

***Azione 1.1.5 “Sostegno all’avanzamento tecnologico delle imprese attraverso il finanziamento di linee pilota e azioni di valutazioni su larga scala”
PO FESR Sicilia 2014-2020***

**Progetto di ricerca
“Nuovi prodotti dalla trasformazione agroindustriale di
frutti da colture mediterranee e gestione sostenibile dei
sottoprodotti - MedFruit”**



Università di Catania



Allegato 8:

**“Relazione sulle prove di laboratorio con impianto a membrana Koch
Labcell per l’individuazione delle membrane più idonee alla
produzione del Superfood”**

- **Università degli Studi di Catania**
- **Citrech snc**

Citrech Snc

Relazione sulle Prove di Laboratorio con Impianto a Membrana Koch “Labcell” per l’individuazione delle membrane più idonee alla produzione del SUPERFOOD

Scopo delle Prove

L’OR 1 del Progetto MedFruit prevede la creazione di un nuovo prodotto “Superfood” nell’ambito della trasformazione agroindustriale di qualità di Arancia Rossa, Fico d’India e Melograno ottenuto incrementando in modo commercialmente significativo la concentrazione naturale di sostanze ad elevata valenza salutistica, vitaminica ed antiossidante mediante tecniche innovative su membrane semipermeabili realizzate rigidamente a freddo.

I tre succhi di frutta sono stati trattati a freddo su diverse tipologie di membrane per giungere a concentrazioni elevate di attivi che permettano di ottenere un alimento funzionale (functional food) che abbia proprietà benefiche per la dieta alimentare. L’arancia rossa, il melograno e il ficodindia sono particolarmente ricchi di sostanze antiossidanti utili per prevenire e combattere gli stress ossidativi responsabili di importanti danni che compromettono la funzionalità di cellule e tessuti e associati a numerose patologie croniche, quali disturbi cardio-circolatori (aterosclerosi, ischemie, ictus), diabete, cancro, malattie neurodegenerative (es. morbo di Parkinson, Alzheimer) e, in generale, all’invecchiamento cellulare.

Le betalaine del ficodindia, gli antociani delle arance rosse e del melograno e gli ellagitannini del melograno sono sostanze antiossidanti particolarmente indicate per combattere lo stress ossidativo e poterne disporre in forma concentrata e gradevole al gusto rappresenta lo scopo di questa attività progettuale. Lo scopo finale dell’attività progettuale sarà la formulazione e la messa a punto di succhi e bevande innovative estendendo quote di mercato a più alto valore aggiunto, come quello delle industrie farmaceutiche, degli integratori o ancora della preparazione di frutta; se infatti sono ormai accertate le proprietà ad esempio degli antociani quali antiossidanti, e se gli stessi sono ormai a pieno titolo definiti come facenti parte del ristretto gruppo dei “superfood”, sono ormai maturi i tempi e le direttrici di mercato per porsi come obiettivo l’upgrade del prodotto “arancia rossa” da semplice succo a realtà nel campo dei “functional food” con l’aiuto del melograno e del ficodindia.

Ovviamente, lo scopo finale sarà raggiunto per gradi, ma le attività inizialmente svolte sono state dedicate alla valutazione del comportamento dei tre succhi di frutta rispetto al trattamento su membrane semipermeabili differenti per materiale e per “potere filtrante” valutato sulla base di cut-off nominale del peso molecolare (NMWCO).

La logica delle prove che sono state effettuate è schematizzata di seguito:

In sostanza, si prevedeva di chiarificare i succhi con tecniche a membrana e di concentrare, senza applicazione di calore, i permeati limpidi, esenti da colloidali, dapprima con membrane da nanofiltrazione o osmosi inversa e, infine, mediante tecniche di distillazione su membrana o distillazione osmotica da effettuarsi presso l’Istituto di Tecnologie delle Membrane del CNR.

Le prove sono state eseguite con un impianto a membrana da laboratorio di costruzione della Koch Separation Solution denominato Labcell. Questa unità utilizza membrane piane e permette di valutare, su scala di laboratorio, il comportamento di specifici alimenti rispetto a membrane differenti per materiale di costruzione e capacità filtrante.

Con questa unità è possibile valutare non solo la permeabilità di membrane differenti rispetto a succhi differenti ma anche la

maggiore o minore facilità di concentrare le sostanze colloidali contenute nei succhi di partenza; inoltre, essa permette di valutare la reiezione di membrane differenti rispetto a sostanze specifiche contenute nei succhi. Più specificamente, le prove ci hanno permesso di valutare se determinati materiali utilizzati per la costruzione delle membrane permettano, o meno, il passaggio di sostanze quali gli zuccheri e gli acidi normalmente contenuti nei succhi di frutta ma anche di sostanze a carattere nutraceutico quali gli antociani e le betalaine.

Tutte queste informazioni saranno fondamentali nel prosieguo delle attività progettuali quando si dovranno stabilire i pretrattamenti dei succhi e le caratteristiche degli impianti pilota a membrana che saranno necessari per la produzione dei prototipi dei succhi concentrati a membrana e le varie formulazioni del “Superfood” che porteranno alle formulazioni definitive per campo di utilizzo.

Lo schema di funzionamento del Labcell è mostrato nel disegno seguente: esso è costituito da un serbatoio di processo da 500 ml di capacità che contiene il liquido in alimento e che è in comunicazione con il compartimento membrana costituito da una struttura in acciaio inossidabile nella cui parte inferiore è ricavato il compartimento di raccolta del permeato e che nella parte

superiore ospita un setto poroso in acciaio inossidabile sul quale viene posta la membrana piana da testare. Il compartimento membrana è flangiato al serbatoio di processo e da esso può essere separato per la sostituzione della membrana. Il liquido da trattare è prelevato da una pompa e alimentato sotto pressione sulla superficie della membrana. La macchina opera in “batch”, cioè solo il permeato viene allontanato dal sistema mentre il ritentato ricicla continuamente nel serbatoio di alimento. Al termine delle operazioni, il concentrato finale del processo (ritentato) viene raccolto mediante opportuna valvola. Il serbatoio di processo è incamiciato e nella camicia si può far circolare acqua fredda per mantenere sotto controllo la temperatura di lavoro. Infine, il serbatoio è dotato di un gruppo valvole che consente la pressurizzazione del sistema tramite una bombola di azoto; ciò permette di poter usare indifferentemente membrane da ultrafiltrazione (pressioni di esercizio di 2-8 bar), da nanofiltrazione (30-36 bar) o osmosi inversa (36-42 bar). La superficie di membrana utile è pari a $26,4 \text{ cm}^2$.

Nel Periodo Maggio – Luglio 2020 sono state effettuate prove di microfiltrazione, ultrafiltrazione, nanofiltrazione e osmosi inversa su succhi di arancia rossa, di melagrana e di ficodindia.

La lista delle prove effettuate, per i tre succhi considerati è riportata di seguito:

ARANCIA ROSSA

Nr.	Tipo	Data	Membrana	Materiale	NMWCO/Pore Size	Feed Tipo
1	MF	13/05/20	MV020T	PVDF	0,2 µ	Torbido
2	UF	13/05/20	UV150T	PVDF	150.000	Torbido
3	UF	14/05/20	UP150P	PES	150.000	Torbido
4	MF	15/05/20	MFK618	PES	0,1 µ	Torbido
5	MF	15/05/20	MFK603	PES	0,1 µ	Torbido
6	UF	18/05/20	HFM180	PVDF	100.000	Torbido
7	UF	18/05/20	HFM183	PVDF+	100.000	Torbido
8	UF	19/05/20	UH050	PESH	50.000	Torbido
9	UF	19/05/20	UH030P	PESH	30.000	Torbido
10	UF	20/05/20	US100	PSUH	100.000	Torbido
11	UF	21/05/20	UH030P	PESH	30.000	Torbido
12	UF	22/05/20	UH050	PESH	50.000	Torbido
13	UF	25/05/20	UP010P	PES	10.000	Torbido
14	UF	25/05/20	UP010P	PES	10.000	Torbido
15	UF	26/05/20	Etna 10PP	PP	10.000	Torbido
16	UF	26/05/20	Etna 01PP	PP	1.000	Limpido
17	UF	27/05/20	Etna 10PP	PP	10.000	Torbido
18	UF	25/06/20	Etna 10PP	PP	10.000	Limpido
19	NF	25/06/20	NF99	PEST	300	Limpido
20	NF	25/06/20	NP030P	PES	550	Limpido
21	NF	25/06/20	NP030P	PES	550	Limpido
22	RO	29/06/20	Koch HRX	Composito	200	Limpido
23	NF	30/06/20	MPS34	Composito	200	Limpido

FICODINDIA

Nr.	Tipo	Data	Membrana	Materiale	NMWCO Pore Size	Feed Tipo
1	MF	04/06/20	MV020T	PVDF	0,2 µ	Torbido
2	MF	11/06/20	MFK618	PES	0,1 µ	Torbido, depolpato ed enzimato
3	MF	11/06/20	MFK603	PES	0,1µ	Torbido, depolpato ed enzimato
4	MF	12/06/20	MV020T	PVDF	0,2 µ	Torbido, depolpato ed enzimato
5	UF	17/06/20	UH030P	PESH	30.000	Limpido
6	NF	17/06/20	NF99	PEST	300	Limpido
7	RO	17/06/20	RO90	Composito	300	Limpido
8	UF	18/06/20	UH050	PESH	50.000	Limpido

