



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
FIRENZE

Scuola di  
Scienze Matematiche  
Fisiche e Naturali

Corso di Laurea in Chimica  
Curriculum Scienze chimiche

# **Caratterizzazione chimico-fisica di pectina da materiali di riciclo**

## **Physico-chemical characterization of pectin from recycled materials**

**Relatore**

Prof. Pierandrea Lo Nostro

**Correlatore**

Dr.ssa Moira Ambrosi

**Candidato**

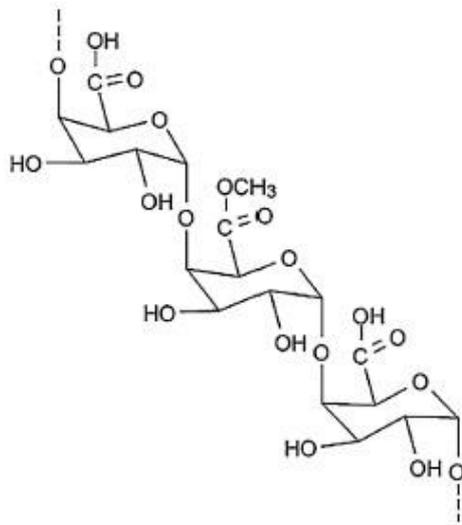
Michael Casale

# Sommario

<b>1. Introduzione .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Materiali e metodi.....</b>	<b>6</b>
<b>2.1 Materiali.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2 Caratterizzazione e metodi di preparazione</b> .....	<b>8</b>
<b>3. RISULTATI.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1 Formazione del Gel.....</b>	<b>12</b>
<b>3.2 TGA .....</b>	<b>12</b>
<b>3.3 DSC (Differential Scanning Calorimetry) .</b>	<b>13</b>
<b>3.4 Determinazione del grado di esterificazione</b> .....	<b>31</b>
<b>3.5 NIR.....</b>	<b>33</b>
<b>4. Discussione.....</b>	<b>34</b>
<b>4.1 TGA .....</b>	<b>34</b>
<b>4.2 DSC .....</b>	<b>34</b>
<b>4.3 NIR.....</b>	<b>39</b>
<b>4.4 Grado di esterificazione.....</b>	<b>39</b>
<b>5. Conclusioni e prospettive future .....</b>	<b>40</b>
<b>6. Bibliografia .....</b>	<b>42</b>

# 1. Introduzione

Le pectine sono miscele complesse di polisaccaridi che si trovano nelle cellule vegetali. Il principale costituente della pectina è l'acido D-galatturonico (figura



**Figura 1.1** Acido poligalatturonico (J. Aburto, M. Morana, A. Galano b, E. Torres-García, "Non-isothermal pyrolysis of pectin: A thermochemical and kinetic approach" *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 112 (2015) 94–104)

1.1), le cui molecole formano biopolimeri. Le unità monomeriche sono legate tra loro da legami  $\alpha$ -1,4-glicosidici. Unità di ramnosio si legano all'estremità riducente tramite legami 1,2-glicosidici e a quella non riducente tramite legami 1,4-glicosidici. Altri monosaccaridi possono essere legati alle unità di ramnosio. La particolarità delle unità di acido

galatturonico è quella di avere un gruppo carbossilico in posizione 6. Questo potrà essere esterificato oppure libero. Si può definire un grado di esterificazione, come il rapporto percentuale tra i gruppi carbossili esterificati e quelli totali. Questo parametro dipende dal metodo di estrazione della pectina.

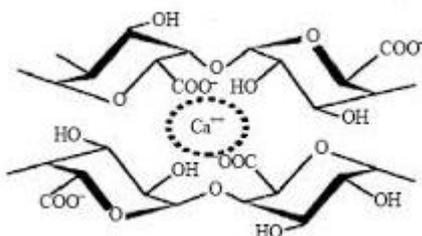
Le pectine possono formare dispersioni in acqua. In acqua esse adottano una struttura ad elica stabilizzata da fattori sterici e legami idrogeno tra i vari monomeri costituenti la catena<sup>[1]</sup>. La complessa interazione della pectina con l'acqua mantiene l'integrità del gel, inserendosi anche nella rete del polimero<sup>[17]</sup>. Nella maggior parte dei gel di pectina la reticolazione non è data da legami puntuali, ma da vere e proprie zone di giunzione che stabilizzano il polimero grazie a una combinazione di forze deboli intermolecolari. Queste forze sono legami a idrogeno e interazione idrofobiche. Queste ultime determinano la

differenza di formazione del gel tra pectine ad alto e a basso grado di esterificazione.

La formazione di gel di pectina dipende, come nel caso di altri gel fisici, dal peso molecolare del biopolimero e della sua disposizione nello spazio. Nel caso della pectina, sono influenti anche il pH, il grado di esterificazione, la presenza di sali (in particolare di  $\text{Ca}^{2+}$ ) e la forza ionica. Il meccanismo dipende in forte misura dal grado di esterificazione, dato che tiene conto di quanti gruppi carbossilici non esterificati ci saranno e quindi del bilancio energetico tra interazioni idrofobiche e repulsioni elettrostatiche<sup>[1,2]</sup>. Ne risulta che per gel di pectine ad alto grado di esterificazione, la stabilità termodinamica sarà data, oltre che dai legami a idrogeno, delle interazioni idrofobiche che avvengono attraverso i gruppi metile del gruppo estereo (Figura 1.2)<sup>[1]</sup>.

Per ciò che riguarda il pH, a valori alti, dove i pochi gruppi carbossilici liberi portano una carica

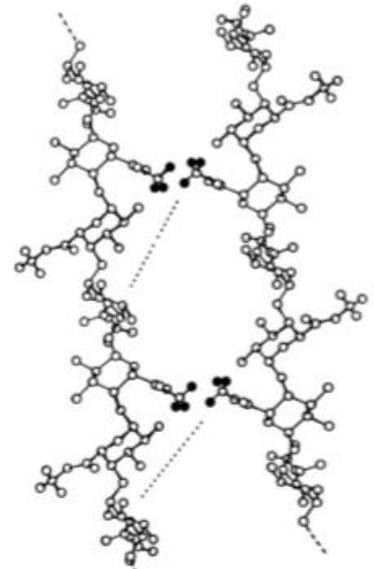
negativa, si ha una diminuzione della forza del gel a causa delle repulsioni



**Figura 1.3** Coordinazione degli ioni calcio con i gruppi carbossilici e idrossilici del biopolimero (R.H. Walter "The chemistry and technology of pectin" 1991 by ACADEMIC PRESS, INC.)

elettrostatiche tra i gruppi carbossilici (abbia esso un grado di esterificazione alto o basso). I gel a basso grado di esterificazione sono molto sensibili al pH e alla presenza di cationi<sup>[1]</sup>. Un grado di esterificazione basso combinato a un  $\text{pH} \geq 7$  e alla presenza di ioni bivalenti (come  $\text{Ca}^{2+}$ ) portano alla formazione di gel

forti. La formazione del gel avviene con il posizionamento dello ione calcio nelle cavità "egg-box" dove il catione forma composti di coordinazione con i gruppi



**Figura 1.2** Zone di giunzione in gel in cui la pectina ha alto grado di esterificazione (R.H. Walter "The chemistry and technology of pectin" 1991 by ACADEMIC PRESS, INC.)

carbossilici (che a causa dell'ambiente basico portano una carica negativa) e i gruppi idrossili (Figura 1.3). Anche la presenza di altri cationi, come  $Mg^{2+}$ , o di anioni, come gli alogenuri, o anche di altri zuccheri influenza la formazione del gel dato che è determinata dalla forza dei legami a idrogeno che si instaurano tra i gruppi ossidrilici dello zucchero e l'acqua<sup>[1]</sup>. Quando il grado di esterificazione della pectina, anche la forza ionica generata da eventuali Sali in soluzione influisce sulla formazione del gel. Alte forze ioniche schermano la carica negativa dei gruppi carbossilici. In questo modo, le catene di polimero si possono avvicinare. Da un effetto come questo ne consegue un abbassamento del calcio necessario a formare il gel<sup>[1]</sup>.

L'aumento della forza del gel è indotto anche dalla presenza di altri zuccheri, che agiscono sull'attività dell'acqua e sulle interazioni idrofobiche del biopolimero<sup>[1]</sup>.

L'utilizzo delle pectine è molto vario. Il principale e il più noto uso è in campo alimentare. La loro capacità di formare gel in soluzione acquosa le rendono un importante additivo per l'addensamento delle marmellate e delle gelatine<sup>[1,13]</sup>. Sempre come addensante, viene usato nella produzione dei succhi di frutta<sup>[13]</sup>.

Quello alimentare non è l'unico campo di applicazione delle pectine: sono molte le applicazioni anche in campo farmacologico. È stato dimostrato che l'assunzione di pectina favorisce la diminuzione dei livelli di colesterolo nel plasma<sup>[14]</sup>. È stata usata per bloccare la metastasi del cancro alla prostata nei topi, anche se non sortisce nessun effetto sulla crescita del tumore primario<sup>[14]</sup>.

Si sono condotti studi sull'effetto della pectina di diminuire la secrezione di insulina post-prandiale e quindi ridurre il tasso di assorbimento di glucosio<sup>[16]</sup>.

Viene utilizzata, insieme al chitosano, come base per nanoparticelle per la somministrazione di farmaci. Il polisaccaride legato al principio attivo viene

immesso nello stomaco e nell'intestino tenue dove la parte saccaridica è digerita dalla microflora, mentre il principio attivo viene rilasciato<sup>[15]</sup>. In campo cosmetico trova applicazione come stabilizzante<sup>[13]</sup>. Infine, data la sua biocompatibilità, potrebbe trovare applicazione nella formulazione in un Fluido fratturante.

Le pectine si trovano in cellule vegetali. Al momento della sintesi, la pectina si trova nella forma completamente esterificata per poi essere trasportata nelle cellule. Una volta nella cellula di destinazione, l'enzima Pectina metilesterasi rompono i legami esterei per garantire il giusto grado di esterificazione<sup>[17]</sup>. La loro funzione nelle cellule vegetali è quella di formare la lamella mediana e conferire adesione ed elasticità<sup>[1]</sup>.

La maggior parte delle pectine sono estratte da buccia di limone e di mela, che ne contengono rispettivamente il 25% e il 15-18%. L'estrazione e il frazionamento dei componenti della buccia di melograno hanno mostrato che certe frazioni sono ricche di pectine.

L'obiettivo di questo lavoro è la caratterizzazione chimico-fisica di questa frazione ricca di pectine proveniente da materiale di riciclo.

## **2. Materiali e metodi**

### ***2.1 Materiali***

Il materiale di partenza si presenta come un liofilizzato dopo un precedente processo di estrazione dal mesocarpo dei melograni *Punica Granatum* di varietà Wonderful provenienti dalla Puglia.

Il processo di estrazione della pectina da melograno avviene dopo che il mesocarpo è stato separato manualmente dall'esocarpo e dagli arili. Il

mesocarpo liofilizzato e macinato è stato solubilizzato in acqua. La soluzione è stata riscaldata e tenuta sotto agitazione fino alla bollitura. Il surnatante (decotto) è stato raccolto in una nuova beuta e raffreddato in bagno di ghiaccio. Al decotto è stato aggiunto EtOH e la soluzione è raffreddata e quindi centrifugata a freddo. Il precipitato, costituito dai polisaccaridi grezzi, è raccolto, mentre il surnatante, contenente i tannini, è stato trasferito in una beuta.

Per ognuno dei due replicati l'aggiunta acqua distillata ai polisaccaridi grezzi e il miscuglio ottenuto viene sonicato e agitato manualmente fino a completa solubilizzazione, ottenendo così la soluzione. Questa è stata trasferita in una beuta che è stata poi posta in un bagno di ghiaccio e poi è aggiunto EtOH. La soluzione è sottoposta a un nuovo raffreddamento. La soluzione etanolica di polisaccaridi raffreddata è centrifugata. Il polisaccaride solubilizzato è stato liofilizzato per poi essere frazionato. Le analisi di questo lavoro sono svolti sulla frazione ricca di pectine<sup>[19]</sup>.

Tutti i reagenti con cui si sono preparate le sospensioni sono usati come forniti: NaF (99%), NaI (99%), NaSCN (98%), NaClO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (99%), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (99%) da Fluka (Milano, Italia); NaCl (99.5%), NaBr (99.5%), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O(99%), MgCl<sub>2</sub> (99%), CaCl<sub>2</sub> (99%), SrCl<sub>2</sub> (99%), BaCl<sub>2</sub> (99%), AlCl<sub>3</sub> (99%), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>4</sub> provengono dalla Sigma-Aldrich (Milano, Italia). Anche le pectine in polvere usate come standard esterni, due a grado di esterificazione noto in un certo range (DE>85% e 55%<DE<70%) estratte da limone e due a grado di esterificazione non noto, provengono dalla Sigma-Aldrich.

Tutte le soluzioni e le dispersioni sono state preparate usando acqua MilliQ (resistività > 18 MΩ·cm a 25°C).

