuccheri							sieroproteine		
Campioni	pH	secco	grasso	lattosio	glucosio	galattosio	proteine	NT	NCN	NPN	mg/100g	mg/100g	mg/100g
		g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	ala	BlaB	BlaA
Scotta	5,31	6,32	0,14	3,95	0,004	0,014	0,37	0,059	0,046	0,030	1,27	1,55	1,71
Conc UF 30 kDa	5,38	10,33	1,25	5,03	0	0,015	1,90	0,298	0,205	0,062	12,05	11,81	13,03
Perm UF 30 kDa	5,27	5,92		3,87	0,004	0,014	0,16	0,025	0,025	0,028	0,0	0,0	0,0
Conc NF	5,29	23,68	0	18,61	0	0,066	0,30	0,047					

Tabella 5 – Risultati analitici

Le analisi sono state realizzate con metodiche Kjeldhal ed in HPLC. Come si nota dai risultati riportati in tabella, in UF 30 kDa è trattenuta tutta la componente proteica (sieroproteine e peptidi). Nel permeato di UF 30 kDa si ritrova unicamente

dell'azoto non proteico (NPN), coincidente con l'azoto non caseinico (NCN) e l'azoto totale (NT).

Il lattosio è concentrato in NF DL fino a 186,1 g/L, così come previsto.

La 2^a sperimentazione, a seguito dei risultati ottenuti nella prima prova è stata condotta in UF con una membrana differente al fine di verificare gli effetti su selettività e produttività aumentando il taglio molecolare da 30 kDa a circa 100 kDa.

Circa 740 litri di scotta derivanti dal processo di lavorazione della mozzarella e ricotta sono stati trattati in UF 100 kDa raggiungendo un VCR pari a ca 17 (fig. 17).

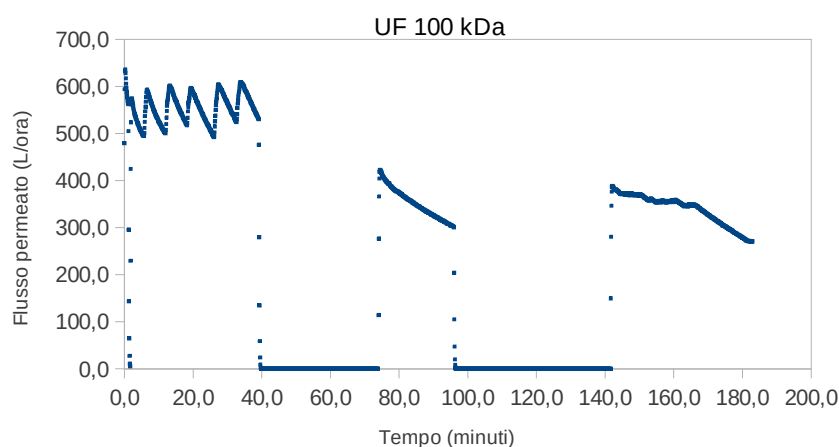


Figura 17 - Andamento del flusso di permeato di UF 100 kDa vs il tempo reale di lavoro dal PLC

La prova è iniziata con la scotta ancora calda. Come si nota dalla curva di produttività del grafico in fig. 17, ad ogni aggiunta di scotta nel serbatoio di alimentazione la produttività tende ad aumentare per effetto della temperatura. Fra 40 e 70 minuti e 100 e 140 minuti si è operato a ricircolo totale per far raffreddare la scotta.

La prova è stata realizzata a circa 4,4 bar di pressione in ingresso, 5600 L/h di portata di alimentazione e a circa 10°C di temperatura di esercizio.

A parte l'andamento particolare dovuto alla temperatura, è evidente che le produttività sono intorno ai 300 l/h corrispondenti a circa 37 L/m²h, pur raggiungendo elevati valori di VCR (ca 17). Nei confronti della prova precedente le produttività sono decisamente superiori. Il permeato di UF 100 kDa è stato trattato invece con una membrana NF DL2 per concentrare il lattosio. La curva di produttività del processo con membrana NF DL2 è riportata di seguito in fig. 18.

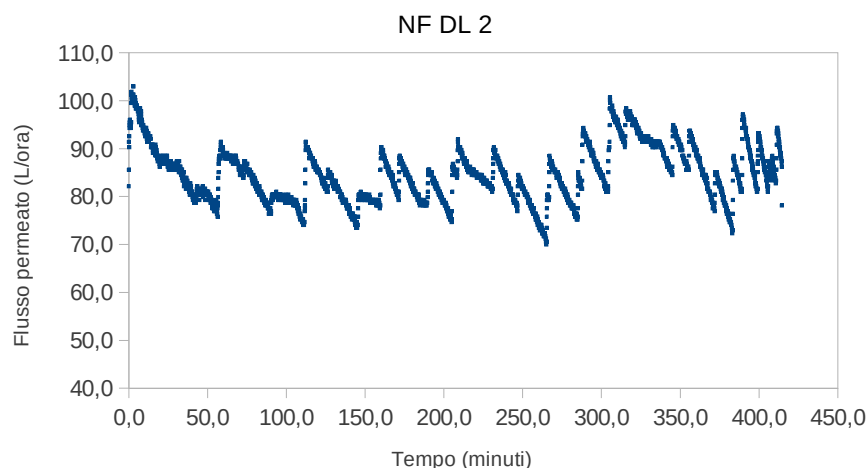


Figura 18 - Andamento del flusso di permeato di NF 100 kDa-DL2 vs il tempo reale di lavoro dal PLC

Utilizzando questa membrana si è operato a pressioni crescenti da 8 bar a 35 bar, con portate di alimentazione di circa 2500 L/h, a circa 8 °C, raggiungendo un VCR di circa 10.

La produttività è mantenuta costante intorno ad 80 L/h, corrispondenti a circa 10 L/m²h. Anche in questa seconda prova i risultati ottenuti confermano la fattibilità industriale di un processo di trattamento della scotta basato sulle tecnologie di filtrazione tangenziale a membrana. I risultati analitici relativi a questa seconda prova sono riportati nella tabella 6.

Campioni	pH	secco g/100g	grasso g/100g	zuccheri			proteine g/100g	NT g/100g	NCN g/100g	NPN g/100g	sieroproteine		
				lattosio g/100g	glucosio g/100g	galattosio g/100g					mg/100g ala	mg/100g BlaB	mg/100g BlaA
Scotta	6,32	4,11	0,12	2,53	0,0029	0,010	0,26	0,041	0,029	0,020	0,50	0,08	0,09
Conc UF 100 kDa	6,35	9,15	2,44	2,95	0,0051	0,011	2,50	0,392	0,196	0,055	5,83	0,99	2,80
Perm UF 100 kDa	6,3	3,74		2,48	0,0026	0,010	0,10	0,016	0,016	0,015	0,00	0,00	0,00
Conc NF	6,15	18,90		18,97	0,0081	0,053	0,25	0,039					

Tabella 6 – Risultati analitici

Le analisi sono state principalmente realizzate con metodiche Kjeldhal ed in HPLC. Dai risultati, l'UF 100 kDa trattiene tutta la componente proteica nella frazione concentrato. L'UF 100 kDa, oltre a migliori risultati di produttività, assicura anche ottime prestazioni in termini di selettività, permettendo di recuperare tutta la componente proteica. Il permeato di UF 100 kDa trattato in NF

DL2, ha ottenuto un concentrato di lattosio pari a circa 190 g/L, a conferma delle ipotesi di prestazione.

3 SVILUPPO DEL PROCESSO DI ESTRAZIONE DELLE COMPONENTI POLIFENOLICA, ANTOCIANICA E FLAVONOIDICA DALLE VINACCE E VINACCIOLI

Nella figura 14 si riporta il layout del processo di trattamento integrato delle matrici vinacce e vinaccioli, in cui sono indicati anche i prodotti ottenuti dalla vinaccia per ottenere fibre vegetali di interesse alimentare.



Figura 14 – layout di processo integrato

Lo schema riportato nelle tre colonne indica rispettivamente la linea di trattamento delle vinacce grezze (al centro in blu) dei vinaccioli separate dalle vinacce (a sinistra) ed anche la linea farine che si ottiene dalle vinacce esauste (destra nella figura). Le vinacce fresche (1) devono essere prima essiccate (2) per consentire la separazione dei vinaccioli che deve avvenire in un vibrovaglio con una rete avente una maglia di 3 mm circa. E' evidente che questa separazione si può realizzare solo con vinacce essiccate altrimenti la separazione dei vinaccioli è molto più difficile. Dopo la separazione, vinacce e vinaccioli seguono due percorsi diversi, come indicato in figura 14.

Le prove hanno individuato la procedura ottimale di estrazione delle sostanze fenoliche e flavonoidiche presenti nelle suddette matrici, ponendo particolare attenzione a:

- a. Vinaccioli (contenuto catechine), messa a punto un processo di trattamento per la produzione di olio da vinaccioli e successiva spremitura del pannello per l'estrazione dei flavonoidi;
- b. Foglie, messa a punto di un protocollo estrattivo per le sostanze pigmentate e gli antociani;
- c. Vinacce e fecce, messa a punto di un protocollo estrattivo delle sostanze fenoliche (antociani, flavoni, flavani, acidi fenolici) con il recupero della frazione cellulosica ricca di fibre e pectine per il comparto zootecnico come agente di bulk per gli alimenti dietetici;

Una prima operazione consiste nel selezionare i grappoli per eliminare le parti indesiderate del grappolo in modo da evitare contaminazioni batteriche indesiderate, come riportato nella figura 15.



Figura 15 - selezione dei grappoli di uva per la produzione di un vino di alta qualità

Non soltanto l'uva, da cui si produce il vino è ricchissima di sostanze nutritive (zuccheri) vitamine, sali minerali e polifenoli con proprietà biomediche importanti, ma anche le vinacce, i vinaccioli, i raspi e le stesse foglie di vite.

La presenza delle famiglie così dette polifenoliche (antociani, catechine, flavoni, flavani, flavonoli, acidi fenolici ecc.) sono presenti in forme chimiche diverse fra loro, nei vinaccioli, nelle vinacce, nelle foglie ed anche nei raspi. Alcune di queste componenti costituiscono i residui di lavorazione sia in campo (tralci, foglie, etc.) che nell'industria enologica. L'industria viti-vinicola nazionale è particolarmente importante nel nostro Paese, ed è il secondo produttore mondiale di vino con una produzione stimata in 4 milioni di Litri/anno. Questo settore produttivo condiziona le economie di intere Regioni come la Puglia, la Sicilia, la Toscana, il Veneto, il

Trentino Alto Adige, etc. Certamente il comparto viti-vinicolo è abbastanza “environmental friendly” per lo meno rispetto ad altri settori agro industriali come, ad esempio quello olivicolo. Tuttavia anche se i sottoprodotti (vinacce, vinacciolo, fecce, etc.) sono meno inquinanti delle acque di spremitura delle olive, le grandi quantità di residui di cantina prodotte, valutate in circa mezzo milione di ton./anno pongono una serie di problemi anche di natura economica. Si stima in Italia le sole vinacce ammontino a circa 240.000 ton/anno (dati ISTAT 2010). Riutilizzare più proficuamente queste enormi biomasse rappresenta un obiettivo importante sia dal punto di vista economico che da quello ambientale, nel tentativo di valorizzazione di queste matrici e ricavarne risorse economiche.

Oggi una quantità importante di tali residui finisce in distilleria ma in questo processo si recupera solo una frazione piccolissima della biomassa (le grappe) mentre il resto potrebbe ancora essere vantaggiosamente utilizzato. Per quanto riguarda i raspi essi sono poco graditi poiché cedono alla grappa sostanze indesiderate.

3.1 Le Vinacce

Le vinacce sono costituite da quello che rimane dalla pressatura in cantina dell’uva fresca o ammostata ed è costituita da buccia, polpa, vinaccioli e raspi. Tale vinaccia di cantina (detta anche vinaccia vergine), per disposizione comunitaria deve essere conferita alle distillerie per la produzione di alcool etilico oppure può essere destinata in parte alla produzione di grappe. I raspi e i vinaccioli non vengono utilizzati per la distillazione. Indicativamente per 100 Kg di uva si ottengono 80-85 Kg di mosto, 9-10 Kg di vinaccia (intesa come buccia) 3-4 Kg di raspi e 3-4 Kg di vinaccioli. Il valore commerciale della vinaccia dipende dalla umidità, dalla presenza o meno di raspi e dalla quantità di zucchero e alcool etilico. La composizione generale della vinaccia è la seguente:

- acqua;
- alcoli (soprattutto alcool etilico e metilico) glicerina e alcoli superiori (propilico, butilico etc.);
- acidi: sono principalmente acidi organici distinti in due categorie, acidi volatili che con la distillazione passano nella grappa (acetico, propionico, butirrico, etc.) e gli acidi fissi che non si ritroveranno più nella grappa ma restano nella vinaccia esausta;

- aldeidi: acetica, isovalerianica, propionica, butirrica etc.
- esteri: acetato di etile, lattato di etile, propionato, isobutirrato, capronato, caprillato, isovalerianato di etile, acetato di isoamile etc.;
- componenti aromatici;
- polifenoli: antociani (sostanze coloranti dei vini rossi), flavani e flavonoli (sostanze coloranti dei vini bianchi), acidi fenolici e tannini;
- proteine;
- cellulosa;
- pectine;
- sali minerali;
- residui di zuccheri.