9	NF	18/06/20	NF99	PEST	300	Limpido
10	NF	18/06/20	MPS34	Composito	200	Limpido
11	RO	29/06/20	RO90	Composito	300	Limpido

MELAGRANA

Nr.	Tipo	Data	Membrana	Materiale	NMWCO	Feed Tipo
1	UF	04/06/20	UH050	PESH	50000	Torbido
2	UF	10/06/20	HFM180	PVDF	100000	Torbido, depolpato ed enzimato
3	UF	10/06/20	HFM183	PVDF+	100000	Torbido, depolpato ed enzimato
4	UF	12/06/20	US100	PSUH	100000	Torbido, depolpato ed enzimato
5	UF	16/06/20	US100	PSUH	100000	Torbido, depolpato ed enzimato
6	UF	17/06/20	UH030P	PESH	30000	Limpido
7	NF	17/06/20	NF99	PEST	300	Limpido
8	UF	19/06/20	UV150T	PVDF	150000	Torbido, depolpato ed enzimato
9	UF	19/06/20	Etna 10PP	PP	10000	Limpido
10	NF	19/06/20	NF99	PEST	300	Limpido
11	UF	22/06/20	UV150T	PVDF	150000	Torbido, depolpato ed enzimato
12	UF	22/06/20	UH030P	PESH	30000	Limpido
13	UF	22/06/20	Etna 10PP	PP	10000	Limpido
14	NF	23/06/20	NF99	PEST	300	Limpido
15	UF	24/06/20	UH030P	PESH	30000	Limpido
16	NF	24/06/20	MPS34	Composito	200	Limpido

Alcune delle prove sono state ripetute allo scopo di avere quantitativi sufficienti per le prove conseguenti, ad esempio, permeato limpido da concentrare in nanofiltrazione.

Per ognuna delle prove è disponibile un foglio di lavoro che riporta temperatura e pressione di processo, il flusso di permeato in funzione del tempo, i volumi di feed, permeato e ritentato e il fattore di concentrazione espresso come VRF (Volume Reduction Factor) ovvero il rapporto tra feed e ritentato totale.

Di seguito riportiamo le informazioni principali delle prove effettuate divise per tipo di succo in alimento.

ARANCIA ROSSA

La prima osservazione da fare è che con un puro succo di arancia rossa a basso contenuto di polpa come quelli utilizzati nelle prove, le membrane da microfiltrazione sono decisamente troppo “larghe”;

il permeato che si ottiene è, inizialmente, torbido e solo dopo prolungati ricicli su se stesso del prodotto è possibile ottenere permeati limpidi.

Con le membrane da microfiltrazione, sia in PES (polietersolfone) che PVDF (polivinilidenfluoruro) è possibile ottenere facilmente flussi medi di permeazione tra 160 e 180 ml/h, equivalenti a flussi specifici di 6,2 – 6,8 ml/cm²h con VRF superiori a 3.

Con le membrane da ultrafiltrazione “larghe” (ovvero NMWCO pari a 100.000 / 150.000 Dalton) i flussi medi di permeato sono simili alla microfiltrazione; essi variano tra 150 e 170 ml/h, equivalenti a flussi specifici di 5,9 – 6,4 ml/cm²h ma con VRF variabili tra 5,8 e 9,8.

Le membrane da ultrafiltrazione più “strette” (ovvero NMWCO pari a 10.000 / 50.000 Dalton) danno flussi medi di permeato che variano tra 160 e 215 ml/h, equivalenti a flussi specifici di 6,3 – 8,2 ml/cm²h ma con VRF variabili tra 3,5 e 10,0; relativamente ai materiali, il PP (polipropilene) garantisce i flussi maggiori, seguito dal PESH e dal PES. E’ stata anche provata una membrana UF molto stretta (NMWCO 1.000 Dalton) ma con flusso e VRF molto bassi.

Sono state effettuate prove di ultrafiltrazione con membrana in PP avente NMWCO 10.000 Dalton alimentando i permeati limpidi provenienti dalle prove di microfiltrazione e ultrafiltrazione “larga”; lo scopo è stato, evidentemente, di eliminare per quanto possibile le sostanze colloidali che fossero passate attraverso le membrane “larghe” prima di effettuare la concentrazione in nanofiltrazione; la membrana ha lavorato bene e senza problemi con flussi elevati (267 ml/h) e VRF pari a 15.

Questo permeato limpido “stretto” è stato utilizzato nelle prove di concentrazione; si sono usate membrane da nanofiltrazione in PES e materiale composito con NMWCO variabili tra 200 e 550 Dalton; il risultato migliore si è ottenuto con la membrana in poliestere che ha permesso flussi medi di permeazione di 96 ml/h (pari a 3,64 ml/cm²h) con VRF di 2,8.

L’unica membrana di osmosi inversa provata ha dato flusso medio di permeazione di 77,4 ml/h (pari a 2,93 ml/cm²h) con VRF di 2,4.

Nelle tabelle seguenti riportiamo, separatamente, i dati ottenuti:

Microfiltrazione (succo torbido in alimento)

Membrana	Materiale	Pore Size	VRF	Flusso Medio (ml/h)	Flusso Medio (ml/cm ² h)
MV020T	PVDF	0,2 µ	3,16	164,16	6,22
MFK618	PES	0,1 µ	3,52	179,00	6,78
MFK603	PES	0,1 µ	2,29	141,00	5,34

Ultrafiltrazione (succo torbido in alimento)

Membrana	Materiale	NMWCO	VRF	Flusso Medio (ml/h)	Flusso Medio (ml/cm²h)
UV150T	PVDF	150000	4,95	171,00	6,48
UP150P	PES	150000	9,26	148,67	5,63
HFM180	PVDF	100000	7,94	163,88	6,21
HFM183	PVDF+	100000	5,81	155,25	5,88
US100	PSUH	100000	9,80	168,38	6,38
UH050	PESH	50000	3,60	184,17	6,98
UH050	PESH	50000	9,09	166,88	6,32
UH030P	PESH	30000	3,40	135,00	5,11
UH030P	PESH	30000	10,00	135,00	5,11
UP010P	PES	10000	3,52	134,25	5,09
UP010P	PES	10000	8,06	119,45	4,52
Etna 10PP	PP	10000	5,81	207,00	7,84
Etna 10PP	PP	10000	8,47	147,00	5,57

Ultrafiltrazione (succo limpido in alimento)

Membrana	Materiale	NMWCO	VRF	Flusso Medio (ml/h)	Flusso Medio (ml/cm²h)
Etna 10PP	PP	10000	15,2	266,86	10,11
Etna 01PP	PP	1000	1,27	30,00	1,14

Nanofiltrazione / Osmosi Inversa (succo limpido in alimento)

Membrana	Materiale	NMWCO	VRF	Flusso Medio (ml/h)	Flusso Medio (ml/cm²h)
NF99	PEST	300	2,78	96,00	3,64
NP030P	PES	550	1,56	51,00	1,93
MPS34	Composito	200	2,50	72,00	2,73
Koch HRX	Composito	200	2,45	77,45	2,93

FICODINDIA

La prima osservazione da fare è che la permeabilità del succo di ficodindia naturale polposo è estremamente bassa; per ottenere flussi apprezzabili non è sufficiente eliminare i solidi sospesi ma bisogna diminuire la viscosità intrinseca mediante un idoneo enzima. La seconda osservazione è che i flussi di permeazione sono bassi anche con il trattamento enzimatico e le membrane da microfiltrazione, di conseguenza, con questo succo di frutta abbiamo utilizzato solo membrane da

microfiltrazione e abbiamo utilizzato le membrane da ultrafiltrazione solo per filtrare il permeato limpido da microfiltrazione prima di usare le membrane per concentrare il succo.

Le membrane da microfiltrazione hanno permesso, con succo depolpato ed enzimato, flussi medi di 113 – 140 ml/h (corrispondenti a 4,3 -5,3 ml/cm²h con VRF superiori tra 3 e 4.

Chiaramente, il comportamento delle membrane da ultrafiltrazione alimentate con il permeato della microfiltrazione è stato diverso; si sono ottenuti flussi di permeazione medi di 190 – 230 ml/h (corrispondenti a 7,3 -9,0 ml/cm²h) con VRF superiori tra 6,3 e 7.

Relativamente alla concentrazione, i risultati migliori si sono ottenuti con le membrane da nanofiltrazione in poliestere che hanno fornito flussi medi di circa 80 ml/h corrispondenti a 3,0 ml/cm²h con VRF di circa 3; la membrana da nanofiltrazione in composito utilizzata ha dato un flusso medio di permeazione di 56 ml/h (2,1 ml/cm²h) con VRF di 4.

Abbiamo testato anche una membrana di osmosi inversa in materiale composito che ha dato flussi medi di 77 ml/h (2,9 ml/cm²h) con VRF di 2,4.

