

SCUOLA DI SCIENZE

Dipartimento di Chimica Industriale "Toso Montanari"

Corso di Laurea Magistrale in

## **Chimica Industriale**

Classe LM-71 - Scienze e Tecnologie della Chimica Industriale

# Microincapsulazione di nanoparticelle di argento tramite tecnica spray-freeze-drying

Tesi di laurea sperimentale

### **CANDIDATO**

Lorenzo Preti

### **RELATORE**

**Chiar.ma Prof.ssa** Maria Cristina Cassani

### **CORRELATORE**

**Dott.ssa** Anna Luisa Costa

**Dott.ssa** Magda Blosi

**Dott.ssa** Simona Ortelli

Sessione III

---

**Anno Accademico 2014-2015**

---



## INDICE

<b>1 – Introduzione</b>	1
1.1 Nanomateriali	2
1.2 Metodi di Sintesi di Nanoparticelle Inorganiche	2
1.3 Nanoparticelle d’Argento (Ag-NPs)	6
1.3.1 Metodi Chimici	6
1.3.2 Metodi Fisici	8
1.3.3 Applicazioni Ag-NPs	10
1.3.4 Tossicità delle Ag-NPs	14
1.4 Microincapsulati	15
1.5 Tecniche di Produzione di Microincapsulati	21
1.5.1 Spray-Drying	22
1.5.2 Spray-Chilling & Spray-Cooling	23
1.5.3 Spray-Freeze-Drying	24
1.5.4 Fluidized Bed Coating	25
1.5.5 Estrusione	26
1.5.6 Coacervazione	26
1.5.7 Intrappolamento liposomiale	27
1.5.8 Centrifugal Suspension Separation	27
1.6 Scopo della Tesi	27
<b>2 - Microcapsule di Silice Contendenti Nanoparticelle di Argento</b>	32
2.1 Risultati e discussione	33
2.1.1 Sintesi e caratterizzazione di Ag-NPs	33
2.1.2 Sintesi e Caratterizzazione della matrice di SiO <sub>2</sub>	34
2.1.3 Sintesi e Caratterizzazione di Microcapsule SiO <sub>2</sub> {Ag-NPs}	40
2.2 Conclusioni	46
2.3 Parte Sperimentale	47
2.3.1 Materiali e Strumentazione	47
2.3.2 Preparazione di Ag-NPs rivestite da PVP	48
2.3.3 Preparazione della miscela di SiCAg-P	48
2.3.4 Processo di Spray-Freeze-Drying	49

<b>3 – Microcapsule di Amido Contenenti Nanoparticelle di Argento</b> .....	52
3.1 Risultati e Discussioni.....	53
3.1.1 Studio Preliminare sulla Gelatinizzazione dell'Amido.....	53
3.1.2 Sintesi e Caratterizzazione della matrice d'amido.....	55
3.1.3 Sintesi e Caratterizzazione di Microcapsule Amido{Ag-NPs}.....	59
3.2 Conclusioni.....	70
3.3 Parte sperimentale.....	72
3.3.1 Materiali e Strumentazione.....	72
3.3.2 Preparazione di Microcapsule Amido{Ag-NPs}.....	73
<b>4 – Conclusioni &amp; Sviluppi Futuri</b> .....	75
4.1 – Conclusioni.....	75
4.2 – Sviluppi Futuri.....	76





## 1 - INTRODUZIONE

In tutti i più recenti documenti, volti all'identificazione di linee guida strategiche di sviluppo tramite la ricerca e l'innovazione, sia a livello dei singoli paesi (U.S.A., U.K., Italia, Francia, Germania e Giappone) sia a livello dell'Unione Europea, per il raggiungimento di obiettivi scientifici a medio-lungo termine, nei settori di maggior impatto sulla moderna società (salute, ambiente, mobilità, informazione e comunicazione, alimentazione, sicurezza e difesa) si rileva come il passaggio dalle tradizionali tecnologie alle nuove tecnologie ad alta efficienza (enabling technologies) richieda una progettazione mirata e sempre più specifica delle componenti, in genere a base molecolare, che caratterizzano le funzionalità necessarie per sviluppare nuovi prodotti o nuovi servizi (multifunctional materials). Ne consegue che la possibilità di progettare e realizzare ab initio materiali e prodotti dotati di proprietà funzionali migliorate o nuove, rappresenta l'obiettivo di partenza dell'attuale rivoluzione scientifica e tecnologica, per esempio nel settore delle scienze emergenti come le nanoscienze e la biologia molecolare. Dato che le peculiari funzionalità sono correlate alla struttura chimico-fisica dei blocchi di base e cioè le molecole o nel caso delle nanoscienze le nanofasi disperse, la capacità di progettare e manipolare architetture molecolari sempre più complesse e i relativi sistemi organizzati, mirata al controllo "ingegneristico" delle relazioni struttura/funzione, rappresenta uno strumento di importanza strategica ed incomparabile valore. In particolare quello che si richiede alle nuove tecnologie è proprio quello di consentire un passaggio di scala da quella molecolare a quella macroscopica, al fine di progettare e realizzare materiali multifunzionali di interesse tecnologico. Da questo punto di vista la *chimica sol-gel* che consente la sintesi di nanofasi inorganiche (carrier o building blocks) a partire da precursori molecolari e la *chimica dei colloidi* che consente di rivestire con molecole bersaglio di interesse per l'applicazione la fase inorganica (funzionalizzazione), nonché di promuovere e controllare l'aggregazione dei sistemi creati (Ingegnerizzazione), si rivelano strumenti indispensabili per effettuare il primo fondamentale passaggio di scala da quella molecolare/nano a quella micrometrica.<sup>[1]</sup>

## 1.1 Nanomateriali

La nanoscienza si occupa di materiali e strumenti le cui strutture e componenti mostrano nuove proprietà fisiche, chimiche e biologiche, rispetto a molecole isolate ( $10 \text{ \AA}$ ) o bulk ( $>0.1 \text{ \mu m}$ ) dello stesso materiale, a causa delle loro dimensioni in scala nanometrica. La nanoscienza si occupa quindi di materiali in cui almeno una delle loro dimensioni (altezza, larghezza, spessore) rientra nella scala tra 1 e 100 nanometri. Lo scopo della nanoscienza è conoscere le nuove proprietà e i nuovi fenomeni dell'entità nano.<sup>[2]</sup>

Due sono, in concreto, gli effetti che rendono uniche le proprietà dei nanomateriali:

- il *size-effect*, legato alle dimensioni, inferiori o prossime a quelle di molti fenomeni fisici (lunghezza d'onda della luce UV-VIS, energia del band-gap nei semiconduttori);
- il *surface-effect* legato alla preponderante porzione di atomi (o molecole) superficiali.

Il *size-effect* genera nei materiali proprietà nuove rispetto a quelle dei materiali macroscopici e strettamente dipendenti dalla loro nanostruttura (dimensioni e forma). Il *surface-effect* si traduce in un drastico incremento della reattività che deriva dall'elevatissima energia superficiale. Oggi sappiamo, infatti, che non è possibile trasformare la natura chimica degli atomi, ma, con le nanotecnologie, è possibile trasformare la materia per farla funzionare in modi nuovi e utili, con risvolti economicamente più interessanti.<sup>[3]</sup>

## 1.2 Metodi di Sintesi di Nanoparticelle Inorganiche

Le sintesi di nanoparticelle metalliche possono essere raggruppate in due categorie: *top-down* dove il materiale bulk viene scomposto fino ad ottenere un materiale delle dimensioni desiderate e *bottom-up* dove invece si promuove l'aggregazione di atomi e molecole fino ad arrivare a un materiale con le dimensioni desiderate (fig. 1.1). Nei metodi *top-down*, viene effettuata una evaporazione o ablazione laser del materiale bulk per ottenere nanoparticelle, mentre la riduzione di ioni metallici ad atomi neutri, seguita dall'aggregazione degli atomi a formare delle particelle, è una strategia comune nei metodi *bottom-up*. La riduzione può essere semplicemente di tipo chimico oppure fotochimico, sonochimico, elettrochimico o tramite irraggiamento.



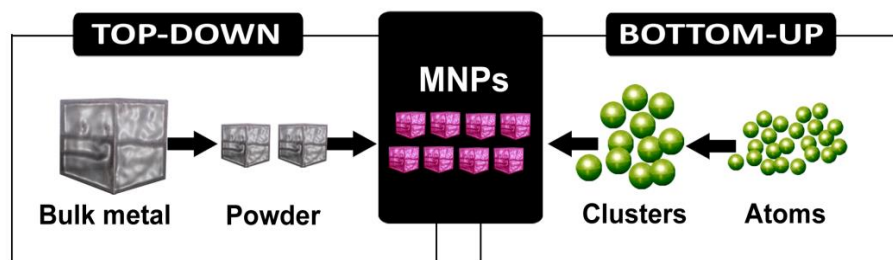


Figura 1.1 - Schema dei metodi Top-Down e Bottom-Up per la sintesi di nanoparticelle.

In generale, i metodi *bottom-up* hanno il vantaggio significativo di poter controllare la strutture primarie delle nanoparticelle, come la dimensione, la forma e la composizione. Il metodo *bottom-up* generalmente coinvolge due processi in soluzione, la formazione di atomi di metallo dalla riduzione di ioni metallici o complessi dei metalli (*nucleazione*) e l'accrescimento delle nanoparticelle dovuto all'aggregazione degli atomi di metallo (*crescita*). Bisogna cercare di evitare una terza fase che è la *coagulazione*, dove le particelle (stabili solo dal punto di vista cinetico) tendono ad aggregarsi per riformare il materiale bulk, in quanto termodinamicamente favorito. Al fine di controllare la forma e le dimensioni delle nanoparticelle inorganiche, la scelta delle condizioni di reazione, specialmente la selezione dello stabilizzatore, è molto importante.<sup>[4]</sup>

Il principio di stabilizzazione delle nanoparticelle è lo stesso di quello dei colloidali, ben spiegato dalla teoria DLVO (Derjaguin & Landau, Verwey & Overbeek). La teoria spiega l'aggregazione di dispersioni acquose quantitativamente e descrive la forza tra superfici cariche che interagiscono attraverso un mezzo liquido. Essa combina gli effetti dell'attrazione di van der Waals e della repulsione elettrostatica causata del cosiddetto doppio strato di controioni. L'energia potenziale totale viene descritta come la somma del potenziale d'attrazione e il potenziale di repulsione. Quando due particelle si avvicinano l'una all'altra, la repulsione elettrostatica aumenta perchè aumenta l'interferenza tra i loro doppi strati elettrici, l'energia potenziale associata a queste forze è positiva. Nel frattempo le forze di attrazione di Van der Waals aumentano mano a mano che le particelle si avvicinano, al contrario dell'altra questa energia potenziale è negativa. La somma delle due energie potenziali porta a un'energia potenziale totale che può essere positiva a seconda della distanza a cui si trovano le due particelle. Si può disegnare un grafico in cui si mettono in correlazione la distanza tra le due particelle con l'energia potenziale totale (fig. 1.2). A distanze brevi, siccome prevalgono le forze di attrazione, l'energia potenziale presenta nel grafico un minimo primario che indica

un'agglomerazione irreversibile chiamata coalascenza. A distanze maggiori il profilo energetico passa attraverso una barriera di energia (energia potenziale totale massima), e successivamente passa attraverso un minimo, che viene indicato come il minimo secondario dove si ha un'aggregazione reversibile nota come flocculazione. Nel punto di massima energia potenziale, la repulsione è maggiore dell'attrazione. Le particelle rimbalzano dopo essere entrate in contatto, e rimangono disperse in tutto il mezzo. L'energia massima deve essere maggiore dell'energia termica. Altrimenti, le particelle si aggregano a causa del potenziale d'attrazione. L'altezza dell'energia termica indica quanto il sistema sia stabile. Poiché le particelle devono superare questa barriera per aggregarsi, due particelle in rotta di collisione devono avere sufficiente energia cinetica per aggregarsi. Una dispersione infatti si può definire stabile solo dal punto di vista cinetico ma non da quello termodinamico.

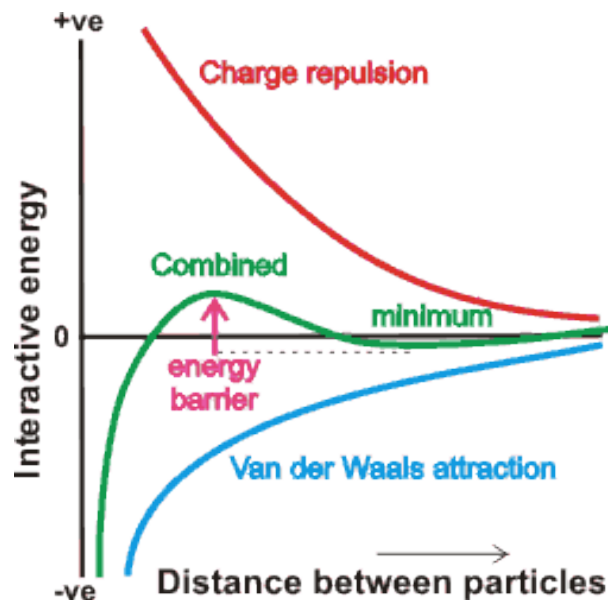


Figura 1.2 – Grafico della teoria DLVO.

Siccome sono sempre presenti delle forze intermolecolari di attrazione tra due particelle colloidali simili, è necessario fornire una forza di repulsione tra le particelle che porti alla stabilità del sistema colloidale. La stabilità può essere ottenuta circondando le particelle colloidali:

- con un doppio strato elettrico (stabilizzazione elettrostatica);
- con molecole polimeriche assorbite o attaccate chimicamente (stabilizzazione sterica) (fig 1.3).

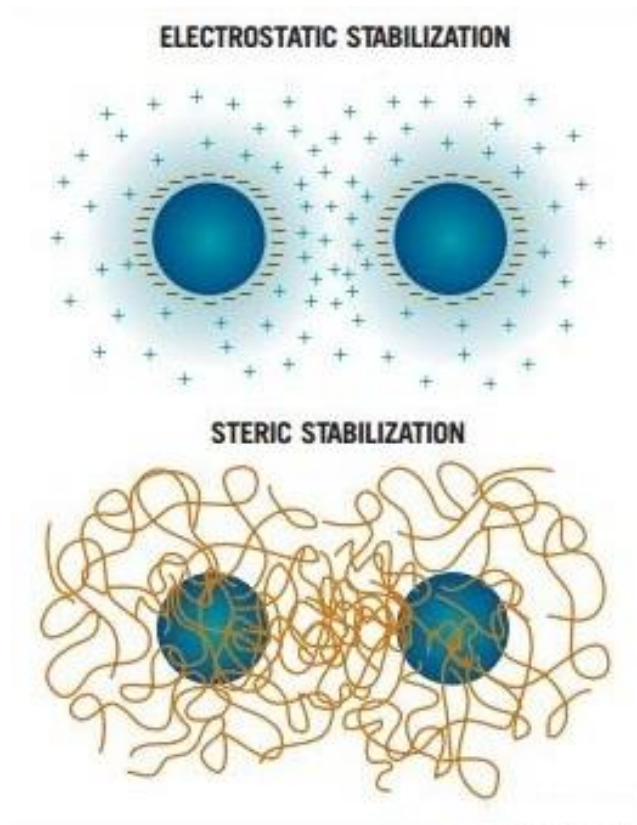


Figura 1.3 – I due metodi di stabilizzazione.

Un metodo efficace per controbilanciare le attrazioni VdW tra particelle colloidali in un liquido polare è fornire alle particelle una repulsione coulombica. In un mezzo di dispersione liquido, gruppi ionici possono essere adsorbiti dalla superficie della particella colloidale attraverso diversi meccanismi, per formare uno strato carico. Per mantenere l'elettro-neutralità, un numero uguale di controioni con carica opposta avvolgono le particelle colloidali e danno luogo a doppi strati di carica complessiva neutra. Nella stabilizzazione elettrostatica, è la repulsione reciproca di questi doppi strati circostanti la particella che portano alla stabilità del sistema disperso (fig. 1.3).<sup>[5]</sup>

Per far sì che le particelle non si aggregino si possono usare anche degli stabilizzanti sterici (solitamente polimeri), che formino delle catene sulla superficie della particella. Queste catene impediscono alla particella di avvicinarsi fino all'intervallo in cui agiscono le forze attrattive. Alla base della stabilizzazione sterica c'è la repulsione entropica: quando le catene entrano in contatto tra loro, le particelle si avvicinano provocando una riduzione della mobilità e causando conseguentemente una diminuzione dell'entropia. Pertanto le catene rimangono separate, permettendo la stabilizzazione del sistema. I due meccanismi possono essere combinati insieme nella cosiddetta repulsione elettro-sterica.<sup>[6]</sup>

### 1.3 Nanoparticelle d'Argento (Ag-NPs)

Esistono diversi metodi per la sintesi di Ag-NPs che sfruttano tecniche chimiche, fisiche, fotochimiche e biologiche. Ogni metodo ha dei vantaggi e degli svantaggi e problemi comuni come i costi, la scalabilità, la dimensione delle particelle e la distribuzione dimensionale.<sup>[7]</sup>

#### 1.3.1 Metodi Chimici

La *riduzione chimica* è il metodo più usato per la preparazione di Ag-NPs in acqua o in un solvente organico come dispersione colloidale stabile. I riducenti più comunemente usati sono il sodio boroidruro, il sodio citrato, il sodio ascorbato e l'idrogeno elementare. La riduzione di ioni argento (ottenuti generalmente da  $\text{AgNO}_3$ ) in una soluzione acquosa, produce argento colloidale con particelle aventi diametro di diversi nanometri (5-80 nm a seconda del riducente usato). Inizialmente, la riduzione di vari complessi con ioni  $\text{Ag}^+$  porta alla formazione di atomi di argento metallico ( $\text{Ag}^0$ ), che tendono ad agglomerarsi in cluster oligomerici che successivamente portano alla formazione di particelle di argento colloidale.

Alcuni studi hanno dimostrato che l'uso di un riducente forte come il  $\text{NaBH}_4$ , provoca la formazione di piccole particelle monodisperse (5-15 nm) e la formazione di particelle più grandi risulta più difficile da controllare. L'uso di un riducente debole come il sodio citrato, porta a una riduzione più lenta, ma con una distribuzione delle dimensioni tutt'altro che ristretta (10-70 nm contro un intervallo 5-15 delle particelle ottenute utilizzando  $\text{NaBH}_4$ ) (fig. 1.4).

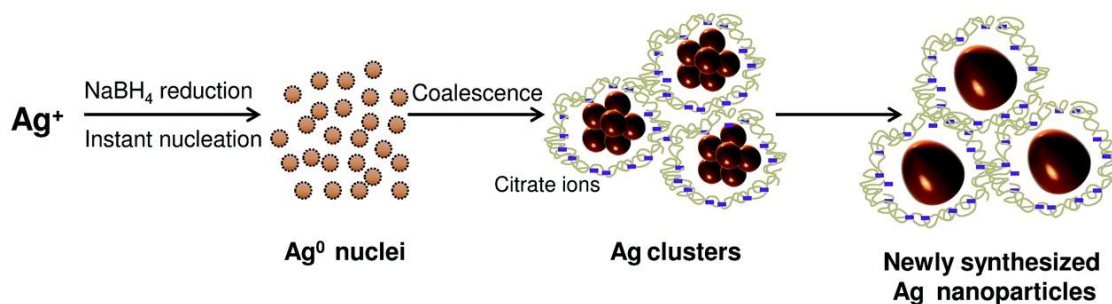


Figura 1.4 – Sintesi per riduzione chimica di Ag-NPs.

È importante l'uso di un agente protettivo per stabilizzare la dispersione di nanoparticelle durante la preparazione di nanoparticelle metalliche. Alcuni riducenti possono fare anche da stabilizzanti come nel caso proprio del  $\text{NaBH}_4$  o del sodio citrato. Altrimenti, la strategia più usata è proteggere le particelle con agenti protettivi che

possono essere adsorbiti sulla superficie delle nanoparticelle, evitando una loro agglomerazione. Tra gli agenti protettivi più usati ci sono alcuni polimeri come il polivinilpirrolidone (PVP), glicole polietilenico (PEG), acido polimetacrilico (PMAA), polimetilmetacrilato (PMMA) e altri. I rapporti tra il riducente, il precursore metallico e l'agente stabilizzante influenzano le dimensioni e la distribuzione granulometrica delle nanoparticelle.

Le Ag-NPs possono essere preparate anche all'interno di una *micro-emulsione* (fig. 1.5). Una soluzione acquosa di  $\text{AgNO}_3$  viene addizionata a una soluzione di toluene contenente un trasferitore di fase (sali quaternari di alchilammonio). Si forma quindi un sistema a due fasi, a cui viene aggiunto uno stabilizzante (1-dodecantiolo). Altrimenti in assenza dello stabilizzante, il trasportatore di fase, può ricoprire anche il ruolo di stabilizzante. Infine si aggiunge  $\text{NaBH}_4$  come agente riducente. L'interazione tra il precursore metallico e l'agente riducente è controllata dall'interfaccia tra i due liquidi e dall'intensità del trasferimento di fase tra la fase acquosa e quella organica, che è mediata da sali quaternari di alchilammonio. Le Ag-NPs formate all'interfase, vengono ricoperte con le molecole di stabilizzante, e trasferite alla fase organica tramite il trasferitore di fase.

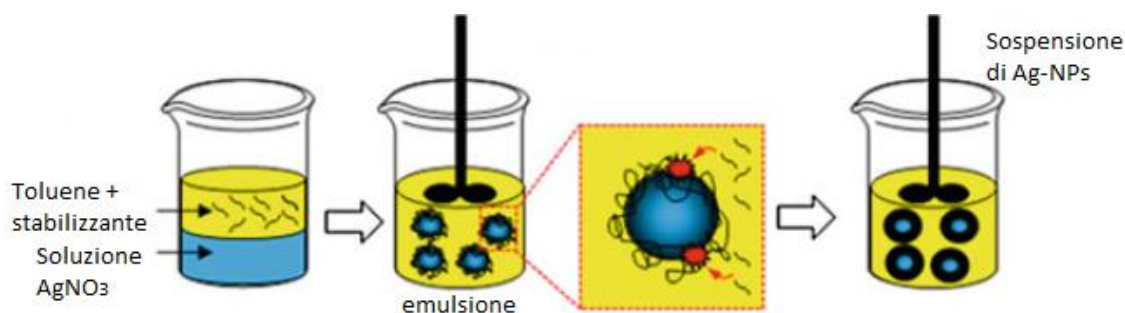


Figura 1.5 – Sintesi di Ag-NPs tramite micro-emulsione.

Questo metodo permette la preparazione di nanoparticelle uniformi e di dimensioni controllabili. Tuttavia, un solvente organico altamente deleterio come il toluene è impiegato in questo metodo. Perciò grosse quantità di surfattanti e solventi organici che, che vengono aggiunti al sistema, devono essere separati e rimossi dal prodotto finale. Come risultato, il costo per fabbricare Ag-NPs con questo metodo è elevato. D'altro canto, i vantaggi di formare particelle già disperse in un mezzo organico vengono riconosciuti da lavoratori in diversi campi. Per esempio, nanoparticelle colloidali per inchiostri conduttivi sono ben disperse in un solvente organico non volatile, per essere pronte a bagnare la superficie del substrato polimerico senza alcuna agglomerazione. I

vantaggi sono anche nell'impiego di nanoparticelle metalliche come catalizzatori di reazioni organiche, che avvengono in solventi non polari.<sup>[8]</sup>

La *fotoriduzione con UV* è un metodo semplice e efficace per produrre Au-NPs e Ag-NPs in presenza di citrato, PVP, PAA e collagene. Huang e Yang hanno sintetizzato Ag-NPs tramite fotoriduzione di AgNO<sub>3</sub> in una sospensione inorganica di strati di silice (laponite), che serve come agente stabilizzante per evitare l'aggregazione delle NPs. Le proprietà delle Ag-NPs sono state studiate in funzione del tempo di irraggiamento UV. Con un irraggiamento UV di 3 ore è stata ottenuta una distribuzione granulometrica bimodale. Con un ulteriore irraggiamento le Ag-NPs sono state frantumate in pezzi più piccoli, ottenendo particelle monodisperse.<sup>[9]</sup>

Recentemente, *metodi biosintetici* che impiegano riducenti naturali come i polisaccaridi, microorganismi biologici (batteri, funghi o estratti di piante), cioè "green chemistry", sono emersi come alternative semplici alle più complesse sintesi chimiche per l'ottenimento di Ag-NPs.<sup>[10]</sup>

### 1.3.2 Metodi Fisici

Nei processi fisici, le nanoparticelle d'argento sono generalmente sintetizzate tramite *evaporazione-condensazione* di argento metallico, che può essere effettuata usando un forno tubolare a pressione atmosferica. Il materiale di partenza (Ag metallico) al centro del forno viene vaporizzato in un carrier gas (fig. 1.6).

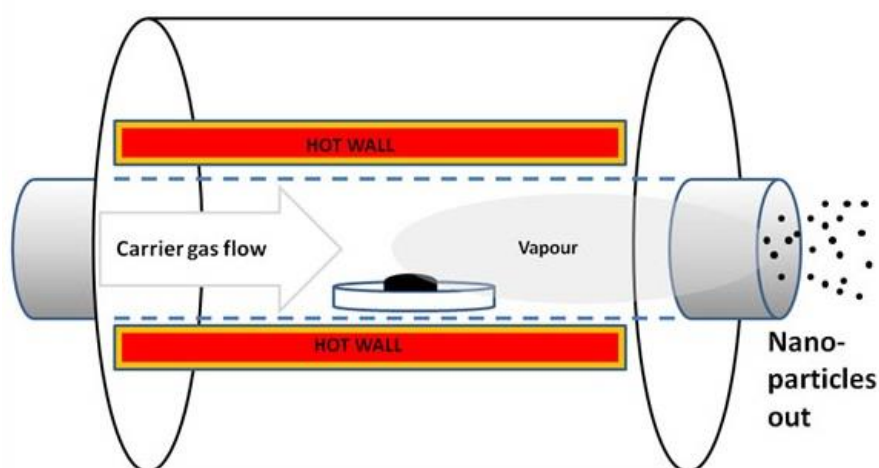


Figura 1.6 – Sintesi di Ag-NPs con forno tubolare.

Tuttavia, la generazione di Ag-NPs tramite un forno tubolare presenta alcuni svantaggi, perché un forno tubolare occupa molto spazio, consuma una gran quantità di energia per innalzare la temperatura ambientale attorno al materiale di partenza, e richiede tempi

lunghi per raggiungere una stabilità termica.<sup>[7]</sup> Jung et al. hanno sintetizzato delle Ag-NPs tramite una piccola stufa di ceramica che ha una zona di riscaldamento locale. Poiché il gradiente di temperatura (rispetto a quello del forno tubolare) è molto ripido in prossimità della superficie scaldata, il vapore evaporato può raffreddarsi velocemente. Questo rende possibile la sintesi di piccole nanoparticelle in alte concentrazioni.<sup>[9]</sup>

Un metodo di *decomposizione termica* è stato sviluppato per sintetizzare Ag-NPs in forma di polvere. Le Ag-NPs sono state formate dalla decomposizione di un complesso Ag<sup>+</sup>-oleato, che viene preparato da una reazione di AgNO<sub>3</sub> e oleato di sodio in una soluzione acquosa, alla temperatura di 290°C.<sup>[11]</sup>

Tien et al. hanno usato il metodo dell'*arco elettrico* senza aggiungere surfattanti. In questa sintesi, dei fili d'argento (99,99%, diametro 1 mm) sono stati sommersi in acqua deionizzata e usati come elettrodi. I risultati dell'esperimento riportano una sospensione di Ag-NPs fabbricata tramite il metodo dell'arco elettrico senza surfattanti aggiunti contenente Ag-NPs e ioni metallici.<sup>[12]</sup>

Inoltre, Ag-NPs sono state sintetizzate tramite *ablazione laser* di argento metallico bulk in soluzione (fig. 1.7). Le caratteristiche delle particelle metalliche formate e l'efficienza dell'ablazione dipendono da molti parametri quali la lunghezza d'onda del laser che colpisce il bulk, la durata degli impulsi laser, la fluenza del laser (definita dal rapporto tra l'energia emessa al secondo e l'area di tessuto esposto), la durata dell'ablazione, il mezzo liquido impiegato e la presenza o meno di surfattanti. Il diametro medio delle particelle generalmente cresce all'aumentare della fluenza del laser.

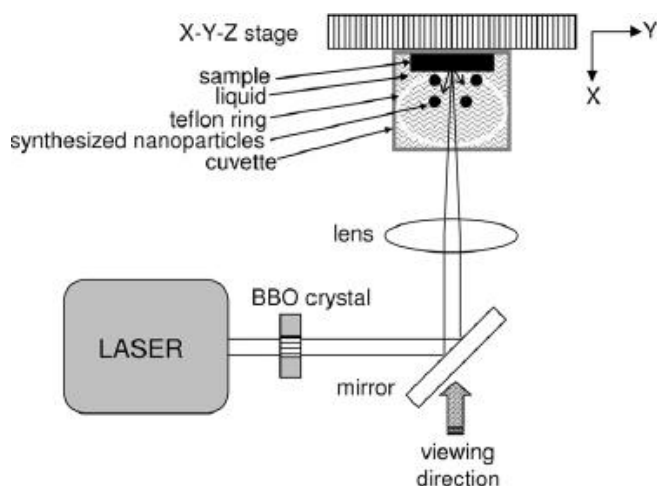


Figura 1.7 – Sintesi di Ag-NPs tramite ablazione laser.

Per lunghi tempi di irraggiamento la concentrazione delle particelle metalliche dovrebbe aumentare, ma può saturarsi per via dell'assorbimento della luce da parte del colloide che

presenta un'alta concentrazione di particelle metalliche. Inoltre le nanoparticelle possono essere ulteriormente modificate dall'interazione con il laser che gli passa attraverso. La formazione di nanoparticelle tramite ablazione viene terminata dal coating con surfattante. Le nanoparticelle formate in una soluzione con un'alta concentrazione di surfattanti sono più piccole rispetto a quelle formate in una soluzione con una bassa concentrazione di surfattanti. Un vantaggio dell'ablazione laser comparata con le altre tecniche convenzionali per la preparazione di NPs è l'assenza di reagenti chimici in soluzione, però questa tecnica presenta costi elevatissimi.<sup>[8]</sup>

In breve, i processi di sintesi fisici di Ag-NPs utilizzano solitamente energie fisiche (termiche, arco elettrico, ablazione laser) per produrre Ag-NPs con distribuzioni granulometriche molto ristrette. Gli approcci fisici possono permettere la produzione di grandi quantità di campioni Ag-NPs in un singolo processo. Questo è anche il metodo più usato per la produzione di polveri di Ag-NPs. Tuttavia, i costi primari di investimento dell'attrezzatura devono essere considerati.<sup>[7]</sup>

### 1.3.3 Applicazioni Ag-NPs

Le nanoparticelle d'argento, per via delle loro proprietà uniche, trovano uso in molti oggetti di uso quotidiano. Alcuni esempi sono la loro addizione in prodotti chimici per la pulizia della casa e dei tessuti, come rivestimenti antiriflesso, come catalizzatori, nei pannelli solari termici per migliorare il trasferimento di calore ai loro accumulatori termici, nella produzione di apparecchi elettronici ad elevate prestazioni (come ad esempio sensori nanoscalari con tempi di risposta velocissimi e con bassi limiti di rilevamento), e in centinaia di altre applicazioni (fig. 1.8).<sup>[8-13]</sup>

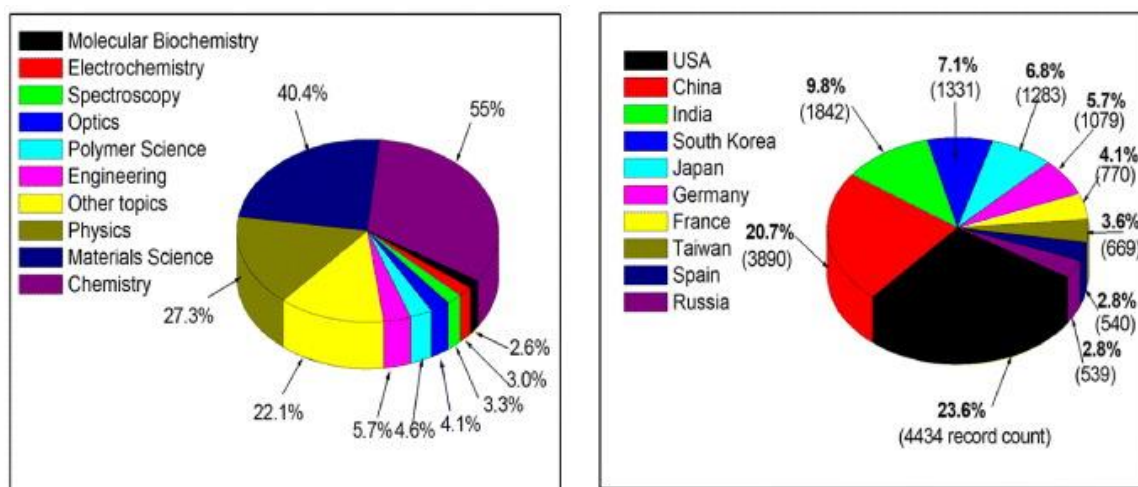


Figura 1.8 – Diagramma dei campi di ricerca e degli stati in percentuale in cui vengono usate le Ag-NPs.