Nella figura 16 si riporta l'immagine delle vinacce di vino rosso prodotte dall'industria enologica, esse sono generalmente destinate alla distillazione e successivamente ad altri trattamenti industriali come l'essiccazione e l'incenerimento ed anche alla produzione di biogas.



Figura 16 - Vinacce fresche prodotte dall'industria enologica pronte per la distillazione

L'immagine fornisce un'idea dei quantitativi ingenti che vengono generati dall'industria vitivinicola. Questi sottoprodotti hanno una umidità variabile che

dipende dal processo di vinificazione dove nella produzione di vini di alta qualità vengono spremute leggermente, compresse a polmone d'aria, al fine di non estrarre o farlo solo leggermente, le sostanze tanniche presenti nella bucce, particolarmente presenti nelle uve rosse. Viceversa la sovra-pressatura che si effettua sulle vinacce comporta anche una perdita dei principi attivi della buccia, compresi i flavonoidi, impoverendo il sottoprodotto "vinaccia". Sperimentalmente si è determinato un contenuto di umidità nelle vinacce di vino bianco pregiato (Falanghina, Fiano di Avellino, etc.) pari al 50 %. Ovviamente la parziale essiccazione delle vinacce, anche in ambiente, porta ad una graduale riduzione dell'umidità fino al 20-30 %, dipendente ovviamente dalla fase di essiccazione più o meno spinta. Bisogna osservare tuttavia che il processo di essiccazione delle vinacce, se condotto in cantina per asciugamento al sole, comporta anche una fase di ossidazione dei suoi principi attivi, molto evidente dal fatto che le vinacce di bianco si imbruniscono sensibilmente. Nella figura 17 si riporta l'immagine delle vinacce essiccate all'aria, da cui si osserva un forte imbrunimento della matrice.



Figura 17 - vinacce bianche essiccate all'aria con l'imbrunimento della matrice

I costituenti della vinaccia variano in quantità e composizione chimica a seconda che la vinaccia sia fresca oppure abbia subito insilamento. Durante la conservazione infatti possono avvenire processi chimici e microbiologici che modificano alcuni costituenti della vinaccia. I composti chimici bioattivi della vinaccia sono più numerosi di quelli del vino perché essi sono presenti principalmente sulla buccia dell'uva e nei vinaccioli. I composti chimici che possono volatilizzare passano nel distillato, gli altri vanno a costituire la vinaccia esausta che normalmente viene utilizzata come combustibile nella stessa distilleria o impiegata nella preparazione di mangimi per la zootecnia. Per rispondere al meglio alle esigenze di progetto, è stata impiegata vinaccia fresca non fermentata, anche parzialmente essiccata come mostrato nella figura 17. Tale vinaccia è stata anche macinata, dopo essiccamento, per migliorare le rese di estrazione dei

polifenoli in acqua distillata. Nella figura 18 si riporta l'immagine della vinaccia bianca macinata prima dell'estrazione in solvente acquoso.



Figura 18 - vinaccia macinata con mulino a coltelli per facilitarne l'estrazione

3.2 I vinaccioli separati dalle vinacce

Sicuramente i vinaccioli costituiscono il prodotto di maggiore pregio di tutti i coprodotti dell'industria viti-vinicola perché sono ricchi di sostanze di interesse sia alimentare che biomedico. Il contenuto medio dei vinaccioli a maturazione è il seguente:

1. Acqua 30-40%
2. Polisaccaridi (amido, cellulosa, emicellulosa) 30-40% inclusa la lignina circa 15%
3. Lipidi 6-12%
4. Composti fenolici 3-6%
5. Protidi 5-6%
6. Sostanze minerali 1.0-3.0%

I vinaccioli dopo separazione della vinaccia intera e successivo essiccamento, possono essere utilizzati per l'estrazione dell'olio. Tale grasso (12% dei semi secchi) è ricco di acidi grassi insaturi, in particolare di acido linoleico, circa 70%, il restante 30% è formato per metà da acido oleico e per l'altra metà dagli acidi

palmitico e stearico. Nella figura 19 si riporta l'immagine dei vinaccioli separati dalla vinaccia previo processo di essiccazione, come descritto successivamente.



Figura 19 - vinaccioli perfettamente separati dalla vinaccia pronti per le estrazioni successive

I vinaccioli sono stati finemente macinati per consentire l'estrazione prima della componente oleosa e successivamente quella flavonoidica dopo estrazione in acqua demineralizzata (stadio 5 fig. 14) ad una temperatura massima del bagno di 75°C per almeno 1 ora, per non danneggiare termicamente tutto il fitocomplesso presente. L'estrazione è stata effettuata in acqua senza impiegare solventi organici che possono compromettere la qualità degli estratti con trascinamento di tracce di solvente. Una volta estratta la componente oleosa dai vinaccioli, rimane il così detto “pannello” ricco di flavonoidi, la cui estrazione richiede un trattamento specifico.

Infatti, come riportato in figura 20 è stata eseguita un'estrazione in acqua a 70°C dei vinaccioli macinati, mostrando il pannello di vinaccioli precedentemente macinati e disoleati, nella fase di estrazione a caldo in acqua demineralizzata con una conducibilità elettrica di 10 microS/cm.



Figura 20 – pannello di vinaccioli durante la fase di estrazione a caldo

Vista la nostra scelta di operare in termini di sostenibilità ambientale la scelta estrattiva non poteva che ricadere sull'impiego dell'acqua come solvente elettivo di estrazione. Dal punto di vista chimico l'acqua non è il miglior solvente per la solubilizzazione dei flavoni e flavonoli dai vinaccioli, spesso all'acqua si aggiungono metanolo ed etanolo che migliorano le rese di estrazione, ma anche in questo caso la scelta della tecnica di estrazione è ricaduta sempre sull'acqua che viene riscaldata ad una temperatura di circa 70-75°C per non danneggiare termicamente l'integrità del fito-complesso biologicamente attivo.

Con il contributo di Genelab è stato messo a punto e specificamente progettato, un estrattore con una griglia di contenimento della materia prima, il tutto immerso in un bagno acquoso riscaldato con resistenze elettriche. L'estrattore è dotato di un sistema di ricircolazione idraulica tramite una pompa centrifuga, che permette di movimentare il bagno in modo da massimizzarne le rese di estrazione dei flavonoidi e delle altre molecole solubili. L'estratto grezzo sia delle vinacce che dei vinaccioli è stato poi processato con gli impianti pilota a membrana (fig. 21).



Figura 21 - Impianti pilota a membrana

Per le due matrici sono state eseguite prove di microfiltrazione sull'estratto grezzo, quindi il permeato di MF è stato inviato in ultrafiltrazione, ed infine il permeato di UF è stato concentrato in osmosi inversa, da cui sono stati recuperati i semilavorati finali del processo. Nella tabella 10 sono riportati i dati preliminari della composizione di polifenoli totali e catechine ottenuti rispettivamente dall'estrazione dalle vinacce e dai vinaccioli macinati non ancora purificati della frazione oleosa.

Matrice	Tempo di estrazione (min)	Temp. di estrazione (°C)	Polifenoli TOT (g/L)	Catechine (g/L)	Polifenoli/Peso Matrice essic. (g/kg)
Vinacce	115	75	2,43	0,128	1,65
Vinaccioli	120	70	2,24	0,13	15,7

Tabella 10 – Composizione polifenoli totali

Vinacce trattate 22 kg, COI prodotto (concentrato di osmosi) 16L, peso matrice essic. 1,47kg

Vinaccioli caricati 2kg, COI prodotto (concentrato di osmosi) 14L, peso matrice essic. 0,14kg

Queste prove hanno dimostrato la presenza di concentrazioni importanti di biogeno nelle due matrici considerate, l'ultima colonna della tabella 10 indica il rapporto in peso fra i polifenoli totali e il peso della matrice estratta. I valori dei polifenoli presenti nei vinaccioli è notevolmente più alto di quello misurato nelle vinacce, il che conferma la ricchezza di questa matrice, come riportato in precedenza. E' comunque confermato il dato che queste matrici di scarto sono fonte di molecole di interesse per l'industria alimentare, fitoterapica e cosmetica. Infatti, i composti fenolici, presenti nel tessuto più esterno dei vinaccioli, sono:

- I flavanoli ed i tannini procianidici o condensati (circa 100-150 mg/g di peso secco), questi ultimi sono presenti in forma oligomerica e polimerica. L'importante requisito strutturale della presenza di una o più unità di catecolo costituisce un fattore chiave nel determinarne l'attività antiossidante. Raggiungono la massima concentrazione prima dell'invasatura, calano drasticamente e si stabilizzano con la maturazione fisiologica dei semi;
- L'acido gallico, in concentrazioni di 30-50 mg/Kg di uva, è caratterizzato da tre gruppi ossidrilici liberi che conferiscono al composto, sia nella forma libera che esterificata, una grande capacità scavenging (potere antiossidante). I residui solidi delle produzioni enologiche rappresentano anche fonte energetica in particolare per la linea anaerobica finalizzata alla produzione di biogas, cioè di metano di buona qualità. Ovviamente questo processo richiede un giusto dosaggio del substrato anaerobico che deve essere integrato con altro materiale organico (deiezioni animali, residui di lavorazione agro-alimentari, scarti del settore lattiero-caseario etc.).

3.3 Proprietà biomediche dei principi attivi di vinacce e vinaccioli

Tra i componenti aromatici presenti nelle vinacce, particolare menzione può essere attribuita agli stilbeni, in particolare al resveratrolo (trans 3,4',5 triidrossistilbene) che è una fitoalessina presente nell'uva, nel vino e in determinate altre piante. Essa è presente nella buccia e non nella polpa ed in quantità molto più elevate nel vino rosso rispetto al bianco. Le concentrazioni di resveratrolo nelle forme trans e cis isomeri di agliconi e glucosidi sono soggette a numerose variabili. Nelle bucce dell'uva rossa le concentrazioni del trans isomero, che è la forma principale, generalmente variano da 10 a 30 mg/Kg di uva. Come composto fenolico il resveratrolo contribuisce al potenziale ossidante del vino rosso e può giocare un importante ruolo assieme a catechine, procianidine e flavonoli nella prevenzione

delle malattie cardiovascolari. E' stato dimostrato che il resveratrolo modula il metabolismo dei lipidi e delle LDL (lipoproteine a bassa densità) e l'aggregazione delle piastrine. Inoltre, il resveratrolo, in recenti studi ha dimostrato attività fitoestrogenica. Questo composto possiede inoltre attività antiinfiammatorie e antitumorali. Recentemente, è stato anche dimostrato che il resveratrolo aumenta sinergicamente l'attività anti-HIV-1 degli analoghi nucleosidi come la zidovudina, la zalcitabina e la didanosina. A loro volta i fenoli procianidinici, i flavonoli e gli acidi fenolici (in particolare i derivati dell'acido caffeico), presentano attività antiossidante, antiinfiammatoria ed antimicrobica, oltre che essere, secondo recenti studi, potenti inibitori di alcune forme tumorali. Sulla base di questi dati è possibile identificare il resveratrolo, i flavonoidi ed i polifenoli in generale come importanti componenti della vinaccia esausta che può essere considerata una importante fonte di estratti ad uso farmaceutico, cosmetico e di integrazione alimentare. Il valore commerciale di questi fenoli si assesta attualmente intorno a 0,6-1,2€/g.

4 ANALISI TECNICO-ECONOMICA DEI PRINCIPI ATTIVI RICAVALI DALLE ACQUE DI VEGETAZIONE (POLIFENOLI), DAGLI ESTRATTI DELLE VINACCE ESAUSTE (ANTOCIANI, FAVONI, FLAVANI, ACIDI FENOLICI) E DAI SIERO DERIVATI

Il mercato dei prodotti naturali, in continua espansione, ha spinto i settori farmaceutico, della nutrizione e della cosmesi a puntare su matrici naturali ricche di principi attivi, in particolare su quelli di natura polifenolica.

Le sostanze Polifenoliche ad esempio rappresentano un'ampia classe di composti derivati dal metabolismo secondario delle piante, dal punto di vista chimico sono derivati ciclici del benzene sostituiti con gruppi idrossilici e comprendono molecole sia semplici, come gli acidi fenolici, oppure altamente polimerizzate come i tannini. Sono dei potenti antiossidanti e degli "spazzini" dei radicali liberi, i quali giocano un ruolo essenziale contro le malattie, mantenendo sano il cuore e svolgendo compiti fondamentali nella azione antiinfiammatoria. Sulla base delle loro caratteristiche strutturali i polifenoli vengono classificati in acidi fenolici, flavonoidi, flavonoli, flavononi, stilbeni e lignina. Derivano dai prodotti vegetali alla base delle più importanti fonti alimentari: frutta (mirtilli, uva, agrumi, cacao...) ortaggi (barbabietole, cavolo, carciofi, olive), legumi (ceci, soia) e bevande (olio di oliva, tea verde). Al fine di condurre un'analisi dei prodotti esistenti e definire pertanto le ampiezze ed il trend di mercato degli estratti naturali antiossidanti, sono state condotte una serie di indagini e approfondimenti, verso aziende del

settore che acquistano semilavorati per produrre integratori alimentari e cosmetici. Dalle informazioni raccolte, è stato possibile tracciare una sorta di profilo del mercato di riferimento. Si tratta di un mercato estremamente variegato, in cui esistono numerosi estratti naturali ottenuti da diverse specie vegetali (solo una minima quantità derivati da sottoprodotti agricoli e forestali) e tra questi solo pochi hanno elevati contenuti in componenti bioattivi standardizzati e certificati.