Nelle tabelle seguenti riportiamo, separatamente, i dati ottenuti:

Microfiltrazione (succo torbido depolpato ed enzimato in alimento)

Membrana	Materiale	Pore Size (μ)	VRF	Flusso Medio (ml/h)	Flusso Medio (ml/cm²h)
MV020T	PVDF	0,2	3,27	140,21	5,31
MFK618	PES	0,1	4,12	113,57	4,30
MFK603	PES	0,1	3,08	120,00	4,55

Ultrafiltrazione (succo limpido in alimento)

Membrana	Materiale	NMWCO	VRF	Flusso Medio (ml/h)	Flusso Medio (ml/cm²h)
UH050	PESH	50000	7,03	193,00	7,31
UH030P	PESH	30000	6,36	236,00	8,94

Nanofiltrazione / Osmosi Inversa (succo limpido in alimento)

Membrana	Materiale	NMWCO	VRF	Flusso Medio (ml/h)	Flusso Medio (ml/cm²h)
NF99	PEST	300	2,86	86,67	3,28
NF99	PEST	300	3,28	75,82	2,87
MPS34	Composito	200	4,05	56,50	2,14
RO90	Composito	300	2,45	77,45	2,93

MELAGRANA

Anche se il succo di melagrana utilizzato nelle prove aveva un bassissimo contenuto di solidi sospesi, la sua permeabilità verso le membrane da ultrafiltrazione è risultata bassa (flusso medio di permeazione di 45 ml/h con VRF=1,3) già utilizzando una membrana avente 50.000 Dalton di NMWCO. Di conseguenza, abbiamo deciso di trattare il succo con opportuni enzimi per diminuirne la viscosità intrinseca. Nelle prove non abbiamo usato membrane da microfiltrazione ma membrane da ultrafiltrazione “larghe” che hanno garantito flussi medi di 100 – 150 ml/h (corrispondenti a 3,9 – 5,6 ml/cm²h) con VRF tra 2,3 e 7,9.

I permeati ottenuti, sono stati “ripassati” su membrane da ultrafiltrazione più “strette” per eliminare i colloidi ancora eventualmente contenuti prima di andare in concentrazione. I flussi di permeazione ottenuti sono stati di poco superiori a 100 ml/h (equivalenti a 4 ml/cm²h) con VRF tra 7,6 e 9,0.

La concentrazione in nanofiltrazione con membrane in poliestere ha garantito flussi medi tra 95 e 140 ml/h (equivalenti a 3,6 – 5,4 ml/cm²h) con VRF tra 4,0 e 5,9; la membrana in materiale composito provata in alternativa ha dato un flusso medio di 77 ml/h con VRF di 5,8.

Nelle tabelle seguenti riportiamo, separatamente, i dati ottenuti:

Ultrafiltrazione (succo torbido ed enzimato in alimento)

Membrana	Materiale	NMWCO	VRF	Flusso Medio (ml/h)	Flusso Medio (ml/cm²h)
UV150T	PVDF	150000	2,29	105,75	4,01
UV150T	PVDF	150000	5,49	102,25	3,87
US100	PSUH	100000	4,90	149,25	5,65
US100	PSUH	100000	7,89	147,38	5,58
HFM180	PVDF	100000	4,41	116,00	4,39
HFM183	PVDF+	100000	3,36	105,33	3,99

Ultrafiltrazione (succo limpido in alimento)

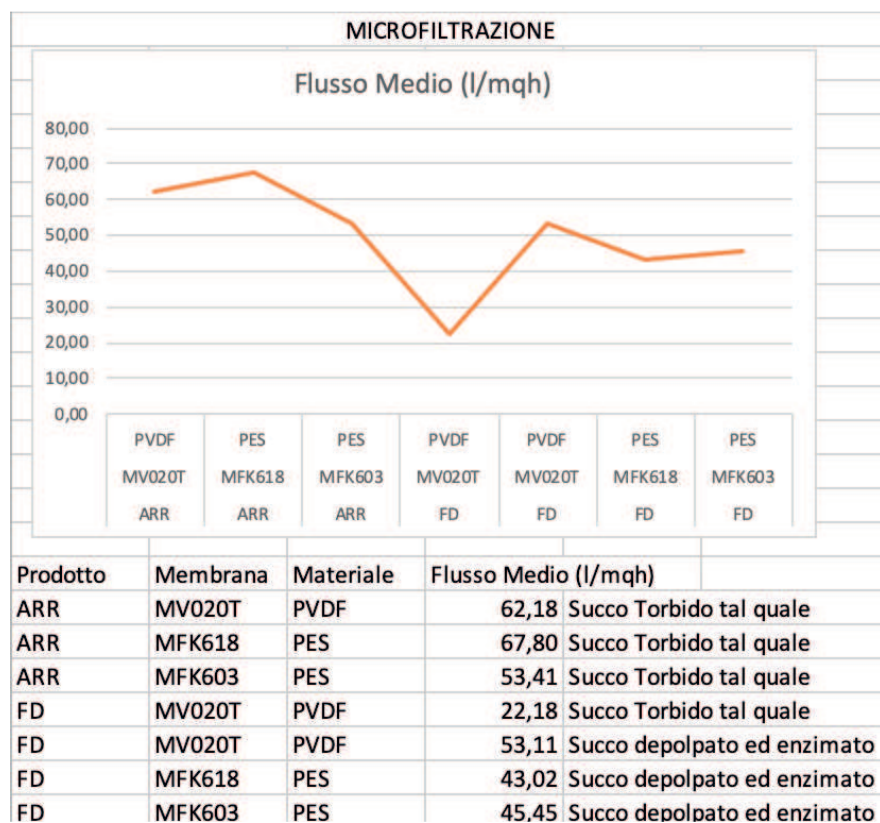
Membrana	Materiale	NMWCO	VRF	Flusso Medio (ml/h)	Flusso Medio (ml/cm²h)
UH030P	PESH	30000	2,16	103,20	3,91
UH030P	PESH	30000	7,66	104,33	3,95
Etna 10PP	PP	10000	7,66	104,33	3,95

Nanofiltrazione (succo limpido in alimento)

Membrana	Materiale	NMWCO	VRF	Flusso Medio (ml/h)	Flusso Medio (ml/cm²h)
NF99	PEST	300	5,88	142,29	5,39
NF99	PEST	300	3,13	81,60	3,09

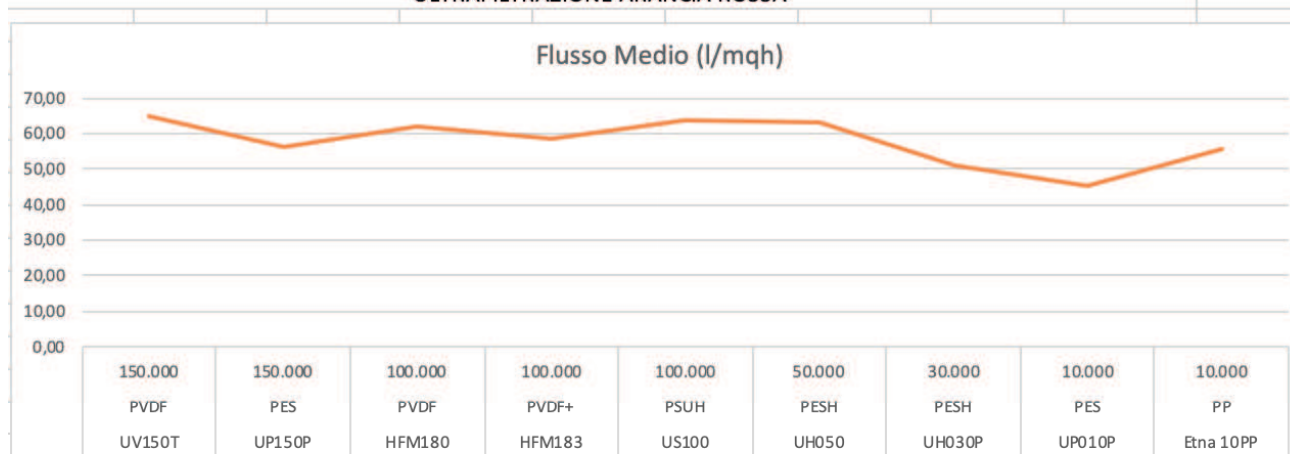
NF99	PEST	300	4,09	94,88	3,59
MPS34	Composito	200	5,81	77,63	2,94

Di seguito riportiamo i grafici e i dati delle prove di microfiltrazione effettuate:

