

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

Elettrofilatura di miscele di cheratina e PLA  
caricate con ossido di grafene per la produzione di  
materiali nanofibrosi

Tesi di laurea sperimentale

**CANDIDATO**

Gioacchino Schifino

**RELATORE**

**Prof.** Loris Giorgini

**CORRELATORE**

**Dott.ssa** Annalisa Aluigi

**Dott.** Emanuele Treossi

Parole chiave:

- *Biomateriali*
- *Polimeri*
- *Biomassa*
- *Proteine*
- *Cheratina*
- *Poliestere*
- *Elettrofilatura*
- *Grafene*
- *Ossido di grafene*
- *Nanofibre*
- *Miscibilità*

## ABSTRACT

In questo elaborato di tesi sperimentale sono state preparate delle nanofibre elettrofilate di cheratina e PLA caricate con differenti percentuali in peso di grafene ossido. In questo particolare sistema, la dimensione del nano-rinforzo è paragonabile alla dimensione delle nanofibre (circa 150 nm), contrariamente alle convenzionali dimensioni dei rinforzi utilizzati per creare materiali compositi.

La matrice polimerica utilizzata è una miscela costituita da cheratina e PLA che ha mostrato interazioni positive di interfase tra i due polimeri. Sono stati studiati gli effetti dei parametri di processo di elettrofilatura sulla morfologia delle nanofibre ottenute. Inoltre, è stata studiata l'influenza del grafene ossido sul processo di elettrofilatura, sulla morfologia delle nanofibrose, sulla viscosità delle miscele dei due polimeri e sulle proprietà termiche e meccaniche delle membrane nanofibrose elettrofilate.

Tutte le miscele preparate sono state elettrofilate con successo ed i diametri delle nanofibre ottenute variano da 60-400 nm.

I dati sperimentali hanno mostrato una diminuzione del diametro delle nanofibre all'aumentare della concentrazione di grafene ossido dovuta alla diminuzione di viscosità e probabile aumento della conducibilità delle soluzioni contenenti. Le analisi termiche hanno messo in evidenza che c'è un effetto nucleante del grafene ossido che induce, probabilmente, l'organizzazione delle catene proteiche. Le analisi meccaniche in trazione hanno mostrato un aumento del modulo di Young e del carico a rottura delle nanofibre elettrofilate caricate con grafene ossido.

<b>ABSTRACT</b>	<b>II</b>
<b>Capitolo 1: Introduzione</b>	<b>1</b>
1.1 I nanocompositi polimerici	1
1.2 Valorizzazione di rifiuti cheratinosi	3
1.3 La cheratina	5
1.3.1 La cheratina della lana	8
1.4 Il grafene e grafene ossido	12
1.4.1 Il grafene	12
1.4.2 Il grafene ossido	16
1.5 Compositi a base di grafene e grafene ossido	18
1.6 I poliesteri	19
1.7 I poliesteri alifatici sintetici e biodegradabili	19
1.7.1 Il PLA	21
1.8 Il processo di elettrofilatura	23
1.8.1 Apparecchiatura e meccanismo dell'elettrofilatura	24
1.9 Possibili applicazioni delle nanofibre nanocomposite	32
<b>Capitolo 2: Scopo della tesi</b>	<b>36</b>
<b>Capitolo 3: Parte sperimentale e discussione dei risultati</b>	<b>38</b>
3.1 Preparazione e caratterizzazione dell'ossido di grafene	38

3.2 Studio di miscibilità della cheratina con il PLA	40
3.2.1 Introduzione	40
3.2.2 Procedura sperimentale	41
➤ <i>Preparazione e caratterizzazione delle miscele di cheratina /PLA a diversi rapporti di miscelazione:</i>	41
➤ <i>Preparazione e caratterizzazione del film di cheratina/PLA al rapporto di miscelazione 50/50:</i>	41
3.2.3 Risultati e discussioni	42
➤ <i>Caratterizzazione reologica delle soluzioni di cheratina /PLA a diversi rapporti di miscelazione:</i>	42
➤ <i>Caratterizzazione spettroscopica IR del film 50/50 di cheratina e PLA:</i>	47
3.3 Elettrofilatura e caratterizzazione delle nanofibre di cheratina e PLA caricate con GO	48
3.3.1 Introduzione	48
➤ <i>Apparato di elettrofilatura</i>	50
3.3.2 Procedura sperimentale	50
➤ <i>Preparazione delle nanofibre di cheratina/PLA 50/50 caricate con differenti frazioni in peso di GO</i>	50
➤ <i>Caratterizzazione delle nanofibre di cheratina/PLA 50/50 caricate con differenti frazioni in peso di GO</i>	52
3.3.3 Risultati e discussioni	55
➤ <i>Caratterizzazione reologica delle miscele di cheratina e PLA caricate con GO</i>	55
➤ <i>Studio Morfologico delle nanofibre:</i>	56

➤ <i>Caratterizzazione termica delle nanofibre di cheratina e PLA caricate con GO:</i>	<b>63</b>
➤ <i>Caratterizzazione meccanica delle nanofibre di cheratina e PLA caricate con GO:</i>	<b>65</b>
<b>Capitolo 4: Conclusione e sviluppi futuri</b>	<b>76</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>78</b>
<b>APPENDICE</b>	<b>84</b>

# CAPITOLO 1: INTRODUZIONE

## 1.1 I NANOCOMPOSITI POLIMERICI

I materiali polimerici vengono tradizionalmente additivati con composti inorganici, al fine ottenere un miglioramento delle loro proprietà. La fase inorganica aggiunta al polimero è definita “carica” ed il materiale polimerico che ne risulta è definito “polimero caricato”. I materiali così ottenuti vengono definiti materiali compositi e mostrano due fasi distinte da un punto di vista fisico o chimico.

