

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Dip. Territorio e sistemi agro-forestali

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGICHE VITICOLE ED
ENOLOGICHE

Tesi di laurea

“Recupero di sottoprodotti di distilleria: analisi tecnico-qualitativa
dell'essiccazione”

Relatore

Prof. Lorenzo Guerrini

Correlatori

Dott. Alberto De Iseppi

Dott. Alessandro Zanchin

Laureando

Bin Giovanni

N°matricola: 2032780

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

"A Mamma, Papà e Nonni per il supporto incondizionato e a chiunque possa sentirsi partecipe del mio percorso, in positivo e non, contribuendo comunque alla mia crescita personale"

Sommario

Riassunto.....	1
Abstract.....	2
Sommario	3
Scopo.....	3
1. Introduzione.....	5
1.1 Prefazione.....	5
1.2 Sottoprodotti del settore enologico	5
1.2.1 Fecce da vino	5
1.2.2 Sottoprodotti della distillazione.....	5
1.2.3 Utilizzo enologico dei sottoprodotti	6
1.2 Metodologie d'essiccazione valutate.....	6
1.3.1 Tecnologia a microonde(MAE).....	8
1.3.2 Metodo spray-drying(essiccazione a spruzzo).....	9
1.3.3 Liofilizzazione	11
1.3.4 Estrazione enzimatica/alcalina.....	12
1.3 Considerazioni iniziali.....	12
2. Riferimenti teorici	14
2.1 Composizione chimica sottoprodotti enologici	14
2.2 Nozioni microbiologiche sulle mannoproteine	14
2.3 Le mannoproteine in enologia	15
3. Materiali e metodi	18
3.1 Preparazione dei campioni:	18
3.2 Essiccazione e relative analisi:.....	18
3.3 Limiti e accorgimenti presi	20
4. Risultati e discussione	21
4.1 Elaborazione dati	21
4.2 Commento e analisi dei dati raccolti.....	23
4.3 Analisi del colore	24
4.4 Considerazioni relative alle variazioni del colore	27
5. Conclusione	30
Bibliografia.....	32

Riassunto

La tesi in questione mira ad idealizzare un protocollo efficace per l'essiccazione di residui da processi enologici (quali distillazioni e vinificazioni) per recuperare da tali matrici dei sottoprodotti validi riutilizzabili nel medesimo settore, curandosi delle dinamiche necessarie per uno sviluppo futuro in termini impiantistici dei risultati ottenuti, il tutto grazie a delle prove sperimentali.

Il *primo capitolo* evidenzia le principali tematiche affrontate, dallo studio delle matrici, utilizzando nozioni attendibili grazie ad articoli scientifici pubblicati in rete, successivamente, con il medesimo approccio, sono state valutate le varie metodologie possibili per l'essiccazione di residui di lavorazioni enologiche e valutate in termini di una concreta applicazione, ipotizzando una tesi sperimentale volta alla determinazione di uno specifico protocollo.

Il *secondo capitolo* tratta le principali nozioni tecniche e teoriche riguardanti i sottoprodotti del settore enologico, valutate preventivamente alla sperimentazione (su cui si) fondano le basi dell'idea di economia circolare a cui si ispira questa produzione scientifica.

Il *terzo capitolo* illustra la sperimentazione svolta, dall'ottenimento dei campioni utilizzati fino al completamento del protocollo d'essiccazione sviluppato in relazione ai grafici ottenuti dai dati raccolti.

Il *quarto capitolo* esprime le considerazioni alla luce dal piano sperimentale svolto, fondando le basi per applicazioni future anche in termini industriali.

Abstract

This experimental thesis aims to evaluate an effective process in order to exploit distillation waste known as fluid stills. One possibility, currently the subject of this experiment, is that of valorizing these liquid matrices, drying them (without denaturing their composition), evaluating the most convenient methodology in terms of environmental and economic sustainability but above all from a logistical and plant feasibility point of view to then extract the proceeds (to be able to reuse and preserve them). Recent scientific studies often do not address aspects regarding the transformation of polysaccharides or, specifically, mannoproteins; for this reason, this experiment was carried out.

This result would allow the recovery of organic compounds such as mannoproteins, which can be reused, especially in the wine sector, given their various applications. This practice is unusual given that at the moment there are not many preparations based on them on the market. All this would truly represent a concrete example of circular economy, where extremely valid products and by-products are obtained from the residues of a process, which constitute an excellent economic alternative.

This thesis includes an initial phase of research, documentation and analysis of various drying methods (spray-drying, microwaves and sublimation above all) and extraction of mannoproteins in general, so as to be able to evaluate and choose the most effective and economical methodologies from a plant/manufacturing point of view. Subsequently, based on the data collected and the considerations made, the real experimentation phase is carried out which led to certain conclusions, or to the creation of an experimental plan that can be useful for future industrial applications.

Sommario

Questa tesi sperimentale mira a valutare un processo efficace al fine di sfruttare degli scarti della distillazione noti come borlande fluide. Una possibilità, attualmente oggetto di codesta sperimentazione, è quella della valorizzazione di queste matrici liquide, essiccandole (non denaturandone la composizione), valutando la metodologia più conveniente in termini di sostenibilità ambientale, economica ma soprattutto dal punto di vista logistico e della fattibilità impiantistica per poi estrarne il ricavato (così da poterlo riutilizzare e conservare). I recenti studi scientifici spesso non affrontano aspetti riguardanti la trasformazione dei polisaccaridi o nello specifico le mannoproteine, per questo motivo è stata svolta questa sperimentazione.

Tale risultato consentirebbe di recuperare dei composti organici quali le mannoproteine, al fine di riutilizzarle, specialmente nel settore enologico, date le loro svariate applicazioni. Questa pratica risulta singolare dato che al momento nel mercato non sono presenti molteplici preparati a base di esse. Tutto ciò rappresenterebbe davvero un concreto esempio di economia circolare, dove da dei residui di una lavorazione vengono ottenuti prodotti e sottoprodotti estremamente validi, i quali costituiscono un'ottima alternativa economica.

Questo elaborato prevede una iniziale fase di ricerca, documentazione e analisi di svariati metodi di essiccazione (spray-drying, microonde e sublimazione soprattutto) ed estrazione delle mannoproteine in generale, così da poter valutare e scegliere le metodologie più efficaci ed economiche dal punto di vista impiantistico/realizzativo. Successivamente, in base ai dati raccolti e alle considerazioni fatte viene svolta la vera fase di sperimentazione che ha portato a determinate conclusioni, ovvero alla realizzazione di un piano sperimentale che può risultare utile per prossime applicazioni industriali.

Scopo

Le borlande fluide (burlande), ottenute a valle del processo di distillazione come reflu fermentati, costituiscono lo scarto principale della filiera, queste matrici hanno caratteristiche fisico-chimiche particolari e sono di interesse nella realizzazione di filiere sostenibili.

Una possibilità, attualmente oggetto di codesta sperimentazione, è quella della valorizzazione di queste matrici liquide, essiccandole (non denaturandone la composizione), valutando la metodologia più conveniente in termini di sostenibilità ambientale, economica ma soprattutto dal punto di vista logistico e della fattibilità impiantistica per poi estrarre il ricavato (così da poterlo riutilizzare, conservare).

Tale risultato consentirebbe di recuperare dei composti organici quali le mannoproteine, per un loro successivo utilizzo in enologia, date le loro molteplici applicazioni nel settore. Tale pratica può risultare davvero interessante dato che al momento non esistono molteplici prodotti commerciali

che le contengano. Ciò sarebbe un esempio davvero concreto di economia circolare, dove da dei residui di una lavorazione vengono ottenuti prodotti e sottoprodotti alquanto interessanti con specifiche caratteristiche fisico-chimiche, risultando così un'ottima alternativa economica.

1. Introduzione

1.1 Prefazione

Una delle sfide più importanti del settore enologico è il recupero e la valorizzazione di beni di pregio composti dell'uva e dei suoi derivati. L'industria vinicola produce grandi quantità di sottoprodotti, tra cui vinacce, raspi e fecce. Questi sottoprodotti della vinificazione sono considerati un'importante fonte di composti bioattivi con attività antiossidante, come i composti fenolici. I composti fenolici sono molto apprezzati perché possono essere utilizzati nell'industria farmaceutica, cosmetica e alimentare. Tuttavia, le fecce di vino sono i sottoprodotti meno studiati e sfruttati dell'industria vinicola.

1.2 Sottoprodotti del settore enologico

1.2.1 Fecce da vino

Le fecce risultanti dai processi enologici rappresentano uno dei principali sottoprodotti della produzione vinicola. Durante la vinificazione, si forma un composto comunemente noto come feccia, che contiene sia frazioni solide che liquide. La frazione solida è costituita da una miscela di lieviti, acidi organici (soprattutto acido tartarico), carboidrati insolubili (come materiali celluloseici o emicelluloseici), sali inorganici, lignina, proteine, composti fenolici, e residui dell'uva come la polpa. La frazione liquida è prevalentemente composta da etanolo e acidi organici, tra cui acido lattico e acido acetico. (*Jose' e Palacios, 2019*)

Numerosi studi recenti si sono concentrati sull'ottenimento di composti fenolici, come descritto in precedenza, ma poca attenzione è stata rivolta all'estrazione dei polisaccaridi dall'uva e dal vino. Questi polisaccaridi potrebbero avere un grande potenziale non solo come prodotti enologici, ma anche per i loro benefici per la salute umana. Proprio per questo motivo, la sperimentazione si è focalizzata non sulle fecce vinicole, ma sui residui del processo di distillazione, che presentano una composizione chimica particolarmente adatta all'estrazione di mannoproteine (proteine glicosilate). È importante notare che anche le fecce del vino, in particolare quelle del vino bianco, contengono buone quantità di questi polimeri, spesso superando il 50%. (*Canalejo et al.,2022*).

1.2.2 Sottoprodotti della distillazione

Le borlande sono i residui derivanti dai processi di fermentazione e distillazione di materiali contenenti zuccheri, come barbabietola e canna da zucchero, vinacce, patate e cereali. Questi residui possono essere fluidi o essiccati e trovano impiego principalmente nella produzione di biogas, nella composizione di mangimi e nella formulazione di concimi organici e organo-minerali. Tuttavia, in questa tesi viene valutato il potenziale delle borlande come agenti stabilizzanti e affinanti, e come possibili alternative ai chiarificanti proteici di origine animale o vegetale. La differenza principale tra borlande e fecce da vino risiede nella presenza di alcol nelle seconde.