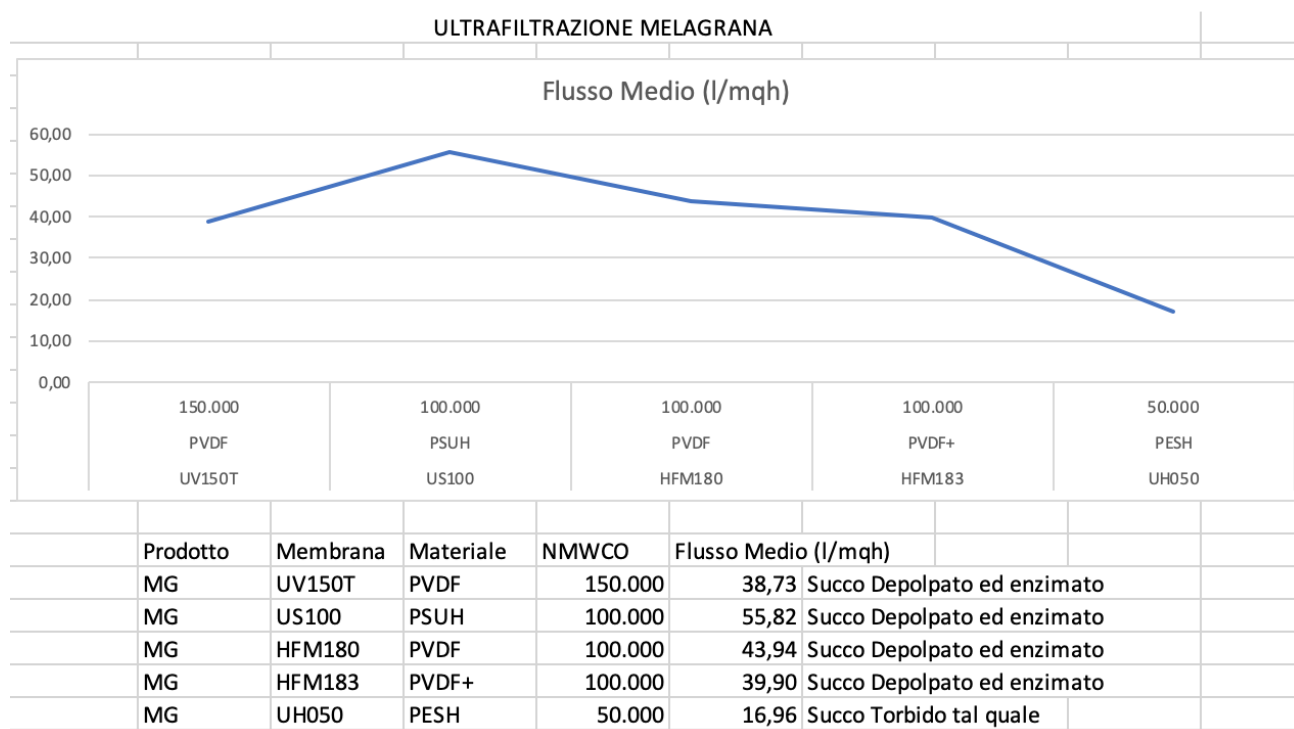


Di seguito riportiamo i grafici e i dati delle prove di ultrafiltrazione effettuate su succhi torbidi:

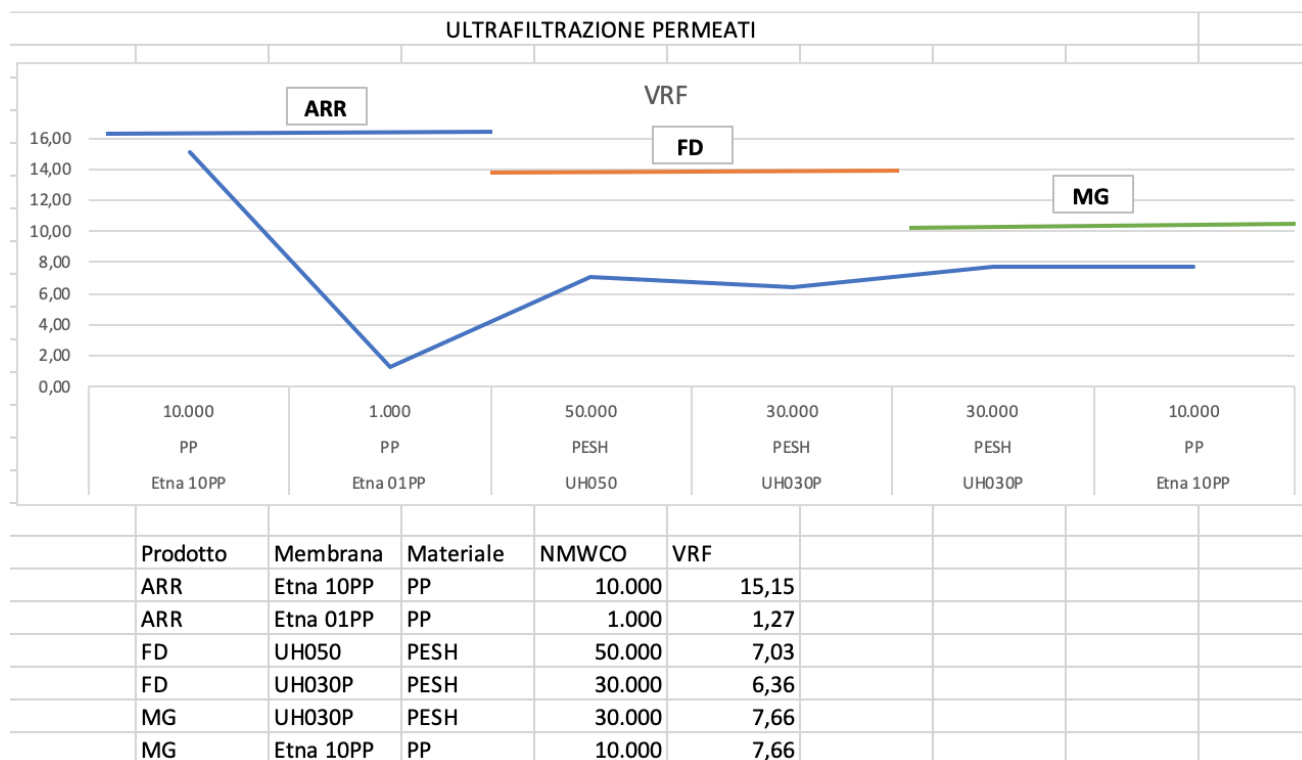
ULTRAFILTRAZIONE ARANCIA ROSSA



Prodotto	Membrana	Materiale	NMWCO	Flusso Medio (l/mqh)	
ARR	UV150T	PVDF	150.000	64,77	Succo Torbido tal quale
ARR	UP150P	PES	150.000	56,31	Succo Torbido tal quale
ARR	HFM180	PVDF	100.000	62,07	Succo Torbido tal quale
ARR	HFM183	PVDF+	100.000	58,81	Succo Torbido tal quale
ARR	US100	PSUH	100.000	63,78	Succo Torbido tal quale
ARR	UH050	PESH	50.000	63,21	Succo Torbido tal quale
ARR	UH030P	PESH	30.000	51,14	Succo Torbido tal quale
ARR	UP010P	PES	10.000	45,25	Succo Torbido tal quale
ARR	Etna 10PP	PP	10.000	55,68	Succo Torbido tal quale



Di seguito riportiamo i grafici e i dati delle prove di ultrafiltrazione effettuate su succhi limpidi:



Infine, di seguito i dati delle prove di nanofiltrazione/Osmosi Inversa per i tre tipi di succhi:

NANOFILTRAZIONE ARANCIA ROSSA

VRF

3,00
2,50
2,00
1,50
1,00
0,50
0,00

300
PEST
NF99

550
PES
NP030P

200
Composito
MPS34

200
Composito
Koch HRX

Prodotto

Membrana

Materiale

NMWCO

VRF

ARR

NF99

PEST

300

2,78

ARR

NP030P

PES

550

1,56

ARR

MPS34

Composito

200

2,50

ARR

Koch HRX

Composito

200

2,45

NANOFILTRAZIONE FICODINDIA

Flusso Medio (l/mqh)

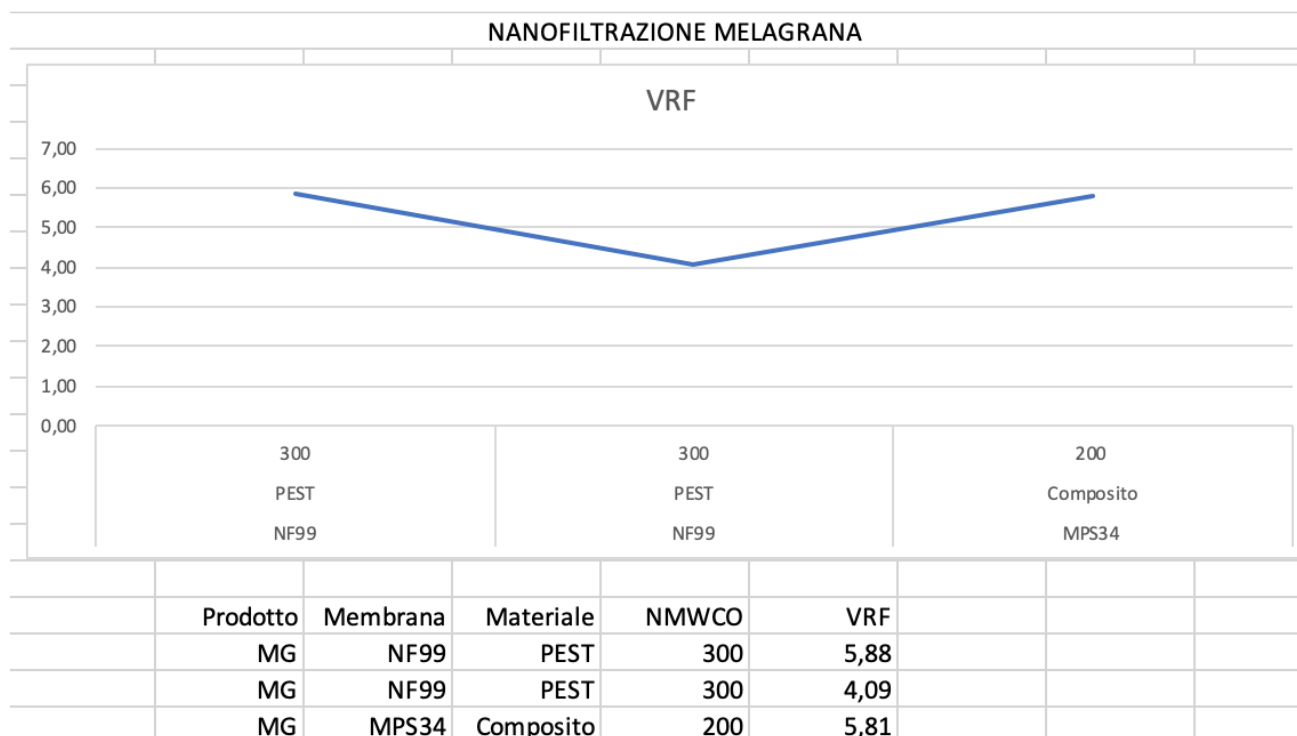
35,00
30,00
25,00
20,00
15,00
10,00
5,00
0,00

