

I.A.M.C-CNR di Capo Granitola



Protocolli di produzione di miscele di pectine

D'Agostino F.^b, Masullo T.^a, Bennici C.^a, Salamone M.^a, Tagliavia M.^a, Nicosia A.^a, Carimi F.^c,
Abbate L.^c, Motisi A.^c, La Bella F.^c, Fontana E.^c, Carra A.^c, Mercati F.^c, Mazzola S.^b, Cuttitta A.^a

a - Laboratory of Molecular Ecology and Biotechnology, Istituto per l'Ambiente Marino Costiero del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IAMC-CNR), UOS di Capo Granitola, via del Mare 3 – 91021, Torretta Granitola (Campobello di Mazara, Tp), Italia;

b - Istituto per l'Ambiente Marino Costiero del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IAMC-CNR), UOS di Capo Granitola, via del Mare 3 - 91021 Torretta Granitola (Campobello di Mazara, Tp), Italia;

c - IBBR-CNR, Corso Calatafimi PA.

Sommario

1. Premessa.....	3
2. Definizione specifiche dei film edibili.....	3
3. Aspetti generali delle pectine.....	3
4. Film edibili.....	6
5. Definizione delle caratteristiche delle pectine da usare nel film edibile.....	7
6. Definizione dei processi produttivi delle pectine.....	8
6.1 Estrazione delle pectine.....	8
7. Definizione delle miscele a base pectinica.....	9
7.1 Chitosano.....	10
7.2 Flavonoidi.....	11
7.3 Maltodestrine.....	11
7.4 Ciclodestrine.....	12
8. Primo metodo.....	13
9. Secondo metodo.....	14
10. Tabella riassuntiva.....	16
11. Ringraziamenti.....	17
12. Bibliografia.....	18

1. Premessa

L'obiettivo è quello di identificare più tipologie di pectina aventi caratteristiche chimico-fisiche, di purezza e trasparenza tali da poter essere applicate, da sole o in miscela con altre sostanze, in forma di gel.

Tale studio permetterà di identificare quelle miscele che meglio si prestano ad essere utilizzate come film edibili da applicare sui prodotti ittici, con lo scopo di garantirne il mantenimento della shelf life.

2. Definizione specifiche dei film edibili

In questa fase sono state definite le specifiche sia del film edibile sia del gel a base di pectine. Queste ultime rappresentano la componente principale dei film edibili, in termini di consistenza, trasparenza e applicabilità, tale da consentire la deposizione del film sui prodotti salvaguardando e lasciando inalterate le caratteristiche nutrizionali, organolettiche ed igieniche del prodotto.

Per poter preparare, e produrre, film edibili con un buon grado di riproducibilità sono stati studiati e sviluppati attentamente tutti i processi chimici e fisici che portano ad un prodotto con un elevato grado di purezza. La presenza di impurità, infatti, può compromettere l'elasticità, la plasticità e la trasparenza del film; caratteristiche tutte necessarie per l'impiego di un film protettivo che possa essere usato per scopi alimentari.

Le fasi approntate per la produzione del film edibile a base di pectine, oggetto di questo studio, sono state:

- Progettazione di un protocollo per l'estrazione del costituente principale (pectine)
- Progettazione di protocolli di gelificazione dell'estratto naturale
- Realizzazione di protocolli per la polimerizzazione dell'estratto con e senza additivi edibili.

3. Aspetti generali delle pectine

Le *pectine* (dal greco *pektòs*: condensato) sono una famiglia di eteropolisaccaridi colloidali acidi, costituiti da uno scheletro di residui di acido galatturonico (Fig. 1), tenuti insieme da legami α -

1,4-O-glicosidici. Queste catene lineari vengono chiamate omogalatturonani e il loro grado di polimerizzazione (*D.P.*: degree of polymerization) è incluso in un range che va da 70 → 100 [1].

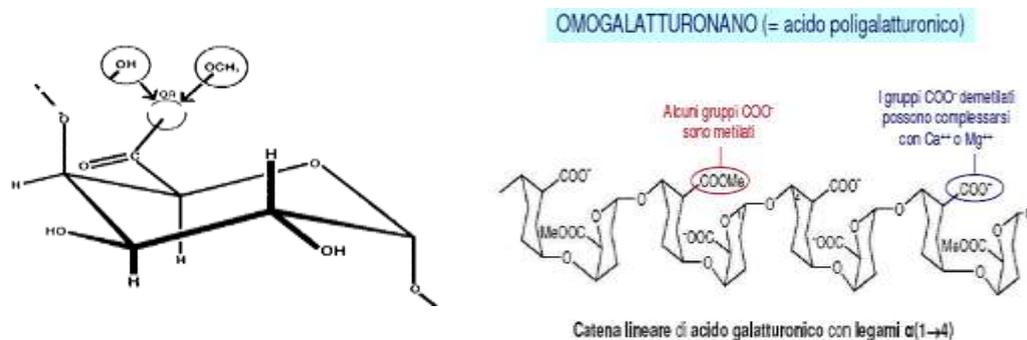


Figura 1: Acido galatturonico (zucchero acido) e acido poligalatturonico.