Infatti, durante la distillazione, l'alcol viene separato dai residui, che risultano però più concentrati in solidi sospesi rispetto a quelli provenienti dai processi di vinificazione.

1.2.3 Utilizzo enologico dei sottoprodotti

Le fecce del vino vengono utilizzate per l'affinamento del prodotto stesso, soprattutto nei vini bianchi e negli spumanti, ma talvolta anche nei rossi. L'invecchiamento del vino sulle proprie fecce è una tecnica enologica tradizionale che consiste nel lasciare il vino a contatto con le fecce fini, costituite principalmente da cellule di lievito morte e alcuni residui dell'uva. L'autolisi dei lieviti, che avviene dopo la loro morte, provoca il rilascio di proteine cellulari, acidi nucleici, lipidi e polisaccaridi, permettendo a molti di questi componenti di diffondersi nel vino circostante. Questa tecnica migliora la qualità del prodotto poiché l'affinamento sui lieviti riduce l'astringenza e l'amaro, migliorando la struttura e la stabilità del colore del vino. Le proprietà acquisite durante l'affinamento sulle fecce sembrano essere dovute all'interazione dei composti fenolici con le mannoproteine rilasciate durante l'autolisi dei lieviti. La capacità del lievito di interagire con i composti fenolici e di adsorbirli suggerisce che le fecce ottenute dall'industria enologica possano essere considerate una fonte preziosa per l'estrazione di questi composti.

1.2 Metodologie d'essiccazione valutate

Il primo passo per la caratterizzazione chimica dei composti fenolici presenti nelle fecce di vino è la loro estrazione. Non esiste un metodo di estrazione universale; tuttavia, la tecnica più comunemente utilizzata per l'estrazione dei composti fenolici dalle fecce di vino è l'estrazione solido-liquido. I principali parametri da considerare includono il pretrattamento del campione (come essiccazione, liofilizzazione e macinazione), il tipo di solvente, il rapporto tra solvente e solido, la modalità di estrazione (che può avvenire tramite agitazione, ultrasuoni o microonde), la temperatura e il tempo di estrazione. (*Jose' e Palacios, 2019*).

Per quanto riguarda il pretrattamento delle fecce di vino, comunemente vengono essiccate a temperature comprese tra 40 °C e 50 °C in un forno o sottoposte a liofilizzazione per periodi di 24 o 48 ore. Per l'estrazione dei composti fenolici, il solvente più utilizzato è l'etanolo, spesso miscelato con acqua in varie proporzioni e talvolta regolato a pH acido. A differenza dei solventi organici convenzionali come il metanolo e l'acetone, noti per la loro efficacia ma anche per la tossicità e l'inquinamento ambientale che possono causare, l'etanolo, l'acqua e le loro miscele sono considerati i migliori solventi per l'estrazione. Questi solventi sono classificati come "verdi" perché sono più sicuri per la salute umana e causano meno impatti ambientali, consentendo anche l'uso diretto in applicazioni alimentari e farmaceutiche. (*Jose' e Palacios, 2019*).

La tecnologia ad ultrasuoni, nota anche come estrazione assistita da microonde, è impiegata per migliorare i processi di estrazione grazie al miglioramento del trasferimento di calore e massa

derivante dagli effetti acustici e dalla cavitazione ultrasonica. Questo approccio consente tempi più brevi ed una maggiore efficacia nel processo.

L'estrazione assistita da microonde (MAE) offre notevoli vantaggi in termini di efficienza estrattiva, riducendo significativamente i tempi di estrazione (solo 17 minuti nelle condizioni ottimali) rispetto ai metodi convenzionali. Gli estratti liquidi ottenuti tramite MAE sono ideali per essere successivamente essiccati per spruzzo. *(Luque de Castro e Pérez-Serradilla, 2011).*

È Si può optare per il metodo di essiccazione a spruzzo per rimuovere l'estrattore, trasformando l'estratto liquido ottenuto dal metodo MAE in una polvere. Dopo l'estrazione, le fecce possono essere centrifugate per separare la fase liquida. La fase solida residua viene essiccata a temperature comprese tra i 40°C e i 50°C e, se necessario, macinata ulteriormente in un mortaio.

Il metodo MAE si distingue per la sua elevata efficienza estrattiva, completando il processo in tempi significativamente più brevi (poche decine di minuti) rispetto ai metodi convenzionali, che richiedono ore o anche giorni per essere completati. *(Zhang et al.,2011)*

Per facilitare l'implementazione su scala industriale, è possibile utilizzare il processo di spray-drying, il quale aiuta a minimizzare le ossidazioni, particolarmente importanti nelle estrazioni dei polifenoli e da valutare anche per le mannoproteine.

L'estrazione assistita da microonde (MAE) impiega l'energia delle microonde per riscaldare solventi polari in contatto con campioni solidi, facilitando la separazione dei composti di interesse tra il campione e il solvente. Questo processo riduce significativamente il tempo di estrazione e il consumo di solventi. Gli estratti essiccati presentano diversi vantaggi rispetto alle forme liquide, come costi di stoccaggio inferiori e una maggiore concentrazione e stabilità delle sostanze attive. Per questo motivo, la maggior parte degli estratti commerciali derivati dall'uva sono disponibili sotto forma essiccata.

Nell'industria alimentare, una delle tecniche di essiccazione più utilizzate è l'essiccazione a spruzzo. Per migliorare sia l'efficienza dell'atomizzazione che le caratteristiche fisico-chimiche della polvere finale, spesso si ricorre all'uso di additivi come maltodestrine, biossido di silicio colloidale o loro miscele. *(Zhang et al.,2011)*

Sono state valutate, quindi, differenti metodologie di essiccazione e quelle che risultano di maggior interesse ai fini di un'estrazione da sottoprodotti enologici sono quello a microonde, spray(a goccia), la liofilizzazione e infine esiste pure l'estrazione enzimatica, utilizzata attualmente per produrre coadiuvanti a base di mannoproteine.

1.3.1 Tecnologia a microonde(MAE)

La tecnica di estrazione assistita con microonde (MAE) rappresenta un metodo rapido ed efficiente che sfrutta le microonde per riscaldare la miscela di campione e solvente, accelerando così il processo di estrazione dell'analita. A differenza delle fonti di calore tradizionali che agiscono sulla superficie, le microonde riscaldano l'intero volume della soluzione omogenea o punti riscaldanti localizzati, costituiti dalle molecole polari presenti nel prodotto. Questo approccio consente di ridurre il tempo necessario per raggiungere la temperatura desiderata, in quanto le microonde riscaldano direttamente la soluzione senza dover prima riscaldare il recipiente.

Le microonde sono radiazioni non ionizzanti con frequenze comprese tra 300 e 300.000 MHz, capaci di attivare i livelli energetici rotazionali delle molecole, provocando il loro surriscaldamento. Questo fenomeno si basa sugli effetti di rotazione del dipolo e di conduzione ionica generati dalle microonde sulle molecole dipolari e cariche elettricamente. Le molecole dipolari, come l'acqua, che hanno un'estremità con carica positiva e una con carica negativa, reagiscono al campo elettrico alternato delle microonde allineando il loro dipolo con esso, generando calore per attrito con le molecole circostanti. La migrazione elettroforetica degli ioni nella soluzione sotto l'effetto del campo elettrico delle microonde contribuisce ulteriormente al riscaldamento della soluzione attraverso la conduzione ionica.

Le molecole polari e le soluzioni ioniche assorbono efficacemente le microonde a causa del loro momento dipolare permanente, mentre i solventi apolari come l'esano non subiscono riscaldamento significativo. La MAE ha dimostrato eccellenti prestazioni in termini di recupero e precisione rispetto alle tecniche di estrazione tradizionali, riducendo anche il consumo di solventi e i tempi di estrazione. Studi comparativi hanno evidenziato la superiorità della MAE in vari contesti, confermando la sua efficacia nel migliorare l'efficienza estrattiva e la qualità degli estratti ottenuti. *(Pérez-Serradilla e Luque De Castro, 2011)*

Per ottimizzare il processo di essiccazione delle fecce e migliorarne la qualità, sono stati condotti degli esperimenti di essiccazione intermittente a microonde *(Zhang et al., 2011)*.

Per valutare il tasso di essiccazione, il consumo energetico e la qualità, sono stati utilizzati come parametri target nel metodo del grado di appartenenza. Seguendo il principio di progettazione sperimentale del composito centrale, è stata adottata la metodologia della superficie di risposta per esaminare l'impatto della potenza delle microonde, dello spessore delle fecce e del rapporto di pulsazione. In aggiunta, è stato sviluppato un modello di regressione polinomiale quadratica per ottimizzare le tecniche di essiccazione. *(Zhang et al.2011)*

I risultati hanno indicato che l'effetto dominante sui processi di essiccazione delle fecce era il rapporto di pulsazione, seguito dallo spessore delle fecce e infine dalla potenza delle microonde. I parametri ottimali identificati per il metodo di essiccazione a microonde intermittente delle fecce sono stati una potenza delle microonde di 480 W, uno spessore delle fecce di 2,78 cm e un rapporto di pulsazione di 6,625, che ha prodotto un punteggio complessivo massimo di 0,723. Questo studio fornisce una base teorica fondamentale per ulteriori sviluppi nelle apparecchiature e nella tecnologia di essiccazione a microonde delle fecce. (Zhang et al., 2011)

1.3.2 Metodo spray-drying(essiccazione a spruzzo)

La tecnologia dello spray drying è uno dei metodi più avanzati per la produzione di polveri da soluzioni o sospensioni acquose e organico-acquose. Questo processo di essiccazione è estremamente rapido poiché le goccioline nebulizzate offrono una vasta superficie al fluido essiccante, permettendo un'evaporazione efficiente del solvente. È particolarmente vantaggioso per l'industria farmaceutica e alimentare grazie alla sua capacità di lavorazione continua, alla velocità produttiva elevata e ai bassi costi operativi.

