

## **“GUIDA ai COMPOSTI BIOATTIVI dai RESIDUI di LAVORAZIONE dell’UVA”**



Valutazione e divulgazione di strategie per l'estrazione di composti bioattivi dai  
residui dei processi di trasformazione di pomodoro, olive e uva  
(BIOACTIVE-NET)

**MANUALE BIOACTIVE-NET**

**MANUALE TASCABILE sui COMPOSTI BIOATTIVI dai RESIDUI di LAVORAZIONE dell’UVA**



Visita il nostro Sito Web: [www.bioactive-net.com](http://www.bioactive-net.com)

© BIOACTIVE-NET



**GUIDA ai COMPOSTI BIOATTIVI dai  
RESIDUI di LAVORAZIONE dell'UVA**





## **GUIDA ai COMPOSTI BIOATTIVI dai RESIDUI di LAVORAZIONE dell'UVA**

---

L'obiettivo di questa guida è fornire una panoramica sui composti bioattivi presenti nei residui di lavorazione delle uve, sulle tecniche di estrazione e le possibilità di impiego nell'industria alimentare e cosmetica.

Il manuale Bioactive-net è una raccolta di tre guide pratiche dedicate ad altrettanti tipi di sottoprodotti dell'industria agro-alimentare oggetto del progetto BIOACTIVE-NET. Obiettivo di questo progetto è riunire le principali conoscenze e tecnologie relative ai composti bioattivi presenti nei residui di lavorazione di pomodoro, olive ed uva, alle tecniche di estrazione, ai campi di applicazione ed alla fattibilità economica di estrazione, e renderle accessibili al pubblico.

Questa pubblicazione è stata realizzata con il contributo della Commissione Europea, priorità 5 (qualità e sicurezza alimentare): contratto n° FOOD-CT-2006-43035, Azione di Sostegno Specifico (SSA) "Assessment and dissemination of strategies for the extraction of bioactive compounds from tomato, olive and grape processing residues". Questo non riflette necessariamente il punto di vista della Commissione ed in alcun modo anticipa la futura linea politica della Commissione per questa area.

Inoltre, BIOACTIVE-NET prevede seminari divulgativi indirizzati alle industrie di trasformazione del pomodoro, ai produttori di olio d'oliva (frantoi) ed ai produttori di vino dei Paesi del Sud Europa. Il manuale Bioactive-net costituisce una parte fondamentale dell'azione di divulgazione e sarà disponibile sul sito web del progetto.

[www.bioactive-net.com](http://www.bioactive-net.com)

## BIOACTIVE-NET

Il progetto BIOACTIVE-NET è un'Azione di Sostegno Specifico (SSA) sostenuta dalla Commissione Europea nell'ambito del 6° Programma Quadro.

L'obiettivo primario del progetto Bioactive-net è quello di valutare e, conseguentemente, rendere accessibili alle piccole e medie imprese di trasformazione, le strategie esistenti per l'estrazione di composti bioattivi dai residui di lavorazione di pomodoro, olive e uva e quindi di permettere:

- La creazione di un'ampia piattaforma di informazioni riguardanti l'estrazione di composti bioattivi dai residui di trasformazione di pomodori, olive ed uva, nonché le loro possibilità di applicazione nell'industria alimentare e cosmetica.
- L'attivazione di specifici seminari nei paesi del Sud Europa (Spagna, Italia, Grecia e Francia) finalizzati a trasferire le conoscenze e le valutazioni di fattibilità economica dell'estrazione dei composti bioattivi alle aziende produttrici di residui (piccole e medie imprese), ai fornitori di tecnologie, alle industrie di estrazione dei residui ed agli utilizzatori finali dei rispettivi ingredienti naturali.
- Consolidamento del mercato europeo degli ingredienti naturali, che ha un enorme potenziale economico dovuto all'elevata disponibilità di materia prima di scarto.
- Incremento della competitività delle industrie alimentari europee stimolando la richiesta di composti bioattivi derivanti da residui dei processi di trasformazione naturali, rinnovabili ed economici.
- Incremento dell'impiego di composti bioattivi nella dieta alimentare europea.

### Dettagli del progetto:

Tipo di strumento: Azione di Sostegno Specifico (SSA)

Priorità 5: Qualità e sicurezza alimentare

Numero del progetto: 043035

Durata del progetto: 2 anni (01.11.2006 – 31.10.2008)

## BIOACTIVE-NET: Unità operative coinvolte

- Coordinatore del progetto: ttz Bremerhaven (Germania)



- ainia centro tecnológico (Spagna)



- CCAE - Confederación de Cooperativas Agrarias de España (Spagna)



- AMITOM - Mediterranean International Association of the Processing Tomato (Francia)



- Vignaioli Piemontesi S.C.A (Italia)



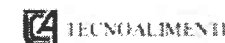
- Union of Agricultural Cooperatives in Peza (Grecia)



- ANFOVI - L'organisme de formation des Vignerons Indépendants (Francia)



- Tecnoalimenti S.C.p.A. (Italia)



Questa guida è stata sviluppata da Elvira Casas (ainia), Marianna Faraldi (Tecnoalimenti) e Marie Bildstein (ttz Bremerhaven) per essere inclusa nel manuale Bioactive-net manual.

e-mail a: mbildstein@ttz-bremerhaven.de

© BIOACTIVE-NET

# INDICE

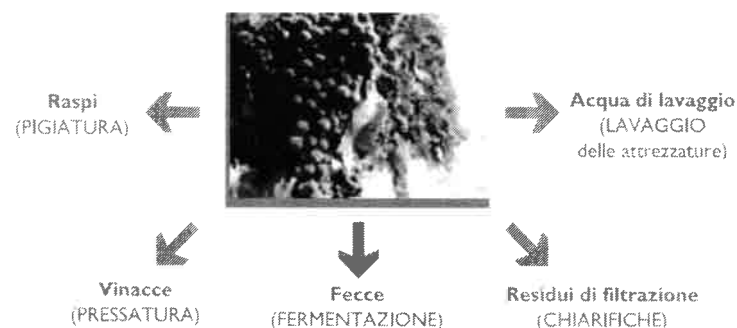
|          |                                                                                                                                   |    |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1</b> | Introduzione.....                                                                                                                 | 8  |
| <b>2</b> | Composti bioattivi nei residui di lavorazione dell'uva.....                                                                       | 9  |
| 2.1.     | Polifenoli dell'uva.....                                                                                                          | 9  |
| 2.2.     | Resveratrolo.....                                                                                                                 | 10 |
| 2.3.     | Antocianine.....                                                                                                                  | 11 |
| 2.4.     | Proantocianidine.....                                                                                                             | 12 |
| 2.5.     | Quercetina.....                                                                                                                   | 13 |
| 2.6.     | Olio di vinaccioli.....                                                                                                           | 14 |
| <b>3</b> | Le migliori tecnologie disponibili per estrazione e purificazione di composti bioattivi dai processi di lavorazione dell'uva..... | 14 |
| 3.1.     | Pre-trattamento dei residui di lavorazione dell'uva.....                                                                          | 14 |
| 3.1.1.   | Essiccatore a vassoi.....                                                                                                         | 15 |
| 3.1.2.   | Essiccatore a tamburo.....                                                                                                        | 15 |
| 3.1.3.   | Essiccatore a letto fluido.....                                                                                                   | 16 |
| 3.1.4.   | Frantumazione ed omogeneizzazione dei residui di lavorazione dell'uva.....                                                        | 17 |
| 3.2.     | Estrazione dei residui di lavorazione dell'uva disidratati ed omogeneizzati.....                                                  | 18 |
| 3.2.1.   | Estrazione con solvente.....                                                                                                      | 18 |
| 3.2.2.   | Estrazione con Fluido in fase Supercritica (SFE): estrazione con CO <sub>2</sub> supercritica.....                                | 20 |
| 3.3.     | Purificazione degli estratti.....                                                                                                 | 21 |
| 3.3.1.   | Tecniche cromatografiche.....                                                                                                     | 21 |
| 3.3.2.   | Tecniche di filtrazione mediante membrane.....                                                                                    | 25 |
| 3.3.3.   | Cristallizzazione.....                                                                                                            | 26 |
| 3.4.     | Essiccazione degli estratti bioattivi purificati.....                                                                             | 27 |
| 3.4.1.   | Liofilizzazione (freeze-drying).....                                                                                              | 27 |
| 3.4.2.   | Essiccatori spray.....                                                                                                            | 28 |
| 3.4.3.   | Essiccatore rotativo sotto vuoto.....                                                                                             | 29 |

|          |                                                                                                                         |    |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>4</b> | Campi di applicazione per composti bioattivi nei prodotti alimentari e cosmetici.....                                   | 30 |
| 4.1.     | Legislazione.....                                                                                                       | 30 |
| 4.2.     | Polifenoli dell'uva.....                                                                                                | 30 |
| 4.3.     | Resveratrolo.....                                                                                                       | 31 |
| 4.4.     | Antocianine.....                                                                                                        | 32 |
| 4.5.     | Proantocianidine.....                                                                                                   | 32 |
| 4.6.     | Quercetina.....                                                                                                         | 33 |
| 4.7.     | Olio di vinaccioli.....                                                                                                 | 33 |
| 4.8.     | Mercati esistenti e potenziali per ingredienti naturali derivati dai residui di lavorazione dell'uva.....               | 34 |
| <b>5</b> | Valutazione della fattibilità economica per l'estrazione di composti bioattivi dai residui di lavorazione dell'uva..... | 35 |
| 5.1.     | Estrazione di composti bioattivi dai residui di lavorazione dell'uva.....                                               | 36 |
| 5.1.1.   | Ipotesi Minima.....                                                                                                     | 36 |
| 5.1.2.   | Ipotesi Intermedia.....                                                                                                 | 38 |
| 5.1.3.   | Ipotesi Massima.....                                                                                                    | 38 |
| 5.2.     | Analisi economica dell'estrazione dei composti bioattivi dai residui di lavorazione dell'uva.....                       | 39 |
| 5.2.1.   | Estrazione di olio contenente polifenoli e fibre d'uva.....                                                             | 39 |
| 5.2.2.   | Estrazione di polifenoli in polvere e fibre d'uva.....                                                                  | 43 |
| 5.3.     | Profitto annuo e punto di pareggio.....                                                                                 | 45 |
| <b>6</b> | Bibliografia.....                                                                                                       | 46 |
| <b>7</b> | Ringraziamenti.....                                                                                                     | 47 |
| <b>8</b> | Altri progetti collegati.....                                                                                           | 47 |
| <b>9</b> | Link utili.....                                                                                                         | 48 |

## I. INTRODUZIONE

Secondo l'OIV ("Organizzazione Internazionale della vite e del vino"), nel 2004 la produzione mondiale di vino ammontava a circa 290 milioni di ettolitri. Nel 2005, le industrie enologiche francese ed italiana trasformavano più di 7 milioni di tonnellate di uva ciascuna per produrre vino con una resa media del 60-70%. I produttori di vino spagnoli vinificano circa 4,5 milioni di tonnellate d'uva/anno.

Durante i processi di vinificazione viene prodotto un notevole volume di residui solidi. I residui rappresentano approssimativamente il 20% di materia secca dell'uva raccolta.



Con la pressatura di 100 kg d'uva si producono circa 25 kg di vinacce. Il 50% delle vinacce è costituito dalle bucce, il 25% dai raspi ed il restante 25% dai vinaccioli.

Seguendo la legislazione generale dell'Unione Europea sui rifiuti (Direttiva 2006/12/CE), gli stati membri devono adottare le misure necessarie per assicurare che gli scarti siano smaltiti o riciclati senza mettere a rischio la salute umana e senza usare processi o metodi dannosi per l'ambiente.

Le aziende vinicole del Sud Europa, in base al regolamento CE 1493/99, sono obbligate a conferire gli scarti (vinacce e fecce) alle distillerie, dove le ulteriori forme di trasformazione sono produzione di alcool per distillazione ed estrazione di olio di vinaccioli, seguite dall'incenerimento dei residui solidi finale. Nel 2008 è prevista una riforma comunitaria del settore vitivinicolo con possibili effetti sulla distillazione obbligatoria.