La lunghezza minima dell'acido poligalatturonico nelle pectine presenti negli agrumi, nella barbabietola da zucchero e nelle mele va dai 72 ai 100 residui di acido galatturonico le cui funzioni carbossiliche tendono ad espandere la struttura delle pectine per effetto della loro carica [2]. Inoltre, le pectine sono in grado di interagire con cationi bivalenti (pKa compreso tra 2.9 → 3.6) mantenendo comunque una considerevole carica negativa e una struttura stabile anche in presenza di elettroliti. I gruppi acidi in posizione C-6, C-2 e/o C-3 sono frequentemente esterificati con alcol metilico oppure con catene di amido e, il grado di esterificazione, può variare dal 60% circa (polpa di mela), al 10% (fragola). In particolare, vengono classificate in pectine altamente metossilate (HM) (Fig. 2) se il grado di esterificazione (DE) dei residui di acido galatturonico è maggiore di 50, o in pectine a bassa metossilazione (LM) se il loro grado di esterificazione è minore di 50. L'esterificazione, e più frequentemente la metilazione, dei residui carbossilici zuccherini crea dei metil-esteri che inducono la formazione di spaziature tra le maglie dell'impalcatura pectinica (simili a quelle provocate dalla carica intrinseca dei singoli gruppi carbossilici) ma, essendo molto più idrofobici, avranno effetti diversi sull'intera lunghezza del polimero e sull'ambiente acquoso circostante [3].

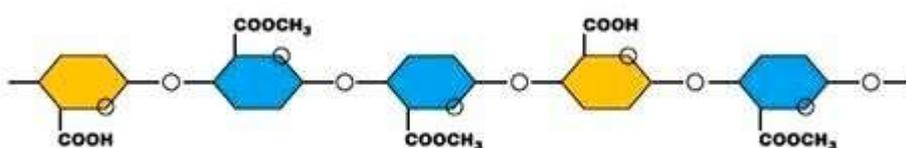


Figura 2: Pectina HM.

Le proprietà strutturali e tecnologiche di questi polimeri dipendono strettamente dal grado di esterificazione che presentano, ma ancor di più dalla distribuzione degli esteri nell'intera struttura. Le pectine sono classificate in:

- PROTOPECTINE: caratterizzate da un'elevata presenza di esteri metilici (16%) e da un'ubiquitaria esterificazione dei residui zuccherini liberi (100%);
- ACIDO PECTINICO: solubile e con un grado intermedio di esterificazione dei residui di acido galatturonico, i suoi sali sono i "pectinati";
- PECTINE: colloidali aventi un contenuto intermedio di esteri metilici (8%) e un grado di esterificazione pari circa al 50%;
- ACIDO PECTICO: caratterizzato da un basso contenuto di esteri metilici (2-4%) e altri tipi di legami esterei (12.5-25%), i suoi sali sono i "pectati".

Pertanto le pectine sono dei polimeri polielettrolitici complessi e ramificati. Inoltre, fattori quali la densità di carica e il modo in cui questa carica è distribuita lungo tutta l'impalcatura molecolare hanno un'importante influenza sulle loro proprietà fisico-chimiche e tecnologiche.

Come detto prima, oltre all'acido galatturonico, agli zuccheri neutri e ai sostituenti metossilici, le pectine contengono una considerevole quantità di gruppi acetilici che esaltano la natura idrofobica della molecola conferendole una superficie attiva, con un potenziale elettrico proprio, per cui sarà in grado di comportarsi da stabilizzante nelle emulsioni olio/acqua, agendo sulla tensione interfacciale, e nelle schiume aria/acqua, agendo sulla tensione superficiale.

Vengono spesso utilizzate come agenti viscosizzanti; la viscosità, infatti, è un'altra delle loro proprietà intrinseche. E' riportato in letteratura che le pectine con un alto grado di metossilazione (maggiore del 50%) mostrano un picco massimo di viscosità a pH 3, mentre quelle scarsamente esterificate non subiscono cambiamenti di viscosità significativi in un range di pH compreso tra 3.2 – 6. Generalmente, la viscosità delle pectine dipende dal peso molecolare, dal pH, dalla forza ionica e dalla disposizione dei gruppi carbossilici. In definitiva si è visto che la viscosità aumenta proporzionalmente con il loro peso molecolare.