## ***2.2 Caratterizzazione e metodi di preparazione***

### ***2.2.1 Preparazione dei campioni***

Per la preparazione dei gel, la pectina è stata pesata direttamente nel portacampione e la soluzione è portata a 1 g aggiungendo acqua MilliQ o la soluzione di un sale. Il portacampione è messo in un bagno ad acqua e lasciato sotto agitazione magnetica a temperature costante per 30 minuti. Dopo alcune prove preliminari, si è stabilita una procedura standard consistente nelle seguenti condizioni operative:

- Temperatura del bagno ad acqua a 50°C
- Agitazione magnetica
- Tempo standard di preparazione del gel 30 minuti
- eventuali sali aggiunti hanno una concentrazione 1 M

### ***2.2.2 TGA***

È stata effettuata un'analisi termogravimetrica (TGA) sul campione liofilizzato usando un SDT Q600 di TA Instruments (Philadelphia, PA) (figura 2.1). È un'analisi termogravimetrica eseguita aumentando gradualmente la temperatura del campione in un forno sotto flusso costante N<sub>2</sub> e la sua massa viene misurata in un equilibrio analitico che rimane fuori dalla fornace. La perdita di massa viene osservata se un evento termico comporta la perdita di un componente nel campione o la decomposizione del materiale. Lo strumento è dotato di un doppio fascio termico orizzontale, progettato per ottenere la misura simultaneamente della perdita di peso e del flusso di calore. La bilancia è costituita da due bracci ceramici identici per il deposito del campione e del riferimento (aria nel nostro caso) che, durante una misurazione, entra in un forno in grado di riscaldare il campione dalla temperatura ambiente fino a

1500°C. Il segnale rilevato è la differenza tra il peso dei due bracci della bilancia in funzione del tempo o della temperatura; In questo modo errori strumentali sono evitati e la precisione e l'accuratezza dell'analisi sono migliorate. La temperatura viene rilevata da una termocoppia costituita da una lega di platino e rodio direttamente incorporato nelle braccia ceramiche, sotto il campione e le allocazioni di riferimento. Questa impostazione impedisce che il campione e il sensore di temperatura vengano a contatto evitando la decomposizione catalitica del campione e gli errori nella pesatura a causa della presenza di contaminanti. L'installazione sperimentale per l'analisi DTG comprende una rampa di temperatura lineare da 25 ° C a 500 ° C, con una velocità di 10 ° C / min e una portata costante di N<sub>2</sub> di 100 ml / min. Il campione è collocato in un pan di allumina.



*Figura 2.1 SDT Q600  
di TA Instruments  
(Philadelphia, PA)*

### **2.2.3 DSC (Differential Scanning Calorimetry)**

Per un'analisi accurata e più dettagliata del comportamento termico dei gel, è stata eseguita anche la DSC (Calorimetria di scansione differenziale), su un DSC Q2000 da TA Instruments (Philadelphia, PA). Le misure sono state registrate per gel senza sali aggiunti a diverse concentrazioni di pectina in acqua (1, 2, 3, 4, 5, 7 e 10 w/w%) e per gel con sali aggiunti in cui la

concentrazione di polisaccaride in acqua è del 5 % w/w. All'inizio abbiamo equilibrato il sistema a 20 °, abbiamo eseguito una rampa isoterma per 2 minuti. Allora sono state eseguite due rampe termiche:

- Prima rampa: il campione è stato raffreddato fino a -60 ° C con un tasso di 5°C/min
- Tra le due rampe abbiamo avuto una rampa isoterma per 5 minuti
- Seconda rampa: il campione è stato riscaldato da -60 ° C a 50 ° C con una velocità di 5°C/min

Con la DSC, l'entalpia ( $\Delta H_{\text{sper}}$ ) è stata calcolata dall'area del picco. Nel caso dei gel preparati con aggiunta di sali, sono stati confrontati i risultati ottenuti dalle DSC con alcuni parametri chimico-fisici<sup>[18]</sup>.

## ***2.2.4 Determinazione del grado di esterificazione***

### ***2.2.4.1 Titolazione pHmetrica***

La titolazione prevede l'utilizzo di un pHmetro Basic 20. La pectina è sciolta in acqua con 1 mL di 2-propanolo. Si titola con NaOH 1 M fino a raggiungere pH 7.5. Dopo aver aggiunto NaOH 1 M e aver lasciato saponificare per 30 minuti a temperatura ambiente, si aggiunge una quantità equivalente di HCl 1M e si titola nuovamente con NaOH fino a pH 7.5<sup>[11]</sup>. Si opera quindi una retrotitolazione da cui è possibile ricavare il grado di esterificazione. Se x sono i mL sono aggiunti per la prima titolazione e y quelli per la seconda titolazione, il grado di esterificazione può essere calcolato come:

$$DE(\%) = \frac{y}{x+y} \cdot 100 \quad (1)$$

La titolazione è stata operata sul campione di pectina di melograno e successivamente su altri 4 campioni di pectina in polvere provenienti dalla Sigma Aldrich. Calcolare il DE di questi ultimi è servito ad ottenere degli

standard, necessari alla costruzione di una retta di taratura per la determinazione del grado di esterificazione dell'estratto di melograno con un'analisi ATR-FTIR.

#### **2.2.4.2 Analisi ATR-FTIR**

L'analisi ATR-FTIR è stata fatta usando lo spettrometro Nexus 870 FT-IR è stata utile per avere un'ulteriore conferma del grado di esterificazione della pectina. Gli spettri sono stati registrati analizzando il range 4000-650  $\text{cm}^{-1}$ , usando un beam splitter a KBr e un detector Transmission MCT/A. per ciascuno spettro sono state operate 128 scansioni con una risoluzione di 4  $\text{cm}^{-1}$ . Dopo aver trovato il grado di esterificazione di standard esterni con una titolazione pHmetrica, sono stati i picchi corrispondenti allo stretching C=O a 1740  $\text{cm}^{-1}$  e lo stretching del -COOH a 1650  $\text{cm}^{-1}$ . È possibile costruire una retta di taratura plottando il rapporto tra l'area del picco 1750  $\text{cm}^{-1}$  e la somma delle aree dei due picchi e il grado di esterificazione delle pectine

$$DE = a \frac{A_{1740}}{A_{1740} + A_{1650}} + b \quad (2)$$

dove a e b sono rispettivamente il coefficiente angolare e il termine noto della retta e DE è il grado di esterificazione<sup>[12]</sup>. È possibile ricavare il grado di esterificazione incognito.

#### **2.2.5 NIR**

Lo spettrometro Nexus 870 FT-IR (figura 2.2) è stato usato per fare analisi spettroscopiche nel vicino infrarosso (in un range di 10000-4000  $\text{cm}^{-1}$ ) sui gel del polisaccaride a concentrazioni di polisaccaride 1%, 3%, 5%, 7% e 10%. Gli spettri sono stati registrati con 128 scansioni e con una risoluzione di 4  $\text{cm}^{-1}$ .

Per apprezzare meglio le differenze tra i diversi spettri le curve sono state normalizzate.



*Figura 2.2* Spettrometro NEXUS 870 FT-IR con cui sono state fatte le misure nel vicino infrarosso e nell'infrarosso.

## **3. RISULTATI**

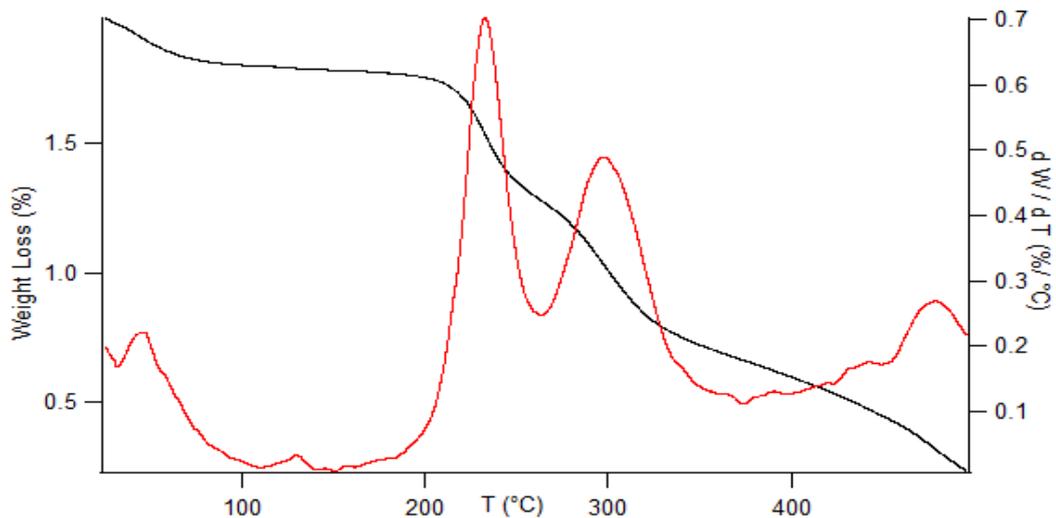
### ***3.1 Formazione del Gel***

I gel che contengono gli ioni citrato e solfato mostrano una certa difficoltà a formarsi. La formazione del gel con citrato di sodio richiede 2 ore e mezzo, mentre quella con solfato di sodio 1 ora. In entrambi i casi, si nota la formazione di grumi. Al contrario quelli contenenti cationi bivalenti si formano con molta facilità.

### ***3.2 TGA***

L'analisi termogravimetrica del liofilizzato ha prodotto una curva che indica la perdita di peso percentuale in funzione della temperatura (curva nera). Data la difficoltà nel distinguere le temperature a cui avvengono le perdite di massa, si può riportare la derivate della perdita di massa percentuale rispetto alla

temperatura (curva rossa). Entrambe le curve sono mostrate in Figura 3.1. La curva rossa mostra un picco poco prima dei 100°C. Due picchi più alti sono registrati intorno a 225°C e intorno ai 300°C.



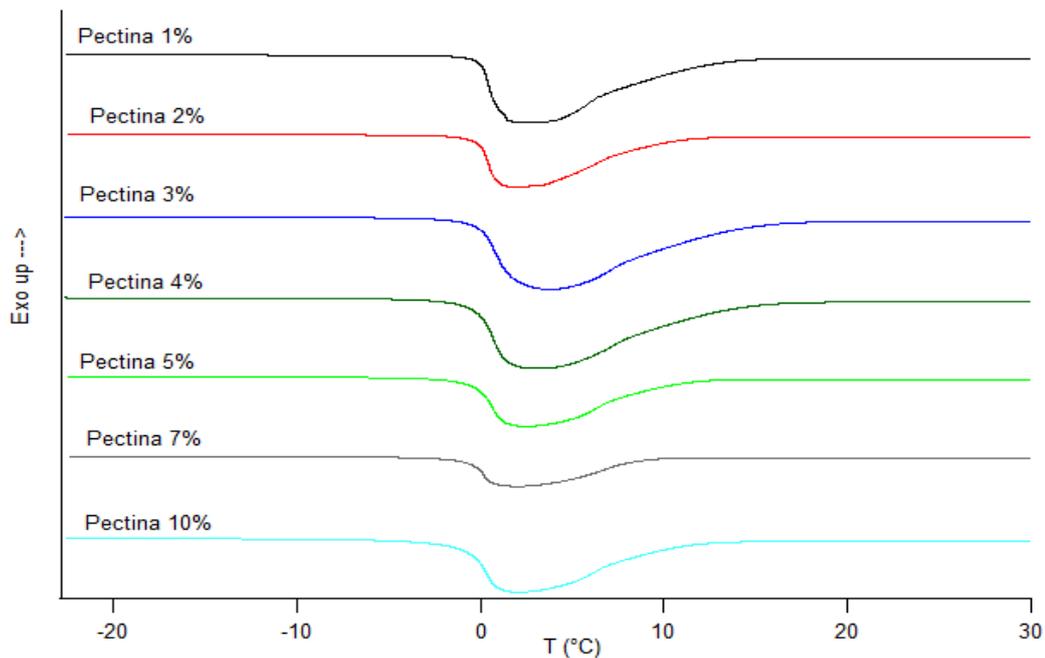
**Figura 3.1** TGA della pectina liofilizzata. La curva nera indica la diminuzione di peso percentuale in funzione della temperatura. La curva rossa riporta la derivata del peso rispetto alla temperatura in funzione della temperatura.

### **3.3 DSC (Differential Scanning Calorimetry)**

Si sono ottenuti i termogrammi per i gel in assenza di sali aggiunti e per i gel con diversi sali aggiunti. La concentrazione usata per i gel con sali è del 5% di pectina. Si riporta il flusso di calore in funzione della temperatura e si ottiene la variazione di entalpia della transizione integrando l'area del picco.

#### **3.2.1 Dispersioni di pectina in acqua in assenza di sali**

Le curve DSC delle dispersioni acquose del polisaccaride senza aggiunta di sali sono riportate in figura 3.2.1.



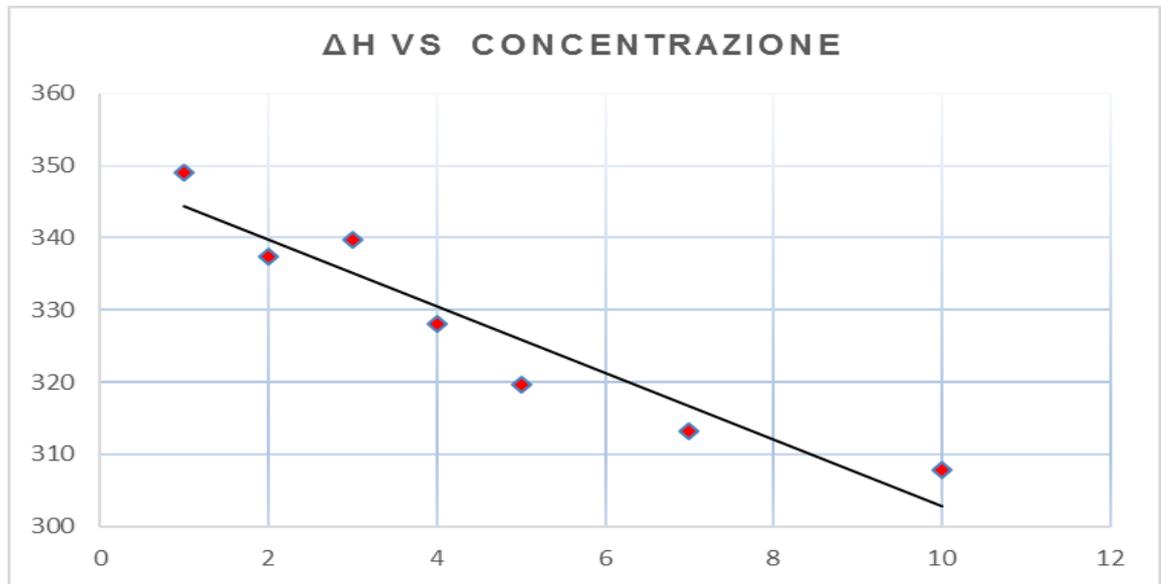
*Figura 3.2.1* Termogramma DSC delle dispersioni acquose di pectina.