Allo stato attuale, possiamo affermare che gli estratti leader nel mercato sono quelli a base di mirtillo, di agrumi e di tea verde, i cui prezzi e titoli sono riportati di seguito.

- Estratto di mirtillo: titolato al 25% in antociani, prezzo varia da 4 a 700 euro/kg;
- estratto di agrumi: titolato in polifenoli al 60%, prezzo pari a circa 30 euro/kg;
- teavigo (estratto di tè verde titolato al 95% in polifenoli di cui il 90% è EGCG): prezzo pari a 900 euro/kg.

In particolare, a livello europeo gli estratti maggiormente richiesti dalle aziende, oltre ai già citati, sono gli estratti da *Vitis vinifera* (da foglie e vinacciolo) e da corteccia di pino marittimo (Picnogenol). Per quanto riguarda invece il mercato americano, l'estratto leader è senza dubbio il Teavigo, seguito da Picnogenol, estratto da *Vitis vinifera* e da Coffe Berry, in analogia allo specchio sotto riportato. Le altre matrici vegetali, quali ad esempio *Olea europaea*, *Cynara S.*, pomodoro etc., assorbono al momento piccole fette di mercato. Tra i prodotti brevettati esistono ad esempio il Pycnogenol[®], francese, estratto dalla corteccia di pino marittimo ed altri quali il Teavigo[®] da tè verde.

4.1 Dati e trend di mercato dei prodotti cosmetici naturali

Recenti indagini confermano che i marchi “naturale” e “biologico” sono sempre più richiesti e costituiscono il segmento del mercato cosmetico a maggiore crescita.

Secondo una ricerca di Datamonitor, i consumatori richiedono in misura crescente di cosmetici e prodotti di toeletta con formulazioni o caratteristiche naturali. Sia in Europa che negli Stati Uniti, quasi un terzo degli intervistati dichiara di aver scelto cosmetici e prodotti di toeletta con formulazioni o proprietà naturali. Può sembrare, a prima vista, una percentuale scarsa, ma va valutata tenendo presente che il mercato dei prodotti naturali per il corpo è ancora un mercato di nicchia in fase di

sviluppo. Spagna e Italia sono in testa alla graduatoria, col 44,7% e il 39,1% degli intervistati che dichiara di aver preferito nel corso degli anni 2005-2012 prodotti naturali in misura maggiore rispetto al settennio precedente. Negli Stati Uniti il tema dell' Organic and Natural Food è familiare già da anni a larghe fasce di consumatori, il Lifestyle of Health and Sustainability (LOHAS) è ampiamente diffuso. Il mercato bio, che nel 2006 ha registrato in America una crescita del 21% è molto affermato. I produttori di cosmesi naturale trovano qui i presupposti ottimali per l'ulteriore potenziamento del mercato. Il mercato dei cosmetici naturali prospera anche in America Latina. L'interesse verso i prodotti che esaltano la bellezza naturale è enorme. La cosmesi naturale appassiona un numero sempre maggiore di persone, soprattutto in Brasile. Al momento sono attive varie aziende nazionali che si adoperano per rendere accessibile un mercato in cui la domanda è in continuo aumento. Da anni la cosmesi naturale registra permanentemente alti incrementi di fatturato. Nel mercato europeo essi raggiungono tassi tra il 20 e il 40%. Il green glamour vive un boom e la cosmesi naturale profitta di una nuova generazione di clienti "eco-chic" e di una comunità LOHAS sempre più ampia. Da quando il mercato della cosmesi naturale è avvolto da un'aura di glamour hollywoodiano questi articoli si trovano sempre più spesso negli scaffali accanto alle marche di lusso dei produttori convenzionali. Nel frattempo, il crescente consenso ha richiamato in campo vari grandi player internazionali dell'industria cosmetica. Le principali aziende tedesche del settore sono rappresentate in modo eminente sulla scena internazionale e si fregiano di eccellenti risultati nel primo semestre del 2007: il loro profilo si contraddistingue per il continuo sviluppo della proposta merceologica, confezioni di pregio e ottimi voti nei test dei prodotti. A livello internazionale la cosmesi naturale è reperibile in modelli commerciali molto differenti: da internet alla grande distribuzione fino ai singoli negozi di bellezza. I confini tra i vari canali di commercializzazione si stanno assottigliando anche in Germania. Secondo la Bio rivista Marktforschung, il panel commerciale indipendente di Ettlingen, Germania, nei negozi biologici un cliente su dieci s'iserve anche di cosmetici naturali. Altri canali di vendita come, ad esempio, le farmacie, le drogherie, il dettaglio alimentare e i discounter riscontrano incrementi simili. Molto flessibili sono i giovani mercati biologici nazionali dell'America Latina e dell'Asia. Nei grandi magazzini di lusso giapponesi, i label tedeschi di cosmetici naturali concorrono con prodotti di marca tradizionali da tutto il mondo. La cosmesi naturale occidentale si trova, sotto il termine generale di "Health&Beauty", in ampi empori nei quali i marchi tedeschi arricchiscono l'assortimento insieme a un gran numero di brand internazionali. La struttura

distributiva va dai grandi magazzini al salone di bellezza. Dal momento che, nell'area asiatica, i prodotti di importazione occidentali godono in ogni caso di una buona reputazione, il successo non verrà a mancare neanche in futuro. Vista la crescente concorrenza, il tema della certificazione giocherà un ruolo sempre più importante. Al momento non esiste ancora alcuna direttiva internazionale unitaria per la cosmesi naturale. In ambito europeo convivono attualmente equiparati marchi dell'associazione britannica Soil Association, dell'organismo di controllo francese Ecocert, dell'ente certificatore italiano Istituto per la Certificazione Etica e Ambientale (ICEA) e del BDIH (Associazione dell'industria e delle imprese commerciali tedesche). Detti marchi vengono utilizzati anche a livello internazionale.

4.2 Dati e trend di mercato degli integratori alimentari

Lo sviluppo del mercato degli integratori alimentari è divenuto ormai un fenomeno consolidato, sia per i consumatori che per gli operatori del settore. Tutti i dati di riferimento e le ricerche sul campo rivelano in modo univoco indici di una crescita sostenuta, in termini di fatturato, specie nel canale farmaceutico. Il settore fa registrare alti tassi d'innovazione e una crescita del fatturato che sfiora il 14% nel periodo agosto 2003 => luglio 2004 (rispetto ai 12 mesi precedenti). Con un giro d'affari che nel canale farmacia ha raggiunto quota 820 milioni di euro in soli sette mesi, il comparto rappresenta un mercato che cresce e si consolida. Nella grande distribuzione, il giro d'affari di prodotti come ginseng, propoli, lecitina, crusche ed energetici sportivi è di 71 milioni di euro, per un totale di 14 milioni di confezioni vendute. Aumento considerevole, ma comunque inferiore a quello raggiunto dalle farmacie, dove le confezioni vendute sono circa 71 milioni (dati IRI Infotoscana). La crescita non riguarda solo volumi e fatturato: dal 2003 al 2004 il comparto degli integratori ha raggiunto un tasso d'innovazione di più del 7%, attraverso lanci di nuovi prodotti e l'ampliamento di linee già esistenti. Gli integratori maggiormente utilizzati sono soprattutto a base di vitamine e sali minerali (52,5%), i fermenti lattici (36%), crusche e altre fibre/lieviti (15,9%) ed energetici sportivi (14,4%) con un prezzo medio riferito ai 12 mesi mobili si conferma per questo periodo intorno a € 12. Integratori che hanno finalità cosmetiche, fra i quali gli antiaging ed i pre-sun/pigment activator, che rappresentano i segmenti più importanti in termini di volumi e di valori. Nel complesso l'insieme delle categorie detiene una quota di mercato dell'1,7% a valore ed un incremento a volume del 19% ed a valore del 27%.

4.3 Il mercato degli alimenti funzionali

La nascita degli alimenti funzionali deriva dal tentativo di formulare una nutrizione ottimale, intesa come assunzione di un insieme di alimenti il cui contenuto in nutrienti e non nutrienti sia, per qualità e quantità, in grado di ottimizzare le funzioni fisiologiche dell'organismo assicurando il benessere, la salute, la qualità della vita. Si tratta di alimenti che, inseriti in una dieta equilibrata sotto il profilo nutrizionale, sono in grado di produrre effetti positivi su specifiche funzioni dell'organismo umano: difesa dallo stress ossidativo, ottimizzazione dell'efficienza gastrointestinale, prevenzione cardiovascolare ecc.. Gli alimenti funzionali non sono quindi integratori, bensì cibi normalmente presenti nella dieta ma dotati di proprietà particolari, esaltate anche attraverso tecniche mirate di produzione o di trasformazione. Nell'ambito della filiera agroalimentare, un numero sempre maggiore di imprese di trasformazione si trovano a dover scegliere se mantenere delle linee di prodotto che corrispondono ad una logica di sola concorrenza oppure puntare su una nuova prospettiva di sviluppo, rappresentata dall'incontro tra ricerca scientifica e benessere. Gli alimenti funzionali si propongono come cibi che promuovono il benessere e il loro mercato risulta essere in crescita. Una ricerca condotta da Freedonia Group/AC Nielsen¹, gli alimenti funzionali e salutistici muovono in Europa un business di 5,7 miliardi di euro, di cui 700 milioni spettano all'Italia, e si stima che, nel 2009, tale cifra salirà a 9 miliardi ⁴. Con questi presupposti, l'indagine condotta da AC Nielsen ha fotografato la percezione degli italiani sull'argomento. Ne sono scaturite, a partire da una serie di dati introduttivi, considerazioni ed analisi di grande interesse per il mercato: il 60% degli italiani è d'accordo sull'affermazione che i problemi della salute possono essere legati all'alimentazione errata ed il 45% segue un regime alimentare controllato (per perdere peso a fini preventivi). Sul mercato, l'incremento dei consumi di alcune merceologie innovative va dal 3% degli integratori al 17% dei più recenti ed innovativi yogurt probiotici o anticolsterolo. In generale, il 33% degli italiani è favorevole all'integrazione e all'arricchimento con elementi e principi attivi degli alimenti oggi troppo impoveriti. Tra gli ingredienti più noti che caratterizzano alcuni alimenti funzionali si ricordano: gli omega 3, il licopene, il selenio, le vitamine e le fibre vegetali. La formulazione di alcuni alimenti funzionali comporta in genere l'aggiunta di ingredienti, ma in alcuni casi può essere realizzata anche tramite l'eliminazione di materie prime utilizzate nelle ricette tradizionali. In questa logica, si muovono le aziende che realizzano prodotti da forno per celiaci. In questo caso, gli ingredienti di base (le farine senza glutine) sono prodotti da

fornitori specializzati per rispondere alle esigenze del settore industriale. La situazione descritta non manca dunque di avere ripercussioni in agricoltura, dove tende a farsi strada la creazione di sistemi di approvvigionamento concepiti per dare una risposta mirata alle nuove esigenze dell'industria alimentare o di trasformazione, che incentivano la definizione della catena di approvvigionamento e il ruolo delle materie prime. In tal senso, un esempio è rappresentato dalle produzioni biologiche, che riflettono le esigenze in termini di sicurezza, salubrità e rispetto dell'ambiente, e dalle produzioni di alimenti geneticamente modificati. Prescindendo dagli estremi etici che rappresentano queste due produzioni, esistono numerosi esempi di produttori né biologici, né OGM, che hanno caratteristiche tarate sulle esigenze espresse dall'industria alimentare o di trasformazione e che da tempo lavorano in un rapporto diretto con loro per la fornitura di materia prima su misura. In particolare, il tipo di approvvigionamento ha una ricaduta anche sulla natura dei rapporti commerciali, che diventano diretti e più efficaci, oltre che sulle modalità di "quanto funzionano i cibi funzionali", *corriere delle sera*, 30 settembre 2007. Allo stato attuale, rispondono a questa logica di filiera specifiche varietà di soia utilizzate per la produzione di tofu e alcune specie di granturco e girasole ad alto contenuto oleico (quasi tutto statunitense) per un totale di una dozzina di prodotti specifici. Si stima che, in futuro, con l'avvento dei cibi funzionali, il loro numero sarà destinato ad aumentare in modo esponenziale.

