



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE
CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN CHIMICA

Ciclodestrine: applicazioni nell'industria alimentare

Relatore:

Prof. Dr. Schievano Elisabetta

Laureando:

Pietro Peluso

Anno accademico 2023/2024

Indice

1. Introduzione.....	3
1.1 Cenni storici.....	3
1.2 Caratteristiche generali e struttura.....	5
1.3 Tossicologia.....	7
2. Produzione Ciclodestrine.....	8
2.1 Processo con solvente.....	9
2.2 Processo senza solvente.....	11
2.3 Separazione delle diverse CD.....	11
3. Formazione di complessi di inclusione.....	12
3.1 Preparazione e caratterizzazione dei complessi di inclusione.....	12
3.2 Stabilità dei complessi di inclusione.....	15
4. Funzionalizzazione delle CD.....	16
4.1 HP-, SBE- e RM-CD.....	17
5. Applicazione delle CD nell'industria alimentare.....	19
5.1 Aumento della shelf life ed attività antibatterica.....	19
5.2 Rimozione di composti indesiderati.....	21
5.3 Miglioramento delle qualità sensoriali degli alimenti.....	23
5.4 CD come emulsionanti.....	23
Conclusioni.....	27
Bibliografia.....	28

1. Introduzione

Le ciclodestrine (CD) costituiscono una serie di oligosaccaridi ciclici formati da un variabile numero di unità di glucosio legate tra loro tramite legami α -1,4-glicosidici prodotti a partire dall'amilosio per azione dell'enzima-glucanotransferasi.

Questa particolare classe di composti presenta un'importante chimica supramolecolare. Vale a dire che le ciclodestrine formano un elevato numero di sistemi, chiamati complessi di inclusione, senza formare legami covalenti, sfruttando piuttosto legami a idrogeno, interazioni polari ed idrofobiche. La maggior parte delle interazioni tra molecole della chimica supramolecolare è detta di tipo *host-guest*. Significa che una molecola *guest* (ospite) entra in contatto con una molecola *host* (ospitante) che la circonda parzialmente o interamente. Tra le varie tipologie di molecole *host* conosciute le ciclodestrine sembrano essere tra le più rilevanti ed interessanti, specialmente in un'ottica di impiego su larga scala, soprattutto per i seguenti motivi:

- Sono composti prodotti in grande quantità (migliaia di tonnellate annue [1]) a partire da uno dei biopolimeri più abbondanti in natura, ovvero l'amido;
- Le tecniche di produzione, anche su larga scala, sono eco sostenibili;
- Basso prezzo di produzione ed accessibilità sul mercato;
- Impattano significativamente le proprietà dei composti con cui interagiscono;
- Non presentano avversità in seguito ad ingerimento da parte di uomini ed animali, rendendoli utilizzabili nell'industria alimentare, cosmetica e farmaceutica [2].

Ad oggi, le ciclodestrine sono impiegate in moltissimi e diversificati campi, ad esempio l'ingegnerizzazione di tessuti [3], biosensori [4], aumento della bio-disponibilità di principi attivi nei farmaci [5], trattamento delle acque [6] e come già detto nell'industria farmaceutica, cosmetica e alimentare.

Proprio sull'impiego delle ciclodestrine nell'industria alimentare questo elaborato pone maggiore attenzione.

Un altro aspetto che rende le ciclodestrine particolarmente interessanti e versatili è la possibilità di funzionalizzare, modificare chimicamente e polimerizzare questi composti, ottenendo proprietà molto interessanti.

1.1 Cenni storici

Le ciclodestrine vennero scoperte ed isolate per la prima volta da Villiers che in particolare osservò la fermentazione dell'amido di patate da parte del batterio *Clostridium butyricum* (*Bacillus amylobacter*). Villiers riuscì ad isolare due differenti destrine per

precipitazione frazionata. Osservò che i due solidi cristallini erano difficili da idrolizzare ulteriormente e non erano presenti glucosio semplice o maltosio. Inoltre, entrambe le destrine risultavano non riducibili. Per via di queste tre caratteristiche, analoghe alla cellulosa, si riferì ai composti ottenuti con il termine “cellulosine”. [7]

Si noti che la prima scoperta di questa classe di composti avvenne dunque nel 1891 e nei successivi anni si caratterizzarono meglio, senza però approfondirne davvero le possibilità applicative. Solo negli ultimi decenni si è iniziato ad osservare con attenzione le vere potenzialità delle ciclodestrine. Secondo lo studio di Gregorio Crini solo dal 1970 si è iniziato a prendere davvero in considerazione l’impiego di questi composti in ambito industriale, specialmente perché prima di allora i costi di produzione erano troppo elevati e venivano dunque considerate “curiosità da laboratorio” [8]. Le figure 1 (a) e (b) sono a supporto di questa tesi e mostrano come l’interesse nei confronti delle ciclodestrine sia esponenzialmente cresciuto nell’ultima parte del XX secolo e come questo si relazioni alla rapida diminuzione dei prezzi di produzione. [1]

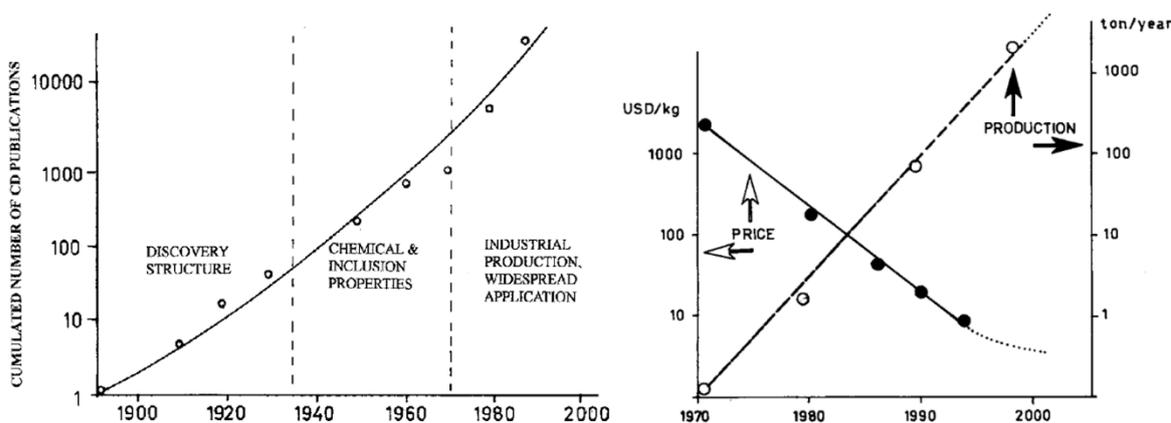


Fig. 1 (a): numero di pubblicazioni per anno riguardanti CD; (b) Costo e proiezione del costo di produzione della β -CD [1]

1.2 Caratteristiche generali e struttura

La formula generale delle ciclodestrine è cG_x : “c” indica la ciclicità della molecola, “G” indica l’unità di glucosio che viene ripetuta x volte. Le unità di glucosio, come anticipato, sono legate da ponti α -1,4-glicosidici. Il numero di unità di glucosio determina la tipologia di ciclodestrina: le più comuni CD hanno 6, 7 oppure 8 unità. Rispettivamente queste sono dette α -, β - e γ -ciclodestrine, mostrate in figura 2. Queste tre tipologie sono ampiamente le più comuni, più impiegate e conosciute ma è comunque possibile produrre ed isolare ciclodestrine più grandi, che risultano però instabili, non molto solubili e poco interessanti da un punto di vista applicativo [9]. Solo recentemente, nel 2019, è stata trovata la via sintetica per ciclodestrine di 3/4 unità di glucosio, per le quali le possibilità applicative sono ancora inesplorate [10]. La forma delle principali CD può essere descritta come un cono troncato e vuoto, oppure un grande anello molecolare con le estremità di due diverse ampiezze. Sull’estremità più stretta si trovano i gruppi idrossilici primari, mentre

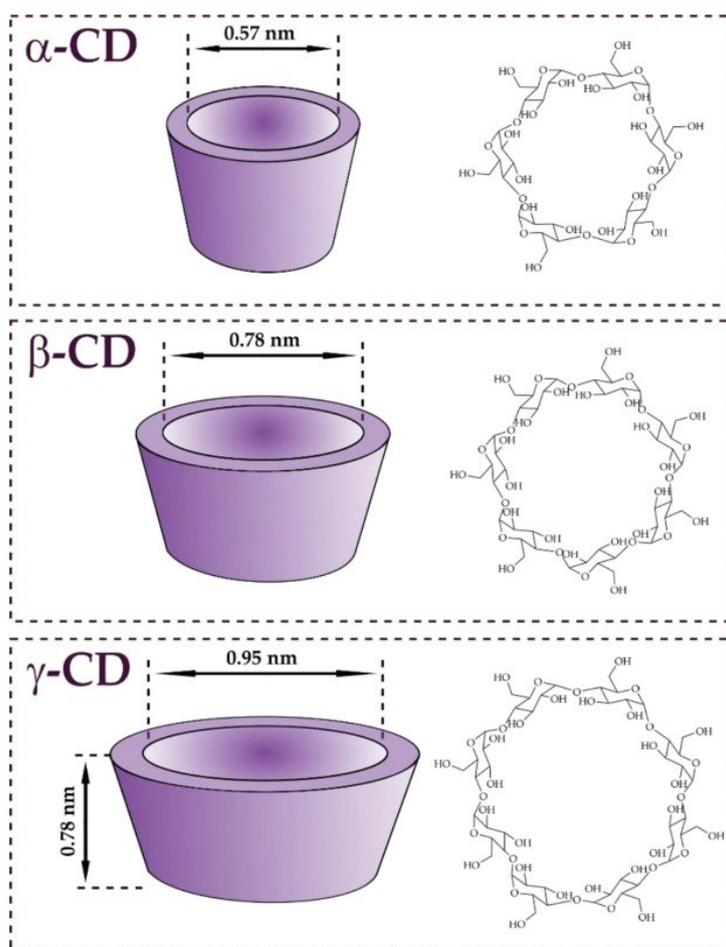


Fig. 2: struttura delle tre principali ciclodestrine [11]

sull'estremità più larga si trovano le coppie di gruppi idrossilici secondari. Mentre i gruppi -OH primari sono liberi di ruotare intorno al loro legame, i gruppi secondari sono abbastanza stericamente impediti per via di ponti a idrogeno che si instaurano tra l'uno e l'altro: questo conferisce particolare rigidità strutturale alle ciclodestrine [12].