Il comportamento viscoso di queste sostanze in soluzioni a bassa concentrazione è notevolmente differente rispetto a quello di altre macromolecole polisaccaridiche, inoltre, in soluzioni molto concentrate, mostrano un flusso di tipo non Newtoniano.

E' importante notare che:

- Le pectine con un basso grado di esterificazione hanno una bassa tendenza a formare gel;

- Le pectine ad elevato grado di esterificazione gelificano in presenza di acidi e zuccheri [4];
- Le pectine con un basso grado di metossilazione necessitano della presenza di ioni calcio per gelificare.

Le pectine presentano peculiari caratteristiche che ne favoriscono l'utilizzo in tecnica farmaceutica e cosmetica: sono facilmente reperibili, ottenibili da fonti naturali, vengono comunemente utilizzate per preparazioni dietetiche, sono biodegradabili e possiedono gruppi carichi nelle loro struttura in grado di generare interazioni elettrostatiche con diverse specie.

Essendo idrocolloidi vengono ampiamente utilizzate anche come ingredienti nell'industria dolciaria come emulsionanti, addensanti, stabilizzanti, viscosizzanti o lubrificanti.

4. Film edibili

Per *film edibile* si intende uno strato sottile di materiale, generalmente del tipo polimerico, la cui particolarità sta nel fatto che è commestibile. Questi film posti su un alimento, come rivestimento e/o miscelati tra componenti del cibo, ne prolungano la *shelf life* limitando la permeabilità dell'acqua e dell'ossigeno.

I film edibili hanno diversi ruoli fondamentali:

- si consumano con il prodotto confezionato, senza lasciare alcun residuo di imballaggio da destinare al rifiuto;
- degradano più rapidamente dei materiali polimerici sintetici e poiché edibili, anche quando non vengono consumati, contribuiscono alla riduzione dell'inquinamento ambientale;
- potenziano le proprietà sensoriali degli alimenti confezionati (spesso posseggono aromatizzanti, coloranti e dolcificanti);
- controllano la diffusione/migrazione delle sostanze conservanti;
- forniscono valori nutrizionali aggiuntivi agli alimenti, soprattutto se si tratta di film a base proteica;
- conferiscono protezione.

Le sostanze capaci di produrre film sono tutte quelle in grado di formare una struttura continua polimerica ad opera di una riorganizzazione strutturale, delle unità monomeriche o oligomeriche, in seguito ad un trattamento chimico o fisico, quale ad esempio la

condensazione, reticolazione, esterificazione o per reazione con una secondo componente (copolimero).

Questi film si ottengono a partire da:

- un *polimero* ad alto peso molecolare, dalla cui struttura dipendono rigidità, flessibilità e fragilità;
- un *plasticizzante* utile per ridurre la fragilità ed aumentare la flessibilità;
- un *solvente*, che come agente disperdente consente alle unità monomeriche o al polimero, di essere omogeneamente distribuite sopra una superficie e, in seguito all'evaporazione, induce la riorganizzazione strutturale di queste ultime.

Per produrre la matrice polimerica, nell'ottica di sviluppo di un prodotto completamente naturale, l'attenzione è stata posta su *polimeri di origine vegetale* appartenenti alla categoria dei polisaccaridi, quali le *pectine*.

5. Definizione delle caratteristiche delle pectine da usare nel film edibile

Sulla base delle specifiche relative al film si è focalizzata l'attenzione sulle caratteristiche delle pectine (peso molecolare, grado di esterificazione, pH, grado di ammidazione e contenuto di cationi polivalenti) da utilizzare per la produzione. A tal fine la scelta iniziale della classe di pectine si è orientata verso le pectine LMC ed LMA, le quali, a differenza delle HM, possono gelificare in presenza di basse concentrazioni di solidi solubili e sono caratterizzate da una più elevata applicabilità e trasparenza.

Dall'esperienza effettuata in laboratorio, e in seguito ad una serie di studi presenti in letteratura, si è deciso di procedere con la preparazione dei film utilizzando la tecnica di *solvent casting*.

Questa tecnica, usata generalmente per formare membrane polimeriche, consiste nello sciogliere il polimero (talvolta insieme ad un copolimero) in un solvente organico con alta tensione di vapore (bassa temperatura di ebollizione); deporre questa soluzione in una superficie liscia per formare un sottile velo liquido; lasciare evaporare totalmente il solvente in modo che il polimero si depositi sul fondo formando un sottile film.