300
PEST
NF99

200
Composito
MPS34

300
Composito
RO90

Prodotto	Membrana	Materiale	NMWCO	VRF
FD	NF99	PEST	300	3,28
FD	MPS34	Composito	200	4,05
FD	RO90	Composito	300	2,45



Oltre ai controlli di processo, sono stati eseguiti controlli analitici per verificare le variazioni del contenuto di sostanze quali gli zuccheri e gli acidi e delle sostanze a carattere nutraceutico quali gli antociani e le betalaine. Per alcune delle prove effettuate, su alimento, permeato e ritentato sono state

eseguite le analisi del grado Brix e dell'acidità totale espressa come acido citrico anidro; per i succhi di arancia rossa e di melagrana con metodica HPLC è stato quantificato il contenuto di antociani espressi come cianidina-3-glucoside mentre per i succhi di ficodindia sempre in HPLC è stato valutato il contenuto di betalaine espresse come "Area Peak" in quanto per queste sostanze non sono disponibili standard puri.

Le analisi sono state eseguite con un sistema UHPLC Agilent 1260 comprendente pompa quaternaria, autocampionatore, termostato colonna e rivelatore a matrice di diodi.

Le analisi di Antociani per i succhi di arancia rossa sono state eseguite con il metodo seguente:

Analisi HPLC degli Antociani – Metodo Mondello (UniME)

(J. Pharm. Biom. Anal. 23 (2000), 191-195)

Colonna : Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 2,1 x 100 mm (1,8
Temperatura : 40°C
Volume Iniezione : 5 µl
Eluente A : H₂O – HCOOH* 9:1
Eluente C : H₂O - HCOOH* - CH₃CN 4:1:5
Flusso : 0,15 ml/min

*NOTA : HCOOH 99%

GRADIENTE

Tempo	% A	% C	Durata
0 88	12		
1 88	12		1
26 70	30		25
31 0	100		5
40 88	12		9
60 88	12		20

RILEVAZIONE

Diode Array Detector

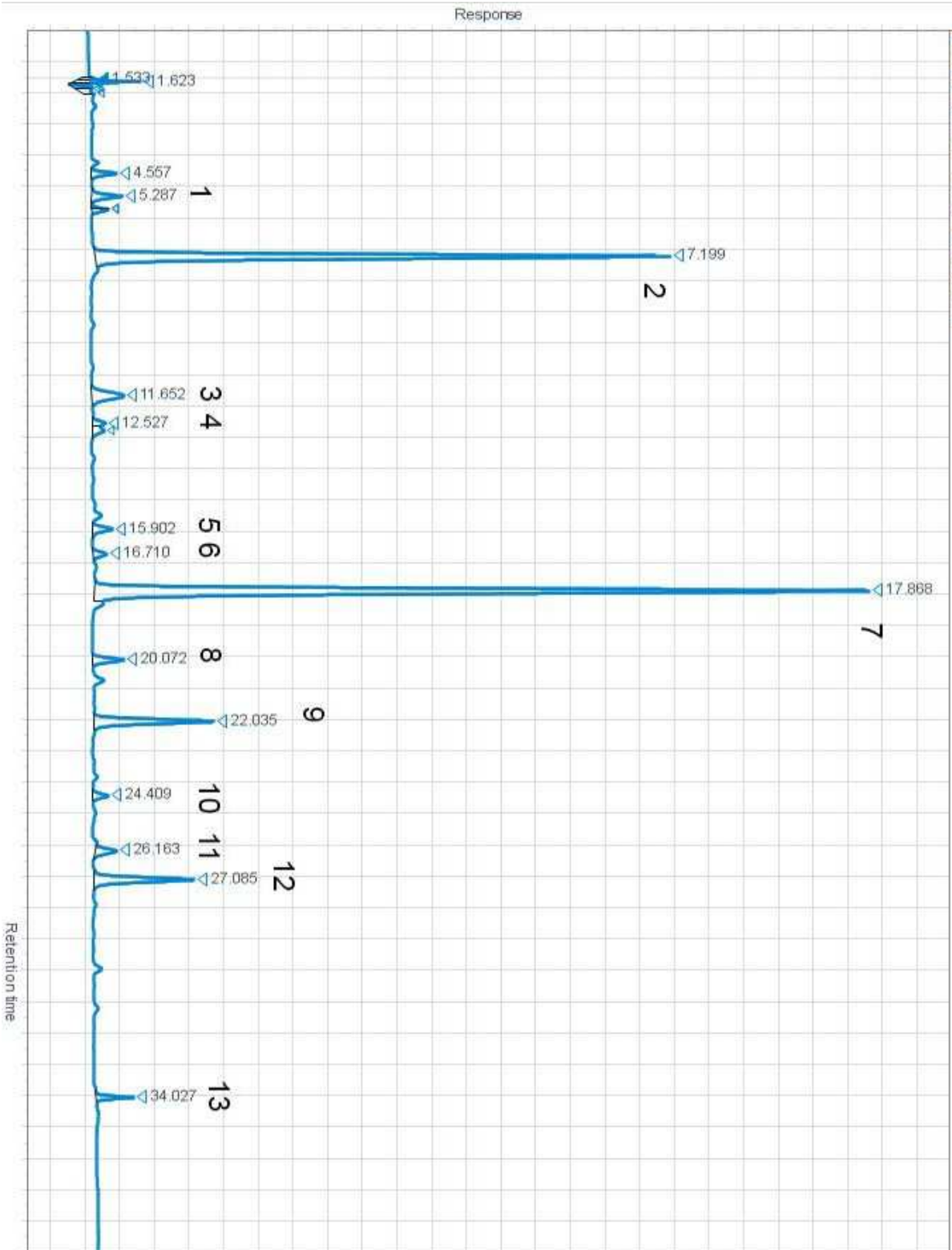
Lunghezza d'onda 518 nm Bandwith 4 nm

Ref. Wavelength 700 nm

Acquisizione Spettro : 400 – 700 nm Step 2

Peakwidth: 0.0063 min (0,13 s response time)

Il cromatogramma tipo ottenuto è il seguente:



Le analisi di Antociani per i succhi di melagrana sono state eseguite con il metodo seguente:

Analisi HPLC degli Antociani Succo Melagrana

Metodo Caravaca (J. Agric. Food Chem. 2013, 61, 5328-5337)

Colonna : Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 2,1 x 100 mm (1,8
Temperatura : 25°C
Volume Iniezione : 5 µl
Eluente A : H2O – HCOOH* 9:1
Eluente B : CH3CN
Eluente D : H2O
Flusso : 0,15 ml/min

*NOTA : HCOOH 99%

GRADIENTE

Tempo	% A	% B	% D	Durata
0	47.5	5	47.5	
2 46.5	7		46.5	2
4	45.5	9	45.5	2
6 44	12		44	2
8	42.5	15	42.5	2
9 42	16		42	1
10	41.5	17	41.5	1
12 41	18	41		1
15	0	100	0	3
20 0	100	0		5
21	47.5	5	47.5	1
40 47.5	5	47.5		19