Anche se tutte queste sono importanti applicazioni delle Ag-NPs, il loro maggior utilizzo è in campo medico. Per via delle loro dimensioni, le nanoparticelle possono penetrare il sistema circolatorio, fino addirittura a penetrare la barriera ematoencefalica (struttura funzionale interposta fra sangue e parenchima nervoso, che regola selettivamente il passaggio sanguigno di sostanze chimiche da e verso il cervello, proteggendo il sistema nervoso da avvelenamenti e intossicazioni) nel sistema umano.<sup>[13]</sup>

Le Ag-NPs si sono dimostrate un biocida efficace contro un ampio spettro di batteri, tra cui sia i gram-negativi che i gram-positivi, in cui ci sono molti ceppi batterici altamente patogeni. Si pensa che le Ag-NPs svolgano la loro azione antibatterica nei seguenti modi.

- Le nanoparticelle d'argento in acqua e all'interno di un organismo rilasciano ioni  $\text{Ag}^+$ . Gli ioni  $\text{Ag}^+$  sono acidi molto deboli ( $\text{pK}_a = 12$ ) e c'è una tendenza naturale degli acidi a reagire con le basi. Nelle membrane dei batteri sono presenti enzimi contenenti gruppi solfati (anioni debolmente basici), si pensa che gli ioni  $\text{Ag}^+$  interagiscono con questi gruppi solfato e in tal modo cambiano la morfologia della membrana, inibendo gli enzimi. Queste disattivazioni rendono la membrana più vulnerabile e più facilmente penetrabile dagli ioni  $\text{Ag}^+$ . All'interno della cellula, gli ioni  $\text{Ag}^+$  continuano a distruggere diverse parti della cellula, legandosi allo zolfo e al fosforo contenuti in gruppi di molecole che sono spesso locati nei siti attivi degli enzimi, portandoli quindi all'inibizione. Il DNA ha come maggior componenti lo zolfo e il fosforo, gli ioni  $\text{Ag}^+$  possono quindi agire su di essi, rendendo i batteri incapaci di replicarsi o di trascrivere l'mRNA per le nuove proteine. Tutto questo porta a un rallentamento della crescita dei batteri, fino a portarli alla morte (fig. 1.9);<sup>[13-14]</sup>

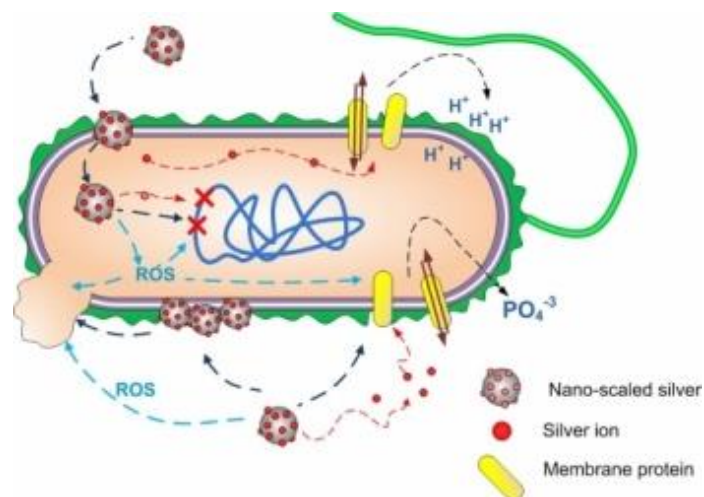


Fig 1.9 – Meccanismo d'azione antibatterico delle Ag-NPs.

- Le specie reattive dell'ossigeno molecolare sono sottoprodotti della respirazione cellulare degli organismi (fig. 1.10). Mentre bassi livelli possono essere controllati dalle difese antiossidanti delle cellule come il rapporto glutatione/glutazione-disolfuro (GSH/GSSG), una produzione eccessiva di ROS può portare a uno stress ossidativo. La generazione eccessiva di radicali liberi può condurre ad un attacco di quest'ultimi alla membrana lipidica, che porta ad un collasso di essa, a un possibile danneggiamento delle funzioni mitocondriali o causare il danneggiamento del DNA.

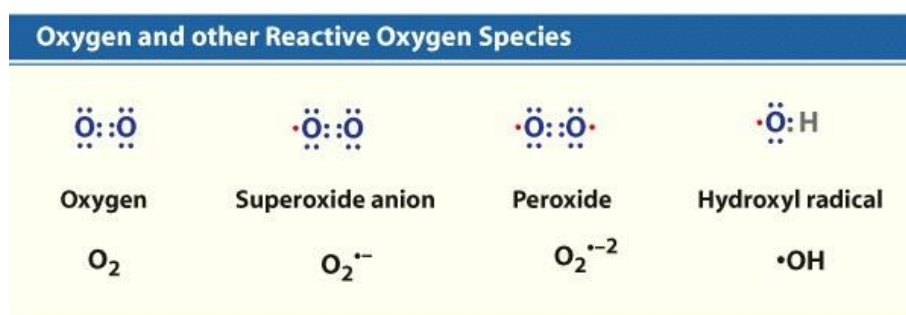
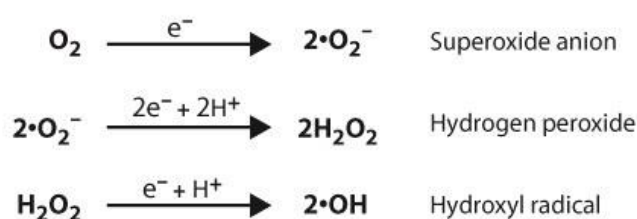


Figura 1.10 – Specie reattive dell'ossigeno (ROS).

I metalli possono comportarsi da catalizzatori e generare ROS in presenza di ossigeno disciolto. In questo contesto, le Ag-NPs possono catalizzare la reazione con l'ossigeno e portare alla produzione di radicali liberi in eccesso. Studi fatti su cellule eucariotiche suggeriscono che le Ag-NPs inibiscono le difese antiossidanti, interagendo direttamente con GSH, legandosi alla GSH ridotta o altri enzimi che agiscono sulla concentrazione di GSH. Questo può far diminuire il rapporto GSH/GSSG e, di conseguenza, aumentare le ROS nelle cellule. Gli ioni  $\text{Ag}^+$  che si liberano dalle Ag-NPs, possono essere inoltre responsabili della generazione dei ROS, agendo da accettori di elettroni. Nelle cellule batteriche, gli ioni  $\text{Ag}^+$  inducono la generazione di ROS, danneggiando gli enzimi della catena respiratoria, attraverso una diretta interazione con i gruppi tiolici di questi enzimi o con gli enzimi antagonisti dei superossidi come la superossido dismutasi.<sup>[15]</sup>

Grazie a questa funzione antibatterica e a funzioni antimicotiche e antivirali (ancora in fase di studio), le Ag-NPs vengono impiegate in filtri per la depurazione dell'aria, dell'acqua e per il trattamento di superfici come la carta da imballaggio per la conservazione degli alimenti. Vengono prodotte medicazioni contenenti Ag-NPs, che velocizzano il processo di guarigione e rimuovono le cicatrici nel caso ce ne siano. Le Ag-NPs sono efficaci perché tendono a distruggere i batteri che possono infettare la ferita. Le Ag-NPs vengono utilizzate in cementi ossei che sono usati come protesi articolari artificiali. Il polimetilmetacrilato caricato con Ag-NPs viene considerato come un cemento osseo in cui le Ag-NPs possono indurre un effetto antimicrobico. Il polietilene ad altissimo peso molecolare è il materiale preferito per la fabbricazione di protesi articolari artificiali, ma è suscettibile di usura che è un grave inconveniente. Per sormontare questo ostacolo, vengono aggiunte Ag-NPs che riducono l'usura del polimero. I metodi usati per la prevenzione di un'infezione chirurgica includono antibiotici e antisettici. Le maglie chirurgiche sono utilizzate per coprire le ferite e aiutare i tessuti a ripararsi. Anche se queste maglie sono efficaci. Sono suscettibili a infezioni da parte di microbi. Queste maglie possono venire ricoperte da Ag-NPs e sfruttare la loro azione antimicrobica. Molti strumenti medici come cateteri intravenosi, medicazioni, tubi endotracheali, cementi ossei e otturazioni dentali potrebbero essere ricoperti di Ag-NPs per prevenire le infezioni microbiche.

La natura antimicrobica delle Ag-NPs è la loro caratteristica più sfruttata in campo medico, anche se la natura antiinfiammatoria è anch'essa considerata molto utile in campo medico. Studi iniziali hanno suggerito che l'accelerata guarigione di una ferita in presenza delle Ag-NPs è dovuta alla riduzione locale della attività della metalloproteinasi della matrice (MMP) e all'incremento dell'apoptosi dei neutrofili all'interno della ferita. Una riduzione delle citochine pro-infiammatorie in presenza di Ag-NPs è stata dimostrata su un topo con ustioni. Inoltre è stato scoperto che le nanoparticelle d'argento possono inibire le attività dell'interferone gamma e del fattore di necrosi tumorale alfa, che sono entrambi coinvolti nell'infiammazione. Questi studi provano che le nanoparticelle d'argento hanno effetti anti-infiammatori ma il meccanismo di azione esatto deve ancora essere compreso. Gli effetti anti-infiammatori indotti dalle Ag-NPs tuttavia le candidano come ottime candidate come agenti anti-infiammatori utilizzabili in varie terapie.

Le Ag-NPs hanno anche la capacità di essere utilizzate in biosensori. Le proprietà plasmoniche delle Ag-NPs sono dovute alle loro dimensioni, forme e mezzi dielettrici

che le circondano. Le loro proprietà nel mezzo dielettrico possono essere sfruttate per renderle le candidate ideali per i biosensori. Biosensori di Ag-NPs possono effettivamente rilevare un gran numero di proteine che i normali biosensori faticano a individuare. Questo vantaggio unico delle Ag-NPs, può essere sfruttato per rilevare varie anomalie e malattie nel corpo umano, incluso il cancro. Le proprietà plasmoniche delle Ag-NPs le rendono anche un eccellente candidato per il bioimaging in quanto, contrariamente ai coloranti fluorescenti comunemente usati, non subiscono photobleaching e possono essere utilizzate per monitorare eventi dinamici per un periodo di tempo prolungato. La natura plasmonica delle Ag-NPs può essere anche usata per distruggere le cellule indesiderate. Le Ag-NPs possono coniugarsi alle cellule bersaglio e poi possono essere utilizzate per assorbire luce e trasformarla in energia. L'energia termica può portare all'ablazione termica della cellula bersaglio.<sup>[7-13]</sup>

#### **1.3.4 Tossicità delle Ag-NPs**

Esistono degli studi che suggeriscono che le Ag-NPs possono causare degli effetti negativi sia agli uomini che all'ambiente. Viene stimato che tonnellate di argento vengono rilasciate nell'ambiente da rifiuti industriali, e si pensa che la tossicità dell'argento nell'ambiente è dovuta maggiormente a ioni argento in fase acquosa. Gli effetti negativi di questi ioni argento liberi sugli umani e su tutti gli essere viventi includono una permanente colorazione grigio-bluastro della pelle e degli occhi (argiria), e l'esposizione a composti d'argento solubili possono produrre effetti tossici e portare al danneggiamento del fegato e dei reni; irritazione agli occhi, alla pelle, al tratto respiratorio e a quello intestinale; e delle sconvenienti modificazioni alle cellule del sangue.

Esistono dei report su come l'argento non riesca a distinguere tra diversi ceppi di batteri e quindi possa distruggere anche i microbi benefici per l'ecologia. Ci sono solo pochi studi condotti per valutare la tossicità delle Ag-NPs. In uno studio di un test di tossicità delle Ag-NPs *in vitro*, sulle cellule del fegato dei ratti, viene mostrato che anche un basso livello di esposizione alle Ag-NPs può portare a un'alterata funzione mitocondriale. Ci sono delle prove del fatto che gli ioni d'argento cambiano la permeabilità della membrana cellulare agli ioni potassio e sodio. In letteratura esistono studi che provano che le Ag-NPs possono indurre effetti tossici sulla proliferazione ed espressione di citochine da parte delle cellule mononucleate del sangue. Le Ag-NPs hanno mostrato gravi effetti tossici sull'apparato riproduttivo maschile. Ricerche hanno

mostrato che le Ag-NPs possono attraversare la barriera emato-testicolare e depositarsi sui testicoli dove attaccano le cellule spermatiche.

È stato provato che anche le medicazioni con Ag-NPs presenti sul mercato hanno effetti citotossici su vari modelli sperimentali. Studi *in vivo* sulla tossicità orale delle Ag-NPs sui ratti hanno indicato che l'organo bersaglio è il fegato. È stato anche trovato da studi istopatologici su animali che c'era una maggiore incidenza di iperplasia del dotto biliare, con o senza necrosi e/o fibrosi. Da alcuni studi si è anche visto che c'è un rilascio di ioni argento quando le Ag-NPs vengono depositate oltre un certo periodo di tempo. Quindi, le Ag-NPs “datate” sono più tossiche di quelle “nuove”.

Le Ag-NPs con la loro attività antimicrobica possono inibire la crescita di batteri “amici” nel terreno. Quindi attaccano anche i batteri denitrificanti, i quali trasformano i nitrati in azoto che sono essenziali per le piante. La perdita del processo denitrificante comporta una minor produttività delle piante e quindi a un rischio di eutrofizzazione di fiumi, laghi, ecosistemi marini e infine alla distruzione dell'ecosistema.

Le Ag-NPs sono inoltre tossiche per gli animali acquatici perché gli ioni argento possono interagire con le branchie dei pesci e inibire l'attività delle  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasi}$  presenti nella membrana basolaterale, e quindi arrivare all'inibizione dell'osmoregolazione del pesce. Per comprendere la potenziale tossicità delle Ag-NPs in ambiente acquoso, è stato condotto un test di immobilizzazione sul *Daphnia Magna* di 48 ore, e i risultati hanno mostrato che le Ag-NPs sono da classificare sotto la categoria “acute 1” per la “Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals”, ciò significa che il rilascio di ioni argento da parte delle Ag-NPs nell'ambiente e da considerare attentamente.<sup>[13]</sup>

#### **1.4 Microincapsulati**

La microincapsulazione è descritta come un processo in cui particelle di solido o gocce di liquido o gas vengono rivestite da un guscio esterno inerte, che a sua volta li isola e li protegge dall'ambiente esterno. Le dimensioni delle microcapsule possono andare da circa 100 nanometri a circa 1000 micrometri (fig. 1.11). La microcapsula può rilasciare il suo contenuto a una certa velocità di rilascio sotto specifiche condizioni.

La sostanza che viene incapsulata viene definita come core material, agente attivo, riempitivo, o fase interna. Il *core* può essere in qualsiasi forma, cristallina, amorfa, un'emulsione, una sospensione di solidi, o anche microcapsule più piccole. La sostanza che incapsula viene indifferentemente chiamata coating, membrana, guscio (singolo o

multistrato), carrier, wall material, fase esterna o matrice a seconda della morfologia della microcapsula. La matrice può essere costituita da uno o più materiali. In questo lavoro di tesi la sostanza incapsulata verrà chiamata *agente attivo* mentre l'incapsulante *matrice*. Le capsule possono essere permeabili, semipermeabili o impermeabili.

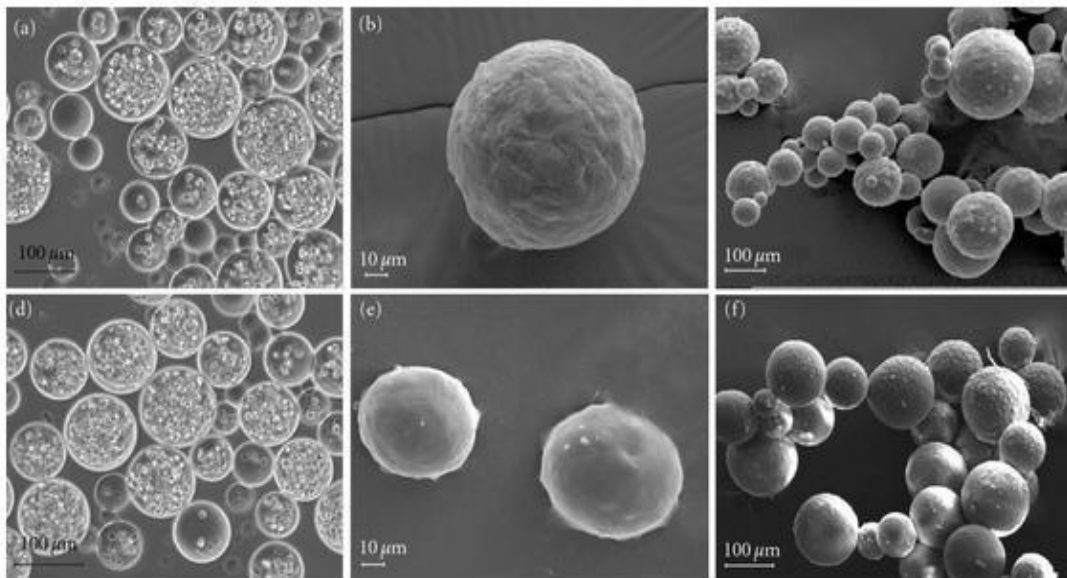


Figura 1.11 – Alcuni microincapsulati di diverse forme e dimensioni.

Possono distinguersi due tipologie di microincapsulati, cioè, *reservoir* e *matrix* (fig. 1.12). Il tipo *reservoir* forma un guscio attorno all'agente attivo. Questo tipo viene anche chiamato capsula, a core singolo, mono-core o core-shell. Applicando una pressione si può creare la rottura del tipo *reservoir* e quindi il rilascio della sostanza al suo interno. Possono esistere anche poli-core con diverse camere di tipo *reservoir* che si avvolgono una sull'altra. L'agente attivo nel tipo *matrix* è molto più disperso nel materiale di supporto; può essere in forma di piccole goccioline disperse o più omogeneamente distribuito nella microcapsula. L'agente attivo nel tipo *matrix* può essere presente anche sulla superficie della microcapsula (a meno che non abbiano avuto un rivestimento esterno aggiuntivo), al contrario di quello del tipo *reservoir*.

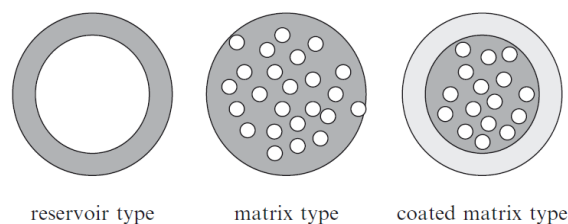


Figura 1.12 – Rappresentazione dei vari tipi di microincapsulati. L'ultimo è una combinazione dei primi due.

Diversi tipi di materiali come agenti attivi (es.: farmaci, proteine, peptidi, olii volatili, materiali alimentari, pigmenti, coloranti, monomeri, catalizzatori, pesticidi, ecc.) possono essere incapsulati con diversi tipi di materiale che fanno da matrice, quali: etilcellulosa, idrossil-propilmetil-cellulosa, sodio carbossi-metil-cellulosa, sodio alginato, PLGA, gelatine, poliesteri, chitosano, amido, silice colloidale ecc.<sup>[16-18]</sup>

In questo lavoro di tesi come matrici sono state usate la silice colloidale e l'amido.

- ❖ La silice ( $\text{SiO}_2$ ) risulta un materiale ideale, da tempo largamente sfruttato per il rivestimento o l'incapsulamento di nanoparticelle o molecole di interesse biologico, chimicamente o termicamente instabili<sup>[19-20]</sup>. La silice è considerata un materiale inerte particolarmente interessante per la sua biocompatibilità<sup>[21]</sup>, bassa tossicità<sup>[22]</sup>, e capacità di polimerizzare con la formazione di legami silanolici alla base dei rivestimenti nano strutturati mesoporosi<sup>[23]</sup>.

La silice colloidale è una sospensione di particelle di silice solitamente sferiche in una fase liquida. Di solito le particelle sono stabilizzate elettrostaticamente. Come suggerisce il nome stesso, la struttura molecolare comporta al prodotto proprietà colloidali che, unite alle proprietà chimiche della superficie molecolare, alla variabilità del peso molecolare, ed al costo molto basso, rendono la silice colloidale uno dei polimeri più versatili ad uso industriale e civile. Le unità terminali della molecola sono gruppi idrossilici -OH. Questo rende la silice colloidale molto idrofila ed in grado di formare numerosi ponti idrogeno (fig. 1.15). La silice colloidale viene più semplicemente sintetizzata per polimerizzazione dall'acido silicico in ambiente acido. La reazione di polimerizzazione è controllata controllando il pH.<sup>[24]</sup>

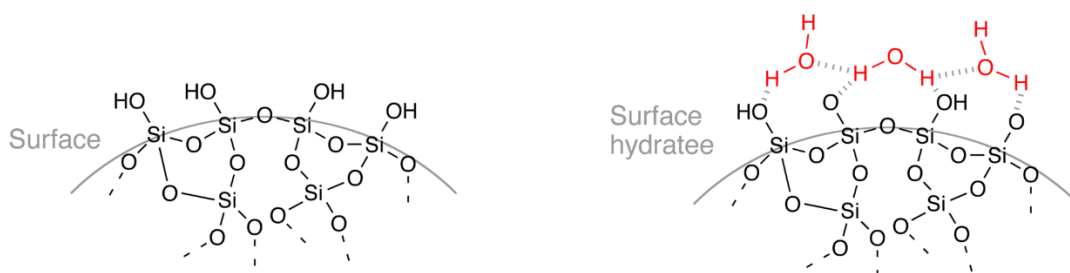


Fig 1.15 – Particella di silice colloidale.

La silice colloidale è in grado di formare dei contenitori / rivestimenti intrinsecamente idrofili, facilmente funzionalizzabili con molecole aventi lo scopo di aumentare ulteriormente la dispersibilità o di trasferire peculiari proprietà al sistema (fluorescenza, attività biologica, ecc) .

- ❖ L'amido è un polisaccaride complesso, costituito da amilosio, polimero lineare del glucosio, e amilopectina, polimero ramificato del glucosio (fig. 1.13).

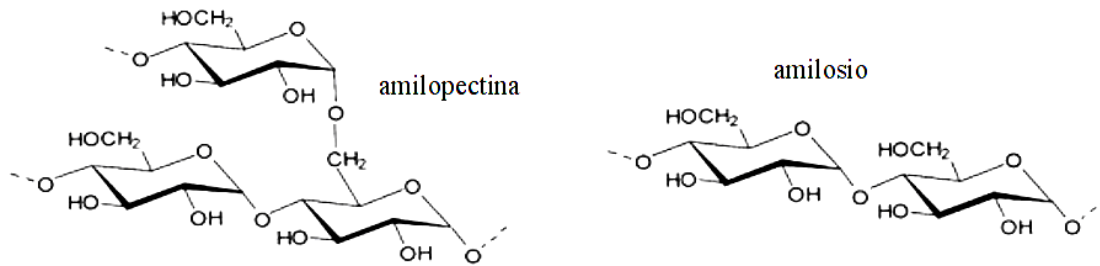


Figura 1.13 – Struttura dell'amilopectina e dell'amilosio

Le disposizioni dell'amilosio e dell'amilopectina all'interno del granulo di amido, mostrano proprietà semicristalline che lo rendono insolubile in acqua a temperatura ambiente e resistente alla digestione da parte degli enzimi presenti nell'apparato digerente umano. La gelatinizzazione dell'amido è un processo che avviene in presenza di acqua e calore, in cui vengono rotti dei legami intermolecolari tra le molecole d'amido, permettendo in questo modo a delle molecole d'acqua di legarsi a quelle di amido tramite legami a idrogeno (fig. 1.14). Questo porta a una dissoluzioni irreversibile dei granuli d'amido in acqua. L'acqua si può quindi dire che agisce come un plastificante. Sono tre i processi che subisce il granulo d'amido: rigonfiamento, fusione della doppia elica o del cristallo e lisciviazione dell'amilosio.

- Durante il riscaldamento, l'acqua è prima assorbita all'interno degli spazi amorfi dell'amido, ciò porta a un fenomeno di rigonfiamento.
- L'acqua entra poi attraverso la parte amorfa nelle regioni strettamente legate delle strutture a doppie elica dell'amilosio. A temperatura ambiente queste regioni cristalline non permettono all'acqua di entrare. Il calore permette appunto all'acqua di entrare in queste regioni, ciò porta alla dissoluzione delle catene di amilosio, che si separano formando zone amorfe.
- Le strutture amorpho di amilosio possono dissolversi nell'acqua circostante, portando alla disintegrazione del granulo.

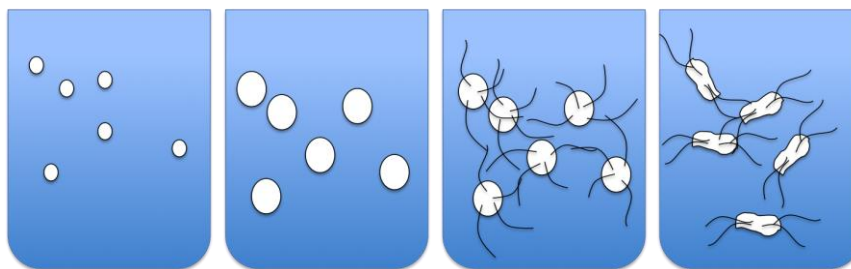


Figura 1.14 – Processo di gelatinizzazione dell'amido.



Il risultato si traduce in una diminuzione dell'acqua libera e una viscosità più o meno consistente della sospensione. Il raffreddamento favorisce il ripristino della struttura ordinata con conseguente *ricristallizzazione o retrogradazione* dell'amido. Sebbene l'amido in realtà non riesca mai a tornare in una configurazione simile a quella iniziale, si forma una struttura intermedia rigida dovuta al riarrangiamento delle catene di amilosio e amilopectina e all'esclusione di acqua. Un esempio di retrogradazione di amido si può osservare quando il pane diventa raffermo. L'amido retrogradato può essere nuovamente gelatinizzato sottoponendolo a calore. La gelatinizzazione e la retrogradazione dell'amido sono influenzati da diversi fattori:

- Contenuto di acqua e temperatura: l'umidità minima richiesta per iniziare il processo di gelatinizzazione è di circa il 25 % e la temperatura deve essere almeno tra 50 e 70°C a seconda dell'origine vegetale dell'amido;
- presenza di soluti (cloruro di sodio, zuccheri), di lipidi o proteine : a particolari concentrazioni determinano un aumento della temperatura di gelatinizzazione e rallentano la velocità di retrogradazione dell'amido;
- l'origine vegetale dell'amido: non tutti gli amidi sono uguali , essi differiscono soprattutto per il diverso rapporto di amilosio e amilopectina.

L'amilosio tende a ricristallizzare molto più velocemente dell'amilopectina; per cui il tempo che impiega l'amido a ricristallizzare dipende dalla quantità di amilosio che contiene. Ne consegue che amidi ricchi di amilosio (mais, frumento, legumi) gelatinizzano con più difficoltà e ricristallizzano più facilmente, rispetto agli amidi contenenti percentuali più elevate di amilopectina (patata, riso). La quantità di amido retrogradato è quindi direttamente proporzionale al contenuto di amilosio. Esistono attualmente in commercio tantissimi tipi di amido nativo o modificato per le diverse applicazioni. Infatti anche modificazioni strutturali (es, cross linked, derivatizzazione, ossidazione, ecc.) alterano la capacità dell'amido di gelificare e retrogradare. Gli amidi ottenuti da mais o riso geneticamente modificati vengono denominati come *waxy* e sono caratterizzati da una bassissima percentuale di amilosio (1-2%) e una altissima percentuale di amilopectina (99-98%). Queste caratteristiche rendono l'amido *waxy* molto resistente alla retrogradazione. Esistono anche amidi che contengono una elevatissima percentuale di amilosio, il quale crea forti legami e da origine a gel molto resistenti. <sup>[25-26]</sup>

La microincapsulazione può essere usata per:

- proteggere sostanze sensibili dall'ambiente esterno;
- per mascherare le proprietà organolettiche come il colore, il sapore e l'odore delle sostanze;
- per ottenere un rilascio controllato del farmaco;
- per maneggiare in maniera sicura materiali tossici;
- per avere un rilascio mirato del farmaco.

Nell'industria alimentare, la microincapsulazione è largamente usata per incapsulare aromi, enzimi, oli, e grassi per proteggere l'ingrediente incapsulato da condizioni ambientali come la luce, l'ossigeno e umidità, per aumentare la durabilità e ridurre la volatilità. Degli enzimi possono essere intrappolati in microcapsule per accelerare la stagionatura del formaggio e migliorarne il sapore. Il biossido di carbonio può essere incapsulato in caramelle dure per produrre un effetto frizzante sulla lingua.

Nell'industria dei mangimi, vitamine, grassi vegetali insaturi, e ormoni sono incapsulati per prevenire l'ossidazione, la degradazione o l'idrogenazione enzimatica. In agricoltura, fertilizzanti idro-solubili vengono incapsulati da cere e polimeri come il poliuretano, che eviteranno una grossa concentrazione locale di fertilizzante e ridurranno il numero di applicazioni.

Nell'industria farmaceutica, la microincapsulazione è usata per controllare il rilascio dell'agente terapeutico e prevenire l'overdose dopo la somministrazione. Le cellule possono essere in una matrice polimerica e circondate da una membrana semipermeabile, che può proteggere la cellula al suo interno dal sistema immunitario dell'ospite mentre permette la diffusione di nutrienti, ossigeno e scarti, permettendo la riduzione o l'eliminazione della somministrazione cronica degli immunosoppressori. Questa tecnica può essere usata per trattare numerose malattie, incluso il diabete, il cancro e le malattie del sistema nervoso centrale.

Nell'industria cosmetica, le microincapsulazioni vengono usate per ottenere un rilascio prolungato di deodoranti e profumi.

Per il rilascio del materiale spesso la capsula viene aperta. Si può aprire dall'esterno meccanicamente, spaccandola o masticandola, o dall'interno, riscaldandola al di sopra della temperatura di ebollizione del materiale al suo interno. La matrice può anche essere dissolta, fuso o bruciato. Per evitare la fuoriuscita del materiale incapsulato, i parametri di solubilità della matrice devono essere distanti da quelli dell'agente attivo.

In alternativa, il rilascio controllato dell'agente attivo può essere raggiunto tramite permeazione attraverso la matrice e la permeabilità della matrice può essere modificata tramite crosslinking. Generalmente il profilo di rilascio è influenzato da alcune proprietà chimico-fisiche dell'agente attivo, come la diffusività, il coefficiente di partizione e la pressione di vapore, inoltre può essere modificato da alcune proprietà del wall material, come lo spessore, la porosità e la reattività. Se la parete della capsula è permeabile all'agente attivo, il rilascio è regolato dallo spessore e dalla porosità della parete. In questo caso avremo un rilascio controllato, che è desiderabile nei trattamenti terapeutici, in contrasto con un rilascio immediato dovuto all'apertura della microcapsula. La parete della capsula può anche essere semipermeabile, permettendo a piccole molecole di entrare al suo interno ma prevenendo la fuoriuscita del materiale al suo interno.<sup>[16-18]</sup>

### **1.5 Tecniche di Produzione di Microincapsulati**

La scelta del metodo più adatto dipende dal tipo di agente attivo, , dalla dimensione della particella richiesta, dalle proprietà chimico-fisiche del materiale da rivestire e delle pareti della micro-capsula, dal tipo di applicazione a cui è destinato il prodotto, dal meccanismo di azione richiesto dalla applicazione (rilascio o controllo della fase attiva), dalla scala di produzione e dal costo.