Il termogramma mostra che tutti i sistemi danno un picco largo ed endotermico sopra 0°C. In tabella sono mostrate le temperature di onset e le temperature e le entalpie associate alla transizione di fusione dell'acqua.

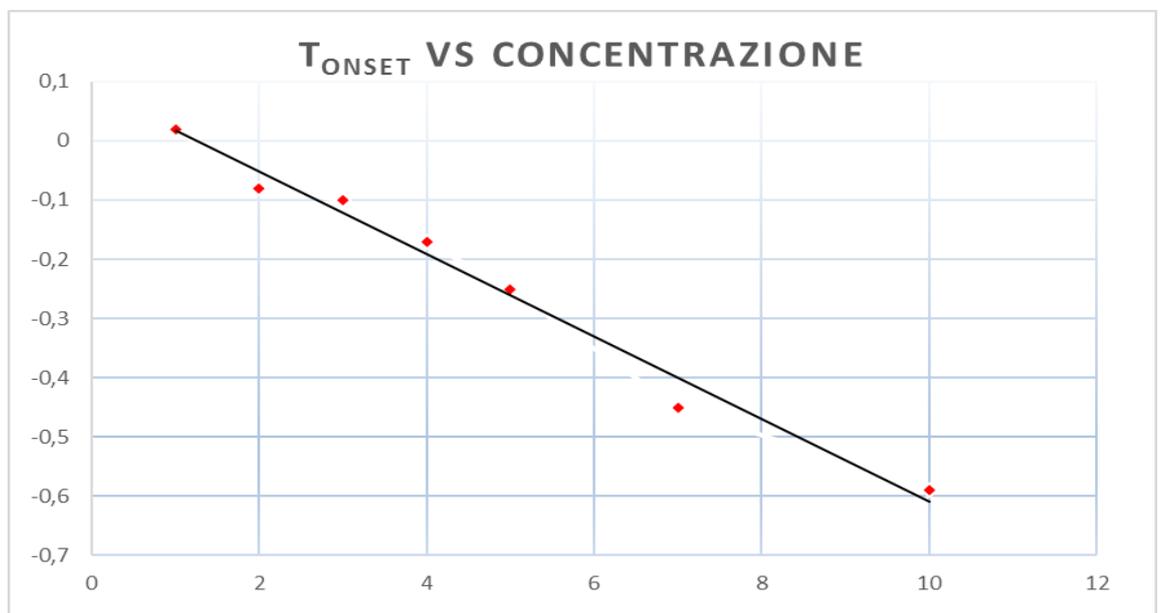
*Tabella 1* Temperature di onset, temperature di fusione ed entalpie di fusione dell'acqua nelle dispersioni acquose di pectina.

Campione	$T_{\text{melting}} (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{onset}} (^{\circ}\text{C})$	$\Delta H_{\text{melting}} (\text{J/g})$
<b>Pectina 1%</b>	2.71	0.02	349.0
<b>Pectina 2%</b>	1.95	-0.08	337.4
<b>Pectina 3%</b>	3.71	-0.10	339.7
<b>Pectina 4%</b>	2.94	-0.17	328.1
<b>Pectina 5%</b>	2.45	-0.25	319.6
<b>Pectina 7%</b>	1.93	-0.45	313.2
<b>Pectina 10%</b>	2.05	-0.59	307.8

Si nota che le temperature di onset e le entalpie di fusione dei sistemi mostrano un certo andamento in funzione della concentrazione. L'andamento è mostrato nei grafici delle figure 3.2.2 e 3.2.3



**Figura 3.2.2** Variazione dell'entalpia di fusione dell'acqua in dispersioni con la concentrazione.



**Figura 3.2.3** Variazione della temperatura di onset per la fusione dell'acqua nelle dispersioni con la concentrazione.

È evidente dalle curve che la temperatura di onset e le entalpie di fusione diminuiscono all'aumentare della concentrazione del polisaccaride nel gel.

### 3.2.2 Dispersioni di pectina in acqua in presenza di sali sodici

In figura è riportato il termogramma del gel contenente diversi alogenuri di sodio (NaF, NaCl, NaBr e NaI) associati alle curve rosse.

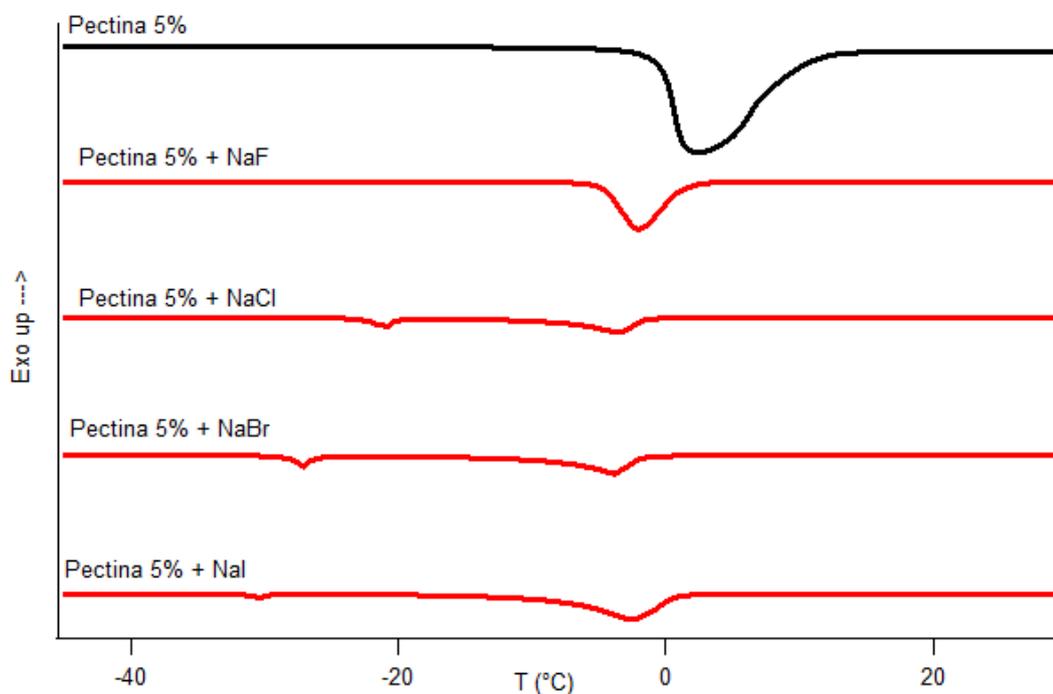


Figura 3.2.4 DSC dei gel di pectina al 5% con alogenuri di sodio

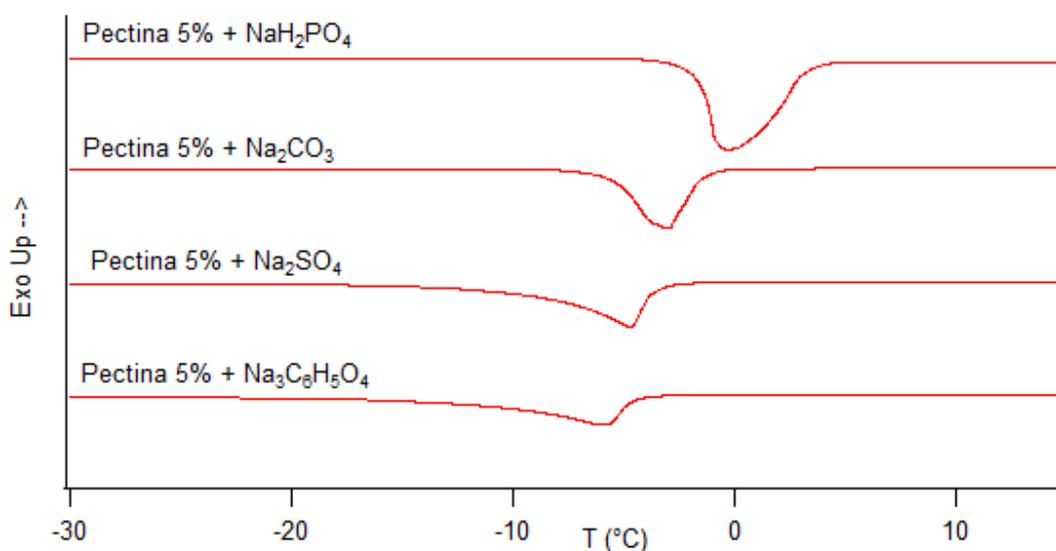
Come si nota le aree dei picchi relativi alla fusione dell'acqua (entalpie di fusione) nei gel contenenti gli alogenuri di sodio sono più piccole del picco nella curva del gel senza sali aggiunti. Nel caso del gel con NaF si vede un solo picco largo ed endotermico intorno a 0°C. Per gli altri gel, il termogramma mostra due picchi ben separati. Quello che mostra il maggior contributo entalpico è intorno agli 0°C mentre il secondo picco, meno evidente, si trova tra -40 e i -20°C. In tabella 2 sono riportati i  $\Delta H$  e le temperature di fusione dell'acqua relativa a questi gel.

**Tabella 2** Entalpie e temperature di fusione relative alla fusione dell'acqua nei diversi gel con alogenuri di sodio

Sale aggiunto	$\Delta H_{\text{melting}}$ (J/g)	$T_{\text{melting}}$ (°C)	$\Delta H_{\text{melting}}$ (J/g)	$T_{\text{melting}}$ (°C)
<b>NaF</b>	293.40	-2.05	/	/
<b>NaCl</b>	167.10	-3.52	39.71	-20.89
<b>NaBr</b>	168.70	-3.85	32.69	-28.07
<b>NaI</b>	190.30	-7.68	6.54	-31.44

È evidente che passando dal fluoruro fino allo ioduro, i picchi endotermici relativi alla fusione dell'acqua si spostano verso temperature minori. La variazione di entalpia associata al picco più largo è alta per il gel contenente fluoruro, scende se invece è presente cloruro per poi aumentare nuovamente nel caso del bromuro e dello ioduro. Infine, l'entalpia associata al picco meno endotermico diminuisce passando dal gel con NaCl a quello contenente NaI.

In figura 3.2.5 è mostrato il termogramma relativo ai gel con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_4$ .



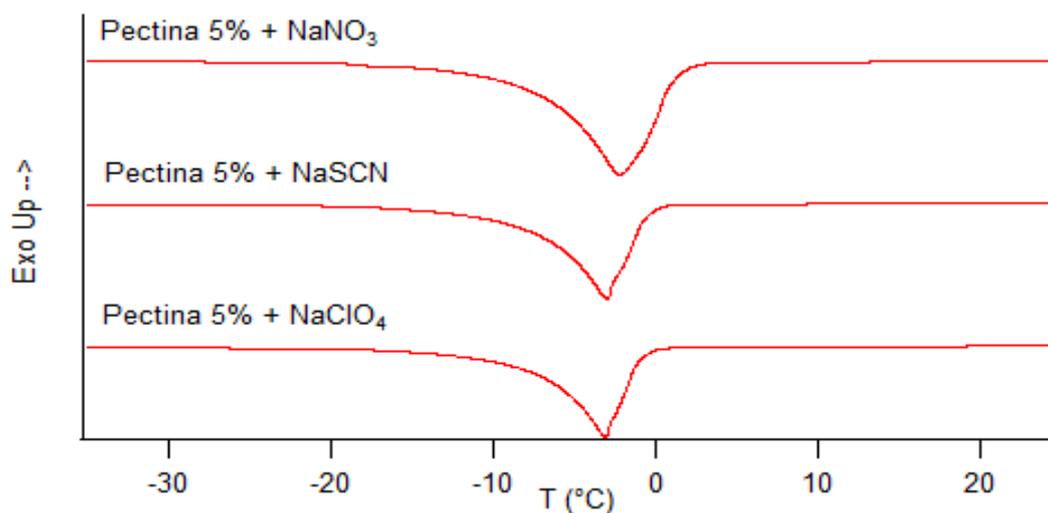
**Figura 3.2.5** DSC di gel di pectina al 5% con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_4$

Quel che si vede dal termogramma è la presenza di un solo picco endotermico intorno a 0°C per ciascuno dei gel. In tabella si riportano i valori di temperatura e di entalpia di fusione dell'acqua in questi gel.

**Tabella 3** Entalpie e temperature di fusione relative alla fusione di acqua in gel di pectina al 5% con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_4$

Sale aggiunto	$\Delta H_{\text{melting}}$ (J/g)	$T_{\text{melting}}$ (°C)
<b><math>\text{NaH}_2\text{PO}_4</math></b>	209.10	-0.27
<b><math>\text{Na}_2\text{CO}_3</math></b>	269.20	-3.12
<b><math>\text{Na}_2\text{SO}_4</math></b>	145.90	-4.73
<b><math>\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_4</math></b>	104.6	-5.93

In figura 3.2.6 è riportato l'ultimo termogramma, che mostra le curve relative ai gel contenenti  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaSCN}$  e  $\text{NaClO}_4$ .



**Figura 3.2.6** DSC di gel di pectina al 5% con  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaSCN}$  e  $\text{NaClO}_4$

Ciascuna delle curve mostrano un solo picco endotermico tra -10°C e 0°C.