Altra caratteristica di fondamentale importanza è la differenza di polarità tra l'interno della cavità della CD, che risulta essere idrofobica, e l'esterno dell'anello tridimensionale, che contrariamente ha un discreto momento di dipolo che lo rende ragionevolmente idrofilico. L'insieme di queste tre caratteristiche permette a questa categoria di composti di formare complessi di inclusione con sostanze apolari ed idrofobiche, a patto che queste siano compatibili in dimensioni con la cavità della CD in questione. A questo proposito è evidente che aggiungere un'unità di glucosio all'anello significa modificarne la dimensione della cavità, che è quindi una caratteristica che varia in base alla ciclodestrina impiegata. In Tab. 1 [1] sono riportate alcune delle caratteristiche delle α -, β - e γ -ciclodestrine. La α - ha una cavità molto piccola, che ne limita le possibilità applicative. La γ - ha una cavità molto larga, però i costi di produzione sono elevati. La cavità intermedia e i bassi costi di produzione rendono la β - la più comune, prodotta ed impiegata ciclodestrina sul mercato. La differenza un po' più sorprendente e inaspettata è la bassa solubilità della β -CD, quanto meno in confronto alle

Tab. 1 Caratteristiche delle principali CD [1]

Caratteristica fisica	α -CD	β -CD	γ -CD
Unità di glucosio	6	7	8
Formula	C ₃₆ H ₆₀ O ₃₀	C ₄₂ H ₇₀ O ₃₅	C ₄₈ H ₈₀ O ₄₀
Massa molare (g/mol)	972	1135	1297
Diametro Cavità Interna (nm)	0.5-0.6	0.7-0.8	0.9-1.0
Diametro esterno (nm)	1.4-1.5	1.5-1.6	1.7-1.8
Altezza dell'anello (nm)	0.8	0.8	0.8
Solubilità (in acqua a 25°C) (g/100mL)	14.5	1.85	23.2
Temp. di fusione (K)	548	553	548
Molecole di acqua contenute	6-8	11-12	13-17

altre due. Questa difficile idratazione della β -CD sembra essere dovuta ai legami ad idrogeno molto più stabili che si formano sui gruppi -OH secondari, che quindi prevengono l'instaurazione di ponti ad H efficaci con il solvente acquoso. Questo effetto sarebbe accentuato rispetto alle altre due CD [13]. La poca solubilità è favorevole in fase di produzione, ma può causare problemi al momento dell'applicazione. Per ovviare a questo inconveniente è

possibile modificare chimicamente la matrice delle β -CD con metodi che verranno esplorati in seguito.

1.3 Tossicologia

Essendo l'industria alimentare uno dei più importanti ambiti d'utilizzo delle CD è legittimo e necessario interrogarsi sulla possibile tossicità di questi composti. Nel 1957 Dexter French, nella sua monografia sulle allora definite "destrine di Schradinger", scrisse di aver riscontrato un'elevatissima tossicità, senza però far riferimento ad alcun lavoro pubblicato: "In unpublished attempts to investigate the ability of animals to utilize Schardinger dextrans, B. H. Thomas and D. French fed rats a diet in which a part of the carbohydrate was supplied by highly purified P-dextrin. The animals refused to eat the test diet except in very small quantities and within a week, all animals on the ration were dead. Postmortem examination did not reveal the cause of death." [14]

Questa presunta elevata tossicità sembrava sufficiente ad escludere l'ipotesi di impiego delle ciclodestrine ove previsto il consumo umano. Più di un paio di decenni più tardi si tornò però ad investigare la questione. In diversi articoli pubblicati si sperimentò principalmente su ratti e cani. I risultati furono chiari e rassicuranti:

- Le ciclodestrine in forma nativa sono assorbite in minime dosi nel colon, si comportano quindi da fibre. Possono però venire degradate, sempre in piccola parte, dalla flora batterica intestinale. [15]
- La DL_{50} (parametro di tossicità acuta) è estremamente elevata sui ratti, in particolare è di 12500 mg/kg, una dose la cui somministrazione è impensabile. [15]
- Test sulla tossicità cronica su un tempo di 6 mesi con dosi di 200, 400 e 600 mg/kg non hanno portato ad alcuna evidenza di tossicità cronica. I test osservavano possibili complicanze ed anomalie a livello clinico, bio-chimico, ematologico, patologico ed istopatologico. [2]
- Anche gli esami mutagenici non hanno evidenziato alcun effetto avverso. [2]

In conclusione, le ciclodestrine sono composti considerati generalmente sicuri per il consumo umano ed animale, specialmente in moderate dosi. La FDA (Food and Drugs administration, US) ha riconosciuto le ciclodestrine come GRAS, ovvero "Generally Recognized As Safe."

2. Produzione Ciclodestrine

La sintesi delle ciclodestrine è molto complessa: richiede molti passaggi, necessita l'utilizzo di agenti chimici costosi ed inoltre, le rese sono molto basse. Questo rende la sintesi svantaggiosa in termini temporali ed economici. [16]

Per queste ragioni si preferisce non sintetizzare le ciclodestrine a partire dal maltosio. La via preferita per la produzione di questi composti, specialmente in ambito industriale, è la trasformazione enzimatica dell'amido da parte della CGTasi (glucanotransferasi). Questo enzima, prodotto da un gran numero di batteri ormai conosciuti e geneticamente codificati, catalizza due reazioni [17]:



La lettera G nelle reazioni indica l'unità singola di glucosio, le lettere ai pedici indicano la lunghezza delle catene di glucosio legate tramite ponti α -1,4-glicosidici. cG_x indica la catena di glucosio ciclizzata, quindi la ciclodestrina. Il pedice x può assumere il valore di 6, 7 oppure 8 (α -, β -, γ -CD). La reazione (1) è chiaramente la più interessante ai fini della produzione, in quanto è la reazione di ciclizzazione vera e propria. La reazione (2) è una reazione di disproporzione in cui una porzione di catena viene trasportata ad un'altra catena. Gli enzimi CGTasi possono inoltre catalizzare l'idrolisi dei legami α -1,4-glicosidici, analogamente all' α -amilasi [18]. La reazione di ciclizzazione è favorita ed al massimo dell'efficienza se l'amido utilizzato ha un destrosio equivalente (DE) minore di 20. Questo significa che le catene di amido devono essere lunghe a sufficienza, altrimenti, se fossero già idrolizzate, sarebbe favorita la reazione di coupling (opposta alla ciclizzazione) e di dismutazione. [19]

Anche le CGTasi sono categorizzate in α -, β - e γ -. Questa distinzione è basata su quale ciclodestrina è prodotta inizialmente dall'enzima (favorita da un punto di vista cinetico). Ad esempio, la α -CGTasi produrrà in un primo momento α -CD, per poi iniziare a produrre anche le altre due. All'equilibrio si noti però che la β -CD è sempre la più abbondante in quanto più stabile termodinamicamente. Principalmente per questa ragione la β -CD è la più economica ed accessibile sul mercato [20]. Le caratteristiche dell'enzima impiegato sono determinanti per la qualità del prodotto finale. Un enzima ideale dovrebbe produrre una sola ciclodestrina, così da non necessitare del processo di separazione. Inoltre, la temperatura a cui la reazione avviene è

solitamente vincolata dalla temperatura ideale di lavoro dell'enzima. Vista l'importanza di questo aspetto della produzione delle ciclodestrine le CGTasi sono approfonditamente studiate e ottimizzate per la produzione delle CD.

Una volta raggiunto l'equilibrio (massima produzione di CD in rapporti che dipendono dall'enzima impiegato) è critico e fondamentale separare e purificare le tre diverse ciclodestrine presenti in soluzione. A tal scopo, a livello industriale ci sono due principali vie: il primo è il processo **con solvente**, il secondo è detto processo **senza solvente**.

2.1 Processo con solvente

Un solvente organico, detto agente complessante, viene introdotto in soluzione. Questo forma complessi insolubili con le CD in soluzione che precipitano, dunque è poi possibile la separazione dal resto della soluzione. Il processo con solvente inizia con la liquefazione (abbassamento dell'eccessiva viscosità) della soluzione d'amido, che è solitamente al 20-30% e di conseguenza molto viscosa. La liquefazione avviene di conseguenza al moderato aumento del DE (destrosio equivalente) dell'amido (comunque inferiore al 20). L'abbassamento di viscosità è effettuato tramite l'impiego di α -amilosio, acidi (HCl) oppure per disintegrazione meccanica e jet cooking. L' α -amilosio e gli acidi vanno utilizzati in misure corrette ed eventualmente vanno disattivati, altrimenti si rischia di ottenere un DE troppo elevato. Il jet cooking è un processo termico che a sua volta porta alla rottura di legami glicosidici, ma questa volta tramite l'impiego di vapore ad elevata pressione e temperatura. La soluzione viene poi raffreddata alla temperatura di lavoro ideale della specifica CGTasi impiegata (questa temperatura può variare di molto in base al batterio dal quale l'enzima proviene, i più vantaggiosi sono quelli termostabili anche se più costosi [21]). Enzima e agente complessante sono aggiunti alla soluzione. L'agente complessante interagisce con le CD facendole precipitare, sottraendole così alla soluzione ed instaurando un equilibrio dinamico che promuove la produzione delle stesse CD. Si veda questo esempio con precipitazione di α -CD/A:



(3)

La reazione di ciclizzazione in equilibrio è catalizzata dalla CGTasi, l'agente complessante in questo caso è detto "A". In soluzione sono ovviamente presenti anche le reazioni in equilibrio di ciclizzazione e precipitazione delle altre CD. Una volta formato il complesso insolubile si procede con la separazione delle due fasi, che è solitamente effettuata per filtrazione oppure per centrifugazione. La soluzione rimanente contiene amido non trasformato, glucosio, maltosio, maltodestrine, CGTasi, solvente in eccesso ed acqua. Il complesso precipitato viene sottoposto a lavaggio e successivamente viene diviso termicamente in sospensione per riformare la ciclodestrina e l'agente complessante in forma libera. L'agente complessante è separato per distillazione a vapore. La soluzione acquosa contenente il prodotto è concentrata per distillazione sottovuoto. Il prodotto è quindi cristallizzato, filtrato, lavato e seccato [22], [17], [23]. In questo processo la scelta dell'agente complessante è di vitale importanza, in quanto è determinante rispetto a selettività e resa. I solventi organici più comunemente impiegati sono toluene, etanolo, butanolo, propanolo o acetone. [24]