Nel caso specifico nella soluzione per il solvent casting si è usata acqua con pectine ed altri additivi, i quali hanno lo scopo di migliorare le proprietà meccaniche del film depositato.

Per comprendere quale era la formulazione migliore, sono state studiate sia le variazioni delle proprietà meccaniche del film sia quelle derivanti dalle condizioni ambientali, determinanti per la formazione di quest'ultimo. A tal fine è risultato necessario valutare lo stress massimo sopportabile dal materiale, in termini di elongazione, ovvero il carico di snervamento e quello di rottura, come anche il modulo di Young. E' interessante notare come questi parametri variano con l'aggiunta di un plasticizzante o di altre sostanze [5]. A tale scopo sono stati svolti test per valutare sia l'effetto del plasticizzante sui film a base di pectina e di chitosano sia l'effetto dei flavonoidi. Questi test hanno consentito di determinare quale di questi additivi migliorava le proprietà fisiche del film.

6. Definizione dei processi produttivi delle pectine

Selezionate le pectine, si è proceduto alle ipotesi di processo e relative fasi di lavorazione quali: trattamento delle scorze di agrumi, estrazione della pectina, purificazione, concentrazione e coagulazione della soluzione pectica tramite solvente, purificazione della pectina, essiccazione, macinazione e setacciatura della pectina.

6.1 Estrazione delle Pectine

Le pectine vengono estratte dai residui della spremitura delle mele o delle bucce di agrumi con acqua, portando il miscuglio acqua/residui a ebollizione fino ad ottenere una sospensione acquosa (Fig. 3). Successivamente, il materiale vegetale viene trattato con acido cloridrico (oppure solforico, nitrico, fosforico, ossalico) mantenendo il pH ad un valore compreso tra 1,5 - 3,0 e la temperatura ad un valore compreso tra 60-100 °C. Di seguito viene effettuata la filtrazione, processo molto delicato, in quanto l'estratto, contenente il materiale vegetale acido degradato e le pectine è corrosivo e viscoso. Fatto ciò, le pectine vengono isolate dalla soluzione acquosa con un processo di precipitazione alcolica con isopropanolo ed infine il precipitato viene filtrato, essiccato e setacciato [6].

Si è notato che la natura della pectina estratta dipende, fondamentalmente, dalla concentrazione dell'acido usato e dalla temperatura. Variando questi due parametri, infatti, si ottengono prodotti finali con diverso grado di poli-dispersione che si riflette nelle loro proprietà fisico-chimiche e ne determina le caratteristiche di utilizzo finale.

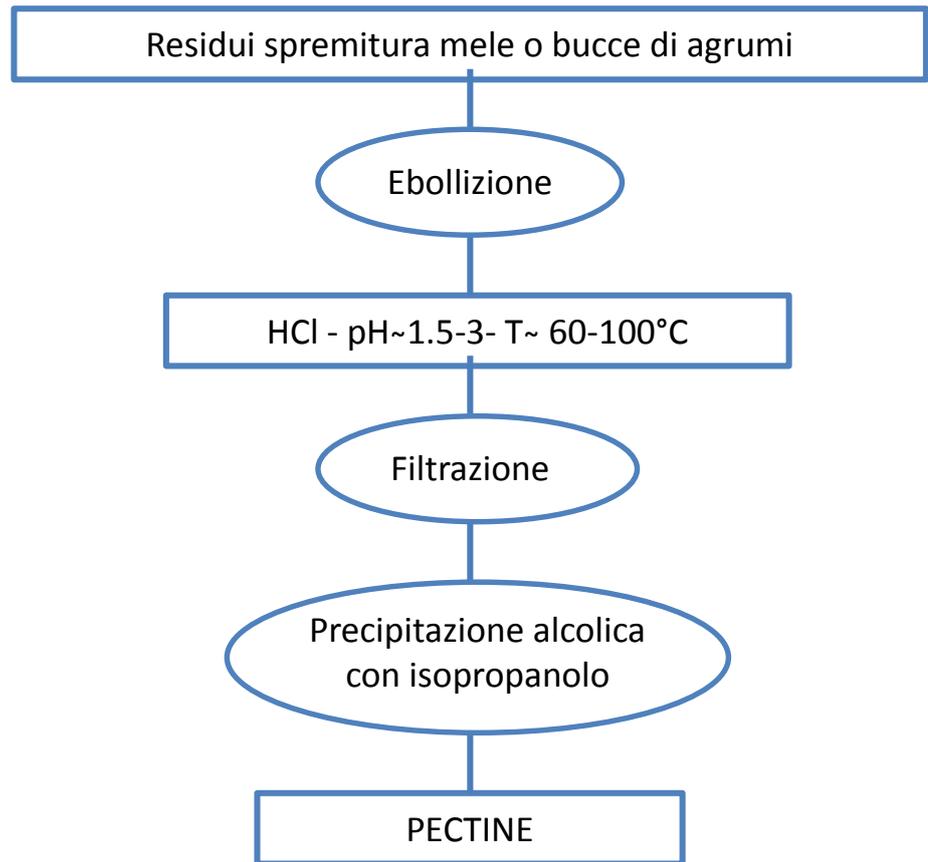


Figura 3: Diagramma a blocchi estrazione pectine.