Comunemente i residui di lavorazione dell'uva vengono anche smaltiti attraverso distribuzione sul terreno, impiegati per l'alimentazione animale, distrutti o utilizzati per

la produzione di biomasse o compostaggio. Il valore commerciale dei residui dell'uva dipende dall'umidità, dalla presenza dei raspi e dal quantitativo di zuccheri e alcool.

E' possibile creare un valore aggiunto per le aziende dai residui di lavorazione dell'uva? Si possono ottenere benefici per la salute dai residui dell'uva? Piccoli produttori vinicoli distribuiscono gli scarti nei vigneti come fertilizzanti per sfruttare il loro contenuto minerale. Le vinacce contengono quantità importanti di sostanze che hanno effetti benefici sulla salute quali fibre (17-21%), tannini (16-27%) e altri composti polifenolici (2-6.5%), grassi (7-12%), zuccheri (3%) e sali dell'acido tartarico. In particolare i polifenoli (principalmente acido ellagico e quercetina) e il resveratrolo hanno importanza rilevante per le loro proprietà antiossidanti e di riduzione dei radicali liberi (Amico et al., 2004). In conclusione l'utilizzo dei residui di lavorazione dell'uva come materia prima per la produzione di composti bioattivi può costituire un'interessante alternativa.

## 2. COMPOSTI BIOATTIVI nei residui di lavorazione dell'uva

I principali composti bioattivi estraibili dai processi di trasformazione dell'uva sono polifenoli e più specificatamente Resveratrolo, Antocianine, Procianidine, Quercetine e Catechine e olio di vinaccioli.

### 2.1. Polifenoli dell'uva

#### Descrizione

I polifenoli sono un gruppo di sostanze chimiche ampiamente diffuse nel mondo vegetale, caratterizzati dalla presenza di più di un gruppo fenolico per molecola. I polifenoli sono generalmente suddivisi in tannini e fenilpropanoidi quali lignina e flavonoidi. La chimica dei tannini trae origine dall'importanza dell'impiego dell'acido tannico (una forma commerciale di tannini) nell'industria delle pelli (in inglese tanning industry, da cui ne deriva il nome); delle lignine per la chimica del suolo e per la struttura delle piante; dei flavonoidi per la chimica dei metaboliti secondari per la difesa delle piante, e per i colori dei fiori (ad esempio dalle antocianine).

Fonti rilevanti di polifenoli sono la frutta a bacca, tè, birra, vino, olio d'oliva, cacao/ cioccolato, noci, arachidi, erba mate, altri frutti e vegetali. Elevati livelli di polifenoli si trovano generalmente nelle bucce della frutta. Esistono più di duecento tipi di polifenoli nel vino rosso.

### Effetti metabolici conosciuti

Studi scientifici hanno dimostrato che i polifenoli possono avere caratteristiche antiossidanti con potenziali effetti benefici per la salute. Possono ridurre il rischio di malattie cardiovascolari e di cancro. I polifenoli sono anche stati studiati come fonte addizionale di beneficio nei prodotti biologici, senza arrivare ancora ad evidenze conclusive. I polifenoli possono legare il ferro non-eme, la forma meno assorbibile del ferro (il 60% circa del ferro contenuto nella carne ed il 100% del ferro contenuto nei cibi di origine vegetale, nel latte e nei suoi derivati è in questa forma) e diminuirne ulteriormente l'assorbimento nel corpo. La dose giornaliera consigliata di polifenoli del vino rosso è da 100 a 300mg, che corrisponde a circa due bicchieri di vino rosso al giorno.

## 2.2. Resveratrolo

### Descrizione

Il resveratrolo è una fitoalessina (composto fungitossico) prodotta da numerose piante venduta come integratore alimentare. Il resveratrolo si trova nella buccia delle uve rosse ed è uno dei costituenti del vino rosso, ma in base all'estrapolazione da test su animali il livello medio di resveratrolo nel vino non sembra sufficiente per giustificare il "paradosso francese" secondo cui l'incidenza di malattie cardiovascolari è relativamente basso nella Francia meridionale nonostante l'abbondante uso nell'alimentazione di grassi saturi.

Come già detto, il resveratrolo è prodotto da diverse piante, probabilmente per le sue proprietà antifungine. E' uno dei più importanti polifenoli dell'uva noto per le sue proprietà salutari. Il resveratrolo naturale può essere estratto dall'uva e dal vino rosso ma anche dalle radici.

### Effetti metabolici conosciuti

Numerosi effetti benefici per la salute, quali effetti anti-cancro, antivirale, neuroprotettivo, anti-età, anti-infiammatorio e "allunga-vita" sono stati riscontrati in specie animali (es. ratti).

Il resveratrolo si è rivelato efficace contro disfunzioni e morte precoce delle cellule nervose, e in teoria potrebbe aiutare contro malattie quali il morbo di Huntington<sup>1</sup> e il morbo di Alzheimer<sup>2</sup>. Anche in questo caso, il resveratrolo non è ancora stato testato sull'uomo per nessuna malattia.

Esperimenti effettuati ad Harvard nel laboratorio di David Sinclair (Biologo) pubblicati nel 2003 dalla rivista Nature hanno dimostrato che il resveratrolo

prolunga significativamente la durata media di vita del lievito *Saccharomyces cerevisiae*<sup>3</sup>. Il dottor Sinclair allora fondò la Sirtris Pharmaceuticals per commercializzare il resveratrolo e i relativi composti come farmaco anti-età.

Tuttavia, la quantità media di resveratrolo presente in qualsiasi vino, compresi vini fatti con ibridi americani, è trascurabile rispetto alla quantità che in teoria servirebbe per ottenere effetti benefici sulla salute: 1-10 milligrammi per litro di vino contro centinaia di migliaia di milligrammi al giorno.

### Quantità di molecole estraibili

La quantità di resveratrolo nelle sostanze alimentari varia enormemente. I vini rossi comunemente ottenuti da viti europee contengono da 0.2 a 5.8 mg/L di resveratrolo, a seconda della varietà di uva, mentre i vini bianchi ne contengono molto meno – ciò è dovuto al fatto che il vino rosso fermenta con le bucce, permettendo al vino di assorbire il resveratrolo, mentre il vino bianco fermenta dopo che le bucce sono state eliminate. I vini prodotti da ibridi americani, sia rossi che bianchi, possono contenere più di 40 mg/L. Le bucce fresche di uva contengono da 50 a 100 microgrammi di resveratrolo per grammo.

## 2.3. Antocianine

### Descrizione

Le antocianine sono pigmenti flavonoidi vacuolari solubili in acqua, di colore rosso o blu a seconda del pH. Sono sintetizzate da organismi del regno vegetale e da batteri, e si trovano in tutti i tessuti delle piante superiori, e sono responsabili della colorazione di foglie, gemme, radici, fiori e frutti.

### Effetti metabolici conosciuti

Oltre al loro ruolo di regolatori di luce, le antocianine agiscono come potenti anti-ossidanti, aiutando a proteggere la pianta dai radicali formati per azione della luce UV e durante i processi metabolici. La proprietà anti-ossidante si mantiene anche dopo il loro consumo da parte di un altro organismo, il che fornisce un'ulteriore spiegazione del perché frutti e vegetali con la buccia rossa sono un'eccellente fonte nutrizionale. Inoltre, le antocianine esplicano importanti effetti anticancerogeni.

[1] Parker JA, Arango M, Abderrahmane S, Lambert E, Tourette C, Catoire H, Néri C. Resveratrol rescues mutant polyglutamine cytotoxicity in *C. elegans* and mammalian neurons. *Nature Genetics* 2005 ; 4 : 349-50.

[2] Philippe Marambaud, Study of Alzheimers Disease and Memory Disorders. *Journal of Biological Chemistry* 2005 ; November 11.

[3] Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, Zipkin RE, Chung P, Kisilewski A, Zhang LL, Scherer B, Sinclair DA. "Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan". *Nature*. 2003 Sep 11;425(6954):191-6. Epub 2003 Aug 24.

#### Quantità di molecole estraibili

Mentre si possono estrarre da 30 a 75mg di antocianine da 100g di uva rossa, se ne possono estrarre circa 24 / 35mg da 100g di vino rosso.

### 2.4. Proantocianidine

#### Descrizione

Le proantocianidine, conosciute anche come proantocianidine oligomeriche (OPC), sono una classe di flavonoidi. Furono scoperte nel 1936 dal professor Jacques Masquelier, che fu il primo a sviluppare le tecniche di estrazione delle proantocianidine da certe specie vegetali. I flavonoidi sono composti essenziali, in quanto il corpo umano non è capace di produrli, ma ne ha bisogno per sopravvivere. Si trovano in diverse piante e vengono chiamati "sostanza vegetale secondaria". A causa delle non corrette abitudini alimentari di oggi, la maggior parte delle persone non ne assume quantità sufficienti.

Le proantocianidine si possono trovare in molte piante, soprattutto nella corteccia del pino, nei vinaccioli, nella buccia dell'uva, e nei vini rossi. Dal momento che elevate concentrazioni di OPC si ritrovano solo in alcune parti di piante quali corteccia, semi e bucce, è praticamente impossibile ottenere la quantità necessaria di OPC dalla nostra dieta quotidiana.

In particolare i vinaccioli, che contengono elevate quantità di OPC, sono presenti raramente nell'alimentazione, in quanto nella maggior parte dei negozi oggi si vende uva senza semi. Anche gli effetti benefici del vino rosso (Paradosso Francese) sono riconducibili al suo contenuto di OPC. Ma neanche bere vino quotidianamente sarebbe sufficiente a fornirci la quantità necessaria di OPC, in quanto dovremmo berne 2 litri ogni giorno.

#### Effetti metabolici conosciuti

Le OPC sono un potente antiossidante, in grado di ridurre i radicali liberi all'interno dell'organismo. I radicali liberi sono prodotti dal normale metabolismo dell'ossigeno, così come dall'esposizione al sole, ad agenti chimici, nicotina, alcool, batteri, parassiti, alcuni acidi grassi e molte altre sostanze. I radicali liberi distruggono la membrana cellulare, danneggiano il collagene e altri tessuti connettivi, interrompono importanti processi fisiologici e creano mutazioni nel DNA delle cellule. Collagene and elastina sono le cosiddette proteine del tessuto connettivo. Con l'età questi tessuti si ossidano, diventano rugosi e rigidi e perdono la loro elasticità. In combinazione con la vitamina C, le OPC creano un ambiente favorevole per la biosintesi di nuovo collagene ed elastina. Gli effetti antiossidanti delle OPC e la loro affinità con i

tessuti connettivi sono i motivi che ne giustificano l'utilizzo. La stabilizzazione di collagene ed elastina rende la nostra pelle giovane e liscia.

Studi sperimentali hanno recentemente scoperto che l'ossidazione del colesterolo LDL è uno dei principali responsabili dell'indurimento delle arterie e di malattie cardiache. Le OPC si sono rivelate antiossidanti molto efficaci e per questo diversi i medici prescrivono, prodotti a base di OPC nella cura delle malattie vascolari.

Altri studi sperimentali hanno dimostrato che le OPC sono in grado di ridurre l'attività tumorale. Tuttavia, gli antiossidanti non possono essere considerati come una cura contro il cancro! Hanno piuttosto effetti preventivi e fortificano il nostro sistema immunitario bilanciando la nostra dieta quotidiana. Diversi studi sperimentali hanno dimostrato che i vegetali hanno un'importante funzione di prevenzione contro il cancro. Questo effetto positivo viene spiegato dalla presenza di sostanze vegetali secondarie come ad esempio il gruppo di flavonoidi a cui le OPC appartengono.

Si ritiene che il dosaggio ideale di OPC sia da 1 a 3mg di OPC per kg di peso corporeo al giorno.

#### Quantità di molecole estraibili

Si possono estrarre 84mg di OPC da 100g di vinaccioli di Pinot nero essiccati.

### 2.5. Quercetina

#### Descrizione

La quercetina è un flavonoide e più specificatamente un flavonolo. In molti studi la quercetina è risultata il più attivo dei flavonoidi in studio, e molte piante medicinali devono gran parte della loro attività al loro elevato contenuto in quercetina.