In generale, quando si sviluppa una microcapsula si punta a formare una parete sufficientemente spessa e protettiva del materiale che si vuole rivestire, assicurandosi che non ci siano perdite e che i materiali indesiderati restino fuori. Le tecniche di incapsulamento includono spray-drying, spray-chilling, spray-cooling, spray-freeze-drying, estrusione, fluidized-bed coating, intrappolamento liposomiale, coacervazione, centrifugal suspension separation, cocristallizzazione. Nello specifico le tecniche precedute dal prefisso “spray” sono dette anche tecniche di granulazione, poiché prevedono il passaggio della miscela liquida attraverso un ugello con formazione di uno spray (aereosolizzazione o atomizzazione) e la successiva evaporazione del liquido che porta alla formazione di particelle sferiche di dimensioni micrometriche (granulazione)

La composizione del materiale di rivestimento è quella che determina maggiormente le proprietà funzionali delle microcapsule e di come possono essere utilizzate per migliorare le prestazioni di un particolare ingrediente. Un materiale di rivestimento ideale dovrebbe avere le seguenti caratteristiche:

- Buone proprietà reologiche ad alte concentrazioni e una buona lavorabilità durante l'incapsulamento;

- L'abilità di disperdere o emulsionare il materiale attivo e stabilizzare l'emulsione prodotta;
- Non deve reagire con il materiale da incapsulare sia durante la lavorazione, sia in un stoccaggio prolungato;
- L'abilità di isolare e mantenere il materiale attivo all'interno della sua struttura durante la lavorazione e la conservazione;
- L'abilità di rilasciare il solvente e altre sostanze usate durante il processo di incapsulazione sotto essiccazione o altre condizioni di estrazione del solvente.
- L'abilità di fornire massima protezione al materiale attivo contro le condizioni ambientali (cioè ossigeno, calore, luce, umidità, ecc.).<sup>[28-29]</sup>

### 1.5.1 Spray-Drying

Lo spray-drying è il metodo più economico e largamente usato per la produzione di incapsulati. Lo spray-drying di agenti attivi viene comunemente eseguito sciogliendo, emulsionando, o disperdendo l'attivo in una soluzione acquosa della matrice, si esegue poi un essiccamento istantaneo, spruzzando la miscela in una camera calda. Durante il processo si forma una migrazione della fase dispersa verso l'esterno con la formazione di un gradiente più spesso (film) sulla superficie delle gocce, l'evaporazione della fase liquida e il simultaneo ritiro del solido verso l'interno della goccia porta alla formazione di particelle sferiche, spesso cave o spaccate dall'irruenta evaporazione del solvente. Tra i solventi più comunemente impiegati c'è l'acqua ma si possono scegliere anche solventi organici come acetone o etanolo, anche se queste opzioni vengono poco sfruttate (fig. 1.16).

Gli spray-dryer solitamente atomizzano la miscela, facendola passare tramite un ugello o una ruota centrifuga (anche chiamata atomizzatore rotante) ad alte pressioni e operando con un flusso d'aria equicorrente, per danno minor surriscaldamento alle particelle. Questo è importante se il contenuto della miscela è sensibile al calore o piuttosto volatile. Tuttavia, le particelle ottenute da un flusso d'aria equicorrente sono più porose di quelle preparate con un flusso d'aria controcorrente.

Le dimensioni delle gocce atomizzate dipendono dalla tensione superficiale e viscosità del liquido e dalla velocità con cui escono dall'ugello. Le dimensioni delle gocce atomizzate inoltre determinano il tempo di essiccamento e la dimensione finale dei granuli.

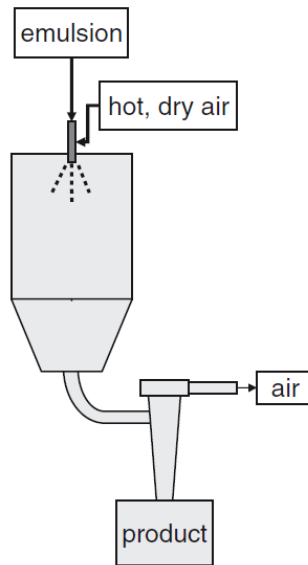


Figura 1.16 – Set-up di uno spray-dryer con flusso d'aria equicorrente.

L'ugello solitamente viene montato in modo da spruzzare verso il basso, ma può essere montato anche in modo da spruzzare verso l'alto come una fontana, quest'ultimo accorgimento permette di avere gocce più grandi a causa di una maggiore tempo di residenza della goccia nella camera. Solitamente gli incapsulati ottenuti attraverso spray-drying rilasciano le loro sostanze attive immediatamente dopo l'aggiunta d'acqua. La velocità che impiegano a disciogliersi dipende dalla porosità della particella.

Lo spray-drying ha alcuni vantaggi rispetto agli altri metodi: grande disponibilità di attrezzature, la possibilità di impiegare un vasto numero di matrici, la possibilità di avere una produzione su larga scala, buona efficienza. Gli svantaggi maggiori dello spray-drying sono una produzione di particelle di dimensioni non uniformi e l'impossibilità di usare sostanze sensibili al calore o molto volatili.<sup>[27,29-30]</sup>

### 1.5.2 Spray-Chilling & Spray-Cooling

Nello spray-chilling e nello spray-cooling, la miscela con la sostanza attiva e la matrice vengono atomizzate in una camera con un flusso d'aria fredda. Lo spray-chilling e lo spray-cooling non si basano sull'evaporazione dell'acqua al contrario dello spray-drying ma sull'istantaneo raffreddamento del solvente che solidifica attraverso una transizione vetrosa. Nello spray-cooling, la matrice è solitamente un olio vegetale o un suo derivato. Tuttavia possono essere usate un gran numero di sostanze come matrice. Tra queste i grassi e le stearine con una temperatura di fusione di 45-122°C, o anche mono- e

diacilgliceroli con una temperatura di fusione di 45-65°C. Nello spray-chilling, la matrice è tipicamente un olio vegetale frazionato o idrogenato con una temperatura di fusione di 32-42°C. Nello spray-chilling e nello spray-cooling non c'è trasferimento di massa (cioè l'evaporazione della goccia atomizzata), la matrice raffreddandosi, al di sotto della temperatura di fusione, si solidifica attorno al core. I microincapsulati ottenuti tramite queste due tecniche sono insolubili in acqua per via del loro rivestimento di natura lipidica.<sup>[25]</sup>

### 1.5.3 Spray-Freeze-Drying

L'agente attivo e la matrice vengono disciolti in acqua e atomizzati tramite un ugello in un camera contenente azoto liquido, in questo modo le gocce si congelano. Vengono poi essiccate tramite sublimazione diretta (liofilizzazione) a pressioni inferiori a quella del punto triplo del diagramma di fase dell'acqua che è circa a 6 mbar (fig. 1.17). Vengono usati solitamente dei crioprotettori, in modo da non danneggiare l'agente attivo o la matrice durante il congelamento.

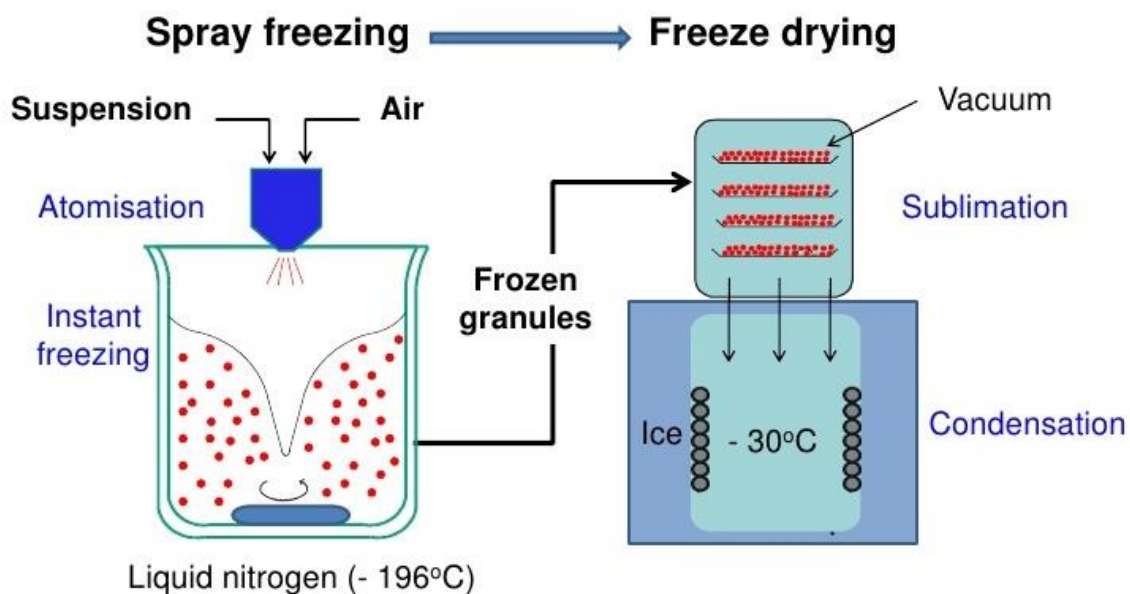


Figura 1.17 – Processo di spray-freeze-drying.

I maggiori svantaggi dello spray-freeze-drying sono la grossa quantità d'energia impiegata, il lungo tempo di processo e il fatto che si ottenga una struttura porosa che generalmente non è una buona barriera tra la sostanza attiva e ciò che la circonda. Il vantaggio principale è quello di poter incapsulare sostanze molto sensibili al calore ed evitare appunto trasferimenti di fase all'atto della granulazione che possono portare alla

formazione di gradienti composizionali all'interno della capsula con fenomeni indesiderati quali segregazione di fasi, agglomerazione, etc. Comparato allo spray-drying, la liofilizzazione spray-freeze-drying è 30-50 volte più costosa, per cui il suo impiego è destinato ad applicazioni ad alto valore aggiunto nell'ambito di settori quali quello farmaceutico, cosmetico o alimentare.<sup>[27]</sup>

#### 1.5.4 Fluidized Bed Coating

La Fluidized Bed Coating è una tecnica in cui la matrice viene applicata sopra le particelle in un processo batch o in continuo. La polvere (agente attivo) viene sospesa tramite un flusso d'aria in una camera, a umidità e temperatura specifiche, insieme alla matrice che viene atomizzata e spruzzata. Nel tempo, le particelle vengono ricoperte dalla matrice, ogni volta che si trovano nella zona di spruzzo (fig 1.18).

La matrice deve avere una viscosità tale da essere pompata e atomizzata, deve essere stabile termicamente e deve essere in grado di formare un film sulla superficie della particella. Generalmente, si attacca il 5-50% della matrice alle particelle, questo dipende dalla dimensione delle particelle del core e dall'applicazione che si vuole fare dell'incapsulato. La matrice può essere una soluzione acquosa di derivati della cellulosa, destrine, proteine, gomme o derivati dell'amido e l'evaporazione dell'acqua che contiene viene controllata da molti fattori come la velocità della spruzzata, la quantità d'acqua, il flusso d'aria, l'umidità all'interno della camera, la temperatura della soluzione, ecc.

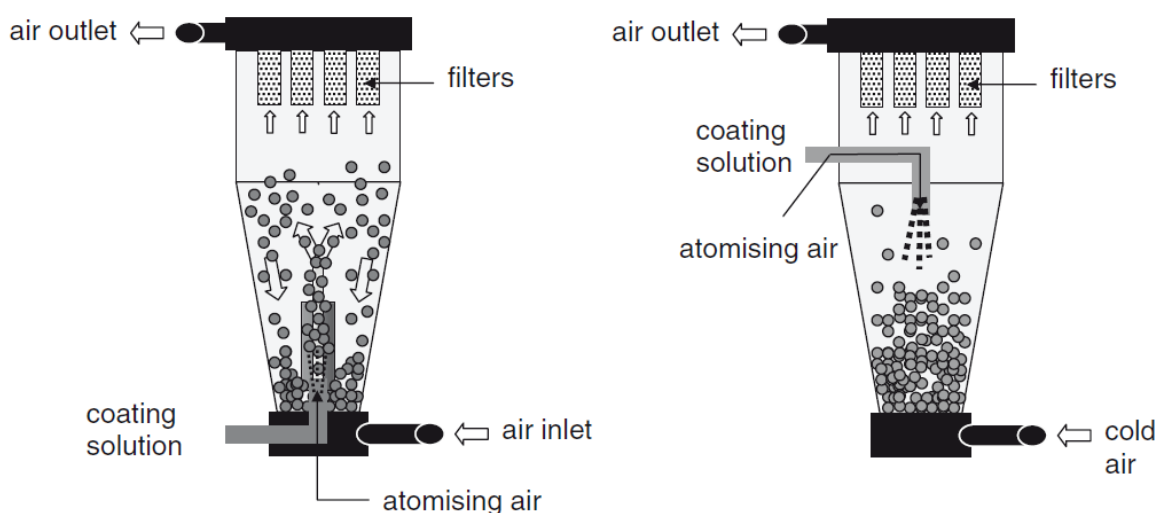


Figura 1.18 – Due tipi di set-up per il bed coating: a sinistra il set-up Würster con l'atomizzatore sul fondo e destra un set-up con l'atomizzatore che spruzza dall'alto.

Solitamente viene usato il cosiddetto set-up alla Würster, dove la matrice viene spruzzata all'interno di una colonna dal basso. La velocità del flusso d'aria all'interno della colonna è tipicamente l'80% di quella iniziale nel centro della colonna e il 20% nella periferia, il che porta le particelle a eseguire un moto rotatorio. Questo porta all'aumento della velocità di essiccazione e alla riduzione di agglomerati.<sup>[27]</sup>

### 1.5.5 Estrusione

L'incapsulamento tramite estrusione prevede la dispersione dell'agente attivo in una massa fusa di carboidrati. Questa miscela è forzata a passare attraverso un foro in un liquido deidratante che indurisce la matrice, che intrappola la sostanza attiva (fig. 1.19). Il liquido più comunemente usato per la deidratazione e l'indurimento è l'alcol isopropilico. I filamenti di materiali induriti vengono poi spezzati in piccoli pezzi, separati e essiccati.

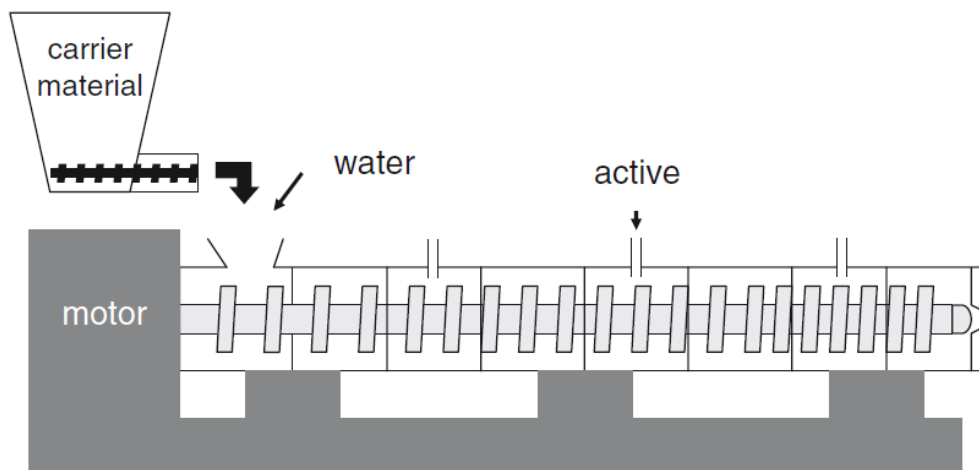


Figura 1.19 – Schema di un estrusore.

Quando il materiale entra in contatto con il liquido deidratante e il materiale è già indurito, tutte le sostanze residue vengono rimosse dalla superficie. L'assenza di sostanze residue sulla superficie e il completo incapsulamento danno al guscio del prodotto la possibilità di essere di lunga durata. Questo metodo produce particelle molto grandi.<sup>[26]</sup>

### 1.5.6 Coacervazione

La coacervazione richiede la separazione della fase liquida della matrice da una soluzione polimerica, seguita dal rivestimento di questa fase attorno alle particelle. La matrice viene poi solidificata. In genere, il processo di coacervazione è formato da tre step: (1) formazione di tre fasi immiscibili, (2) deposizione della matrice, (3) solidificazione della matrice.<sup>[25]</sup>



### **1.5.7 Intrappolamento liposomiale**

I liposomi sono una fase acquosa circondata completamente da una membrana fosfolipidica. Quando i fosfolipidi, sono dispersi in una fase acquosa, i liposomi si formano spontaneamente. È possibile avere o materiali idrofili o materiali idrofobi all'interno del liposoma. L'unica applicazione che non è possibile è per le sostanze che sono solubili sia in acqua che nei lipidi.<sup>[28]</sup>

### **1.5.8 Centrifugal Suspension Separation**

Inizialmente si miscelano la sostanza attiva e la matrice e si inseriscono in un disco rotante. Il materiale viene quindi espulso dal disco con il rivestimento di matrice residua. Le microcapsule vengono poi essiccate o raffreddate appena fuoriescono dal disco. L'intero processo si svolge in pochi secondi o minuti. Solidi, liquidi, o sospensioni da 30µm a 2mm possono essere incapsulate in questa maniera.<sup>[27]</sup>

## **1.6 Scopo della Tesi**

Il mio lavoro di tesi è stato svolto presso l'Istituto di Scienza e Tecnologia dei Materiali Ceramici del CNR (ISTEC-CNR) di Faenza (RA) presso il gruppo di nanotecnologie di cui è responsabile la Dott.ssa Anna Luisa Costa. L'obiettivo di questo lavoro di tesi è stato quello di sintetizzare e caratterizzare delle microcapsule, sia organiche che inorganiche, che possano incapsulare nanoparticelle di argento, attraverso la tecnica dello spray-freeze-drying.

Per limitare gli effetti tossici delle Ag-NPs, si è pensato che esse possano essere utilizzate in forma di microincapsulati, in quanto le microcapsule possono avere una certa velocità di rilascio sotto specifiche condizioni. Incapsulando quindi le Ag-NPs, posso ottenere un rilascio controllato di esse, in modo da ottenere una concentrazione di esse utile allo scopo per cui vengono impiegate, evitando un sovradosaggio che non porterebbe alcun beneficio ma solo a una maggior probabilità di causare effetti tossici. Il lavoro è stato quindi diviso in due parti suddivise a loro volta in due fasi.

- ❖ Nella prima parte è stato sviluppato un processo per la sintesi di microcapsule di materiale inorganico, più precisamente il materiale di partenza è stato un soluzione di silice colloidale nanometrica.
  - Nella prima fase di questa prima parte si è sintetizzata e caratterizzata la matrice di silice;

- nella seconda fase sono state sintetizzate e caratterizzate le microcapsule di silice con all'interno le nanoparticelle di argento.
- ❖ Nella seconda parte è stato sviluppato un processo per la sintesi di microcapsule di materiale organico, a base di amido.
  - Nella prima fase di questa seconda parte si è sintetizzata e caratterizzata la matrice di amido;
  - nella seconda fase sono state sintetizzate e caratterizzate le microcapsule di amido con all'interno le nanoparticelle d'argento.

## **Bibliografia**

- <sup>1</sup> <https://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en/area/key-enabling-technologies>
- <sup>2</sup> [www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=1282](http://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=1282)
- <sup>3</sup> A. L. Costa, G. Baldi, introduzione de *Le Innovazioni del prossimo futuro: Tecnologie Prioritarie per l'Industria Italiana - AIRI IX Edizione Gennaio 2016*, Agra Editrice, **2015**.
- <sup>4</sup> C. Altavilla, E. Ciliberto, *Inorganic Nanoparticles: Synthesis, Applications, and Perspectives*, CRC Press, **2010**.
- <sup>5</sup> W.B. Russel, D.A. Saville, W.R. Schowalter, *Colloidal Dispersions*, New York: Cambridge University Press, **1989**.
- <sup>6</sup> E.B. Zhulina, O.V. Borisov, V.A. Priamitsyn, *J. Colloid Interface Sci.*, *137*, 495, **1990**.
- <sup>7</sup> Q.H. Tran, V.Q. Nguyen, A. Le, *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.*, *4*, 033001, **2013**.

- <sup>8</sup> K.M.M.A. El-Noura, A. Eftaihab, A. Al-Warthanb, R.A.A. Ammarb, *Ar. Jour. of Chem.*, 3, 135, **2010**.
- <sup>9</sup> H. Huang, Y. Yang, *Compos. Sci. Technol.*, 68, 2948, **2008**.
- <sup>10</sup> J. Jung, H. Oh, H. Noh, J. Ji, S. Kim, *Aerosol Sci.*, 37, 1662, **2007**.
- <sup>11</sup> D.K. Lee, Y.S. Kang, *ETRI J.*, 26, 252, **2004**.
- <sup>12</sup> D.C. Tien, K.H. Tseng, C.Y. Liao, J.C. Huang, T.T. Tsung, *J. Alloys Compd.*, 463, 408, **2008**.
- <sup>13</sup> S. Prabhu, E.K. Poulouse, *Int. Nano Lett.*, 2, 32, **2012**.
- <sup>14</sup> N. L. Kildeby, O. Z. Andersen, R. E. Røge, T. Larsen, R. Petersen, J. F. Riis, *Silver Nanoparticles*, Aalborg University, **2005**.
- <sup>15</sup> C. Marambio-Jones, E.M.V. Hoek, *J. Nanopart. Res.*, 12, 1531, **2010**.
- <sup>16</sup> N.V.N. Jyothi, P.M. Prasanna, S.N. Sakarkar, K.S. Prabha, P.S. Ramaiah, G.Y. Srawan, *Journ. Microencapsulation*, 27, 187, **2010**.
- <sup>17</sup> K.G.H. Desai, H.J. Park, *Drying Technol.*, 23, 1361, **2005**.
- <sup>18</sup> W. Yin, *Development of Novel Microencapsulation Processes*, PhD thesis, University of Rochester, **2009**.
- <sup>19</sup> D. Wibowo, *Bio-inspired oil-core silica-shell nanocapsules for controlled-release applications*, Ph.D Thesis, University of Queensland, **2015**.
- <sup>20</sup> A. L. Costa, F. Matteucci, M. Dondi, I. Zama, S. Albonetti, G. Baldi, *J. Eur. Ceram. Soc.*, 28, 169, **2008**.
- <sup>21</sup> S.P. Hudson, R.F. Padera, R. Langer, D.S. Kohane, *Biomaterials*, 29, 4045, **2008**.
- <sup>22</sup> J.H. Park, L. Gu, G. von Maltzahn, E. Ruoslahti, S.N. Bhatia, M.J. Sailor, *Nat. Mater.*, 8, 331, **2009**.
- <sup>23</sup> C.T. Kresge, M.E. Leonowicz, W.J. Roth, J.C. Vartuli, J.S. Beck, *Nature*, 359, 710, **1992**.
- <sup>24</sup> [en.wikipedia.org/wiki/Colloidal\\_silica](http://en.wikipedia.org/wiki/Colloidal_silica)
- <sup>25</sup> C.G. Biliaderis, T.J. Maurice, J.R. Vose, *J. Food Sci.*, 45, 1669, **1980**.
- <sup>26</sup> B. Zanoni, C. Peri, D. Bruno, *Lebensm. Wiss. Technol.*, 28, 314, **1995**.
- <sup>27</sup> N.J. Zuidam, E. Shimoni, *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, Springer, **2010**.
- <sup>28</sup> A. Poshdari, A. Kuna, *J.Res. ANGRAU*, 38, 86, **2010**.
- <sup>29</sup> P. Texeira da Silva et al, *Ciência Rural, Santa Maria*, 44, 1304, **2014**.
- <sup>30</sup> S.J. Risch, *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*, American Chemical Society, **1995**.

- fig. 1.1 B. Domènech, J. Bastos-Arrieta, A. Alonso, J. Macanás, M. Muñoz, D.N. Muraviev, *Bifunctional Polymer-Metal Nanocomposite Ion Exchange Materials*, InTech, **2012**.
- fig. 1.2 [www1.lsbu.ac.uk/water/physical\\_anomalies.html](http://www1.lsbu.ac.uk/water/physical_anomalies.html)
- fig. 1.3 *Physical Stability of Disperse System, Technical Brief Vol 1*, Particle Science, **2009**.
- fig. 1.4 S. Agnihotria, S. Mukherjiabc, S. Mukherji, *RSC Adv.*, *4*, 3974, **2014**.
- fig. 1.5 R. Brayner et al., *Nanomaterials: A Danger or a Promise*, Springer-Verlag London, **2013**.
- fig. 1.6 [www.tut.fi](http://www.tut.fi)
- fig. 1.7 N. G. Semaltianos, S. Logothetidis, W. Perrie, S. Romani, R. J. Potter, M. Sharp, P. French, G. Dearden, K. G. Watkins, *EPL*, *84*, 47001, **2008**.
- fig. 1.8 Q.H. Tran, V.Q. Nguyen, A. Le, *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.*, *4*, 033001, **2013**.
- fig 1.9 C. Marambio-Jones, E.M.V. Hoek, *J. Nanopart. Res.*, *12*, 1531, **2010**.
- fig. 1.10 [www.rise.duke.edu/a pep/pages/050403.html](http://www.rise.duke.edu/a pep/pages/050403.html)
- fig. 1.11 Je. Mumaw et al., *Int. J. of Biomat.*, ID 861794 **2012**
- fig. 1.12-1.16-1.18-1.19 N.J. Zuidam, E. Shimoni, *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, Springer, **2010**.
- fig. 1.13 [www.glutenfreetravelandliving.it/wp-content/uploads/2014/12/2010-2012\\_carboidrati\\_2.png](http://www.glutenfreetravelandliving.it/wp-content/uploads/2014/12/2010-2012_carboidrati_2.png)
- fig. 1.14 [sciencegeist.net/wp-content/uploads/2012/11/gelation.png](http://sciencegeist.net/wp-content/uploads/2012/11/gelation.png)
- fig. 1.15 [it.wikipedia.org/wiki/Silice\\_colloidale](http://it.wikipedia.org/wiki/Silice_colloidale)
- fig. 1.17 [www.slideshare.net/KentRundgren/freeze-granulation-of-nanomaterials](http://www.slideshare.net/KentRundgren/freeze-granulation-of-nanomaterials)

## **RISULTATI E DISCUSSIONE**

## 2 - MICROCAPSULE DI SILICE CONTENENTI NANOPARTICELLE DI ARGENTO

Microcapsule di silice con all'interno nanoparticelle di argento d'ora in poi denominate  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$ , di tipo *matrix-encapsulation*, sono state ottenute processando con la tecnica dello *spray-freeze-drying*, una miscela delle due sospensioni: una sospensione di  $\text{SiO}_2$  colloidale commerciale e una sospensione di Ag-NPs rivestite da polivinilpirrolidone (PVP). Le nanoparticelle d'argento sono state sintetizzate con una sintesi di tipo chimico, ottimizzata dal gruppo di ricerca con cui ho svolto il mio lavoro di tesi. Le Ag-NPs sono state ottenute per riduzione di una soluzione acquosa di  $\text{AgNO}_3$  usando come riducente glucosio in ambiente basico.<sup>[1]</sup> Il prodotto ottenuto dalla miscelazione delle Ag-NPs con silice colloidale, seguita da atomizzazione e congelamento in un bagno di azoto liquido, viene poi liofilizzato per ottenere le microcapsule  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$  (fig. 2.1).

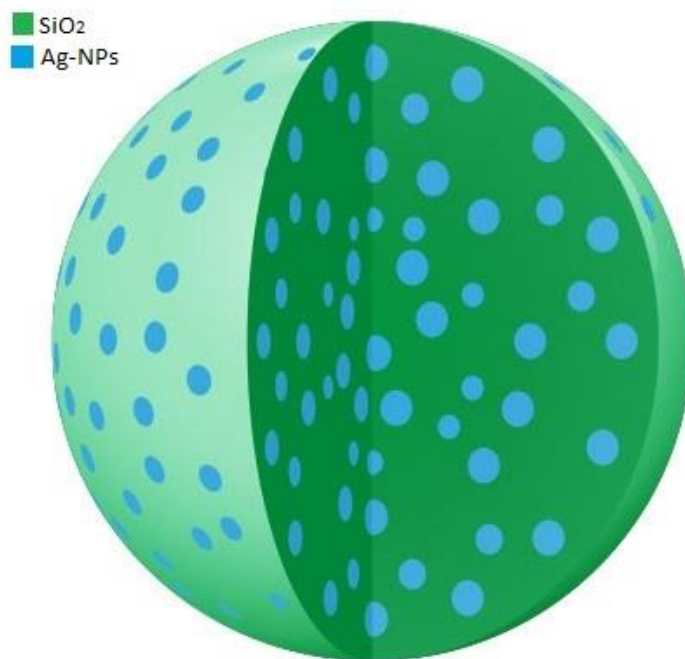


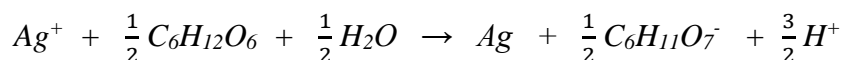
Figura 2.1 – Rappresentazione di una microcapsula  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$ .

La matrice di  $\text{SiO}_2$  da sola, e le microcapsule  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$ , le sospensioni e miscele di partenza sono state caratterizzate con diverse tecniche quali microscopio a scansione elettronica con generazione di elettroni a emissione di campo (SEM-FEG), spettroscopia EDX (SEM-EDX), potenziale zeta (Z-Probe), distribuzione della dimensione delle particelle (DLS).

## 2.1 Risultati e discussione

### 2.1.1 Sintesi e caratterizzazione di Ag-NPs

In questo lavoro di tesi le Ag-NPs sono state ottenute per riduzione di ioni  $Ag^+$  usando glucosio come agente riducente e PVP come agente stabilizzante.



Il glucosio è un agente riducente molto debole, il cui potere riducente può essere aumentato drasticamente in condizioni alcaline. L'ambiente alcalino, infatti, promuove la deidrogenazione dell' $\alpha$ -protone attivando l'apertura dell'anello di glucosio e la seguente ossidazione da glucosio ad acido gluconico.

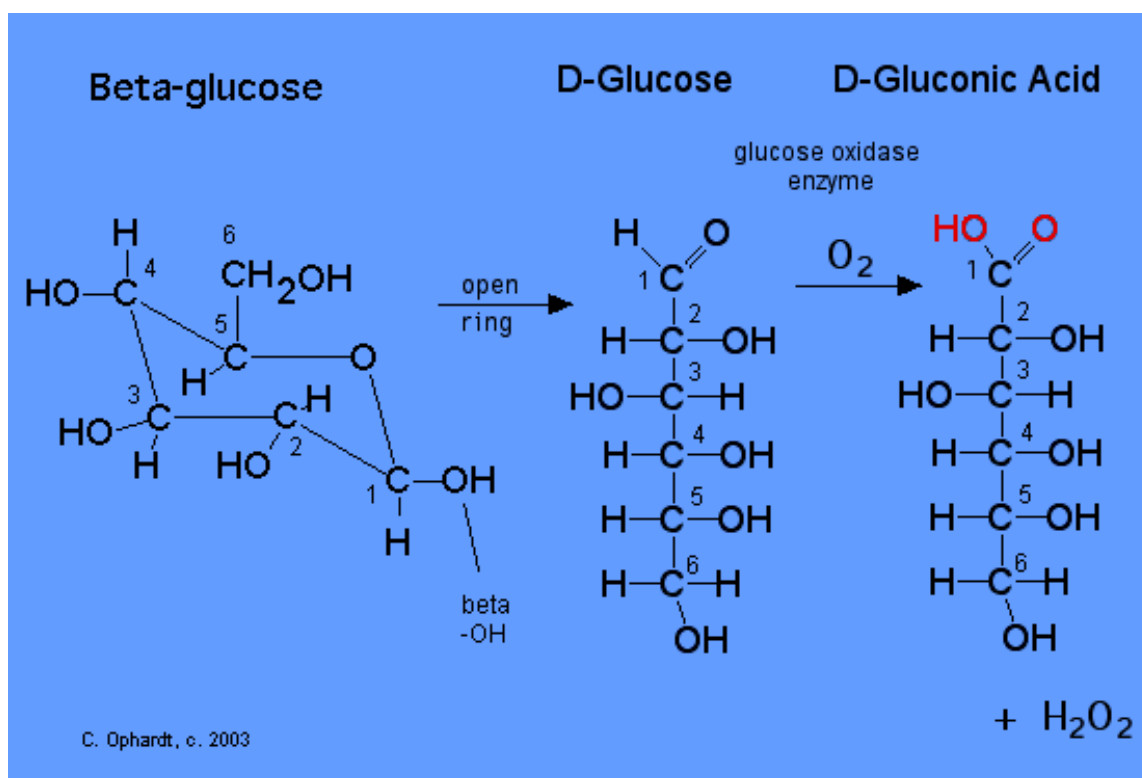


Figura 2.2 – Passaggio da glucosio a acido gluconico

Il PVP viene adsorbito sulle particelle di argento, portando alla formazione di una soluzione colloidale di nanoparticelle d'argento stabilizzate per via sterica.

La sospensione di Ag-NPs rivestite da PVP presenta un pH pari a 5,7 e potenziale  $\zeta$  di -14,9 mV. Il diametro medio delle Ag-NPs è uguale a 62,2 nm con PdI di 0,270, dati ottenuti da DLS (fig. 2.3).