Oltre all'essiccazione di liquidi, la tecnica dello spray drying è ampiamente utilizzata anche per la microincapsulazione di sostanze e per la produzione di polveri con caratteristiche tecnologiche avanzate. A differenza di altri metodi di essiccazione come forni, liofilizzatori o evaporatori rotanti, che spesso richiedono ulteriori processi di lavorazione per ottenere particelle uniformi, l'essiccazione a spruzzo consente un controllo preciso delle proprietà delle particelle di polvere, come densità, dimensioni, caratteristiche di flusso e contenuto di umidità.

Il processo di essiccazione a spruzzo prevede diverse fasi fondamentali:

1. **Preparazione della fonte liquida:** il liquido da essiccare deve essere una soluzione, una sospensione o una pasta omogenea, priva di impurità e facilmente pompabile.
2. **Nebulizzazione:** è la fase critica del processo, in cui il liquido viene trasformato in goccioline. Questo influisce sulla velocità di essiccazione e sulle dimensioni dell'essiccatore. Le tecniche di nebulizzazione includono l'uso di ugelli a pressione, ugelli a doppio liquido e nebulizzazione centrifuga, ciascuna con vantaggi specifici in termini di efficienza energetica e distribuzione delle particelle.
3. **Essiccazione:** le goccioline nebulizzate vengono esposte a un gas riscaldato nella camera di essiccazione, dove avviene un'evaporazione rapida e uniforme dell'umidità dalla superficie delle particelle. Questa fase è gestita con una velocità costante seguita da una fase di riduzione della velocità, controllata dalla diffusione dell'acqua sulla superficie della particella.

4. **Separazione della polvere dal gas umido:** le particelle essiccate vengono separate dal gas umido utilizzando cicloni, filtri a sacco, precipitatori o scrubber, per garantire un processo economico e privo di contaminanti.
5. **Raffreddamento ed imballaggio:** le polveri essiccate vengono quindi raffreddate e confezionate per il successivo impiego.

Un sistema di controllo avanzato è essenziale per garantire un'essiccazione a spruzzo precisa e ripetibile, e deve includere funzionalità come il controllo preciso del setpoint, la gestione delle ricette per la parametrizzazione semplice, il controllo sequenziale per strategie complesse, la raccolta affidabile dei dati in tempo reale per analisi e test, e un'interfaccia operatore intuitiva con accesso controllato ai parametri.

In sintesi il tipo e la quantità di eccipienti utilizzati, nonché la temperatura di essiccazione a spruzzo, sono stati ottimizzati al fine di ridurre al minimo l'ossidazione dei composti fenolici e massimizzare la resa del processo di essiccazione a spruzzo (*Tiara et al., 2022*).

La deposizione irregolare ai bordi di una goccia in evaporazione, denominata effetto anello di caffè, è stata ampiamente studiata negli ultimi decenni per comprendere meglio la causa sottostante, vale a dire la dinamica del flusso e i successivi modelli formati dopo l'essiccazione (*Saebom L. et. al., 2022*). Esistono diverse tecniche utilizzate per mitigare l'effetto anello di caffè, che vanno dalle soluzioni classiche come l'aggiunta di additivi chimici e l'applicazione di fonti esterne, fino a metodologie più avanzate che non implicano modifiche alle proprietà della superficie, delle particelle o del liquido. Questi avanzamenti includono l'utilizzo di bolle, umidità, e sistemi confinati, che hanno dimostrato di essere particolarmente efficaci nelle configurazioni recentemente sviluppate.

La formazione della macchia ad anello osservata dopo l'essiccazione delle soluzioni colloidali è un fenomeno comune noto come effetto anello di caffè. Questo fenomeno è causato dalla non uniformità nella velocità di evaporazione lungo la superficie delle goccioline. Gli studi si sono concentrati sulla evaporazione delle goccioline sessili per comprendere il meccanismo che porta alla formazione dell'anello sul bordo, evidenziando l'influenza della linea di contatto stabile. L'effetto anello di caffè è influenzato dal flusso Marangoni generato dal ricircolo all'interno della goccia, e la comprensione delle modalità di evaporazione in relazione alla bagnabilità della superficie è cruciale per spiegare i diversi modelli di deposizione osservati. (*Saebom L. et. al., 2022*)

Negli ultimi decenni i ricercatori hanno sviluppato teoricamente e numericamente la dinamica di una gocciolina in evaporazione e hanno suggerito metodi per controllare il deposito modello utilizzando additivi chimici, fonti esterne, variazione della concentrazione di particelle o dimensioni

e geometrie diverse (J.A. Pérez, 2011). Durante l'essiccazione sessile delle goccioline, la stabilizzazione della linea di contatto sul substrato è cruciale per la formazione dell'anello. Le teorie hanno predetto il tasso di evaporazione e il flusso all'interno della goccia con linea di contatto fissa. Studi hanno esaminato il campo di flusso all'interno delle goccioline nel tempo, considerando l'effetto del flusso Marangoni e le trasformazioni delle particelle colloidali durante l'evaporazione, usando analisi numeriche e sperimentali. Nonostante la presenza comune degli anelli di caffè, sono state proposte diverse strategie per prevenirne la formazione, inclusi additivi chimici come polimeri, tensioattivi e sali, che alterano la reologia delle goccioline. Altre strategie non modificano la composizione delle goccioline, ma variano le condizioni di essiccazione o la geometria. Recentemente, sono stati esplorati gli effetti di fonti esterne come vapore, campi magnetici e onde acustiche superficiali (SAW) sui modelli di deposito. (J.A. Pérez, 2011).

Nelle ricerche consultate, gli studiosi hanno analizzato il processo base di evaporazione di goccioline sessili e come il flusso Marangoni può influenzare la formazione degli anelli di caffè, considerando le proprietà di bagnabilità della superficie. Lo studio ha esplorato diverse tecniche per controllare i modelli finali di deposizione delle goccioline essiccate, compresi sia metodi tradizionali che innovativi, come l'uso di additivi chimici, l'applicazione di fattori esterni e variazioni nelle configurazioni geometriche. Inoltre, sono state esaminate le potenziali applicazioni di tali tecniche. (Saebom L. et. al., 2022).

1.3.3 Liofilizzazione

La liofilizzazione è un processo avanzato di essiccazione utilizzato per conservare sostanze organiche mediante il congelamento dell'acqua contenuta e la successiva sublimazione sotto vuoto spinto del ghiaccio formatosi. Questo processo evita la fase liquida, mantenendo così le caratteristiche originali delle sostanze, che possono essere ripristinate con l'aggiunta di acqua. Utilizzato ampiamente per alimenti e materiali biologici, la liofilizzazione preserva non solo la stabilità a lungo termine, ma anche l'attività biologica del prodotto durante e dopo il processo di essiccazione.

Durante la liofilizzazione, il prodotto viene congelato per bloccare l'acqua sotto forma di ghiaccio solido, seguito dalla sublimazione del ghiaccio interstiziale sotto vuoto. Questo processo avviene a temperature molto basse, generalmente tra -60°C e -70°C , per evitare danni alla struttura del prodotto. La fase primaria di sublimazione rimuove la maggior parte dell'acqua, mantenendo una temperatura controllata per ottimizzare la differenza di pressione del vapore tra il campione e il condensatore. Questa fase è cruciale per garantire che il prodotto mantenga la sua integrità strutturale e biologica.

Segue poi la fase di essiccazione secondaria, in cui l'acqua adsorbita, fortemente legata ai solidi del campione, viene trasformata in vapore e rimossa. Questo processo, chiamato desorbimento, riduce ulteriormente l'umidità residua, portandola tipicamente tra l'1% e il 5%.

I liofilizzatori devono garantire un vuoto perfetto per il corretto funzionamento del processo. Questa tecnologia, nonostante i costi elevati e i tempi lunghi (mediamente 24 ore per ciclo), preserva la struttura molecolare del prodotto, mantenendo intatte le proprietà essenziali. Tuttavia, l'alto costo di investimento e di gestione rende la liofilizzazione più adatta a situazioni in cui la qualità del prodotto è prioritaria rispetto ai costi.

1.3.4 Estrazione enzimatica/alcalina

Il processo inizia con una sospensione di lieviti (*Saccharomyces cerevisiae*) che viene sottoposta a centrifugazione. L'autolisi è il processo mediante il quale le cellule di lievito si decompongono sotto l'azione dei propri enzimi idrolitici, un processo che viene intenzionalmente indotto in queste sperimentazioni. Dopo l'autolisi, gli enzimi endogeni vengono inattivati a una temperatura di 80°C per 15 minuti. Successivamente, l'autolisato deve essere raffreddato fino a raggiungere la temperatura ambiente e sottoposto a centrifugazione prima di essere congelato a -4°C. (*Kuntsova et al., 2023*)

La fase successiva implica l'estrazione termica, dove è fondamentale preparare una soluzione tampone fosfato per diluire la sostanza secca e procedere con il lavaggio in autoclave a 120°C per 4 ore. Successivamente, la sospensione risultante viene centrifugata. Il surnatante, che precipita con l'etanolo, contiene proteine solubili in acqua calda, mentre i β -glucani e le proteine solubili in alcali e altri solventi rimangono nel precipitato. Successivamente, può essere eseguita un'estrazione alcalina (per ulteriori dettagli, si veda la letteratura specialistica). Durante l'essiccazione, è essenziale mantenere la temperatura al di sotto di 60°C per evitare la distruzione e la denaturazione delle proteine. Il meccanismo dell'effetto dell'alcol può essere attribuito alla disidratazione delle micelle proteiche, che conferisce loro stabilità in soluzione. (*Tofan et al., 2023*)

Tale metodo risulta come opzione per l'estrazione di MP, anche da matrici non di scarto eventualmente, però siccome l'oggetto della questa tesi è un altro, sono state considerate altre pratiche.

1.3 Considerazioni iniziali

Esistono comunque ulteriori metodologie di essiccazione adatte maggiormente ai liquidi per esempio: a tamburo o essiccazione con sistema roller mentre altri adatti ai solidi come l'essiccazione pneumatica, a letto fluido, a tunnel o a camera.

La scelta della strumentazione da utilizzare per l'applicazione sperimentale di questa tesi ha è ricaduta sul metodo di essiccazione tramite stufa, perché ideale per un monitoraggio continuo dei

campioni, così da poter analizzare la cinetica del processo durante l'intero arco delle prove; inoltre per praticità, ovvero disponibilità dell'università (laboratori dell'Agripolis).