#### Effetti metabolici conosciuti

La quercetina ha dimostrato significativa attività anti-infiammatoria in quanto inibisce l'inizio di molti processi infiammatori. Ad esempio inibisce sia la produzione, sia il rilascio di istamina e di altri mediatori allergico/infiammatori. Inoltre, esercita una potente attività antiossidante ed un'azione protettiva nei confronti della vitamina C.

La quercetina può avere effetti positivi nel combattere o nell'aiutare a prevenire il cancro, prostatiti, malattie cardiache, cataratta, allergie/infiammazioni, e malattie di tipo respiratorio quali bronchite o asma.

## 2.6. Olio di vinaccioli

### Descrizione

L'olio di vinaccioli (anche chiamato olio di semi d'uva) è un olio vegetale spremuto a freddo dai semi di diverse varietà d'uva di *Vitis vinifera*, ricco di antiossidanti, un abbondante sotto-prodotto della vinificazione.

### Effetti metabolici conosciuti

I risultati di diversi studi indicano che i vinaccioli possono essere utili nell'alleviare un certo numero di disturbi incluse difficoltà visive, insufficienza cronica vascolare, gonfiore da disturbi linfatici, vene varicose, cancro, sindrome premestruale, carie dentale e vari disturbi circolatori.

## 3. LE MIGLIORI TECNOLOGIE DISPONIBILI per estrazione e purificazione di composti BIOATTIVI dai processi di lavorazione dell'uva

Per estrarre i composti bioattivi dai residui di lavorazione dell'uva si devono seguire diverse fasi:

- Pre-trattamento dei residui di lavorazione dell'uva.
- Estrazione da residui disidratati ed omogeneizzati.
- Purificazione degli estratti.
- Essiccazione degli estratti purificati.

### 3.1. Pre-trattamento dei residui di lavorazione dell'uva

I residui di lavorazione dell'uva contengono, in genere, molta acqua. In funzione dei processi di estrazione utilizzati può risultare necessario o meno eliminare l'acqua prima dell'estrazione. Per l'estrazione con fluido in fase supercritica, per esempio, è necessario allontanare l'acqua dai residui. Oltretutto, la disidratazione dei residui dell'uva facilita il trasporto e lo

stoccaggio dei residui ricchi di composti bioattivi. Per realizzare una estrazione efficiente è anche necessario sminuzzare i residui disidratati per garantire una omogenea alimentazione dell'estrattore e massimizzare la superficie di estrazione a parità di massa.

Diverse tecniche e tipologie di impianti possono essere utilizzati per trattare i residui di lavorazione dell'uva. Alcune delle tecniche più usate di disidratazione e di macinazione vengono di seguito presentate.

#### 3.1.1. Essiccatore a vassoi

I residui dell'uva sono disposti sui vassoi in sottili strati, all'interno di una camera (armadio in gergo tecnico) connessa con una fonte di aria riscaldata con gas, gasolio o biomasse (il riscaldamento dell'aria serve a ridurre l'umidità relativa dell'aria ed aumentarne, quindi, la capacità disidratante). Esistono diverse tipologie di essiccatori a vassoi: discontinui (Batch), semi-continui, a flusso incrociato (in relazione al movimento dell'aria calda all'interno della camera).

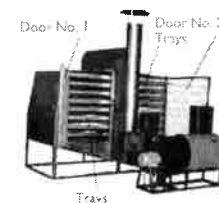


Figura 1: Essiccatore a vassoi.

#### 3.1.2. Essiccatore a tamburo

I residui dell'uva vengono distribuiti sulla superficie di un tamburo riscaldato. Il tamburo ruota ed i residui restano sulla superficie del tamburo per la maggior parte della rotazione, mentre avviene la disidratazione. Il prodotto disidratato viene poi raschiato dalla superficie. L'essiccatore rotativo è particolarmente adatto a prodotti spalmabili o semifluidi, quindi in genere poco utilizzabile per raspi e vinacce d'uva.

La tabella seguente confronta i processi di essiccazione a vassoi ed a tamburo usati con i residui di lavorazione dell'uva:

| Tecnica               | Investimento iniziale | Consumo di energia | Semplicità dell'operazione | Tempo di disidratazione |
|-----------------------|-----------------------|--------------------|----------------------------|-------------------------|
| Essiccatore a vassoi  | +                     | +                  | facile                     | lungo                   |
| Essiccatore a tamburo | ++                    | ++                 | facile                     | lugo                    |

### 3.1.3. Essiccatore a letto fluido

In questa tipologia di essiccatore, la velocità dell'aria è regolata in modo da mantenere in agitazione le particelle del materiale da disidratare. Le particelle in movimento simulano il comportamento di un fluido pur essendo un solido, e questo migliora il contatto tra superficie da disidratare ed aria calda, riducendo i tempi di lavoro e garantendo una omogenea disidratazione.

L'essiccatore è composto da:

- Una camera superiore fluidizzante.
- Una camera inferiore di distribuzione dell'aria.
- Una speciale piastra perforata opportunamente progettata sulla quale viene caricato il prodotto.

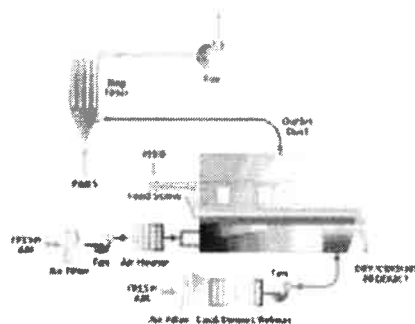


Figura 2: Processo di essiccazione a letto fluido.

### 3.1.4. Frantumazione ed omogeneizzazione dei residui di lavorazione dell'uva

Generalmente è necessario ridurre le dimensioni delle particelle (attraverso macinatura) e miscelare i residui attraverso un processo di omogeneizzazione al fine di migliorare l'efficienza dei processi di estrazione.

#### Frantumazione dei residui disidratati di lavorazione dell'uva

La macinatura viene utilizzata per trasformare il materiale grossolanamente spezzettato in particelle più minute. Una possibile tecnica per il pre-trattamento dei residui di lavorazione dell'uva è il mulino a martelli.

Un mulino a martelli è essenzialmente un tamburo d'acciaio contenente un rotore verticale oppure orizzontale a forma di croce sul quale sono montati dei martelli rotanti (vedi figura 3). I martelli sono liberi di oscillare sulla fine della croce. Il rotore viene fatto girare ad alta velocità all'interno del tamburo mentre il materiale viene caricato all'interno attraverso una tramoggia. Il materiale viene colpito dai martelli alla fine della croce rotante e di conseguenza viene sminuzzato ed espulso attraverso una griglia nel tamburo.



Figura 3: Mulino a martelli.

#### Omogeneizzazione dei residui disidratati della lavorazione dell'uva

L'omogeneizzazione è un processo che produce una miscela omogenea dell'intera sostanza. Un semplice schema di omogeneizzatore per il pre-trattamento dei residui di lavorazione dell'uva viene mostrato nella seguente figura. Per omogeneizzare un prodotto secco e macinato, è sufficiente una appropriata fase di miscelazione.

### 3.2. Estrazione dei residui di lavorazione dell'uva disidratati ed omogeneizzati

L'estrazione consiste nella separazione di una o più sostanze da una matrice solida o liquida, in virtù della differente solubilità relativa delle sostanze che si vogliono estrarre in un dato solvente, rispetto agli altri componenti della matrice. In altre parole, l'estrazione funziona in accordo con il principio che i componenti solubili possono essere separati da quelli insolubili o da quelli meno solubili, facendoli sciogliere in un solvente idoneo. I materiali grezzi utilizzabili per l'estrazione possono contenere solo solidi, solidi ed una soluzione, oppure solidi ed un liquido.

#### 3.2.1. Estrazione con solvente

##### Estrazione convenzionale solido-liquido

Questa tecnica implica il contatto della matrice vegetale solida con un solvente liquido. La scelta del solvente sarà determinata dalle proprietà chimiche e fisiche delle sostanze da estrarre, quali la polarità. Anche la scelta della temperatura di lavoro dipenderà dal tipo di sostanza da estrarre, in quanto l'innalzamento della temperatura favorisce l'estrazione ma deve essere compatibile con la stabilità termica delle sostanze estratte. La premacinazione della matrice vegetale aumenta la superficie di contatto solido/solvente a parità di massa e, quindi, incrementa la resa di estrazione.

Questo processo viene comunemente usato nell'industria alimentare ad esempio per estrarre oli o lo zucchero dalla barbabietola. Dal momento che generalmente rimangono tracce del solvente usato nel prodotto estratto, nel caso di estratti destinati all'alimentazione animale è preferibile cercare di usare solventi non tossici. Diversi studi hanno dimostrato la fattibilità di utilizzare miscele acquose di etanolo per l'estrazione di composti fenolici da vinacce d'uva. In ogni caso, l'estrazione con solvente richiede delle operazioni successive di purificazione degli estratti, quali filtrazione e centrifugazione.

Nell'estrazione con solvente assistita con microonde o ultrasuoni, l'utilizzo di microonde o ultrasuoni può portare a maggiori rese di estrazione, minore consumo di solvente o ridotti tempi di lavoro.

##### Estrazione assistita con ultrasuoni

Le onde sonore con frequenze maggiori di 20 kHz possono aumentare il rendimento di estrazione del materiale vegetale perché inducono espansioni e

compressioni alternate della materia, portando a rottura delle pareti cellulari, riduzione delle dimensioni delle particelle, e miglioramento del trasferimento di massa del contenuto cellulare nel solvente causato dal collasso delle bolle formate per cavitazione.

Il principale parametro di controllo dell'estrazione assistita con ultrasuoni è la frequenza, perché piccoli cambiamenti di questo parametro possono produrre notevoli effetti sul rendimento di estrazione.

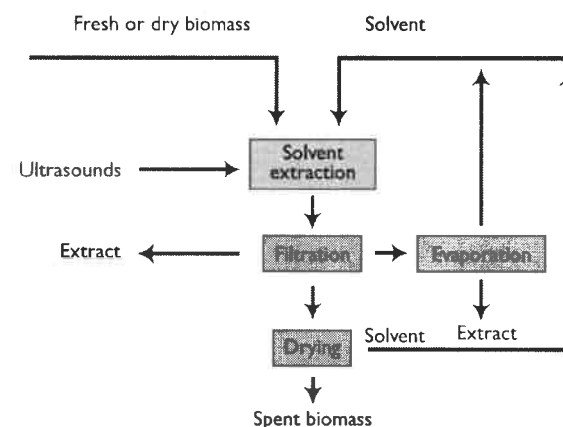


Figura 4: Diagramma del processo di estrazione assistita con ultrasuoni.

L'estrazione con ultrasuoni è stata utilizzata per estrarre integratori o ingredienti farmaceutici come oli essenziali, lipidi, antiossidanti, steroidi e terpeni. Produce condizioni di estrazione più "dolci" se comparate con la tradizionale estrazione con solventi, tanto da essere raccomandabile per l'estrazione di sostanze termolabili.

##### Estrazione assistita con Microonde (MAE)

Le microonde sono onde elettromagnetiche che interagiscono con la materia, in particolare con le molecole polari, generando calore. Esse possono quindi penetrare acqua e matrici biologiche riscaldando tutta la massa in modo omogeneo. La radiazione produce un forte riscaldamento dell'acqua nelle cellule vegetali, causando la rottura della parete cellulare e facilitando il trasferimento delle sostanze di interesse nel solvente esterno e la penetrazione del solvente nella matrice vegetale. Le microonde possono quindi incrementare l'efficienza di estrazione dei composti nutrizionali e farmaceutici. Il volume dei solventi necessari

ed il tempo di estrazione risultano ridotti. La potenza delle microonde ed i tempi di trattamento vanno opportunamente scelti tenendo conto delle temperature raggiunte nel caso di estrazione di molecole tremolabili.

L'efficacia della MAE dipende fortemente dalla polarità del solvente, dalle dimensioni delle particelle e dalla distribuzione del materiale vegetale. Può essere adottata per estrarre composti polari, ma non è utilizzabile per materiali secchi o per matrici troppo umide se si impiegano solventi non polari (sono utilizzabili acqua, metanolo ed etanolo).