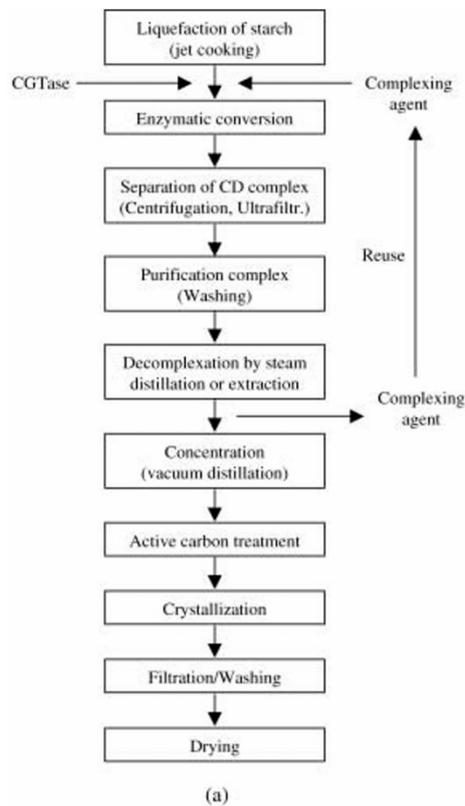


Fig. 3 Processo di produzione con solvente [24]

2.2 Processo senza solvente

Il processo senza solvente è decisamente meno impiegato in quanto ha delle rese molto più basse ed è realmente effettivo solo per la produzione di β -CD, che ha una solubilità molto bassa rispetto alla α - e γ - (rispettivamente 18.5 g/L contro 145 g/L e 232 g/L [1]). Per le CD più solubili è necessario percorrere una via diversa. Il vantaggio della via senza solvente è la possibilità di poter applicare senza restrizioni e preoccupazioni le CD nell'industria alimentare. La separazione senza solvente delle β -CD inizia anche in questo caso con la liquefazione dell'amido, analogamente a come vista prima. Allo stesso modo viene aggiunto l'enzima ma questa volta non l'agente complessante. Completata la conversione la CGTasi viene disattivata e vengono aggiunte delle glucoamilasi, così da trasformare amido ed altri glucidi non ciclizzati in glucosio e maltosio. La depurazione da questi composti è abbastanza semplice. La soluzione è chiarificata tramite l'utilizzo di carbone attivo, filtrata e concentrata tramite distillazione a pressione ridotta. La β -CD viene fatta cristallizzare, ricristallizzare, lavata ed asciugata. Ciò che rimane in soluzione viene fatto ulteriormente concentrare per produrre sciroppo alimentare [22], [17], [23].

2.3 Separazione delle diverse CD

La separazione della β -CD è semplice per via della sua bassa solubilità, mentre per le altre occorre ricorrere ad altri metodi quali per esempio l'utilizzo di complessanti organici che facciano precipitare un solo tipo di CD in modo selettivo. L'utilizzo di solventi organici impatta significativamente il costo di produzione delle CD, l'ideale è dunque recuperare il solvente impiegato tramite distillazione una volta terminato il processo di separazione. Inoltre, i solventi utilizzati sono spesso tossici, imponendo restrizioni nell'impiego alimentare. Altri metodi di separazione senza solventi organici sono setacci molecolari, filtrazione a membrana, cromatografie ad assorbimento, a scambio ionico e ad affinità [24].

3. Formazione di complessi di inclusione

Come anticipato le CD formano dei “complessi di inclusione” ovvero si comportano da molecole *host* nei confronti di una molecola *guest*, incapsulandola interamente o parzialmente. Questa interazione avviene come conseguenza della non polarità della cavità della CD, che quindi trae un vantaggio entropico dall’allontanamento delle molecole d’acqua che contiene, interfacciandosi piuttosto ad una molecola idrofoba. Inoltre, a seconda delle caratteristiche della molecola ospitata, si possono instaurare altre interazioni, di tipo dipolo-dipolo, di Van der Waals e/o ponti ad H [25]. I complessi di inclusione possono avere diverse stechiometrie, una CD può contenere una molecola (1:1, più comune), due o più molecole (1:2, 1:3), al contrario una molecola *guest* può essere incapsulata da due CD che la contengono (2:1), oppure due molecole *guest* possono godere contemporaneamente di questo incapsulamento (2:2) (figura 4). La possibilità di formare complessi in diversi rapporti è chiaramente influenzata dalla taglia della molecola [26]. Inoltre, la stabilità e la formazione dei complessi di inclusione dipendono dal solvente in cui si trovano i composti e dall’impiego di CD native o modificate. Lo studio della stabilità di questi complessi è importante perché, se sufficientemente stabili, possono essere commercializzati: le CD non sono vendute solo pure ed isolate.

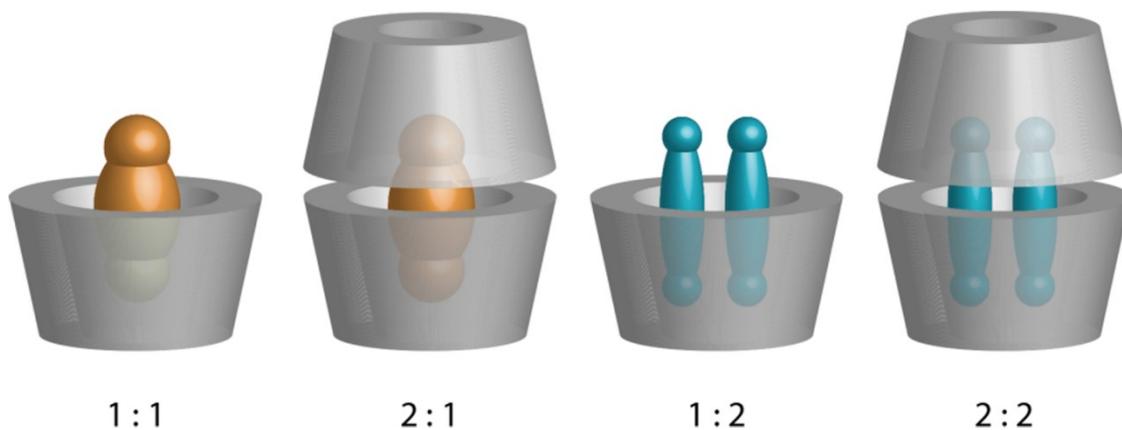


Fig. 4 Complessi di inclusioni a diverse stechiometrie di incapsulamento [8]

3.1 Preparazione e caratterizzazione dei complessi di inclusione.

Il metodo di preparazione di un complesso CD/*guest* è un importante aspetto in quanto influenza la stabilità, la velocità di rilascio della sostanza ospite e il costo del prodotto. Esistono svariati metodi con svantaggi e vantaggi, ognuno può essere adatto o meno ad una determinata situazione. Tra i più comuni ed esplorati processi si annoverano: co-precipitazione; ad impasto; ad anidride carbonica super critica; ad irradiazione di microonde e lo spray-drying.

Il metodo conosciuto come co-precipitazione è adatto soprattutto con substrati (*guest*) non solubili in acqua [25]. La molecola ospite è disciolta in una soluzione di acqua e solvente organico (spesso etanolo, oppure dietil etere). In questa soluzione si aggiunge la CD sotto costante agitazione. Il complesso viene cristallizzato raffreddando la soluzione e con l'impiego di un anti-solvente. Il precipitato è filtrato, lavato ed asciugato. Questo metodo è molto usato in laboratorio perché molto semplice, ma non offre rese adatte all'impiego industriale, inoltre l'ideale è evitare l'impiego di solventi tossici [11]. È comunque impiegato per l'incapsulamento di principi attivi di farmaci, come l'oxaprozin [25].

Il metodo ad impasto ("*kneading method*") prevede l'utilizzo in specifici rapporti molari (a seconda dei rapporti di incapsulamento, fig. 4) di CD e di *guest*. Questi sono sciolti in un minimo quantitativo d'acqua e mescolati assieme a formare una sorta di pasta densa (da cui il nome). Il prodotto è lavato con minime quantità di solvente (per rimuovere CD e *guest* in eccesso) e lasciato ad asciugare. Questo metodo è semplice e restituisce ottime rese [27].

Esistono diverse varianti del metodo ad anidride carbonica supercritica. Queste si differenziano soprattutto per come viene miscelato il solvente supercritico alla soluzione contenente la CD e il *guest*. In genere una miscela di CO₂, ciclodestrina e molecola ospite del complesso sono introdotti in un'autoclave che viene pressurizzata e termostata per un tempo variabile in base alla tipologia di metodo. Le variabili che hanno più influenza sul prodotto sono la pressione dell'autoclave, la temperatura della camera pressurizzata, la velocità di flusso con il quale è introdotta la miscela nella camera e la composizione percentuale della miscela in CO₂, CD e *guest*. Una volta rilasciata la pressione la CO₂ evapora completamente senza lasciare traccia nel complesso. In questo passaggio avviene la formazione del complesso e la totale rimozione del solvente [28]. Questo metodo è facilmente scalabile ed i fluidi supercritici sono spesso utilizzati anche per altri prodotti alimentari. Inoltre, la CO₂ ha tossicità molto bassa rispetto a solventi che possono essere utilizzati in co-precipitazione, ed in ogni caso viene totalmente evaporata. Le rese sono anche molto buone [29]. In figura 5 è possibile vedere un diagramma per un metodo a CO₂, nello specifico il processo SEDS (solution-enhanced dispersion by supercritical fluids). Nell'esempio illustrato Nerome (et al.) ha ottenuto un complesso di licopene e β-CD, lavorando a temperature di 45° C e pressioni di 12 MPa. Nel punto 7 della figura 5 la CO₂ incontra la soluzione di CD e licopene. A questo punto la miscela

è introdotta nella camera termostata e pressurizzata attraverso un ugello nebulizzante ed altamente disperdente [30].