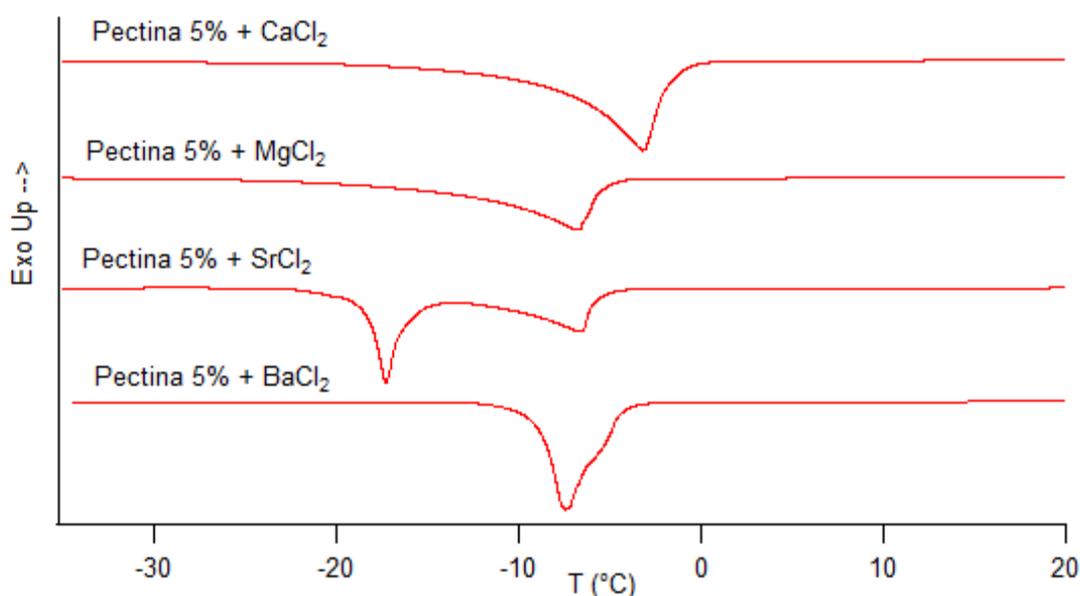
In tabella sono riportati le temperature e le entalpie di fusione dell'acqua di questi gel.

**Tabella 4** Entalpie e temperature di fusione relative alla fusione di acqua in gel di pectina al 5% con  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaSCN}$  e  $\text{NaClO}_4$

Sale aggiunto	$\Delta H_{\text{melting}}$ (J/g)	$T_{\text{melting}}$ (°C)
$\text{NaNO}_3$	233.60	-2.22
$\text{NaSCN}$	218.50	-3.04
$\text{NaClO}_4$	203.70	-3.08

### 3.2.3 Dispersioni di pectina in acqua in presenza di cloruri di sali bivalenti e di $\text{Al}^{3+}$

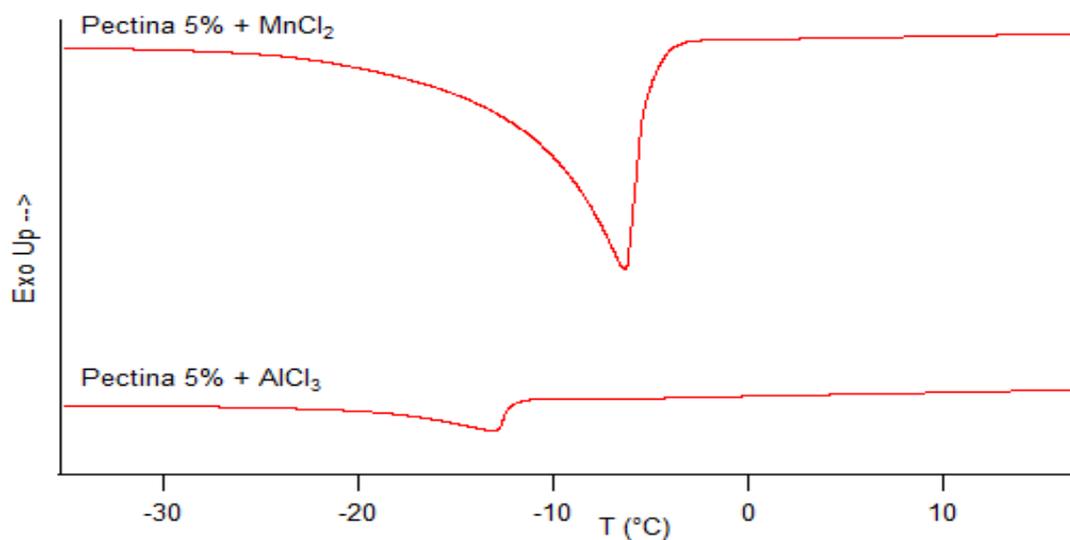
I termogrammi riportati in figura 3.2.7 mostrano le curve DSC dei gel preparati aggiungendo  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{SrCl}_2$  e  $\text{BaCl}_2$ .



**Figura 3.2.7** DSC di gel di pectina al 5% con  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{SrCl}_2$  e  $\text{BaCl}_2$ .

Si nota che la curva relativa al gel con  $\text{SrCl}_2$  mostra due picchi endotermici: uno più largo intorno a  $-20^\circ\text{C}$ , l'altro più modesto vicino a  $-10^\circ\text{C}$ . Le altre curve mostrano un solo picco endotermico.

In figura 3.2.8 è riportato il termogramma relativo ai gel preparati aggiungendo  $MnCl_2$  e  $AlCl_3$ , dove si vede che ciascuna curva presenta un singolo picco endotermico.



**Figura 3.2.8** DSC di gel di pectina al 5% con  $MnCl_2$  e  $AlCl_3$ .

In tabella 5 sono riportate le entalpie e le temperature di fusione relative ai termogrammi in figura 3.2.7 e in figura 3.2.8.

**Tabella 5** Entalpie e temperature di fusione relative alla fusione dell'acqua in gel di pectina al 5% con  $CaCl_2$ ,  $MgCl_2$ ,  $SrCl_2$ ,  $BaCl_2$ ,  $AlCl_3$  e  $MnCl_2$ .

Sale Aggiunto	$\Delta H_{\text{melting}}(\text{J/g})$	$T_{\text{Melting}}(^{\circ}\text{C})$	$\Delta H_{\text{melting}}(\text{J/g})$	$T_{\text{Melting}}(^{\circ}\text{C})$
<b><math>CaCl_2</math></b>	131.50	-3.19	/	/
<b><math>MgCl_2</math></b>	102.50	-6.81	/	/
<b><math>SrCl_2</math></b>	61.22	-6.48	74.51	-17.26
<b><math>BaCl_2</math></b>	169.0	-7.74	/	/
<b><math>AlCl_3</math></b>	22.71	-12.91	/	/
<b><math>MnCl_2</math></b>	97.51	-7.51	/	/

### 3.2.4 Effetto dello ione specifico

I valori di  $\Delta H_{\text{melting}}$  e di temperatura di fusione sono stati confrontati con alcuni parametri chimico-fisici specifici degli ioni utilizzati nella preparazione dei gel. Questi parametri sono l'energia libera di idratazione ( $\Delta G_{\text{idratazione}}$ ), la polarizzabilità ( $\alpha$ ), l'aumento della tensione superficiale ( $\sigma$ ) e il numero liotropico (N). Questi parametri studiati per i diversi anioni e cationi sono riportati nelle tabelle 6 e 7.

**Tabella 6** Parametri chimico-fisici studiati per gli anioni  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $H_2PO_4^-$ ,  $SO_4^{2-}$

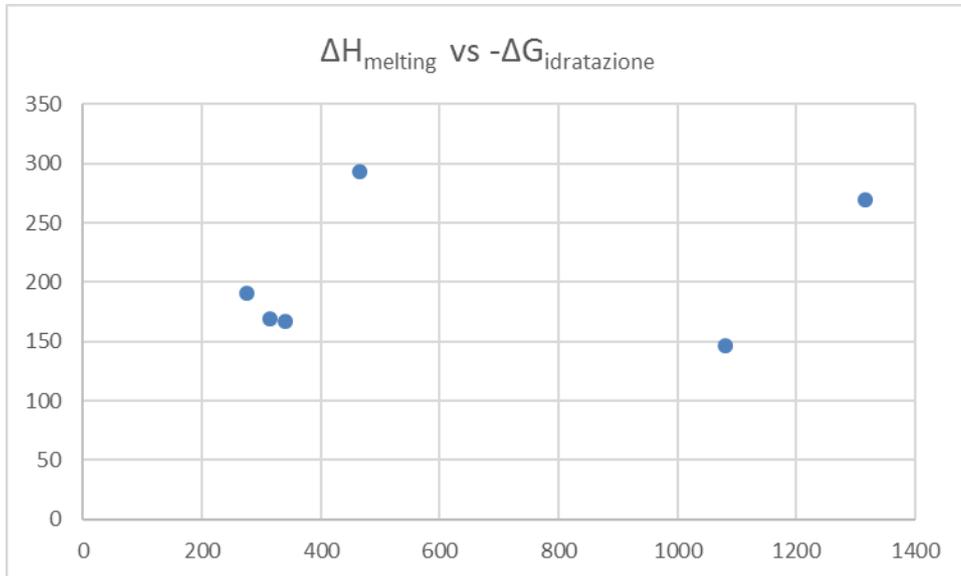
Ione	$-\Delta G_{\text{idratazione}}$ (kJ/mol)	Numero liotropico	Aumento di tensione superficiale (mN*L/m*mol)	Polarizzabilità (Å <sup>3</sup> )
$F^-$	465	4.80	1.60	1.050
$Cl^-$	340	10.00	1.63	3.687
$Br^-$	315	11.30	1.31	4.813
$I^-$	275	12.50	1.02	7.163
$CO_3^{2-}$	1315	/	2.69	/
$H_2PO_4^-$	/	8.20	/	/
$SO_4^{2-}$	1080	2.00	2.74	/

**Tabella 7** Parametri chimico-fisici studiati  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  e  $Al^{3+}$ .

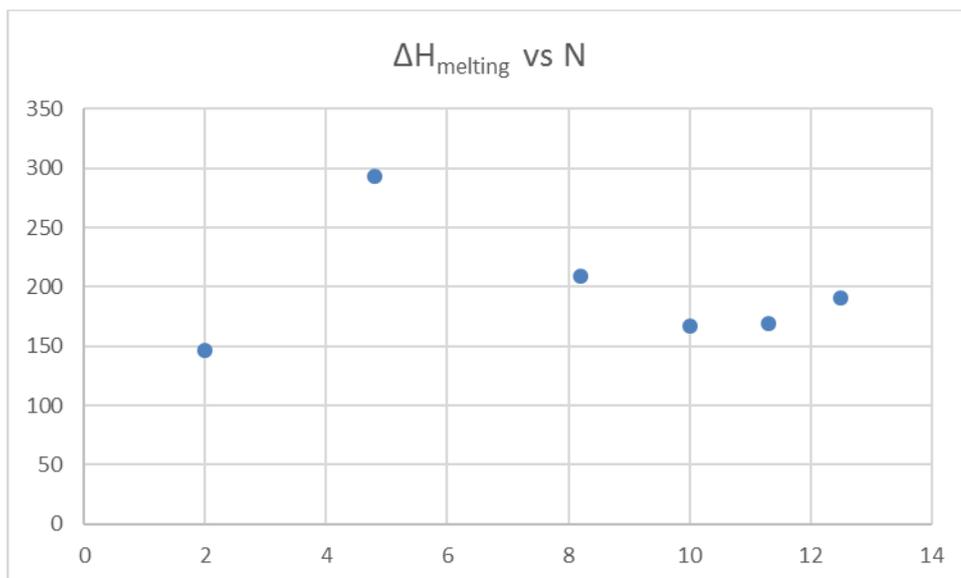
Ione	$-\Delta G_{\text{idratazione}}$	Aumento di tensione superficiale (dei cloruri dei cationi)	Polarizzabilità
$Ca^{2+}$	1505	3.18	0.470
$Mg^{2+}$	1830	3.02	0.094
$Sr^{2+}$	1380	3.39	/
$Ba^{2+}$	1250	/	1.550
$Al^{3+}$	4525	/	/

Si può studiare l'andamento dell'entalpia e della temperatura in funzione di questi parametri chimico-fisici.

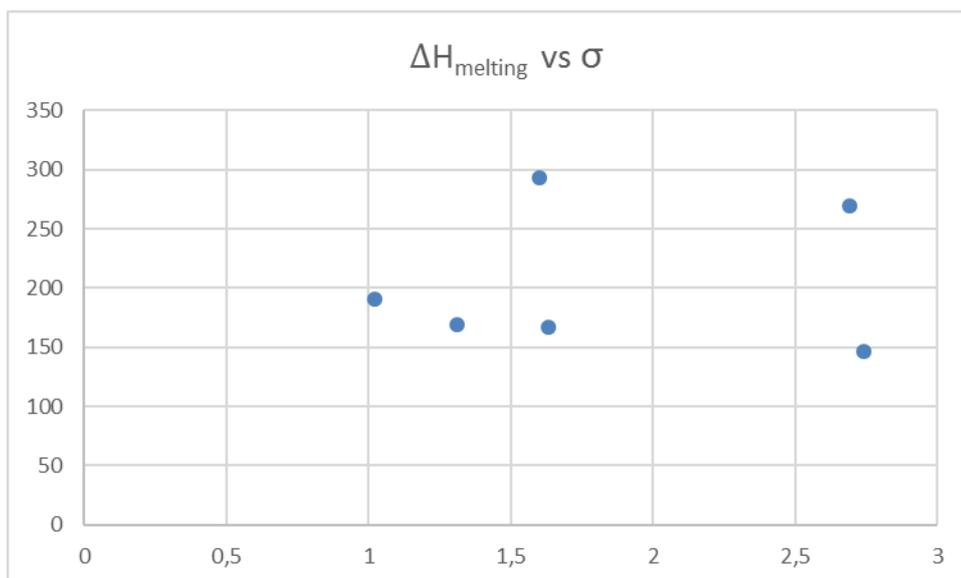
L'andamento dell'entalpia di fusione dei gel preparati con anioni in funzione dei 4 parametri considerati sono mostrati dalla Figura 3.2.9 alla Figura 3.2.12.