Oltre alla messa in pratica sperimentale, sviluppata grazie ad una disidratazione mediante stufa (descritta nei capitoli successivi) la tesi in oggetto mira anche a evidenziare i migliori metodi d'essiccazione per matrici d'origine enologica sia in termini qualitativi che di fattibilità nella realizzazione.

2. Riferimenti teorici

Il recupero dei composti bioattivi nell'industria alimentare è una delle le sfide più grandi della ricerca attuale, e ancora di più se lo sono recuperato dai sottoprodotti dei rifiuti. Nel settore enologico, vengono generati diversi sottoprodotti che solitamente vengono scaricati come rifiuti l'ambiente. Tuttavia, alcuni di questi sottoprodotti come l'uva le vinacce o le fecce contengono alcune molecole a valore aggiunto. La vinaccia è il sottoprodotto principale e comprende bucce, polpe, semi e steli uva bianca (scarti non fermentati) o uva rossa (scarti fermentati).

Il riutilizzo di questi sottoprodotti ridurrà l'impatto ambientale e sarebbe notevole per lo sviluppo sostenibile dell'industria vinicola, come per esempio le mannoproteine commerciali, trovate in preparati derivati dalle scorze cellulari di lievito e ricco di tali polisaccaridi, solitamente utilizzato per l'affinamento del vino e invecchiamento del vino.

2.1 Composizione chimica sottoprodotti enologici

Come già riportato, le principali componenti di tali residui sono acqua, etanolo (a parte per le borlande dove viene eliminato durante la distillazione) e solidi sospesi, che siano polifenoli (se fecce derivanti dai primi processi di vinificazione, soprattutto dalle operazioni di chiarifica) o polisaccaridi. Proprio quest'ultimi costituiscono la maggior parte della sostanza secca della nostra sperimentazione, dove le fecce utilizzate derivano da successive operazioni enologiche, quali affinamento o successivamente alla prima fermentazione (le cosiddette fecce fini).

I polisaccaridi sono una delle principali macromolecole presenti nelle uve, mosti, vini e vinacce, nello specifico, la maggior frazione di tali polimeri è costituita da mannoproteine ed altri derivati delle pareti cellulari dei lieviti.

2.2 Nozioni microbiologiche sulle mannoproteine

Le mannoproteine sono complessi polisaccaridici trovati nel lievito, costituiti da proteine glicosilate con elevate quantità di mannosio, le quali formano legami covalenti tra loro con catene ramificate di mannosio. Queste strutture possono essere di catena corta lineare o lunga, rappresentando importanti componenti della parete cellulare del lievito. Le mannoproteine possono legarsi al glucano, attraversarlo o interagire direttamente con fosfolipidi di membrana, oltre a essere presenti nello spazio periplasmico.

Quasi tutte le proteine secernute dal lievito e che operano al di fuori della membrana citoplasmatica, nello spazio periplasmico o sulla parete cellulare, sono soggette a glicosilazione. Questo processo svolge diverse funzioni cruciali: protegge le proteine dalla degradazione, fornisce una protezione per il sito attivo in condizioni variabili come il pH, e aiuta il lievito a determinare il

corretto percorso subcellulare per le proteine dopo la loro sintesi e elaborazione tramite reticolo endoplasmatico e apparato di Golgi. Inoltre, la glicosilazione agisce come meccanismo di conservazione e stoccaggio di zuccheri, essendo le mannoproteine particolarmente resistenti alle condizioni acide rispetto ad altre proteine dopo la fermentazione.

Le mannoproteine contengono gruppi fosfato che conferiscono loro una carica negativa. Sulla base delle loro funzioni, le mannoproteine possono essere classificate in vari gruppi, inclusi:

- **Mannoproteine strutturali:** componenti integrali della parete cellulare che contengono fino al 95% di carboidrati. Queste molecole sono fondamentali nella formazione della parete cellulare del lievito, la quale rappresenta una significativa proporzione del peso cellulare (15-25%). Essa è costituita principalmente da β -glucani, chitine e mannoproteine, con il β -1,3-glucano come componente predominante (60% del peso), su cui sono ancorate le mannoproteine.
- **Enzimi localizzati nella parete o nello spazio periplasmico:** questi enzimi possono avere ruoli trofici o morfogenici, o possono essere secreti all'esterno della cellula tramite il processo di secrezione extracellulare. Un esempio significativo è l'invertasi, un'enzima termostabile che catalizza l'idrolisi del saccarosio in glucosio e fruttosio. La sua stabilità è garantita dalla presenza di mannosio nel suo complesso strutturale ancorato al β -1,6 glucano della parete, con una composizione equimolecolare di mannosio e proteina.
- **Funzione di riserva:** le proteine glicosilate rappresentano una riserva di zucchero e sono direzionate verso i compartimenti cellulari appropriati grazie alla glicosilazione. Questo meccanismo protegge le glicoproteine dalla denaturazione e facilita il loro trasporto e utilizzo all'interno o all'esterno della cellula.

Durante la fermentazione, i lieviti secernono mannoproteine in concentrazioni che possono raggiungere circa 100 mg/L, un processo influenzato significativamente dalla varietà di lievito e dalle condizioni ambientali come la temperatura. La quantità di mannosio associata alle mannoproteine varia nel tempo, e tecniche come il batonnage possono aumentare il loro rendimento durante la produzione vinicola, specialmente a temperature ottimali tra i 30-35°C che favoriscono l'attività degli enzimi di lisi dei lieviti.

2.3 Le mannoproteine in enologia

- Le mannoproteine possono dare un contributo all'intorbidamento del vino (aspetto negativo). Specialmente se mannoproteine ad alto PM (420 kDa) con il 30% di parte proteica, al contrario di quelle a basso PM (30 kDa) provenienti dall'autolisi dei lieviti (rilasciate spontaneamente in vini affinati sui lieviti).

- Problemi di filtrabilità (intasamento filtri): tuttavia è trascurabile se la quantità di queste molecole è relativa, dato che maggiore solo per i polisaccaridi acidi.
- I frammenti di mannoproteine possono svolgere un'attività di protezione nei confronti delle casse proteiche disturbando l'aggregazione delle proteine del vino.
- Influenza sulla schiumabilità, capacità di formare una corretta schiuma(positivo): negli spumanti sono fondamentali in quanto il perlage sviluppato rimane a pelo della soluzione (trattenute sulla superficie dalle mannoproteine rilasciate dai lieviti in autolisi) facendo sì che, quando sale la bolla di CO₂, questa non venga liberata immediatamente ma sia trattenuta per aumento della tensione (grazie alle mannoproteine) stabilizzando, così, la schiuma; questo parametro è dipendente dal lievito visto che la schiuma stessa dipende dalle proteine rilasciate dal microorganismo fermentante aggiunto.
- Una quantità idonea di mannoproteine favorisce l'attivazione della malo-lattica, attivando i batteri lattici del genere *Leuconostoc*, comunque sono difficilmente metabolizzabili dagli altri organismi dei vini.
- Migliorano le caratteristiche organolettiche, dai profumi per esempio, interagendo con alcuni tipi di aromi (ex acetato di isoamile, esanoato di etile, i β -iononi, esteri) legandoli e fungendo da "serbatoi" di aromi, oppure per adsorbimento ed allontanamento dei tioli maleodoranti. Inoltre modificano il corpo del vino (infatti il corpo di un vino è dettato da etanolo, glicerolo e anche mannoproteine) poiché interagiscono con gli aromi provocando una diminuzione dell'intensità ma un aumento della persistenza, provocano un aumento del volume alla bocca.
- Migliorano la stabilità dei vini, sia tartarica che proteica, oltre che del colore per i rossi, data la loro attitudine al formare piccoli aggregati stabili, oppure coagulando le proteine e tannini dal peso molecolare importante(aggressivi) facendoli precipitare.

Date queste sue caratteristiche, le mannoproteine possono essere utilizzate come coadiuvante enologico, per questo risultano come coadiuvante organico ad utilizzo enologico ammesso dai seguenti riferimenti normativi:

- Codex enologico
- Codice delle pratiche enologiche
- Regolamenti UE 2019/934 del 12/03/2019
- Normativa allergeni

Come già riportato sopra, le caratteristiche sfruttate sono in funzione dell'effetto ammorbidente sui tannini e per l'effetto sulla stabilità proteica (comunque limitato) ma il loro uso principale è per aumentare la stabilità tartarica. Possono essere estratte in modi molto diversi (estrazione termica, enzimatica, ecc), ne derivano prodotti con attività differenti.

Tali proprietà esistono grazie al comportamento colloidale di queste molecole, le quali nel vino formano un aggregato presente in forma di pseudo soluzione/ sol, ovvero una via di mezzo tra la soluzione e la sospensione che permette di stabilizzare lo stato generale del vino e per questo vengono definite come colloide protettore. Esse presentano perciò meccanismi di ritenzione dati dall'inerzia, dalla carica elettrica(negativa) e dall'affinità con il mezzo.

Non è un prodotto ben definito ma sono degli estratti delle pareti del lievito che contengono mannoproteine (polisaccaridi); sono molecole che hanno effetto protettore (colloidi protettori) inibendo la cristallizzazione, ma l'efficacia dipende molto dal tipo di preparazione; per esempio sono spesso estratte dai lieviti usando enzimi per la glucanasi (degradano i β -glucani). Infatti le mannoproteine estratte con mezzi fisici non danno lo stesso effetto.

Il trattamento con mannoproteine è l'ultimo trattamento al vino prima dell'imbottigliamento; nessuna modificazione chimica o colloidale del vino deve essere realizzata in seguito per evitare di ristipare l'equilibrio colloidale del vino. Inoltre la dose di mannoproteina necessaria deve essere determinata precedentemente con un test di stabilità (ad esempio test a freddo).

Siccome le mannoproteine potrebbero modificare la filtrabilità del vino, quest'ultima deve essere verificata; dato che ogni filtrazione colmatante può indurre una perdita di colloidali e/o di mannoproteine, pertanto rendere il trattamento parzialmente o totalmente inefficace è il motivo per il quale la filtrabilità del vino deve essere verificata contemporaneamente alla determinazione della dose di mannoproteina.