4.4 Prodotti derivanti dalle acque di vegetazione olearie

La Regione Puglia è una regione molto ricca di coltivazioni di ulivo con una produzione dell'olio extra-vergine di oliva in 24.000 ton/anno. L'industria olearia pugliese è stata storicamente importante per lo sviluppo economico della regione e continua a esserlo anche oggi, nonostante la crisi economica che coinvolge il mondo occidentale. La crisi del comparto olivicolo nazionale e pugliese dipende da ragioni molto diverse fra loro, fra cui la concorrenza mondiale della Spagna e degli altri paesi del bacino del Mediterraneo, tuttavia è doveroso ricordare che tale crisi dipende anche dai problemi ambientali e relativi costi di smaltimento dei residui di produzione (acque di vegetazione, sansa, potature, ecc.). In particolare, lo smaltimento delle acque di vegetazione olearie (A.V.) rappresenta uno dei maggiori problemi dell'agroindustria in generale, in particolare di quella pugliese e della Provincia di Taranto, già gravata da problemi di inquinamento ben più gravi. Lo smaltimento delle A.V. e delle sanse costituisce da sempre un problema importante per le industrie molitorie in tutto il bacino del Mediterraneo, in

particolare per i paesi come l'Italia, la Spagna, la Grecia, la Tunisia, il Marocco, l'Egitto, etc.

L'avvento delle nuove apparecchiature continue di molitura, ha sicuramente ottimizzato il ciclo produttivo in termini di aumento della produttività e di riduzione della manodopera, ma non ha certo risolto, se mai acuito il problema dello smaltimento dei reflui di frantoio, in particolare delle A.V. Infatti, nel processo continuo a tre fasi si aggiunge acqua alla pasta di olive, quindi si aumenta il volume delle A.V. prodotte, rispetto al processo discontinuo di una volta. La quantità di A.V. generate dai frantoi dipende dal tipo di oliva trattata, dal sistema di estrazione, tipo continuo (decanter) o discontinuo (presse) e anche dalle condizioni di processo utilizzate nelle due tipologie. Le moderne industrie molitorie utilizzano quasi tutti processi continui che possono essere a due o a tre fasi. Quelli a due fasi uniscono sanse e A.V., mentre quelli a tre fasi separano le A.V. dalle sanse. Nelle A.V. le concentrazioni dei soluti (solidi disciolti totali) è piuttosto variabile (6-20%), dipende dal tipo di cultivar, dalla maturazione del frutto e dalle condizioni operative del processo di molitura. Com'è noto, lo smaltimento al suolo delle A.V. previsto dal DM 174/2006 comporta una serie di problemi ambientali dovuti all'elevato contenuto di sostanze organiche, alla presenza di grassi e composti fenolici, difficilmente degradabili perché sono antimicrobici e fitotossici. Queste acque sono anche facilmente fermentescibili a causa della presenza di zuccheri e sostanze proteiche, quindi si degradano facilmente soprattutto in presenza di ossigeno, cioè all'aria. Gli studi eseguiti finora sul trattamento delle A.V. si sono principalmente focalizzati sull'abbattimento del carico inquinante e sull'ossidazione dei polifenoli che invece costituiscono la ricchezza di questi effluenti. Molti studi hanno riguardato la possibilità di un riutilizzo delle A.V. a fini agricoli come fertilizzanti o per lo smaltimento a rispetto delle norme vigenti. Altri studi hanno valutato la possibilità di recuperare energia dalle sanse previa essiccazione e successiva combustione, mentre per le A.V. c'è l'opportunità di procedere ad una fermentazione anaerobica per produrre biogas e successivamente energia, ma ciò è fortemente condizionato dall'effetto inibente dei polifenoli sui processi di fermentazione, in particolare di quelle anaerobiche. Tuttavia, scegliendo una composizione ottimale del substrato, ad esempio mescolando opportunamente diverse matrici organiche con una percentuale ridotta (5-10%) di sanse o di A.V. tale fenomeno inibente può essere superato. Solo recentemente, in relazione al maggior interesse per i composti naturali con attività biologiche, come i polifenoli, le ricerche hanno cercato soluzioni per recuperare i composti ad alto valore aggiunto delle A.V. (polifenoli), trasformando di fatto le A.V. da rifiuto in materie

prime e potenziali risorse economiche. Tra gli obiettivi del progetto, la valorizzazione delle A.V. ed anche le foglie di ulivo, attraverso l'impiego delle tecnologie separative a membrana è risultata vincente in quanto abbiamo trasformato un refluo in risorsa. Il processo di trattamento delle A.V. con tecnologie di membrane è stato brevettato dall' ENEA a livello internazionale (process for recovering the components of olive mill wastewater with membrane technologies, patent number: WO2005123603, 2005).

4.5 I prodotti ottenibili dal trattamento delle acque di vegetazione

Le tecnologie di membrana applicate ai processi di valorizzazione dei sottoprodotti del settore oleario consentono il frazionamento di matrici complesse come le A.V. gli estratti acquosi di sansa e di foglie. Le frazioni che si ottengono sono costituite da soluzioni acquose che racchiudono in macro-famiglie i costituenti chimici presenti in questi sottoprodotti:

- fenoli semplici e complessi,
- zuccheri, e proteine
- sali
- acqua

L'applicazione di sistemi a più fasi consente di recuperare tutte queste frazioni o solo una parte di esse. Prendendo in esame le acque di vegetazione è infatti possibile effettuare operazioni di scomposizione mediante filtrazione a membrana che possono raggiungere livelli crescenti di complessità consentendo il recupero e la valorizzazione di molecole polifenoliche ad un elevato grado di purezza, come l'idrossitirosolo, senza nessuna contaminazione da parte di solventi organici o di altre sostanze chimiche.

Attraverso i 4 stadi seriali di filtrazione, previsti nel processo di filtrazione, è infatti possibile ottenere un pannello di prodotti molto diversificati e ognuno destinabile a specifiche applicazioni. Lo stadio di MF restituisce un permeato limpido che contiene tutte le specie fenoliche presenti nella polpa di olivo, e un concentrato che può essere destinato all'alimentazione animale o alla produzione di biogas. Lo stadio di UF è in grado di depurare il permeato di MF da sostanze proteiche e colloidali che finiscono nel concentrato e che possono anche esse essere destinate all'alimentazione animale e alla produzione di energia. Il permeato contiene ancora

un elevato contenuto di sostanza organica e fenolica e costituisce di per se un prodotto che mantiene pressoché inalterata la composizione chimica fine propria del frutto dell'oliva. Lo stadio di NF opera un primo frazionamento del pool fenolico discriminando tra molecole a peso molecolare superiore a 300-500 kD (oleuropeina, verbascoside, oleocantale, acido elenolico) da quelle a minor peso molecolare come i fenoli più semplici (tirosolo, acido caffeico, idrossitirosolo). Le prime vengono trattenute nel retentato di NF e progressivamente concentrate, le seconde invece, passano nel permeato e vengono concentrate nello stadio successivo di osmosi inversa, ove insieme ai sali rimangono nella frazione non permeante (concentrato), che viene così ad arricchirsi di queste sostanze fenoliche a basso peso molecolare (150-170 dalton) che presentano importanti proprietà antiossidanti. Il permeato dell'ultimo stadio è costituito da acqua contenente pochi sali per lo più ioni monovalenti e tracce di sostanze aromatiche proprie dell'olivo. Questo assetto di produzione restituisce molti prodotti in forma di semilavorati liquidi che possono trovare destinazione in mercati specifici, in particolar modo i concentrati ottenuti dalle fasi di NF e OI rappresentano le frazioni a più alto valore aggiunto. Il potere antiossidante legato alle molecole in esse presenti costituisce una proprietà spendibile sia nel settore alimentare che nel settore cosmetico. Nel settore alimentare i processi ossidativi associati agli alimenti possono essere ostacolati grazie all'inserimento di queste sostanze che contrastano la produzione di specie chimiche responsabili dell'ossidazione in particolar modo della matrice grassa degli alimenti (perossidi). Nel settore cosmetico i fenomeni ossidativi derivanti dall'azione dei radicali liberi possono trovare nelle sostanze fenoliche dei validi antagonisti. Preparazioni cosmetiche ormai riportano sempre più spesso l'inserimento di sostanze antiossidanti di origine vegetale. Nel caso dei prodotti derivati dalle A.V. la separazione tra fenoli semplici e complessi consente una notevole diversificazione dei prodotti e anche la possibilità, a partire da una stessa matrice e da un medesimo processo, di realizzare specialità diverse con diverse destinazioni d'uso. E' possibile chiaramente immaginare anche layout di processi semplificati che prevedano meno passaggi di separazione, tale da comportare chiaramente una minore capacità di raffinazione degli estratti e quindi l'ottenimento di un prodotto liquido più grezzo in cui si raccolgono tutte le sostanze presenti nella polpa di oliva, ma non la loro separazione in frazioni distinte.

4.6 Stime di massima del valore dei prodotti

La fattibilità tecnica del nuovo processo è reale e non ha problemi di scala industriale perché le tecnologie di membrana sono modulari, quindi più è alta la scala di trattamento, più bassi sono i costi di processo, per unità di prodotto trattato, es. per tonnellate di A.V. Le valutazioni economiche del processo sono molto favorevoli, soprattutto se si ipotizza un impianto di trattamento dimensionato a trattare decine di ton/giorno di acque di vegetazione. Le stime economiche inoltre non tengono conto dei costi attualmente sostenuti dal frantoio per lo smaltimento dei reflui, tanto meno della monetizzazione dei rischi che attualmente corrono i proprietari delle aziende olearie. Un impianto produttivo industriale che tratta 10 ton/giorno di A.V. ha confermato tutti i risultati sperimentali sviluppati dall'ENEA, dimostrando non solo la fattibilità tecnica del processo ma anche l'interesse commerciale legato alla linea di commercializzazione dei prodotti finiti nel comparto alimentare, cosmetico e fitoterapico. Prendendo come riferimento economico da un prodotto a base di polifenoli, (olivenol, venduto in rete), dal trattamento di 100 kg di olive si può ottenere un utile netto di circa 500 €. Quindi 500 € da 80-90Lt di A.V. grezze. Per i prodotti in forma solida i valori di mercato si aggirano dalle 30€/kg alle 300€/kg a seconda della raffinazione del prodotto finale. Gli ingredienti alimentari sono caratterizzati da elevati volumi di produzione e pertanto il valore aggiunto si riduce. Nel settore cosmetico e nutraceutico i volumi sono più esigui ma il livello di raffinazione è maggiore pertanto il valore può arrivare a decuplicarsi.

4.7 Vinacce e sottoprodotti enologici e possibili applicazioni

Il settore enologico, come quello oleario, si caratterizza per una ingente produzione di scarti e sottoprodotti (numeri). Vinacce vergini e esauste, vinaccioli, fecce, e altre biomasse solide e liquide come borlande e raspi, rappresentano le principali biomasse che si ottengono a partire dalla produzione del vino. In questo settore tuttavia la filiera del recupero è in parte già strutturata. Le aziende viti vinicole conferiscono il loro scarto principale, ossia la vinaccia, alle distillerie che la utilizzano per la produzione di alcool, grappe e distillati vari.

In questo senso una parte dei sottoprodotti alimenta l'indotto della distillazione ad uso alimentare e non. Alcune aziende (caViRo, Bonollo) inoltre hanno implementato delle filiere secondarie che, a partire dai sottoprodotti enologici (principalmente vinaccia) producono energia attraverso la combustione della parte

fibrosa e legnosa (graspi e buccette) e in alcuni casi produzione di Biogas mediante digestione anaerobica. Tuttavia, come per il settore oleario, anche nel settore viti-vinicolo esistono possibilità di valorizzare le sostanze contenute nei sottoprodotti sopra indicati. In particolar modo la Tecnologia di processo a membrane consente il recupero delle sostanze flavonoidiche e fenoliche presenti nella buccetta dell'acino d'uva, previa estrazione in acqua di dette molecole. Le altre matrici come i vinaccioli sono attualmente utilizzati per l'ottenimento di olio ma anch'essi costituiscono una importante fonte di molecole antiossidanti. In ultimo raspi e bucce possono essere utilizzati oltre che per la produzione di energia ma anche per la produzione di fibra alimentare. Tale filiera è riassunta nello schema di figura 62 in cui è descritto un modello di valorizzazione integrale della vinaccia vergine, calcolato su un quantitativo giornaliero di circa 570 t/g.

La valorizzazione a fini commerciali delle molecole presenti nelle varie frazioni e scarti della produzione enologica passa per la loro estrazione in acqua o soluzioni idroalcoliche. L'ottenimento di estratti liquidi a titolo definito in flavonoidi e acidi fenolici rappresenta il primo step tecnologico per la separazione e concentrazione delle molecole fenoliche di riferimento.

Queste sostanze trovano attualmente applicazione nel settore cosmetico e parafarmaceutico ove vengono impiegate come ingredienti funzionali (antiossidanti) all'interno di preparazioni destinate alla integrazione alimentare e cosmetica. Sono molte le referenze in tal senso (antistax, oenobiol, inneov ecc. ecc.). Il mercato alimentare è inoltre un possibile ambito in cui potrebbero trovare applicazione i prodotti ottenibili, sia le sostanze antiossidanti che la fibra possono costituire degli ingredienti di valore in prodotti dietetici e funzionali. Nello specifico la fibra ottenibile dalla buccetta può diventare un agente di bulking per zuccheri alimentari per la produzione di specialità a basso contenuto calorico.