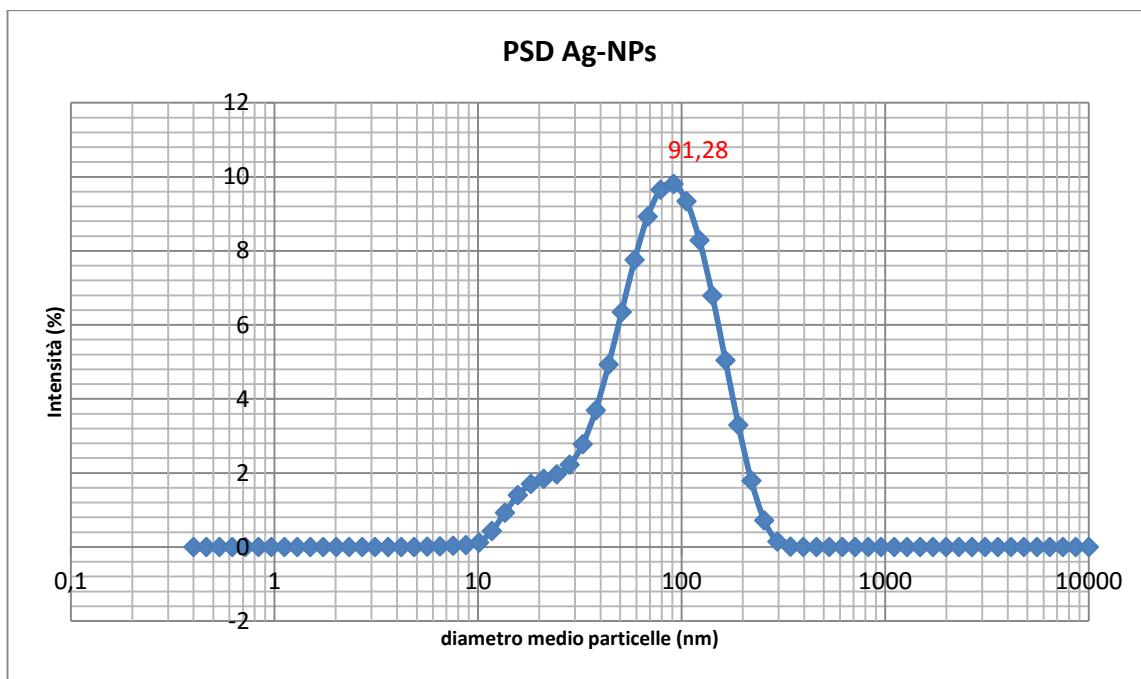


Figura 2.3 – Particle Size Distribution della soluzione di Ag-NPs.

### 2.1.2 Sintesi e Caratterizzazione della matrice di SiO<sub>2</sub>

Per scegliere la sospensione di SiO<sub>2</sub> colloidale che dovrebbe ricoprire le Ag-NPs, formando delle microcapsule di tipo *matrix*, sono state effettuate alcune misure di potenziale su due diverse sospensioni di SiO<sub>2</sub> colloidale della serie LUDOX.. La prima sospensione di SiO<sub>2</sub> colloidale analizzata (LUDOX CL) risulta stabilizzata con dell'allumina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) in un ambiente acido dato da HCl. Gli ioni Al<sup>3+</sup> e H<sup>+</sup> vengono adsorbiti sulla superficie delle particelle di SiO<sub>2</sub> colloidale e ioni Cl<sup>-</sup> fanno da controioni. Il potenziale  $\zeta$  risulta pertanto positivo al pH naturale pari a 4,5, mostrando un valore di +15,7 mV.

La seconda sospensione di SiO<sub>2</sub> (LUDOX HS-40) colloidale risulta invece stabilizzata con della soda, gli ioni OH<sup>-</sup> vengono adsorbiti sulla superficie delle particelle di SiO<sub>2</sub> colloidale e gli ioni Na<sup>+</sup> si comportano da controioni. Il pH di questa sospensione è pari a 9,8 e il potenziale  $\zeta$  ha un valore di -12,8 mV.

Avendo la sospensione di Ag-NPs un potenziale negativo, si è optato per l'utilizzo della prima sospensione di SiO<sub>2</sub> colloidale, che al contrario invece ha un potenziale  $\zeta$  positivo. Questa differenza di segno nei due potenziali  $\zeta$  dovrebbe favorire un'interazione di tipo elettrostatico delle particelle di SiO<sub>2</sub> con quelle di Ag-NPs, favorendo quindi la formazione di un rivestimento di SiO<sub>2</sub> attorno alle Ag-NPs. La



seconda sospensione viene invece scartata, perché le particelle di SiO<sub>2</sub> colloidale presentano un potenziale  $\zeta$  negativo.

Al fine di verificare il potere incapsulante della silice e studiare la morfologia dei granuli ottenuti, si è processata la sospensione disola silice LUDOX CL diluendone la concentrazione iniziale fino al 10 wt.%. Questa diluizione viene effettuata per avere una wt% di SiO<sub>2</sub> il più simile possibile alla miscela delle sospensioni di silice colloidale e Ag-NPs da cui saranno sintetizzate le microcapsule. La sospensione così diluita presenta un pH pari 4,6, e un potenziale  $\zeta$  uguale a +13,2 mV. Il diametro medio delle particelle è di 47,3 nm con un indice di polidispersione (PdI) di 0,324 (fig. 2.4).

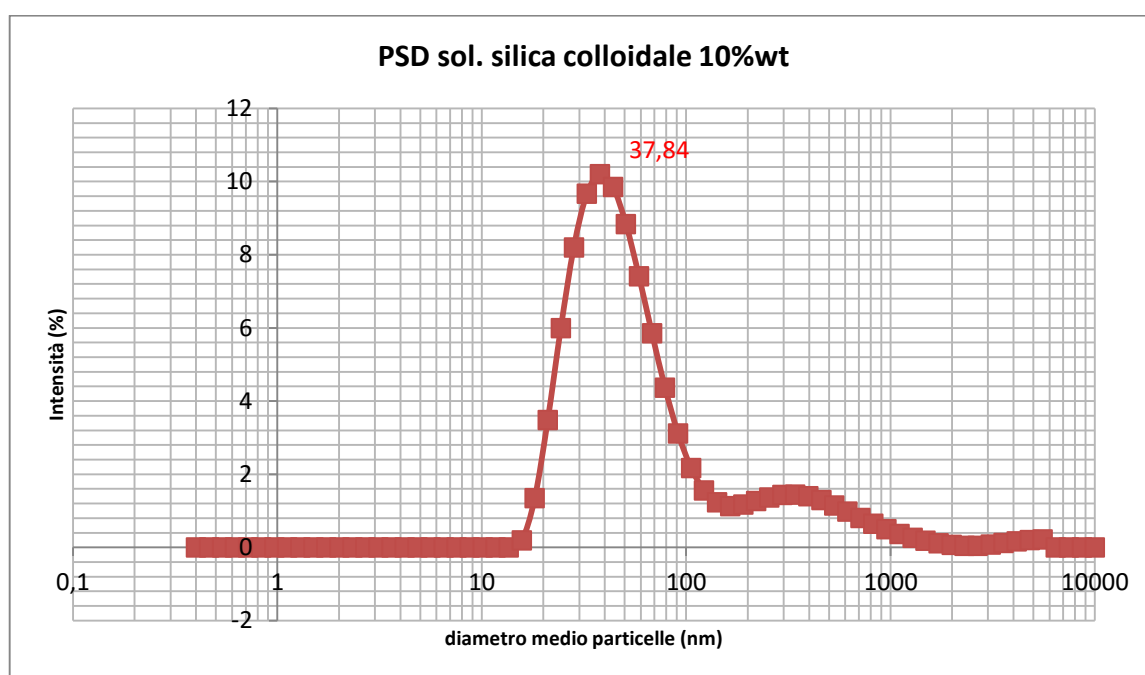


Figura 2.4 - Particle Size Distribution di una soluzione di silice colloidale 10 wt%.

Questa sospensione diluita è stata atomizzata e congelata con la tecnica di spray-freeze e successivamente liofilizzata per 48 h ad una pressione di 1,5 mbar, con l'ottenimento di una polvere granulata che rappresenta la matrice della microcapsula.. I seguenti campioni sono stati analizzati al SEM-FEG:

- La matrice in forma polvere (fig. 2.5);
- La polvere granulata e dispersa in acqua distillata: a) manualmente per 1 minuto (fig. 2.6); b) in un bagno ad ultrasuoni per 10 minuti (fig. 2.7).

Come mostrato dalle immagini SEM-FEG di fig. 2.5, la matrice presenta una morfologia sferica, molto porosa.

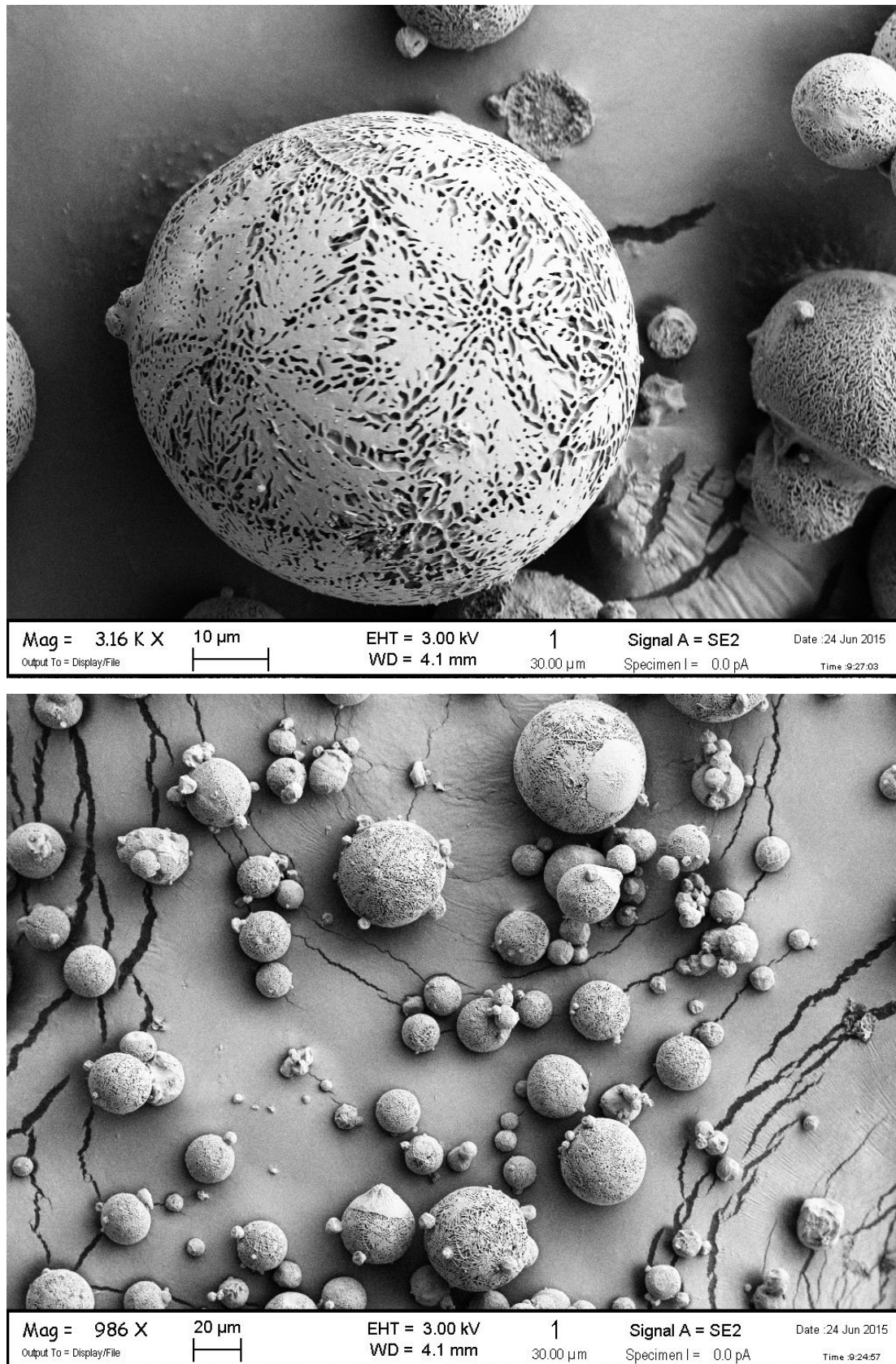


Figura 2.5 – Matrici di Silice viste al SEM-FEG osservate a due ingrandimenti diversi.

Le sfere risultano fortemente polidisperse: il diametro delle polveri va da un minimo di 4  $\mu\text{m}$  a un massimo di 69  $\mu\text{m}$ , la media è  $22\pm 1 \mu\text{m}$ , i calcoli dei diametri sono sempre stati ottenuti utilizzando il programma ImageJ <sup>[2]</sup>, sulle immagini raccolte al SEM-FEG (fig 2.6).

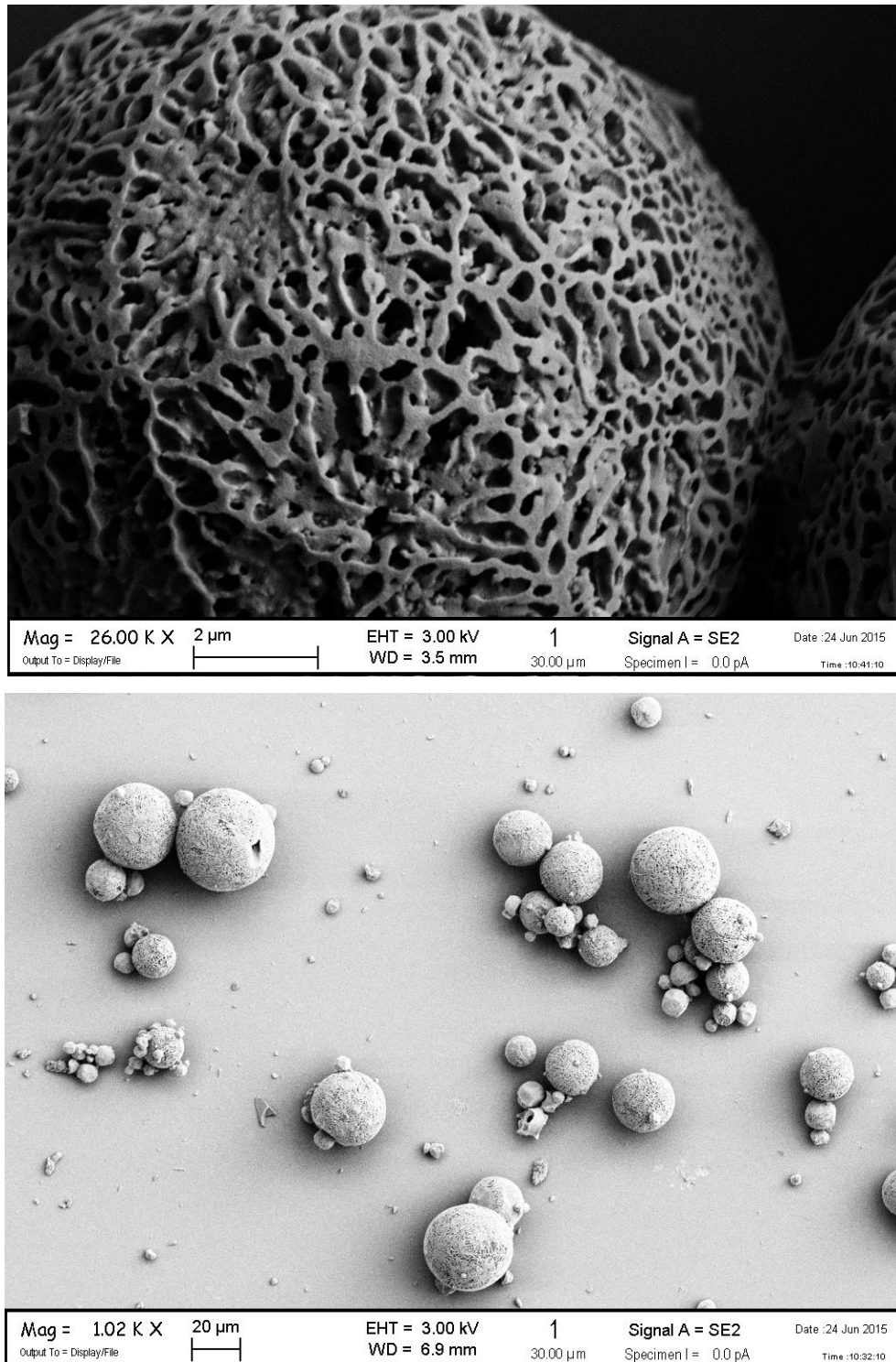


Figura 2.6 - Matrici di silice disperse in acqua, con agitazione manuale, viste al SEM-FEG osservate a due ingrandimenti diversi.

Matrice Silice	
Media	22 $\mu\text{m}$
Errore standard	1 $\mu\text{m}$
Mediana	18 $\mu\text{m}$
Moda	11 $\mu\text{m}$
Deviazione standard	12
Varianza campionaria	166
Intervallo	64 $\mu\text{m}$
Minimo	4 $\mu\text{m}$
Massimo	68 $\mu\text{m}$
Somma	2680 $\mu\text{m}$
Conteggio	121

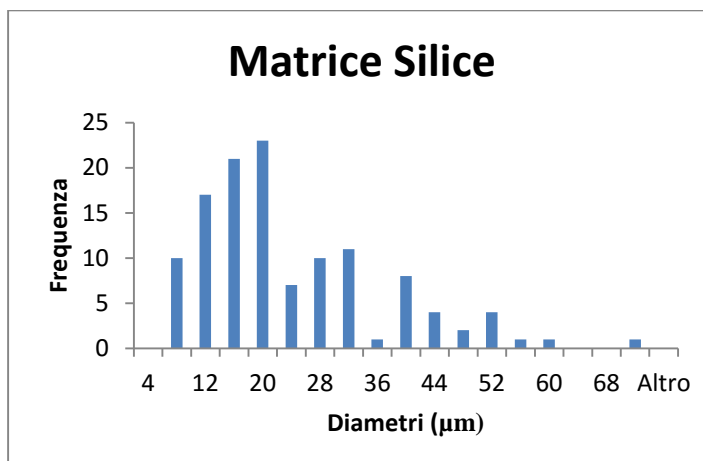


Figura 2.8 – Distribuzione dei diametri delle particelle di matrice di silice.

Come si osserva in fig. 2.6, se disperse in acqua manualmente per poco tempo le sfere mantengono la loro geometria e solo una minima parte tra quelle con un diametro maggiore tendono a disgregarsi. Si può però notare un lieve sgretolamento della superficie delle particelle.

Se invece la polvere viene dispersa in acqua tramite un bagno ad ultrasuoni e per tempi più lunghi fig. 2.7, quasi tutte le matrici tendono a disgregarsi, solo alcune tra quelle con un diametro inferiore ai 25  $\mu\text{m}$  mantengono una geometria sferica, presentando comunque uno sgretolamento superficiale.

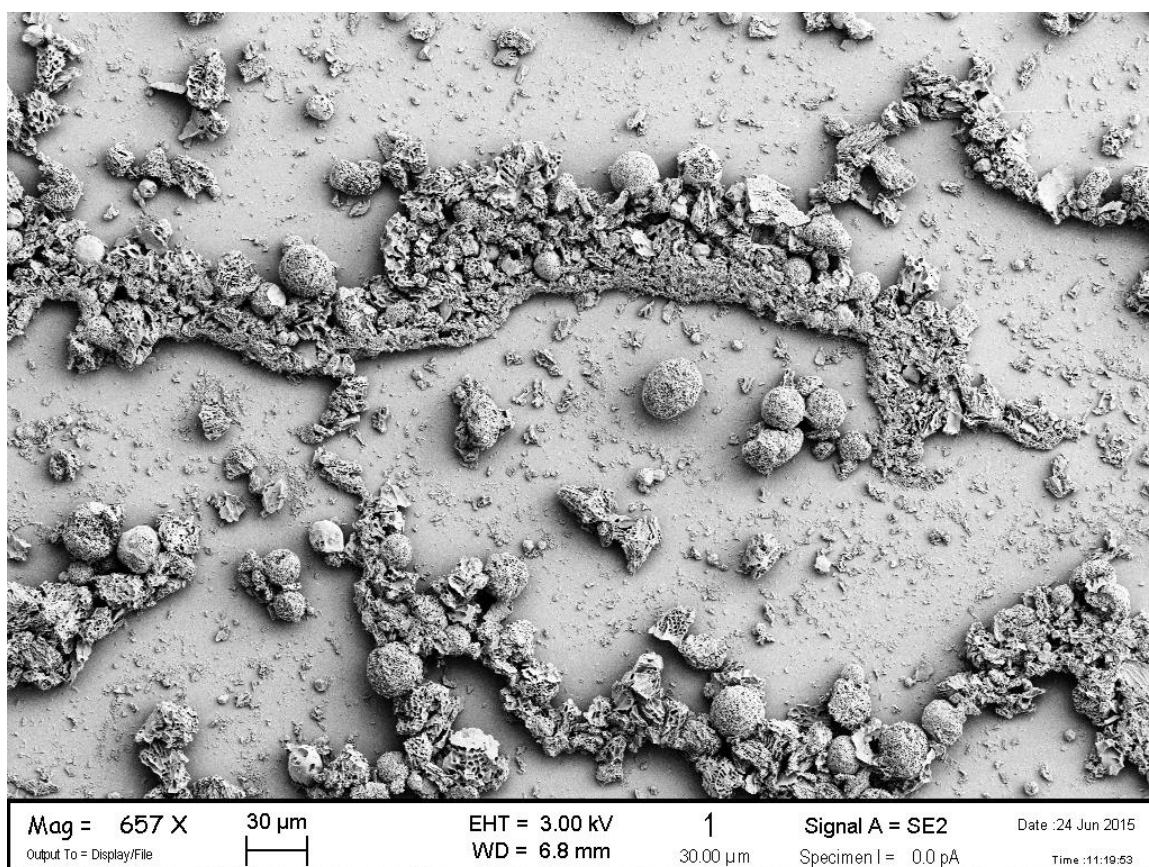
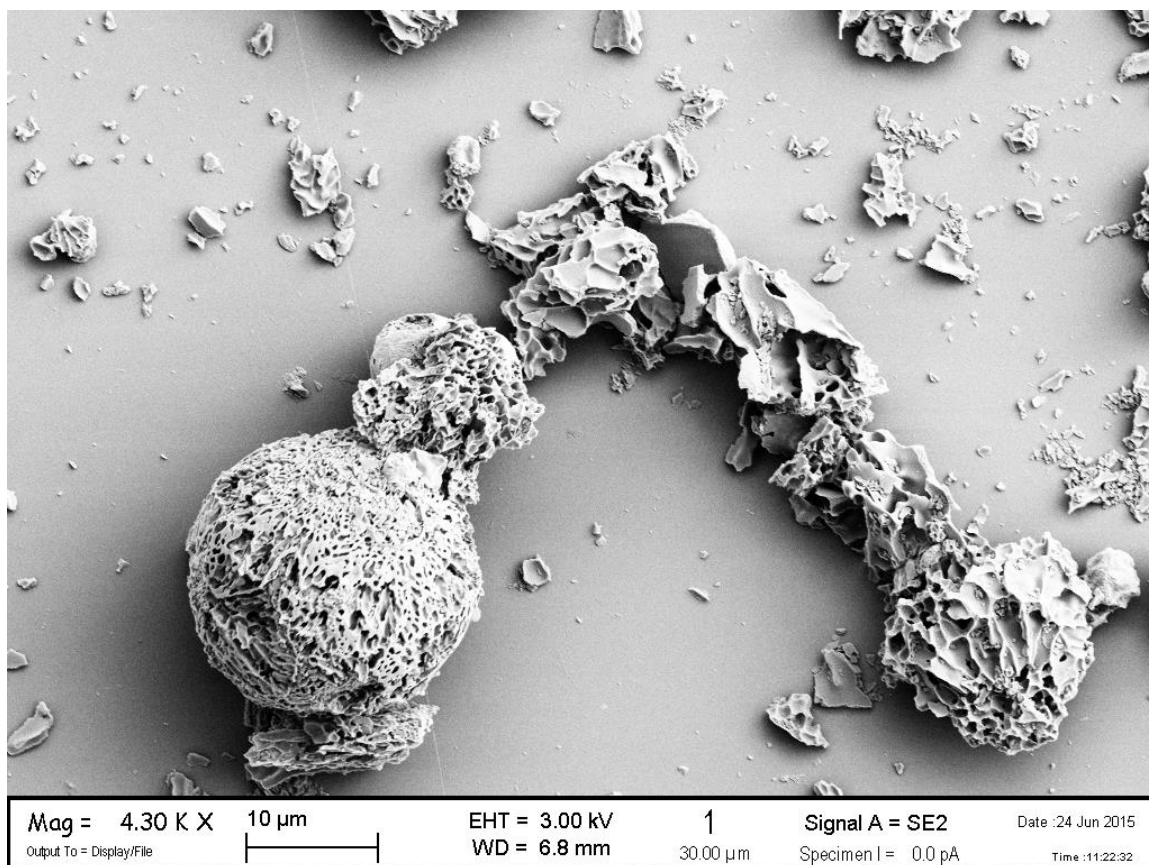


Figura 2.7 - Matrici di silice disperse in acqua, con bagno ad ultrasuoni, viste al SEM-FEG. osservate a due ingrandimenti diversi.

### 2.1.3 Sintesi e Caratterizzazione di Microcapsule SiO<sub>2</sub>{Ag-NPs}

Per sintetizzare le microcapsule aventi una matrice di silice in cui l'agente attivo sia l'argento metallico nanometrico, sono state miscelate insieme in rapporto di peso 1:1, la sospensione di silice colloidale LUDOX CL con la sospensione di Ag-NPs (ottenuta secondo il metodo descritto al punto 2.1.1). La miscela delle due sospensioni (d'ora in poi definita come SiCAg-P) presenta una concentrazione del 15,00 wt% di SiO<sub>2</sub> e dello 0,25 wt% di Ag-NPs. Il SiCAg-P presenta un pH di 3,7, un potenziale  $\zeta$  pari a +11,4 mV e una diametro medio delle particelle uguale a 90,1 nm con PDI di 0,226 (fig 2.9).

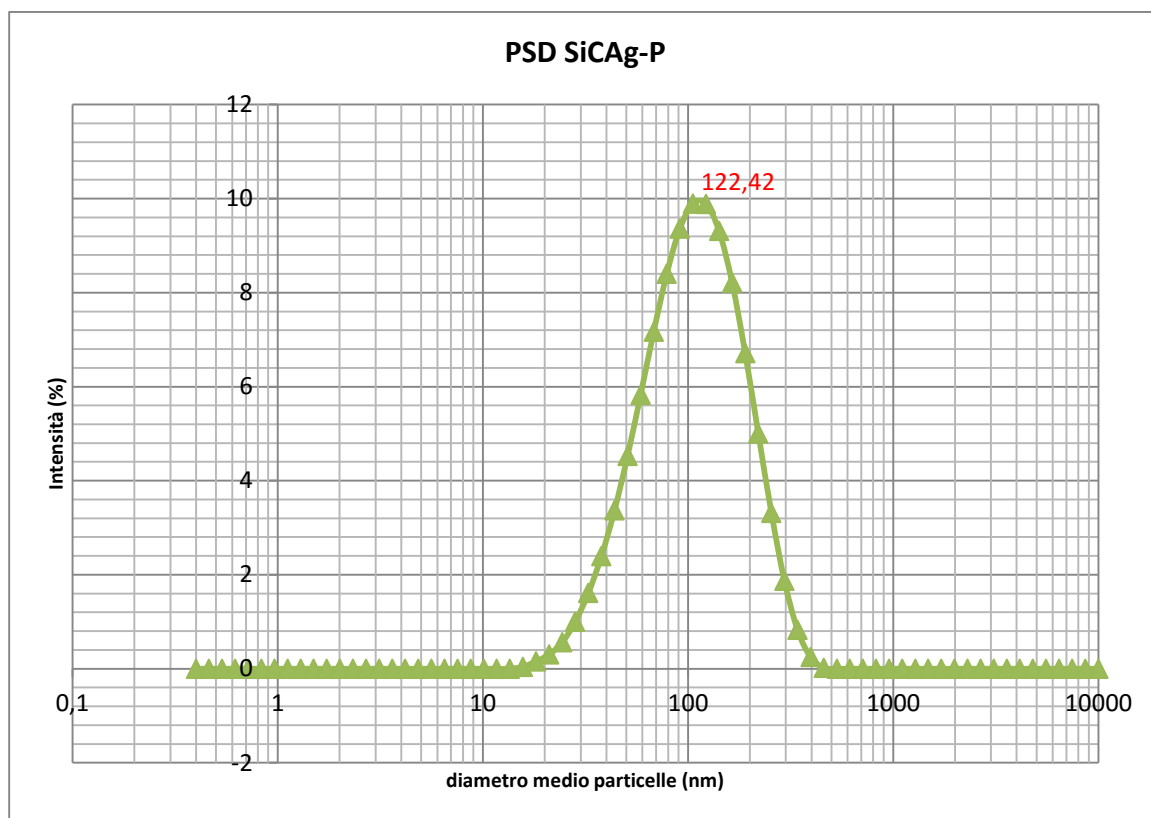


Figura 2.9 – Particle Size Distribution della miscela SiCAg-P.

Al fine di valutare l'effettiva inclusione delle Ag-NPs all'interno delle microcapsule di SiO<sub>2</sub> sono stati confrontati i valori di  $\zeta$  e dimensioni tra le sospensioni di partenza e il prodotto finale.

Il potenziale zeta della miscela di silice più argento è confrontato con quello della sola silice per verificare se l'avvenuto rivestimento di silice avesse l'atteso potere mascherante sulla superficie di Ag, mostrando un potenziale zeta simile a quello della sospensione di sola silice (fig. 2.10).

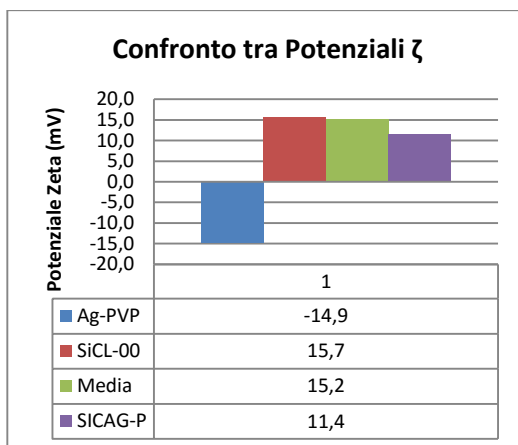


Figura 2.10 – Confronto tra potenziale  $\zeta$ .

Tuttavia nonostante il risultato positivo riscontrato, non è possibile fare alcuna congettura basata solo sul confronto dei due potenziali poiché, tenendo conto del rapporto in peso della silice rispetto alle Ag-NPs (circa 60:1), il potenziale zeta ricavato facendo una semplice media pesata del potenziale dei due componenti risulterebbe pari a quello della silice. Sulla base di queste considerazioni, quindi, non è possibile discriminare tra le due situazioni: miscela dei due componenti senza alcuna interazione tra essi e presenza di AgNPs rivestite dalla matrice di silice, come ci si auspica in relazione agli obiettivi del progetto di tesi.

Dal confronto delle Particle Size Distribution si vede che la curva della miscela del SiCag-P è spostata verso destra rispetto alle curve delle due sospensioni, ciò indica che le particelle nella miscela di SiCag-P sono in media più grandi delle particelle delle sospensioni di SiO<sub>2</sub> e di Ag-NPs, questo potrebbe supportare l'ipotesi della formazione di unità cinetiche più grandi e complesse che includono le due fasi di Ag-Nps e SiO<sub>2</sub> (fig 2.11).

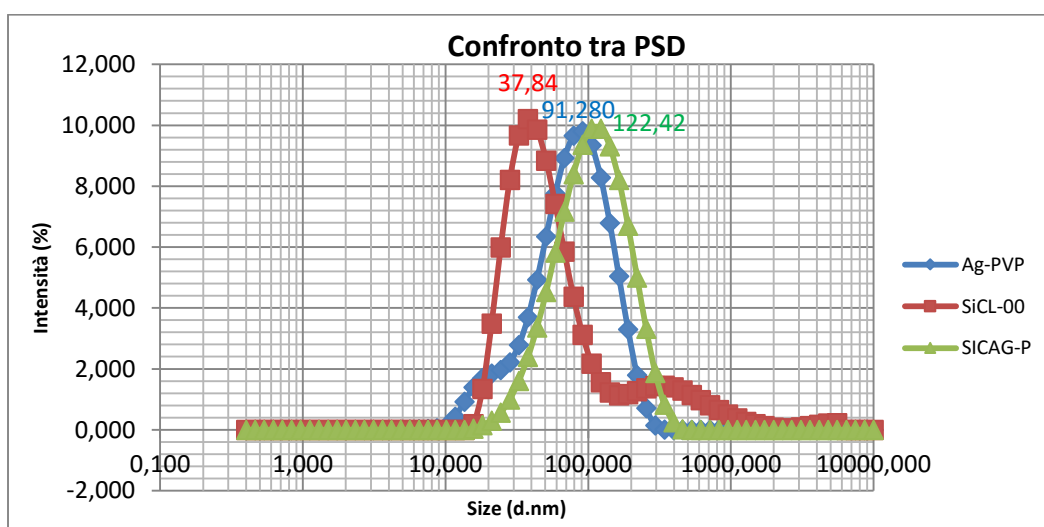


Figura 2.11 – Confronti tra Particle Size Distribution.

La miscela SiCAg-P processata allo spray-freeze e successivamente liofilizzata, porta alla formazione delle microcapsule  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$ , che in forma macroscopica sono visibili come polvere. Al SEM-FEG si sono analizzati i seguenti campioni.

- Le microcapsule in forma polvere (fig. 2.12);
- Le microcapsule disperse in acqua distillata: a) manualmente per 1 minuto (fig. 2.13); b) in un bagno ad ultrasuoni per 10 minuti (fig. 2.14).