#### Estrazione accelerata con solvente (ASE)

L'estrazione accelerata con solvente è un tipo di estrazione solido-liquido condotta ad elevate temperature (che favoriscono la diffusione del solvente accelerando l'estrazione) ed elevate pressioni (per mantenere il solvente in fase liquida), al di sotto del punto critico del solvente. Molti solventi utilizzati nell'estrazione convenzionale solido-liquido sono impiegati anche per l'ASE (inclusa l'acqua) per estrarre composti polari dal materiale vegetale.

#### 3.2.2. Estrazione con Fluido in fase Supercritica (SFE): estrazione con CO<sub>2</sub> supercritica

Lo stato supercritico di un fluido viene raggiunto portandolo a valori di temperatura e pressione superiori a quelli del suo punto critico. I fluidi supercritici presentano le caratteristiche sia dei gas che dei liquidi il che li rende particolarmente adatti ai processi di estrazione.

I fluidi supercritici hanno maggiori coefficienti di diffusione e minore viscosità e tensione superficiale rispetto ai solventi convenzionali. La capacità di solubilizzazione dei fluidi supercritici dipende dalla loro densità, tanto che la selettività di estrazione può essere cambiata variando la temperatura e/o pressione di estrazione. Dopo l'estrazione vera e propria la pressione o la temperatura vengono ridotte, in modo che la solubilità dell'estratto possa decrescere e questo possa essere separato.

Il solvente più usato è la CO<sub>2</sub>, che è economica, sicura, non tossica (non lascia residui nell'estratto) e le sue condizioni supercritiche possono essere raggiunte facilmente (31.1°C e 71.3 atm). È utilizzabile per le sostanze termolabili in quanto la temperatura del punto critico è di 31.1°C, ma in fase supercritica è selettiva verso composti apolari o debolmente polari, per cui è necessario aggiungere dei co-solventi (etanolo ed acqua sono i co-solventi usati nell'industria alimentare) per potere estrarre anche i composti polari, come nel caso dei polifenoli dalle bucce dell'uva o dai raspi.

La tabella seguente confronta le differenti tecniche di estrazione proposte.

| Metodo di estrazione | Composti estratti                     | Tolleranza di umidità | Necessità di purificare gli estratti |
|----------------------|---------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| Convenzionale        | Polari & Non-polari                   | +                     | Alta                                 |
| Ultrasuoni           | Polari & Non-polari                   | +                     | Alta                                 |
| Microonde            | Polari                                | +                     | Alta                                 |
| SC-CO <sub>2</sub>   | Non-polari (& Polari con co-solventi) | =                     | Bassa                                |
| Accelerata           | Polari                                | ++                    | Medio-alta                           |

### 3.3 Purificazione degli estratti

Dopo i processi di estrazione, al fine di ottenere il prodotto biologico con le caratteristiche finali desiderate è necessario separarlo dalle impurità, tramite una fase di purificazione. Lo scopo della purificazione è ottenere le molecole desiderate allo stato sufficientemente puro nel più breve tempo possibile.

#### 3.3.1. Tecniche cromatografiche

La cromatografia è un processo di purificazione molto particolare, perché può separare con grande precisione miscele complesse (anche composti molto simili tra loro possono essere separati). Infatti, la cromatografia può, in principio, purificare qualsiasi sostanza solubile o volatile. Può essere utilizzata per separare anche sostanze delicate perché le condizioni non sono estreme. Per queste ragioni, può essere impiegata per separare miscele di composti bioattivi dell'uva.

Un altro vantaggio di queste tecniche è che i composti separati sono immediatamente disponibili per essere identificati e quantificati. D'altra parte, alcuni strumenti sono costosi e non facilmente trasportabili ed è necessaria molta cura per evitare di contaminare la colonna cromatografica.

La purificazione per cromatografia dipende dalla ripartizione differenziata dei composti tra una fase stazionaria (adsorbente) e una fase mobile (soluzione tampone o eluente). Normalmente, la fase stazionaria è inserita in una colonna verticale in plastica, vetro o acciaio inox, e la fase mobile viene pompata attraverso la colonna. Il campione da frazionare viene pompato dalla cima della colonna ed i vari componenti del campione viaggiano attraverso la colonna a differenti velocità

in funzione della capacità di interagire con la fase stazionaria e vengono, di conseguenza, rilevati e raccolti al fondo della colonna. In generale le bio-molecole vengono purificate utilizzando tecniche di purificazione che le separano in funzione delle differenze delle loro proprietà specifiche, come mostrato nella tavola seguente.

| Proprietà molecolare sfruttata | Tipo di cromatografia                                            |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Dimensione                     | Gel filtrazione<br>(talvolta chiamata esclusione per dimensione) |
| Carica                         | Cromatografia a scambio ionico                                   |
| Specificità di legame          | Cromatografia per adsorbimento                                   |

Le tecniche cromatografiche possono perciò essere classificate sulla base del meccanismo di separazione sfruttato anche se spesso le molecole sono separate grazie a diversi meccanismi di separazione che agiscono contemporaneamente.

#### Cromatografia per ripartizione

La fase stazionaria è un liquido, che può essere meccanicamente posto come rivestimento su di un supporto solido relativamente inerte od essere chimicamente legato ad esso. Le molecole da separare sono trattenute nella fase stazionaria (come mostrato in figura 5) in funzione della loro tendenza a solubilizzarsi nella fase stazionaria o a passare nella fase eluente. Nella cromatografia a fase normale il letto stazionario è polare, la fase mobile è apolare o meno polare e vengono separati i composti polari. Nella cromatografia a fase inversa (RP) la fase stazionaria è apolare, la fase mobile è polare o più polare e sono separati i composti apolari.

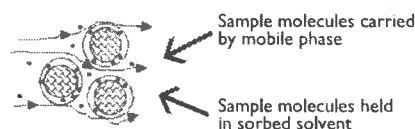


Figura 5: cromatografia per partizione.

I vantaggi di questa tecnica sono elevati livelli di recupero, grandi volumi di lavoro e facilità di dimensionamento su grande scala.

#### Cromatografia a esclusione per dimensione o gel filtrazione

Per la separazione di molecole in base alla loro forma e al loro peso molecolare vengono utilizzate le proprietà di setaccio molecolare che sono proprie di numerosi materiali porosi. I materiali più comunemente usati a questo scopo sono un gruppo di polimeri presenti sotto forma di un reticolo tridimensionale poroso che conferisce loro proprietà di gel. Per tale motivo si usa solitamente il termine gel filtrazione per descrivere la separazione di molecole di varia grandezza che utilizza questi materiali. La cromatografia a esclusione si fonda su un principio abbastanza semplice: una colonna di particelle di gel (gel filtrazione) è in equilibrio con un solvente adatto alle molecole da separare. Le molecole più grandi, completamente escluse dai pori, passano attraverso gli spazi interstiziali, mentre le molecole più piccole si distribuiscono nel solvente presente sia all'interno sia all'esterno del setaccio molecolare e attraversano quindi la colonna a velocità più bassa.

Le molecole vengono, quindi, rilasciate in funzione del loro peso molecolare in ordine decrescente.

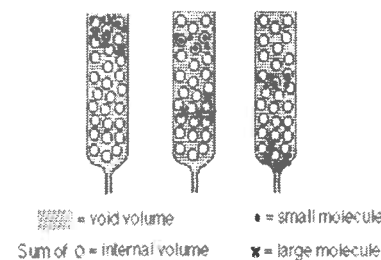


Figura 6: Meccanismo della cromatografia ad esclusione per dimensione.

Gli svantaggi di questo semplice ed efficace metodo sono i piccoli volumi di lavoro ed il fatto che non funziona molto bene per miscele grezze, tanto che questi processi possono essere applicati nel passaggio finale di "raffinazione" dopo precedenti operazioni di purificazione.

#### Cromatografia a scambio ionico

La base per la cromatografia a scambio ionico è il legame competitivo di composti con cariche differenti ad un mezzo cromatografico con carica opposta, lo scambiatore ionico. L'affinità delle sostanze per lo scambiatore possono essere controllate variando condizioni come la forza ionica o il pH. Con l'utilizzo di questa tecnologia si possono lavorare grandi volumi.

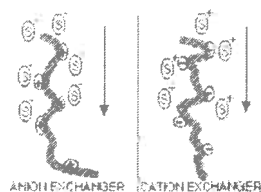


Figura 7: Meccanismo cromatografico a scambio ionico.

### Cromatografia per adsorbimento

Un adsorbente specifico viene preparato accoppiando su una superficie solida un legante specifico che interagirà solo con le molecole che possono selettivamente legarsi ad esso (quelle che devono essere separate). Le molecole che non si legano defluiscono non trattenute. I composti trattenuti possono successivamente venire rilasciati in uno stato purificato. Questa tecnica viene utilizzata nella chimica fine.

La tabella seguente mette in comparazione le principali caratteristiche delle tecnologie cromatografiche che sono state esposte sopra.

| Tecnica                                | Cromatografia per ripartizione | Cromatografia ad esclusione per dimensione | Cromatografia a scambio ionico | Cromatografia per adsorbimento |
|----------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Scala di laboratorio                   | X                              | X                                          | X                              | X                              |
|                                        | X                              | X                                          | X                              | X                              |
|                                        | Alta                           | Bassa                                      | Alta                           | Alta                           |
| Risoluzione                            | Alta                           | Bassa                                      | Alta                           | Alta                           |
|                                        | Alta                           | Bassa                                      | Alta                           | Alta                           |
| Resa di recupero                       | Alta (vicina a 100%)           | Alta                                       | Bassa (50-60%)                 | Alta                           |
| Semplicità operativa                   | Semplice                       | Semplice, Veloce                           | Processi lenti                 | Semplice                       |
|                                        | ++                             | +                                          | ++                             | ++                             |
| Applicazioni nella chimica fine        | X                              | NO                                         | X                              | X                              |
| Applicazioni nella chimica industriale | X                              | X                                          | X                              | X                              |

I metodi cromatografici come la fase inversa, lo scambio ionico e la cromatografia per adsorbimento sono competitivi nei confronti delle purificazioni basate sulla affinità, soprattutto se non è richiesto un elevato livello di purezza.

### 3.3.2. Tecniche di filtrazione mediante membrane

Le membrane filtrano selettivamente gas o liquidi contenuti in soluzioni o miscele al fine di separare i diversi componenti. I micro-pori delle membrane sono dimensionati in modo tale da consentire il passaggio di alcune molecole e particelle e di bloccarne altre. Queste membrane sono molto specifiche, strutturate diversamente a seconda del tipo di particelle da separare.

La filtrazione mediante membrane è ritenuta la Migliore Tecnologia Disponibile (BAT) nel Documento Informativo sulle Migliori Tecnologie Disponibili (BREF) per l'industria alimentare, delle bevande e del latte, grazie al ridotto consumo di acqua, e alla scarsa produzione di residui da smaltire. Esistono tre principali processi tecnologici a seconda delle dimensioni dei componenti da separare: microfiltrazione, ultrafiltrazione e osmosi inversa.

#### Microfiltrazione

La microfiltrazione è un processo a bassa pressione con membrane porose per separare particelle colloidali e in sospensione con diametro da 0.1 a 10  $\mu$  m. La microfiltrazione è un procedimento esclusivamente fisico nel quale le particelle vengono catturate sulla superficie della membrana. Le particelle di dimensioni maggiori rispetto ai pori della membrana non riescono ad attraversarla. I filtri a membrana sono largamente utilizzati in biotecnologia e nelle applicazioni alimentari dove sono richiesti prodotti sterili.

#### Ultrafiltrazione

Le membrane per ultrafiltrazione trattengono particelle nell'ordine di 0.01-0.1  $\mu$  m di diametro e operano in un intervallo di pressione che va da 0.5 a 10 bar. E' diventato il metodo di riferimento per la concentrazione, ed ha sostituito diffusamente la cromatografia per dimensione in queste applicazioni. Membrane per ultrafiltrazione sono diffusamente utilizzate in applicazioni bio-farmaceutiche.