La componente fenolica e flavonoidica associata alla vinaccia non è stata finora presa in considerazione e non costituisce, ad oggi, un elemento di interesse per la valorizzazione dei sottoprodotti enologici. Le tecnologie di membrane, applicate in sistemi integrati di estrazione e concentrazione, possono rappresentare uno strumento importante per l'ottenimento di tali sostanze in formulazioni liquide stabili e utilizzabili in vari settori di mercato. Le vinacce vergini sono inoltre ricche di pigmenti naturali di origine antocianica che possono essere a loro volta estratti e concentrati per diventare coloranti alimentari o cosmetici.

Un esempio tipico è l'enocianina. L'industria vinicola del nostro paese considera l'enocianina come una sorta di "punta di diamante" e questo per un motivo molto semplice, visto che non esiste in tutto il mondo un altro prodotto che sia naturale al 100% e che sia in possesso di un potere colorante simile. L'estratto liquido si ottiene, in particolare, dalle bucce dell'uva, tanto che è in grado di rispondere in maniera perfetta e completa alle direttive emanate dall'Unione Europea. Gli utilizzi industriali più frequenti sono quelli del settore delle bevande alcoliche, ma anche in quello dolciario (marmellate, dolci, sciroppi e yogurt solo per citare alcuni esempi).

Altro fattore di potenziale interesse commerciale è rappresentato dalla componente cellulosica della vinaccia (bucce) che può rappresentare una importante fonte di fibra per alimenti dietetici e funzionali.

Anche l'olio di vinacciolo rappresenta uno dei principali prodotti ad alto valore aggiunto ottenibile dagli scarti di produzione della cantina, in particolar modo l'olio di vinacciolo rappresenta un olio alimentare di elevato pregio in virtù del suo elevato punto di fumo (400°C) che tende a ridurre fortemente i processi ossidativi che si innescano durante la cottura o la frittura dei cibi. Viene inoltre impiegato come olio cosmetico e come olio per massaggi e lenimenti.

In virtù delle molte frazioni fenoliche in esso presenti, secondo lo schema di figura 22 sono molti i prodotti ottenibili dalla filiera viti-vinicola. Sono state individuate 5-6 linee di sfruttamento teoriche alcune sono già strutturate altre rappresentano una implementazione possibile ma ancora non attuata.

Lo schema riportato è dimensionato per il trattamento di un quantitativo di circa 570 t/gg di vinaccia vergine che rappresenta la principale biomassa della filiera viti-vinicola.

Nello schema sono riportate:

- le tipologie di biomasse in ingresso e i quantitativi relativi
- le operazioni unitarie condotte
- i macchinari necessari
- le frazioni intermedie e i quantitativi relativi
- i prodotti finali e i quantitativi relativi.

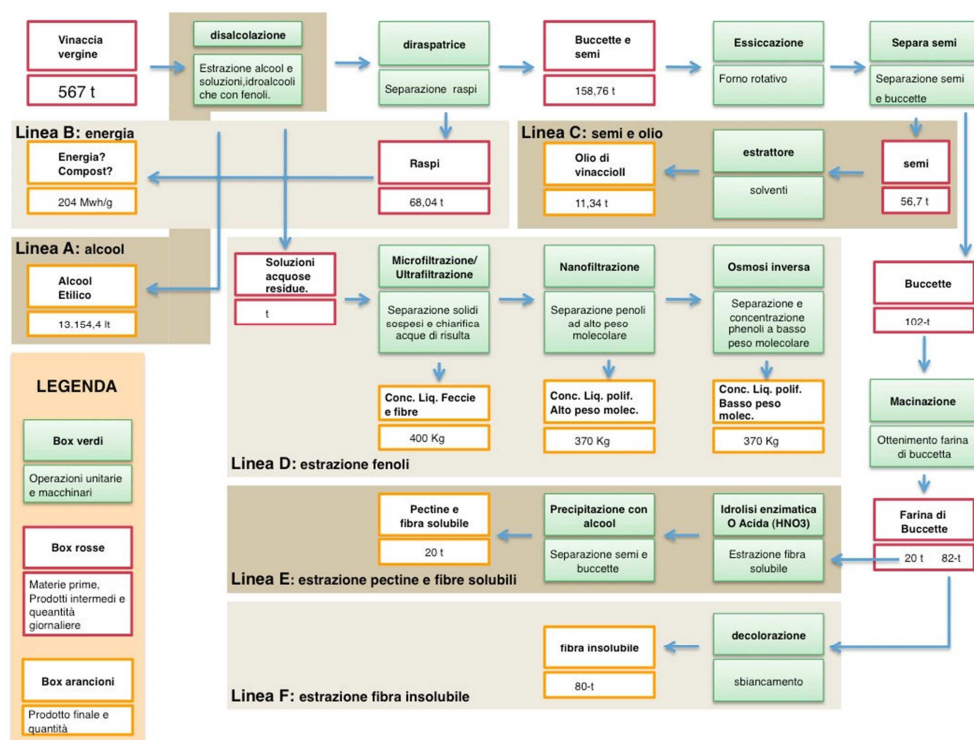


Figura 22 - modello di valorizzazione integrale della vinaccia vergine

Nel modello sopra descritto si prevede un recupero integrale delle frazioni valorizzabili. Ogni linea (indicata con le lettere A-F) individua un prodotto finale:

1. Linea A alcool etilico per usi alimentari e non;
2. Linea B energia;
3. Linea C olio di vinacciolo;
4. Linea D fenoli e flavonoidi;
5. Linea E pectine e fibre solubili;
6. Linea F fibra insolubile.

Le linee d-f rappresentano delle implementazioni non ancora realizzate in aziende viti-vinicole presenti oggi sul mercato. Inoltre alcune linee presentano filiere aggiuntive non descritte nel presente schema di processo, come ad esempio la linea di estrazione delle enocianine (pigmenti), dell'acido tartarico, oppure la linea di produzione del biogas. Si tratta infatti di sistemi che possono coesistere con quelli sopra descritti al fine di avere in una integrazione a 360 gradi volta alla riduzione pressoché totale della biomassa residuale.

L'azienda CaViR.o di Faenza rappresenta in tal senso l'esempio più significativo dell'immenso volume di vinaccia trattata in una stagione di vendemmia (100.000 tonnellate) solo l'1,7 % in volume è da considerarsi rifiuto da smaltire. Il resto diventa prodotti e valore per l'azienda.

4.8 Stime di massima del valore dei prodotti

Sulla base di indagini preliminari basate su studi recenti e sui valori di mercato correnti per commodities come energia e etanolo è stata compilata la seguente tabella 11:

Product	Daily amounts (t)	Yearly amounts (t)	Price (€/t)	Yearly Revenues (M€)
ENERGY	204 (Mwh)	61200 (Mwh)	200 (€/Mw)	12,24
Ethanol	13,15	4020	400-500	1.6-2
Grape seed	11,34	3402	8000	27,2
Insoluble fiber	80	24000	30	0,72
pectins	10	3000	8000 - 10000	24-30
Polyphenols	1	300	35.000- 50.000	0,35-0,5
Total				66-72

Tabella 11 - calcoli di massima dei ritorni economici derivanti dalle linee di produzione in figura 22

Come si può valutare, l'introito principale deriva dallo sfruttamento di alcune frazioni a elevato valore aggiunto come olio di vinaccioli e pectine.

Chiaramente anche l'introito generato dalla vendita di energia e di etanolo costituisce un'importante porzione dei ricavi. Per quanto riguarda l'estrazione dei polifenoli si deve considerare il ridotto volume ottenuto dal processo per via dell'elevato fattore di concentrazione necessario per il raggiungimento di un titolo valido (5-10%) ciò comporta una contrazione importante dei volumi in gioco. Tuttavia l'elevato valore aggiunto della frazione è un dato da tenere presente in

quanto qualora i volumi o le rese di estrazione dovessero essere incrementati attraverso soluzioni tecnologiche opportune (estrazioni in controcorrente, o in soluzione idroalcolica) anche tale frazione, che ora incide per lo 0,5 % sul valore complessivo finale, acquisterebbe ancora più importanza.

4.9 Siero derivati

Un ulteriore dato rilevante e significativo da considerare nell'analisi tecnico-economica è quello relativo al settore lattiero-caseario.

Per essere sicuri di commercializzare i prodotti siero-derivati è necessario avere un acquirente affidabile, ma soprattutto bisogna essere in grado di diversificare la produzione in modo da potersi allineare alle esigenze moderne del mercato. Ciò significa realizzare un impianto flessibile in grado di mettere sul mercato diverse tipologie di prodotti ricavati dal siero di latte.

Gli impianti necessari alla valorizzazione del siero di latte sono specifici per il tipo di prodotti che si desiderano ottenere. E' stato calcolato che il costo degli impianti non aumenta di pari passo con la raffinazione dei prodotti finiti. I costi degli impianti comprendono; l'acquisto l'installazione delle macchine, del piping e dei serbatoi, del depuratore finale degli scarti e delle "facilities" come la produzione del vapore, del freddo, dell'energia elettrica, dell'acqua etc. I costi di produzione comprendono il consumo dei reagenti chimici, l'eventuale cambio delle membrane (ogni 3,5 anni) i consumi di energia, il costo della materia prima, quelli di personale, di manutenzione ordinaria e straordinaria, le spese generali etc. La scelta degli impianti deve essere effettuata tenendo conto delle opportunità che questi offrono di risolvere i gravi problemi ambientali, relativi allo smaltimento completo degli effluenti di lavorazione del siero. Se gli aspetti di natura ambientale non sono completamente garantiti (smaltimento effluenti) si corre il rischio del sequestro degli impianti, di sanzioni economiche ed anche penali. E' evidente che gli impianti devono essere costruiti nel rispetto delle normative vigenti riguardanti la produzione di specialità alimentari e farmaceutiche. Se consideriamo una disponibilità di siero di circa 100.000 l/giorno, escludendo la scotta, abbiamo la seguente composizione chimica:

- lattosio 45 g/l
- sieroproteine e peptidi 12,0 g/l

- azoto non proteico 2 g/l
- contenuto salino di 5 g/l

E' noto che la composizione chimica del siero può cambiare sensibilmente anche in ragione del suo stato di conservazione, oltre che altri parametri.

Dal trattamento di 100 m³/giorno è ragionevole ipotizzare il recupero delle seguenti materie prime:

- sieroproteine all'80% in peso sulla polvere 1200 kg/giorno
- acqua osmotizzata 65 m³/giorno
- zuccheri totali (lattosio 4500 kg/giorno)

Le sieroproteine (WPC= proteine concentrate) in polvere possono essere commercializzate come integratore alimentare ad un prezzo medio venduto all'ingrosso di circa 4 euro/kg. Gli zuccheri possono essere idrolizzati per produrre monosaccaridi e GOS e produrre una specialità di interesse farmaceutico, i GOS, che valgono cifre dell'ordine dei 14 euro/kg.

Dal mescolamento dell'acqua osmotizzata con gli zuccheri idrolizzati si può ottenere una base per bevanda speciale con spiccate caratteristiche nutraceutiche, per un quantitativo di circa 160 m³/giorno. Il prodotto di riferimento è la Rivella, una bevanda dolce, tipo aranciata, prodotta in Svizzera che contiene il 23% di siero, che viene venduta in tutto il mondo, Italia esclusa.

Dalla commercializzazione delle sieroproteine si possono ottenere i seguenti ricavi:

1200 x 4€= 5000 €/giorno

Dalla bevanda (zuccheri idrolizzati + acqua osmotizzata), che si valuta ad un costo di fabbrica di circa 0,4 €/L, corrispondente a quello di un'acqua minerale, si ottengono 32.000€/giorno.

Totale ricavi lordi 37.000 €/giorno.

5 PROGETTAZIONE DI UN IMPIANTO DI TRATTAMENTO INDUSTRIALE PER LE DUE MATRICI ACQUE DI VEGETAZIONE E VINACCE PER CONSENTIRE LE APPLICAZIONI INDUSTRIALI

Viene di seguito definita una progettazione di massima per un impianto in grado di trattare sia le matrici provenienti dalla molitura delle olive (estratti acquosi di sansa, acque di vegetazione e estratti di foglie d'olivo) che i residui della lavorazione dell'uva (estratti acquosi di vinaccia, vinaccioli feccie e altri sottoprodotti dell'industria enologica come i fondi vinari).

Sotto il profilo delle performance di trattamento il dimensionamento proposto è stato calcolato sulle produttività standard che si ottiene con le acque di vegetazione, cioè da una matrice a più alto carico di solidi sospesi e disciolti, quindi più difficile da filtrare.

Nello schema di figura 23 si riporta il layout di trattamento delle A.V. con tecnologie di membrana.