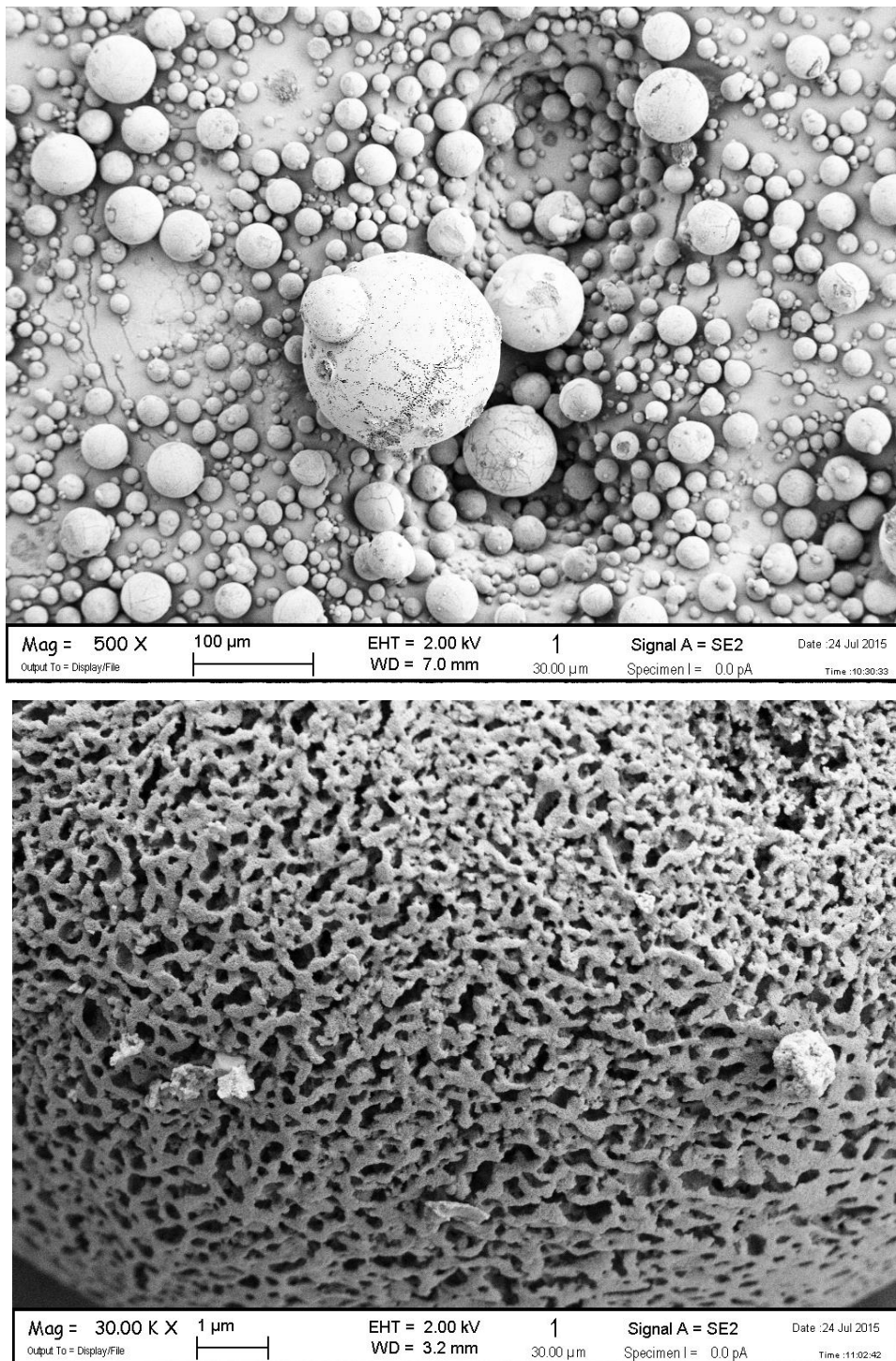


Figura 2.12 – Microcapsule di  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$  viste al SEM-FEG a due ingrandimenti diversi



Dall'analisi SEM-FEG si vede come le microcapsule di  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$  hanno una morfologia simile a quella della matrice di sola  $\text{SiO}_2$ : sferica e con una elevata porosità. Il diametro delle polveri va da un minimo di 1  $\mu\text{m}$  a un massimo di 164  $\mu\text{m}$ , la media è  $13 \pm 1 \mu\text{m}$  (fig 2.15). Il diametro medio delle microcapsule è di circa la metà di quello della sola matrice. Possiamo inoltre notare che sono anche più polidisperse delle particelle di sola matrice in quanto sia il valore di varianza campionaria che quella di deviazione standard sono maggiori rispetto a quelli della matrice.

Microcapsule $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$	
Media	13 $\mu\text{m}$
Errore standard	1 $\mu\text{m}$
Mediana	9 $\mu\text{m}$
Moda	7 $\mu\text{m}$
Deviazione standard	16
Varianza campionaria	282
Intervallo	163 $\mu\text{m}$
Minimo	1 $\mu\text{m}$
Massimo	164 $\mu\text{m}$
Somma	1606 $\mu\text{m}$
Conteggio	123

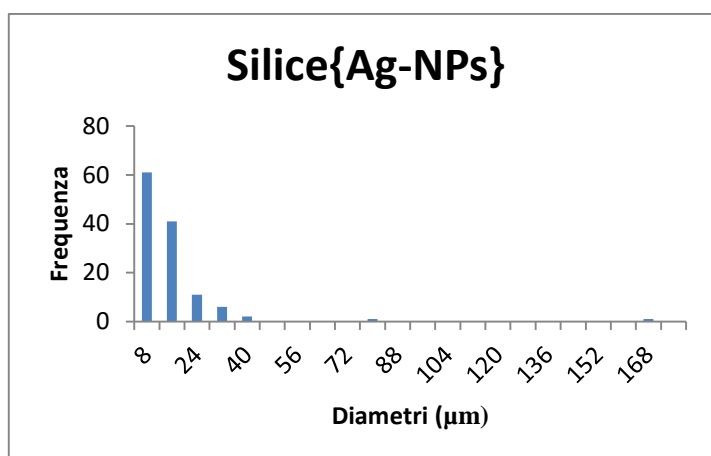


Figura 2.15 – Distribuzione dei diametri delle microcapsule  $\text{Silice}\{\text{Ag-NPs}\}$ .

Le polveri che sono state disperse manualmente in acqua (fig. 2.13), mantengono in gran parte la loro struttura, con un parziale sgretolamento che sembra interessare, nella maggior parte dei casi, solo la superficie, mentre per le particelle più grande presentano anche degli sgretolamenti che interessano anche zone più profonde della microcapsule.

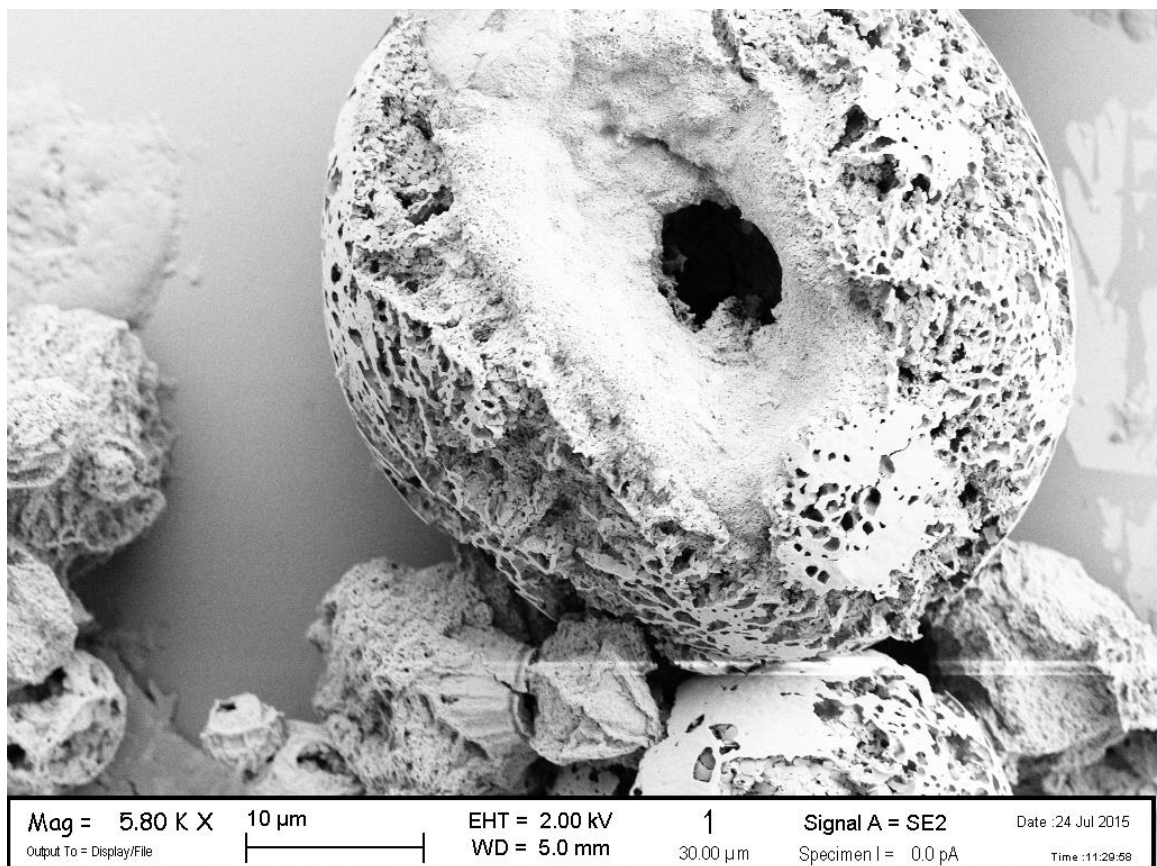
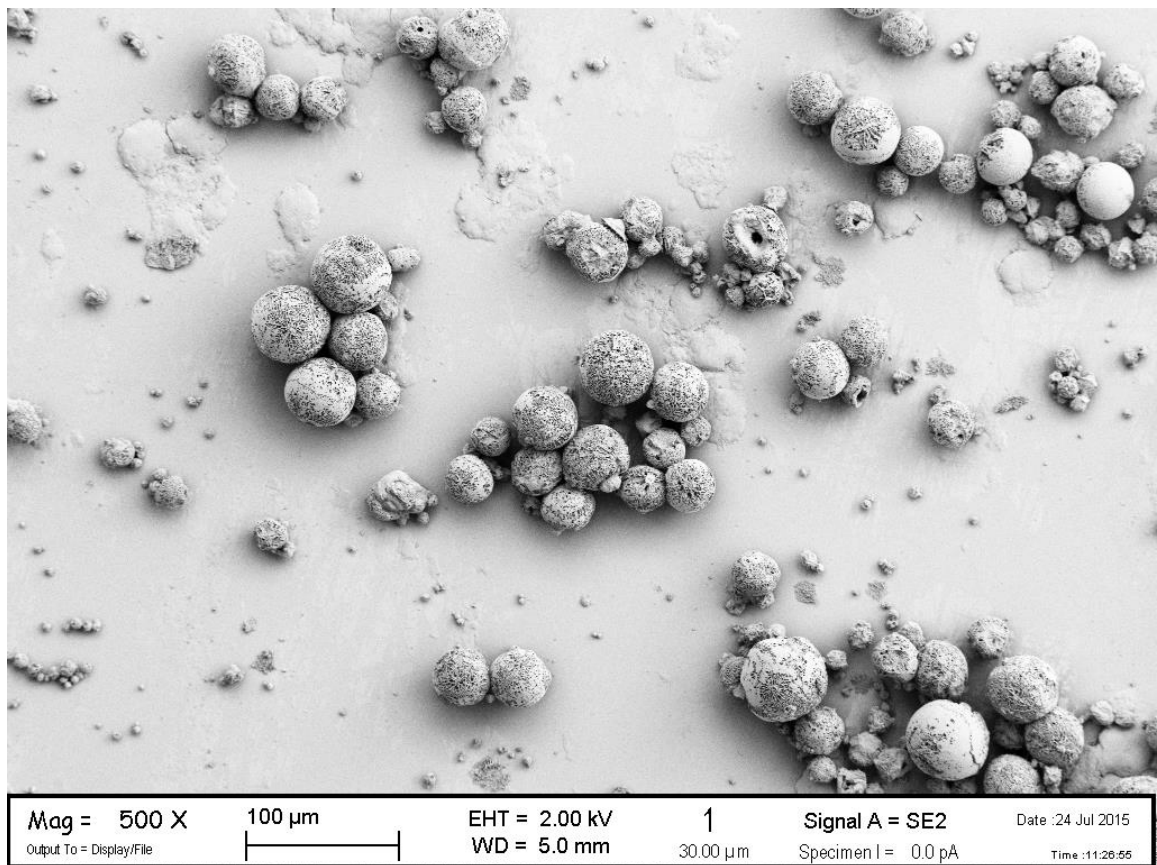


Figura 2.13 – Microcapsule di  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$  disperse in acqua con agitazione manuale viste al SEM-FEG, a due ingrandimenti diversi.

Diverso invece il discorso per le polveri disperse agli ultrasuoni (fig. 2.14), le quali presentano un numero molto esiguo di sfere che mantengono la loro struttura, mentre la maggior parte sono sgretolate indicando, ancora una volta, un effetto negativo degli ultrasuoni sulla struttura dei microincapsulati.

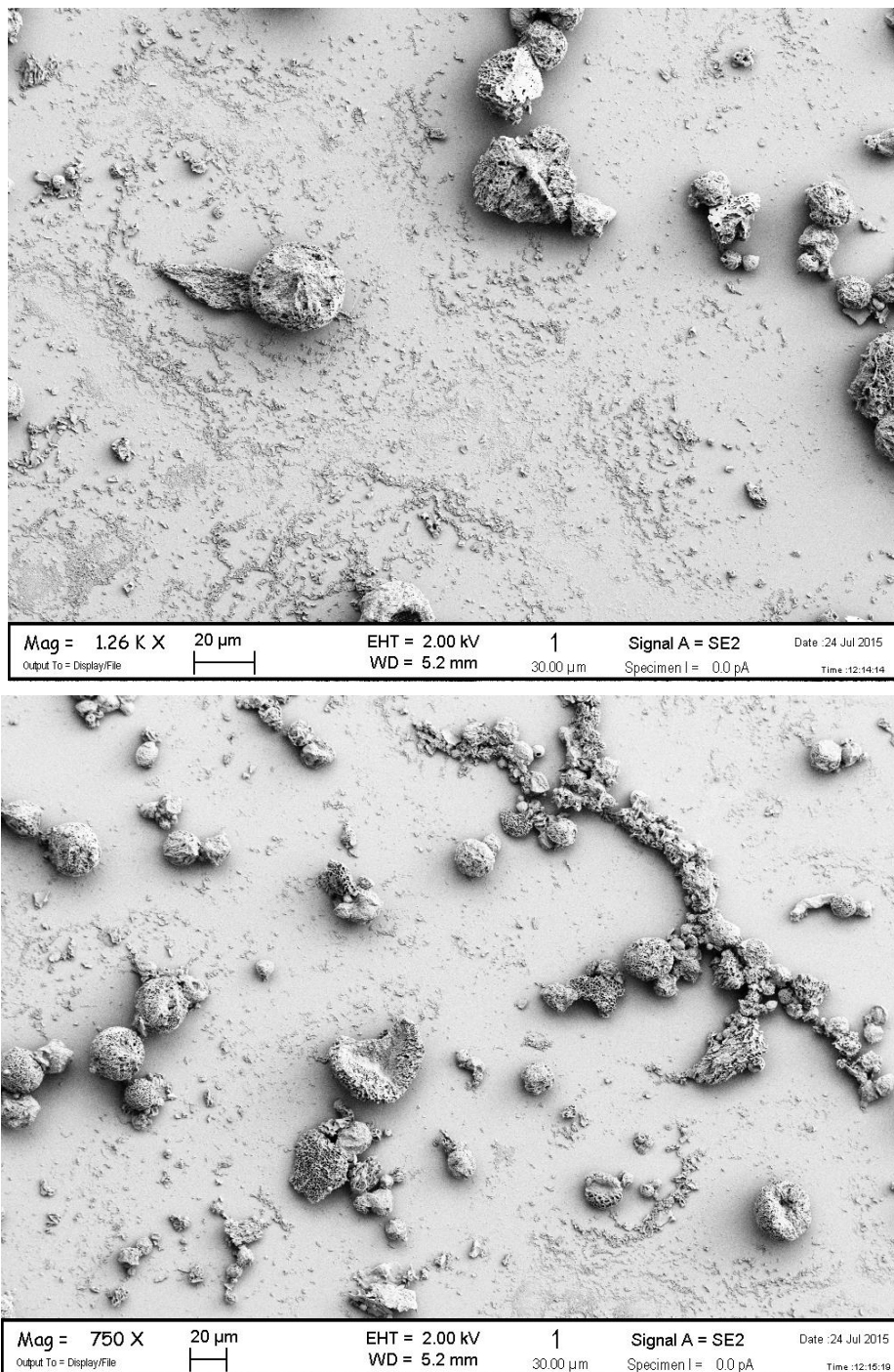


Figura 2.14 – Microcapsule di  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$ , disperse in acqua tramite bagno a ultrasuoni, viste al SEM-FEG, a due ingrandimenti diversi.

Sulle microcapsule in polvere è stata effettuata un'analisi spettroscopica EDX qualitativa per dimostrare la presenza di argento all'interno delle microcapsule. Come si può notare dallo spettro riportato qui di sotto, la spettroscopia EDX conferma la presenza di Ag (fig. 2.16). Non è stato possibile condurre un'analisi quantitativa in quanto l'argento risultava in una concentrazione minore al limite di quantificazione.

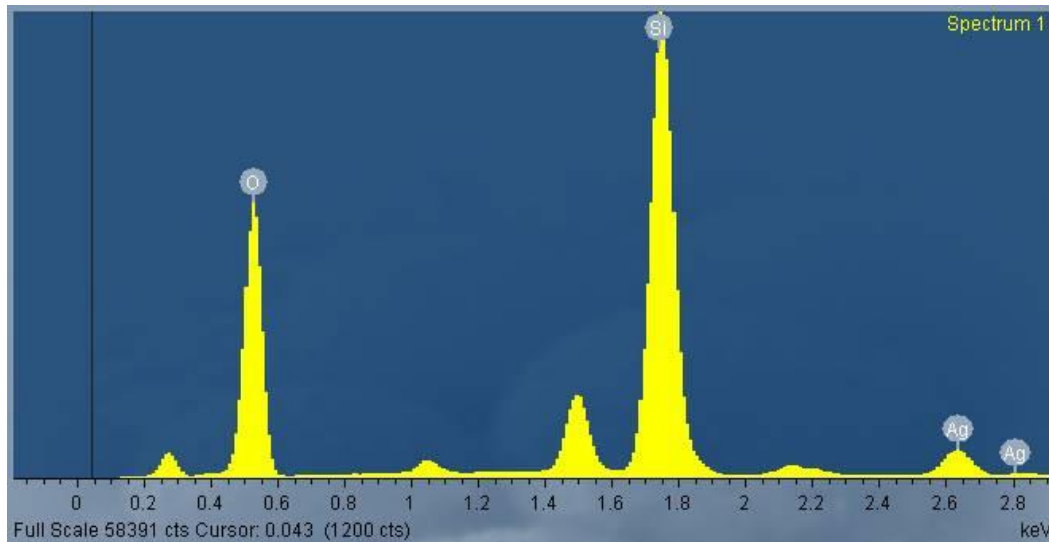


Figura 2.16 – Spettro EDX delle microcapsule  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NP}_s\}$ .

## 2.2 Conclusioni

Microcapsule contenenti nanoparticelle d'argento e aventi come matrice  $\text{SiO}_2$  sono state ottenute con la tecnica dello spray-freeze-drying. Queste microcapsule presentano un diametro medio di circa  $13 \pm 1 \mu\text{m}$  inferiore quindi al diametro medio delle particelle composte da sola matrice di  $\text{SiO}_2$  che hanno invece un diametro medio di  $22 \pm 1 \mu\text{m}$ . Le microcapsule così ottenute hanno un esteso campo di dimensioni quindi sono fortemente polidisperse come si può notare dalle immagini ottenute al SEM.

Inoltre osservando le immagini ottenute al SEM, possiamo notare come queste microcapsule siano molto porose, ciò porta a un aumento della superficie bagnabile, che significa un incremento di reattività. La completa disgregazione delle microcapsule disperse in acqua inoltre non è immediata ma avviene nel tempo e se favorita dalla presenza degli ultrasuoni, ponendo le basi per un rilascio lento delle nanoparticelle d'argento.

Un'analisi qualitativa tramite spettroscopia EDX condotta sulle microcapsule ha escluso la presenza di Ag segregato dalla matrice, confermandola presenza di argento

disperso nella matrice di SiO<sub>2</sub>. Si può quindi affermare che la tecnica di spray-freeze-drying porta alla formazione di microcapsule con matrice di SiO<sub>2</sub> contenenti Ag-NPs.

Gli sviluppi futuri di questo studio prevedono l'analisi del contenuto di argento nei microincapsulati in polvere tramite tecniche quali AAS (Spettroscopia ad assorbimento atomico) o ICP-AES (spettroscopio di emissione atomica a plasma accoppiato induttivamente e successivamente), con la possibilità di verificare il rilascio nel tempo di Ag-NPs e di ioni Ag<sup>+</sup> dalle microcapsule nonché la disgregazione nel tempo di quest'ultime.

## **2.3 Parte Sperimentale**

### **2.3.1 Materiali e Strumentazione**

I seguenti reagenti: silice colloidale (LUDOX CL & LUDOX HS40), sali di argento nitrato (≥99,0%), polivinilpirrolidone in polvere (M<sub>wa</sub> ≈ 29 000), idrossido di sodio in pellets (≥97,0%) sono stati acquistati dalla Sigma Aldrich. D(+)-Glucosio anidro è stato acquistato dalla Merck. L'acqua pura di tipo 2+ utilizzata è stata purificata con sistema Elix Essential (UV) 5 (la resistività a 25°C è normalmente 10-15 MΩ•cm). La vetreria utilizzata per la sintesi di Ag-NPs e per la miscelazione delle due sospensioni è stata lavata con acido nitrico (diluizione 1:10 in volume, da acido nitrico 70% della Sigma Aldrich), quindi lavata con acqua pura e successivamente acetone e infine asciugata all'aria.

La tecnica di spray-freeze-drying per la sintesi delle microcapsule è stata effettuata con il freeze-granulator Lab-scale Granulator LS-2 della PowderPro. Il Liofilizzatore utilizzato è il LYI GT 2-E della SRK System Technik.

Il potenziale ζ è stato misurato con uno Z-probe presente nel DT-310 della Dispersion Technology. Questo strumento basa il suo calcolo su un fenomeno elettroacustico, in particolare il potenziale zeta viene calcolato misurando la corrente del campo elettrico generato dalla vibrazione dei colloidi, indotta dagli ultrasuoni.

Le analisi DLS sono state effettuate in dispersioni acquose utilizzando uno strumento Malvern Zetasizer Nano series Nano SZ.

Per l'acquisizione delle immagini SEM è stato usato un microscopio elettronico a scansione, Sigma della Zeiss, operante a 2.00 o 3.00 kV. Per le immagini delle polveri in dispersione, è stata dispersa una punta di spatola di polvere in 10 ml d'acqua pura. Dopo

l'agitazione, è stata prelevata la sospensione e una goccia è stata posata su un barretta di silicio. La goccia viene seccata sotto una lampada IR. Tutti i provini che sono stati visionati al SEM, sia le polveri che le polveri sospese in acqua, sono state rivestite da uno strato d'oro di 5 nm con un turbo-pumped sputted coater Q150T ES della Quorum. Lo stesso microscopio elettronico a scansione (Sigma della Zeiss), è stato utilizzato insieme a un microanalizzatore a dispersione di energia, modello INCA Energy 300 (Link Analytical - Oxford Instruments) con un rivelatore EDX (monocristallo di silicio drogato con litio) INCAx-act LN2-free analytical silicon drift detector con precisione PentaFet e un microanalizzatore per la spettroscopia EDX. In questo caso il SEM viene portato a un voltaggio di 20 kV.

### **2.3.2 Preparazione di Ag-NPs rivestite da PVP**

Per la preparazione delle Ag-NPs rivestite da PVP si segue una procedura già sviluppata da questo gruppo di ricerca.<sup>[1]</sup> In un pallone da 250 ml a tre colli contenente 90 ml di H<sub>2</sub>O distillata, con agitazione dall'alto, sono stati aggiunti 0,901 g di D-(+)-glucosio, 0,282 g di NaOH e 3,138 g di PVP (polivinilpirrolidone). Questa soluzione viene portata a 70 °C, si aggiungono quindi 0,849 g di nitrato d'argento (AgNO<sub>3</sub>) disciolti in 10 ml di H<sub>2</sub>O distillata, e si lascia reagire il tutto a 70°C per 3 min. Il prodotto è una soluzione da 100 ml di colore giallo-marrone contenente Ag-NPs rivestite da PVP. A differenza del metodo descritto nell'articolo, per riscaldare la sospensione si è utilizzato un mantello riscaldante invece del forno a microonde.

### **2.3.3 Preparazione della miscela di SiCAg-P**

La miscela viene preparata miscelando in un rapporto 1:1 una sospensione di SiO<sub>2</sub> colloidale (LUDOX<sup>®</sup> CL), con la sospensione preparata precedentemente di Ag-NPs rivestite da PVP. Le sospensioni di partenza presentano rispettivamente una percentuale di SiO<sub>2</sub> del 30 wt% e una percentuale in peso di Ag-NPs dello 0,51 wt%. Una volta che queste due sospensioni sono state miscelate, si ottiene una miscela contenente una percentuale di SiO<sub>2</sub> pari al 15 wt% e una di Ag-NPs pari allo 0,255 wt%. Ciò porta a un rapporto in peso di SiO<sub>2</sub>/Ag-NPs pari a 58,8:1.

Per scegliere questo rapporto, è stata effettuata una stima per quantificare il numero di particelle di SiO<sub>2</sub> che servono a ricoprire una nanoparticella d'argento. Per semplificare, è stato considerato che le particelle di SiO<sub>2</sub> avessero tutte lo stesso volume, la stessa semplificazione è stata fatta per le Ag-NPs. In questo metodo per quantificare il

numero di particelle di SiO<sub>2</sub> utili a ricoprire una Ag-NP, si è calcolato il volume dell'intero eterocoagulato, considerando quindi come raggio dell'eterocoagulato il raggio della Ag-NPs sommato al diametro delle particelle di SiO<sub>2</sub>. È stato poi calcolato il volume della nanoparticella d'argento, si è quindi sottratto questo volume al volume dell'eterocoagulato, il volume restante è quello della corona sferica, nel quale sono presenti le sole particelle di SiO<sub>2</sub>. Dividendo il volume della corona sferica per il volume di una sola particella di SiO<sub>2</sub> si ottiene il numero di particelle di SiO<sub>2</sub> utili a ricoprire una Ag-NP. Considerando che il raggio delle particelle di SiO<sub>2</sub> è 23,65 nm, mentre quello dell'Ag-NP è 31,3 nm (valori calcolati dai diametri ottenuti con il DLS), otteniamo che il numero di particelle di SiO<sub>2</sub> utili a ricoprire una Ag-NP è 70,74. Questo valore è però una sovrastima in quanto non considera che il volume della corona sferica non è composto solamente dal volume delle particelle di SiO<sub>2</sub> ma anche dal volume occupato dagli interstizi che ci sono tra una particella e l'altra. Quindi con una miscela delle due sospensioni in rapporto 1:1 si ottiene un rapporto delle particelle 58,8:1, che può essere un valore ragionevole.

#### 2.3.4 Processo di Spray-Freeze-Drying

La sospensione da processare viene posta in un becher, sotto agitazione magnetica. La sospensione viene pompata da una pompa peristaltica, che lavora a 40 rpm, dentro un tubicino dal diametro di 0,5 mm, e fuoriesce attraverso un ugello, con il foro di uscita di diametro 100 µm, in un becher contenente azoto liquido tenuto in agitazione da un'ancoretta magnetica (fig 2.17). L'atomizzazione si ottiene insufflando nell'ugello, oltre alla sospensione, del gas d'azoto a 0,4mbar .



Figura 2.17 – Spray-Freeze Granulator (lab-scale granulator LS-2).

In pratica la sospensione viene atomizzata all'interno di un bagno di azoto liquido ( $T = 77 \text{ K}$ ). In questo modo le gocce si congelano e vengono sublimare, successivamente, all'interno di un liofilizzatore. Il liofilizzatore porta le gocce congelate a una pressione di 1,5 mbar e a una temperatura iniziale di  $-1 \text{ }^\circ\text{C}$ , dovuta al fatto che la piastra su cui appoggiano le particelle, è stata precedentemente tenuta a riposo in un freezer di tipo domestico.

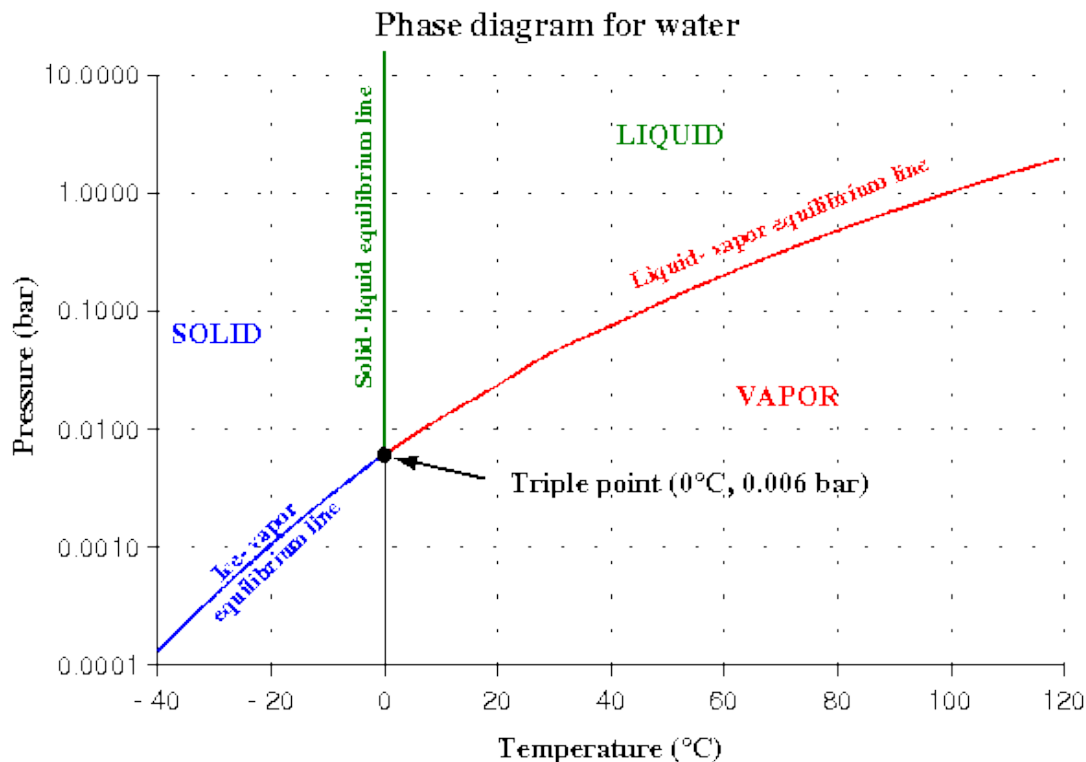


Figura 2.18 – Diagramma di stato dell'acqua.

La temperatura tende poi a salire, portandosi a temperatura ambiente, e ciò porta ad un aumento della velocità di sublimazione. È importante però che le gocce stiano al di sotto degli  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  finché la pressione non scende sotto i 6 mbar (punto triplo del diagramma di stato dell'acqua), in modo che non ci sia una fusione del ghiaccio, che potrebbe portare a un disgregamento delle particelle presenti nelle gocce (fig 2.18). Una volta scesi al di sotto del punto triplo ci si trova in una zona in cui il ghiaccio viene sublimato in vapore acqueo il quale subisce un brinamento nella camera di condensazione collegata alla camera di sublimazione, dove sono poste le polveri (fig. 2.19).



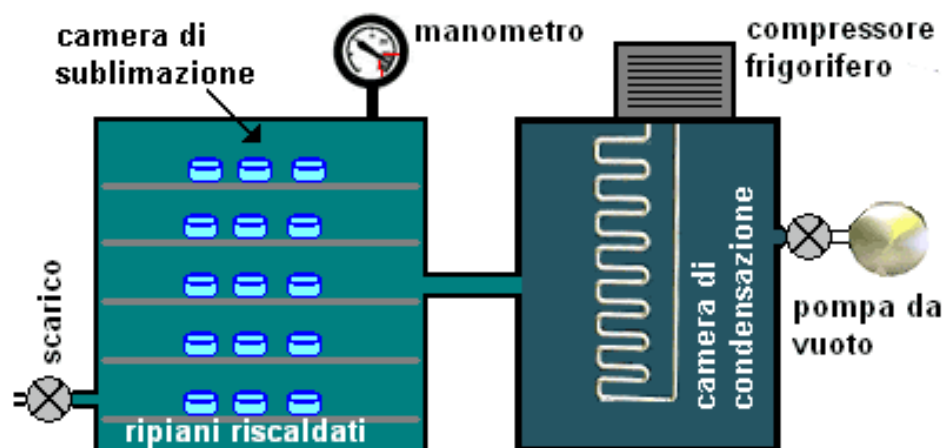


Figura 2.19 – Schema di un liofilizzatore.