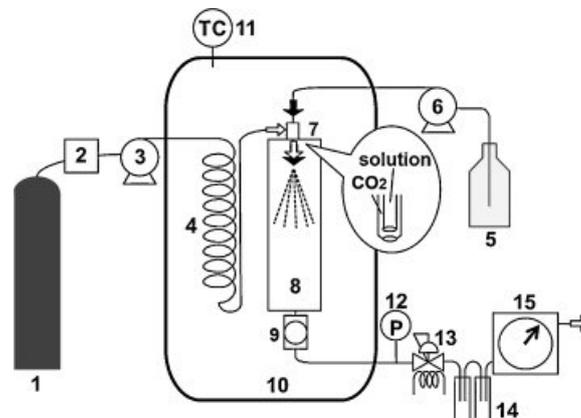


Fig. 5 Diagramma processo SEDS a CO₂ supercritica [30]

Il metodo a microonde prevede la preparazione di una miscela con una quantità minima di acqua ed etanolo con CD e *guest*. Questa mistura è fatta seccare in un fondo a microonde. La polvere risultate è lavata e lasciata ad asciugare. Questo metodo è rapido, richiede poco solvente ed è economicamente vantaggioso. Le rese sono ottime in confronto a co-precipitazione ed impasto [31], [32].

Il metodo *spray-drying* è tra i più comuni per la produzione su scala industriale, ma è efficiente ed efficace solo se la molecola ospite è disperdibile o solubile in acqua [33]. Questo metodo è applicato in molte industrie, non solo per la produzione di complessi con CD. In questo caso una soluzione concentrata di CD e *guest* è introdotta nel feed di atomizzazione ed in forma spray è trasportata da un gas inerte detto *carrier*. Lo stesso gas è scaldato, così da seccare le goccioline di soluzione. L'ultimo step del processo è la separazione del particolato dal gas *carrier*. Tra i metodi elencati e brevemente descritti lo *spray drying* è tra i favoriti quando possibile. Offre vantaggi in termini di resa, tempo, costi di produzione ed il non impiego di solventi tossici, producendo complessi impiegabili senza problemi nell'industria alimentare [34].

In Tab. 2 è possibile confrontare i differenti metodi, brevemente commentati con vantaggi e svantaggi [11], [34].

Tab. 2 Metodi di produzione per ottenere complessi di inclusione

Metodo	Vantaggi	Svantaggi
Co-precipitazione [25]	-Semplice; -Non richiede apparecchiatura sofisticata;	-Abbondante utilizzo di solvente
Impasto [28], [25]	-Non richiede apparecchiatura sofisticata; -Minimo impiego di solvente; -Ottime resa;	
A microonde [31], [32]	-Minimo impiego di solvente; -Rapido; -Economico; -Ottima resa;	-Difficile da scalare su produzione industriale
CO ₂ supercritica [29], [28]	-Solvente non tossico e comunemente impiegato; -Rapido -Facilmente scalabile;	-Alte pressioni
Spray-dry [33], [34]	-Il più comune; -Solvente assente; -Rapido; -Adatto alla produzione industriale anche in ambito alimentare	-Basse rese se con <i>guest</i> totalmente insolubili in acqua

3.2 Stabilità dei complessi di inclusione

Il parametro che esprime la stabilità dei complessi di inclusione è la costante di associazione (oppure di inclusione o formazione) K_a . Questa costante è così definita [35]:

$$K_a = \frac{[CD/G]}{[CD][G]} = \frac{[CD/G]}{([CD]_i - [CD/G])([G]_i - [CD/G])} \quad (3)$$

Le parentesi quadre indicano la concentrazione del composto al loro interno. CD/G indica il complesso formato. Il pedice i indica la concentrazione iniziale, dove non presente ci si riferisce alla concentrazione presente in soluzione. La sostituzione effettuata all'ultimo termine si può considerare valida solo se la stechiometria di formazione del complesso è 1:1, che comunque è il rapporto è più comune. Le concentrazioni iniziali di molecola *guest* e di CD sono valori sperimentali noti; dunque, è sufficiente conoscere la concentrazione del complesso di inclusione per ricavare K_a e viceversa. Si possono considerare i contributi termodinamici per la valutazione della costante K_a , ovvero le variazioni di energia libera di Gibbs, entalpia ed entropia (ΔG , ΔH e ΔS). Questi sono messi in relazione con K_a dalla legge integrata di Van't Hoff [36].

$$\ln K_a = \frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (4)$$

$$\Delta G = \Delta H + T\Delta S$$

(5)

La variazione di entalpia ed energia libera di Gibbs consentono di comprendere l'effetto della temperatura sul complesso di inclusione e sulla spontaneità della sua formazione. La variazione di entropia si relaziona alle molecole di solvente acquoso uscite dalla cavità non polare della ciclodestrina, nella formazione del complesso [34].

Un esempio di calcolo della costante di associazione è quello riportato da Emerson H. Santos (et al.2014). In questo articolo è esaminata la stabilità dei complessi di inclusione composti da carvacrolo (fenolo contenuto nell'olio essenziale di timo, riportato in Fig. 6) e β -ciclodestrina.

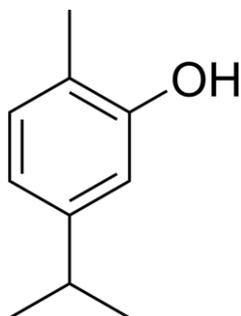


Figura 6: Formula di struttura del carvacrolo

La concentrazione di carvacrolo residua in soluzione, dopo aver filtrato il complesso insolubile, è stata misurata spettrometricamente (Uv-Vis) a 275nm. Per differenza si ottiene facilmente la quantità di complesso ottenuta. Calcolata la costante con l'equazione (3) a diverse temperature si stimano entalpia ed entropia con la formula (4), sfruttando la relazione data dall'equazione di Van't Hoff tra K_a e $1/T$. Con i due valori termodinamici si può determinare l'energia libera di Gibbs e di conseguenza la spontaneità della formazione del complesso [36].

Un altro metodo, più rigoroso, accurato e preciso, è quello della ITC, ovvero *Isothermal Titration Calorimetry*. Questo sofisticato e sensibile metodo analitico permette di valutare parametri termodinamici con ottima accuratezza e precisione, anche in caso di costanti di associazione molto basse. [37]

4. Funzionalizzazione delle CD

Come precedentemente accennato, le CD native non hanno sempre caratteristiche immediatamente ideali all'impiego. L'esempio più evidente è la bassa solubilità della β -CD,

che può essere limitante in molte situazioni. Anche la formazione di complessi non sufficientemente stabili con un determinato *guest* può causare problemi. Per queste ed altre ragioni spesso si modificano la matrice delle CD. Questo risulta relativamente semplice per via dell'abbondanza di gruppi idrossilici presenti, che sono relativamente reattivi e trasformabili.

4.1 HP-, SBE- e RM-CD

Tra le modifiche chimiche più comuni si trovano l'idrossipropilazione (HP), la sulfossibutil eterificazione (SBE) e la metilazione casuale (RM, *random methylated*). La ciclodestrina più frequentemente modificata è la β , questo è dovuto a vari fattori, tra i quali il minor costo di produzione della CD, la sua inconvenientemente ma migliorabile bassa solubilità ed il maggior utilizzo rispetto alle altre CD.

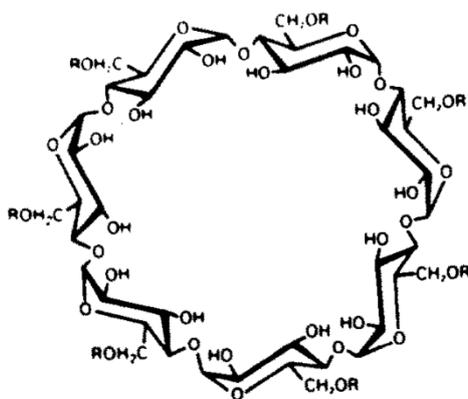


Fig. 7 Struttura dell'HP- β -CD [38]

La sintesi dell'HP- β -CD è stata descritta per la prima volta da Joseph Pitha (et al.) nel 1986. Consiste nella reazione della β -CD con ossido di propilene in ambiente basico. Le condizioni basiche in questo caso fungono da catalizzatore, inoltre aumentano la solubilità della β -CD nativa. La solubilità del composto ottenuto risulta elevata, decisamente più alta rispetto al composto nativo: 75% (w/w) in soluzione acquosa. Anche il potere solubilizzante è stato decisamente incrementato, con differenze a seconda della molecola ospite da dissolvere [38]. Si noti inoltre che sono presenti report ed articoli che sostengono fortemente la bassa tossicità delle HP- β -CD, se non per leggeri problemi a livello intestinale, come flatulenza [39].

La RM- β -CD (figura 8) può essere ottenuta tramite l'impiego di agenti metilanti come il dimetilsolfato o lo iodometano. Il problema del primo è che nella produzione ne è richiesta una grande quantità ed è un agente altamente tossico e cancerogeno. Lo iodometano può risultare invece eccessivamente costoso e complicato da utilizzare. In una semplice reazione

che impiega piuttosto clorometano è possibile sintetizzare la ciclodestrina metilata. In questo processo la reazione è condotta in un reattore autoclave in ambiente basico, ad elevata agitazione e a temperature massime di 80°C. La resa risulta inoltre ottima: 78%. La solubilità a 25°C di RM-β-CD risulta essere pari a 2000g/L, circa 100 volte superiore a quella della rispettiva ciclodestrina nativa [40].

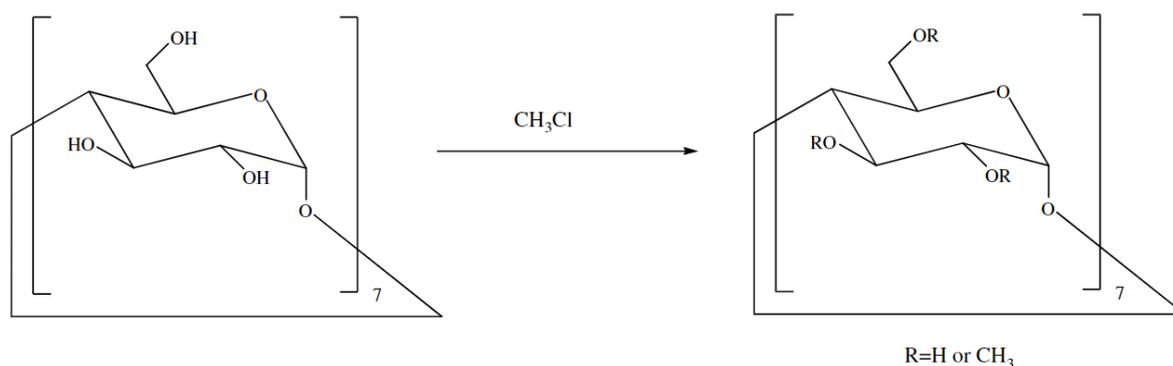


Fig. 8, Metilazione della β-CD [40]

La sintesi della SBE-β-CD è relativamente semplice. Si tratta di un'eterificazione dei gruppi idrossilici della β-CD. In soluzione decisamente basica ci si aspetta la formazione degli alcossidi, che vanno ad attaccare l'anello dell'1,4-butil sultone (Figura 9). I derivati sulfosibutil eterei delle ciclodestrine hanno applicazioni in moltissimi ambiti (soprattutto in ambito farmaceutico), migliorata solubilità e grande versatilità [41].