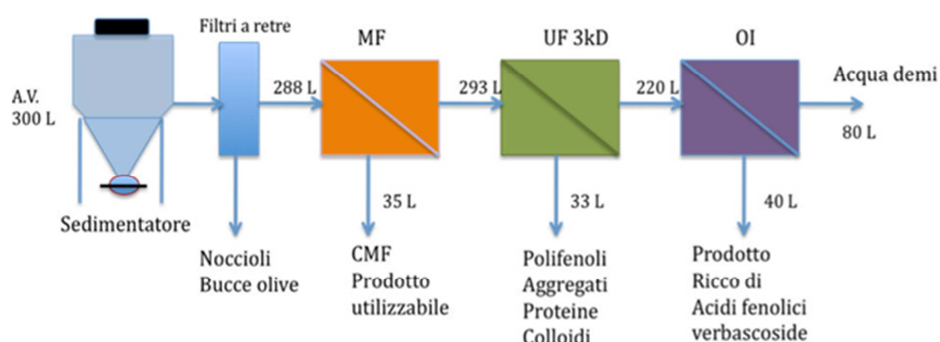


Figura 23 - Schema semplificato di trattamento delle AV : la UF 3 KD è stata inserita al posto della NF in questo schema di processo

Le A.V. possono avere un carico di solidi disciolti che si colloca nell'intervallo 10-7 g/L a seconda del tipo di cultivar e delle condizioni di molitura delle olive, mentre un estratto acquoso da vinacce ha un contenuto di solidi disciolti di circa 2,5- 3,5 g/L.

Dal momento che il trattamento degli estratti acquosi è caratterizzato da un tenore di solidi sospesi fino a circa 4 volte inferiore a quello delle AV, anche le produttività, nella fase iniziale di MF risultano superiori. Infatti, mentre con le A.V. la produttività in MF è in media di circa 30- 70 (L/m²h) alla temperatura di

30°C, per gli estratti di vinacce le produttività medie alla stessa temperatura si attestano sui 120-160 (L/m²h).

E' evidente che anche gli stadi di trattamento successivi alla MF, e cioè l'UF, la NF/OI, presentano delle produttività proporzionali a quelle riportate per la MF, cioè le produttività sugli estratti di vinacce sono più alte.

Restando sempre nel confronto fra A.V. ed estratti di vinacce è anche doveroso sottolineare che queste ultime devono essere trattate (estratte) con acqua demineralizzata a caldo, mentre le A.V. vengono trattate in membrana senza diluizione. A partire dal peso secco di vinacce, che in realtà hanno sempre un contenuto di umidità (10- 40%) a seconda delle condizioni di vinificazione e di spremitura dell'uva, l'estrazione in acqua prevede una diluizione della vinaccia di un fattore 1/7. Cioè 1 kg di vinaccia richiede circa 5 L di acqua per il prossimo stadio di estrazione ed altri 5 L circa per il secondo stadio di estrazione, in totale il rapporto è 1/10.

L'impianto a membrane dimensionato per trattare 20 ton/giorno di A.V. è in grado di trattare circa 13 ton/giorno di vinacce, che corrispondono a 130 m³/giorno di estratti acquosi. Nelle elaborazioni successive pur tenendo conto della potenziale capacità di trattamento su questi estratti i calcoli sono stati effettuati in senso conservativo e sono stati impostati i 20 m³/g di trattamento anche per gli estratti acquosi da vinaccie e foglie.

Nella figura 24 si riporta uno schema classico di trattamento degli estratti di vinacce a partire da una matrice solida.

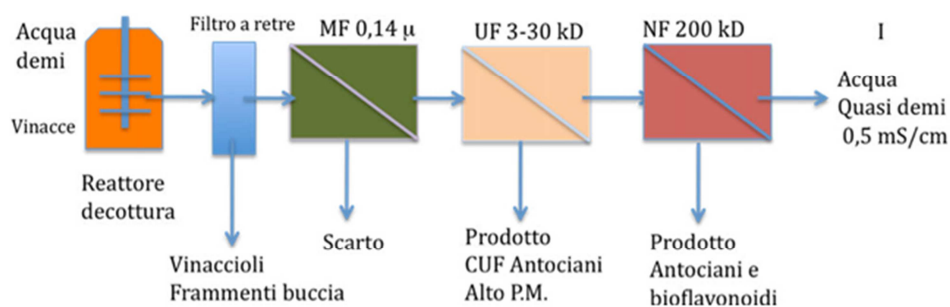


Figura 24 - trattamento delle vinacce rispetto alle AV la NF è stata inserita al posto della OI

Il passaggio dall'una all'altra matrice si accompagna a correzioni principalmente nella tipologia di membrana utilizzata. Sebbene tali diversità siano funzione del target molecolare che si intende separare e concentrare.

Per quanto riguarda il processo di estrazione si prevede di adottare un processo unico per l'estrazione acquosa da materiale vegetale basata su 3 stadi MF+UF+NF per le vinacce e MF+UF+OI per le A.V. come riportato nelle figure 23 e 24.

5.1 Dimensionamento degli impianti di trattamento

Le materie prima da trattare sono: acque di vegetazione, sanse estratti da foglie di olivo; estratti acquosi da vinaccia vergine ed esausta;

- Capacità impianto: 20 m³/giorno di A.V. - 26 m³/giorno fecce;
- Tipo di Impianto: Impianto di produzione in esecuzione alimentare;

Processo: pretrattamento a 4 stadi di trattamento a membrana (MF+UF+NF+OI). Nel caso di utilizzo di un impianto anaerobico, tutti gli effluenti di processo, in particolare le frazioni semiliquide come il Conc.MF e parzialmente il Conc.UF potrebbero alimentare un biodigestore anaerobico. La quantità disponibile è circa 8 tonn/giorno + la parte relativa ai lavaggi membrane 4 m³/giorno: per un totale di circa 12 tonn/giorno;

- Energia elettrica da installare circa 300 kW; consumo x 24 ore 7.200 kWh x 0,2 €/kWh = 1.440€ (costo energia elettrica).

Dal processo di lavorazione delle A.V. con il frazionamento a membrane si otterranno le frazioni liquide in (m³/giorno 24 h) riportate in tabella 23.

Sezioni	Alimento	Concentrato	Dia-	Permeato
A.V.				
MF	20	3	3	20
UF	20	2,5	2,5	20
NF	20	2,5	2,5	20
OI	20	2,5		17,5 (acqua u.pura)
Vinacce				
MF	20	2	2	20
UF	20	2	2	20
NF	20			17,5 (acqua u.pura)

Totali		14,5	12	
--------	--	------	----	--

Tabella 23 - Volumi delle diverse frazioni (m³/giorno)

Si prevede di utilizzare un'apparecchiatura unica per le operazioni di pretrattamento delle A.V. e per l'estrazione dei polifenoli dalle foglie di oliva e dalle vinacce. Tale impianto a batch deve essere progettato ad hoc, ma il suo dimensionamento è parzialmente collegato al volume delle matrici da trattare giornalmente. Si considera che il batch di estrazione delle foglie/ vinacce ha un tempo medio di 3 ore circa per ciclo di lavorazione completo, quindi nelle 24 ore si prevede di effettuare circa 7 cariche di materiale vegetale.

Ipotesi di lavoro: due serbatoi collegati e agitati idraulicamente dal volume ciascuno di 5 m³

Si prevede di trattare 300 kg di foglie/vinacce per singolo batch di decottura, con 1500 L di acqua e successivi 1500 L. Si producono quindi 3000 L di estratto per singolo carico.

Il processo di lavorazione del decotto di foglie/vinacce prevede le seguenti sezioni di lavorazione, MF + UF + OI. Dal processo si dovrebbero produrre circa 3,0 kg di polifenoli per carica di foglie vinacce (di seguito chiamati estratti vegetali).

5.2 Sezione di Microfiltrazione (MF)

Dati di progetto:

- Volume da trattare in 24 h: 20 m³ (AV estratti vegetali),
- VCR da raggiungere: 6-7 (AV); 10-15 (estratti vegetali)
- Tipo di membrana: ceramica con cut off pari a 0,14 mm.
- Pressione di trans-membrana 3-6 bar
- Ricondizionamento on line con dispositivo back pulse

Si ipotizza un dato di produttività oraria totale (permeato) pari a circa 1 m³/h che sale a 1,6 nel caso degli estratti acquosi di vinacce e foglie. La superficie filtrante totale necessaria è quindi pari a 33,3 m².

Nell'ipotesi di utilizzare membrane francesi Brand Tami, tipo girasole con cut off 0,14 mm, occorrono 95 elementi filtranti. Per ragioni tecniche e di costi delle

apparecchiature si dovrebbe operare con due housing in serie con 47 elementi ciascuno; candele ceramiche di allumina e zirconia. Il sistema prevede l'utilizzo di due pompe centrifughe: una per l'alimentazione al circuito delle membrane (portata circa $10\text{m}^3/\text{h}$ a 6-7 bar) e una per il ricircolo del prodotto sulle membrane (portata circa $330\text{m}^3/\text{h}$ a 4 bar). Il sistema è dotato di un dispositivo di Back-Pulse (uno per Housing) per l'ottimizzazione del funzionamento delle membrane nell'arco delle 20 h di funzionamento.

5.3 Sezione di Ultrafiltrazione (UF)

Il permeato (PUF) è un prodotto molto interessante dal punto di vista commercialmente perché contiene polifenoli purificati da macromolecole come proteine, glucidi-cellulosici, tannini, polifenoli aggregati, ecc.

Dati di progetto:

- Volume da trattare in 24h: 20 m^3 (AV) ;
- VCR da raggiungere: 8-12 (AV, estratti vegetali);
- Produttività membrane: $15\text{-}20\text{ Lt/h/m}^2$;
- Pressione di esercizio 4-7 bar;
- Tipo di membrana: Membrane a spirale avvolta da 8" x 40" taglio molecolare 30-50 kDalton, materiale polietersulfone oppure PVDF.

Si ipotizza un dato di produttività oraria totale pari a circa $1\text{ m}^3/\text{h}$. La superficie filtrante totale necessaria è quindi pari a circa $50\text{-}66,6\text{ m}^2$. La soluzione impiantistica è di due housing da 8040 in parallelo. Operazione di filtrazione in batch con il retentato che rientra nel serbatoio di alimentazione o in continuo: da discutere in sede di progettazione. Le portate della pompa di alimentazione è di circa $20\text{ m}^3/\text{h}$ per i due vessel in serie. Verrà installato uno scambiatore di calore a piastre.

5.4 Sezione di Nanofiltrazione (NF)

Questa sezione è alimentata dal permeato di UF, dove interessa recuperare entrambi i prodotti: permeato (PNF) e concentrato (CNF). Entrambi sono considerati prodotti di interesse commerciale. Il permeato derivante dal trattamento delle A.V. è ricco infatti di idrossitirosolo.

Dati di progetto:

- Volume da trattare in 24h: 20 m^3 (AV e estratti vegetali);
- VCR da raggiungere: 7,5;
- Pressione di esercizio 20-25 bar
- Tipo di membrana: Membrane a spirale avvolta da 8" x 40"
- Taglio molecolare 30-50 kDalton, materiale polietersulfone oppure PVDF.

Si ipotizza un dato di produttività oraria totale (permeato di NF) pari a circa $1 \text{ m}^3/\text{h}$. La superficie filtrante totale necessaria è quindi pari a circa $66,6 \text{ m}^2$. La soluzione impiantistica proposta prevede l'utilizzo di due housing da 8" x 40" da collegare in serie.

Le operazioni di filtrazione sono in batch, con il retentato (concentrato) che rientra nel serbatoio di alimentazione fino al raggiungimento del VCR impostato. La portata della pompa di alimentazione è circa $12 \text{ m}^3/\text{h}$ per i due vessel in serie.

E' necessario impiegare uno scambiatore di calore a piastre per mantenere la temperatura sotto controllo, massimo $60 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.5 Sezione di Osmosi Inversa (OI)

Anche in questa sezione i prodotti sono due, il permeato (POI) è un'acqua iposalina di origine vegetale, mentre il concentrato (COI) è ricco di acidi fenolici, ac. caffeico, tirosolo, idrossitirosolo, ecc.

Dati di progetto:

- Volume da trattare in 24h: 20 m^3 ;
- VCR da raggiungere: 8;
- Pressione di esercizio max 50 bar
- Tipo di membrana: da RO 8" x 40" ad alta reiezione salina tipo acqua mare (sea water membrane).

Si ipotizza un dato di produttività oraria totale (permeato prodotto) pari a circa $1 \text{ m}^3/\text{h}$ (AV). La superficie filtrante totale necessaria è quindi pari a circa $66,6 \text{ m}^2$. La

soluzione impiantistica è costituita da due vessel da 8040 in parallelo. Operazione di filtrazione in batch con il retentato che rientra nel serbatoio di alimentazione. La portata della pompa (o delle 2 pompe centrifughe in serie) di alimentazione è circa 11 m³/h a 40 bar per i due vessel in serie. L'alternativa è una pompa volumetrica triplex.

E' necessario impiegare uno scambiatore di calore a piastre, incluso nel prezzo di fornitura della sezione di OI.

5.6 Prodotti recuperati dal processo

I concentrati di MF e di UF, contenenti la sostanza organica delle A.V. priva o impoverita del contenuto polifenolico, possono essere destinati alla produzione di biogas in processi di fermentazione anaerobica, al compostaggio o a un processo di evaporazione/combustione per generare energia.

I concentrati di NF e di OI, ricchi in polifenoli, sono prodotti da utilizzare come integratori con spiccate proprietà nutraceutiche in formulati alimentari oppure, dopo un'ulteriore raffinazione, nel settore farmaceutico e cosmetico.