Per l'utilizzo di prodotti commerciali è consigliato di aggiungere il prodotto almeno 12 ore prima dell'imbottigliamento, ma su vini rossi molto strutturati o in caso di tempo a disposizione, anche 3-4 giorni prima. Questo periodo consente ai colloidali mannoproteici di reidratarsi completamente, riprendendo la loro conformazione e le proprietà originarie. La soluzione così preparata dovrà essere integrata nel vino, preferibilmente utilizzando un tubo venturi durante un rimontaggio. È essenziale omogeneizzare accuratamente la soluzione di mannoproteine nel vino, eseguendo un abbondante rimontaggio in ambiente chiuso (assicurandosi di far ricircolare almeno una volta e mezzo l'intero volume).

3. Materiali e metodi

3.1 Preparazione dei campioni:

Le prove effettuate hanno visto l'utilizzo di due differenti tipologie di campioni, i primi, ovvero delle fecce fini, derivanti da processi di vinificazione (come spiegato anticipatamente formate prevalentemente da lieviti, acqua ed etanolo, chiamate Pre, ovvero precedenti rispetto al processo di vinificazione) e le seconde invece dal un processo di distillazione (Post, ovvero prive di alcol, le cosiddette borlande). Durante l'intero arco temporale delle sperimentazioni tali soluzioni sono state conservate in un frigorifero da laboratorio (4°C) e mantenute stabili sotto l'aspetto microbiologico grazie all'aggiunta di dell'anidride solforosa.

La preparazione dei campioni consisteva nel riempire delle vaschette d'alluminio (resistente alle temperature della stufa e inerti, sistemandole a mano affinché avessero un diametro identico, ovvero di 9cm) con 50ml di fecce, ciò è stato possibile grazie alla strumentazione da laboratorio, ovvero dei becher, un cilindro graduato e delle pipette (vedere fig.1).

Al fine di monitorare la perdita d'acqua che avveniva durante la cinetica di fermentazione, tali campioni sono stati pesati una volta preparati (togliendone la tara della vaschetta, misurata antecedentemente) con una bilancia da laboratorio (Mettler PE 1600).



Figura 1: esempio dei campioni appena preparati con relativa piastra per il posizionamento nella stufa

3.2 Essiccazione e relative analisi:

Sono state valutate differenti cinetiche di essiccazione, ognuna di queste a differenti temperature, rispettivamente: 105°C, 80°C, 65°C, 50°C ottenute inserendo i campioni nei ripiani (piastre, visibili nella fig. 1) di un'apposita stufa da laboratorio (modello Jouan) in più giornate, rispettivamente almeno una per ogni ciclo; dopo una serie di prove preliminari al fine di verificarne la fattibilità sono state eseguite le prove ufficiali.

Il monitoraggio continuo delle temperature dei campioni è stato effettuato grazie ad un raccoglitore di dati (eltaohm HD 32.8 Thermocouple datalogger) costituito da delle termocoppie (sensori di temperatura) composti da un'asta in metallo inserita all'interno della stufa, la quale ogni minuto manda un segnale al computer, il quale cataloga il rispettivo dato, sono state utilizzate tre sonde, una per verificare la T° dell'ambiente e le altre due per i rispettivi campioni (uno pre-distillazione ed uno post).

Ulteriori controlli effettuati sono stati eseguiti a scaglioni di un'ora sui campioni, prelevandoli dalla stufa, tre per tipologia di feccia (così da poter fare una media accurata dei risultati) e pesandoli, così da poter valutare l'andamento della cinetica di essiccazione in maniera graduale nel tempo, considerando che la perdita di peso è dovuta dall'evaporazione dell'acqua presente nella soluzione da essiccare.

Un altro parametro misurato ogni ora per monitorare i campioni è stata l'attività dell'acqua, grazie al un'apposito strumento (AW BASIC di Steroglass S.r.l.), tale valore è una caratteristica importante nel determinare la stabilità del cibo, la possibilità di riproduzione microbica e cambiamenti chimici, fisici ed enzimatici che possono peggiorarne la qualità ed è stato preso in considerazione al fine di raggiungere lo scopo di questa tesi che consiste nel valutare le cinetiche di essiccazione mantenendo il prodotto ottenuto qualitativamente valido e dalla facile conservazione.

Ogni volta che sono stati prelevati dei campioni, è stata scattata una rispettiva foto per tenere traccia delle cinetiche di essiccazione (vedere fig.2) per una possibile valutazione del colore, le immagini dei campioni sono state acquisite utilizzando una fotocamera digitale ad alta risoluzione (con una Canon EOS R10 ed un ministudio per isolare il campione dalla luce ambientale) montata su un supporto fisso per garantire la costanza della distanza e dell'angolo di acquisizione. Tali scatti sono stati effettuati in una stanza con illuminazione controllata per minimizzare le variazioni dovute a condizioni di luce esterne (con una lampada a luce bianca standard per garantire un'illuminazione uniforme).



Figura 2: fotografia eseguita dopo la consueta pesata

3.3 Limiti e accorgimenti presi

Una complicazione è stato il calo della temperatura della stufa da laboratorio ad ogni apertura di essa nel prelevare i campioni, la quale scendeva drasticamente, rallentando l'esperimento e creando difficoltà nella lettura dei dati, perciò ad ogni campionamento è stato deciso di non riposizionare le vaschette all'interno, così da aprire la portella un numero minore di volte, perciò è servito un maggior numero di vaschette al fine di completare i cicli di essiccazione. Sempre secondo tale accorgimento, il tempo d'intervallo è stato portato a due ore o addirittura a tre per le misurazioni delle prove a temperature più basse (anche perché le misurazioni di ora in ora risultavano davvero troppo simili ed ininfluenti per la stesura dei grafici). Tali campioni non sono stati buttati ma prelevati e conservati in congelatore per poter essere utilizzati in sperimentazioni future, utilizzando il protocollo redatto con questa tesi come riferimento.

Un'ulteriore limitazione è stata la misurazione dell'attività dell'acqua, per la quale si è dovuto aspettare almeno qualche decina di minuti dopo aver prelevato il campione perché l'evaporazione in atto portava a risultati forvianti.

Un'ulteriore problematica è risultata essere l'eccessivo tempo necessario allo svolgimento di una singola essiccazione per le temperature di 50°C e 65°C, in quanto dalla preparazione dei campioni fino alla completa essiccazione di essi, le ore di lavoro disponibili in una giornata non erano sufficienti, nemmeno ottimizzando le tempistiche, perciò al fine di completare la prova i campioni sono stati prelevati ad un intervallo di tempo noto e congelati per conservarli per il giorno successivo, li sono stati poi scongelati (35°C in stufa per 40min) e una volta raggiunta la temperatura necessaria alla sperimentazione, è stato fatto partire il timer come se fosse stato eseguito solamente un ordinario campionamento come per le altre prove, mantenendo così coerenti i dati raccolti come per le precedenti cinetiche.

4. Risultati e discussione

4.1 Elaborazione dati

Una volta completate le sperimentazioni in laboratorio sono stati elaborati i dati raccolti per costruire dei grafici relativi alle varie cinetiche d'essiccazione, così da poter produrre un riscontro concreto sull'avanzamento di tale processo e per valutare le differenze tra le temperature studiate.

I primi grafici sviluppati evidenziano le varie prove svolte per le fecce chiamate “pre (grafico 1), ovvero quelle precedenti alla distillazione, e “post” per quelle successive a ciò (grafico 2). La scelta è ricaduta su un sistema a linee perché ideale per valutare l'avanzamento graduale nel tempo del peso dei campioni, ovvero la perdita di massa dovuta ad una disidratazione, il tutto fino alla stabilizzazione della cinetica ad un valore fisso, cioè alla completa essiccazione, momento in cui si è conclusa poi la sperimentazione. La suddivisione in due grafici, ognuno relativo ad una serie di campioni è risultata più immediata da comprendere e ideale per confrontare tra loro le varie temperature, così da poter eventualmente decidere il protocollo ideale per un sistema di essiccazione funzionale.

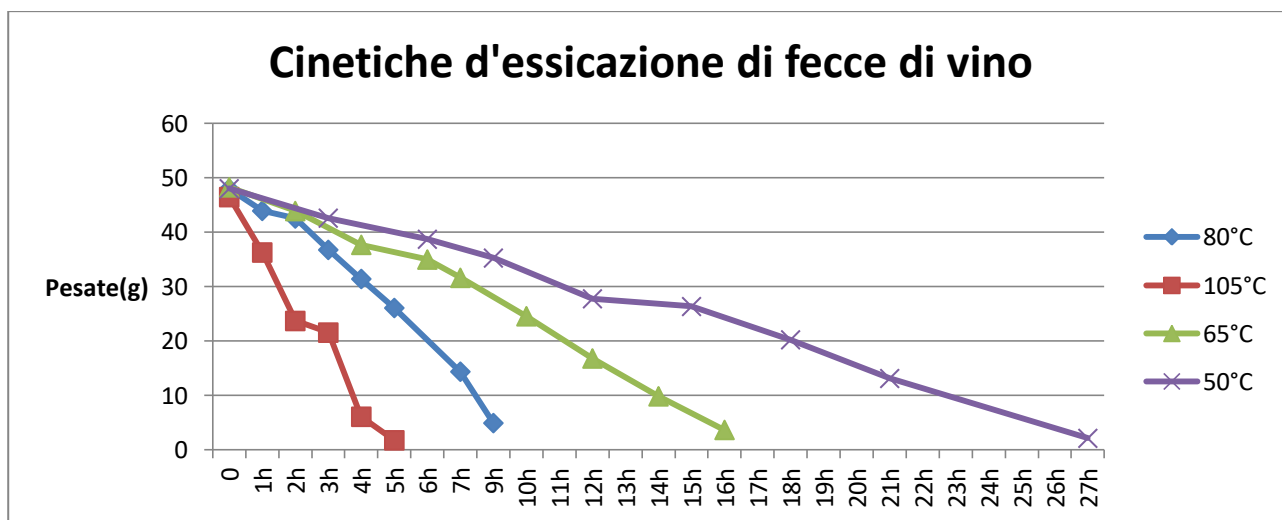


Grafico 1: Rappresentazione delle differenti cinetiche d'essiccazione delle fecce di vino