Il processo di liofilizzazione dura 48 h al termine delle quali ciò che rimane all'interno della camera di liofilizzazione sono la matrice solida e l'eventuale fase incapsulata che risultano visibili macroscopicamente come polvere.

## Bibliografia

<sup>1</sup> M. Blosi, S. Albonetti, S. Ortelli, A. L. Costa, L. Ortolani, M. Dondi, *New J. Chem.*, 38, 1401, 2014.

<sup>2</sup> [imagej.nih.gov/ij/](http://imagej.nih.gov/ij/)

fig. 2.2 [chemistry.elmhurst.edu/vchembook/548bloodglucose.html](http://chemistry.elmhurst.edu/vchembook/548bloodglucose.html)

fig. 2.17 [powderpro.se/wp-content/uploads/2013/05/LS-2-Lab-scale-Freeze-Granulator.jpg](http://powderpro.se/wp-content/uploads/2013/05/LS-2-Lab-scale-Freeze-Granulator.jpg)

fig. 2.18 [www.matteocattadori.it/imgsdoc/chtecalim-disp/water-phases.gif](http://www.matteocattadori.it/imgsdoc/chtecalim-disp/water-phases.gif)

fig. 2.19 [www.galenotech.org/preparazioni/schemaliof.gif](http://www.galenotech.org/preparazioni/schemaliof.gif)

### 3 - MICROCAPSULE DI AMIDO CONTENENTI NANOPARTICELLE DI ARGENTO

L'idea di questo studio era quella di sfruttare la caratteristica dell'amido di formare dei gel, per usarlo come matrice di una microcapsula. Una miscela di gel d'amido e una sospensione di nanoparticelle d'argento rivestite da PVP è stata quindi processata tramite tecnica spray-freeze seguita da liofilizzazione, al fine di ottenere delle microcapsule di amido contenenti le Ag-NPs (d'ora in poi denominate amido{Ag-NPs}). Come prima cosa si è voluto studiare dal punto di vista reologico la capacità dell'amido di formare gel, in modo da poter scegliere la tipologia e la concentrazione di amido che meglio serviva allo scopo. Il gel d'amido selezionato è stato poi successivamente processato allo spray-freeze-drying, ed è stata eseguita una caratterizzazione su di esso. Il passaggio successivo è stato quello di incorporare la sospensione di Ag-NPs al gel d'amido, e processare il tutto tramite spray-freeze seguito da liofilizzazione. In questo modo si è cercato di ottenere delle microcapsule di amido{Ag-NPs} di tipo *matrix* che sono state poi caratterizzate (fig 3.1).

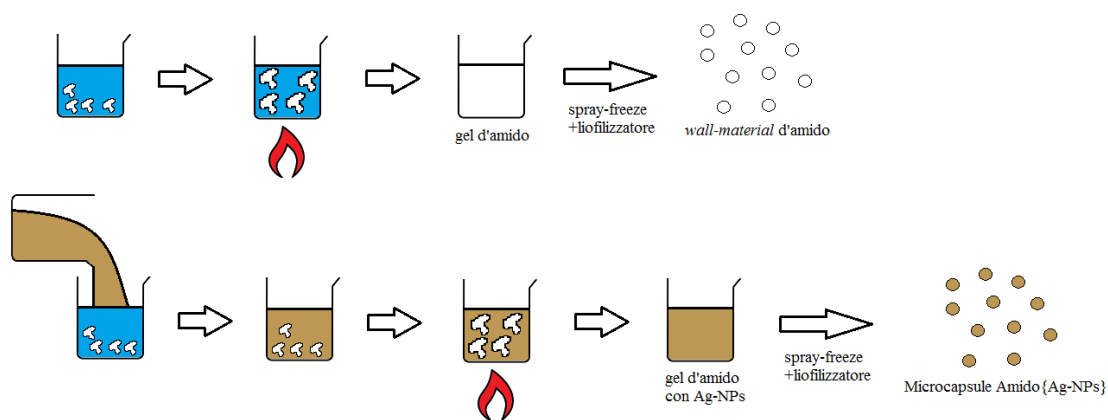


Figura 3.1 – Schema delle due fasi.

La matrice di gel d'amido da sola, il sistema incapsulante di gel d'amido con Ag-NPs (Amido{Ag-NPs}), le sospensioni e miscele di partenza sono state caratterizzate con diverse tecniche quali: caratterizzazione delle proprietà reologiche (Viscosimetro Brabender), distribuzione della dimensione delle particelle (DLS), microscopio SEM-FEG, spettroscopia SEM-EDX.

### 3.1 Risultati e Discussioni

#### 3.1.1 Studio Preliminare sulla Gelatinizzazione dell'Amido

Per scegliere l'amido adatto da utilizzare come matrice della microcapsula, sono stati eseguiti dei test di viscosità su diversi tipi di amido.

Questi test sono stati effettuati presso lo stabilimento di Castelmassa (RO) della Cargill, multinazionale statunitense, attiva principalmente nel settore alimentare. In particolare nello stabilimento di Castelmassa si occupano di amidi e effettuano prove di viscosità dell'amido con il viscosimetro Brabender, che è un viscosimetro studiato apposta per caratterizzare gli amidi. Gli amidi che sono stati ispezionati sono tre:

- amido di mais regolare (28 wt% amilosio – 72 wt% amilopectina);
- amido di mais waxy (1 wt% amilosio – 99% amilopectina);
- amido di frumento (28 wt% amilosio – 72 wt% amilopectina).

Per ogni mais sono state caratterizzate tre sospensioni con tre diverse percentuali in peso di mais: 6, 8, 10%wt. Inizialmente sono stati dispersi a temperatura ambiente i diversi tipi di amido che sono stati poi preriscaldati fino a 50 °C. Le sospensioni, così ottenute, sono state poi scaldate fino a 95 °C in mezz'ora (velocità di riscaldamento = 1,5 °C/min), mantenendole a 95 °C per mezz'ora e infine sono state raffreddate fino a 50 °C per mezz'ora (velocità di raffreddamento = -1,5° C/min). Durante il riscaldamento, il mantenimento a 95 °C e il successivo raffreddamento, la viscosità delle sospensioni d'amido è stata monitorata in funzione della temperatura (fig. 3.2). E' stato così possibile ricavare alcuni dati molto caratterizzanti dei sistemi messi a confronto come la temperatura e la viscosità del picco di gelatinizzazione (B) e la viscosità dopo la fase di raffreddamento (D), detta anche di retrogradazione.

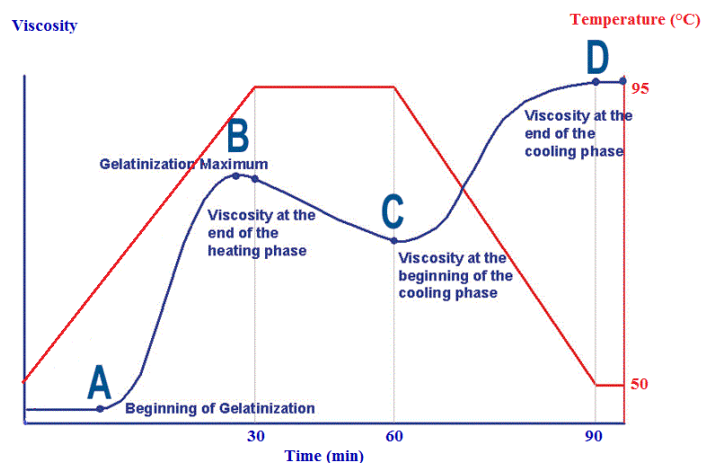


Figura 3.2 – Schema del grafico di monitoraggio della viscosità di un amido con viscosimetro Brabender.

Tabella 3.1 – Dati di viscosità dei diversi amidi alle diverse concentrazioni.

campione	T picco (°C)	μ picco (BU)	μ finale (BU)
Amido Mais Reg. 6%	92,5	440	770
Amido Mais Reg. 8%	91,1	1221	1750
Amido Mais Reg. 10%	89,3	2481	3025
Amido Mais Waxy 6%	75,2	1358	521
Amido Mais Waxy 8%	73,8	2363	815
Amido Mais Waxy 10%	72,5	3025	1147
Amido Frumento 6%	94,6	94	216
Amido Frumento 8%	93,8	386	798
Amido Frumento 10%	93,0	1306	2482

Da una analisi dei grafici dei quali sono stati riportati solo i valori più significativi nella Tabella 3.1 è stato possibile notare come la viscosità tendesse ad aumentare in maniera esponenziale sopra i 70 °C, e come la temperatura a cui raggiunge un suo picco massimo in fase di riscaldamento fosse correlata alla percentuale di amilopectina contenuta nell'amido, in particolare maggiore è la percentuale di amilopectina, minore risulta la temperatura a cui la viscosità raggiunge il picco massimo. Inoltre, anche se in minima parte, la concentrazione di amido tende a influenzare anch'essa la temperatura in cui la viscosità raggiunge il picco, maggiore è la concentrazione di amido, minore è la temperatura a cui la viscosità raggiunge il suo massimale in fase di riscaldamento. Una volta che il sistema ha raggiunto il massimo di viscosità, quest'ultima tende a calare, nonostante che la temperatura venga mantenuta costante per ulteriori 30 minuti, molto probabilmente a causa di uno stress fisico causato dallo strumento. In fase di raffreddamento, quando l'amido tende a ricristallizzare, la viscosità aumenta nuovamente in maniera esponenziale portandosi a valori di viscosità maggiori di quelli che si hanno in fase di riscaldamento (fig. 3.3). Tenendo conto di tutte queste osservazioni, si è selezionato come amido migliore allo scopo della tesi quello ricavato da mais regolare, in quanto presenta una viscosità alla concentrazione più alta, intermedia tra quella dell'amido waxy e quella dell'amido di frumento. La scelta della concentrazione maggiore possibile ad una viscosità intermedia risulta favorevole poichè a viscosità o concentrazioni troppo basse il gel di amido potrebbe non essere in grado di "intrappolare" al suo interno le Ag-NPs, mentre a viscosità troppo elevate si potrebbero riscontrare delle difficoltà nel far scorrere il gel attraverso i tubi dello spray-freeze, con possibilità di occludere l'ugello. Inoltre, viene preferito l'amido di mais regolare rispetto a quello waxy perché la retrogradazione dell'amido di mais regolare porta alla formazione di un gel solido con un reticolo tridimensionale, che è proprio quello che si

vuole avere come matrice della microcapsula. Mentre la pasta d'amido waxy retrogradandosi forma un gel meno compatto, che contiene aggregati ma non un network tridimensionale.<sup>[1]</sup>

### 3.1.2 Sintesi e Caratterizzazione della matrice d'amido

Le matrici d'amido sono state ottenute, processando con lo spray-freeze-drying, una sospensione con il 10 wt% di amido di mais regolare. Le matrici d'amido sono state processate con due metodiche differenti. Nella prima metodica, la sospensione di amido di mais regolare 10 wt% è stata scaldata sotto agitazione tramite agitatore magnetico riscaldante, una volta che ha raggiunto i 90 °C, è stata processata allo spray-freeze e successivamente liofilizzata, portando alla formazione di matrici d'amido denominate ARC. Nella seconda metodica la matrice dopo che la sospensione è stata scaldata a 90 °C, viene fatta raffreddare fino a temperatura ambiente e poi processata allo spray-freeze e successivamente liofilizzata, portando alla formazione di matrici d'amido denominate ARF. Al SEM-FEG sono state visionate le matrici ARC e ARF in due forma di polvere, mentre al microscopio stereoscopico sono state osservate le polveri disperse in acqua distillata, manualmente per 1 minuto.

La matrice ARC al microscopio a scansione elettronica si presenta in forma di particelle sferiche che tendono a formare degli aggregati (fig. 3.3).

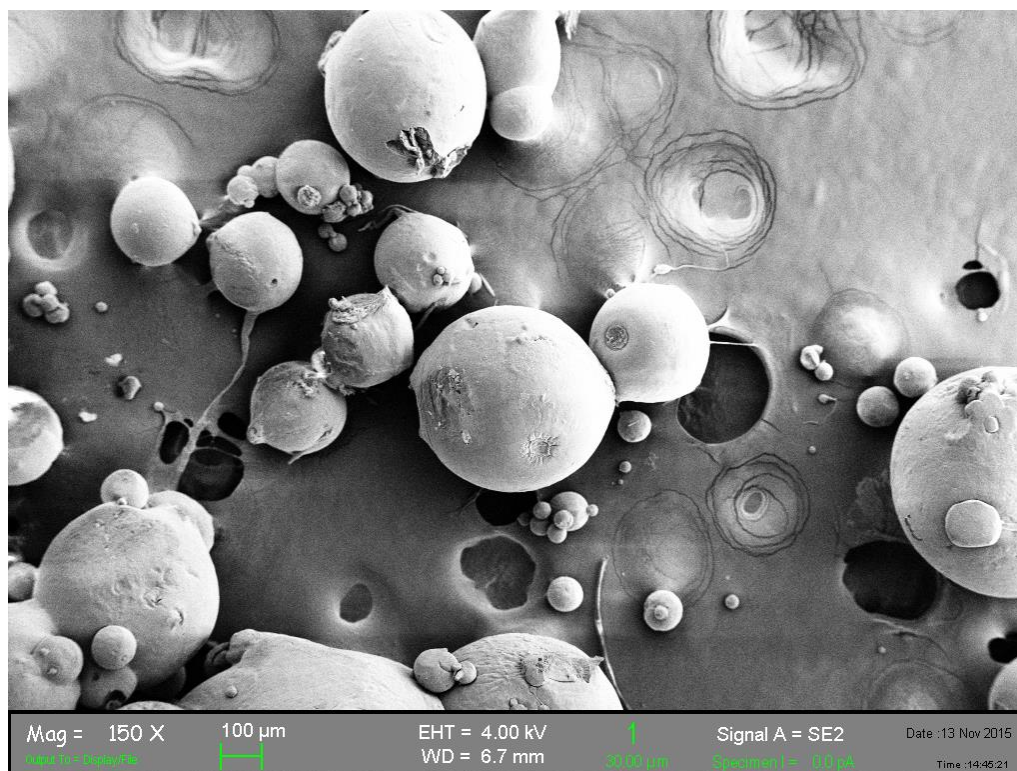


Figura 3.3 – matrice d'amido ARC visionata al SEM-FEG.

Le particelle sono fortemente polidisperse. La parte esterna sembra presentare un guscio compatto, mentre l'interno è molto poroso (fig. 3.4).

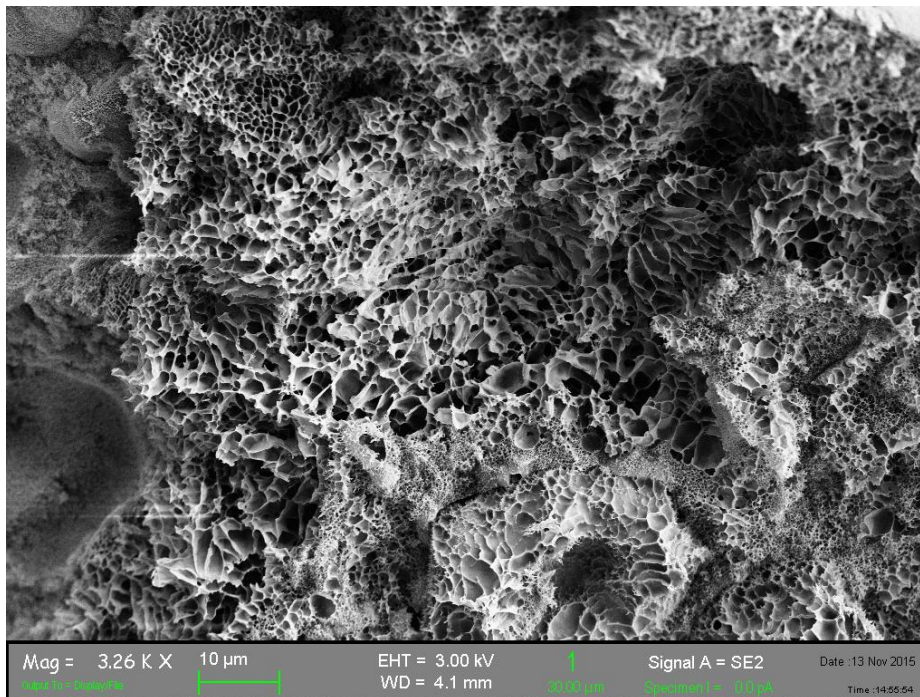


Figura 3.4 – interno di una matrice d'amido ARC visionata al SEM-FEG.

La particelle di matrice d'amido ARC disperse in acqua, viste al microscopio stereoscopico sembrano mantenere la loro forma sferica. Si nota inoltre una struttura interna molto porosa (fig. 3.5).

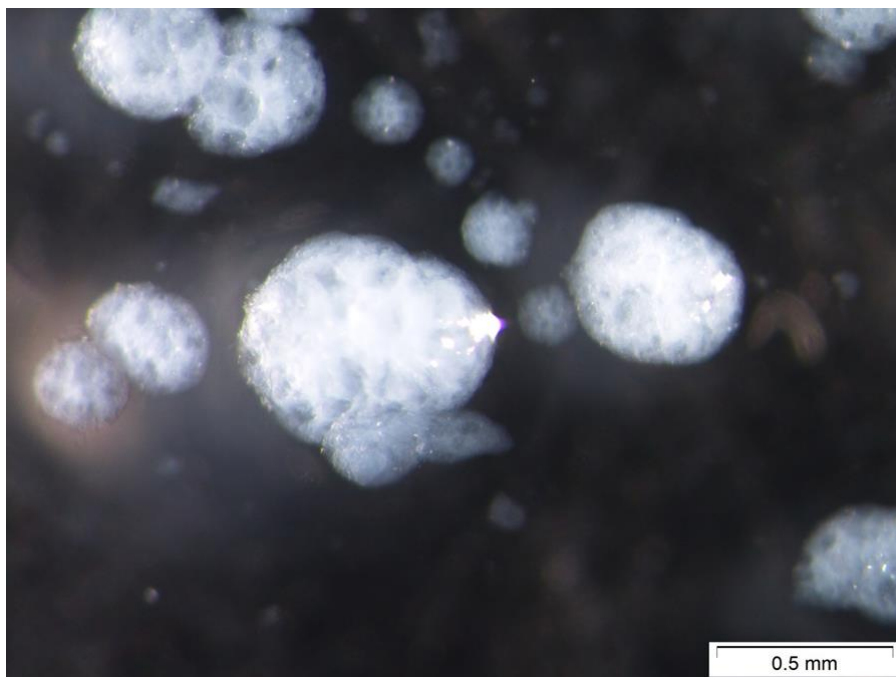


Figura 3.5 matrice d'amido ARC dispersa in acqua visionata al microscopio stereoscopico

Il diametro delle particelle va da un minimo di 4  $\mu\text{m}$  a un massimo di 627  $\mu\text{m}$ , la media è 112 $\pm$ 1  $\mu\text{m}$  (fig 3.6).

Matrice ARC	
Media	112 $\mu\text{m}$
Errore standard	11 $\mu\text{m}$
Mediana	65 $\mu\text{m}$
Moda	33 $\mu\text{m}$
Deviazione standard	126
Varianza campionaria	16089
Intervallo	623 $\mu\text{m}$
Minimo	4 $\mu\text{m}$
Massimo	627 $\mu\text{m}$
Somma	14455 $\mu\text{m}$
Conteggio	129

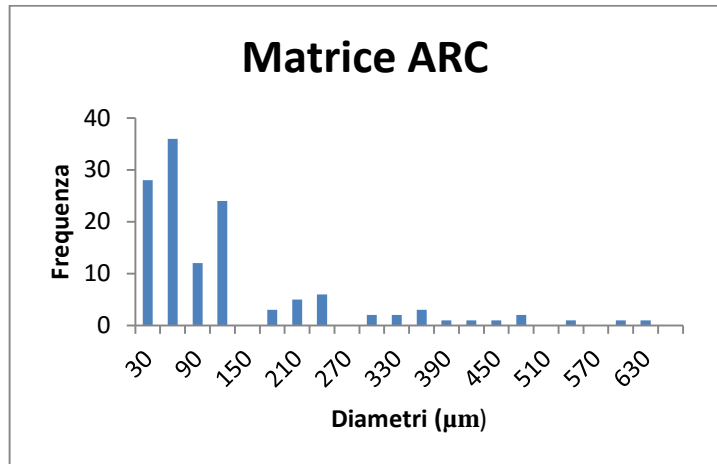


Figura 3.6 –Diametro delle particelle di matrice d’amido ARC.

Per quanto riguarda la matrice denominata ARF, anche in questo caso la matrice si presenta in forma di particelle sferiche che tendono a formare degli aggregati (fig. 3.7). Le particelle sono fortemente polidisperse.

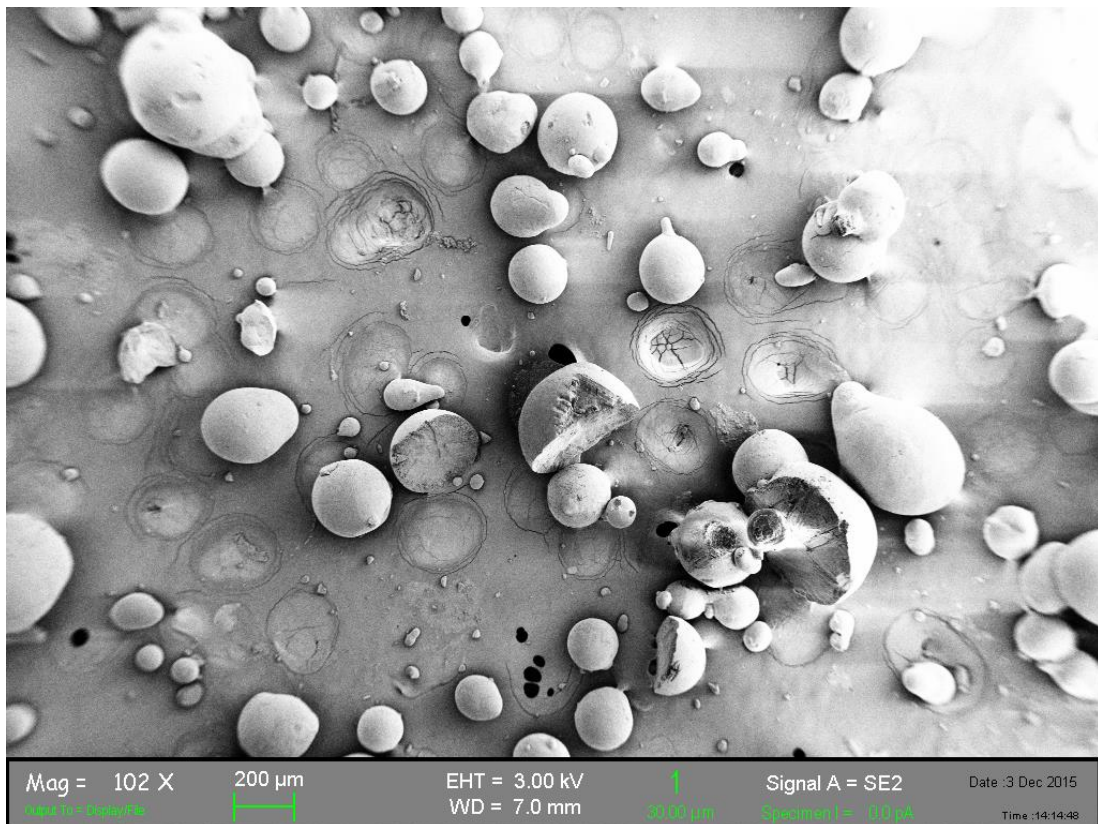


Figura 3.7 – matrice d’amido ARF visionata al SEM-FEG.

La parte esterna sembra presentare un guscio compatto, mentre l'interno è molto poroso (fig. 3.8).

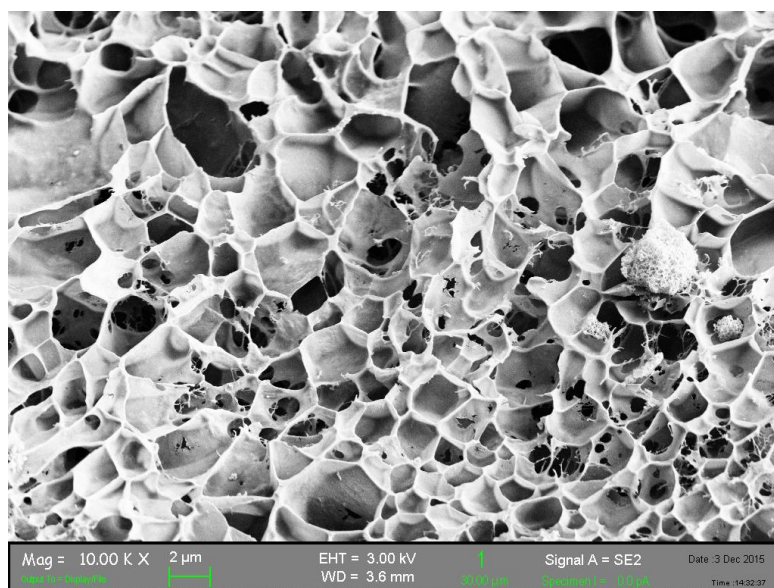


Figura 3.8 – interno di una matrice d'amido ARF visionata al SEM-FEG.

Il diametro delle particella va da un minimo di 8,07 µm a un massimo di 341,84 µm, la media è 101,92 µm , (fig. 3.9). Il diametro medio delle particelle di matrice ARF è circa il quintuplo di quelle di matrice ARC. L'ottenimento di particelle molto più grandi, processando la matrice di amido a temperatura ambiente è imputabile alla reticolazione tridimensionale ulteriore che si ha in fase di retrogradazione con un aumento del volume dei granuli, una volta rimossa l'acqua per liofilizzazione. . Possiamo notare che sono anche meno polidisperse delle particelle matrice ARC in quanto sia il valore di varianza campionaria che quella di deviazione standard sono minori rispetto a quelli della matrice ARC.

Matrice ARF	
Media	101 µm
Errore standard	7 µm
Mediana	72 µm
Moda	21 µm
Deviazione standard	87
Varianza campionaria	7706
Intervallo	333 µm
Minimo	8 µm
Massimo	341 µm
Somma	12434 µm
Conteggio	122

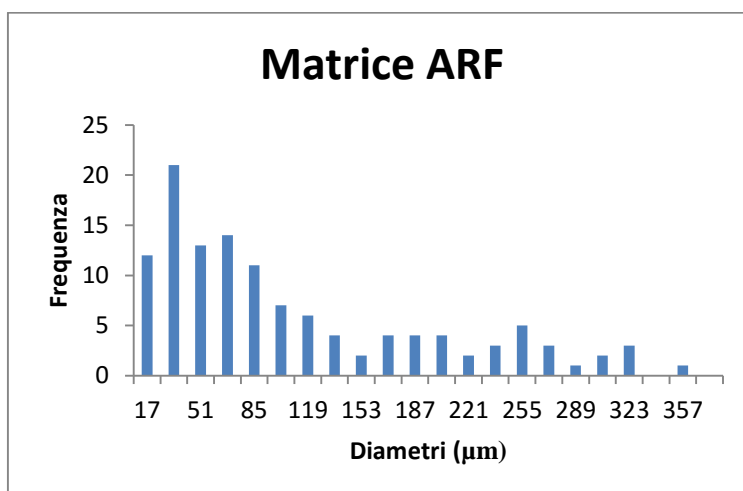


Figura 3.9 – Distribuzione dei diametri delle particelle di matrice d'amido ARF.



Le particelle di matrice d'amido ARF disperse in acqua si comportano analogamente alla particelle ARC: le particelle ARF tendono a mantenere la loro forma sferica, inoltre è visibile anche la loro porosità (fig. 3.10).

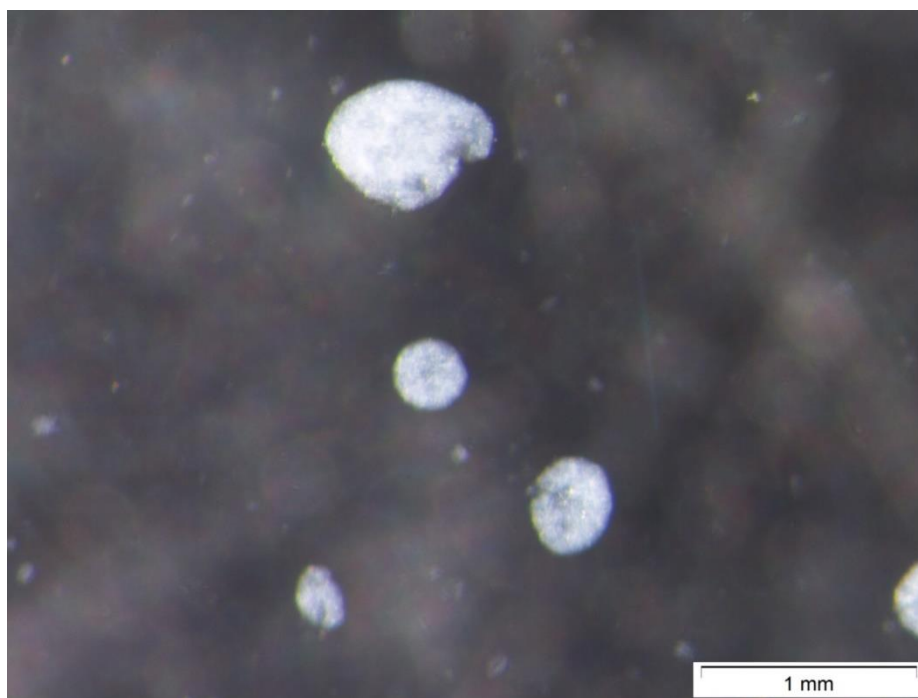


Figura 3.10 matrice d'amido ARF dispersa in acqua visionata al microscopio Stereoscopico.

### 3.1.3 Sintesi e Caraterizzazione di Microcapsule Amido{Ag-NPs}

Le microcapsule con matrice d'amido, con all'interno Ag-NPs (ottenute come descritto nel paragrafo 2.1.1) sono state sintetizzate seguendo quattro diverse metodiche di seguito elencate.

- A una sospensione d'amido in acqua è stata aggiunta la sospensione di Ag-NPs. La miscela così ottenuta, è stata scaldata fino a 90°C, in modo che l'amido formi il gel. Una volta che si è formato il gel, la miscela viene processata allo spray-freeze a 90°C e successivamente al liofilizzatore (campione denominato 3RC).
- Questa metodica è uguale alla precedente ma la miscela è stata raffreddata fino a temperatura ambiente prima di essere processata allo spray-freeze e successivamente al liofilizzatore (campione 3RF).
- Per la terza metodica la sospensione d'amido è stata scaldata fino a 90°C, in modo che si formasse il gel d'amido. Appena il gel si è formato, è stato miscelato alla sospensione di Ag-NPs. Mantenendo la temperatura a 90°C, dopo che le due sospensioni sono state mescolate, la miscela risultante è stata processata allo spray-freeze e successivamente al liofilizzatore (campione 4RC).

- La quarta metodica è analoga alla precedente ma in questo caso la miscela è stata raffreddata fino a temperatura ambiente prima di essere processata allo spray-freeze e successivamente al liofilizzatore (campione 4RF).

Le quattro metodiche sono riassunte in Tabella 3.2.

Tabella 3.2 – Riepilogo delle quattro metodiche.

Amido{Ag-NPs}		Aggiunta Ag-NPs	
		T amb	90°C
Processo	T amb	3RF	4RF
	90°C	3RC	4RC

I campioni sono stati analizzati al SEM-FEG e al microscopio stereoscopico in una dispersione acquosa. Inoltre su tutti i campioni ottenuti dopo la liofilizzazione è stata effettuata un'analisi spettroscopica EDX. Le analisi spettroscopiche EDX sono tutte di carattere qualitativo, non è stato possibile farle quantitative in quanto la quantità di argento era sotto il limite di quantificazione in tutte i campioni.

Le microcapsule ottenute con la prima metodica (3RC) si presentano come particelle aventi una forma non perfettamente sferica, c'è una minor presenza di agglomerati, che sono praticamente inesistenti a differenza delle particelle di sola matrice d'amido (fig. 3.11).