I concentrati di NF e di OI possono essere essiccati in forma di polvere, per aumentarne la conservabilità e facilitarne lo stoccaggio, con tecniche di atomizzazione a spruzzo (spray- dryer). Il permeato di OI può essere riutilizzato nel ciclo produttivo evitando il prelievo di acqua da falda e/o condotta o addirittura può essere impiegato come base per la formulazione di bevande.

I prodotti principali recuperati sono di tre categorie:

- 1) concentrati di MF+UF,
- 2) i polifenoli e i flavonoidi delle vinacce (CNF+COI),
- 3) l'acqua di origine vegetale (POI-AV)
- 4) Oleuropeina dalle foglie di olivo

Paste concentrate

I concentrati di MF e di UF (CMF+CUF 5,5 m³/giorno) derivanti dalle AV e dagli estratti vegetali sono piuttosto impoveriti in polifenoli ma sono ricchi di sostanza grassa (olio) (derivante dalle A.V.) di pectine e cellulose, lieviti e microrganismo in generale, proteine, altre macromolecole come complessi polifenolici ed anche

sostanze minerali. Questi prodotti possono essere impiegati nel settore alimentare ed eventualmente nel comparto mangimistico. Sono anche eventualmente impiegabili per la produzione di fertilizzanti misto organici. Non è pensabile di smaltire tali prodotti in discarica.

Acque di vegetazione

Polifenoli:

- $CNF = 2,5 + COI\ 2,5 = 5\ m^3/\text{giorno}$
- Prodotti finali semilavorati.
- CNF polifenoli totali (concentrazione 12 g/L), totale = 30 Kg/giorno
- COI polifenoli totali 13-15 g/Lt = 32,5 - 37,5 kg/giorno di cui idrossitirosolo circa 10 g/Lt = 25 kg/giorno

Acqua vegetale:

Questo prodotto si ottiene dal permeato di osmosi inversa (POI), i volumi calcolati disponibili sono di circa 10.000 L/giorno, poiché circa 7.500 Lt di acqua osmotizzata sono reimpiegati nei cicli di lavorazione e di lavaggio delle membrane.

Oleuropeina dalle foglie:

Si prevede di produrre circa 12 kg di prodotto al giorno, espresso come peso netto di oleuropeina in forma liquida o di pasta.

Vinacce

I prodotti ottenibili a partire da questo processo sono costituiti dalle due frazioni liquide derivanti dalla Ultrafiltrazione e dalla Nanofiltrazione.

Per la resa è stato impostato un VCR di 10 anche se di fatto le frazioni ottenibili potranno essere concentrate anche molto di più (VCR 15-20).

Polifenoli vinacce

- $CUF+CNF = 2 + 2 = 4\ m^3/\text{giorno}$
- Prodotti finali semilavorati. Concentrazione polifenoli:
- CUF polifenoli totali 6 g/L, totale = 24 Kg/giorno di flavonoidi complessi.
- CNF polifenoli totali 5-7 g/L = 10 - 14 kg/giorno di acidi fenolici

5.7 Valore commerciale dei prodotti recuperati

Il prezzo di vendita dei diversi prodotti che si ottengono dal processo dipende da molti fattori e soprattutto dal Mercato, cioè da quel sistema complesso legato a fattori come domanda e offerta, dalle caratteristiche chimiche e biologiche, dalla diffusione dell'immagine di prodotto tramite marketing, ecc.

Ma il prezzo è legato anche a fattori emozionali, le cui valutazioni esulano dal presente progetto. Nel caso di prodotti relativamente nuovi, a base polifenolica, per i mercati internazionali, la stima del prezzo di vendita dei nuovi prodotti diventa problematica.

In termini molto conservativi, visto il quadro dei prezzi di preparati simili, si avanzano le seguenti valutazioni che fanno riferimento soprattutto ad un impiego dei polifenoli nel comparto alimentare.

Qualora gli stessi semilavorati ottenuti a piè di fabbrica possono spuntare una valutazione economica più alta di un fattore 10 o addirittura di 100 nel caso dell'impegno nel settore cosmetico o del nutraceutico e biomedico.

I valori riportati in tabella 24, si riferiscono ai soli polifenoli presenti nelle soluzioni ottenute dall'impianto.

Acque di vegetazione

Prodotto	Valore unitario (€/kg)	Valore economico (€)
Prodotto 1 (CMF+CUF)	0,3	1.650
Prodotto 2 (CNF)	110	3.300
Prodotto 3 (COI)	200	7.500
Prodotto 4 (POI)	0,2	2.000
Prodotto 5 (Oleuropeina)	200	2.400

Vinacce

Prodotto	Valore unitario (€/kg)	Valore economico (€)
Prodotto 6 (CUF da vinaccia)	50	1.200
Prodotto 7 (CNF da vinaccia)	80	1.100
Totale (1-7)		19.150

Tabella 24 - Ritorni economici potenziali derivanti dalla vendita delle diverse frazioni

Totale ricavi lordi 19.150 €/giorno derivanti dalla vendita dei prodotti 1-7.

Questi ricavi sono sostanzialmente indipendenti dalla formulazione finale dei prodotti a base polifenolica. Infatti, i prodotti polifenolici, semilavorati grezzi che escono dal processo a membrana, possono essere formulati in concentrati come la pasta (concentrato 7 volte rispetto al semilavorato) oppure in forma di polvere previo trattamento di spray dryer (operazione che si può condurre out sourcing).

Per ottenere le polveri è necessario concentrare i semilavorati di un fattore 4 tramite evaporazione sotto vuoto, quindi passare al processo di atomizzazione. Questi costi non sono stati valutati ma sono associati ad un aumento del prezzo del prodotto finito.

5.8 Costi di realizzazione degli impianti

Sono stati calcolati in modo indicativo i costi per la realizzazione di un impianto in grado di trattare 20 m³/giorno di AV/estratti generate da un processo di lavorazione delle olive a tre fasi.

L'impianto è stato previsto per trattare anche i reflui del frantoio a due fasi, previa operazione di centrifugazione (decanter) sulle sanse umide. Non vengono riportati i costi per la realizzazione di un impianto per il trattamento anaerobico (produzione di biogas) delle frazioni separate in centrifuga e concentrate in MF ed in UF.

I costi delle specifiche sezioni a membrana sono riportate nella tabella 25.

Sezioni	Membrane	Costi (x1000 €)
MF	Ceramiche tubolari con superficie	300
UF	Polimeriche a spirale avvolta	180
NF	Polimeriche a spirale avvolta	200
OI	Polimeriche a spirale avvolta Superficie	220
Totale impianti a membrana		900

Tabella 25 - voci di costo degli impianti a membrana

Le stime dei costi di altre macchine e apparecchiature del processo sono riportati in tabella 26.

Apparecchiature	Costi k€
Serbatoi di stoccaggio	120
Reattore enzimatico per A.V. e foglie 5- 7 m ³	80
Evaporatore a film cadente con capacità di 200L/h	120
Confezionatrici prodotto	80
Piping impianto e pannello di gestione e controllo "touch screen"	100
Laboratorio di analisi e controllo	120
Imbottigliamento acqua osmotizzata	80
Totale	700

Tabella 26 - Stime dei costi delle apparecchiature accessorie all'impianto a membrana

Il costo per la realizzazione di un impianto completo di trattamento di 20 m³ di AV al giorno è valutato in circa 1.600 k€. Tale costo riguarda solo la parte impiantistica e non le opere murarie e le utilities di stabilimento (aria compressa, acqua di rete, acqua calda e refrigerata, energia elettrica e relativi allacci elettrici ed idraulici).

5.9 Valutazioni economiche: costi-ricavi

Di seguito si riportano dati relativi ai costi di investimento e a quelli variabili legati alla gestione operativa dello stabilimento.

Costi fissi

per impianti e facilities, escluso opere civili =	1.600.000 €.
Ammortamento 5 anni =	320.000€/anno
(escluso eventuali costi bancari)	
Totale costi fissi=	876 €/giorno

Costi Variabili

Costi di gestione ed erogazione di servizio

ENERGIA (7.200 kWh/giorno)=	1.440 €/giorno
UTENZA IDRICA=	50 €/giorno
PERSONALE (4 unità)=	480 €/giorno

REATTIVI CHIMICI E CONSUMABILI=	60 €/giorno
MANUTENZIONE Ordinaria e Straordinaria=	20 €/giorno
SOSTITUZIONE MEMBRANE (Ogni 4 anni)=	130 €/giorno
DEPURAZIONE=	60 €/giorno
Totale costi variabili 2.240 + fissi 876 /giorno =	3.116 €
Bilancio economico	
Entrate lorde / giorno=	19.150 €
Uscite / giorno=	3.116 €
Utili lordi / giorno=	16.034 €

E' doveroso ricordare che questi ritorni economici dell'impianto sono calcolati soltanto sul trattamento delle A.V. e delle foglie, il che riguarda un periodo di impiego stagionale dell'impianto di circa 150 giorni/anno.

Poiché l'impianto indicato ha una grandissima potenzialità applicativa, esso potrà essere impiegato per trattare tante altre matrici provenienti dal settore agro-industriale, come il siero di latte (presente tutto l'anno), quelle provenienti all'industria enologica, al trattamento dei succhi di frutta o impiegato nel recupero di principi attivi da matrici agricole di scarto, come quelle risultanti dalla coltivazione del carciofo, dall'industria delle conserve alimentari etc.

Si può ipotizzare un ritorno economico derivante dal trattamento di queste matrici, per un periodo di circa 215 giorni.

In questo progetto è stato dimostrato la fattibilità tecnica del processo a membrana per il recupero dei polifenoli dalle acque di vegetazione, dalle sanse e dalle foglie di ulivo. Le acque di vegetazione richiedono l'applicazione del processo integrale di filtrazione a membrana descritto nel processo ENEA. La complessità della composizione chimica associata a queste matrici ne rende particolarmente articolato il trattamento. Tuttavia, attraverso lo schema di processo proposto, è possibile ottenere frazioni arricchite in polifenoli ad alto e a basso peso molecolare, che possono trovare applicazione sia in forma liquida e più ancora in forma stabilizzata (polvere) in settori merceologici come quello alimentare o nutraceutico.

Per quanto attiene alle sanse olearie, l'applicazione di un processo adeguato di pre-trattamento consente di ottenere un refluo liquido che può entrare nella linea di trattamento nelle medesime modalità previste dal trattamento delle AV. La similarità compositiva sotto il profilo dei composti organici, in particolare fenolici rende le frazioni ottenute da queste matrici altrettanto valorizzabili sotto il profilo commerciale così come i prodotti liquidi e in polvere ottenuti dalle Acque di Vegetazione. Il recupero di foglie di ulivo polifenoli è stato raggiunto da ottenimento di un estratto grezzo acqua dalle foglie fresche. La purificazione dell'estratto grezzo e la sua concentrazione è stata condotta attraverso l'applicazione della MF e della OI e ha consentito di recuperare una frazione contenente tutti i principali composti fenolici presenti nella foglia in particolare oleuropeina e idrossitirosolo. La frazione liquida previa aggiunta di Maltodestrine è stata convertita in polvere e appare idonea come prodotto alimentare in un'ottica di funzionalizzazione di alimenti e bevande. La fattibilità tecnica dei processi sopra descritti appare quindi reale e non presenta problemi di scala industriale perché le tecnologie di membrana sono modulari, quindi più è alta la scala di trattamento, più bassi sono i costi di processo, per unità di prodotto trattato, es. per ton di A.V. Recentemente è stato realizzato un impianto industriale di trattamento delle A.V. secondo il brevetto ENEA ed è stata costituita una società che si occupa della commercializzazione dei prodotti a base di polifenoli. L'impianto industriale da 10 ton/giorno ha confermato tutti i risultati sperimentali sviluppati dall'ENEA, dimostrando non solo la fattibilità tecnica del processo ma anche l'interesse commerciale legato alla linea di commercializzazione dei prodotti finiti nel comparto alimentare, cosmetico e fitoterapico.

6 CONCLUSIONI

L'industria agro-alimentare ed i suoi prodotti generano un'elevata quantità di scarti, in massima parte non pericolosi, solitamente avviati ad operazioni di recupero ai sensi dell'art. 7 del D.lgs.22/97. In Europa la produzione di scarti agro-alimentari viene stimata intorno ai 250 milioni di ton/anno e in Italia la maggior parte di questi rifiuti sono sottoprodotti dell'industria di lavorazione dei cereali (11 milioni di ton/anno), della vite (2,3milioni di ton/anno) e delle olive (1,2 milioni di ton/anno). Il problema della gestione e dello smaltimento di tali scarti ha una notevole ricaduta sulla comunità in termini di costi e di inquinamento dell'ambiente, tanto che negli ultimi anni le aziende operanti nei paesi industrializzati hanno rivolto un'attenzione sempre maggiore alla valutazione di

impatto ambientale e alla produzione di prodotti di qualità. La valorizzazione di tali materie di scarto, attraverso varie tecnologie di recupero, possono generare una vasta gamma di composti organici ad alto valore aggiunto, utilizzabili in tutti i settori risolvendo quindi un problema ambientale e riducendo il fabbisogno di risorse naturali grazie all'allungamento del ciclo di vita del prodotto e sviluppando allo stesso tempo un nuovo mercato.