RILEVAZIONE

Diode Array Detector

Lunghezza d'onda 518 nm Bandwith 4 nm

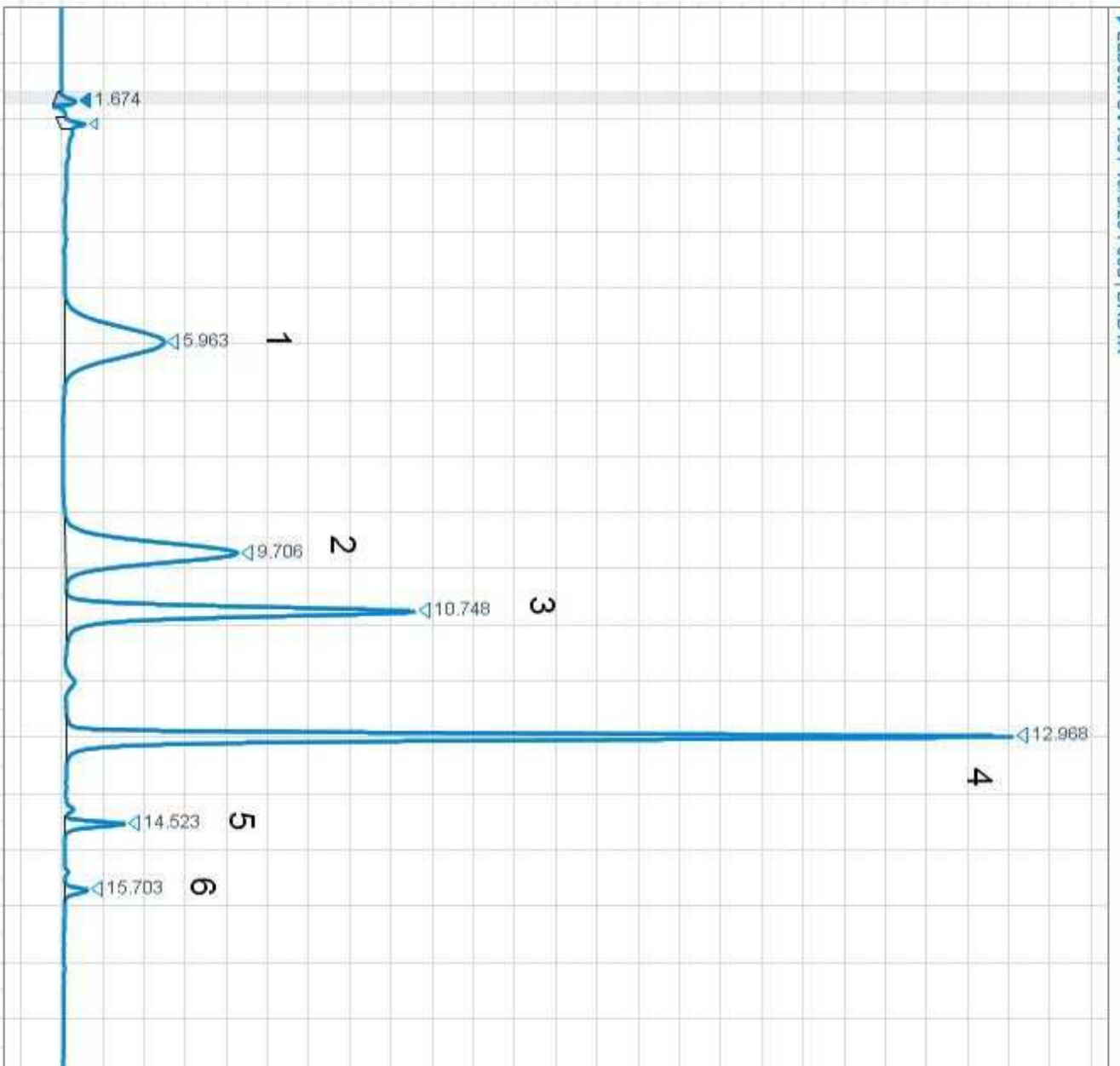
Ref. Wavelength 700 nm

Acquisizione Spettro : 400 – 700 nm Step 2

Peakwidth: 0.0063 min (0,13 s response time)

Il cromatogramma tipo ottenuto è il seguente:

Response



La valutazione delle betalaine è stata eseguita con la metodica seguente:

Analisi HPLC delle Betalaine Succo Ficodindia

Metodo Castellanos (J. Agric. Food Chem. 2008, 56, 5758-5764)

Colonna : Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 2,1 x 100 mm (1,8
Temperatura : 25°C
Volume Iniezione : 5 µl
Eluente A : CH3OH
Eluente D : H2O
Flusso : 0,15 ml/min

GRADIENTE

Tempo	%A	%D	Durata
0	0	100	
30	70	30	
40	100	0	10
41	100	1	
60	0	100	19

RILEVAZIONE

Diode Array Detector

Betaxantine - Lunghezza d'onda 482 nm Bandwith 4 nm Ref. Wavelength 700 nm

Betacianine - Lunghezza d'onda 535 nm Bandwith 4 nm Ref. Wavelength 700 nm

Acquisizione Spettro : 400 – 700 nm Step 2

Peakwidth: 0.0063 min (0,13 s response time)

Il cromatogramma tipo registrato a 482 nm per le betaxantine è riportato accanto:

Il cromatogramma tipo registrato a 535 nm per le betacianine è riportato di seguito:

CONSIDERAZIONI A LIVELLO ANALITICO: SUCCO DI ARANCIA ROSSA

Le membrane da ultrafiltrazione utilizzate sul succo di arancia rossa sembrano, fondamentalmente trattenere i colloidali (pectine, soprattutto) e lasciano passare zuccheri, acidi organici e antociani.

Le membrane in PES (polietersolfone), più o meno indipendentemente dal cut-off molecolare nominale “trasportano” circa il 75% in massa degli antociani sul permeato e mostrano una reiezione leggermente superiore (67% circa) sui solidi solubili e gli acidi organici.

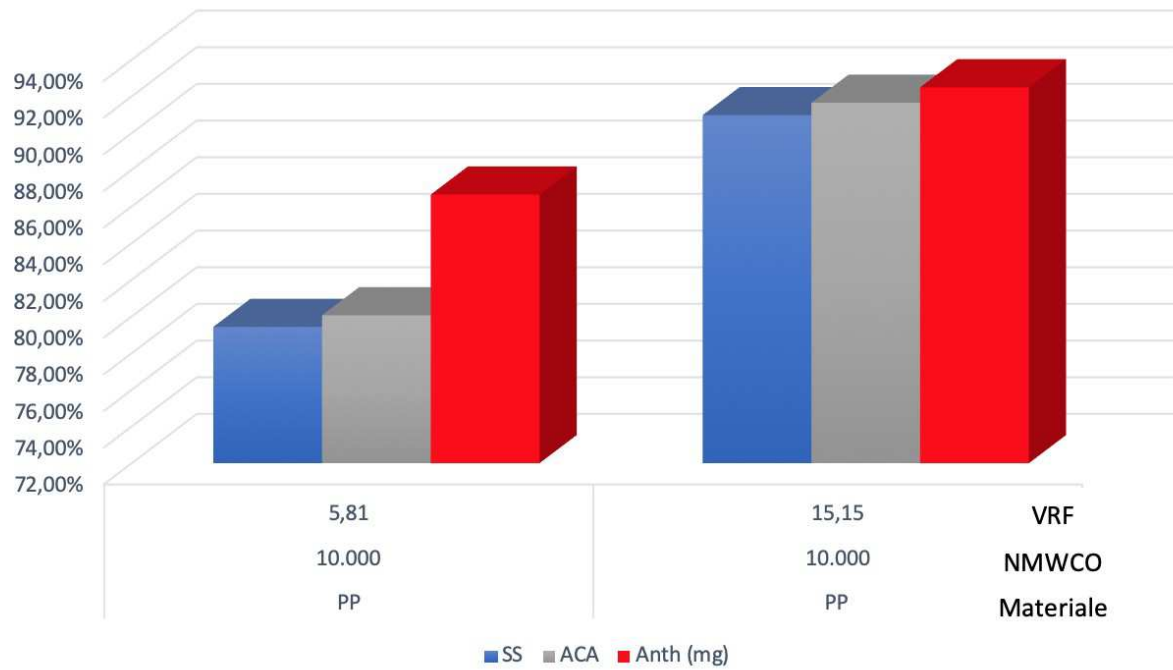
La membrana in PVDF controllata (150.000 Dalton) “trasporta” in massa sul permeato il 76% dei solidi solubili e il 83% degli antociani.

La membrana in PP (polipropilene) da 10.000 Dalton usata per “ripulire” i permeati derivanti da membrane più larghe praticamente non trattiene né solidi solubili, né acidi né antociani.