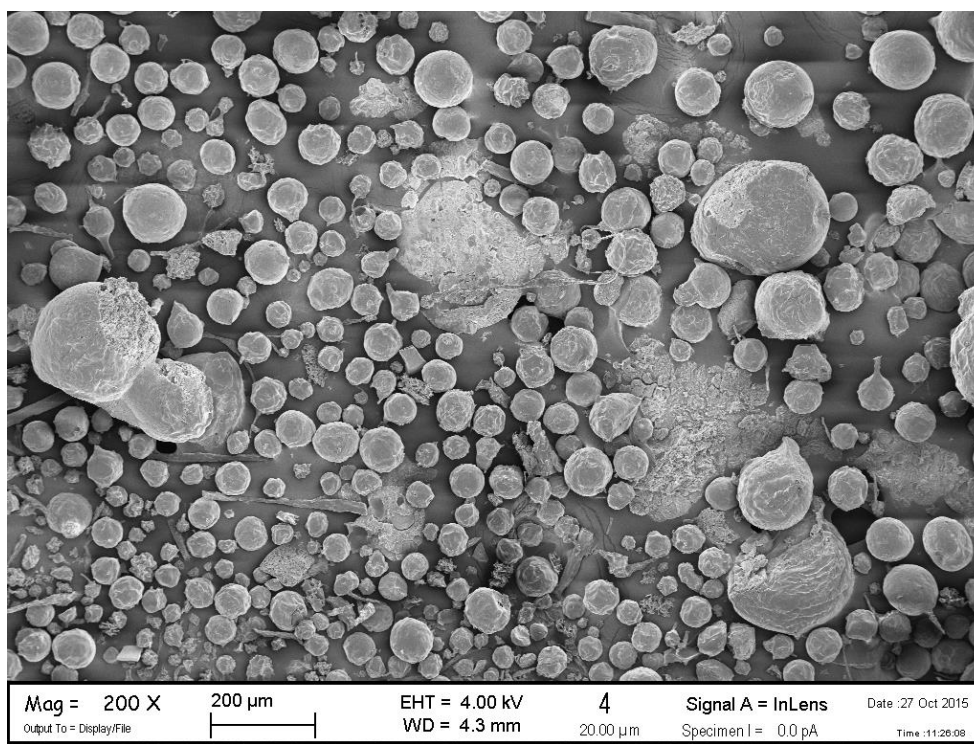


Figura 3.11 – Immagine del campione 3RC ottenuta al SEM-FEG.

La superficie si presenta senza porosità, mentre l'interno delle particelle è molto poroso come si può notare dall'immagine ottenuta la SEM-FEG (fig. 3.12).

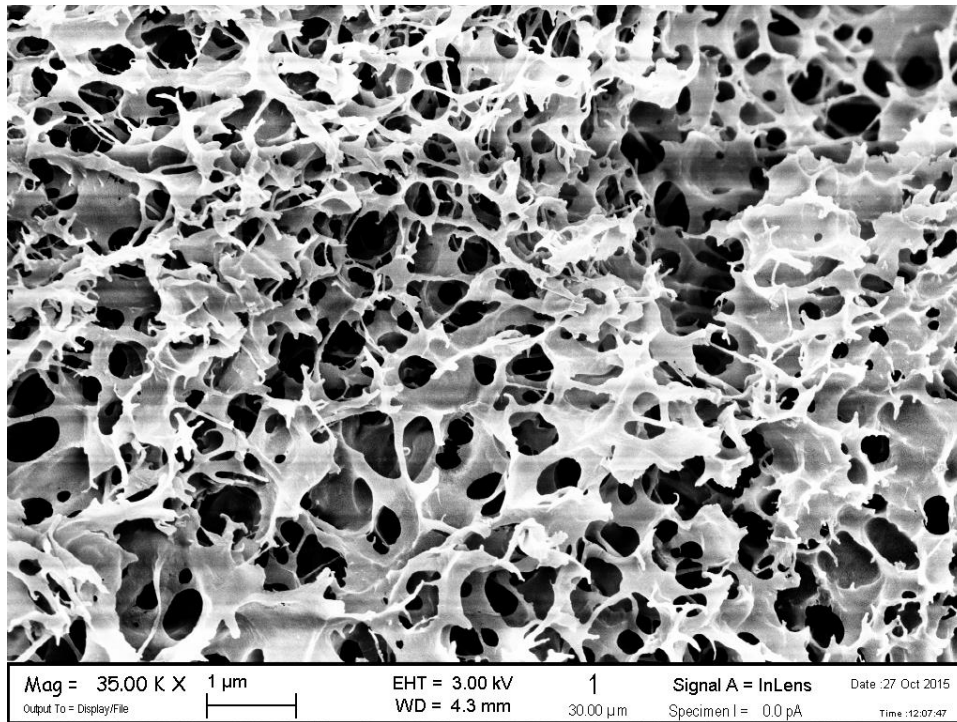


Figura 3.12 – Immagine dell'interno di una particella del campione 3RC ottenuta al SEM-FEG.

Il diametro delle particelle va da un minimo di 16  $\mu\text{m}$  a un massimo di 215  $\mu\text{m}$ , la media è  $55 \pm 2 \mu\text{m}$ , (fig. 3.13). Anche se fortemente polidisperse, le dimensioni delle particelle sembrano essere molto più uniformi rispetto alle dimensioni della sola matrice ARC (confrontando i valori di varianza campionaria e deviazione standard). La presenza quindi della sospensione di Ag-NPs potrebbe portare alla formazione di particelle con dimensioni più uniformi, anche se comunque fortemente polidisperse.

Campione 3RC	
Media	55 $\mu\text{m}$
Errore standard	2 $\mu\text{m}$
Mediana	51 $\mu\text{m}$
Moda	34 $\mu\text{m}$
Deviazione standard	29
Varianza campionaria	861
Intervallo	199 $\mu\text{m}$
Minimo	16 $\mu\text{m}$
Massimo	215 $\mu\text{m}$
Somma	6872 $\mu\text{m}$
Conteggio	123

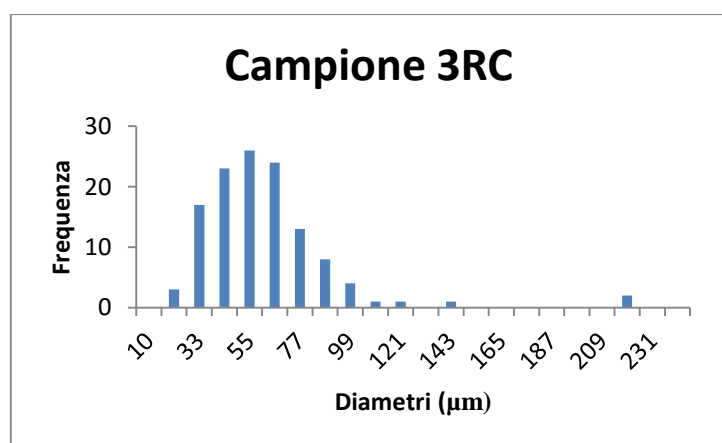


Figura 3.13 - Distribuzione dei diametri delle Microcapsule 3RC.

Le analisi di spettroscopia EDX hanno confermato la presenza di argento all'interno delle particelle (fig. 3.14).

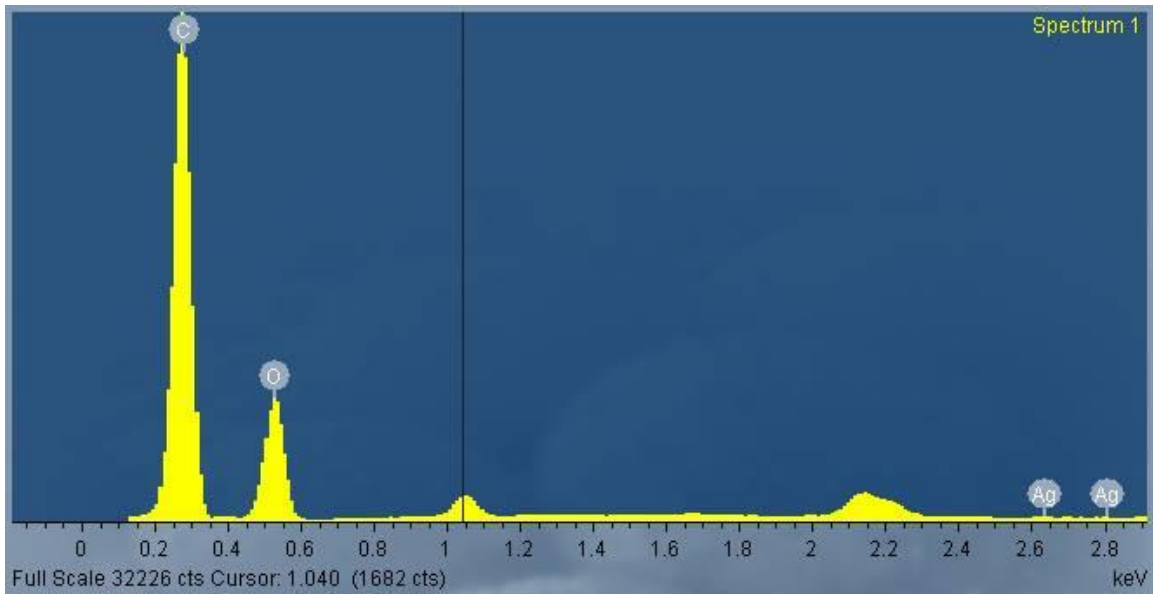


Figura 3.14 - Spettro EDX di una microcapsula del campione 3RC.

Anche se da questa immagine sembra che le particelle disperse in acqua formino degli aggregati in realtà esse sono distaccate le une dalle altre e mantenendo la loro forma sferica (fig. 3.15).

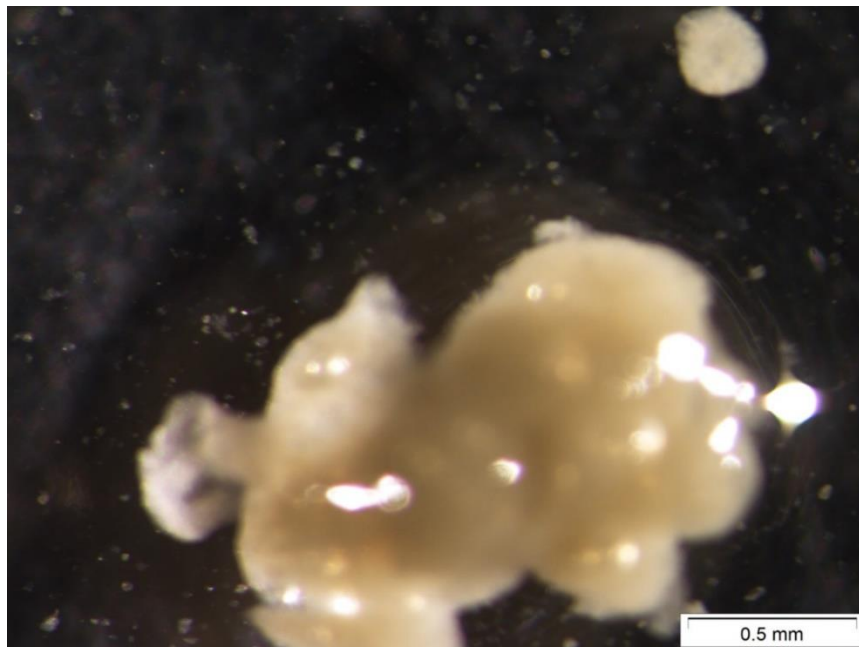


Figura 3.15 - microcapsule 3RC disperse in acqua visionata al microscopio Stereoscopico.

Le microcapsule 3RF si presentano come particelle con una forma maggiormente sferica rispetto alle microcapsule 3RC, però la superficie si presenta porosa, inoltre alcune particelle presentano alcune fratture (fig. 3.16).

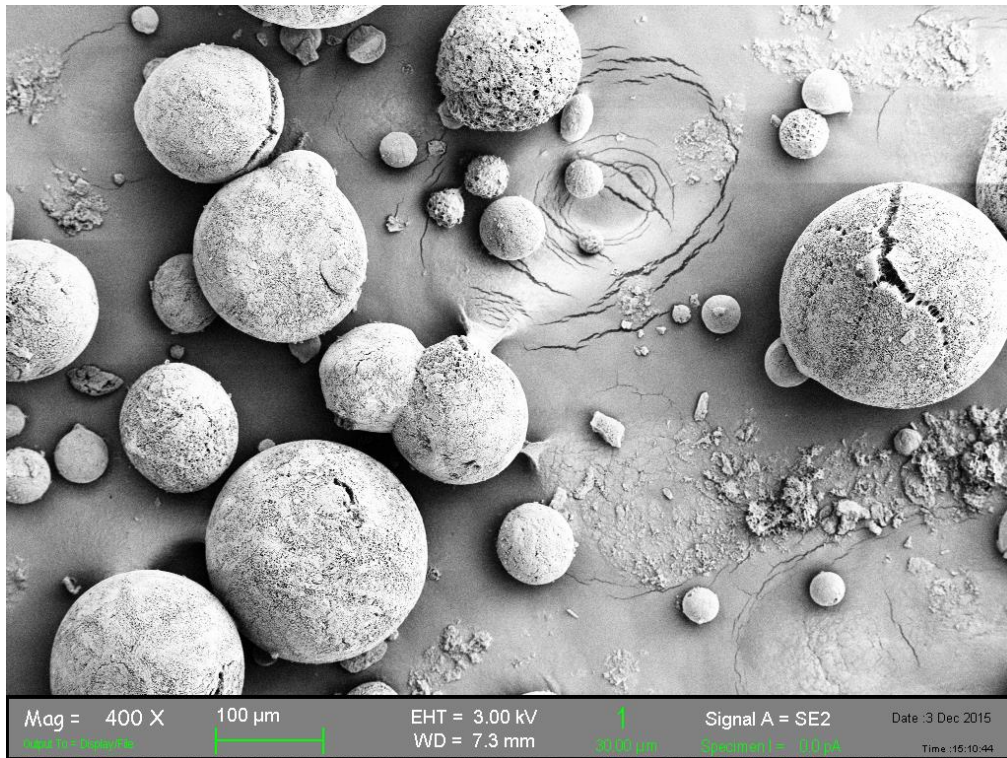


Figura 3.16 – Immagine del campione 3RF ottenuta al SEM-FEG.

Anche in questo campione l'interno delle particelle è molto poroso (fig. 3.17).

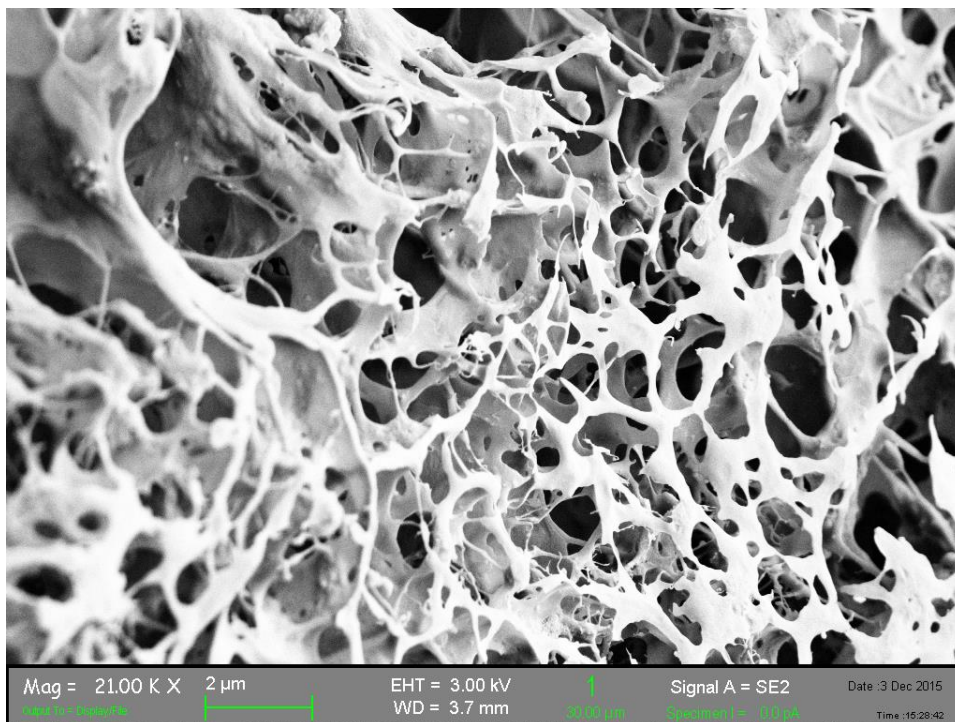


Figura 3.17 – Immagine dell'interno di una particella del campione 3RF ottenuta al SEM-FEG.

Il diametro delle particella va da un minimo di 11  $\mu\text{m}$  a un massimo di 254  $\mu\text{m}$ , la media è  $80 \pm 4$   $\mu\text{m}$ , i calcoli dei diametri sono stati ottenuti utilizzando il programma ImageJ, sulle immagini ottenute al SEM-FEG (fig. 3.18). Le microcapsule 3RF hanno quindi dimensione maggiori rispetto alle 3RC e hanno anche valori di deviazione standard e varianza campionaria maggiore, a indicare una maggior polidispersione.

Campione 3RF	
Media	80 $\mu\text{m}$
Errore standard	4 $\mu\text{m}$
Mediana	71 $\mu\text{m}$
Moda	115 $\mu\text{m}$
Deviazione standard	44
Varianza campionaria	1994
Intervallo	242 $\mu\text{m}$
Minimo	11 $\mu\text{m}$
Massimo	254, $\mu\text{m}$
Somma	10207 $\mu\text{m}$
Conteggio	127

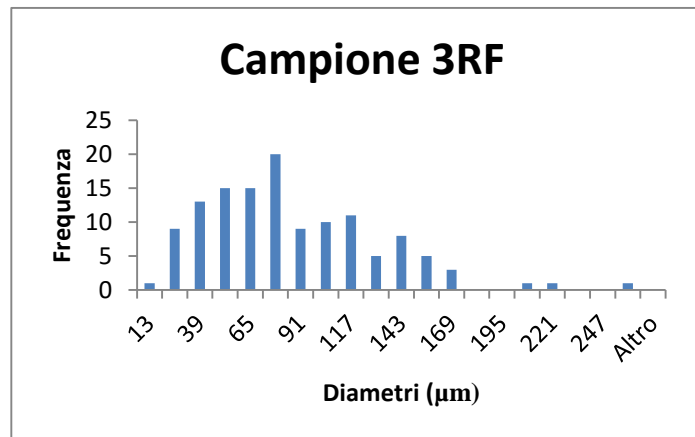


Figura 3.18 - Distribuzione dei diametri delle Microcapsule 3RF.

Anche queste microcapsule se disperse in acqua mantengono la loro forma sferica (fig. 3.19).

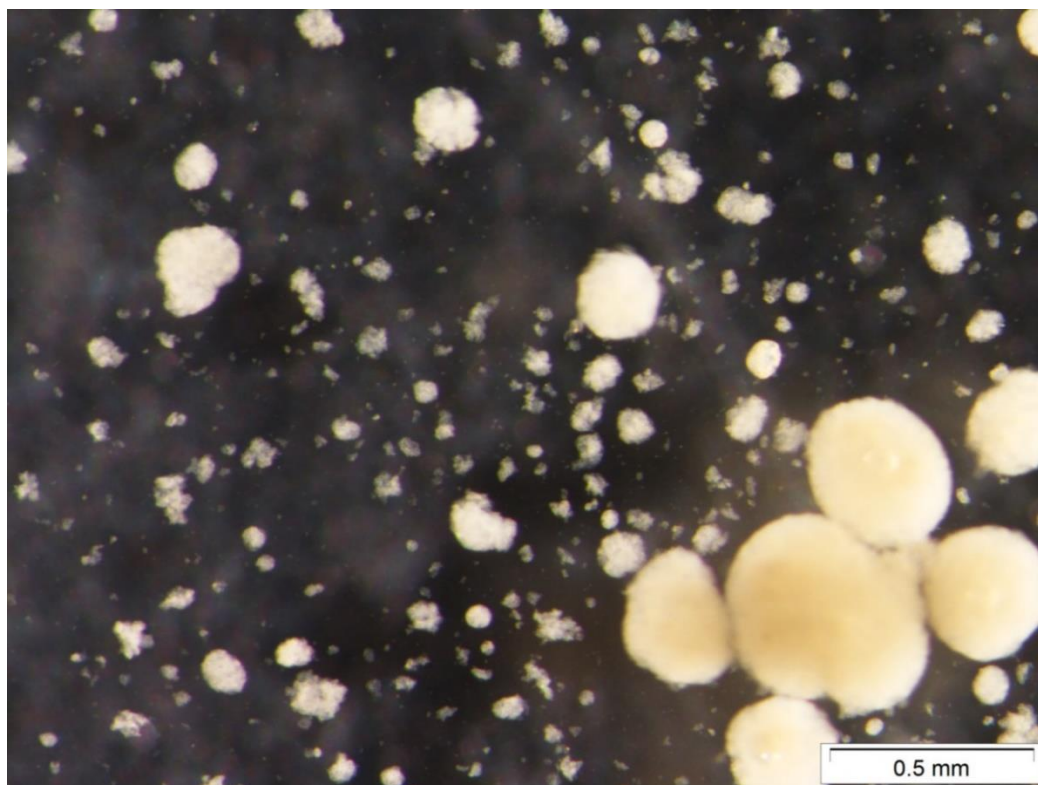


Figura 3.19 - microcapsule 3RF disperse in acqua visionata al microscopio Stereoscopico.

Le analisi di spettroscopia EDX hanno confermato la presenza di argento all'interno delle particelle (fig. 3.20).

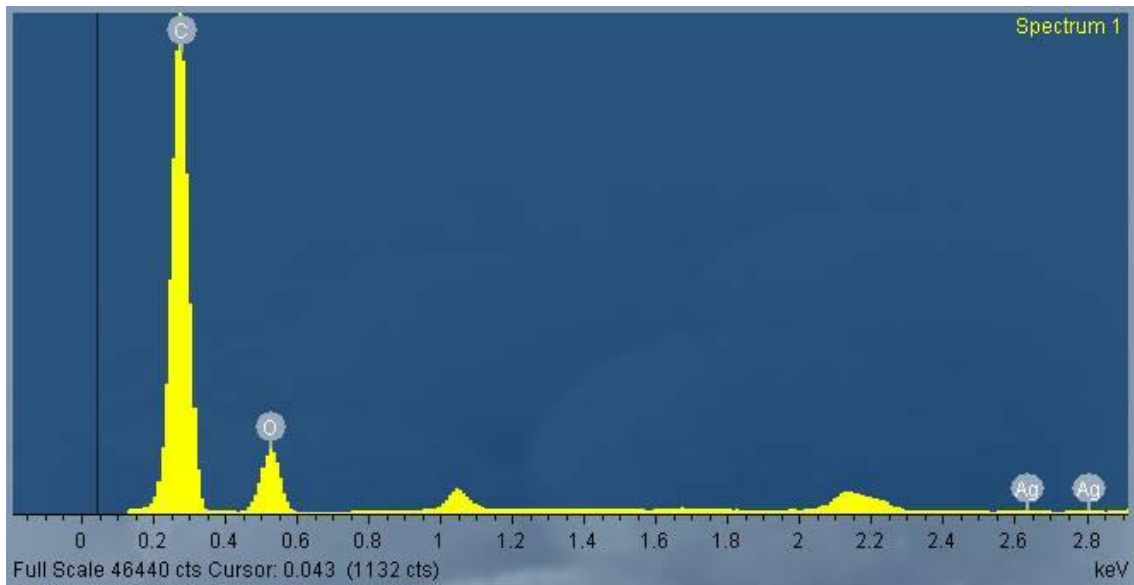


Figura 3.20 - Spettro EDX di una microcapsula del campione 3RC.

Le microcapsule 4RC si presentano molto simili alle 3RF, infatti anche queste si presentano come particelle di forma sferica, con una struttura superficiale e interna molto porosa, alcune di esse presentano inoltre delle fratture (fig. 3.21 & 3.22).

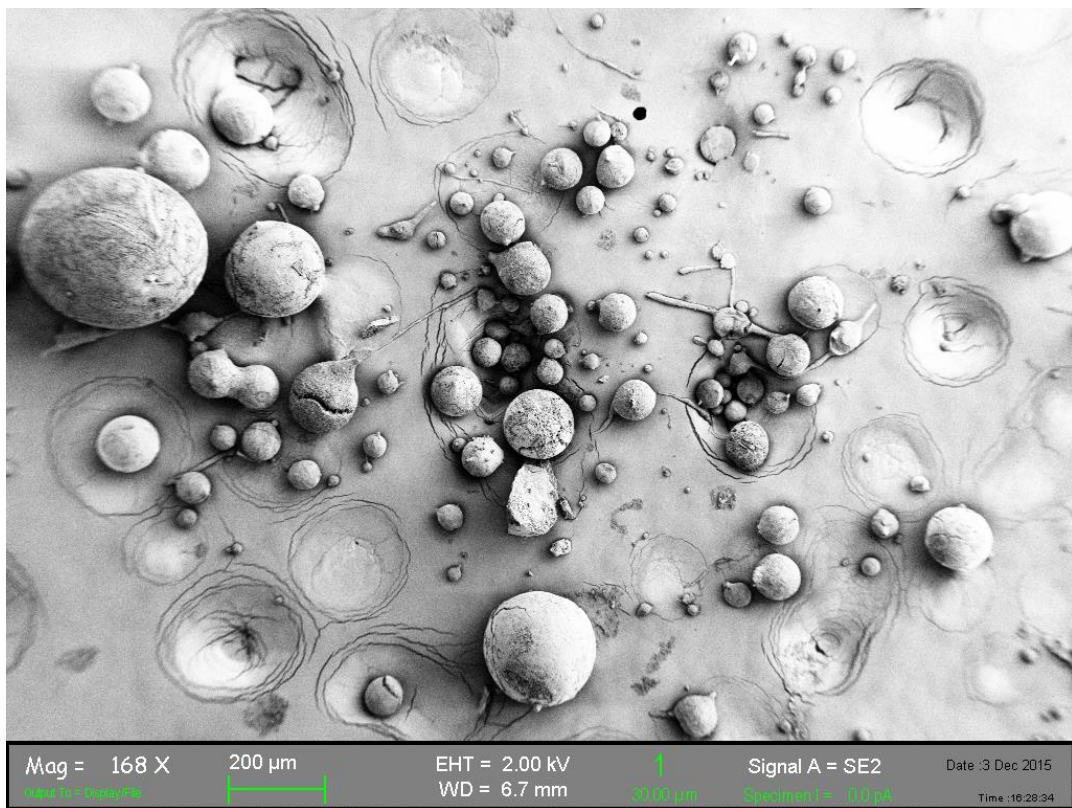


Figura 3.21 – Immagine del campione 4RC ottenuta al SEM-FEG.

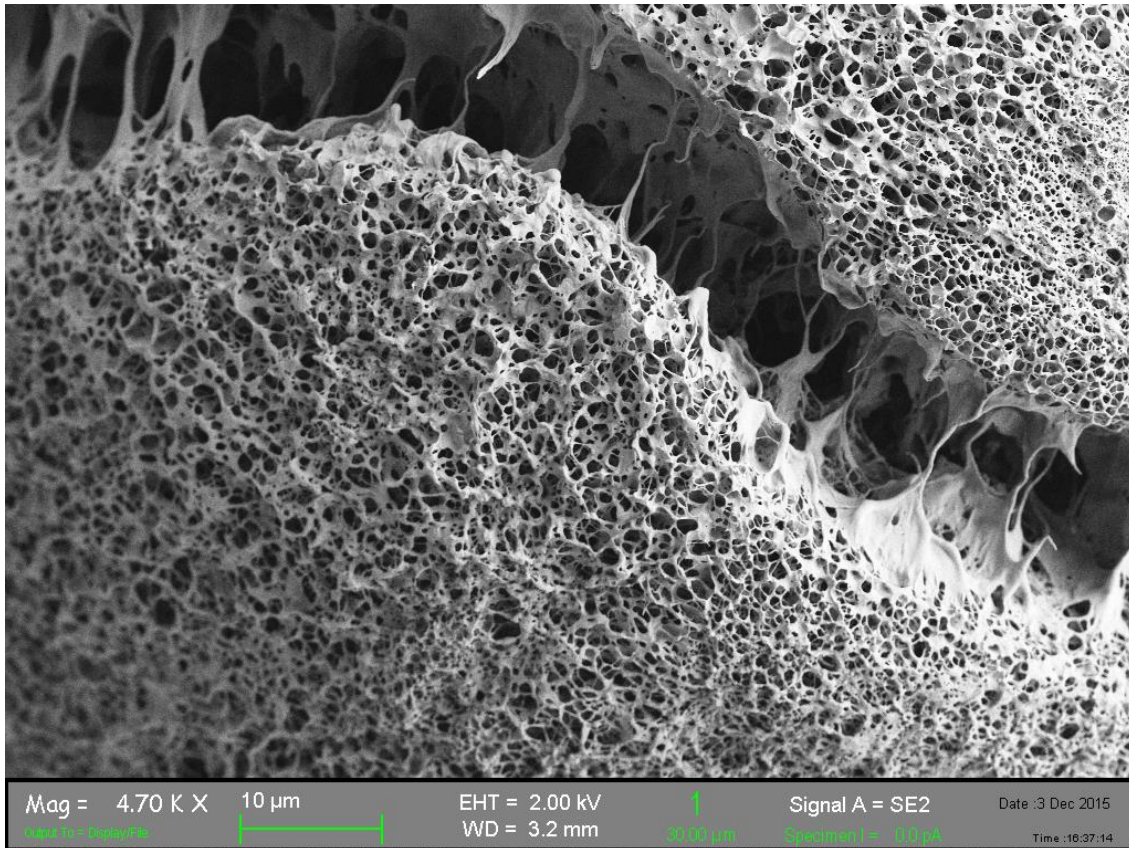


Figura 3.22 – Immagine dell'interno di una particella del campione 4RC ottenuta al SEM-FEG.

Il diametro delle particella va da un minimo di 10 µm a un massimo di 345 µm, la media è  $66 \pm 4$  µm, i calcoli dei diametri sono stati ottenuti utilizzando il programma ImageJ, sulle immagini ottenute al SEM-FEG (fig. 3.23). Le microcapsule 4RC hanno un diametro leggermente maggiore alle 3RC e leggermente inferiore alle 3RF. Sono più polidisperse delle 3RF e molto più polidisperse delle 3RC (basandosi sulla variazione standard).

Campione 4RC	
Media	66 µm
Errore standard	4 µm
Mediana	54 µm
Moda	25 µm
Deviazione standard	50
Varianza campionaria	2545
Intervallo	334 µm
Minimo	10 µm
Massimo	345 µm
Somma	8392 µm
Conteggio	127

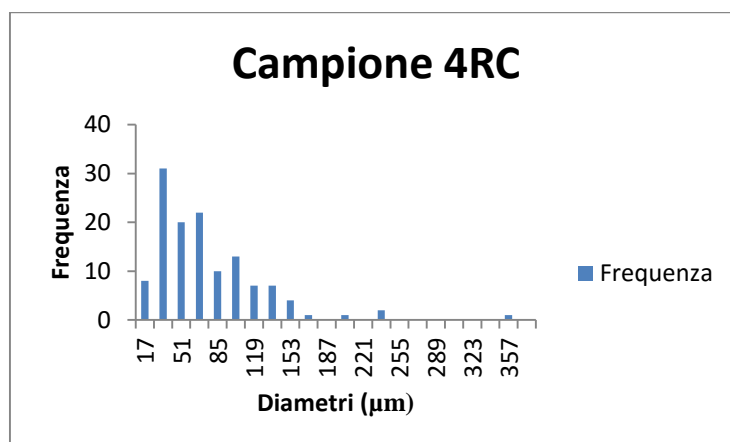


Figura 3.23 - Distribuzione dei diametri delle Microcapsule 4RC.



Come le microcapsule 3RC e 3RF, anche le microcapsule 4RC mantengono la loro forma sferica se disperse in acqua (fig. 3.24).

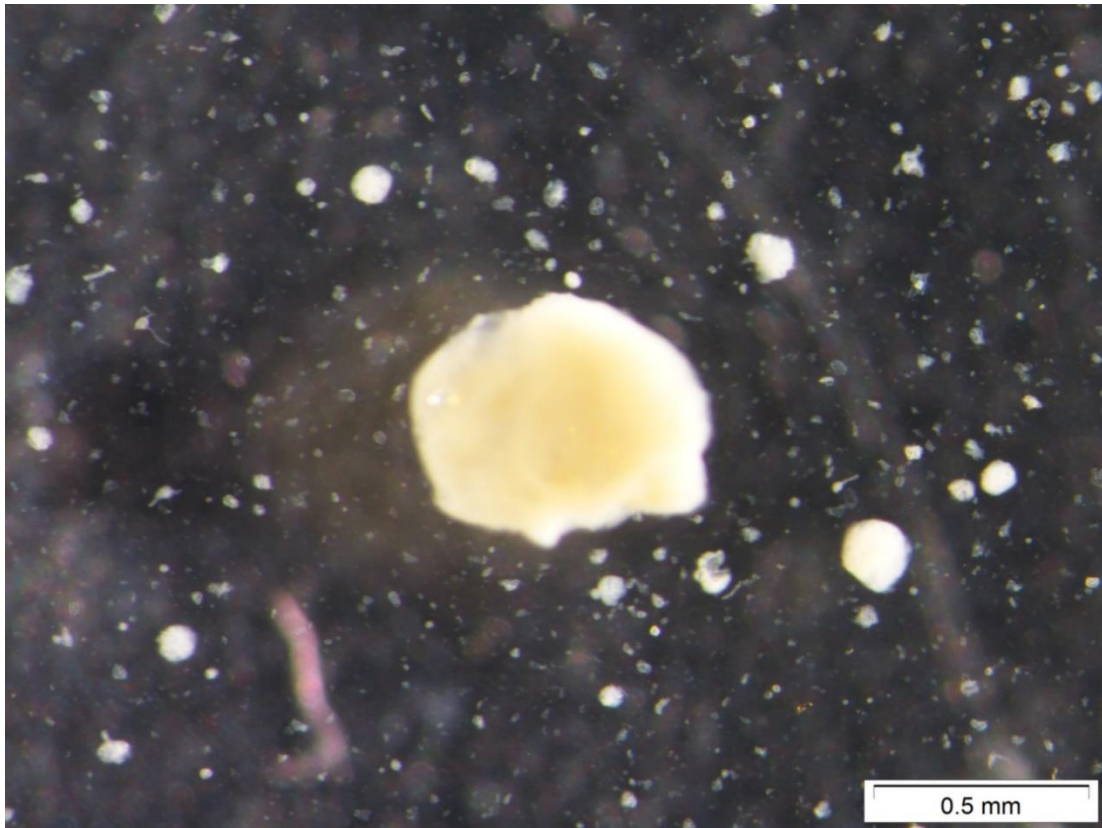


Figura 3.24 - microcapsule 4RC disperse in acqua visionata al microscopio Stereoscopico.