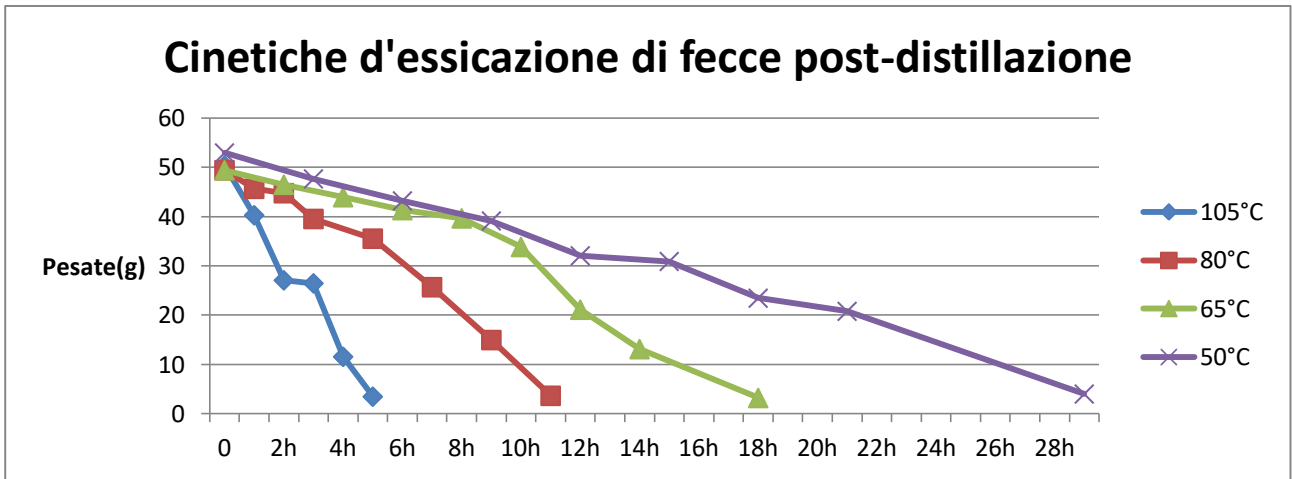


Grafico 2: Cinetica riguardante i pesi dei campioni prelevati dell'essiccazione di fecce post

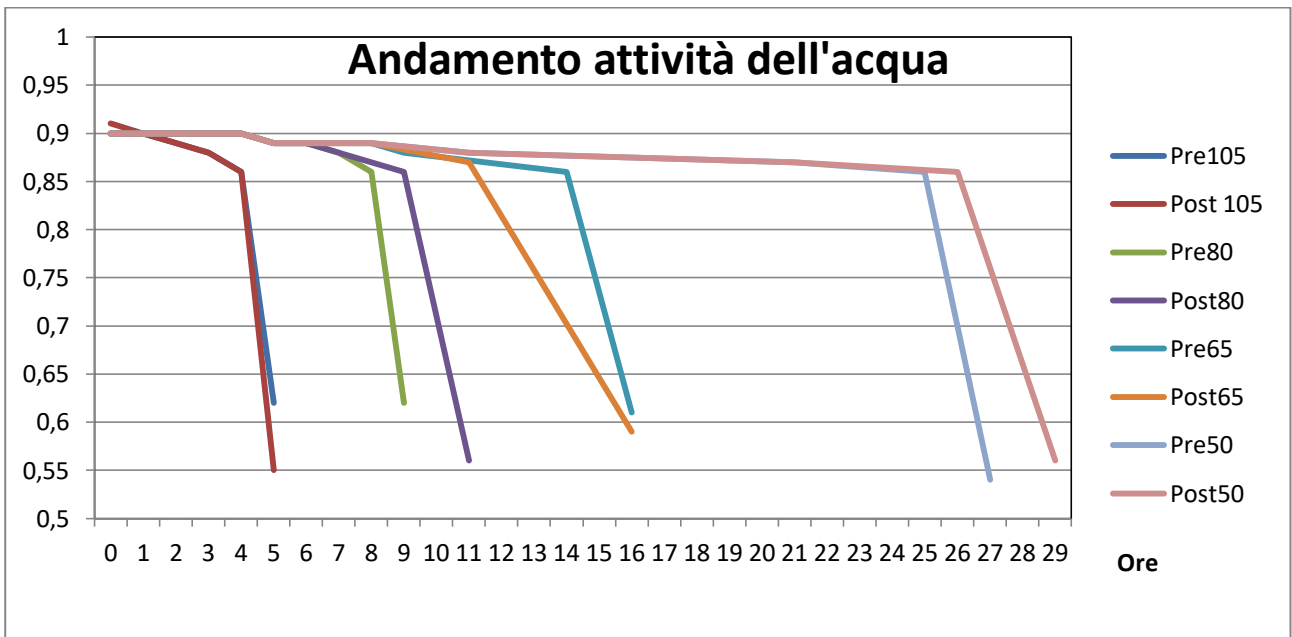


Grafico 3: Rappresentazione dei dati ricavati relativamente all'attività dell'acqua delle varie cinetiche

L'ultimo grafico prodotto è quello relativo all'acqua (available water activity), la quale è un ottimo solvente di moltissime sostanze e ha un altissimo calore latente di vaporizzazione (che è la quantità di energia necessaria a farla evaporare, dato molto interessante per essiccare).

Il grado di disponibilità dell'acqua (AW), ovvero la quantità di acqua libera presente in una matrice, viene definita tre valori da 0 (nessuna molecola disponibile) e 1 (attività pari a quella dell'acqua pura, cioè il massimo possibile).

4.2 Commento e analisi dei dati raccolti

- **A 105°C:** L'essiccazione è molto rapida, portando il peso delle fecce da circa 50g a 3g in meno di 5 ore. Questo indica un'evaporazione molto veloce dell'acqua presente nelle fecce a questa temperatura.
- **A 80°C:** L'essiccazione è più lenta rispetto a 105°C, raggiungendo un peso di circa 3g in 12 ore.
- **A 65°C:** L'essiccazione è ancora più lenta, con un calo costante fino al raggiungimento della completa essiccazione
- **A 50°C:** L'essiccazione è la più lenta, con il peso che diminuisce gradualmente e raggiunge il peso secco solo dopo 27 ore.

L'aumento della temperatura accelera notevolmente il processo di essiccazione delle fecce di vino. A temperature più elevate (105°C e 80°C), l'evaporazione dell'acqua è molto più rapida, riducendo significativamente i tempi di essiccazione. A temperature intermedie (65°C e 50°C), il processo è più graduale, suggerendo che l'energia fornita è sufficiente per l'evaporazione, ma non quanto a temperature più elevate. La cinetica mostra una similarità tra borlande le fecce di vino, ma con lievi differenze nei tempi di essiccazione alle varie temperature, data la presenza dell'etanolo per le pre e una concentrazione di solidi maggiore per le borlande a parità di volume utilizzato.

Dai grafici relativi alle cinetiche di essiccazione (grafico 1 e 2) possiamo comparare l'andamento temporale dei campioni, notando che l'avanzamento è lineare per tutte e quattro le prove e tipologia di refluo, senza grandi oscillazioni nel tempo, dove per i 105°C il calo è alquanto rapido data la temperatura ideale per l'evaporazione, mentre per le altre sperimentazioni ci sono volute svariate ore, creando notevoli impedimenti in un'ottica di adattamento industriale della sperimentazione.

Per le temperature più elevate (105°C e 80°C) entrambe le fecce di vino e le fecce post-distillazione mostrano un comportamento simile, con un rapido calo del peso in poche ore. Tuttavia, le fecce di vino sembrano essiccare leggermente più rapidamente rispetto alle fecce post-distillazione. Per le temperature più basse le differenze tra le due fecce diventano più evidenti, con le fecce di vino che raggiungono lo zero in tempi leggermente inferiori rispetto alle fecce post-distillazione. Questo indica una maggiore quantità di componenti non volatili nelle fecce post-distillazione.

Analizzando il grafico relativo all'attività dell'acqua (grafico 3) notiamo che cala drasticamente solo verso termine dell'essiccazione, evidenziando maggiormente il raggiungimento del cosiddetto punto di essiccazione nei grafici e obiettivo della tesi, dato che precedentemente il valore era alquanto alto, data la presenza massiccia d'acqua nella naturale composizione delle fecce, ancora

in fase di soluzione fino all'ultima ora di ogni cinetica, valutando così la conservabilità del prodotto; con una successiva analisi del colore (anche dalle fotografie eseguite ad ogni pesata) è possibile valutare un ulteriore parametro relativo alla qualità dei campioni.

4.3 Analisi del colore

Una volta acquisite, le immagini sono state importate nel software Food-ImageInspector, un programma configurato secondo parametri standard per l'analisi del colore quali la modalità di colore (i metodi RGB o LAB e HSI) e il range di tolleranza per la rilevazione delle variazioni cromatiche. All'interno del software è stato possibile creare un modello ideale per analizzare tutte le fotografie effettuate in modo automatico, prima le immagini sono state segmentate per identificare le aree di interesse, escludendo lo sfondo e altre parti non pertinenti come la vaschetta stessa, successivamente, è stata effettuata una calibrazione utilizzando una scheda di riferimento per i colori standard, questo passaggio ha permesso di assicurare che le misurazioni di colore fossero precise e confrontabili tra loro, tralasciando eventuali riflessi delle immagini che ne avrebbero compromesso la veridicità.

Durante la fase di misurazione, il software ha analizzato le aree segmentate delle immagini, ovvero quelle da analizzare, fornendo risultati dettagliati in termini di coordinate cromatiche e indici di colore. I dati ottenuti sono stati poi esportati in un foglio di calcolo per ulteriori elaborazioni statistiche. In questa fase, sono state calcolate le medie e le deviazioni standard dei valori di colore per ciascun campione, permettendo di ottenere una rappresentazione accurata delle caratteristiche cromatiche delle fecce.

I risultati dell'analisi del colore mediante Food-ImageInspector hanno fornito una rappresentazione dettagliata delle caratteristiche cromatiche delle fecce nei diversi campioni, permettendo di identificare eventuali variazioni significative nel tempo. Le informazioni ottenute saranno utilizzate per correlare le caratteristiche cromatiche con altre proprietà fisiche e chimiche dei campioni, offrendo una comprensione più approfondita delle loro caratteristiche complessive.

In sintesi, l'utilizzo di Food-ImageInspector ha garantito un'analisi accurata e riproducibile del colore dei campioni di fecce (rendendole accurate grazie alle medie dei campioni), fornendo dati preziosi per ulteriori analisi e interpretazioni.