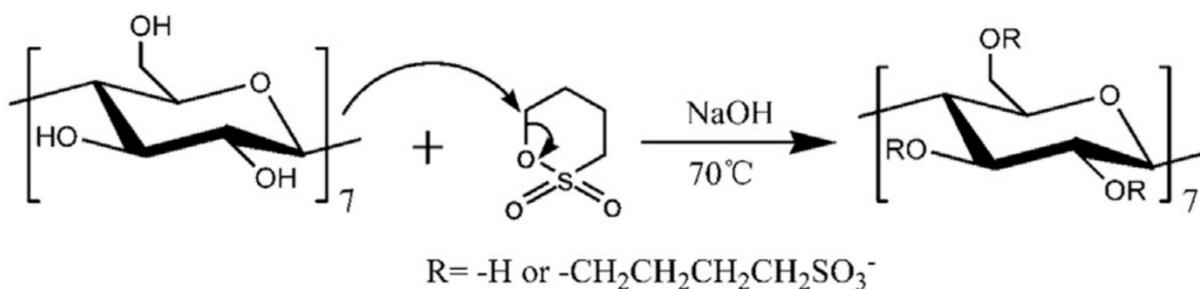


Fig. 9 Eterificazione β-CD con 1,4-butil sultone [41]

Si noti che ognuno di questi derivati della β-CD può subire un differente grado di funzionalizzazione. Ogni monomero di glucosio ha tre gruppi -OH, ognuno dei quali ha reattività differente. Il gruppo posizionato sul C₆ sembrerebbe essere il più reattivo, quello su C₂ il più acido ed in fine quello su C₃ il meno reattivo [41]. È quindi possibile regolare (attraverso condizioni di reazione come il pH o la temperatura) il numero di gruppi

funzionalizzati, ottenendo composti dalle differenti caratteristiche. Uno studio comparativo ha investigato la capacità di incremento di solubilità e di biodisponibilità, dei tre derivati della β -CD e delle tre CD non funzionalizzate, sulla apigenina ($C_{15}H_{10}O_5$), un flavone in grado di alterare in modo decisivo l'attività di diversi enzimi umani. I risultati sono stati i seguenti: RM- β -CD > SBE- β -CD > γ -CD > HP- β -CD > β -CD > α -CD [42]. Si noti però che questi due parametri sono fortemente dipendenti dal substrato da incapsulare, la scala non ha quindi valore assoluto.

5. Applicazione delle CD nell'industria alimentare

Le ciclodestrine interagendo con molecole presenti in prodotti alimentari possono aumentarne la stabilità, i benefici antiossidanti, la biodisponibilità oppure rimuovere composti indesiderati e nascondere sapori o odori sgradevoli. L'incapsulamento di determinate molecole, quindi, permette di aumentare la *shelf life* di alimenti e bevande, oppure migliorarne le proprietà organolettiche e nutrizionali. Molti insetticidi e pesticidi hanno un'elevata volatilità, dunque è necessaria impiegarne un'ingente quantità su campi e coltivazioni affinché questi abbiano un effetto duraturo ed apprezzabile. L'impiego delle CD può ovviare parzialmente a questo problema, formando complessi di inclusione più stabili e meno volatili con i suddetti composti. Un'altra ottima caratteristica delle CD è quello di essere buoni emulsionanti di Pickering.

5.1 Aumento della shelf life ed attività antibatterica

Ormai da decenni negli alimenti si usano additivi naturali (meglio percepiti da consumatori rispetto a quelli sintetici) per contrastare lo sviluppo di agenti patogeni. Alcuni agenti antimicrobici e antifungini possono presentare alcune criticità, tra le quali la poca solubilità, l'eccessiva volatilità e la poca stabilità. Questo è chiaramente il caso degli oli essenziali che hanno proprietà antibatteriche, ma bassissima solubilità in acqua. Un esempio è l'olio essenziale di cannella che ha dimostrato la capacità di bloccare sintesi delle pareti cellulari microbiche in una grande varietà di batteri. Inoltre, il potere antiossidante di quest'olio essenziale lo rende particolarmente adatto all'utilizzo su carne, in quanto ne rallenta la degradazione del colore senza alterarne il sapore [43]. Trova però limiti di utilizzo per via della pressoché inesistente miscibilità con acqua e instabilità chimica all'aria e luce. Per ovviare ai problemi di instabilità sono stati ingegnerizzati dei proteoliposomi contenenti complessi β -CD/oli essenziali. I liposomi sono delle vescichette microscopiche composte da un bilayer di fosfolipidi. Possono incapsulare sostanze anfipatiche e idrofiliche, tra cui i complessi di inclusione [44]. I proteoliposomi sono liposomi, la quale membrana è composta non solo di

fosfolipidi, ma anche di altri componenti (solitamente proteine) che permettono di controllare il rilascio del loro contenuto, in base a condizioni ambientali, come il pH, temperatura o come in questo caso la presenza di batteri [45]. L'esperimento sulla carne è stato condotto a diverse temperature tra i 4 °C e i 37°C in un lasso di tempo di 4 giorni. I risultati si sono dimostrati ottimi sotto diversi punti di vista: è diminuita l'ossidazione (con conseguente cambio di colore) della carne, la tenerezza della carne è stata meglio mantenuta e la crescita batterica è diminuita del 99% trascorsi i 4 giorni [46].

Le ciclodestrine ossidate possono aumentare la *shelf life* di alimenti, grazie al loro potere batteriostatico. Affinché questo avvenga non è nemmeno necessario che queste formino complessi di inclusione. Infatti, il potere antibatterico deriva dalla presenza di aldeidi, le quali è stato dimostrato causino la morte di cellule batteriche. Altro vantaggio derivante dall'ossidazione delle ciclodestrine è l'incrementata solubilità dei composti ottenuti. In uno studio, la O- β -CD (*Oxidized*) è stata ottenuta per reazione con perossido di idrogeno e ne è stata dimostrata l'attività antibatterica e fungicida [47]. In figura 10 è possibile osservare l'efficacia delle O- β -CD. La mela nelle immagini B è stata trattata con solo uno strato di guar e glicerolo, mentre nelle immagini C e D oltre al guar e al glicerolo in soluzione era presente la ciclodestrina ossidata a due differenti concentrazioni. L'efficacia della ciclodestrina nella conservazione è evidente già a concentrazioni di 4 mg/mL.

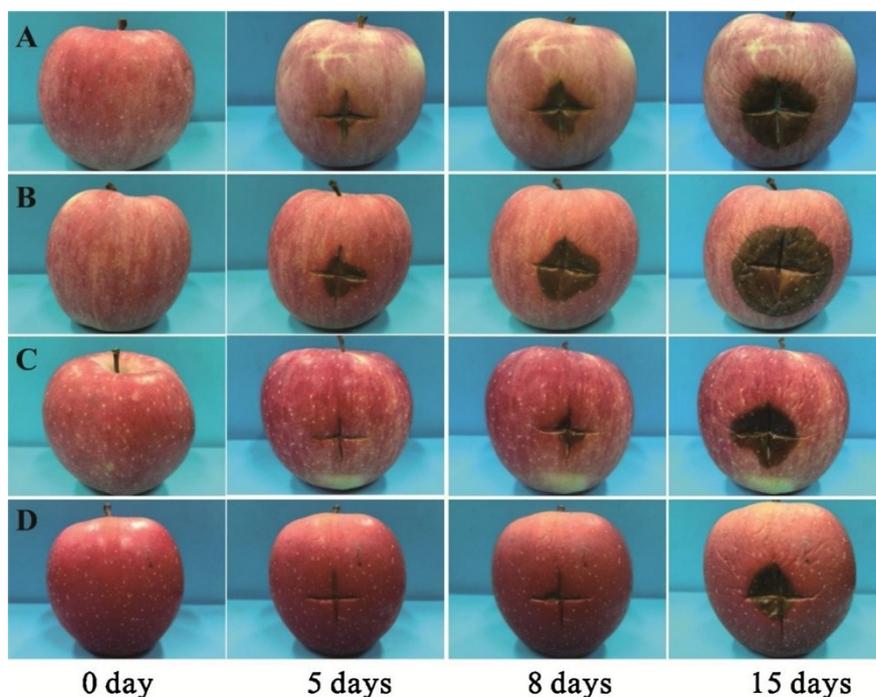


Fig. 10 Le quattro mele sono state trattate nella seguente maniera: (A) controllo, nessun trattamento; (B) 5 mg/mL gomma guar e 10 mg/mL glicerolo; (C) 5 mg/mL gomma guar, 10 mg/mL glicerolo e 4 mg/mL O-CD-4; (D) 5 mg/mL gomma guar, 10 mg/mL glicerolo e 6 mg/mL O-CD-4 [47].