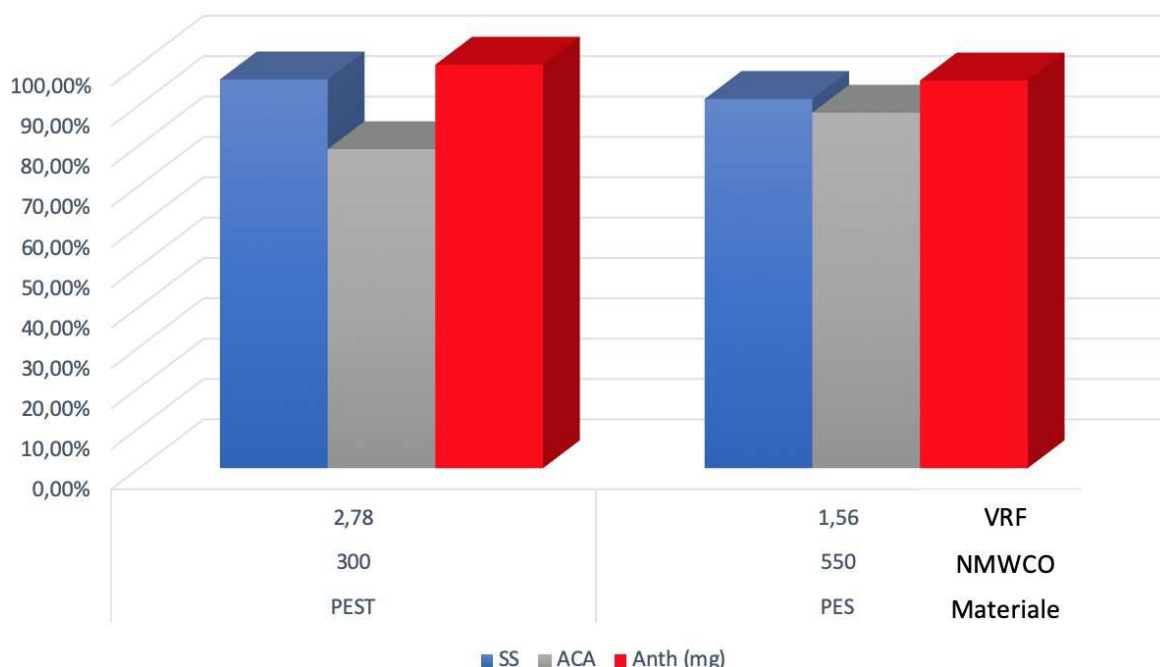
Le membrane da nanofiltrazione che abbiamo controllato mostrano di essere più selettive: quella in poliestere da 300 Dalton di cut-off molecolare nominale trattiene il 96% dei solidi solubili, il 79% degli acidi organici e tutti gli antociani; la membrana in PES da 550 Dalton di cut-off molecolare nominale trattiene il 91% dei solidi solubili, il 88% degli acidi organici e il 96% degli antociani.

Nelle pagine seguenti i grafici riepilogativi:

Ultrafiltrazione Permeato Arancia Rossa - Permeati



Nanofiltrazione Permeato Arancia Rossa - Ritentati



CONSIDERAZIONI A LIVELLO ANALITICO: SUCCO DI MELAGRANA

Il succo di melagrana si comporta in modo parecchio differente rispetto al succo di arancia rossa ove trattato su membrane. Intanto, il materiale con cui la membrana è costruita sembra essere il fattore principale che influenza i risultati analitici e l'influenza riguarda sia i solidi solubili che gli acidi e gli antociani.

A titolo di esempio, una membrana da ultrafiltrazione in PVDF da 150.000 Dalton di cut-off molecolare nominale “trasporta” sul permeato il 50% dei solidi solubili, il 40% degli acidi organici e il 43% degli antociani; questi dati diventano, rispettivamente, 70%, 72% e 71% con una membrana in polisolfone da 100.000 Dalton. Il PES dà risultati nettamente peggiori: solo il 44% dei solidi, il 42% degli acidi organici e il 20% degli antociani è trasferito nel permeato.

Anche la membrana in polipropilene utilizzata per “ripulire” i permeati derivanti da membrane larghe prima della concentrazione in nanofiltrazione ha trattenuto il 55% degli antociani!

Questi risultati ci hanno spinto a ripetere, durante il mese di Luglio c.a., alcuni test con il succo di melagrana usando la membrana Nadir US100 in polisolfone e con NMWCO pari a 100.000 Dalton. In queste prove abbiamo depulpato il succo e aggiunto l'enzima (300 mg/l) nel vessel del Labcell; visti i

flussi bassi, a un certo momento della prova sono stati aggiunti altri 2 g/l di enzima. Il VRF che si è ottenuto è pari a 1,57 e la ripartizione di solidi, acidi e antociani è riportata nel grafico a fianco.

A questo punto, la prova è stata ripetuta, con la medesima membrana, aggiungendo ben 5 g/l di enzima al succo, lasciandolo agire per 6 ore a temperatura ambiente e lasciandolo ulteriori 18 ore a contatto con l'enzima in frigorifero. Il succo, dopo decantazione, è stato alimentato direttamente (e praticamente limpidizzato) sul labcell. Nonostante tutto, i flussi sono rimasti

prima prova effettuata con questa membrana che con succo trattato con dosi normali di enzima aveva permesso di raggiungere un VRF di 4,9 con il bilancio di massa riportato nel grafico a fianco.

I risultati ottenuti sembrano indicare che l'unico modo per "trasportare" gli antociani del succo di melagrana attraverso le membrane da ultrafiltrazione sia di lavorare con VRF elevati e questo, con tutta probabilità, indipendentemente dal materiale con cui le membrane sono costruite.

Inoltre, è sempre presente, anche con un succo "demolito enzimaticamente" un prodotto polverulento che si deposita sulla superficie della membrana sporcandola, come mostrato nella foto accanto.

Con il permeato ottenuto nell'ultima prova Nadir US100, abbiamo ripetuto la concentrazione in nanofiltrazione usando la membrana NF99 di Alfa-Laval.

Questa membrana, anche con un VRF basso (2,06) comunque lascia passare praticamente solo acqua come mostrato nel grafico di seguito. Questi risultati, nell'ottica del nostro progetto costituiscono un problema serio in quanto abbiamo la necessità di far passare quanto più antiossidanti

possibile nelle fasi di chiarifica e di trattenerli nella fase di concentrazione.

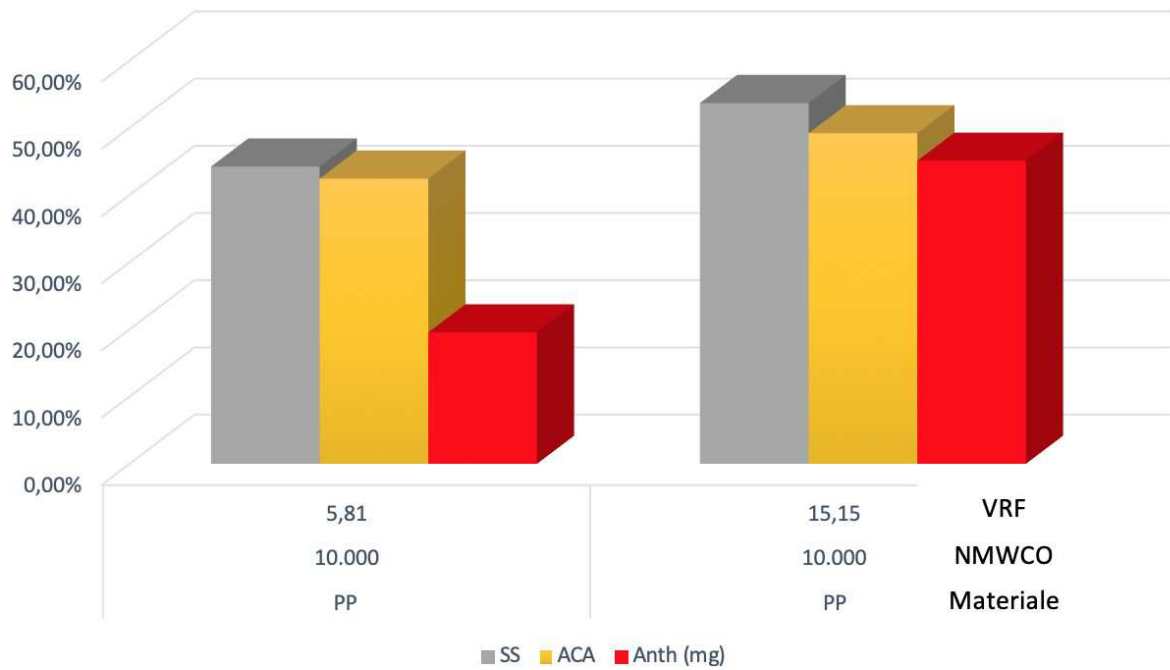
La seconda fase sembra non presentare problemi, mentre, relativamente alla prima abbiamo deciso di provare la chiarifica usando una membrana da microfiltrazione; dal momento che sembra che un eccesso di enzima non solo non sia utile ma addirittura dannoso abbiamo deciso di lavorare con succo decantato e, quindi, centrifugato, aggiungendo un basso dosaggio di enzima (100 ppm) al succo preriscaldato a 32°C immediatamente prima di lavorare sul Labcell. La membrana utilizzata è stata la Nadir MV020T in PVDF avente una dimensione dei pori da 0,2 μ .

La membrana ha restituito succo limpido e colorato con i dati riepilogativi riportati nel grafico adiacente. Non è stata effettuata la prova seguente di concentrazione in nanofiltrazione in quanto abbiamo già dati sufficienti ad affermare che la stessa non comporterà problemi.

Le prove effettuate a Luglio 2020 non sono incluse nella tabella di pag. 5.