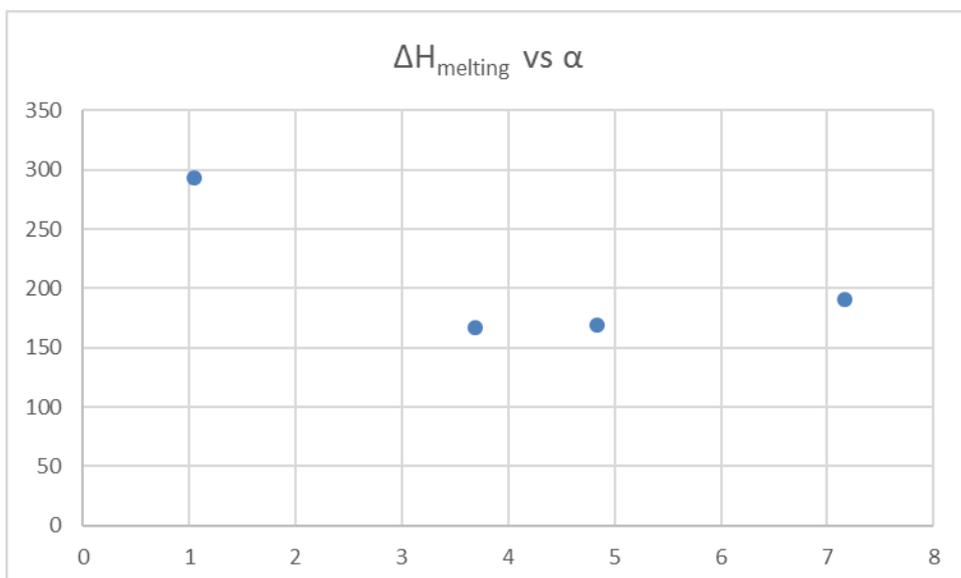
**Figura 3.2.9** Entalpia di fusione in funzione della variazione di energia libera di idratazione degli anioni presenti nei gel.



**Figura 3.2.10** Entalpia di fusione in funzione del numero liotropico degli anioni presenti nei gel.

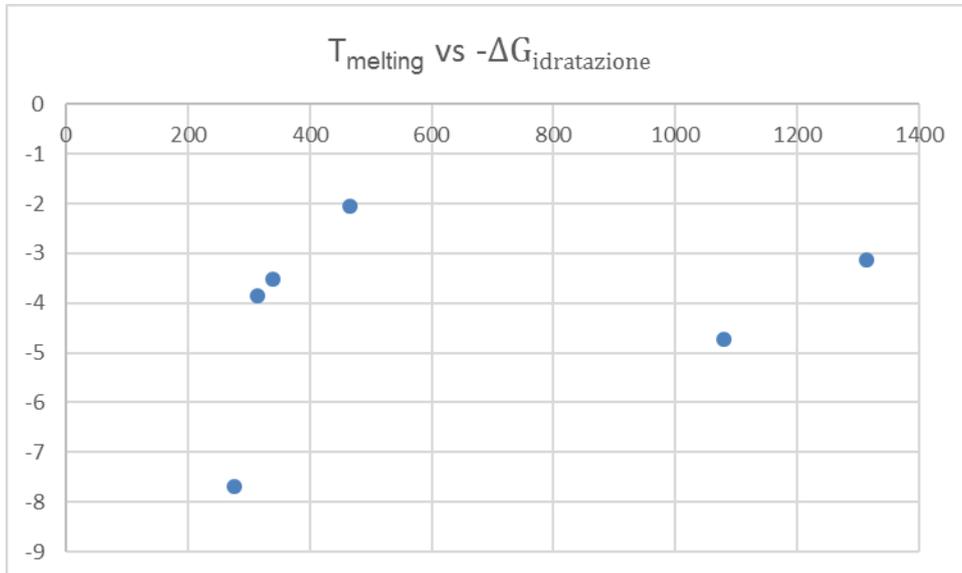


**Figura 3.2.11** Entalpia di fusione in funzione della variazione della tensione superficiale degli anioni presenti nei gel.

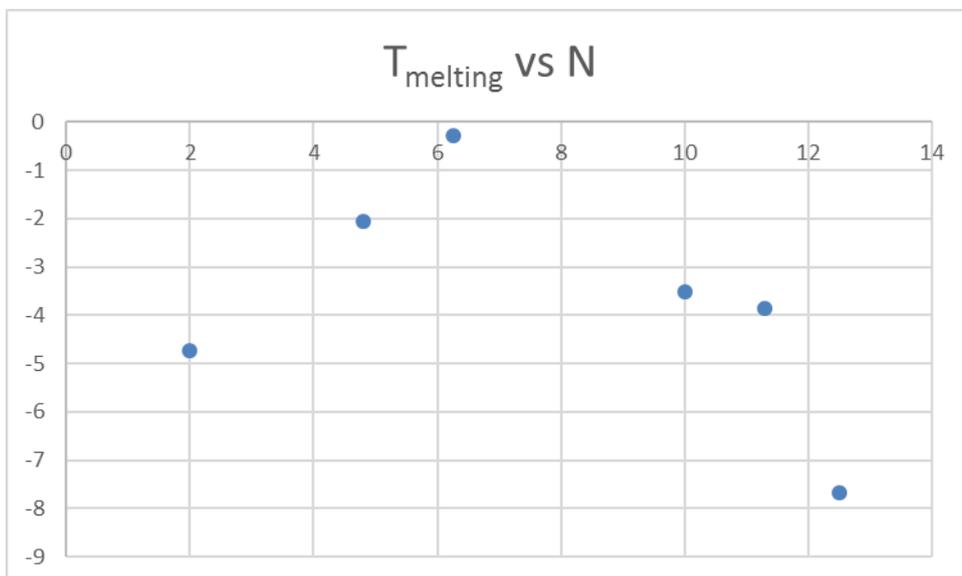


**Figura 3.2.12** Entalpia di fusione in funzione della polarizzabilità degli anioni presenti nei gel.

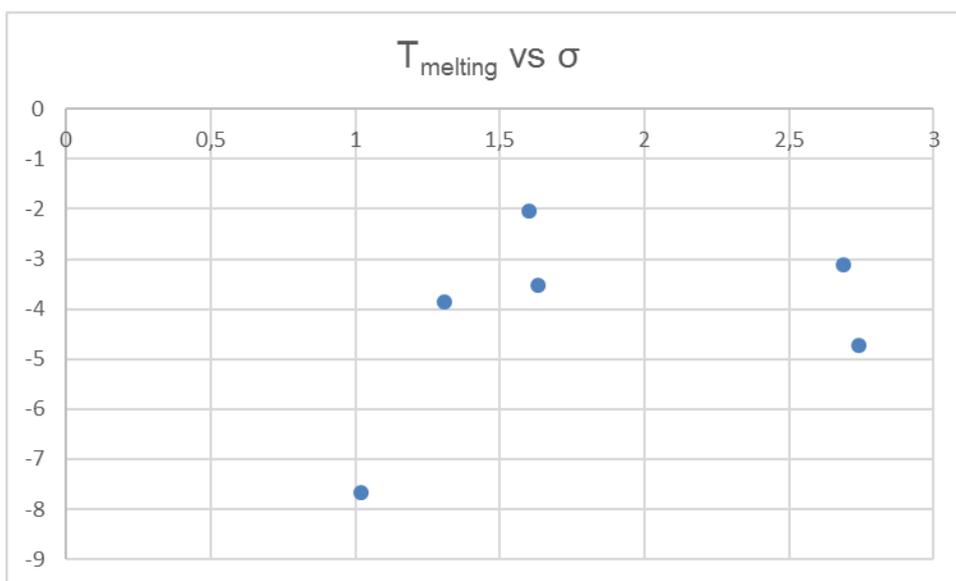
Dalla figura 3.2.13 alla 3.2.16 sono mostrati i grafici dove si riporta la temperatura di melting nei gel preparati con anioni in funzione dei parametri considerati.



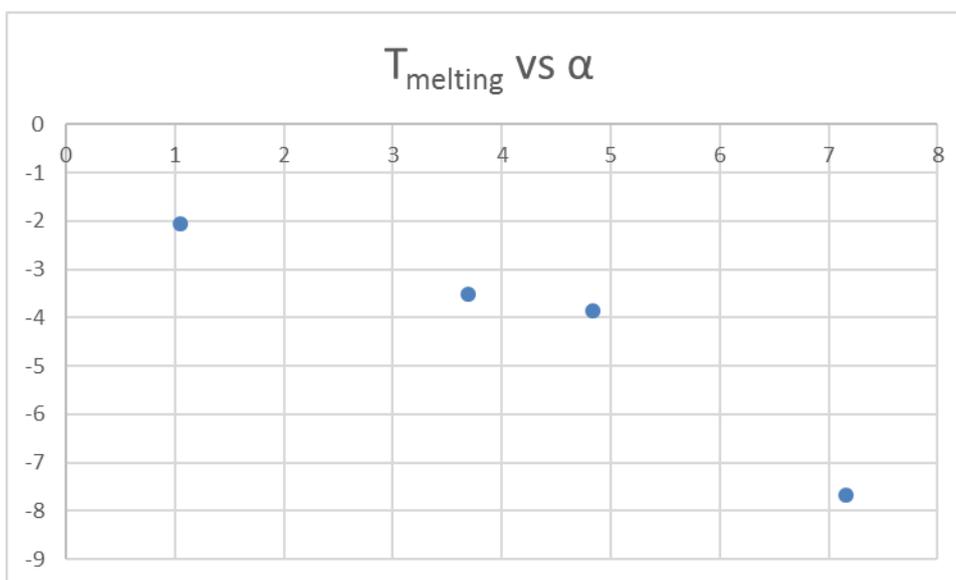
**Figura 3.2.13** Temperatura di fusione in funzione della variazione di energia libera di idratazione degli anioni presenti nei gel.



**Figura 3.2.14** Temperatura di fusione in funzione del numero liotropico degli anioni presenti nei gel.

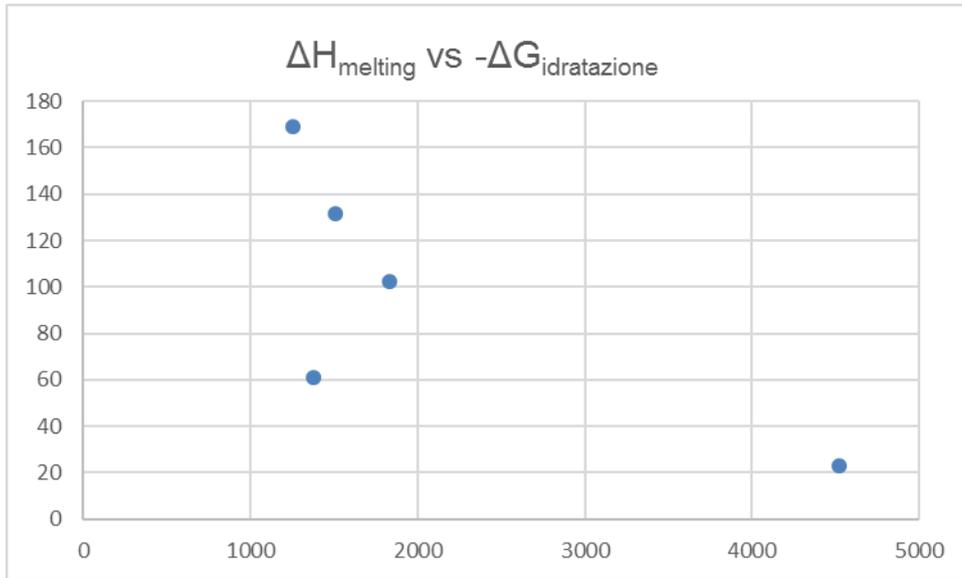


**Figura 3.2.15** Temperatura di fusione in funzione della variazione di tensione superficiale degli anioni presenti nei gel.

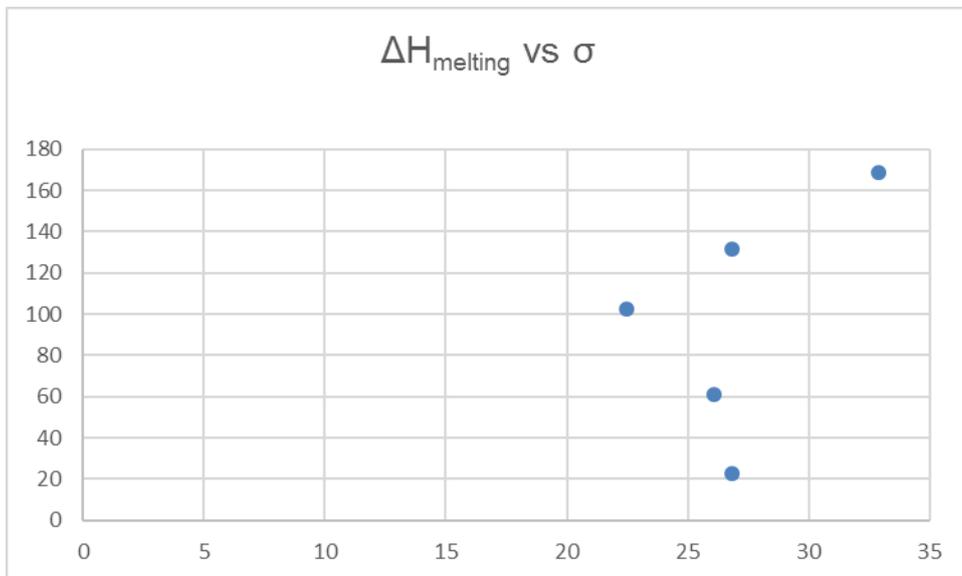


**Figura 3.2.16** Temperatura di fusione in funzione della polarizzabilità degli anioni presenti nei gel.

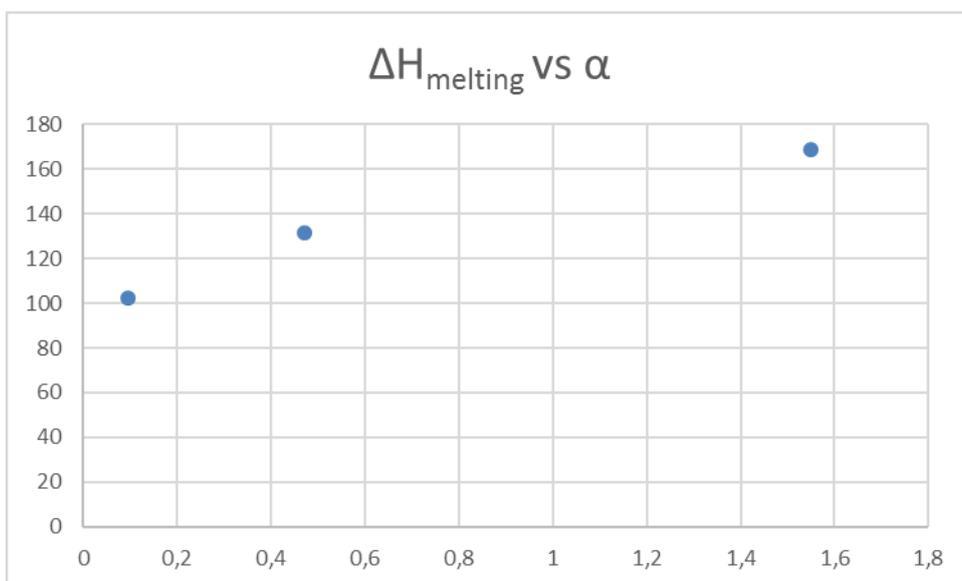
Grafici analoghi sono stati fatti per l'entalpia di fusione e la temperatura di fusione dell'acqua nei gel preparati con cationi e sono riportati nelle figure dalla 3.2.17 alla 3.2.22.