7. Definizione delle miscele a base pectinica

Sono state effettuate analisi e verifiche di gelificazione su miscele di pectine di differente tipo e su miscele di pectine con diverse concentrazioni di solidi solubili, al fine di ottenere prestazioni migliori di quelle ottenibili con le pectine non miscelate (in termini di migliore propensione alla deposizione del film sui prodotti mantenendo inalterate le caratteristiche nutrizionali, organolettiche ed igieniche del prodotto).

I film che sono stati prodotti in laboratorio sono a base di pectina o chitosano con aggiunta di flavonoidi come antiossidanti e/o glicerolo, ciclodestrina o maltodestrina come plasticizzanti.

Di seguito si riportano, brevemente, le proprietà principali di questi additivi e successivamente i due metodi di preparazione del film.

7.1 Chitosano

Polimero di origine naturale composto da D-glucosamina e Nacetil-D glucosamina, legate tramite legami $\beta(1-4)$. È derivato per deacetilazione alcalina dalla chitina, presente nell'esoscheletro di crostacei, insetti ed in alcuni tipi di funghi.

Questo polimero (Fig. 4) ha le seguenti proprietà:

- Antimicrobica
- Antibatterica
- Biodegradabile
- Biocompatibile
- Flessibile
- Resistente a rottura
- Valori moderati di permeabilità all'acqua e all'ossigeno.

Tali proprietà sono molto rilevanti per la produzione di film edibili.

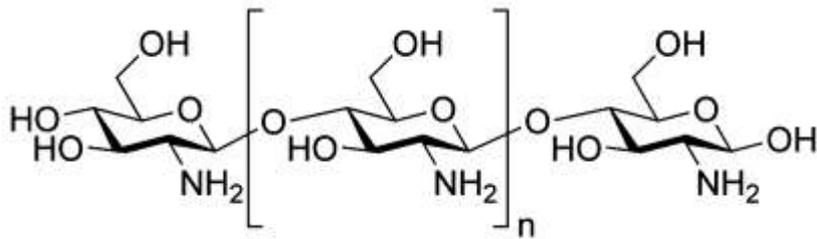


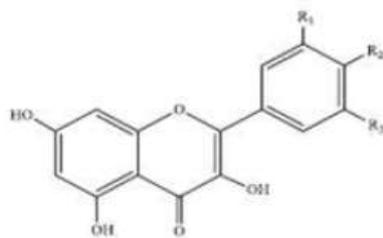
Figura 4: formula di struttura del chitosano.

7.2 Flavonoidi

I flavonoidi (Fig. 5) sono un ampio gruppo di composti strutturalmente correlati con un scheletro tipo cromano, con un sostituito fenile nella posizione C2 o C3; i flavonoidi sono indicati come glicosidi quando contengono uno o più zuccheri (o glucosidi in caso di una unità di glucosio), e come agliconi quando non è presente la porzione zuccherina.

Questa molecola ha le seguenti proprietà nutraceutiche:

- Anti-ossidante
- Anti-infiammatoria
- Anti-diabetica
- Anti-virale
- Anti-cancerogena
- Anti-microbica



Flavonoli	R ₁	R ₂	R ₃
Quercetina	OH	OH	H
Laricitrina	OCH ₃	OH	OH
Siringetina	OCH ₃	OH	OCH ₃
Miricetina	OH	OH	OH

Figura 5: formula di struttura dei flavonoidi e dei suoi derivati.

7.3 Maltodestrine

Le maltodestrine (Fig. 6) sono polimeri derivanti dal processo di idrolisi degli amidi. L'amido è la principale riserva energetica delle piante. Si concentra soprattutto nei tuberi, quali patata e tapioca, e nei semi, come quelli di riso, mais e grano.

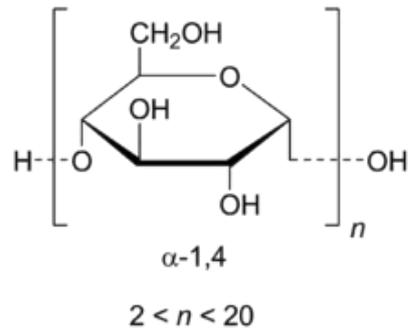


Figura 6: formula di struttura della maltodestrina.