Il vantaggio principale dell'ultrafiltrazione rispetto alle tecniche competitive di purificazione quali la cromatografia sono:

- Elevata capacità di filtrazione;
- Relativa facilità di scale-up;
- Le attrezzature sono facili da pulire e disinfettare.

### Osmosi inversa

L'osmosi spiega il fenomeno secondo il quale se una membrana semi-permeabile separa due soluzioni saline di concentrazione diversa, l'acqua migra dalla soluzione più diluita, attraverso la membrana, alla soluzione più concentrata, finché le soluzioni hanno la stessa concentrazione salina. L'osmosi inversa implica l'applicazione di pressione per invertire il naturale corso dell'acqua, per far muovere l'acqua dalla soluzione più concentrata alla più diluita. La membrana semi-permeabile è porosa, per permettere all'acqua di attraversarla, ma bloccando il passaggio delle molecole di sale che hanno maggior volume. Il risultato di tale procedimento è acqua senza sale da un lato della membrana.

L'osmosi inversa rimuove essenzialmente l'acqua e qualsiasi composto molecolare di dimensioni inferiori alle molecole d'acqua. L'osmosi inversa è una tecnica altamente efficiente per concentrare/separare sostanze a basso peso molecolare in soluzione. Per raggiungere questo obiettivo, richiede una fonte d'energia ed è piuttosto costoso.

### 3.3.3. Cristallizzazione

La cristallizzazione è una tecnica che si basa sui principi di solubilità per purificare composti solidi. Come regola generale i composti (soluti) tendono ad essere più solubili in liquidi (solventi) caldi rispetto a liquidi freddi. Dal momento, quindi, che la solubilità aumenta con la temperatura, se una soluzione satura ad alta temperatura viene raffreddata, il soluto non sarà più solubile nel solvente e formerà cristalli puri del composto. Le impurità vengono escluse dai cristalli in accrescimento ed i cristalli solidi puri possono essere separati dalle impurità disciolte, mediante filtrazione o centrifugazione. Si ottengono così prodotti di elevata purezza, tanto che questo processo viene utilizzato in particolare nel settore farmaceutico.

La tabella seguente confronta le tecniche di purificazione illustrate in questo capitolo.

| Tecnica                             | Cromatografia per ripartizione | Cromatografia per esclusione | Cromatografia scambio ionico | Cromatografia adsorbimento | Microfiltrazione                          | Microfiltrazione                          | Osmosi inversa                            | Cristallizzazione |
|-------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------|
| Scale-up                            | Relativamente semplice         | Più difficile                | Più difficile                | Più difficile              | Relativamente semplice                    | Relativamente semplice                    | Relativamente semplice                    | Già utilizzata    |
| Attrezzature                        | Flessibile                     | Relativamente economica      | Costosa                      | Complessa e costosa        | Semplice, affidabile, facile manutenzione | Semplice, affidabile, facile manutenzione | Semplice, affidabile, facile manutenzione |                   |
| Composti sensibili alla pressione   | Adatta                         | Adatta                       | Adatta                       | Adatta                     | Non adatta                                | Non adatta                                | Non adatta                                | Adatta            |
| Composti sensibili alla temperatura | Adatta                         | Adatta                       | Adatta                       | Adatta                     | Adatta                                    | Adatta                                    | Adatta                                    | Adatta            |
|                                     | Alta                           | Bassa                        | Alta                         | Alta                       | Bassa                                     | Bassa                                     | Bassa                                     | Alta              |
| Dimensione delle particelle         | Indipendente                   | Dipendente                   | Indipendente                 | Indipendente               | Dipendente (0,1-10 µm)                    | Dipendente (0,01-0,1 µm)                  | Dipendente                                | Indipendente      |
| Velocità di purificazione           | Rapida                         | Rapida                       | Lenta                        |                            | Lenta                                     | Lenta                                     | Lenta                                     | Lenta             |
| Costo                               | ++                             | +                            | ++                           | ++                         | +                                         | +                                         |                                           | ++                |
|                                     | Bassa                          | Bassa                        | Bassa                        | Bassa                      |                                           |                                           | Alta                                      | Bassa             |
| Efficienza                          | Alta                           | Alta                         | Alta                         | Alta                       |                                           |                                           | Alta                                      | Media             |

### 3.4. Essiccazione degli estratti bioattivi purificati

I composti bioattivi necessitano di essere disidratati a sufficienza, per poter essere conservati in modo sicuro (nel caso di materiale deperibile) e per essere più facilmente trasportati finché non saranno utilizzati per ulteriori lavorazioni. L'intero processo di disidratazione deve essere delicato per ridurre i rischi di degradazione dei composti bioattivi. Possono essere impiegati diversi metodi di essiccazione.

#### 3.4.1. Liofilizzazione (freeze-drying)

Il processo di liofilizzazione porta alla produzione di prodotti con una buona porosità, il che rende la loro reidratazione più facile e veloce rispetto agli stessi prodotti ottenuti con i sistemi classici di disidratazione. Altro grosso vantaggio di questo sistema è che lavorando a basse temperature e sottovuoto, viene limitato il danno termico ai principi bioattivi presenti nell'estratto.

Questo processo include le seguenti fasi:

- Congelamento del materiale.
- Riduzione della pressione esterna.
- Somministrazione di calore per il passaggio diretto dell'acqua all'interno del materiale dallo stato solido alla fase vapore (sublimazione).

### 3.4.2. Essiccatori spray

L'essiccazione spray è uno dei processi industriali più utilizzati per la disidratazione di liquidi, portando alla produzione in continuo di solidi disidratati in polvere, granuli o in forma agglomerata. È un processo ideale quando il prodotto finale deve essere conforme con rigidi standard qualitativi riguardanti le dimensioni delle particelle, il contenuto residuo di umidità, la densità e la forma delle particelle.

L'essiccazione spray comprende la nebulizzazione di un liquido di partenza in una nuvola di fini goccioline ed il contatto delle gocce con aria calda all'interno di una camera di evaporazione. L'eliminazione dell'umidità dalle goccioline e la formazione di particelle secche procede a condizioni di temperatura e di flusso d'aria controllati (come mostrato nel disegno seguente). Il prodotto finito deve essere separato dall'aria mediante un sistema di separazione quale un ciclone e/o un filtro a maniche.

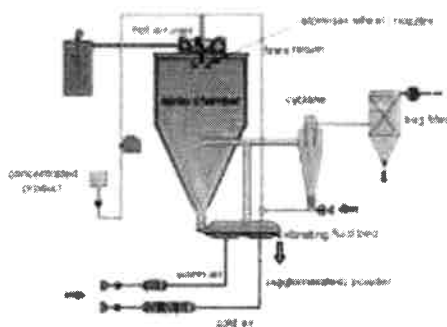


Figura 9: Processo di essiccazione ad irradiazione

L'essiccazione procede molto velocemente, tanto che questo processo risulta molto interessante per materiali che potrebbero essere danneggiati dalla prolungata esposizione al calore. L'essiccazione spray è stata identificata nel Documento sulle migliori tecnologie utilizzabili per i settori alimentare, delle bevande e del latte, come migliore tecnica utilizzabile per l'essiccazione, grazie ai suoi bassi consumi di energia ed acqua, oltre che per la ridotta emissione di polvere nell'ambiente.

### 3.4.3. Essiccatore rotativo sotto vuoto

Il materiale di partenza umido viene caricato in discontinuo e viene indirettamente scaldato mentre viene mantenuto in agitazione dalle pale presenti. L'operazione viene condotta sotto vuoto. È possibile recuperare l'eventuale solvente condensando i vapori generati durante l'essiccamento.

Altri vantaggi di questo processo sono:

- Possibilità di maneggiare materiali sia granulari che in forma pastosa umida.
- Possibilità di operare a temperature contenute: ideale per materiali che possono essere danneggiati o alterati se esposti ad elevate temperature. Il vuoto rimuove l'umidità evitando l'ossidazione o esplosioni, possibili quando le polveri vengono a contatto con l'aria.
- Modalità di riscaldamento indiretta.
- Alta efficienza energetica.
- Operazione a circuito chiuso: i solventi possono essere recuperati, è più sicuro e minimizza la perdita di prodotto dovuta a contaminanti atmosferici, polveri, ossidazioni, decolorazioni e cambiamenti chimici.

## 4. Campi di applicazione per COMPOSTI BIOATTIVI nei PRODOTTI ALIMENTARI e COSMETICI

### 4.1. Legislazione

Dal punto di vista legislativo gli ingredienti naturali sono regolamentati come additivi alimentari e/o prodotti cosmetici.

#### Additivi alimentari

Gli additivi alimentari utilizzati come ingredienti nella preparazione di cibo e che sono presenti nel prodotto finito sono regolati dalla Direttiva 89/107/EC. Prima della loro autorizzazione gli additivi alimentari sono valutati in base alla loro sicurezza dal Comitato Scientifico Alimentare, un gruppo di esperti che consiglia la Commissione Europea sulle questioni relative agli alimenti.

Tutti gli additivi alimentari autorizzati devono soddisfare i criteri di purezza che sono raccolti dettagliatamente nelle tre seguenti direttive:

- Direttiva della Commissione 95/45/EC stabilisce gli specifici criteri di purezza concernenti i coloranti da usare per i generi alimentari.
- Direttiva della Commissione 95/31/EC stabilisce gli specifici criteri di purezza concernenti i dolcificanti da usare per i generi alimentari.
- Direttiva della Commissione 96/77/EC stabilisce gli specifici criteri di purezza concernenti gli additivi alimentari diversi dai coloranti e dai dolcificanti.

#### Prodotti cosmetici

Direttiva del Consiglio 76/768 del 27 Luglio 1976 sull'uniformazione delle leggi degli Stati Membri relativamente ai prodotti cosmetici. Restrizioni e proibizioni sugli ingredienti che possono essere usati nei cosmetici sono contenute in diverse liste sotto la Direttiva EU sui cosmetici.

La Decisione 96/335/EC aggiornata dalla Decisione della Commissione 2006/257/EC, stabilisce un inventario ed una classificazione comune degli ingredienti utilizzati per i prodotti cosmetici. L'inventario è puramente indicativo e non costituisce una lista di sostanze autorizzate per l'impiego nei prodotti cosmetici.

### 4.2. Polifenoli dell'uva

#### Prodotti sul mercato a base di polifenoli

Sono stati identificati i seguenti fornitori di polifenoli derivati dall'uva.

| Prodotto                          | Società produttrice | Origine dei polifenoli                                             | % Polifenoli totali | Prezzo per kg | Note                                                        |
|-----------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------|-------------------------------------------------------------|
| Grape skin extract                | Naturex             | Bucce d'uva                                                        | 25-35%              | 47,55\$/kg    |                                                             |
| Thera Vin PE 30% polyphenols      | Naturex             | Frutto d'uva ( <i>Vitis vinifera</i> ) intero                      | >30%                | 46,19\$/kg    | Ottenuto per estrazione usando alcool e acqua come solventi |
| Red wine PE 30% total polyphenols | Naturex             | Frutto di <i>Vitis vinifera</i>                                    | >30%                | 129,07\$/kg   | Ottenuto per spremitura e fermentazione                     |
| Red wine Proantho cyanidins       | Dr. Winfried Behr   |                                                                    | 34.5%               | 74,59\$/kg    | Acido tartarico = 12,65% OPC > 4%                           |
| Grape seed extract                | Naturex             | Vinaccioli (semi d'uva)                                            | >95%                | 279,87\$/kg   | contenuto OPC >40%                                          |
| Grape seed extract                | Naturex             | Vinaccioli (semi d'uva)                                            | >95%                | 177,98\$/kg   |                                                             |
| PROVINOLS™                        | SEPPIC              | Vino rosso selezionato prodotto nel Languedoc Roussillon (Francia) | 95%                 | 393,99\$/kg   | 1,51% Catechina<br>0,17% Resveratrolo<br>3,49% OPC          |
| Grape seed extract                | AHD international   | Vinaccioli (semi d'uva)                                            | 95%                 | 68,00\$/kg    |                                                             |

### 4.3. Resveratrolo

#### Prodotti sul mercato

Alcune Società produttrici di resveratrolo sono state riportate nella seguente tabella.

| Prodotto                                       | Società produttrice | Origine del Resveratrolo              | % Resveratrolo | Prezzo per kg |
|------------------------------------------------|---------------------|---------------------------------------|----------------|---------------|
| Resverapure resveratrol PE 8%                  | Naturex             | Radici di <i>Polygonum cuspidatum</i> | >8%            | 96,46\$/kg    |
| Resveratrol                                    | AHD International   |                                       | 20%            | 95,00\$/kg    |
| Resveratrol                                    | AHD International   |                                       | 30%            | 122,00\$/kg   |
|                                                | AHD International   |                                       | 50%            | 265,00\$/kg   |
| <i>Polygonum cuspidatum</i> PE 50% resveratrol | Naturex             | Radici di <i>Polygonum cuspidatum</i> | >50%           | 408,94\$/kg   |
| Resveratrol                                    | AHD International   |                                       | 80%            | 740,00\$/kg   |
| Resveratrol                                    | AHD International   |                                       | 98%            | 1225,00\$/kg  |

#### Possibili applicazioni

Il resveratrolo ha un utilizzo in cosmetica in combinazione con i normali filtri ultravioletti come foto-protettivo e contro le macchie della pelle.