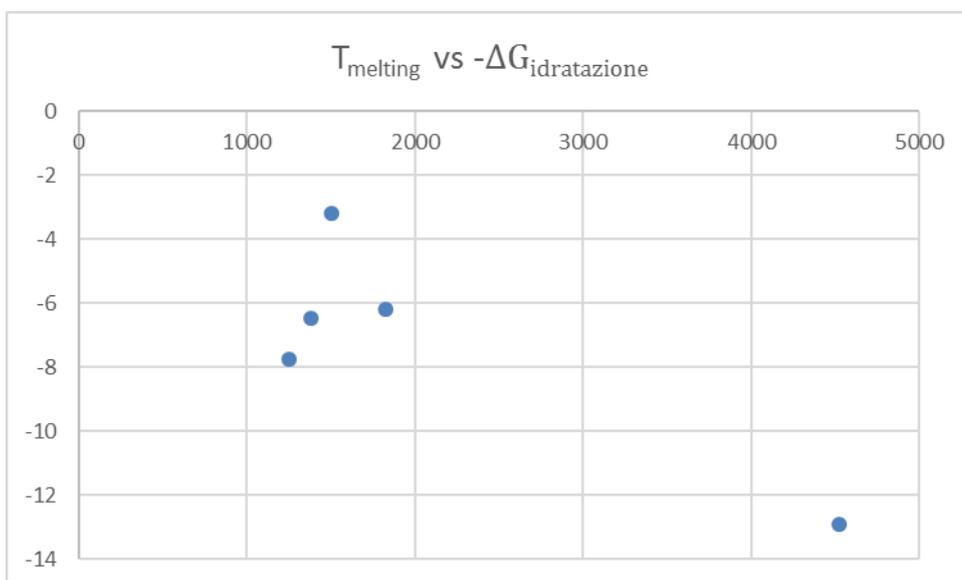
**Figura 3.2.17** Entalpia di fusione in funzione della variazione di energia libera di idratazione dei cationi presenti nei gel.



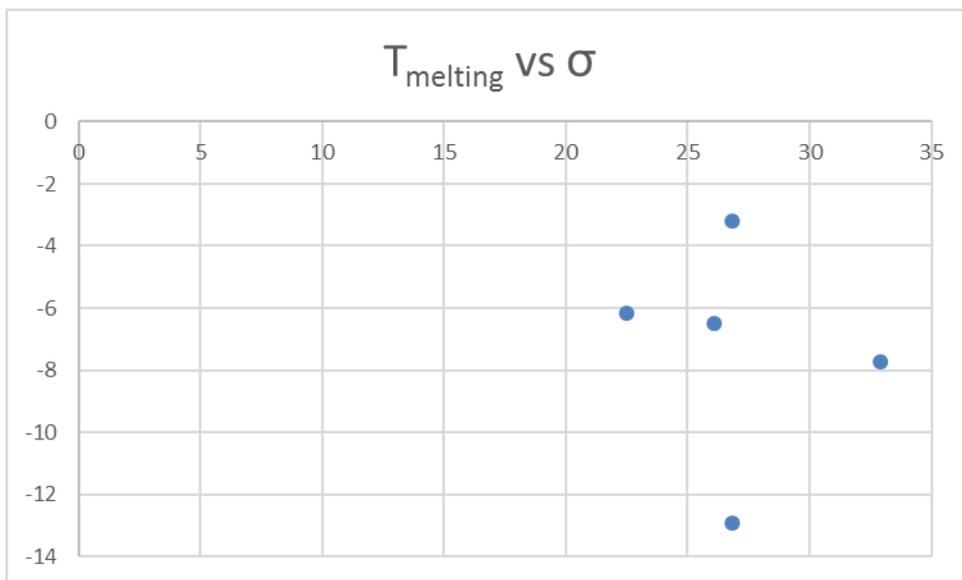
**Figura 3.2.18** Entalpia di fusione in funzione dell'incremento di tensione superficiale dei cationi presenti nei gel.



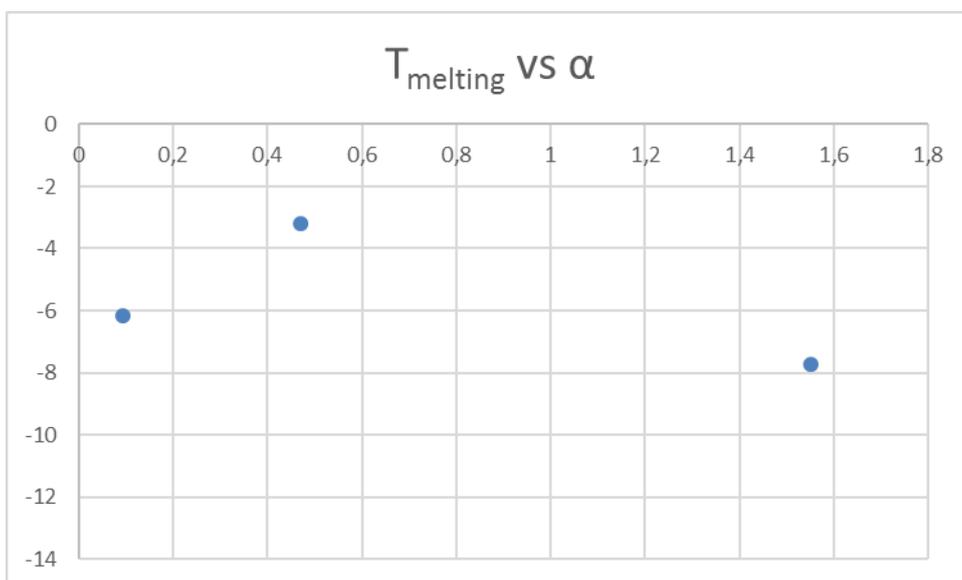
**Figura 3.2.19** Entalpia di fusione in funzione della polarizzabilità dei cationi presenti nei gel.



**Figura 3.2.20** Temperatura di fusione in funzione della variazione dell'energia libera di idratazione dei cationi presenti nei gel.

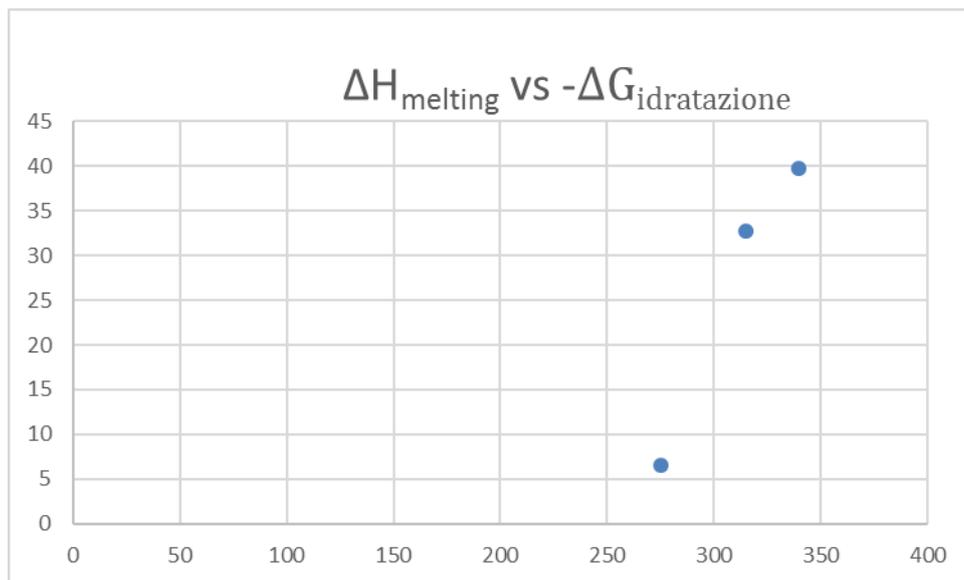


**Figura 3.2.21** Temperatura di fusione in funzione dell'incremento di tensione superficiale dei cationi presenti nei gel.

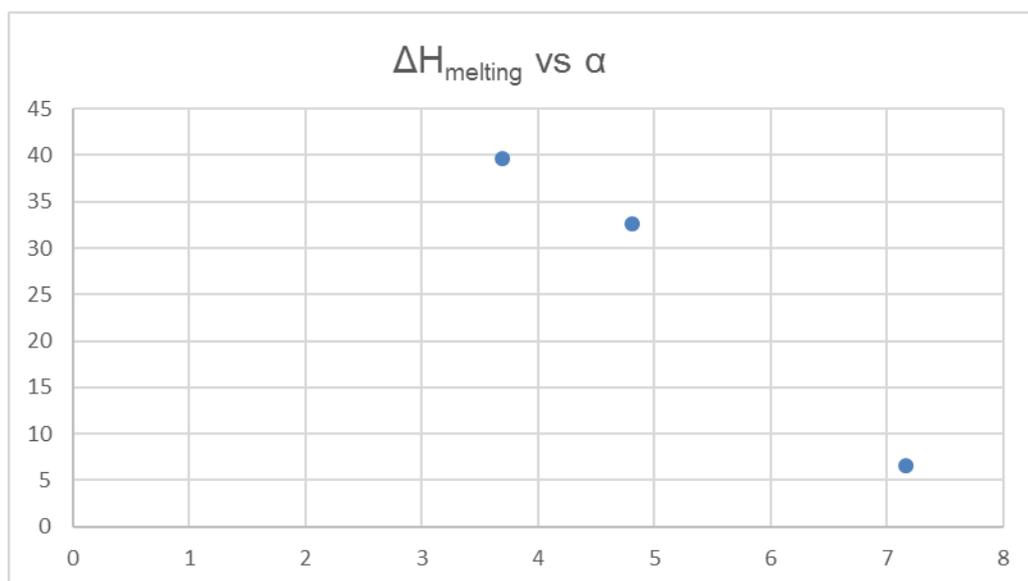


**Figura 3.2.22** Temperatura di fusione in funzione della polarizzabilità dei cationi presenti nei gel.

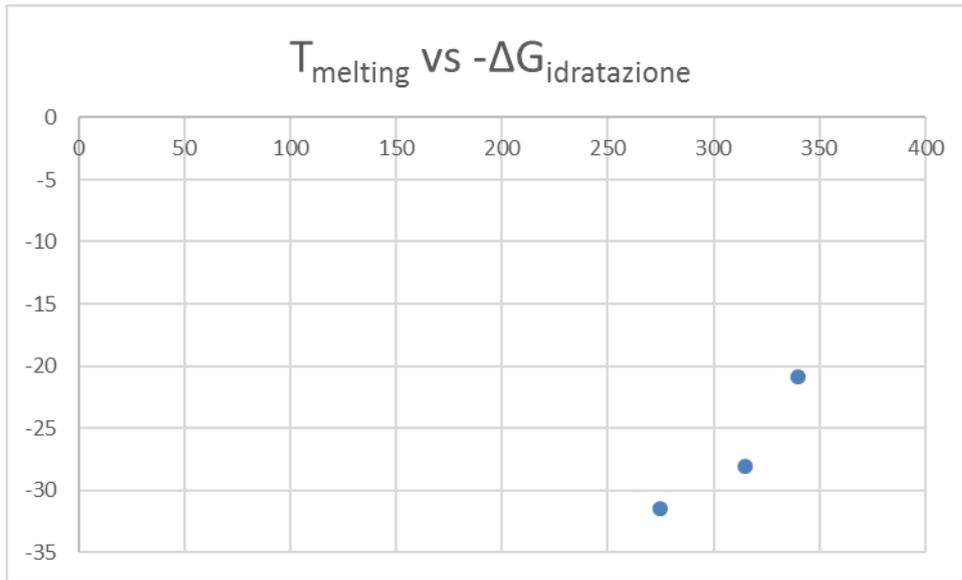
Infine, si riportano i grafici che riportano le entalpie e le temperature di fusione per i picchi endotermici osservati a temperature inferiori a  $-20^{\circ}\text{C}$  per i gel di pectina preparati con NaCl, NaBr e NaI in funzione dell'energia libera di idratazione e della polarizzabilità. Questi grafici sono riportati nelle figure dalla 3.2.23 alla 3.2.26.