In particolare si calcola che in Italia la produzione di acque di vegetazione è di circa 4 milioni di ton/anno, di cui solo 2 milioni nella sola regione Puglia. Il problema del trattamento e smaltimento delle acque di vegetazione deriva dal loro elevato contenuto di sostanze organiche come zuccheri, pectine, grassi, sostanze azotate, polialcoli, poliacidi, fosforo, potassio e magnesio. Molte di queste molecole possiedono spiccate proprietà antimicrobiche e fitotossiche e conseguentemente risultano anche resistenti alla degradazione biologica, in particolare di tipo aerobico. La legislazione vigente (D.M. n. 574, 11/11/96), permette lo spandimento sul terreno delle acque di vegetazione considerandolo un indesiderato sottoprodotto dell'industria olearia. Tale processo, seppur controllato e regolato da normative, non risolve il problema dello smaltimento, ma si limita a tentare di contenere le possibili ricadute negative, quali l'impoverimento dei suoli a lungo termine e la possibile contaminazione delle falde idriche del sottosuolo. Inoltre in questo modo si abbandona una grande opportunità di recuperare una serie di composti molto attivi come i polifenoli.

Questo progetto ha messo in evidenza come le acque di vegetazione possono essere considerate un prodotto agricolo da valorizzare per essere poi impiegato in settori diversi. Infatti rappresentano un'importante fonte per l'estrazione di antiossidanti naturali come i fenoli tra i quali i più abbondanti sono l'oleuropeina, un derivato dell'idrossitirosolo, l'idrossitirosolo stesso, il tirosolo, e una grande varietà di antociani, catechine e altri composti, la cui composizione è fortemente influenzata dalla varietà di oliva e dalla stagionalità.

I reflui generati nel settore lattiero-caseario sono uno tra i maggiori problemi dell'agro-industria in Italia. Tale problema non è legato unicamente all'elevato carico inquinante ma anche ai volumi prodotti estremamente grandi ed alla diffusa presenza di caseifici nel territorio. Il reflu più abbondante della lavorazione casearia è la scotta, la frazione liquida rimanente dopo la produzione per trattamento termico della ricotta dal siero di latte acidificato, a sua volta derivante dal processo di caseificazione. In Italia se ne produce circa 1 milione di ton/anno. Una parte è impiegata nell'alimentazione dei suini, mentre quella destinata allo

smaltimento necessita di ulteriori trattamenti a causa del suo carico inquinante estremamente alto (BOD: 50 g/l; COD: 80 g/l). In realtà, seppur sia generalmente considerata uno scarto, la scotta è a tutti gli effetti una materia prima contenente importanti costituenti quali lattosio, peptidi e poche sieroproteine native, vitamine e non per ultimo l'acqua derivante dal latte. Valorizzare la scotta recuperando tutte le componenti di interesse è un obiettivo particolarmente importante sia dal punto di vista ambientale sia dal punto di vista economico.

Questo progetto ha messo in luce che attraverso il frazionamento della scotta al fine di riutilizzarne tutte le componenti in differenti campi di applicazione è possibile ottenere una frazione contenente la componente proteica da riutilizzare nel processo di produzione della ricotta o per la produzione di peptidi bioattivi da riutilizzarsi come integratori in nuovi prodotti; una frazione contenente lattosio da utilizzare dopo trattamento enzimatico, per la produzione di lattulosio, acido lattobionico o galatto-oligosaccaridi ed una matrice liquida contenente generalmente acqua.

I sottoprodotti dell'industria enologica come le vinacce, i vinaccioli, raspi e fecce, ma anche le foglie di vite, sono ricche di sostanze di notevole pregio ed interesse dal punto di vista biomedico. La ricchezza dei suoi costituenti chimici contiene importanti famiglie biochimiche come polifenoli, antocianine composti stilbenici di cui il resveratrolo è il più importante e le catechine di cui la molecola più importante è l'epigallocatechina. Inoltre sono presenti acidi grassi insaturi e polinsaturi, detti anche Omega 3. Le sperimentazioni eseguite hanno dimostrato che è possibile estrarre le componenti polifenoliche dai vinaccioli, vinacce e foglie di vite, per poi eseguire le operazioni di purificazione dei principi attivi, e di concentrazione degli stessi al fine di raggiungere dei formulati da poter commercializzare nel comparto fitoterapico e farmaceutico.

7 **REFERENZE**

Agewall, S., S. Wright, et al. (2000). "Does a glass of red wine improve endothelial function?" *European Heart Journal* 21(1): 74-78.

Arts, I. C., P. C. Hollman, et al. (2001). "Catechin intake and associated dietary and lifestyle factors in a representative sample of Dutch men and women." *European journal of clinical nutrition* 55(2): 76-81.

Bordoni, F. Danesi, Università di Bologna, , "Alimenti funzionali Salute e benessere dai prodotti della terra e dell'allevamento", *Il Divulgatore* n.7-8/2007, pag 12-19.

Beauchamp, G. K., R. S. Keast, et al. (2005). "Phytochemistry: ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil." *Nature* 437(7055): 45-46.

Bitler, C. M., T. M. Viale, et al. (2005). "Hydrolyzed olive vegetation water in mice has anti-inflammatory activity." *J Nutr* 135(6): 1475-1479.

Capasso, R., A. Evidente, et al. (1995). "Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters." *J Appl Bacteriol* 79(4): 393-398.

Cicerale, S., L. Lucas, et al. (2010). "Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil." *Int J Mol Sci* 11(2): 458-479.

Cuevas, A. M., V. Guasch, et al. (2000). "A high-fat diet induces and red wine counteracts endothelial dysfunction in human volunteers." *Lipids* 35(2): 143-148.

Dohadwala, M. M. and J. A. Vita (2009). "Grapes and cardiovascular disease." *J Nutr* 139(9): 1788S-1793S.

Flesch, M., A. Schwarz, et al. (1998). "Effects of red and white wine on endothelium-dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries." *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 275(4): H1183-H1190.

Freedman, J. E., C. Parker, et al. (2001). "Select Flavonoids and Whole Juice From Purple Grapes Inhibit Platelet Function and Enhance Nitric Oxide Release." *Circulation* 103(23): 2792-2798.

Geleijnse, J. M., L. J. Launer, et al. (2002). "Inverse association of tea and flavonoid intakes with incident myocardial infarction: the Rotterdam Study." *The American Journal of Clinical Nutrition* 75(5): 880-886.

Gonzalez-Santiago, M., E. Martin-Bautista, et al. (2006). "One-month administration of hydroxytyrosol, a phenolic antioxidant present in olive oil, to

hyperlipemic rabbits improves blood lipid profile, antioxidant status and reduces atherosclerosis development." *Atherosclerosis* 188(1): 35-42.

Goya L., R. Mateos, et al. (2007). "Effect of the olive oil phenol hydroxytyrosol on human hepatoma HepG2 cells. Protection against oxidative stress induced by tert-butylhydroperoxide." *Eur J Nutr* 46(2): 70-78.

Hertog Ml, K. D. A. C. and et al. (1995). "FLavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study." *Archives of Internal Medicine* 155(4): 381-386.

Ho, L., L. H. Chen, et al. (2009). "Heterogeneity in Red Wine Polyphenolic Contents Differentially Influences Alzheimer's Disease-type Neuropathology and Cognitive Deterioration." *Journal of Alzheimer's Disease* 16(1): 59-72.

Knekt, P., R. Jarvinen, et al. (1996). "Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study." *BMJ* 312(7029): 478-481.

Kris-Etherton, P. M., K. D. Hecker, et al. (2002). "Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer." *The American journal of medicine* 113(9): 71-88.

Leger, C. L., M. A. Carbonneau, et al. (2005). "A thromboxane effect of a hydroxytyrosol-rich olive oil wastewater extract in patients with uncomplicated type I diabetes." *Eur J Clin Nutr* 59(5): 727-730.

Leikert, J. F., T. R. Räthel, et al. (2002). "Red Wine Polyphenols Enhance Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression and Subsequent Nitric Oxide Release From Endothelial Cells." *Circulation* 106(13): 1614-1617.

Manna, C., S. D'Angelo, et al. (2002). "Protective effect of the phenolic fraction from virgin olive oils against oxidative stress in human cells." *J Agric Food Chem* 50(22): 6521-6526.

Manna, C., P. Galletti, et al. (1999). "Olive oil hydroxytyrosol protects human erythrocytes against oxidative damages." *J Nutr Biochem* 10(3): 159-165.

Ness, A. R. and J. W. Powles (1997). "Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review." *International Journal of Epidemiology* 26(1): 1-13.

Obied, H. K., P. D. Prenzler, et al. (2012). Chapter Six - Pharmacology of Olive Biophenols. *Advances in Molecular Toxicology*. C. F. James, Elsevier. Volume 6: 195-242.

Opie, L. H. and S. Lecour (2007). "The red wine hypothesis: from concepts to protective signalling molecules." *European Heart Journal* 28(14): 1683-1693.

- Papamichael, C., E. Karatzis, et al. (2004). "Red wine's antioxidants counteract acute endothelial dysfunction caused by cigarette smoking in healthy nonsmokers." *American heart journal* 147(2): 274.
- Pignatelli, P., A. Ghiselli, et al. (2006). "Polyphenols synergistically inhibit oxidative stress in subjects given red and white wine." *Atherosclerosis* 188(1): 77-83.
- Pignatelli, P., F. M. Pulcinelli, et al. (2000). "The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide." *The American Journal of Clinical Nutrition* 72(5): 1150-1155.
- Prieur, C., J. Rigaud, et al. (1994). "Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds." *Phytochemistry* 36(3): 781-784.
- Ramesh, B. N., T. S. S. Rao, et al. (2010). "Neuronutrition and Alzheimer's Disease." *Journal of Alzheimer's Disease* 19(4): 1123-1139.
- Ricardo da Silva, J. M., J. Rigaud, et al. (1991). "Procyanidin dimers and trimers from grape seeds." *Phytochemistry* 30(4): 1259-1264.
- Priora, R., D. Summa, et al. (2008). "Administration of minor polar compound-enriched extra virgin olive oil decreases platelet aggregation and the plasma concentration of reduced homocysteine in rats." *J Nutr* 138(1): 36-41.
- Rietjens, S. J., A. Bast, et al. (2007). "The olive oil antioxidant hydroxytyrosol efficiently protects against the oxidative stress-induced impairment of the NObullet response of isolated rat aorta." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292(4): H1931-1936.
- Schaffer, S., M. Podstawa, et al. (2007). "Hydroxytyrosol-rich olive mill wastewater extract protects brain cells in vitro and ex vivo." *J Agric Food Chem* 55(13): 5043-5049.
- Sparwel, J., M. Vantler, et al. (2009). "Differential effects of red and white wines on inhibition of the platelet-derived growth factor receptor: impact of the mash fermentation." *Cardiovascular Research* 81(4): 758-770.
- Stein, J. H., J. G. Keevil, et al. (1999). "Purple Grape Juice Improves Endothelial Function and Reduces the Susceptibility of LDL Cholesterol to Oxidation in Patients With Coronary Artery Disease." *Circulation* 100(10): 1050-1055.
- Thorngate, J. H. and V. L. Singleton (1994). "Localization of Procyanidins in Grape Seeds." *American Journal of Enology and Viticulture* 45(2): 259-262.

- Tafesh, A., N. Najami, et al. (2011). "Synergistic antibacterial effects of polyphenolic compounds from olive mill wastewater." *Evid Based Complement Alternat Med* 2011: 431021.
- Visioli, F., G. Bellomo, et al. (1995). "Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents." *Atherosclerosis* 117(1): 25-32.
- Visioli, F. and E. Bernardini (2011). "Extra virgin olive oil's polyphenols: biological activities." *Curr Pharm Des* 17(8): 786-804.
- Wallerath, T., G. Deckert, et al. (2002). "Resveratrol, a Polyphenolic Phytoalexin Present in Red Wine, Enhances Expression and Activity of Endothelial Nitric Oxide Synthase." *Circulation* 106(13): 1652-1658.
- Wang, J., L. Ho, et al. (2008). "Grape-Derived Polyphenolics Prevent A β Oligomerization and Attenuate Cognitive Deterioration in a Mouse Model of Alzheimer's Disease." *The Journal of Neuroscience* 28(25): 6388-6392.
- Wang, J., L. Ho, et al. (2006). "Moderate consumption of Cabernet Sauvignon attenuates A β neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease." *The FASEB Journal* 20(13): 2313-2320.
- Zhang, X., J. Cao, et al. (2009). "Hydroxytyrosol inhibits pro-inflammatory cytokines, iNOS, and COX-2 expression in human monocytic cells." *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 379(6): 581-586.
- Zern, T. L., R. J. Wood, et al. (2005). "Grape Polyphenols Exert a Cardioprotective Effect in Pre- and Postmenopausal Women by Lowering Plasma Lipids and Reducing Oxidative Stress." *J Nutr* 135(8): 1911-1917.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia la Genelab S.r.l. per l'apporto tecnico scientifico e sperimentale dato in tutte le attività che l'ha vista coinvolta nel progetto BIO-ENERGY SMART SOURCE SYSTEM.

ENEA
Servizio Promozione e Comunicazione
www.enea.it

Stampa: Laboratorio Tecnografico ENEA - C.R. Frascati
dicembre 2016