5.2 Rimozione di composti indesiderati

I prodotti caseari e latticini possiedono molte proprietà benefiche per l'organismo umano, ma i grassi del latte hanno un contenuto non indifferente di colesterolo. Il colesterolo è un lipide appartenente alla classe degli steroli, copre un'importante funzione nel mantenimento della corretta fisiologia di uomini ed animali in generale. Un eccesso di colesterolo nella dieta può tuttavia portare a malattie cardiovascolari, ed è meglio evitarlo nel caso in cui tali malattie siano già presenti. Per questa ragione da diversi anni si studiano metodi per rimuovere il colesterolo dalla parte grassa del latte. Questo permetterebbe di produrre panna, burro, yoghurt, gelati e formaggi a basso contenuto di colesterolo, ottenendo prodotti commercialmente molto interessanti. Solitamente la panna (al 36% di contenuto lipidico) ne contiene 125mg per 100mL, il burro 219 mg per 100 grammi ed il gelato 105 mg per 100g [48]. Sono state messe a punto molte procedure per la rimozione del colesterolo da alimenti, ma spesso queste risultano alteranti delle proprietà nutrizionali ed organolettiche dell'alimento in questione. Secondo lo studio condotto da Leocadio Alonso (et al., 2009, [48]) le β -CD si candiderebbero come composti ideali per lo svolgimento di questa funzione. Come dimostrato nel suddetto studio le β -CD formano complessi di inclusione insolubili con il colesterolo, anche a temperature di 4 °C. Nello studio sono state mescolate CD a varie concentrazioni (0, 0.4, 0.6, 0.8, e 1.0% massa/vol) in 100 litri di latte intero e pastorizzato, lasciando a riposo le soluzioni per diverse spanne temporali (da 0 a 24 h) a 4 °C. Al termine dei tempi stabiliti il latte è stato separato in parte grassa (panna) e parte magra (latte scremato). Le condizioni ideali si sono rivelate essere lo 0.6 % di β -CD, mescolate per 20 minuti e lasciate a riposo per 6h a 4 °C prima di centrifugare. L'analisi per GC e HPLC ha rivelato che il 95% di colesterolo è stato rimosso dal grasso del latte, senza modificarne in modo significativo la composizione in acidi grassi e trigliceridi, al contrario di altre metodologie. Le β -CD residue sono state lo 0.15% nella parte grassa e lo 0.3% nella parte magra [48].

Gli stessi autori diversi anni dopo hanno proposto una procedura per la produzione su scala industriale, dove il latte scremato contenente lo 0.3% di β -CD viene immesso nuovamente nel circolo di produzione per sfruttare le ciclodestrine residue (schema di impianto riportato in fig. 11) portando ad un ulteriore vantaggio economico. L'impianto preso in esame nello studio è riuscito a trattare 50 mila litri di latte in una sola batch, producendo burro a basso contenuto di colesterolo con risultati molto simili a quelli precedentemente descritti. Inoltre, il latte scremato, la panna ed il latticello sono stati impiegati per la produzione di altri prodotti latticini [49].

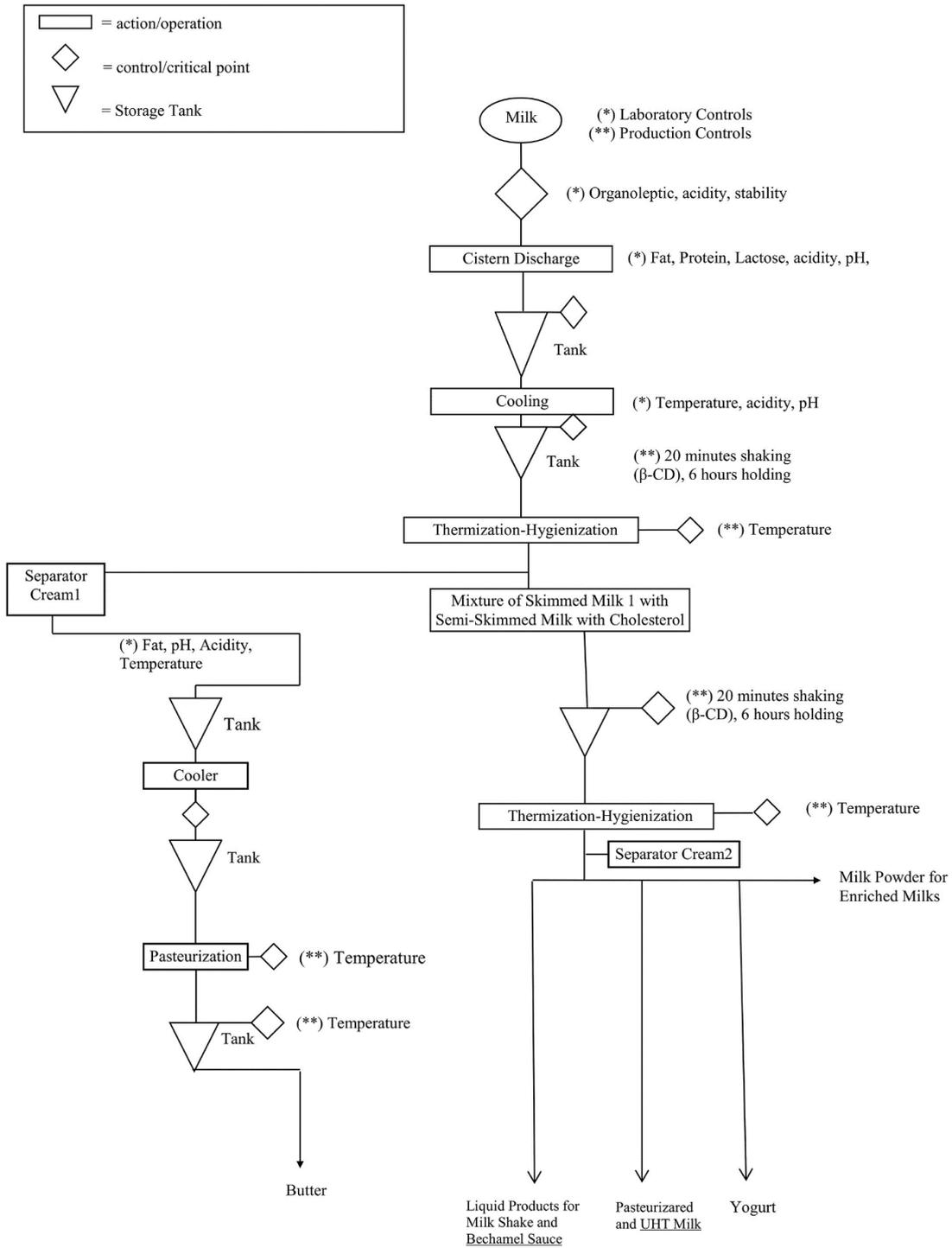


Fig. 11, Processo di produzione per latticini a basso contenuto di colesterolo proposto da Alfonso (et. al) [49]

5.3 Miglioramento delle qualità sensoriali degli alimenti

In alcuni frutti ed in alcune verdure è presente nel citoplasma delle cellule l'enzima PPO, polifenol-ossidasi. In seguito alla distruzione delle cellule, quindi in seguito ad incisioni, tagli, ammaccature e spremitura le PPO vengono in contatto con i fenoli presenti nei vacuoli. In presenza di ossigeno, le PPO, trasformano i mono fenoli in orto-poli-fenoli, composti che conferiscono un colore bruno sulla superficie dell'organismo vegetale [50]. Inoltre, vanno ad alterare le proprietà nutrizionali degli alimenti in cui si sviluppano. L'impiego di β -CD ha dimostrato una grande inibizione della reazione nel succo d'ananas, guava, canna da zucchero, banana, pera e mela. Questo è dovuto ai complessi di inclusione formati con i fenoli, che risultano più difficilmente attaccabili dall'enzima in un buon range di temperature e pH. [51]

I coloranti naturali godono di miglior reputazione tra i consumatori rispetto a quelli artificiali. Questi però mostrano due principali limiti: bassa solubilità e instabilità a temperatura, luce ed ossigeno. Bixina e curcumina, due tra i coloranti naturali più utilizzati nell'industria alimentare, mostrano i limiti sopra citati. I complessi di inclusione di questi due composti con β -CD si sono rivelati molto più stabili e solubili dei pigmenti nativi, risultando quindi molto più efficienti [52]. Discorso simile può essere fatto per il pigmento carotenoide del peperone rosso, il quale complessato con HP- β -CD risulta 660 volte più solubile [53].

5.4 CD come emulsionanti

I sistemi in emulsione sono fondamentali nell'industria alimentare (ad esempio salse) e nell'industrie cosmetiche e farmaceutiche (ad esempio creme). Tradizionalmente le emulsioni sono stabilizzate tramite l'utilizzo di tensioattivi, i quali possono presentare criticità legate alla stabilità nel tempo dell'emulsione, instabilità termica e causare preoccupazioni al consumatore riguardanti la salubrità degli stessi [54]. Le ciclodestrine formano una particolare classe di emulsioni, dette di Pickering. Le emulsioni di Pickering presentano la particolarità di essere stabilizzate da particelle solide all'interfaccia tra le due sostanze interessate dall'emulsione. In questi particolari sistemi le ciclodestrine si aggregano in nanoparticelle cristalline tra le due sostanze, ad esempio acqua ed olio, venendo bagnate da entrambe ma senza che si dissolvano in nessuna delle due, adsorbendole piuttosto [54]. Le emulsioni possono essere preparate per mescolamento ad elevati rpm con appositi dispositivi omogenizzanti. Possono essere impiegate CD native, tra le quali la β sembra essere la più efficace. Migliori risultati si ottengono impiegando CD modificate, ad esempio la OS-CD, ovvero la ciclodestrina ottenuta con succinico. Un'ulteriore alternativa è l'impiego di ciclodestrine complessate con sostanze anfipatiche. Le

proprietà più importanti di queste emulsioni sono la taglia delle gocce, la taglia delle particelle e la stabilità nel tempo.