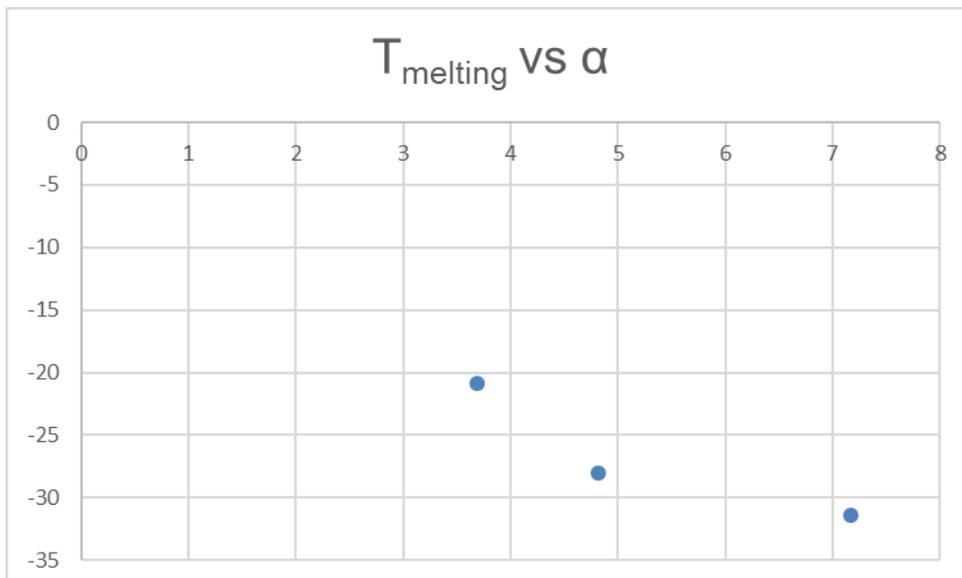
**Figura 3.2.23** Entalpia di fusione, relativa al picco a temperatura inferiore a  $-20^{\circ}\text{C}$  nei gel preparati con NaCl, NaBr e NaI, in funzione della variazione dell'energia libera di idratazione degli anioni del sale.



**Figura 3.2.24** Entalpia di fusione, relativa al picco a temperatura inferiore a  $-20^{\circ}\text{C}$  nei gel preparati con NaCl, NaBr e NaI, in funzione della polarizzabilità degli anioni del sale.



**Figura 3.2.25** Temperatura di fusione, relativa al picco a temperatura inferiore a  $-20^{\circ}\text{C}$  nei gel preparati con NaCl, NaBr e NaI, in funzione della variazione dell'energia libera di idratazione degli anioni del sale.



**Figura 3.2.26** Temperatura di fusione, relativa al picco a temperatura inferiore a  $-20^{\circ}\text{C}$  nei gel preparati con NaCl, NaBr e NaI, in funzione della polarizzabilità degli anioni del sale.

### **3.4 Determinazione del grado di esterificazione**

#### **3.4.1 Titolazione pHmetrica**

La titolazione ha portato a un DE inserito in tabella insieme ai parametri dell'equazione 3 e al pH della soluzione prima della titolazione

pH	x (mL)	y (mL)	DE (%)
3.92	2.06	1.55	42.62

La titolazione operata per i 4 standard ha dato i risultati inseriti in tabella 8:

*Tabella 8 Risultati della titolazione pHmetrica sugli standard di pectina*

Campione	pH <sub>iniziale</sub>	x (mL)	y (mL)	DE (%)
Standard 1	3.80	0.80	2.35	74.60
Standard 2	2.82	1.25	2.05	62.12
Standard 3	2.72	1.05	3.30	75.86
Standard 4	4.90	0.20	2.35	92.16

I risultati ottenuti saranno utilizzati per costruire una retta di taratura necessaria per la determinazione del grado di esterificazione con il metodo ATR-FTIR.

### 3.3.2 ATR-FTIR

Lo spettro della pectina è mostrato in figura 3.3.1

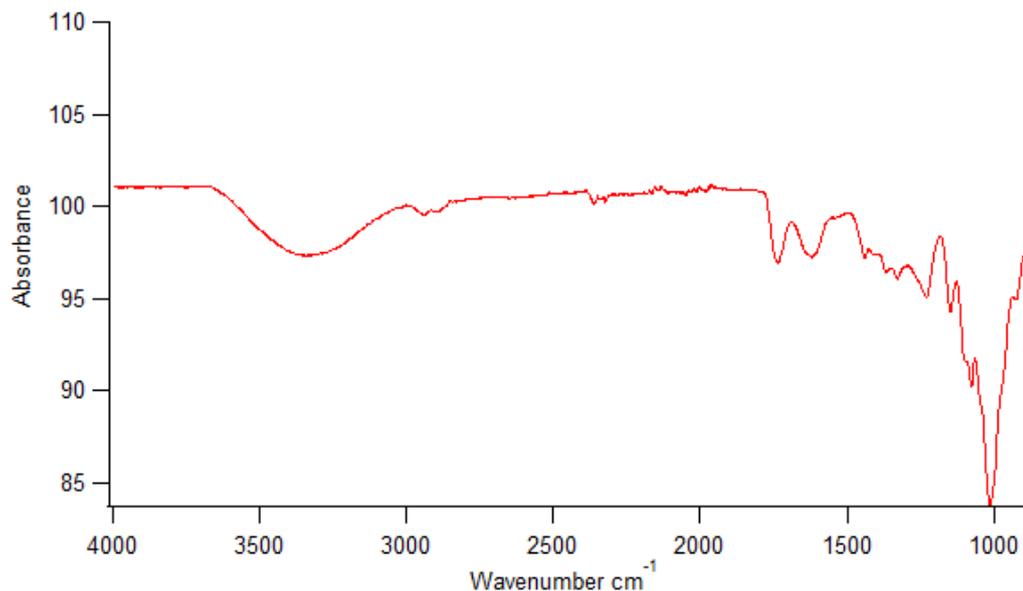


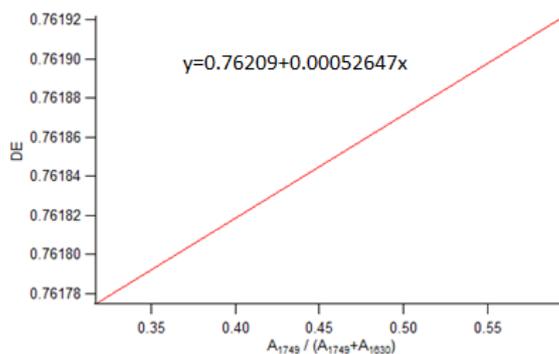
Figura 3.3.1 Spettro IR della pectina liofilizzata.

In tabella 9 sono riportate le aree dei picchi e i corrispondenti DE degli standard

Tabella 9 Aree dei picchi determinate dagli spettri FT-IR degli standard di pectina con rispettivo DE

Standard	A <sub>1749</sub>	A <sub>1749</sub> + A <sub>1630</sub>	A <sub>1749</sub> / (A <sub>1749</sub> + A <sub>1630</sub> )	DE
Standard 1	146.082	459.27	0.318	74.60
Standard 2	757.917	1271.07	0.596	62.12
Standard 3	182.74	324.363	0.563	75.86
Standard 4	54.3215	159.672	0.340	92.16
Campione	141.396	400.294	0.353	DE incognito

In figura 3.3.2 è riportato la retta di taratura che riporta il grado di esterificazione contro il rapporto tra le aree dei picchi.

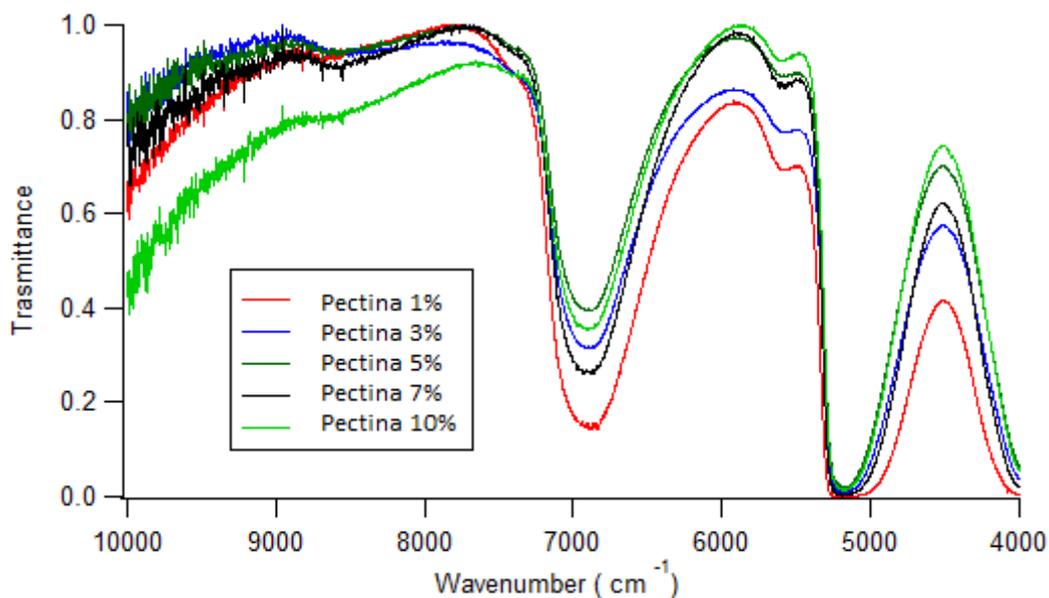


**Figura 3.3.2** Retta di taratura per la determinazione del grado di esterificazione con tecnica ATR-FTIR

Il risultato ottenuto è  $DE(\%) = 43.26 \%$

### 3.5 NIR

In figura 3.4.1 viene mostrato lo spettro NIR dei gel senza aggiunti dei sali a diverse concentrazioni di polisaccaride.



**Figura 3.4.1** Spettri NIR delle dispersioni acquose di pectina a diverse concentrazioni di polisaccaride.

Si può individuare la banda fondamentale nello spettro nell'armonica superiore a  $7000 \text{ cm}^{-1}$ . Si vede che l'intensità della banda cambia a seconda della concentrazione del polisaccaride.

## 4. Discussione

### 4.1 TGA

Il primo picco intorno a 100°C nella curva rossa è dovuto presumibilmente all'evaporazione dell'acqua contenuta nel liofilizzato. La perdita di peso, intorno ai 225°C, può essere associata alla liberazione di CO<sub>2</sub>, CO e H<sub>2</sub>O. La seconda perdita di peso a 300°C libererà composti organici contenenti ossigeno ed è quindi attribuibile ad una prima decomposizione dei composti [4]. L'ultima perdita di peso è dovuta alla pirolisi definitiva del composto [10].

### 4.2 DSC

I risultati ottenuti dalle DSC hanno permesso lo studio dello stato di idratazione del polimero nel gel in assenza o in presenza di sali.

#### 4.2.1 *Dispersioni acquose del polisaccaride in assenza di sali*

Dopo la formazione del gel, l'acqua esiste in stati diversi:

- l'acqua legata non congelabile in cui l'acqua è direttamente legata al polimero;
- l'acqua legata congelabile che costituisce il secondo strato di idratazione e che ha punto di fusione più basso di 0°C;
- l'acqua libera che ha limitate interazioni con il polimero e può congelare intorno a 0°C;
- l'acqua non direttamente legata al polimero ma diversa da quella nel "bulk" perché intrappolata tra le maglie del gel: si parla di acqua di imbibizione.

Questo comportamento può essere spiegato dal confinamento dell'acqua nelle catene del polimero o la sua forte interazione con i gruppi  $\text{COO}^-$  della catena [9]. Il comportamento termico dell'acqua nella soluzione con il polisaccaride è legata alla struttura del polimero e come esso si lega con l'acqua. In particolare, la forza del legame a idrogeno influenza questa interazione e quindi la variazione di entalpia e il punto di fusione dell'acqua legata congelabile [7]. Il picco endotermico nei termogrammi è dovuto alla fusione dell'acqua libera. Il processo di fusione inizia alla temperatura di onset a causa dell'agitazione molecolare (l'acqua libera congelata deve assorbire calore per promuovere la fusione). In presenza del polimero si ha lo spostamento del picco di fusione a temperature più alte, dato che l'acqua è intrappolata nella catena polimerica e ha bisogno di una temperatura più alta per promuovere la transizione. Non si vedono nei termogrammi i picchi relativi all'acqua legata congelabile e l'acqua legata non congelabile perché nel campione questo non raggiunge livelli elevati [9]. Si può notare che la temperatura di fusione non segue un andamento lineare con la concentrazione, poichè questo dipende dall'organizzazione del polimero. Al contrario l'entalpia della transizione dell'acqua mostra un certo andamento con la concentrazione. Si può trovare la spiegazione nel fatto che aumentando la concentrazione di polisaccaride, la quantità di acqua diminuisce e di conseguenza sarà minore l'energia necessaria per la transizione.

#### ***4.4.2 Effetto dell'aggiunta dei sali sulle dispersioni acquose di pectina***

La presenza di sali modifica le interazioni acqua-polimero in quanto si vengono a creare interazione tra il sale e l'acqua e il sale e il polimero, modificando anche la capacità della pectina di formare gel. Questo può essere spiegato dalla Serie di Hofmeister, che ordina gli ioni in base alla loro abilità di

promuovere o meno la solubilizzazione dell'albumina di uovo e di numerose altre molecole biologiche [5]. Gli anioni generalmente hanno un effetto maggiore degli cationi. Gli ioni si dividono in caotropi e in cosmotropi. I caotropi sono ioni che mostrano deboli interazioni con l'acqua e sono poco idrati, quindi interferiscono con i legami a idrogeno tra l'acqua e il polimero, adsorbendosi sulla superficie del polimero. Hanno una carica distribuita su una grande superficie [5]. I cosmotropi, al contrario, sono ioni con una grande densità di carica e mostrano una forte interazione con l'acqua. Ne consegue la capacità dei cosmotropi di ordinare l'acqua e rompere le interazioni acqua-polimero. In pratica, i cosmotropi aumentano l'ordine della struttura e sfavoriscono la formazione del gel, mentre i caotropi aumentano il disordine favorendo la formazione del polimero [5].