Il resveratrolo è disponibile come integratore alimentare, un tempo originato dalle bucce e dai semi macinati di uva di ibridi americani (uva fragola, ecc.) (talvolta dai residui di vinificazione)<sup>4</sup>, ora deriva principalmente dal più economico e più concentrato *Polygonum cuspidatum* ("erba nodosa del Giappone").

#### 4.4. Antocianine

##### Prodotti sul mercato

Un fornitore di antocianine all'ingrosso è il seguente.

| Prodotto                   | Società produttrice | Origine delle Anthocianine    | % di purezza | Prezzo per kg |
|----------------------------|---------------------|-------------------------------|--------------|---------------|
| Anthocyanin extract powder | Sofral              | Black grapes (Vitis Vinifera) | 4%           | 36.00\$/kg    |

#### Possibili applicazioni

Le antocianine sono considerate metaboliti secondari e sono consentite come additivo colorante alimentare con il n° E163. Inoltre le antocianine sono usate in cosmetica per la protezione della pelle dopo bagni solari.

#### 4.5. Proantocianidine

##### Prodotti sul mercato

Come descritto nella tabella seguente, diversi fornitori vendono OPC all'ingrosso.

| Prodotto                   | Società produttrice | Origine di OPC | Contenuto % OPC | Prezzo per kg | Note                                                  |
|----------------------------|---------------------|----------------|-----------------|---------------|-------------------------------------------------------|
| Red wine Proanthocyanidins | Dr. Winfried Behr   |                | OPC > 4%        | 74,59\$/kg    | Acido Tartarico = 12,65%<br>Polifenoli totali = 34,5% |
| Grape seed flour           | Top fruits          |                | 2%              | 86,95\$/kg    |                                                       |
| Grape skin Antho 3200      | Obipektin           | Grape skins    | 3,2%            | 72,00\$/kg    |                                                       |

[4] <http://www.cals.ncsu.edu/agcomm/magazine/fall05/more.html>

#### Possibili applicazioni

Le OPC sono usate nell'industria cosmetica come anti-rughe e come protezione oculare per la retina.

In America, OPC è usato come supplemento nutrizionale nei cosiddetti "functional foods", come una combinazione di vitamine o nei cosmetici come lozioni o lozioni doccia.

L'indagine sui prodotti a base di procianidine sul mercato (Tabella 16) è stata realizzata ricercando integratori alimentari, prodotti cosmetici e prodotti farmaceutici in vendita a livello nazionale ed internazionale e contenenti composti bioattivi di interesse tra gli ingredienti principali e secondari.

#### Mercati esistenti e potenziali

Le proantocianidine sono state vendute come supporti nutrizionali e terapeutici in Europa a partire dagli anni '80, ma la loro introduzione nel mercato degli Stati Uniti è relativamente recente.

#### 4.6. Quercetina

##### Possibili applicazioni

La quercetina è principalmente usata come integratore alimentare.

#### 4.7. Olio di vinaccioli

##### Possibile applicazione

L'olio di vinaccioli è usato per: condimento per insalate, marinate, frittture, oli aromatici, panificazione, oli da massaggio, lozioni riparatrici contro le scottature solari, prodotti per capelli, creme per il corpo, balsamo per le labbra e creme per le mani. La maggior parte dell'olio di vinaccioli è prodotto in Italia; altri paesi produttori sono Francia, Spagna e Argentina.

L'olio di vinaccioli viene estratto dai semi dell'uva ed ha un punto di fumo relativamente alto, approssimativamente intorno 420 °F (216 °C), cosicché è adatto ad essere utilizzato per cucinare ad elevate temperature. L'olio di vinaccioli può essere utilizzato per frittture e rosolature veloci. Oltre ad avere un elevato punto di fumo, possiede altre qualità positive che lo rendono adatto alle applicazioni in cucina. Ha un gusto chiaro e leggero che è stato definito "sapore di noce". Grazie al suo gusto "neutro", l'olio di vinaccioli è spesso usato come ingrediente nei condimenti per insalate o come olio base da aromatizzare con aglio, rosmarino, o altre erbe e spezie. E' anche utilizzato come ingrediente per la maionese fatta

in casa. Le proprietà emollienti di tale olio e la sua capacità di lasciare una sottile pellicola sulle superfici, ne favoriscono l'utilizzo e lo rendono particolarmente gradito anche all'industria cosmetica.

Tra tutti i prodotti derivati dell'uva, l'olio di vinaccioli è l'ingrediente cosmetico preferito per i tessuti danneggiati e stressati, in quanto possiede qualità rigenerative e ricostruttive che consentono un miglior controllo della miniaturizzazione della pelle. Può aiutare la pelle a mantenere la normale struttura delle cellule epiteliali e delle cellule nervose fornendo un supporto alle membrane cellulari.

E' noto soprattutto per il benefico effetto riparatore della pelle del contorno occhi. Usato come idratante della pelle, riduce i segni delle rughe. L'olio di vinaccioli, leggero e sottile, lascia una pellicola lucida sulla pelle quando usato in aromaterapia come base per gli oli essenziali. Contiene più acido linoleico rispetto ad altri oli base. L'olio di vinaccioli è anche adatto ad essere usato come lubrificante per facilitare la rasatura.

L'olio pressato dai vinaccioli dell'uva è usato come integratore alimentare. Contiene una percentuale elevata di acido linoleico, che appartiene al gruppo di sostanze nutritive conosciute come acidi grassi essenziali (EFAs).

Tra i residui di produzione di vino o succo d'uva ci sono le bucce e i vinaccioli. I vinaccioli raccolti dai residui possono essere utilizzati per produrre un olio leggero, molto utilizzato in cucina per la sua elevata resistenza al calore che fa sì che non bruci così facilmente come altri oli da cucina. I semi dell'uva e anche le bucce, possono anche essere utilizzati in erboristeria come ingredienti per medicinali in forma di compresse.

#### 4.8. Mercati esistenti e potenziali per ingredienti naturali derivati dai residui di lavorazione dell'uva

Studi ed indagini sui composti derivati dall'uva hanno messo in evidenza che la maggior parte dei prodotti (resveratrolo, OPC, catechina e olio di vinaccioli) sono presenti principalmente nei residui di lavorazione dell'uva (bucce, semi) e non nell'intero frutto. Gli ingredienti naturali derivati dall'uva sono già diffusi sul mercato, quindi non sembrano esserci grandi potenzialità di espansione, anche se i prodotti sul mercato sono tutti ottenuti da frutta intera, vino o succo e non da scarti. L'utilizzo dei sottoprodotti può ridurre i costi di produzione e ridurre il carico inquinante dei prodotti in parte proprio dovuto alla presenza di questi composti bioattivi. Comunque una valutazione della fattibilità economica andrà a completare lo studio di mercato, per dare una visione globale sugli ingredienti naturali dell'uva.

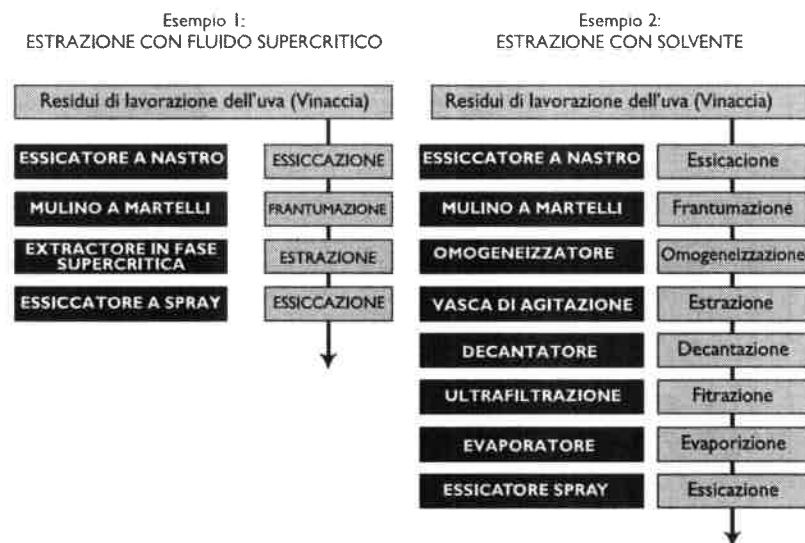
## 5. Valutazione della fattibilità ECONOMICA per l'estrazione di COMPOSTI BIOATTIVI dai residui di lavorazione dell'uva

L'obiettivo di questo capitolo è dimostrare il netto vantaggio dell'estrazione di composti bioattivi dai residui di lavorazione dell'uva alla luce dei costi per l'estrazione dei composti e i ricavi derivanti dalla loro commercializzazione.

Due diversi processi di estrazione sono stati usati come esempi di calcolo per determinare la fattibilità economica dell'estrazione di composti bioattivi dai residui dell'uva:

- Esempio 1: Estrazione con CO<sub>2</sub> in fase supercritica (SFE).
- Esempio 2: Estrazione convenzionale con solvente.

Esaminando l'estrazione con fluido in fase supercritica (SFE) e l'estrazione convenzionale con solvente, il seguente diagramma di flusso mostra le varie fasi del processo di estrazione dei composti e le attrezzature necessarie.



E' interessante sottolineare il fatto che il pre-trattamento (disidratazione e sminuzzatura della vinaccia) deve essere necessariamente fatto durante la vendemmia (da settembre a ottobre, 2 mesi) per preservare il prodotto. L'estrazione e l'essiccazione sono due operazioni che possono essere effettuate durante tutto l'anno (330 giorni; 24 ore al giorno), riducendo in questo modo il lavoro durante il breve e impegnativo periodo della vendemmia e parzialmente superando il problema della stagionalità degli estratti ottenibili dall'uva.

E' anche molto importante notare che i calcoli sviluppati in questo capitolo includono soltanto i costi di lavoro, energia, manutenzione, controllo qualità e consumi. Voci quali costi di vendita e marketing, spedizione, consegna e stoccaggio, costi di recupero dei solventi non sono stati presi in considerazione. Tuttavia, pur non essendo esaustive, le seguenti valutazioni danno una buona idea circa la fattibilità economica dei due diversi metodi di estrazione.

### 5.1. Estrazione di composti bioattivi dai residui di lavorazione dell'uva

Partendo dai dati di produzione dei residui di lavorazione dell'uva forniti dalle associazioni industriali europee del settore che partecipano al progetto, tre ipotesi sono state scelte (ipotesi minima, media e massima) per fornire ulteriori informazioni ad aziende di diverse dimensioni produttive.

#### 5.1.1. Ipotesi Minima

L'ipotesi minima considera una quantità di 125 tonnellate all'anno di residui di lavorazione da trattare in singole aziende vitivinicole. Durante una normale vendemmia che duri 2 mesi (da settembre a ottobre), giornalmente si dovranno trattare 2.3 tonnellate di residui.