Nelle pagine seguenti i grafici riepilogativi:

Ultrafiltrazione Permeato Melagrana - Permeati



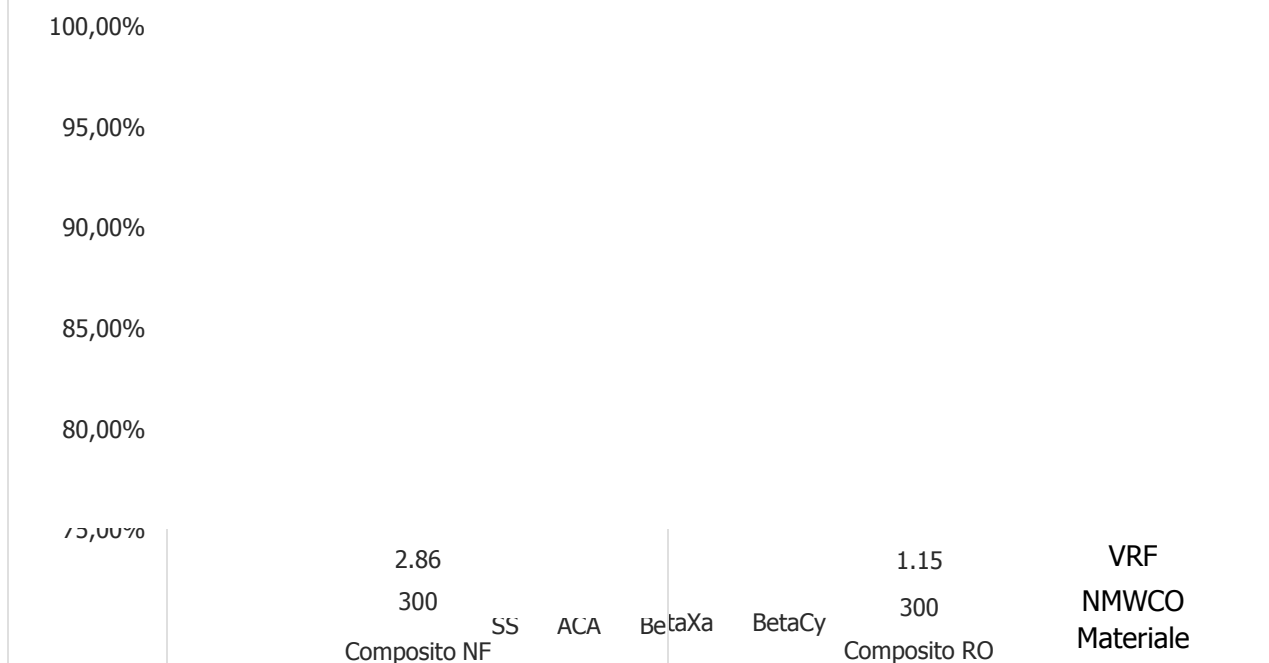
CONSIDERAZIONI A LIVELLO ANALITICO: SUCCO DI FICODINDIA

Le membrane da microfiltrazione utilizzate sul succo di ficodindia sembrano, fondamentalmente trattenere i colloidali e lasciano passare zuccheri, acidi organici e antociani, in funzione del VRF.

Anche il trasporto attraverso una membrana da ultrafiltrazione in PES del permeato della microfiltrazione sembra essere congruo e non dare problemi, così come la concentrazione che sembra essere più semplice in

nanofiltrazione che in osmosi inversa. Di seguito i grafici riepilogativi:

Nanofiltrazione/Osmosi Inversa Permeato Ficodindia - Ritentati



In conclusione, le prove di laboratorio effettuate con l'impiantino Koch Labcell, indicano che sarà possibile utilizzare sistemi a membrana che permettano di concentrare a bassa temperatura i succhi di arancia rossa, ficodindia e melagrana arricchendoli in attivi; all'atto della redazione del presente documento le analisi ORAC non sono state ancora effettuate ma riteniamo che l'affermazione sia corroborata dal fatto che si sia riusciti a trasferire gli antociani e le betalaine dalla parte preventivata sia delle membrane da chiarifica che da quelle di concentrazione.

In particolare, per l'arancia rossa la chiarifica andrà effettuata preferibilmente con membrane in PVDF o in polipropilene che garantiscono maggior "trasporto" di antiossidanti e garantiscono flussi di permeazione buoni anche senza l'uso di enzimi; relativamente alla concentrazione in nanofiltrazione, sono preferibili le membrane in poliestere o in materiale composito.

Il succo di melagrana andrà chiarificato con membrane da microfiltrazione in PVDF che garantiscono, al contrario di altri polimeri, flussi di permeazione buoni e trasporto di antiossidanti attraverso la membrana; la concentrazione in nanofiltrazione andrà effettuata con membrane in materiale composito.

Il succo di ficodindia andrà chiarificato con membrane da microfiltrazione in PVDF che garantiscono, flussi di permeazione buoni e trasporto di antiossidanti attraverso la membrana; la concentrazione in nanofiltrazione andrà effettuata con membrane in materiale composito.

Su qualcuna delle prove effettuate sono state eseguite nei laboratori dell'Università di Palermo e dell'Università di Catania delle determinazioni di valori ORAC per valutare come questo valore varia tra feed, permeato e ritentato sia nelle prove di chiarifica che di preconcentrazione su membrana.

Relativamente alla chiarifica, non ci sono variazioni particolari del valore ORAC che si distribuisce egualmente tra permeato e ritentato a confermare che la rimozione dei colloidali e di sostanze ad alto peso molecolare non influisce sul valore ORAC che è determinato sostanzialmente dal potere antiossidante di molecole a peso molecolare relativamente basso.

Al contrario, nelle fasi di concentrazione su membrana i valori ORAC determinati sui ritentati sono notevolmente accresciuti e seguono abbastanza fedelmente i VRF delle prove sperimentali. Questo risultato ci conforta poiché conferma l'idea progettuale di base dell'arricchimento in sostanze utili per la salute mediante le tecniche a membrana.

A titolo esemplificativo, nella concentrazione del succo di ficodindia con la membrana NF99 del 17/06/2020 ($VRF=2,86$) il valore ORAC sul ritentato raddoppia; nella concentrazione del succo di melagrana con la membrana NF99 del 17/06/2020 ($VRF=5,9$) il valore ORAC del feed (1154) cresce a 4858 nel ritentato mentre il permeato si ferma a 222; ciò corrisponde ad un bilancio di massa superiore all'85% e ad una distribuzione dell'ORAC tra ritentato e permeato di 81,8:18,2.

Nella concentrazione del succo di arancia rossa del 25/06/2020, sempre su NF99, l'ORAC si trasferisce in modo praticamente quantitativo sul ritentato.

ALLEGATI

Schede Prove Microfiltrazione su Succhi di Arancia Rossa

[MF01_MV020T 13/5/20](#)

[MF02_MFK618 15/5/20](#)

[MF03_MFK603 15/5/20](#)

Schede Prove Ultrafiltrazione su Succhi di Arancia Rossa

[UF01_UV150T 13/5/20](#)

[UF02_UP150P 14/5/20](#)

[UF03_HFM180 18/5/20](#)

[UF04_HFM183 18/5/20](#)

[UF05_UH050 19/5/20](#)

[UF06_UH030P 19/5/20](#)

[UF07_US100 20/5/20](#)

[UF08_UH030P 19/5/20](#)

[UF09_UH050 22/5/20](#)

[UF10_UP010P 25/5/20](#)

[UF11_UP010P 25/5/20](#)

[UF12_ETNA10PP 27/5/20](#)

[UF13_HFK131 27/5/20](#)

[UF14_ETNA10PP 26/5/20](#)

[UF15_ETNA01PP 26/5/20](#)

[UF16_ETNA10PP 25/6/20](#)

[UF17_ETNA10PP 26/6/20](#)

Schede Prove Nanofiltrazione/Osmosi Inversa su Succhi di Arancia Rossa

[NF01_NF99 25/6/20](#)

[NF02_NP030P 25/6/20](#)

[NF03_MPS34 29/6/20](#)

[RO_HRX 30/6/20](#)

Schede Prove Microfiltrazione su Succhi di Ficodindia

[MF01_MV020T 04/6/20](#)

[MF02_MFK603 11/6/20](#)

[MF03_MFK618 11/6/20](#)

[MF04_MV020T 12/6/20](#)

Schede Prove Ultrafiltrazione su Succhi di Ficodindia

[UF01_UH030P 17/6/20](#)

[UF02_UH050 18/6/20](#)

Schede Prove Nanofiltrazione/Osmosi Inversa su Succhi di Ficodindia

[NF01_NF99 17/6/20](#)

[NF02_NF99 18/6/20](#)

[NF03_MPS34 18/6/20](#)

[RO01_RO90 17/6/20](#)

[RO02_HRX 29/6/20](#)

Schede Prove Microfiltrazione su Succhi di Melagrana

[MF01_MV020T 27/7/20](#)

Schede Prove Ultrafiltrazione su Succhi di Melagrana

[UF01_UH050 04/6/20](#)

[UF02_HFM180 10/6/20](#)

[UF03_HFM183 10/6/20](#)

[UF04_US100 12/6/20](#)

[UF05_US100 16/6/20](#)

[UF06_UH030P 17/6/20](#)

[UF07_ETNA10PP 19/6/20](#)

[UF08_UV150T 19/6/20](#)

[UF09_ETNA10PP 22/6/20](#)

[UF10_UV150T 22/6/20](#)

[UF11_UH030P 24/6/20](#)

[UF12_US100 14/7/20](#)

[UF13_US100 16/7/20](#)

Schede Prove Nanofiltrazione/Osmosi Inversa su Succhi di Melagrana

[NF01_NF99 17/6/20](#)

[NF02_NF99 19/6/20](#)

[NF03_NF99 23/6/20](#)

[NF04_MPS34 24/6/20](#)

[NF05_NF99 16/7/20](#)

Report Performances Membrane

Performances

Report Dati Analitici Membrane

Analisi