#### ***4.2.3 Pectina in presenza di sali di sodio***

Nel caso degli alogenuri di sodio il picco a temperatura maggiore corrisponde alla fusione dell'acqua libera. È interessante confrontare l'effetto di uno ione cosmotropo come il fluoruro e gli effetti di Cl<sup>-</sup> (proprietà intermedie), Br<sup>-</sup> e I<sup>-</sup> (entrambi caotropi). Tutti gli alogenuri, tranne F<sup>-</sup>, fanno apparire nel termogramma un secondo picco tra -40°C e -20°C, che può essere associato alla fusione dell'acqua legata congelabile e che ha un'entalpia bassa. Come si vede dal termogramma in figura 3.2.3 si ha uno spostamento dei picchi legato all'effetto dello ione specifico. Più caotropo è l'anione più si abbassa la temperatura di fusione dell'acqua legata congelabile [9]. Al contrario, un anione cosmotropo come il fluoruro interrompe i legami tra l'acqua e il polimero e promuove la formazione di legami a idrogeno inter-catena. Per quanto riguarda la fusione dell'acqua libera si passa da una temperatura di fusione di -2.0°C per il gel con NaF per arrivare a una temperatura di fusione di -7.7°C per il gel con

Na<sup>[6]</sup>. Lo stesso andamento si riscontra per la temperatura di fusione dell'acqua legata congelabile iniziando da -20.9°C per il gel con NaCl, -28.1°C per il gel con NaBr e -31.4°C per il gel con NaI. Gli altri termogrammi nelle figure mostrano che con i gel con NaNO<sub>3</sub>, NaSCN, NaClO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>4</sub> si ha un singolo picco dovuto all'acqua libera. Gli ioni NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> e SCN<sup>-</sup> sono caotropi ma i loro gel non mostrano transizioni dovute alla fusione dell'acqua libera come Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup> e I<sup>-</sup>.

#### ***4.2.3 Dispersioni di pectina in acqua in presenza di cationi***

Nei termogrammi dei gel preparati aggiungendo cationi alcalino-terrosi il picco endotermico è dovuto alla fusione dell'acqua libera. L'unico comportamento particolare è dato dal gel con Sr<sup>2+</sup>, il cui termogramma mostra un secondo picco endotermico intorno a -17.3°C dovuto alla fusione dell'acqua legata congelabile<sup>[6]</sup>. La variazione di entalpia della fusione dell'acqua legata congelabile è maggiore di quella della fusione dell'acqua libera.

#### ***4.2.4 Effetto dello ione specifico***

Nei grafici riportati dalla figura 3.2.9 alla 3.2.26 abbiamo riportato i risultati dell'entalpia e della temperatura di fusione dell'acqua in funzione di alcuni parametri specifici degli ioni aggiunti nel gel. Il fine è quello di correlare questi dati sperimentali con le proprietà chimico-fisiche di questi ioni. Sono stati presi in considerazione l'energia libera di idratazione ( $\Delta G_{\text{idratazione}}$ ), la polarizzabilità ( $\alpha$ ), l'incremento della tensione superficiale ( $\sigma$ ) e il numero liotropico (N). Questi parametri dipendono dalla configurazione elettronica della specie ionica a cui si riferiscono e quindi riflettono in maniera diretta la loro specificità, sia per quanto riguarda il loro comportamento in soluzione ("bulk") che per quanto concerne le

loro proprietà interfascali. Per le definizioni e una presentazione approfondita di tali parametri si rimanda alla letteratura<sup>[5,18]</sup>.

Per quanto riguarda la serie degli alogenuri, il  $\Delta H$  non cambia in maniera significativa fra cloruro e ioduro, mentre è particolarmente elevato per quanto riguarda il caso del fluoruro (circa il doppio del cloruro).

La temperatura di fusione è invece più sensibile alla natura dello ione, come viene evidenziato in figura 3.2.16, dove si vede che la temperatura di fusione scende in maniera molto evidente con la polarizzabilità dello ione (passando cioè dal fluoruro allo ioduro).

È evidente inoltre che, come si vede dal grafico della temperatura in funzione del  $\Delta G_{\text{idratazione}}$  (figura 3.2.13), la temperatura di fusione aumenta passando da specie caotrope (come lo ioduro) a specie cosmotrope e idrate (fluoruro, carbonato e solfato).

I cationi mostrano l'andamento opposto: l'entalpia di fusione dell'acqua scende in maniera evidente passando dai cationi caotropi a quelli cosmotropi e aumenta in maniera quasi lineare con il valore  $\sigma$  (figura 3.2.18).

L'inversione degli andamenti fra anioni e cationi è probabilmente correlabile all'importanza delle interazioni di natura elettrostatica dovute alla presenza di cariche negative dei gruppi carbossilati lungo la catena della macromolecola.

Tutti questi grafici sembrano indicare che il meccanismo è regolato dalle proprietà di idratazione dello ione e quindi dalla sua capacità di interferire con le interazioni polimero-solvente e con le proprietà solventi dell'acqua stessa. Le prime indicazioni sembrano invece indicare che le proprietà di adsorbimento ionico all'interfase della macromolecola non sia particolarmente rilevanti, almeno ai fini di modificare il processo di fusione dell'acqua libera nel campione.

Un discorso a parte è necessario per l'andamento – limitato a cloruro, bromuro e ioduro – delle proprietà termodinamica dell'acqua legata congelabile. Il suo valore di entalpia di fusione e relativa alla temperatura di fusione dipende in maniera significativa dal tipo di alogenuro, come si può vedere dai grafici (Figure dalla 3.2.23 alla 3.2.26)

### ***4.3 NIR***

Dallo spettro in figura 3.4.1 si nota che l'intensità del segnale dell'overitone dello stretching dell'acqua varia, anche se in maniera non lineare, con la concentrazione del polisaccaride. Il picco più intenso si trova del gel a concentrazione 1% mentre quello meno intenso nello spettro del gel concentrato al 5%. È lecito ipotizzare che questo tipo di spettro sia dovuto al fatto che l'acqua è legata fortemente al polimero e non è libera di muoversi. Ovviamente questo effetto è minore nel gel in cui la concentrazione di pectina è del 1% dato che la quantità di acqua legata al polimero è minore rispetto a concentrazione di pectina più alte.

### ***4.4 Grado di esterificazione***

Il grado di esterificazione ottenuto con entrambi i metodi è inferiore al 45%. Quindi la formazione del gel dipenderà dalla presenza di  $\text{Ca}^{2+}$  (o comunque in presenza di ioni bivalenti) e dal pH, dato che va a influire sulla protonazione dei gruppi carbossilici che si coordineranno con gli ioni calcio <sup>[1,10]</sup>. Il calcio può essere sostituito da altri cationi monovalenti. Ne è prova che i gel preparati con l'aggiunta di cloruri di bivalenti mostrano una certa facilità il gel <sup>[1,3,6]</sup>.

## 5. Conclusioni e prospettive future

In questo lavoro si sono studiate le proprietà di un materiale di riciclo estratto da melograno. L'interesse in questo materiale risiede nella sua applicabilità (è applicato nei campi medico, alimentare e farmacologico) e nel fatto che proviene da materiali di riciclo. Infine, essendo estratto da melograno, ha il vantaggio di essere biocompatibile. L'obiettivo del lavoro svolto è quindi valutare la capacità del polisaccaride di formare gel in diverse condizioni e con diversi sali e soprattutto studiare le interazioni in gioco nella formazione del gel. È importante anche valutare la risposta di questi gel agli stimoli termici. Le conclusioni sono riportate in seguito.

### Analisi termica

È importante capire la stabilità termica del polimero e dei gel che forma, poiché potrebbero essere coinvolti in applicazioni che prevedono un trattamento termico.

La TGA sul liofilizzato indica che il polimero ha una buona resistenza termica, in quanto si ha la totale decomposizione del polisaccaride a una temperatura superiore ai 330°C. Le analisi di DSC sui gel del polimero mostrano che l'acqua del gel è strettamente legata alla conformazione del polimero e da come l'acqua si lega ad esso. Indubbiamente l'acqua intrappolata nelle catene del polimero avrà caratteristiche diverse dall'acqua libera. Il comportamento termico dell'acqua cambia con la presenza di sali, che modificano le interazioni tra l'acqua e il polimero instaurando interazioni sale-polimero e sale-acqua. Anioni cosmotropi promuovono la formazione di legami a idrogeno intercatena, poiché sequestrano le molecole d'acqua al polimero. L'effetto aumenta con l'aumento

delle cariche. Al contrario, anioni caotropici non hanno sfere di idratazione e le interazioni tra l'acqua e il polimero sono mantenute. Questo è evidente anche dallo studio dell'entalpia e dalla temperatura di fusione in funzione di proprietà chimico-fisiche specifiche degli ioni<sup>[18]</sup>, in particolare della polarizzabilità e dell'energia libera di idratazione degli ioni. Quindi la configurazione elettronica e la distribuzione di carica dello ione influiscono sull'interazione di questo con il biopolimero e con il solvente e quindi anche tra le interazioni tra questi ultimi.

### Grado di esterificazione

Il basso grado di esterificazione trovato giustifica la tendenza del polisaccaride a formare gel in presenza di  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e in generale di cationi bivalenti. Infatti in presenza di ioni di metalli alcalino-terrosi il gel si forma con molta facilità, grazie ai molti gruppi carbossilici liberi che possono coordinare gli ioni del metallo. La particolare affinità della pectina per gli ioni bivalenti elide l'effetto dovuto alla cosmotropicità di ioni come  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ . L'effetto cosmotropico ricomincia ad essere importante quando la pectina deve legare ioni trivalenti come  $\text{Al}^{3+}$  [5,7].

### NIR

Le analisi spettroscopiche nel vicino infrarosso hanno messo in evidenza la forza dell'interazione dell'acqua con il polimero nel gel. I modi vibrazionali dell'acqua vengono ridotti se la molecola è intrappolata nella catena polimerica e dal momento in cui interagisce con essa attraverso legame a idrogeno. Si vede che il segnale dipende anche dalla concentrazione di pectina, infatti minore sarà la quantità di pectina minore sarà la quantità di acqua impegnata in queste interazioni.

### Prospettive future

Questo lavoro di tesi si è orientato sulla determinazione della capacità della pectina di formare gel in assenza o presenza di sali e sulle proprietà termiche di queste gel. È stato determinato il grado di esterificazione del polisaccaride, parametro di primaria importanza per determinare la formazione dei gel di pectina. Futuri studi saranno volti ad approfondire caratteristiche strutturali e dinamiche, come ad esempio il comportamento reologico dei gel. La spettroscopia NIR, applicata in questo lavoro solo a gel senza sali aggiunti, potrebbe essere un elemento di studio su gel contenenti sali per comprendere le interazioni dell'acqua con il polimero in presenza di agenti cosmotropi e caotropi.

## **6. Bibliografia**

1. R.H. Walter "The chemistry and technology of pectin" 1991 by ACADEMIC PRESS, INC.
2. Philip G. Crandall and Louise Wicker "Pectin Internal Gel Strength: Theory, Measurement and Methodology" Institute of Food and Agricultural Sciences, Citrus Research and Education Center, University of Florida, Lake Alfred, FL 33880
3. Mouna Abid, S. Cheikhrouhou, Catherine M.G.C. Renard, Sylvie Bureau, Gérard Cuvelier, Hamadi Attia, M.A. Ayadi "Characterization of pectins extracted from pomegranate peel and their gelling properties", Food Chemistry 215 (2017) 318–325

4. J. Aburto, M. Morana, A. Galano b, E. Torres-García, “Non-isothermal pyrolysis of pectin: A thermochemical and kinetic approach” *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 112 (2015) 94–104
5. Lo Nostro, P., & Ninham, B. W. “Hofmeister Phenomena: An Update on Ion Specificity in Biology.” *Chemical Reviews*. (2012); 112(4), 2286–2322.
6. S.Sawayama, A.Kawabata “Effect of salts on the thermal properties of pectin solution on freezing and thawing”, *Food Hydrocolloids* Vol.5 no.4 pp.393-405, 1991
7. Guan, L., Xu, H., & Huang, D. “The investigation on states of water in different hydrophilic polymers by DSC and FTIR.” *Journal of Polymer Research*. (2010); 18(4), 681–689.
8. De Andres-Santos, A. I., Velasco-Martin, A., Hernández-Velasco, E., Martín-Gil, J., & Martín-Gil, F. J. “Thermal behaviour of aqueous solutions of sodium hyaluronate from different commercial sources.” *Thermochimica Acta*. (1994); 242, 153–160.
9. Z.H. Ping, Q.T. Nguyen, S.M. Chen, J.Q. Zhou, Y.D. Ding. “States of Water in Different Hydrophilic Polymers-DSC and FTIR studies.” *Polymer*. (September 2001); 42(20): 8461-8467.
10. Ulrike Einhorn-Stolla, Herbert Kunzeka, Gerhard Dongowski “Thermal analysis of chemically and mechanically modified pectins” *Food Hydrocolloids* 21 (2007) 1101–1112
11. Atsunobu Mizote, Hiroyuki Odagiri, “Determination of Residues of Carboxylic Acids (Mainly Galacturonic Acid) and Their Degree of Esterification in Industrial Pectins by Colloid Titration with Cat-Floc” *Analyst*, November, 1975, Vol. 100, pp. 822-826

12. A.K. Chatjigakis, C. Pappasa, N. Proxeniab, O. Kalantzib, P. Rodisb, M. Polissioua “FT-IR spectroscopic determination of the degree of esterification of cell wall pectins from stored peaches and correlation to textural changes” *Carbohydrate Polymers* 37 (1998) 395–4087
13. Beli R. Thakur, Rakesh K. Singh, Avtar K. Handa & Dr. M. A. Rao , “Chemistry and uses of pectin — A review”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37:1, 47-73
14. Vandana Tyagi\*, Pramod Kumar Sharma, Rishabha Malviya “Pectins And Their Role in Food and Pharmaceutical Industry: A Review”, *JChrDD*. 2015, Vol. 6 Issue 3
15. Gordon A. Morris, M. Samii K k, Stephen E. Harding and Gary G. Adams, “Polysaccharide drug delivery systems based on pectin and chitosan”, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews - Vol. 27*, 257-284 (2010)
16. D. J. A. Jenkins, A. R. Leeds, M. A. Gassull, B. Cochet and K. George M. Alberti, “Decrease in Postprandial Insulin and Glucose Concentrations by Guar and Pectin”
17. Michael C. Jarvis, “Structure and properties of pectin gels in plant cell walls”, *Plant Cell and Environment* (1984) 7, 153-16
18. Pierandrea Lo Nostro, Laura Fratoni, Barry W. Ninham and Piero Baglioni, “Water Absorbency by Wool Fibers: Hofmeister Effect”, *Biomacromolecules*, 2002, vol. 3, 1217-1224
19. M. Massi “*Frazionamento e caratterizzazione di polisaccaridi da Punica Granatum L.*” (2017)