Esempio 1:  
Estrazione con Fluido Supercritico



Mediante SFE è possibile estrarre, durante tutto l'anno (55 giorni), circa 50,5kg di olio contenente polifenoli e 884kg di fibra al giorno. L'olio può essere venduto come tale oppure trasformato in polifenoli in polvere ottenendone 35,1kg al giorno.

Esempio 2:  
Estrazione con solvente



Mediante estrazione con solvente, è possibile estrarre durante tutto l'anno (55 giorni) circa 55kg di olio contenente polifenoli e 884kg di fibra al giorno. L'olio può essere venduto come tale oppure trasformato in polifenoli in polvere ottenendone 38kg al giorno.

### 5.1.2. Ipotesi Intermedia

L'ipotesi intermedia considera il trattamento di 1.250 tonnellate all'anno di residui di lavorazione dell'uva in singole cooperative. Ciò vuol dire 23 tonnellate al giorno durante la stagione della vendemmia che dura da settembre a ottobre.

#### Esempio 1: ESTRAZIONE CON FLUIDO SUPERCRITICO

Mediante SFE è possibile estrarre, durante tutto l'anno (200 giorni), circa 138,9 kg di olio contenente polifenoli e 2,4t di fibra al giorno. L'olio può essere venduto come tale oppure ulteriormente trasformato in polifenoli in polvere ottenendone 96,5kg al giorno.

#### Esempio 2: ESTRAZIONE CON SOLVENTE

Mediante estrazione con solvente è possibile estrarre, durante tutto l'anno (200 giorni), circa 150 kg di olio contenente polifenoli e 2,4t di fibra al giorno. L'olio può essere venduto come tale oppure ulteriormente trasformato in polifenoli in polvere ottenendone 105kg al giorno.

### 5.1.3. Ipotesi Massima

L'ipotesi massima considera una produzione di 2.500 tonnellate all'anno di residui di lavorazione dell'uva durante i due mesi di vendemmia. L'ipotesi massima per il calcolo dei costi considera che l'estrazione dei composti bioattivi avvenga in un unico grande centro di estrazione dove confluiscono i residui di un'intera regione.

#### Esempio 1: ESTRAZIONE CON FLUIDO SUPERCRITICO

Mediante SFE è possibile estrarre, durante tutto l'anno (330 giorni), circa 168,4kg di olio contenente polifenoli e 2,9 tonnellate di fibra al giorno. L'olio può essere venduto come tale oppure ulteriormente trasformato in polifenoli in polvere ottenendone 117kg al giorno.

#### Esempio 2: ESTRAZIONE CON SOLVENTE

Mediante l'estrazione con solvente è possibile estrarre, durante tutto l'anno (330 giorni), circa 182kg di olio contenente polifenoli e 2,9 tonnellate di fibra al giorno. L'olio può essere venduto come tale oppure ulteriormente trasformato in polifenoli in polvere ottenendone 127kg al giorno.

## 5.2 Analisi economica dell'estrazione dei composti bioattivi dai residui di lavorazione dell'uva

### 5.2.1. Estrazione di olio contenente polifenoli e fibre d'uva

#### 5.2.1.1. Analisi dei costi

E' stata fatta una valutazione dei costi dei diversi trattamenti.

#### Costi di essiccazione

La fase di essiccazione è la stessa in entrambi i processi (SFE e solvente). I costi per il lavoro, l'energia e le analisi di controllo qualità sono proporzionali al quantitativo di residui da trattare annualmente.

#### Esempio 1: ESTRAZIONE CON FLUIDO SUPERCRITICO

Costi annui di essiccazione (€)

| Ipotesi Minima<br>(125t/anno) | Ipotesi Intermedia<br>(1.250t/anno) | Ipotesi Massima<br>(2.500t/anno) |
|-------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| 6.777                         | 17.553                              | 30.321                           |

#### Ipotesi Minima

Capacità dell'Essiccatore a nastro: 20.000kg/ giorno

Investimento iniziale: 80.000 €

#### Ipotesi Intermedia e Massima

Capacità dell'Essiccatore a nastro: 50.000 kg/giorno

Investimento iniziale: 110.000 €

#### Esempio 2: ESTRAZIONE CON SOLVENTE

Costi annui di essiccazione (€)

| Ipotesi Minima<br>(125t/anno) | Ipotesi Intermedia<br>(1.250t/anno) | Ipotesi Massima<br>(2.500t/anno) |
|-------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| 6.777                         | 17.553                              | 30.321                           |

#### Ipotesi Minima

Capacità dell'Essiccatore a nastro: 20.000kg/ giorno

Investimento iniziale: 80.000 €

#### Ipotesi Intermedia e Massima

Capacità dell'Essiccatore a nastro: 50.000 kg/giorno

Investimento iniziale: 110.000 €

#### Costi di frantumazione

La fase di frantumazione è la stessa in entrambi i processi (SFE e solvente) e richiede l'investimento in un mulino a martelli.

#### Esempio 1: ESTRAZIONE CON FLUIDO SUPERCRITICO

Costi annui di frantumazione (€)

| Ipotesi Minima<br>(125t/anno) | Ipotesi Intermedia<br>(1.250t/anno) | Ipotesi Massima<br>(2.500t/anno) |
|-------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| 7.476                         | 66.823                              | 132.700                          |

#### Tutte le Ipotesi

Capacità del Mulino a martelli: 5.000 kg/giorno

Investimento iniziale: 20.000 €

#### Esempio 2: ESTRAZIONE CON SOLVENTE

Costi annui di frantumazione (€)

| Ipotesi Minima<br>(125t/anno) | Ipotesi Intermedia<br>(1.250t/anno) | Ipotesi Massima<br>(2.500t/anno) |
|-------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| 7.476                         | 66.823                              | 132.700                          |

#### Tutte le Ipotesi

Capacità del Mulino a martelli: 5.000 kg/giorno

Investimento iniziale: 20.000 €

### Costi di omogeneizzazione

L'omogeneizzazione è una fase necessaria soltanto nel processo di estrazione con solvente.

#### Esempio 1: ESTRAZIONE CON FLUIDO SUPERCRITICO

Fase non necessaria!!

#### Esempio 2: ESTRAZIONE CON SOLVENTE

Costi annui di Omogeneizzazione (€)

| Ipotesi Minima (125t/anno)                       | Ipotesi Intermedia (1.250t/anno) | Ipotesi Massima (2.500t/anno) |
|--------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 41.573                                           | 60.339                           | 78.878                        |
| <b>Ipotesi Minima</b>                            |                                  |                               |
| Capacità dell'Omogeneizzatore: 24.000 kg/giorno  |                                  |                               |
| Investimento iniziale: 20.000 €                  |                                  |                               |
| <b>Ipotesi Intermedia e Massima</b>              |                                  |                               |
| Capacità dell'Omogeneizzatore: 720.000 kg/giorno |                                  |                               |
| Investimento iniziale: 20.000 €                  |                                  |                               |

### Costi di estrazione

Confrontando i due processi di estrazione, l'investimento iniziale è molto diverso: da 80.000 € a 120.000 € per l'estrazione con solvente; e 2 milioni di euro per l'estrazione con Fluido Supercritico (SFE). Inoltre, l'estrazione SFE richiede maggiori spese legate al consumo di CO<sub>2</sub>. Si è assunto un rapporto CO<sub>2</sub> consumata/campione estratto pari a 30, ed un riciclo di CO<sub>2</sub> dell'80%. Nell'estrazione con solvente si è assunto recupero di solvente del 90%.

#### Esempio 1: ESTRAZIONE CON FLUIDO SUPERCRITICO

Costi annui di estrazione (€)

| Ipotesi Minima (125t/anno)                       | Ipotesi Intermedia (1.250t/anno) | Ipotesi Massima (2.500t/anno) |
|--------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 167.861                                          | 1.048.088                        | 1.916.937                     |
| <b>Ipotesi Minima</b>                            |                                  |                               |
| Capacità dell'estrattore SFE: 1.320 kg/giorno    |                                  |                               |
| Investimento iniziale: 2.000.000 €               |                                  |                               |
| <b>Ipotesi Intermedia</b>                        |                                  |                               |
| Capacità dell'estrattore SFE: 3x 1.320 kg/giorno |                                  |                               |
| Investimento iniziale: 6.000.000 €               |                                  |                               |
| <b>Ipotesi Massima</b>                           |                                  |                               |
| Capacità dell'estrattore SFE: 4x 1.320 kg/giorno |                                  |                               |
| Investimento iniziale: 8.000.000 €               |                                  |                               |

#### Esempio 2: ESTRAZIONE CON SOLVENTE

Costi annui di estrazione (€)

| Ipotesi Minima (125t/anno)                  | Ipotesi Intermedia (1.250t/anno) | Ipotesi Massima (2.500t/anno) |
|---------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 41.828                                      | 510.098                          | 1.759.085                     |
| <b>Ipotesi Minima</b>                       |                                  |                               |
| Capacità dell'estrattore: 35.000 kg/giorno  |                                  |                               |
| Investimento iniziale: 80.000 €             |                                  |                               |
| <b>Ipotesi Intermedia e Massima</b>         |                                  |                               |
| Capacità dell'estrattore: 100.000 kg/giorno |                                  |                               |
| Investimento iniziale: 80.000 €             |                                  |                               |

### Costi di decantazione

La decantazione è una fase necessaria soltanto nel processo di estrazione con solvente.

#### Esempio 1: ESTRAZIONE CON FLUIDO SUPERCRITICO

Fase non necessaria!!

#### Esempio 2: ESTRAZIONE CON SOLVENTE

Costi annui di decantazione (€)

| Ipotesi Minima (125t/anno)                 | Ipotesi Intermedia (1.250t/anno) | Ipotesi Massima (2.500t/anno) |
|--------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 23.345                                     | 18.145                           | 28.590                        |
| <b>Ipotesi Minima</b>                      |                                  |                               |
| Capacità del decanter: 25.000 kg/giorno    |                                  |                               |
| Investimento iniziale: 180.000 €           |                                  |                               |
| <b>Ipotesi Intermedia e Massima</b>        |                                  |                               |
| Capacità del decanter: 1.200.000 kg/giorno |                                  |                               |
| Investimento iniziale: 350.000 €           |                                  |                               |

### Costi di filtrazione

L'ultrafiltrazione è una fase necessaria soltanto nel processo di estrazione con solvente.

#### Esempio 1: ESTRAZIONE CON FLUIDO SUPERCRITICO

Fase non necessaria!!

#### Esempio 2: ESTRAZIONE CON SOLVENTE

Costi annui di filtrazione (€)

| Ipotesi Minima (125t/anno)             | Ipotesi Intermedia (1.250t/anno) | Ipotesi Massima (2.500t/anno) |
|----------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 8.411                                  | 25.213                           | 43.445                        |
| <b>Tutte le Ipotesi</b>                |                                  |                               |
| Capacità del filtro: 120.000 kg/giorno |                                  |                               |
| Investimento iniziale: 150.000 €       |                                  |                               |

### Altri costi

Per l'ipotesi massima sono stati considerati il costo della supervisione ed un trasporto di 15 Km in media.