7.4 Ciclodestrine

Le ciclodestrine (CD) (Fig. 7) sono oligosaccaridi ciclici costituiti da un massimo di 10 unità zuccherine e sono ottenute dalla conversione enzimatica dell'amido per reazione di transglucosilazione intramolecolare ad opera della ciclodestrina-glucoamylasi (CGTasi).

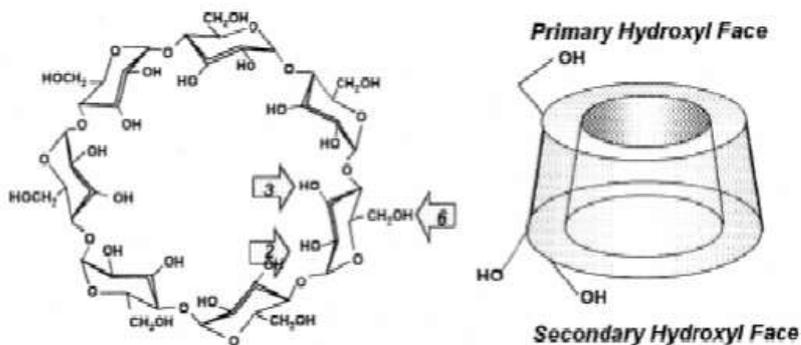


Figura 7: formula di struttura delle ciclodestrine.

A seconda del numero di unità glucosidiche si hanno diversi tipi di ciclodestrine:

- ✓ α -CD: è la più piccola ed è costituita da 6 unità glucosidiche
- ✓ β -CD: è una delle più usate in campo farmaceutico e presenta 7 unità glucosidiche
- ✓ γ -CD: ha 8 unità glucosidiche
- ✓ δ -CD: è la più grande ed è costituita da 9 unità glucosidiche

8. Primo metodo

Inizialmente sono stati preparati film all'1% e al 2% di sola pectina in 20 ml di H₂O deionizzata e microfiltrata. I film sono stati fatti essiccare all'aria per 6 giorni. Tuttavia tale arco temporale ha causato la contaminazione (da muffe) del film prodotto, problema non di poco conto visto l'utilizzo ed il ruolo che il film dovrebbe avere sugli alimenti. Si è quindi utilizzato come solvente l'etanolo, ma in questo caso si sono riscontrati problemi legati alla solubilità della pectina nel mezzo acqua-etanolo.

Valutata la solubilità nel solo mezzo contenente acqua, si è quindi deciso di proseguire su tale filone ovviamente focalizzando l'attenzione sulla problematica della contaminazione.

A tal fine, si è pensato di diminuire il volume di solvente in soluzione, in modo da ridurre a sua volta il tempo di essiccamento, e osservare inoltre il comportamento dei film all'aggiunta degli antiossidanti e del plasticizzante. Inizialmente è stata verificata la solubilità nel glicerolo dei flavonoidi, al fine di valutare il loro possibile uso nei film come plasticizzante e antiossidante, rispettivamente. Sono stati pesati 1 mg di flavonoidi e 1 ml di glicerolo (gly), mescolati e posti a sonicare per qualche minuto. La solubilità in queste condizioni è risultata ottima, cosa che invece non si è verificata con 2 mg di flavonoidi e 1 ml di glicerolo. Appurata la solubilità, è stata preparata una soluzione flavonoidi/gly di 0.5 mg/ml.

Sono stati preparati i seguenti film in 18 ml di acqua deionizzata e microfiltrata:

- 1% di pectina
- 1% di pectina, 1:5 di una soluzione di Gly e Flavonoidi
- 1% di pectina, 1:10 di una soluzione di Gly e Flavonoidi
- 1% di pectina, 1:20 di una soluzione di Gly e Flavonoidi
- 1% di pectina, 1:30 di una soluzione di Gly e Flavonoidi
- 1% di pectina, 1:10 di ciclodestrina

I film così preparati sono stati colati in capsule Petri e lasciati asciugare. Il volume di soluzione inferiore e l'aggiunta di antiossidanti e plasticizzanti non ha evitato la formazione di muffa, pertanto il problema risultava legato alla metodica di essiccamento. Pertanto, si è seccato il film in stufa a 40 °C in modo tale che la temperatura più elevata velocizzasse il tempo di essiccamento e proteggesse i film da attacchi di batteri e/o muffe.