Il cambiamento di colore dei campioni durante l'essiccazione è stato monitorato utilizzando lo spazio colore Lab (indice composto da tre variabili L, a, b), ovvero la differenza tra due punti designati (derivanti dalle segmentazioni) in una scala di colore (il cosiddetto spazio di colore). Tali variazioni sono state quantificate mediante il calcolo del Delta E (ΔE , detto TCD vedere fig.3), che rappresenta la distanza cromatica tra i campioni iniziali (il pre iniziale e il post iniziale) e quelli

sottoposti ai vari trattamenti, così da valutare e quantificare la variazione di colore nel tempo delle matrici.

L'occhio umano, data la sua risoluzione anatomica, per valori di DE maggiori di tre, percepisce due colori differenti, al fine di registrare tali variazioni la tesi in questione è ricorsa alla colorimetria. La distanza tra due punti viene calcolata con una relazione che si basa sulla loro proiezione spaziale su ciascuna delle due variabili principali del sistema colorimetrico. A tale scopo si utilizzano principalmente il sistema colorimetrico CIELab e le differenze di colore in esso determinate.

$$\text{TCD} = \sqrt{(L^* - L_s^*)^2 + (a^* - a_s^*)^2 + (b^* - b_s^*)^2}$$

Equazione 1: Formula per il calcolo del "delta E" detto anche "TCD"

La differenza tra i punti "L" rappresenta lo scostamento della luminosità sull'asse L, mentre il delta "a" rappresenta la variazione del rosso-verde sull'asse a, mentre per le "b" viene sottinteso quello giallo-blu nell'asse in questione. La descrizione della differenza di colore tramite le coordinate rettangolari L^* , a^* e b^* segue la teoria dei colori opposti in relazione alla percezione fisica.

Di seguito vengono riportate le medie dei valori L, a, b e ΔE per ciascun trattamento, temperatura e tempo di essiccazione (Tabella 1.), dati raccolti e poi utilizzati per la costruzione dei rispettivi grafici (vedere grafico 4. e 5.).

Temperatura	tipo	tempo	L	a	b	DE
50	post	3	10,5	3,0	3,5	4,7
50	post	6	10,0	3,0	3,0	4,3
50	post	9	13,0	4,0	4,0	7,4
50	post	12	9,0	2,0	3,5	3,0
50	post	14	9,0	3,0	3,5	3,2
50	post	18	9,0	2,5	3,0	3,2
50	post	21	9,5	2,5	3,0	3,6
50	post	29	6,0	1,0	0,0	3,7
50	pre	3	38,0	0,0	12,5	4,0
50	pre	6	36,0	2,0	12,5	5,7
50	pre	9	43,0	2,0	15,0	3,7
50	pre	12	36,0	1,5	14,0	4,7
50	pre	15	34,5	1,5	14,5	5,9
50	pre	18	34,5	1,5	13,5	6,2
50	pre	21	34,0	1,5	14,0	6,5
50	pre	27	25,0	8,0	21,0	17,7
65	post	2	12,0	2,5	4,0	6,0
65	post	4	11,0	3,0	3,0	5,2
65	post	6	9,5	3,0	2,5	3,9
65	post	8	9,5	3,0	3,0	3,8
65	post	10	9,0	3,0	3,0	3,3
65	post	12	8,5	2,5	3,0	2,7
65	post	14	9,0	2,0	3,0	3,1
65	post	16	10,0	3,0	1,0	4,9
65	pre	2	41,5	0,0	14,5	2,2
65	pre	4	38,0	0,5	13,0	3,7
65	pre	6	38,0	2,0	15,0	3,0
65	pre	8	35,5	1,5	13,0	5,6
65	pre	10	36,0	0,5	15,0	4,2
65	pre	12	40,0	1,0	17,0	1,4
65	pre	14	35,0	2,0	12,0	6,7
65	pre	16	32,3	3,3	14,7	10,9
80	post	1	23,0	4,0	10,0	18,3
80	post	2	22,0	3,5	9,0	17,0
80	post	3	22,5	4,0	9,5	17,7
80	post	5	16,5	5,0	7,0	11,0
80	post	7	14,5	5,5	7,0	9,9
80	post	9	12,0	4,0	4,0	6,4
80	pre	1	61,5	0,0	20,5	22,0
80	pre	2	58,5	0,0	20,0	18,9
80	pre	3	59,0	0,5	20,5	19,5
80	pre	5	59,5	1,5	24,0	21,1
80	pre	7	55,0	2,0	22,5	16,5
80	pre	9	41,0	21,3	38,3	30,9
105	post	2	9,0	2,0	4,0	3,0
105	post	3	10,0	3,0	4,0	4,2
105	post	4	7,5	2,0	3,0	1,6
105	post	5	9,0	3,0	2,0	3,6
105	pre	2	36,0	1,0	15,3	4,7
105	pre	3	37,0	0,0	15,0	3,2
105	pre	4	39,0	0,0	17,0	1,4
105	pre	5	34,0	6,0	29,3	18,5
iniziale	pre	0	40,0	0,0	16,0	0,0
iniziale	post	0	6,0	1,7	3,6	0,0

Tabella 1: Risultati delle analisi colorimetriche

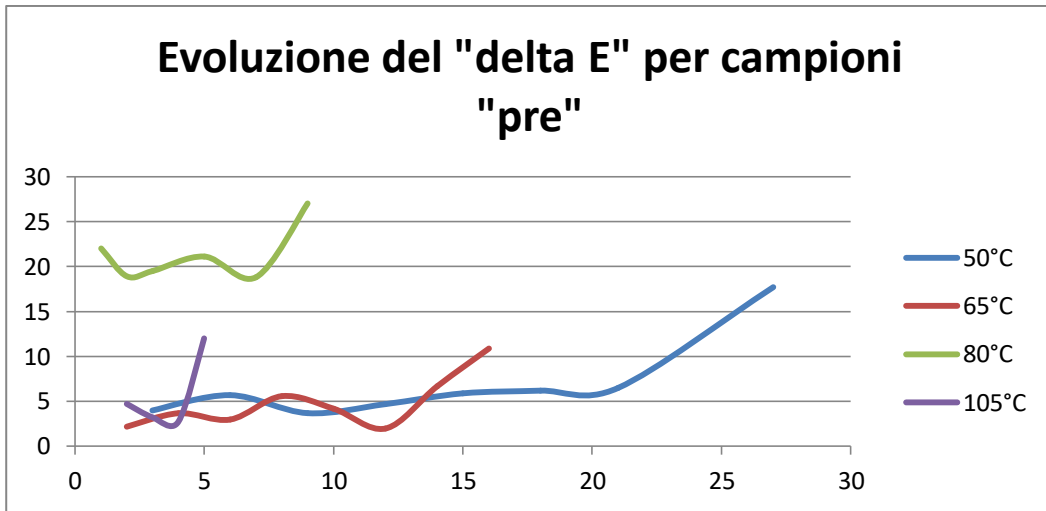


Grafico 4: Rappresentazione della variazione nel tempo (sulle ascisse, espresso in ore) del delta E(indice della variazione cromatica) per le rispettive prove a varie temperature delle fecce pre-distillazione.

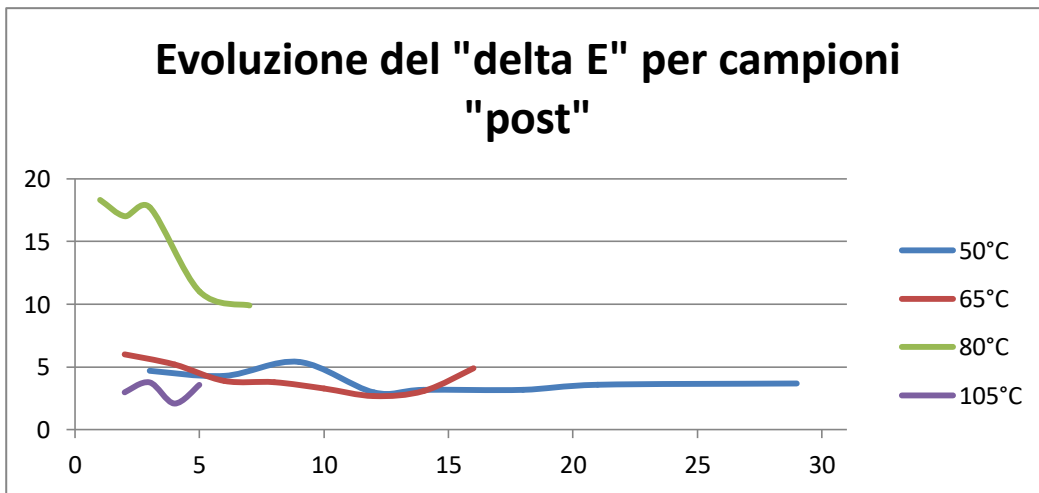


Grafico 5: Rappresentazione della variazione nel tempo (sulle ascisse, espresso in ore) del delta E(indice della variazione cromatica) per le rispettive prove a varie temperature delle fecce post-distillazione.

4.4 Considerazioni relative alle variazioni del colore

50°C:

- **Pre-distillazione:** I valori di L iniziano alti e diminuiscono con il tempo di essiccazione, partendo da 38,0 e arrivando a 25,0 dopo 27 ore. I valori di a e b mostrano un leggero aumento, con b che cresce più significativamente, indicando un aumento della componente gialla. ΔE varia da 4,0 a 17,7.
- **Post-distillazione:** I valori di L sono significativamente più bassi rispetto ai campioni pre-distillazione, oscillando tra 6,0 e 13,0. I valori di a e b rimangono relativamente stabili. ΔE varia da 3,0 a 7,4.

I campioni pre-distillazione mostrano una diminuzione significativa della luminosità (L) e un aumento della componente gialla (b) nel tempo. I campioni post-distillazione hanno una luminosità significativamente più bassa e una stabilità maggiore nei valori di a e b. ΔE è generalmente più basso nei campioni post-distillazione

65°C:

- **Pre-distillazione:** I valori di L diminuiscono da 41,5 a 32,3. I valori di a e b mostrano fluttuazioni moderate, con un aumento di b nei primi tempi e una diminuzione successiva. ΔE varia da 1,4 a 10,9.
- **Post-distillazione:** I valori di L sono più bassi, variando tra 8,5 e 12,0. I valori di a e b mostrano stabilità. ΔE varia da 2,7 a 6,0.