#### Esempio 1: ESTRAZIONE CON FLUIDO SUPERCRITICO

Altri costi annui (€)

| Ipotesi Minima (125t/anno) | Ipotesi Intermedia (1.250t/anno) | Ipotesi Massima (2.500t/anno) |
|----------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 1.538                      | 15.052                           | 39.480                        |

#### Esempio 2: ESTRAZIONE CON SOLVENTE

Altri costi annui (€)

| Ipotesi Minima (125t/anno) | Ipotesi Intermedia (1.250t/anno) | Ipotesi Massima (2.500t/anno) |
|----------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 1.499                      | 4.124                            | 17.754                        |

## Investimento totale e costi di produzione

Prendendo in considerazione pre-trattamento, estrazione e costi di purificazione, sono necessari i seguenti investimenti in attrezzature e costi operativi.

| Esempio 1: ESTRAZIONE<br>CON FLUIDO SUPERCRITICO |                                        |                                     | Esempio 2: ESTRAZIONE<br>CON SOLVENTE |                                        |                                     |
|--------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|
| Costi TOTALI annui (€)                           |                                        |                                     | Costi TOTALI annui (€)                |                                        |                                     |
| Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)                 | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) | Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)      | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) |
| 183 652                                          | 1 147 517                              | 2 119 438                           | 130 909                               | 702 294                                | 2 090 773                           |
| Investimento iniziale totale (€)                 |                                        |                                     | Investimento iniziale totale (€)      |                                        |                                     |
| Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)                 | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) | Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)      | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) |
| 2 139 394                                        | 6 238 333                              | 8 261 313                           | 699 697                               | 1 196 667                              | 1 295 657                           |

### 5.2.1.2. Analisi dei benefici

Il processo di estrazione fornisce diversi tipi di estratti naturali che possono essere venduti allo stato grezzo come integratori alimentari o utilizzati in prodotti cosmetici. Il prezzo di mercato dell'olio di polifenoli si aggira intorno ai 60€/kg mentre le fibre d'uva intorno ai 4,50€/kg.

| Esempio 1: ESTRAZIONE<br>CON FLUIDO SUPERCRITICO |                                        |                                     | Esempio 2: ESTRAZIONE<br>CON SOLVENTE  |                                        |                                     |
|--------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|
| Prodotti dell'estrazione (kg)                    |                                        |                                     | Prodotti dell'estrazione (kg)          |                                        |                                     |
|                                                  | Polifenoli                             | Fibre                               |                                        | Polifenoli                             | Fibre                               |
| Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)                 | 2 778                                  | 48 611                              | Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)       | 2 778                                  | 48 611                              |
| Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno)           | 27 778                                 | 486 111                             | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | 27 778                                 | 486 111                             |
| Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno)              | 55 556                                 | 972 222                             | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno)    | 55 556                                 | 972 222                             |
| Ricavi annui (€)                                 |                                        |                                     | Ricavi annui (€)                       |                                        |                                     |
| Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)                 | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) | Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)       | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) |
| 385 417                                          | 3 854 167                              | 7 708 333                           | 385 417                                | 3 854 167                              | 7 708 333                           |

## 5.2.2. Estrazione di polifenoli in polvere e fibre d'uva

Per ottenere polifenoli in polvere, l'olio di polifenoli deve essere ulteriormente trattato. Le fibre d'uva possono essere vendute così come ottenute dall'estrazione SFE o con solvente.

### 5.2.2.1. Analisi dei costi

I costi relativi ad un'ulteriore fase di essiccazione sono stati stimati.

#### Costi di essiccazione

Un carrier è necessario per essiccare a spray un olio.

| Esempio 1: ESTRAZIONE<br>CON FLUIDO SUPERCRITICO |                                        |                                     | Esempio 2: ESTRAZIONE<br>CON SOLVENTE         |                                        |                                     |
|--------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|
| Costi annui di essiccazione (€)                  |                                        |                                     | Costi annui di essiccazione (€)               |                                        |                                     |
| Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)                 | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) | Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)              | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) |
| 12 833                                           | 89 884                                 | 175 279                             | 13 537                                        | 96 925                                 | 189 360                             |
| Tutte le ipotesi                                 |                                        |                                     | Tutte le ipotesi                              |                                        |                                     |
| Capacità dell'essiccatore spray: 500kg/giorno    |                                        |                                     | Capacità dell'essiccatore spray: 500kg/giorno |                                        |                                     |
| Investimento iniziale: 100 000€                  |                                        |                                     | Investimento iniziale: 100 000€               |                                        |                                     |

## Investimento totale e costi di produzione

Occorre anche considerare i seguenti costi di investimento in attrezzature ed i costi di produzione, da sommare ai costi di pre-trattamento, estrazione, purificazione ed agli ulteriori costi di disidratazione.

| Esempio 1: ESTRAZIONE<br>CON FLUIDO SUPERCRITICO |                                        |                                     | Esempio 2: ESTRAZIONE<br>CON SOLVENTE |                                        |                                     |
|--------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|
| Costi TOTALI annui (€)                           |                                        |                                     | Costi TOTALI annui (€)                |                                        |                                     |
| Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)                 | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) | Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)      | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) |
| 196 485                                          | 1 237 401                              | 2 294 717                           | 144 447                               | 799 219                                | 2 280 133                           |
| Investimento iniziale totale (€)                 |                                        |                                     | Investimento iniziale totale (€)      |                                        |                                     |
| Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)                 | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) | Ipotesi<br>Minima<br>(125t/anno)      | Ipotesi<br>Intermedia<br>(1 250t/anno) | Ipotesi<br>Massima<br>(2 500t/anno) |
| 2 239 394                                        | 6 338 333                              | 8 361 313                           | 799 697                               | 1 296 667                              | 1 395 657                           |

### 5.2.2.2. Benefits analysis

Considerando un prezzo medio di circa 65.00 €/kg per polifenoli in polvere e le entrate descritte relativamente alla vendita di fibre d'uva, possono essere stimati i seguenti ricavi annui.

| Esempio 1: ESTRAZIONE CON FLUIDO SUPERCRITICO |                                  |                               | Esempio 2: ESTRAZIONE CON SOLVENTE |                                  |                               |
|-----------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| Prodotti dell'estrazione (kg)                 |                                  |                               | Prodotti dell'estrazione (kg)      |                                  |                               |
|                                               | Polifenoli                       | Fibre                         |                                    | Polifenoli                       | Fibre                         |
| Ipotesi Minima (125t/anno)                    | 1 930                            | 48 611                        | Ipotesi Minima (125t/anno)         | 2 091                            | 48 611                        |
| Ipotesi Intermedia (1 250t/anno)              | 19 298                           | 486 111                       | Ipotesi Intermedia (1 250t/anno)   | 20 906                           | 486 111                       |
| Ipotesi Massima (2 500t/anno)                 | 38 596                           | 972 222                       | Ipotesi Massima (2 500t/anno)      | 41 813                           | 972 222                       |
| Ricavi annui (€)                              |                                  |                               | Ricavi annui (€)                   |                                  |                               |
| Ipotesi Minima (125t/anno)                    | Ipotesi Intermedia (1 250t/anno) | Ipotesi Massima (2 500t/anno) | Ipotesi Minima (125t/anno)         | Ipotesi Intermedia (1 250t/anno) | Ipotesi Massima (2 500t/anno) |
| 344 189                                       | 3 441 886                        | 6 883 772                     | 354 642                            | 3 546 418                        | 7 092 836                     |

### 5.3. Profitto annuo e punto di pareggio

|                                               |                                         |                                               | Ipotesi Minima (125t/anno) | Ipotesi Intermedia (1 250t/anno) | Ipotesi Massima (2 500t/anno) |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| Esempio 1: ESTRAZIONE CON FLUIDO SUPERCRITICO | Olio contenente polifenoli; fibre d'uva | Profitto annuo (€) senza ammortamento         | 201 765                    | 2 706 650                        | 5 588 896                     |
|                                               |                                         | Profitto annuo (€) con ammortamento di 5 anni | -218 235                   | 1 480 650                        | 3 962 896                     |
|                                               | Polifenoli in polvere; fibre d'uva      | Profitto annuo (€) senza ammortamento         | 147 703                    | 2 204 485                        | 4 589 055                     |
|                                               |                                         | Profitto annuo (€) con ammortamento di 5 anni | -292 297                   | 958 485                          | 2 943 055                     |
| Esempio 2: ESTRAZIONE CON SOLVENTE            | Olio contenente polifenoli; fibre d'uva | Profitto annuo (€) senza ammortamento         | 254 507                    | 3 151 873                        | 5 617 560                     |
|                                               |                                         | Profitto annuo (€) con ammortamento di 5 anni | 148 507                    | 3 005 873                        | 5 471 560                     |
|                                               | Polifenoli in polvere; fibre d'uva      | Profitto annuo (€) senza ammortamento         | 210 195                    | 2 747 200                        | 4 812 703                     |
|                                               |                                         | Profitto annuo (€) con ammortamento di 5 anni | 84 195                     | 2 581 200                        | 4 646 703                     |

La perdita finanziaria per l'ipotesi minima per l'estrazione con fluido supercritico dimostra la non fattibilità di questo processo. Gli altri casi analizzati hanno dimostrato di essere economicamente validi. Tuttavia devono essere tenuti in considerazione il vantaggio di SFE rispetto all'estrazione con solvente in termini di residui di solvente nel prodotto finale, ed anche il costo di costruzione del centro di trattamento, del trasporto dei sottoprodotti, dell'imballaggio ed i costi per l'ambiente.

## 6. BIBLIOGRAFIA

---

- Affinity chromatography Handbook, Amersham Biosciences.
- D. Ambrose, E. Bayer, O. Samuelson (1974) Pure and Appl. Chem. 37, 437.
- Critical Assessment of size exclusion chromatography, Dusan Berek, Polymer Institute of the Slovak Academy of Sciences, 842 36 Bratislava, Slovakia.
- Binnie, Chris, Kimber, Martin, & Smethurst, George. (2002). Basic water treatment (3rd ed.). London: Thomas Telford Ltd.
- J. Bonnerjea, S. Oh, M. Hoare and P. Dunhill (1986) Bio/Tecnology 4, 954.
- Cerruti G., "Il Rischio Alimentare" 1993: antiossidanti, sinergisti, sequestranti, cap. 8.5.
- Danzing L., International Food Ingredients: "Colour", March 2004, pg. 42.
- Ion exchange, Friedrich Helfferich.
- Bioseparation using surfactant-aided size-exclusion chromatography, Horneman, D.A., 2006-10-10.
- Louise Prance, Cosmetics design-europe.com: "Natural Ingredients drive self-tan market", 07/02/2007.
- Porcelli G., Folliero G., "Additivi e coloranti negli Alimenti", Bulzani Editore, Roma 1977: Antiossidanti, p 15.
- Robert van Reis and Andrew Zydney, Membrane separations in biotechnology, Current Opinion in Biotechnology 2001, 12:208-211.
- Pure & Appl. Chem., Vol. 64, No.1, pp. 169-184, 1992 "Purification techniques for biological products".

## 7. RINGRAZIAMENTI

---

I membri del progetto BIOACTIVE-NET sono grati per il supporto finanziario della Commissione Europea per il completamento del presente manuale.

La pubblicazione di questa guida non sarebbe stata possibile senza gli apporti provenienti da tutti gli esperti delle otto organizzazioni che fanno parte di BIOACTIVE-NET e dai collaboratori esterni che hanno cortesemente supportato il consorzio con il loro prezioso contributo.

## 8. Altri PROGETTI COLLEGATI

---

PARADOX "Red Wine Extract Food Additives" è stato approvato nell'ambito del 6° Programma Quadro. Compito di PARADOX era ottenere un estratto stabile da bucce e vinaccioli derivanti dalla lavorazione di vini rossi, identificare e quantificare analiticamente i principali composti, formulare l'estratto in preparazioni stabili e gradevoli al palato ed aggiungerli in cibi di base come pane e latte. Obiettivo successivo era testare l'efficacia di ogni estratto formulato in vitro e in vivo sui consumatori.

(Project number: 508649)

## 9. LINK UTILI

---

- Gateway to the European Union.  
[www.europa.eu](http://www.europa.eu)
- Community Research & Development Information Service.  
[www.cordis.europa.eu](http://www.cordis.europa.eu)
- ttz Bremerhaven.  
[www.ttz-bremerhaven.de](http://www.ttz-bremerhaven.de)
- ainia centro tecnológico.  
[www.ainia.es](http://www.ainia.es)
- Confederación de Cooperativas Agrarias de España.  
[www.ccae.es](http://www.ccae.es)
- AMITOM - Mediterranean International Association of the Processing Tomato.  
[www.amitom.com](http://www.amitom.com)
- VIGNAIOLI PIEMONTESE S.C.A. (Italy).  
[www.vignaioli.it](http://www.vignaioli.it)
- Union of Agricultural Cooperatives in Peza (Greece).  
[www.pezaunion.gr](http://www.pezaunion.gr)
- ANFOVI - L'organisme de formation des Vignerons Indépendants (France).  
[www.anfovi.com](http://www.anfovi.com)
- Tecnoalimenti S.C.p.A. (Italy).  
[www.tecnoalimenti.com](http://www.tecnoalimenti.com)