9. Secondo metodo

Sulla base dei risultati ottenuti con il primo metodo si è proceduto con la preparazione di ulteriori film. Per valutare l'efficacia del metodo di preparazione sono stati preparati film semplici a base di pectina con l'aggiunta del solo plasticizzante, in particolare:

1% di pectina, 1:5 di Gly

1% di pectina, 1:10 di Gly

1% di pectina, 1:15 di Gly

1% di pectina, 1:20 di Gly

in 18 ml di H₂O.

Questi film dopo essere stati versati in capsule Petri sono stati posti in stufa a 40°C. Il tempo di essiccazione è risultato essere di quattro giorni. I film si presentano trasparenti e omogenei come è evidente in figura 8.



Figura 8: Film edibile all' 1% di Pectina e 1:15 di Gly.

La stessa procedura è stata utilizzata per la realizzazione di film edibili a base di chitosano. In questo caso è stata utilizzata acqua acidificata (18 ml) con una soluzione di HCl a pH circa pari a 3 per favorire lo scioglimento del chitosano.

I film realizzati sono stati:

- 0.5 % di chitosano, 1:20 di Gly
- 0.5 % di chitosano, 1:40 di Gly

Anche in questo caso i film sono stati colati in capsule Petri e posti in stufa a 40 °C per quattro giorni. Tale arco temporale ha determinato un raggrinzimento e indurimento dei film. Si è allora

provato ad aggiungere alla miscela, percentuali variabili di glicerolo ed inoltre si sono ridotti i tempi di essiccamento, tuttavia nessun risultato soddisfacente era ottenuto.

Ulteriori ricerche effettuate [7, 8] hanno dato modo di provare nuove tecniche di essiccamento, in particolare alcuni film a base di chitosano sono stati preparati per solvent casting e seccati in stufa a 25°C mentre altri ancora lasciati seccare all'aria, pertanto si è deciso di verificare quale dei due metodi fosse migliore nel nostro caso.

Sono stati ripreparati i seguenti film a base di chitosano in 18 ml di H₂O acidificata:

- 0.5% di chitosano, 1:10 di Gly
- 0.5% di chitosano, 1:15 di Gly
- 0.5% di chitosano, 1:20 di Gly
- 0.5% di chitosano, 1:40 di Gly

I film lasciati essiccare in stufa a 25°C hanno impiegato 7 giorni per asciugarsi, tuttavia anche questa volta apparivano raggrinziti e spezzati. I film lasciati seccare all'aria invece hanno impiegato circa 9 giorni per asciugarsi risultando regolari, omogenei e trasparenti (Fig. 9). Questa risultava essere la metodica ideale per questi tipi di film. Quindi si è passati alla loro realizzazione.



Figura 9: Film edibile allo 0.5% di Chitosano e 1:15 di Gly.

10. Tabella riassuntiva

Nome	Pectina	Pectina %p/v	Chitosano %p/v	Lattosio	Glicerolo	Condizioni essiccamento	Commenti
Pec 01	09/056	1%	-	-	1:5	40 °C per 4 giorni	Presente muffa all'interno (acqua non filtrata)
Pec 02	09/056	1%	-	-	1:10	40 °C per 4 giorni	Film trasparente e omogeneo, presente qualche forellino all'interno (acqua non filtrata)
Pec 03	09/056	1%	-	-	1:15	40 °C per 4 giorni	Film trasparente e omogeneo, presente qualche forellino all'interno (acqua non filtrata)
Pec 04	09/056	1%	-	-	1:20	40 °C per 4 giorni	Presente muffa all'interno (acqua non filtrata)
Chit R01(*)	-	-	0.5%	-	1:20	40 °C per 4 giorni	Film raggrinzito e indurito, è stato in stufa ad una temperatura troppo alta e per troppo tempo (acqua non filtrata)
Chit R02	-	-	0.5%	-	1:40	40°C per 4 giorni	Film raggrinzito e indurito, è stato in stufa ad una temperatura troppo alta e per troppo tempo (acqua non filtrata)
Pec 05	09/051	1%	-	1:1	1:5	40°C per 4 giorni	Film molto sottile, per niente elastico, impossibile staccarlo dalla capsula si spezza subito (acqua microfiltrata)
Pec 06	09/051	1%	-	1:1	1:10	40°C per 4 giorni	Film molto sottile, per niente elastico, impossibile staccarlo dalla capsula, si spezza subito (acqua microfiltrata)
Pec 07	09/051	1%	-	1.1	1:15	40°C per 4 giorni	Film molto sottile, per niente elastico, impossibile staccarlo dalla capsula, si spezza subito (acqua microfiltrata)
Chit R03	-	-	0.5%	-	1:10	40°C per 2 giorni	Film raggrinzito ma meno delle volte precedenti, è stato in stufa ad una temperatura troppo alta. Presenza di forellini (acqua microfiltrata)
Chit R04	-	-	0.5%	-	1:20	40°C per 2 giorni	Film raggrinzito ma meno della volta scorsa è stato in stufa ad una temperatura troppo alta. Presenza di forellini (acqua microfiltrata)