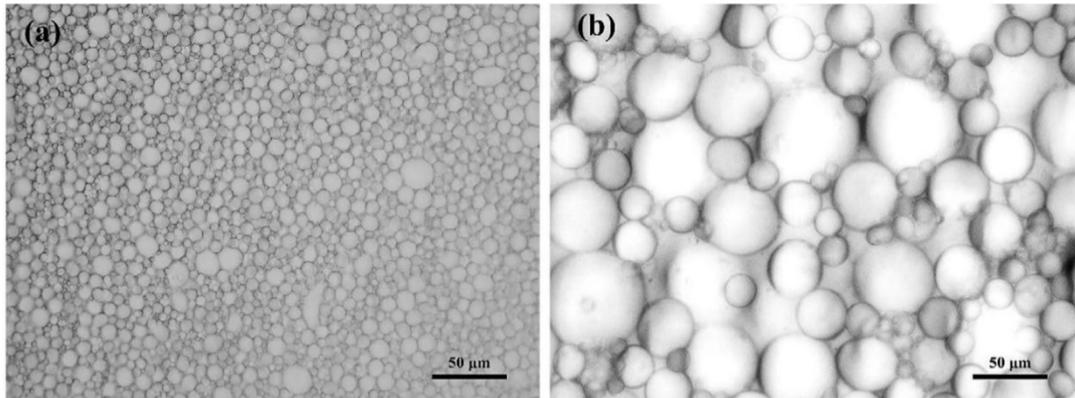


Fig. 12 (a) gocce di emulsione con CD non diluite; (b) gocce di emulsioni con CD diluite [54]

La taglia delle particelle di Pickering è un parametro fondamentale di queste emulsioni e ne influenza significativamente le proprietà reologiche di stabilità e durezza nel tempo. In generale la grandezza delle particelle di Pickering è nettamente inferiore a quella delle gocce di emulsione. Infatti, al crescere della taglia delle particelle cresce anche la taglia delle gocce [55]. La taglia delle ciclodestrine è intorno ad ordini di grandezza nanometrici, il che permette la formazione di emulsioni con gocce particolarmente piccole. La taglia delle particelle non è l'unico fattore che influenza la dimensione delle gocce. Infatti, un altro aspetto a cui bisogna prestare attenzione è la concentrazione delle CD (native o modificate che siano) presenti in soluzione. Ogni coppia di sostanze in emulsione ha una concentrazione ideale di ciclodestrine alla quale la dimensione delle gocce è minima, portando a maggior stabilizzazione.

A livello pratico il parametro più importante per valutare la bontà di un'emulsione rimane la sua stabilità nel tempo, che risulta comunque fortemente influenzata dalla grandezza delle gocce, delle particelle e della concentrazione di CD. La stabilità è valutata tramite l'indice di scrematura (Creaming Index, CI), che misura lo sviluppo in altezza della parte grassa che sfugge dall'emulsione nel tempo rispetto all'altezza totale dell'emulsione:

$$CI = \frac{H_c}{H_I} * 100\%$$

(6)

Questo indice riflette la tendenza delle gocce a riunirsi andando a rompere l'emulsione. Studi sulle emulsioni di α - e β -CD con numerosi oli di origine animale e vegetale hanno dimostrato

una discreta stabilità anche fino ad otto settimane, con minime variazioni della taglia, distribuzione e morfologia delle gocce, con il miglior CI ottenuto da β -CD in concentrazione di 18 mg/mL, CI=35% dopo 60 giorni. Un risultato non straordinario ma comunque degno di nota. Risultati estremamente impressionanti sono stati ottenuti invece con l'utilizzo di OS- β -CD come emulsionante. Dopo 30 giorni di conservazione l'emulsione ha dimostrato una straordinaria stabilità, con un CI prossimo a 0 [54].

Il meccanismo di formazione di queste emulsioni è fondamentalmente diviso in due step principali:

- Il primo è la formazione di complessi di inclusione con la sostanza lipidica di interesse. Le molecole interessate da questi complessi, essendo relativamente estese, non vengono interamente incapsulate nella ciclodestrina, ma solo parzialmente. Questo fa sì che si generi un complesso con una testa idrofila (esterno della CD) ed una coda lipofila (parte scoperta della molecola), questa struttura ricorda quella dei tradizionali tensioattivi.

- Il secondo step consiste nella precipitazione di questi complessi all'interfaccia tra le due fasi. Ciò accade per via della bassa solubilità dei complessi formati, che come anticipato formano strutture nanocristalline. Il precipitato conferisce le caratteristiche delle emulsioni di Pickering, quali stabilità nel tempo e alle basse temperature [56].

Un particolare utilizzo delle proprietà emulsionanti delle ciclodestrine è quello che viene sperimentato in gelateria. Le emulsioni di Pickering dimostrano stabilità particolarmente elevata a basse temperature, alle quali i complessi precipitano facilmente e i nanocristalli risultano più stabili. In gelateria, quando necessario, gli emulsionanti più comunemente impiegati sono mono- e di-gliceridi di acidi grassi, che risultano estremamente efficaci [57], ma causano elevate preoccupazioni al consumatore. Loffredi ed Alamprese hanno estensivamente sperimentato 12 differenti formulazioni di nucleo emulsionante per sostituire i mono e diglicerdi, con l'obiettivo di ottenere una "clean label", ovvero priva di additivi che vanno segnalati come Exxx sulle etichette europee. Ognuna di queste 12 formulazioni conteneva in differenti rapporti fibre di agrumi, concentrato di proteine del latte e α -CD. I parametri scelti per valutare il gelato sono stati l'overrun, la densità, la temperatura di scioglimento, il comportamento di scioglimento e la durezza a penetrazione. L'overrun è un parametro molto importante che indica la crescita di volume del gelato durante la sua produzione, in altre parole descrive la quantità di aria incorporata nel gelato durante il

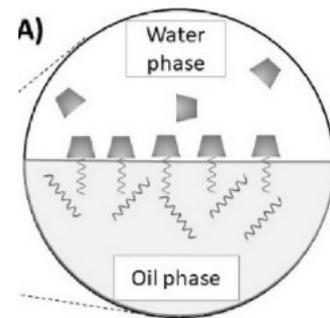


Fig. 13 Struttura dei complessi di inclusione all'interfaccia [56]

congelamento. Più aria è incorporata, più il gelato risulta voluminoso, leggero e più strutturalmente durevole.

La formulazione ideale messa a punto dallo studio risulta avere un nucleo emulsionante con un peso totale di 3g per 100g di miscela per gelato. Questi 3 grammi sono composti da 0.16 grammi di fibre di agrume, 1.75g di concentrato proteico di siero del latte e 1.1 grammi di α -CD. I risultati sono stati eccezionali se comparati al gelato di riferimento prodotto con mono- e di- gliceridi. Il parametro più importante dal punto di vista della piacevolezza del gelato e commerciale, ovvero l'overrun, è risultato essere 46% per il prodotto "clean label" contro il 33% del riferimento. In generale le caratteristiche dei due prodotti sono risultate molto simili, se non migliori per quanto riguarda il prodotto "clean label" [57].

Conclusioni

In questo elaborato è proposta una panoramica sulle generiche caratteristiche delle ciclodestrine, sulla loro produzione industriale, sulle loro modifiche chimiche, sulle proprietà dei complessi di inclusione ed il loro ottenimento, infine sono stati portati alcuni esempi pratici dell'utilità di questi composti in ambito alimentare e sulle loro prospettive future.

Sicuramente tra le caratteristiche più interessanti che si evincono di questa classe di composti ci sono i bassi costi di produzione, la biocompatibilità, l'ecocompatibilità (derivando dall'amido) e l'incredibile versatilità. Infatti, non solo le ciclodestrine sono impiegate in moltissime industrie differenti (ingegneria dei tessuti, medicina, cosmetica, farmaceutica) ma all'interno dell'industria alimentare assumono svariate funzioni: il potere batteriostatico delle CD ossidate, la stabilizzazione fornita ad altri composti, le proprietà emulsionanti ed altro ancora.

Negli ultimi anni molta ricerca è stata fatta per esplorare meglio le possibilità applicative delle ciclodestrine e dei loro derivati. Diverse aziende hanno iniziato ad impiegarle in prodotti già presenti sugli scaffali dei supermercati, ma il futuro sembra essere ancora più prospero ed economicamente interessante.

Bibliografia

- [1] J. Szejtli, «Intro. and Gen. Overview of Cyclodex. Chem.,» *Chem. Rev.*, n. 98, pp. 1743-1753, 1998.
- [2] J. Szejtli e J. Sebestyén, «Resorp., Metab. and Toxic. Studies on the peroral Applic. of Beta CD,» *Starch*, vol. 31, n. 11, pp. 385-390, 1979.
- [3] S. Van Vlierberghe, P. Dubruel e E. Schacht, «Biopoly. based Hydrogels as scaffolds for tiss. engin. applic.,» *Biomacromolecules*, vol. 12, n. 5, pp. 1387-1408, 2011.
- [4] G. J. Kim e K. O. Kim, «Noverl glucose-responsive of transparent nanofiber hydrogel patches as wearable biosensor via electrospinning,» *Scientific Reports*, vol. 10, n. 1, pp. 1-12, 2020.
- [5] A. Roy, G. R. P., A. Bose, S. Dhara e S. Pal, «pH-respon. copoly. network gel using methacrylated beta-CD fo control. codeliv. of hydrophi. and hydropho. drugs.,» *ACS Applied Bio Materials*, vol. 5, n. 7, pp. 3530-3543, 2022.
- [6] Z. Wang, T.-T. Li, H. Peng e H. Ren, «Low-Cost hydrogel adsorbent enhances by trihydroxy melamine and beta-CD for the remov. of pb(II) and ni(II) in water,» *Journal of Hazardous Materials*, vol. 411, 2021.
- [7] A. Villiers, «Sur la fermentation de la féculé par l'action du ferment butyrique,» *Comp. Rendus de l'Acad'emie des Sciense*, vol. 112, pp. 435-438, 1891.
- [8] G. Crini, «A history of cyclodex.,» *Chem. Review*, vol. 114, p. 10940–10975, 2014.
- [9] L. K. Larsen, H. Ueda e W. Zimmermann, *8th European Congr. on Biotechn.*, pp. 17-21, 1997.
- [10] D. Ikuta, Y. Hirata, S. Wakamori, H. Shimada e Y. Tomabechi, *Science*, vol. 364, n. 6441, pp. 674-677, 2019.
- [11] A. C. Samamed, J. Rakmai, J. Mejuto, J. Gandara e G. Astray, «Cyclodex. inclusion complex: Prep. Methods, analyt. techniq. and food indus. applica.,» *Food Chem.*, vol. 384, 2022.
- [12] A. M. Przybyla, G. Ylmaz e R. Becer, «Natural cyclodextrins and their derivatives for polymer synthesis,» *Polym. Chem.*, vol. , n. 11, pp. 7582-7602, 2020.
- [13] B. Lade, A. Shanware e R. Sharma, «Effect of B-CD Stab. Silver Nanopart. on Gills,» *Letters in Appl. NanoBioScience*, vol. XI, n. 1, pp. 2981-2983, 2022.
- [14] D. French, «The Schardinger Dextrins,» *Adv. Carbohy. Chem.*, vol. 12, p. 233, 1957.
- [15] G. H. F. M. R. D. F. J. Andersen, R. Moores e C. Long, «The utilization of Schardinger dextrins by the rat,» *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 5, n. 2, pp. 257-266, 1963.
- [16] S. Takahashi e T. Ogawa, *Carbohydr. Research*, vol. 164, pp. 277-296, 1987.
- [17] H. Bender, «Prod., charact., and applic. of cyclodex.,» in *Adv. in biotech. proce.*, vol. 2, New York, Liss, 1986, pp. 31-71.