La diminuzione della luminosità (L) è meno drastica rispetto ai campioni a 50°C. I campioni post-distillazione mostrano una stabilità maggiore nei valori di a e b, con ΔE più basso rispetto ai campioni pre-distillazione.

80°C:

- **Pre-distillazione:** I valori di L sono alti inizialmente e diminuiscono significativamente fino a 41,0. I valori di a aumentano notevolmente verso la fine, mentre i valori di b aumentano drasticamente, indicando una forte componente gialla. ΔE varia da 16,5 a 30,9.
- **Post-distillazione:** I valori di L sono inferiori rispetto ai pre-distillazione, variando tra 12,0 e 23,0. I valori di a e b rimangono relativamente stabili. ΔE varia da 6,4 a 18,3.

La diminuzione della luminosità (L) è molto pronunciata nei campioni pre-distillazione, con un notevole aumento di b. I campioni post-distillazione mostrano valori di L più bassi ma stabili, con ΔE relativamente alto, indicando una variazione significativa di colore.

105°C:

- **Pre-distillazione:** I valori di L variano tra 34,0 e 39,0. I valori di a e b mostrano fluttuazioni moderate, con un significativo aumento di b nell'ultima misurazione. ΔE varia da 1,4 a 18,5.
- **Post-distillazione:** I valori di L sono significativamente più bassi, variando tra 7,5 e 10,0. I valori di a e b mostrano una leggera variazione. ΔE varia da 1,6 a 4,2.

I campioni pre-distillazione mostrano fluttuazioni nei valori di a e b, con un aumento significativo di b nell'ultima misurazione. I campioni post-distillazione mantengono una luminosità bassa e stabile, con ΔE generalmente basso.

I risultati mostrano che i campioni pre-distillazione hanno valori di L (luminosità) generalmente più alti rispetto ai campioni post-distillazione, suggerendo che la distillazione influisce sulla luminosità del campione. Inoltre, i valori di a e b mostrano che i campioni pre-distillazione tendono a avere una maggiore componente di colore verde-rosso e blu-giallo rispetto ai campioni post-distillazione.

Il Delta E (ΔE) è generalmente più alto per i campioni pre-distillazione, indicando una maggiore variazione di colore rispetto ai campioni post-distillazione. Questo potrebbe essere dovuto alla maggiore quantità di sostanze volatili e pigmenti che vengono rimosse durante la distillazione, portando a una minore variazione di colore nei campioni post-distillazione.

La colorimetria strumentale serve in numerosi settori industriali come strumento essenziale per la garanzia della qualità, essa integra la modellazione visiva dei colori e permette l'introduzione di indici quali tolleranze. Si può dunque affermare quanto segue: La gestione perfetta e oggettiva mediante calcoli e modelli matematici porta a qualsiasi settore un controllo oggettivo e automatico dei colori e delle loro differenze, permettendo, ad oggi, un utilizzo corretto della colorimetria e garantendo dunque un'elevata qualità dei prodotti.

La distillazione ha un impatto significativo sui valori di colore dei campioni durante l'essiccazione. I campioni post-distillazione mostrano valori di luminosità più bassi e una minore variazione di colore complessiva (ΔE) rispetto ai campioni pre-distillazione. Questi risultati suggeriscono che la distillazione riduce la quantità di sostanze che possono influenzare il colore dei campioni durante l'essiccazione. Questo studio fornisce un'importante base per ulteriori ricerche sull'ottimizzazione dei processi di distillazione e essiccazione per controllare e migliorare le proprietà visive dei prodotti finali. L'aumento della temperatura di essiccazione porta a una maggiore variazione di colore, con ΔE che aumenta significativamente nei campioni pre-distillazione a temperature più elevate. I campioni post-distillazione tendono a mantenere una maggiore stabilità nei valori di colore, indipendentemente dalla temperatura di essiccazione.

5. Conclusione

L'essiccazione delle fecce di vino e delle fecce post-distillazione è fortemente influenzata dalla temperatura, con velocità di essiccazione che aumentano all'aumentare della temperatura. Le differenze tra i due tipi di fecce sono minime ma presenti, suggerendo lievi differenze nella composizione che potrebbero influenzare il processo di essiccazione. Questi dati sono fondamentali per ottimizzare i processi industriali di essiccazione, riducendo i tempi e i costi energetici associati.

Questo studio fornisce un'importante base per ulteriori ricerche sull'ottimizzazione dei processi di distillazione e essiccazione per controllare e migliorare le proprietà visive dei prodotti finali. L'analisi mostra che la temperatura e la distillazione sono fattori chiave che influenzano il colore durante l'essiccazione, suggerendo la necessità di bilanciare questi parametri per ottenere i risultati desiderati.

Quando essichiamo un prodotto, ne togliamo la maggior parte dell'acqua, togliendo il mezzo in cui avvengono praticamente tutti i processi chimici, fisici e biologici, che lo faranno deperire. Per fare un esempio, batteri e muffe hanno bisogno di una certa quantità d'acqua per agire, reazioni chimiche come quelle ossidative avvengono più facilmente in presenza di tale mezzo, tutte le attività biologiche, ad esempio quelle delle cellule, in sua assenza avvengono molto lentamente sono completamente assenti, a tal proposito è necessario valutare questo parametro. L'attività dell'acqua è un fattore intrinseco al prodotto che rappresenta un equilibrio tra la capacità di assorbire acqua e la tendenza a cederla, calcolabile dal rapporto tra la tensione di vapore dell'acqua in soluzione e quella nella sua composizione pura, sotto lo 0,65 nessun microrganismo è in grado di proliferare, per questo i valori ottenuti da tali prove rendono possibile la conservazione della sostanza secca ottenuta nel tempo, confermando le ipotesi della tesi.

Parlando dell'essiccazione, per migliorarne la velocità è importante riscaldare l'aria, (in modo da aumentare la sua capacità di assorbire l'umidità) e ricambiarla spesso (in modo da non lasciare che si saturi di umidità). L'acqua per evaporare deve passare dall'interno alla superficie del prodotto, in modo da entrare in contatto con l'aria. La conformazione di un prodotto, può far variare, anche di molto, il tempo necessario all'acqua per passare dall'interno alla superficie del prodotto ed entrare quindi in contatto con l'aria, perciò anche cambiare i contenitori o la distribuzione di essi nel macchinario adibito alla disidratazione può risultare un'alternativa degna d'interesse. Bisogna tener presente che non tutta l'acqua contenuta nei prodotti è libera, cioè considerata come disponibile, una parte è legata chimicamente o strutturalmente al prodotto e quindi non è accessibile.

L'acqua non disponibile, oltre a non prendere parte a processi biologici e quindi non poter essere utilizzata dai microrganismi, è anche più difficile da far evaporare (per questo al fine di conservare alimenti viene aggiunto zucchero, come per le marmellate).

I valori raggiunti, sia del peso che dell'attività dell'acqua rimangono pressoché invariati per tutte le cinetiche, essendo consoni alla conservazione (parametro ricercato da questo studio), evidenziando come grande differenza unicamente le temperature e le differenti tempistiche collegate ad esse, strettamente legate alla disponibilità e strumentazione del laboratorio, con ciò, in un'ottica di applicazione impiantistica, la scelta della cinetica dovrà riguardare perlopiù le decisioni in termini di che stufa utilizzare, in funzione ai costi e durata di un singolo processo d'essiccazione. Con 105°C si raggiunge in maniera rapida il punto d'essiccazione, ma raggiungere tali condizioni risulta dispendioso in termini di costi (macchinario, energia e tempo), inoltre svilupparlo in un contesto con volumi notevolmente maggiori potrebbe non essere la scelta più efficace, perciò analizzando determinati risultati si può ricorrere a temperature inferiori (considerando però la notevole richiesta di tempistiche prolungate).

Bibliografia

- Alina BE.LIU, Natalia CHISELI.A, Oleg CHISELI.A, Nadejda EFREMOVA, Elena TOFAN, Marina DANILI: “The new procedure for obtaining and biochemical characterization of the mannoprotein preparation derived from sediments of wine yeast” (2023)
- Appunti del sottoscritto stilati durante le lezioni di microbiologia enologica ed enologia (dalle rispettive lezioni di prof.ssa. Corich, prof. Vincenzi)
- Centro Studi l’Uomo e l’Ambiente dal sito www.scienzaegoverno.org. Per riferimenti alle borlande
- Diego Canalejo, Zenaida Guadalupe, Leticia Martínez-Lapuente, Bel´en Ayestaran´, Silvia P´erez-Magarino, Thierry Doco: Characterization of polysaccharide extracts recovered from different grape and winemaking products(2022).
- Essiccare. Com, sito www.essiccare.com per riferimenti sull’attività dell’acqua e generalità essiccazione
- J.A. Pérez-Serradilla, M.D. Luque de Castro: Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from wine lees and spray-drying of the extract(2011)
- JOSE’ Maria, JARA-PALACINOS: Wine Lees as a Source of Antioxidant Compounds (2019)
- Libro “Il campione per l’analisi chimica” di Sabrina Moret, Giorgia Pucaro e Lanfranco S. Conte, per alcuni riferimenti ai processi industriali; editore: Springer
- Libro 4 “Gestione del colore” di Gabriele Hiller, Hiller Direct Marketing, Stühren; editore: Datacolor AG Europe
- Mariia Kuntsova, Tatiana Meledina, Svetlana Davydenko, Dmitrii Manshin e Anastasia Andreeva: “Obtaining yeast mannoproteins with antimicrobial properties”(2023)
- Pagina web azienda APTSOL (per quanto riguarda essiccazione)
- Per la liofilizzazione siti delle rispettive aziende: Ellab, Montepaone s.r.l. e Buchi.
- Saebom Lee, Tiara A. M., Gyoujin Cho e Jinkee Lee: Control of the Drying Patterns for Complex Colloidal Solutions and Their Applications (2022).
- Sito aziendale Eurotherm(per essiccazione spray)
- Zhang, Lihua; Zhang, Wen; Lü, Zhenzhen; Wang, Zhishen: Optimization of intermittent microwave drying technology for lees by response surface methodology(2011).