Nome	Pectina	Pectina %p/v	Chitosano %p/v	Lattosio	Glicerolo	Condizioni essiccamento	Commenti
Chit R05	-	-	0.5%	-	1:30	40°C per 2 giorni	Film raggrinzito ma meno della volta scorsa, è stato in stufa ad una temperatura troppo alta. Presenza di forellini (acqua microfiltrata)
Chit R06	-	-	0.5%	-	1:40	40°C per 2 giorni	Film raggrinzito ma meno della volta scorsa, è stato in stufa ad una temperatura troppo alta. Presenza di forellini (acqua microfiltrata)
Pec 08	09/056	1%	-	-	1:10	40°C per 4 giorni	Film trasparente e omogeneo, presente qualche forellino all'interno (acqua microfiltrata)
Pec 09	09/056	1%	-	-	1:20	40°C per 4 giorni	Film trasparente e omogeneo, presente qualche forellino all'interno (acqua microfiltrata)
Pec 10	09/051	1%	-	1:1	1:40	40°C per 5 giorni	Film molto sottile, per niente elastico, impossibile staccarlo dalla capsula, si spezza subito (acqua microfiltrata)
Chit R07	-	-	0.5%	-	1:10	25 °C per 7 giorni	Film raggrinzito e spezzato in due parti (acqua microfiltrata)
Chit R08	-	-	0.5%	-	1:15	25°C per 5 giorni+all'aria per 4 giorni	Film compatto, non raggrinzito, senza di forellini (acqua microfiltrata).
Chit R09	-	-	0.5%	-	1:20	25 °C per 7 giorni	Film raggrinzito e spezzato in due parti (acqua microfiltrata)
Chit R10	-	-	0.5%	-	1:40	25 °C per 7 giorni	Film raggrinzito e spezzato in un punto (acqua microfiltrata)

(*) I film con Chit Raw sono stati preparati con H2O acidificata con HCl,pH=3

11. Ringraziamenti

Progetto: "Tecnologie e processi per il miglioramento della shelf-life dei prodotti del comparto agroalimentare attraverso l'uso di film edibili innovativi a base pectinica" ("PON FILM-EDIBILI", Cod. PON01_02286) - CUP: B68F12000360007

12. Bibliografia

- [1] Beda Marcel Yapo, Patrice Lerouge, Jean-Francois Thibault, Marie-Christine Ralet, Pectins from citrus peel cell walls contain homogalacturonans homogenous with respect to molar mass, rhamnogalacturonan I and rhamnogalacturonan II, *Carbohydrate Polymers* 69 (2007) 426–435.
- [2] Andrew J. Mort, Feng Qiu, Niels O. Maness, Determination of the pattern of methyl esterification in pectin. Distribution of contiguous nonesterified residues, *Carbohydrate Research* Volume 247, 2 September 1993, Pages 21–35.
- [3] V.M. Dronnet, C.M.G.C. Renard, M.A.V. Axelos & J.-F. Thibault, Characterisation and selectivity of divalent metal ions binding by citrus and sugar-beet pectins, *Carbohydrate Polymers* 30 (1996) 253-263.
- [4] Rachel Lutz, Abraham Aserin, Louis Wicker, Nissim Garti, Double emulsions stabilized by a charged complex of modified pectin and whey protein isolate, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 72 (2009) 121–127.
- [5] Milena R. Martelli, Ta'ís T. Barros, M'arcia R. de Moura, Luiz H. C. Mattoso, and Odilio B. G. Assis. Effect of Chitosan Nanoparticles and Pectin Content on Mechanical Properties and Water Vapor Permeability of Banana Puree Films. *Journal of Food Science*. Vol 78, Nr.1, 2013.
- [6] Jongbin Lim, Jiyoung Yoo, Sanghoon Ko, Suyong Lee, Extraction and characterization of pectin from Yuza (*Citrus junos*) pomace: A comparison of conventional-chemical and combined physical-enzymatic extractions, *Food Hydrocolloids* 29 (2012) 160-165.
- [7] Jong-Whan Rhim, Seok-In Hong, Hwan-Man Park, and Perry K. W. Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 5814-5822.
- [8] Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings, Maria B. Vàsconez, Silvia K. Flores, Carmen A. Campos, Juan Alvarado, Lia N. Gerschenson, *Food Research International* 42 (2009) 762-769.