- [18] S. Kobayashi, «Cyclodextrin produc. enz.,» in *Enzymes for Carbohy. engin.*, Amsterdam, Elsevier, 1996, pp. 23-41.
- [19] N. E. Lloyd e W. J. Nelson, in *Starch: Chem. and tech.*, Academic Press, 1984, pp. 611-660.
- [20] K. Horikoshi, in *Proceed. of the 4th Inter. Sympo. on Cylodext.*, Monaco, Kluwer Academic, 1988, pp. 7-17.
- [21] S. R, «Thermostab. cyclodex. glycosyl transferase and proce. using it». US Brevetto 6 184 001, 2001.
- [22] R. N. Ammeraal, «Proc. for prod. and separ. cyclodex.». US Brevetto 4 738 923, 1988.
- [23] A. Hedges, «Cyclodex.: Prod., prop., and applic.,» in *Starch Hydrol. products*, New York, VCH, 1992, pp. 319-333.
- [24] G. Schmid, «Prep. and indus. prod. of cyclodex.,» in *Comprehensive supreamoecular chem., vol 3*, Oxford, Pergamon, 1996, pp. 41-56.
- [25] B. Cheirsilp e J. Rakmai, «Inclusion comp. format. of cyclodex with its guest and theri appl.,» *Biol., Engine. and Med.*, vol. 2, pp. 1-6, 2016.
- [26] S. Das, S. Nath, T. Singh e N. Chattopadhyay, «Cav. size depen. stoich. of probe-cyclodex. complex.: experim. and molec. docking demons.,» *Journ. of Photochem. and Photobio. A: Chem.*, vol. 388, 2020.
- [27] J. Silva, J. de Oliveira Pinheiro, C. Moreira, F. de Souza e A. de Lima, «Altern. Techno. to improve Solub. and Stabi. of Poorly Water-Soluble Drugs,» in *Multifunctional Syst. for Comb. Delivery, Biosensing and Diagnostic*, Elsevier, 2017, pp. 281-305.
- [28] G. Wadhwa, S. Kumar, L. Chhabra, S. Mahant e R. Rao, «Essent. oil-cyclodex. complexes: and upd. review,» *Jou. of Incl. Phenom. and Macrocyc. Chem.*, vol. 89, pp. 39-58, 2017.
- [29] M. Banchemo, «Supercrit. Carb. Diox. as Green Altern. to Achieve Drug Complexa. with Cyclodex.,» *Pharmaceuticals*, vol. 14, n. 562, 2021.
- [30] H. Nerome, S. Machmudah, Wahyudiono, R. Fukuzato, T. Higashiura, Y. Youn, Y. Lee e M. Goto, «Nanopart. form. of lycopene/b-CD inclusion complex using supercriti. antisolvent precipit.,» *The Jou. of supercri. fluids*, vol. 83, pp. 97-103, 2013.
- [31] Khushbu e R. Jindal, «Cyclodex. mediated control. release of edaravone from pH-respon. sodium alginate and chitosan based nanocom.,» *Intern. Jou. of Biologic. Macromol.*, vol. 202, pp. 11-25, 2022.
- [32] H. P. Sanchez, L. Miranda, L. Guardiola, S. Martinez, J. Gabaldon e N. Delicado, «Optimiz. of a method for prepa. solid complexes of essent. clove oil witch beta-cyclodex.,» *Jou. of the Scien. of Food and Agricul.*, vol. 97, pp. 420-426, 2017.
- [33] A. Watson, J. Lea e K. Garber, «Spray srying of pomegrate joice using maltodex./cyclodex. blends ad the wall material,» *Food Science and Nutrition*, vol. 5, pp. 820-826, 2017.

- [34] Y. Liu, Y. Chen, X. Gao, J. Fu e L. Hu, «Applic. of cyclodex. in food indus.,» *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, pp. 1-15, 2020.
- [35] M. Kfoury, D. Landy e S. Fourmentin, «Charact. of Cyclodex./Volatile Inclus. Complexes: A Review,» *Molecules*, vol. 23, n. 1204, 2018.
- [36] E. Santos, A. Kamimura, L. Hill e C. Gomes, «Charact. of carvacol beta-cyclodex inclus. complex as delivery syst. for antibact. and antiox. applica.,» *LWT - Food Science and Techn.*, vol. 60, n. 1, pp. 583-592, 2015.
- [37] S. Hazra e G. S. Kumar, «Physioche. propr. of incl. compl. of sanguin. with natu. cyclodex.: spectr., calorim. and NMR stud.,» *RSC advances*, vol. 5, n. 3, pp. 1873-1882, 2015.
- [38] J. Pitha, J. Milecki, H. Fales, L. Pannell e K. Uekama, «Hydroxypropyl cyclodex.: prepar. and charact.; effects on solub. of drugs,» *Intern. Jou. of Pharmac.*, vol. 29, pp. 73-82, 1986.
- [39] S. Gould e R. C. Scott, «2-Hydroxypropyl-b-cyclodextrin (HP-b-CD): A toxico. review,» *Food and Chem. Toxicol.*, vol. 43, p. 1451–1459, 2005.
- [40] Y. Cui, C. Wang, J. Mao e Y. Yu, «A facile and practical approach to randomly methylated β -cyclodextrin,» *Jou. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 85, p. 248–251, 2010.
- [41] D. Ma, Y. M. Zhang e J. N. Xu, «The synthesis and process optimization of sulfobutyl ether β -cyclodextrin derivatives,» *Tetrahedron*, vol. 72, pp. 3105-3112, 2016.
- [42] Z. E. Pápay, Z. Sebestyén, K. Ludányi, N. Kállai, E. Balogh, A. Kósa, S. Somavarapu e B. Böddi, «Comparative evaluation of the effect of cyclodex. and pH on aque. solubility of apigenin,» *Jou. of Pharma. and Biomed. Analysis*, vol. 117, pp. 210-216, 2016.
- [43] E. N. Faikoh, Y. Hong e S. Hu, «Liposome-encaps cinnamadehyde enhances zebrafish imm. and surv. when challenged with *Vibro vulvificus* and *Strep. agalac*,» *Fish & Shellfish Immunology*, vol. 38, pp. 15-24, 2014.
- [44] S. Neethirajan e D. Jayas, «Nanotechnology for food and bioproc. indus.,» *Food Bioprocess Technology*, vol. 4, pp. 39-47, 2011.
- [45] L. Lin, H. Y. Cui, H. Zhou, X. J. Zhang, L. Liu e M. L. Chen, «Nano-liposomes conaining eucalyptus citriodora antibiotics for specific antimicrobial activity,» *Chemical Communications*, n. 51, pp. 2653-2655, 2015.
- [46] L. Lin, Y. Dai e C. H., «Antibact. polyethyleneoxide electrospun nanofib. conaining cinnamon essenil oil/beta-CD proeolipos.,» *Carbohy Polymers*, pp. 131-140, 2017.
- [47] Y. Youxin, H. Ren, S. Zhu, H. Tan, X. Li, D. Li e C. Mu, «Synth. of oxidized B-CD with high aqueous solub. and broad-spec. antimicrob. activity,» *Carbohydrate Polym.*, vol. 177, pp. 97-104, 2017.
- [48] L. Alonso, P. Cuesta, J. Fontecha, M. Juarez e S. Gilliland, «Use of Beta-CD to decrease he level of cholesterol in milk fat.,» *J. Dairy Sci.*, vol. 3, n. 92, pp. 863-869, 2009.
- [49] L. Alonso, M. Calvo e J. Fontecha, «Scale-up process for the manufacture of reduce-choleserol buer using beta-CD,» *J Food Process Eng.*, n. 42, 2019.

- [50] R. Yoruk e M. Marshall, *J. Food Biochem.*, n. 27, pp. 361-422, 2003.
- [51] J. Lòpez, A. Andreu, A. Carbonell e F. Garcìa, «Eff. of Add. of A-CD on the sensory qual., volatile comp, and color parameters of fresh pear juice,» *J. of Agri and food Chem.*, vol. 57, n. 20, pp. 9668-75, 2009.
- [52] V. Marcolino, G. Zanin, L. Durrant, M. Benassi e G. Matioli, «Interac. of curcum. and bixin with b-CD: Comlex. method, stability and appl. in food.,» *J. of Agricultural and Food Chem.*, vol. 7, n. 59, pp. 3348-3357, 2011.
- [53] N. de Lima Petito, D. da Silva Dias, V. C. Goncalves, D. Falcao e A. K.G.L., «Increas. solub. of red bell peppers caroenoids by complexa. with 2-HP-b-CD.,» *Food Chem.*, n. 208, pp. 124-131, 2016.
- [54] C. Yuan, C. Cheng e B. Cui, «Pickering Emulsions Stabilized by CD Nanopart.: A Rev.,» *Starch-Starke*, vol. 73, 2021.
- [55] S. Geng, X. Liu, H. Ma, B. Liu e G. Liang, *Food Chem.*, vol. 355, 2021.
- [56] M. Jug, B. Yoon e J. Jackman, «CD-based Pickering emulsions: functional proprieties and drug delivery app.,» *J. Incl Macrocycl. Chem.*, vol. 101, pp. 31-50, 2021.
- [57] E. Loffredi e C. Alamprese, «Optimisation of a blend of emulsif. substitutes for clean-label artisanal ice cream,» *LWT*, vol. 173, 2023.
- [58] R. Franzini, A. Ciogli, F. Gasparri, O. H. Isamil e C. Villani, «Recent Developments in Chiral Separations by Supercritical Fluid Chromatography,» in *Chiral Analysis*, Elsevier B.V., 2018, pp. 607-626.
- [59] L. Song, Y. Sang, L. Cai, Y. C. F. S. Shi e B. R.H., «the effect of cooking on the antibacterial activity of the dialdehyde starch suspensions.,» *Starch Starke*, vol. 9, n. 62, pp. 458-466, 2010.