Le analisi di spettroscopia EDX hanno confermato la presenza di argento all'interno delle particelle (fig. 3.25).

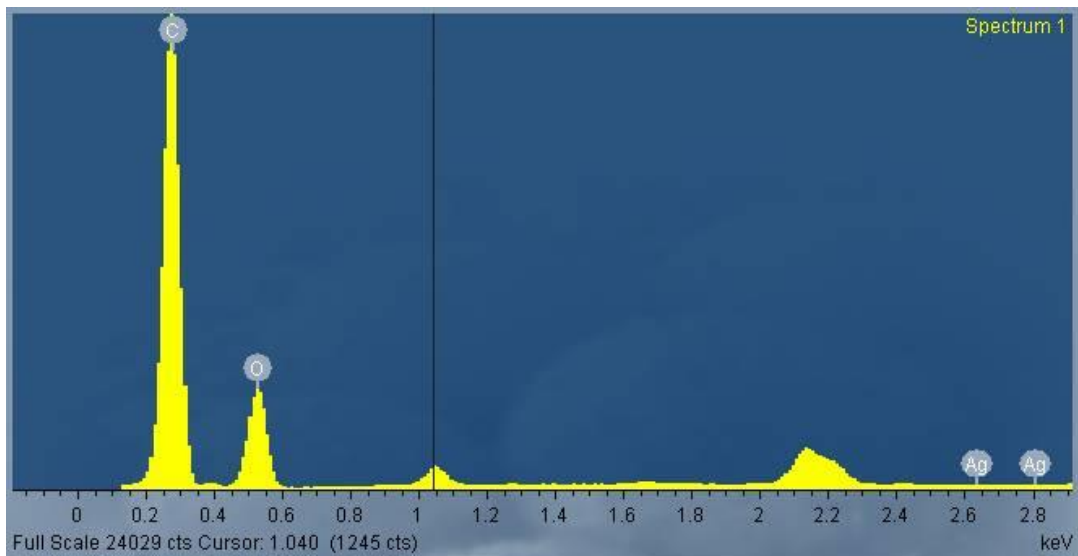


Figura 3.25 - Spettro EDX di una microcapsula del campione 4RC.

Le microcapsule 4RF si presentano molto simili alle 3RF e alle 4RC, infatti anche queste si presentano come particelle di forma sferica, con una struttura superficiale e interna molto porosa, alcune di esse presentano inoltre delle fratture (fig. 3.26 & 3.27).

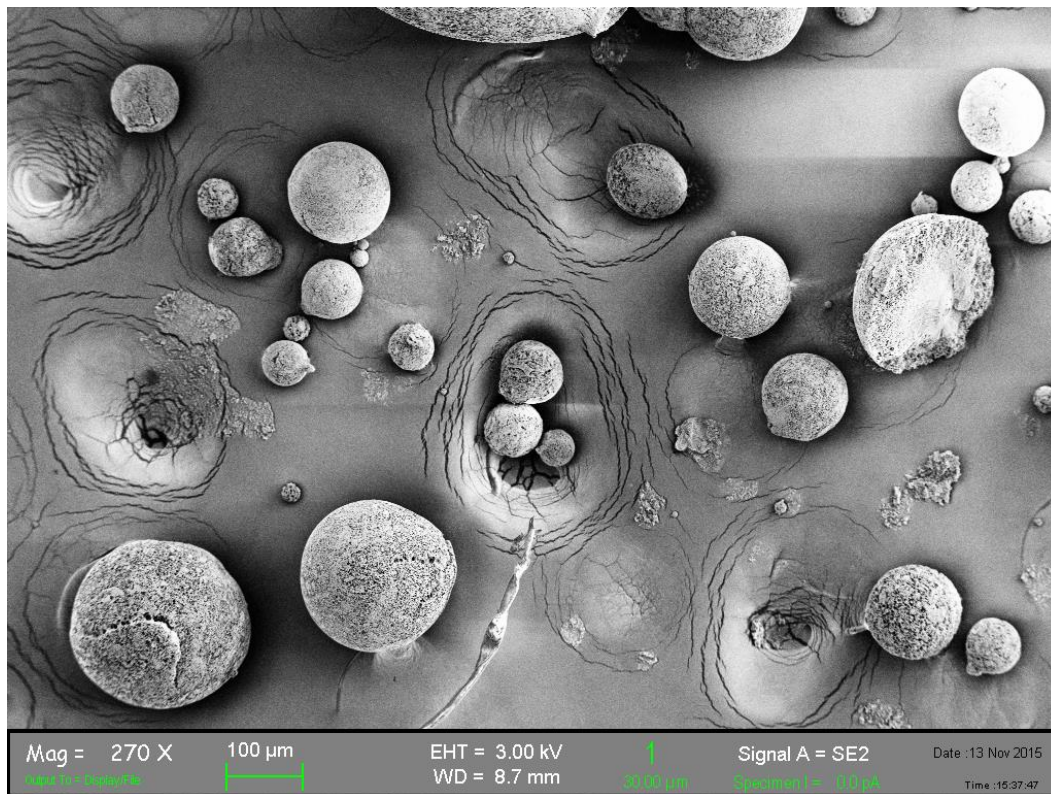


Figura 3.26 – Immagine del campione 4RF ottenuta al SEM-FEG.

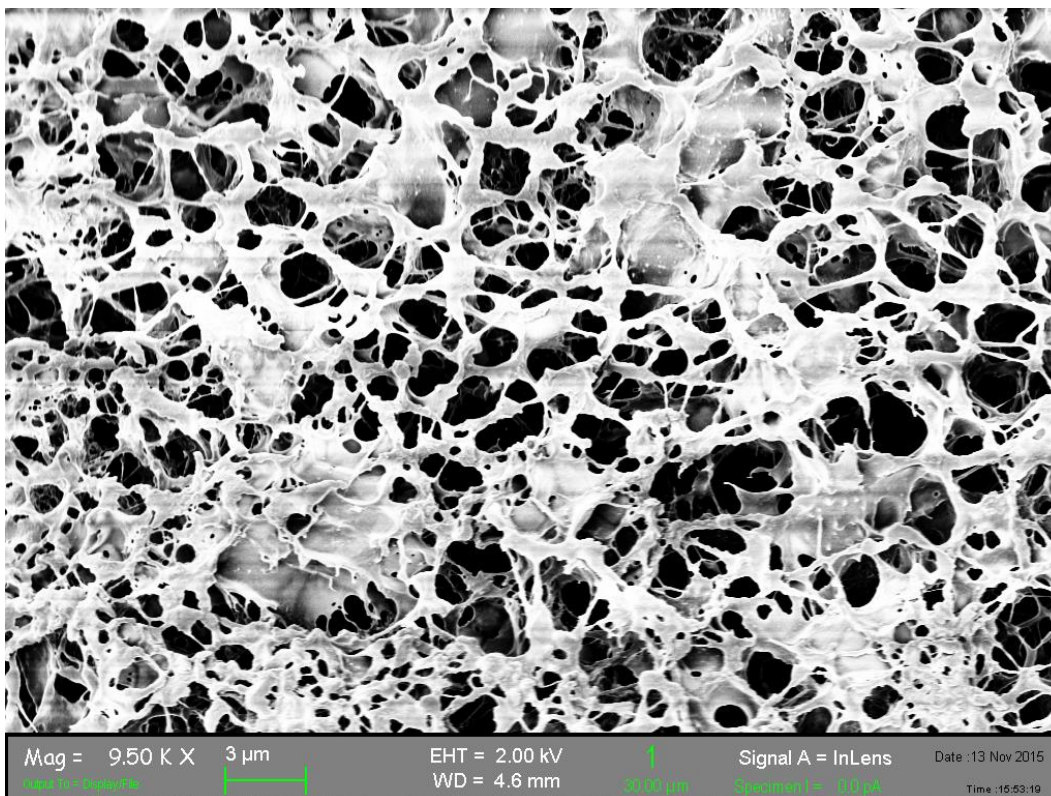


Figura 3.27 – Immagine dell'interno di una particella del campione 4RF ottenuta al SEM-FEG

Il diametro delle particella va da un minimo di 8  $\mu\text{m}$  a un massimo di 161  $\mu\text{m}$ , la media è 70 $\pm$ 4  $\mu\text{m}$ , i calcoli dei diametri sono stati ottenuti utilizzando il programma ImageJ, sulle immagini ottenute al SEM-FEG (fig. 3.28). I dati ottenuti sono simili a quelli delle microcapsule del campione 4RC. Quindi abbiamo un campione molto polidisperso con delle dimensioni circa uguali alle microcapsule 4RC, quindi leggermente maggiori rispetto alle microcapsule 3RC.

Campione 4RF	
Media	70 $\mu\text{m}$
Errore standard	4 $\mu\text{m}$
Mediana	65 $\mu\text{m}$
Moda	31 $\mu\text{m}$
Deviazione standard	44
Varianza campionaria	2018
Intervallo	152 $\mu\text{m}$
Minimo	8 $\mu\text{m}$
Massimo	161 $\mu\text{m}$
Somma	8406 $\mu\text{m}$
Conteggio	120

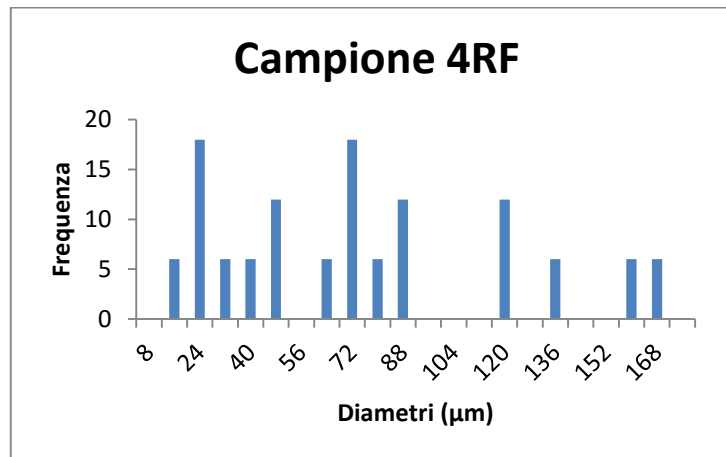


Figura 3.28 - Distribuzione dei diametri delle Microcapsule 4RF.

Queste microcapsule a differenza delle altre tendono a sgretolarsi in acqua perdendo la loro forma sferica e la loro struttura (fig. 3.29)

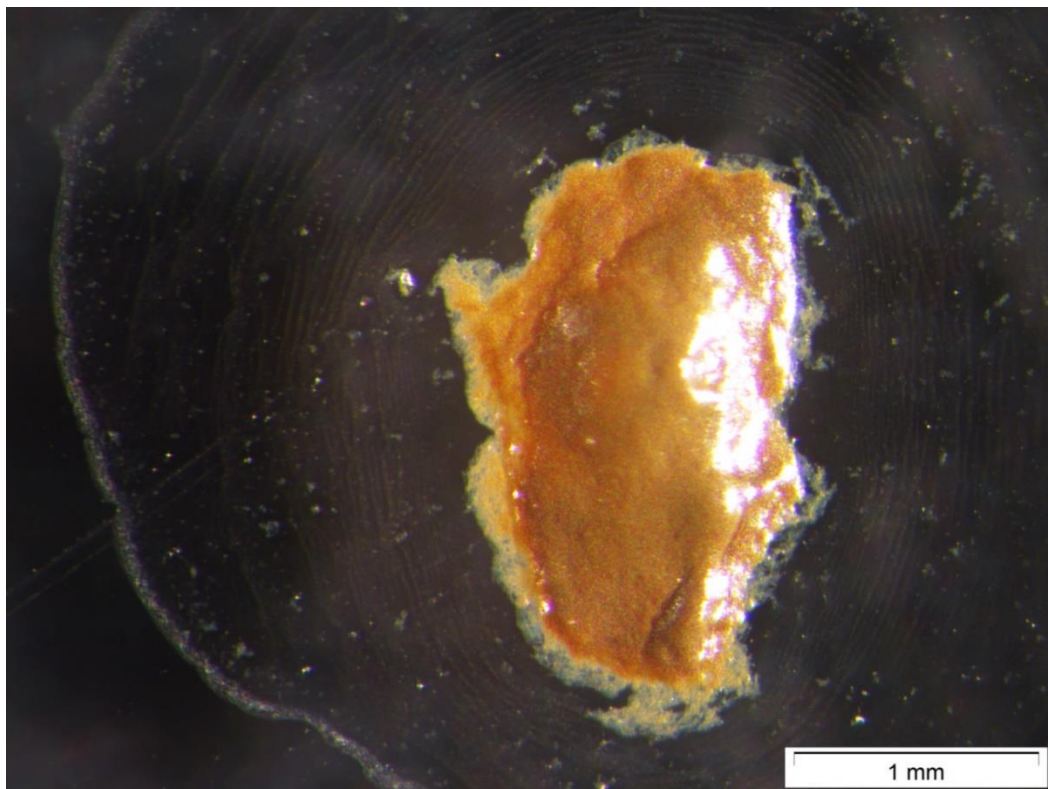


Figura 3.29 - microcapsule 4RF disperse in acqua visionata al microscopio Stereoscopico.

Le analisi di spettroscopia EDX hanno confermato la presenza di argento all'interno delle particelle (fig. 3.31).

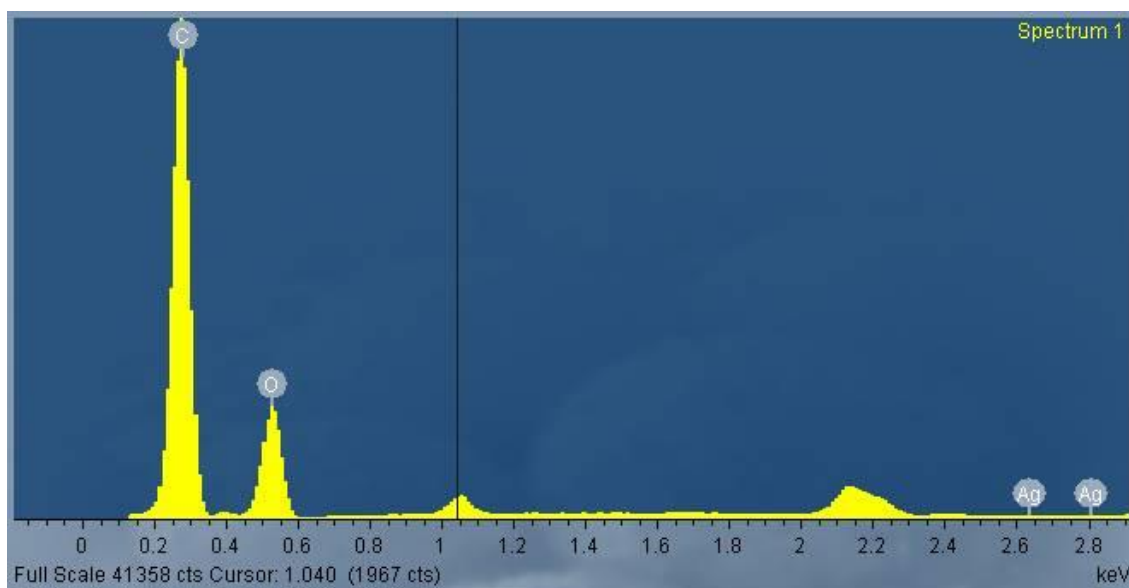


Figura 3.30 - Spettro EDX di una microcapsula del campione 4RF.

### 3.2 Conclusioni

In questo capitolo è stata descritta la sintesi, usando la tecnica spray-freeze-drying, di microincapsulati costituiti da una matrice d'amido e nanoparticelle di argento come agente attivo.

Inizialmente sono state sintetizzate due tipologie di matrici d'amido: nel primo caso il gel d'amido è stato processato, appena formato a 90 °C (ARC); nel secondo caso si è aspettato che il gel si raffreddasse fino a temperatura ambiente (ARF). In entrambi i casi si sono ottenute particelle di morfologia sferica.

Successivamente sono state preparate le microcapsule miscelando e processando la matrice d'amido contenente nanoparticelle di argento. Le miscele di partenza sono state ottenute in due diversi modi: a) aggiungendo le Ag-NPs alla sospensione d'amido a temperatura ambiente e successivamente scaldando (campioni del tipo 3); b) aggiungendo la sospensione di Ag-NPs dopo che il gel si era già formato, a 90 °C (campioni di tipo 4).

I gel ottenuti sono stati processati sia a 90 °C (3RC & 4RC), sia a temperatura ambiente (3RF & 4RF). Tutti i campioni Amido{Ag-NPs} presentano una forma sferica, la quasi assenza di agglomerazioni (molto presenti invece nelle particelle di sola matrice d'amido) e un interno molto poroso. L'unica differenza morfologica riscontrata è

nel campione 3RC che presenta una superficie liscia, che depone a favore della formazione di un guscio più compatto. Inoltre si riscontra una resistenza meccanica inferiore sulla superficie dei granuli (4RF) probabilmente causata da una ridotta interazione tra particelle di argento e di amido durante la reticolazione e granulazione di quest'ultimo.

Per quanto riguarda le dimensioni, in tabella 3.3 sono riportati sia i dati relativi alla matrice di amido (ARC e ARF) sia i microincapsulati Amido{Ag-NPs}.

Tabella 3.3 - Dimensioni della matrice di solo amido e di Amido{Ag-NPs}

Campione	Dimensioni ( $\mu\text{m}$ )	Deviazione standard
ARC	112 $\pm$ 11	126
ARF	102 $\pm$ 7	87
3RC	55 $\pm$ 3	29
3RF	80 $\pm$ 4	44
4RC	66 $\pm$ 4	50
4RF	70 $\pm$ 4	44

Le particelle di matrice d'amido ARC hanno un diametro medio di 112 $\pm$ 11  $\mu\text{m}$  mentre le particelle d'amido ARF hanno un diametro medio di 102 $\pm$ 7  $\mu\text{m}$ , quindi considerando gli errori, non sembra che processare l'amido a caldo o a freddo dopo la retrogradazione incida sulle dimensioni dei granuli ottenuti. La deviazione standard (presa in causa per poter fare dei paragoni tra le polidispersioni) dei due campioni indica, invece, una maggior polidispersione delle particelle ARC, molto probabilmente legata alla minore viscosità della matrice di amido processata a caldo, che causa una maggiore dispersione dimensionale nel corso della aerosolizzazione.

Le dimensioni delle microcapsule di amido {Ag NPs} sono più o meno simili, e contrariamente a quello che succede processando l'amido da solo, il sistema che si presenta meno disperso e con il diametro minore è quello il 3RC (diametro medio: 55 $\pm$ 3  $\mu\text{m}$ ). In tutti i campioni la spettroscopia EDX ha evidenziato la presenza di Ag-NPs, confermata dal colore giallastro atteso dall'Ag nanometrico dei granuli osservati al microscopio stereoscopico.

Confrontando invece le microcapsule amido{Ag-NPs} con le particelle di sola matrice d'amido, si può notare come le microcapsule abbiano dimensioni abbondantemente

inferiori alle particelle di matrice (fig. 3.31), ad indicare, come nel caso della silice, un potere disperdente da parte delle particelle di Ag nei confronti della matrice ospitante. Che pertanto granulla formando aggregati inferiori.

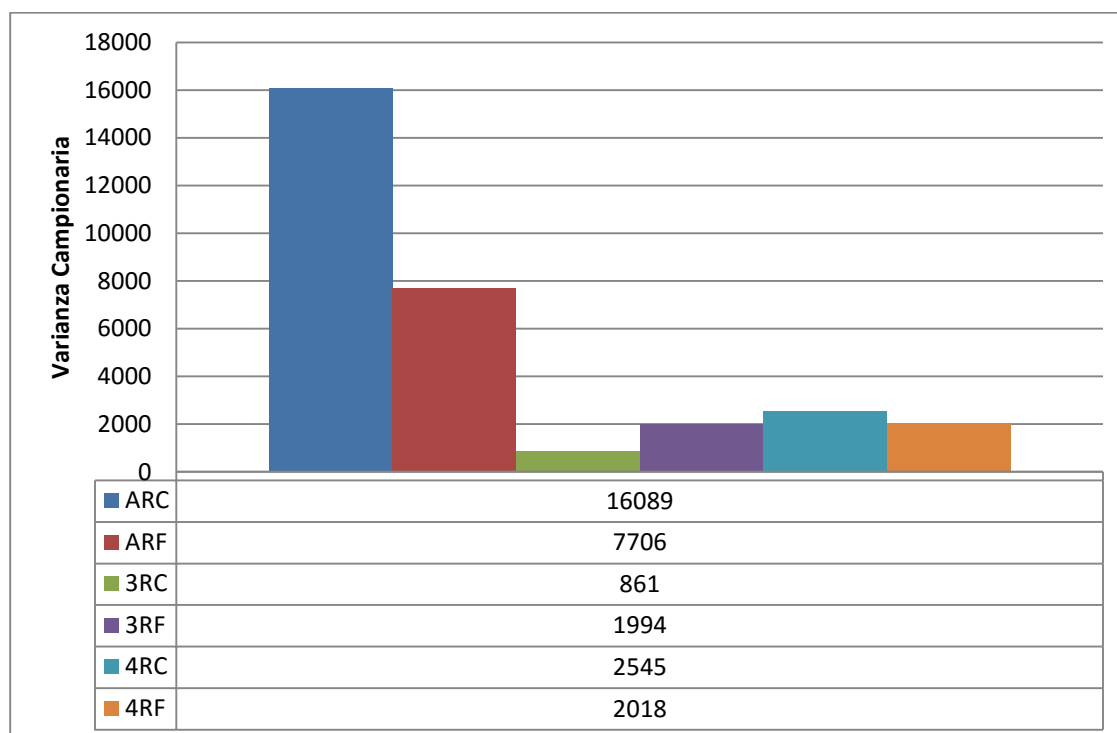


Figura 3.31 – Varianza Campionaria delle matrici d’amido e delle microcapsule amido{Ag-NPs}.

### 3.3 Parte sperimentale

#### 3.3.1 Materiali e Strumentazione

I seguenti reagenti: sali di argento nitrato ( $\geq 99,0\%$ ), polivinilpirrolidone in polvere ( $M_w \approx 29\,000$ ), idrossido di sodio in pellets ( $\geq 97,0\%$ ) sono stati acquistati dalla Sigma Aldrich. D(+)-Glucosio anidro è stato acquistato dalla Merck. I vari amidi di mais: regolare, waxy e l’amido di frumento sono stati forniti dalla Cargill. L’acqua pura di tipo 2+ utilizzata è stata purificata con sistema Elix Essential (UV) 5 (la resistività a  $25^\circ\text{C}$  è normalmente  $10\text{-}15\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ). La vetreria utilizzata per la sintesi di Ag-NPs e per la miscelazione delle due sospensioni è stata lavata con acido nitrico (diluizione 1:10 in volume, da acido nitrico 70% della Sigma Aldrich), quindi lavata con acqua pura e successivamente acetone e infine asciugata all’aria.

Il viscosimetro utilizzato per i test di viscosità è un Brabender. Il range di misura è stato impostato a 350 cmg mentre la velocità di rotazione era impostata a 75 rpm.

La tecnica di spray-freeze-drying per la sintesi delle microcapsule è stata effettuata con il freeze-granulator Lab-scale Granulator LS-2 della PowderPro. Il Liofilizzatore utilizzato è il LYI GT 2-E della SRK System Technik.

Le immagini al microscopio stereoscopico sono state effettuate con un microscopio OLYMPUS SRX9. I campioni osservati al microscopio stereoscopico sono stati preparati disperdendo una punta di spatola delle polveri in 10 ml d'acqua, una goccia della dispersione è stata poi posata su un vetrino.

Per l'acquisizione delle immagini SEM è stato usato un microscopio elettronico a scansione, Sigma della Zeiss, operante a 3.00 o 4.00 kV. Tutti i provini che sono stati visionati al SEM, le polveri sono state rivestite da uno strato d'oro di 5 nm con un turbo-pumped sputted coater Q150T ES della Quorum. Lo stesso microscopio elettronico a scansione (Sigma della Zeiss), è stato utilizzato insieme a un microanalizzatore a dispersione di energia, modello INCA Energy 300 (Link Analytical - Oxford Instruments) con un rivelatore EDX (monocristallo di silicio drogato con litio) INCAx-act LN2-free analytical silicon drift detector con precisione PentaFet e un microanalizzatore per la spettroscopia EDX. In questo caso il SEM viene portato a un voltaggio di 20 kV.

### **3.3.2 Preparazione di Microcapsule Amido{Ag-NPs}**

Le miscele di partenza per la sintesi delle microcapsule, contengono tutte la stessa percentuale in peso di amido 10%wt e la stessa percentuale in peso di argento 0,17%wt. Quindi il rapporto in peso tra l'amido e l'argento è 58,8:1. Non potendo effettuare lo stesso calcolo, utilizzato nel caso delle microcapsule con matrice di silice, per avere una stima di quante particelle di matrice servono a incapsulare una nanoparticella d'argento, in quanto il gel d'amido è un network e non un agglomerato di particelle, è stato utilizzato lo stesso rapporto utilizzato appunto per le microcapsule con matrice di silice. Questo rapporto viene ottenuto miscelando una sospensione di amido con il 15 wt% in peso di amido, con la sospensione di Ag-NPs rivestite da PVP, preparate come descritto nel punto 2.3.2, in rapporto 2:1.

Per ottenere le microcapsule o la sola matrice, la miscela o la sospensione vengono processate allo spray-freeze, con lo stesso metodo utilizzato per le microcapsule con matrice di silice. La sospensione viene pompata da una pompa peristaltica, che lavora a 120 rpm, dentro un tubicino dal diametro di 0,5 mm, e fuoriesce attraverso un ugello, con il foro di uscita di diametro 100  $\mu$ m, in un becher contenente azoto liquido

tenuto in agitazione da un'ancoretta magnetica. L'atomizzazione si ottiene insufflando nell'ugello, oltre alla sospensione, del gas d'azoto a 0,4mbar. Ciò che si ottiene dopo lo spray-freeze viene messo dentro al liofilizzatore. Il processo di liofilizzazione dura 24 h al termine delle quali ciò che rimane all'interno della camera di liofilizzazione sono le matrici d'amido o le microcapsule amido{Ag-NPs}, visibili macroscopicamente come polvere, a seconda che allo spray-freeze-drying sia stata processata il solo gel'amido o la miscela contenente gel d'amido e Ag-NPs.

### **Bibliografia**

<sup>1</sup> S. Wang, C. Li, L. Copeland, Q. Niu, S. Wang, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 14, 5568, **2015**.

fig. 3.1 [www.cwbrabender.com/Viscograph\\_sample\\_curve.gif](http://www.cwbrabender.com/Viscograph_sample_curve.gif)



## 4 – CONCLUSIONI & SVILUPPI FUTURI

### 4.1 – Conclusioni

Sono state sintetizzate due tipologie di microcapsule formate da due matrici di materiali diversi contenenti nanoparticelle d'argento (Ag-NPs), tramite il processo di spray-freeze e successiva liofilizzazione.

- Nella prima tipologia si è partiti da una silice colloidale processata con la tecnica di spray-freeze-drying per la preparazione della matrice. Successivamente la sospensione di silice colloidale è stata miscelata in rapporto 1:1 in peso con una sospensione di Ag-NPs rivestite da PVP, in modo da ottenere un rapporto silice:argento pari a circa 60:1 in peso. La miscela ottenuta è stata quindi nuovamente trattata tramite la tecnica di spray-freeze-drying portando alla formazione di microcapsule  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$  di diametro medio di  $13\pm 1 \mu\text{m}$ , aventi forma sferica e molto porose, sia internamente che superficialmente (fig. 4.1).

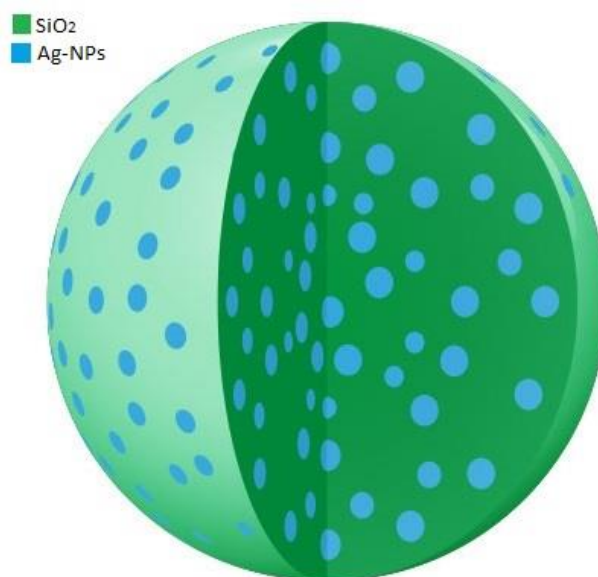


Figura 4.1 – Rappresentazione di una microcapsule  $\text{SiO}_2\{\text{Ag-NPs}\}$  così come vengono immaginate sulla base dei risultati ottenuti

- La seconda tipologia di microcapsule è formata da una matrice d'amido contenente Ag-NPs. Anche in questo caso è stata utilizzata la tecnica dello spray-freeze-drying ma sono state utilizzate diverse metodiche sia per la preparazione della miscela amido/ AgNPs che per il successivo trattamento (fig. 4.2). La

maggior parte dei microincapsulati Amido{AgNPs} preparati presentano una forma sferica, la quasi assenza di agglomerazioni e un interno molto poroso. Le dimensioni dei microincapsulati con amido sono decisamente superiori a quelle dei microincapsulati con silice presentando diametri medi che variano da 50 a 70 $\mu\text{m}$ .

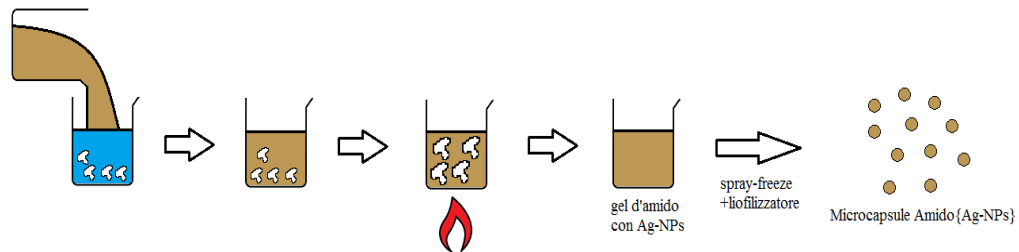


Figura 4.2 – Preparazione delle microcapsule Amido{Ag-NPs}

Tra i risultati più interessanti della tesi e promettenti per gli sviluppi futuri e le molteplici possibilità di applicazione che ne derivano si evidenziano: la formazione sia con matrici inorganiche ( $\text{SiO}_2$ ) che organiche (amido di mais) di incapsulati sferici e porosi; la possibilità di disperdere in acqua i granuli mantenendone la struttura o favorendone l'apertura a seguito di un trattamento ad ultrasuoni; la capacità in tutti i casi di trattenere all'interno nanoparticelle di Ag che appaiono uniformemente distribuite nelle matrici utilizzate.

#### 4.2 – Sviluppi Futuri

A seguito di questo lavoro di tesi si sono identificati alcuni aspetti che si intende approfondire come sviluppi futuri:

- come regolare i parametri di processo: velocità di alimentazione, il diametro dell'ugello, la concentrazione e viscosità della matrice al fine di influenzare dimensione e grado di dispersione delle microcapsule;
- evoluzione strutturale delle microcapsule una volta ridisperse in acqua, modalità e metodi per controllare la loro disgregazione;
- monitoraggio tramite analisi elementare dell'argento il rilascio nel tempo di nanoparticelle d'argento e ioni  $\text{Ag}^+$  dalle microcapsule, responsabile dell'attesa azione antibatterica;
- possibilità di estendere i processi di incapsulamento messi a punto con altre fasi attive che necessitano di essere ingegnerizzate allo stesso modo.