- **Matrice:** fase disperdente (normalmente presente in maggiore quantità);
- **Filler (carica):** materiale che ha lo scopo di migliorare le proprietà della matrice e/o di conferirgliene di nuove.

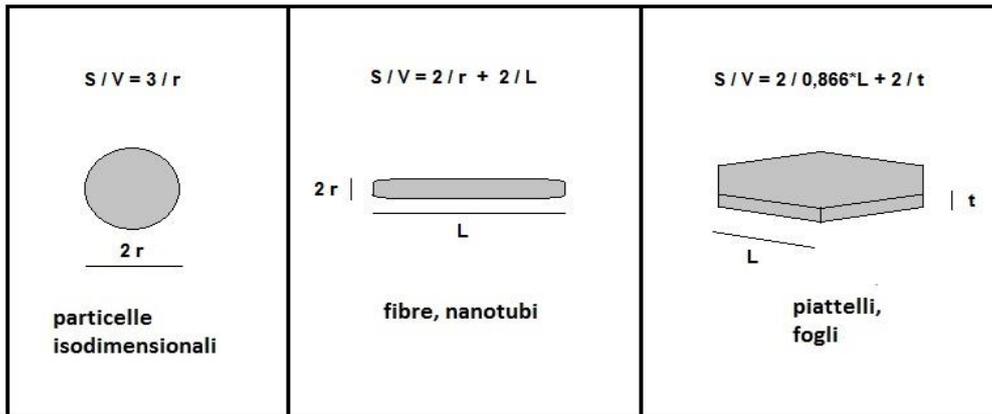
Tuttavia, i fillers (riempitivi) più utilizzati in campo industriale, come ad esempio, fibre di vetro, carbonato di calcio e fibre di carbonio, conferiscono al materiale finale anche delle proprietà indesiderate come aumento di peso, fragilità ed opacità[1].

Gli svantaggi dovuti all'utilizzo di cariche tradizionali possono essere superati utilizzando delle nanocariche, passando, quindi, alla formulazione di *nanocompositi* polimerici. Viene definito “nanocomposito” un materiale composito costituito da una matrice polimerica e da rinforzanti particellari la cui dimensione è inferiore ai 100 nm. Essi rappresentano una nuova categoria di materiali caratterizzata da una dispersione delle fasi ultrafine, appunto dell'ordine dei nanometri. Grazie a questa dispersione, i nanocompositi presentano dei notevoli miglioramenti rispetto ai compositi tradizionali sia dal punto di vista strutturale, quindi delle proprietà meccaniche, sia dal punto di vista delle proprietà funzionali, cioè delle proprietà ottiche e di barriera, offrendo nuove opportunità tecnologiche. Ciò è dovuto al fatto che le nanocariche possiedono dimensioni confrontabili a quelle delle catene polimeriche.

La possibilità di avere effetti tanto amplificati è dovuta al fatto che alle dimensioni nanometriche tutte le forze che sono trascurabili macroscopicamente, quali ad esempio quelle di Van der Waals, diventano piuttosto significative a livello microscopico[2]. E' proprio l'unione sinergica di queste ed altre simili forze che rende possibile ottenere proprietà inaspettate.

Si possono definire tre tipi di nanocompositi a seconda di quante dimensioni delle particelle disperse nella matrice sono dell'ordine del nanometro:

- **Nanoparticelle isodimensionali:** tutte e tre dimensioni sono dell'ordine del nanometro;
- **Nanotubi o nanofibre:** due dimensioni sono in scala nanometrica e la terza è più estesa;
- **Nano-layers:** solo una dimensione è dell'ordine dei nanometri e le altre due sono, invece, più estese; Passando da particelle isodimensionali a particelle bidimensionali si massimizzano le interazioni tra i nanofillers e la matrice, che sono alla base delle proprietà uniche dei nanocompositi.

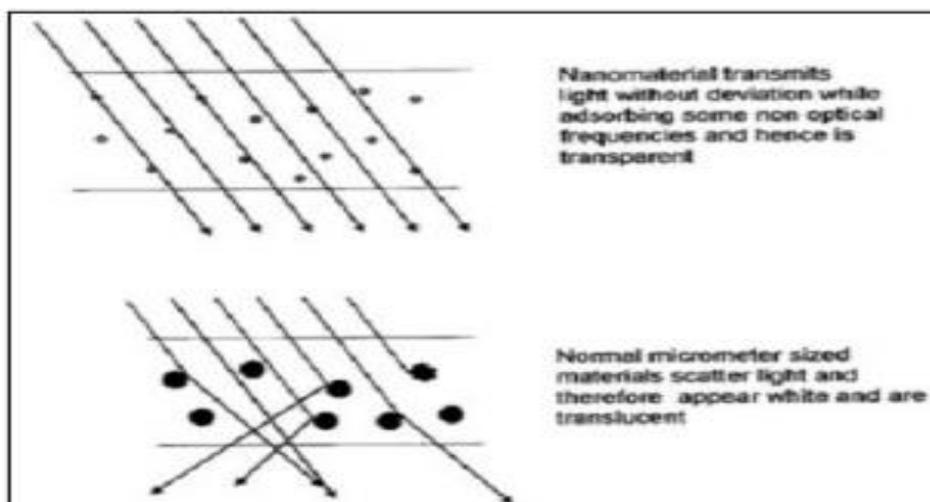


**Figura 1- Nanorinforzi più comuni: nanoparticelle 3D, nantubi e nanofibre, nanopiattelli**

Il riempitivo di dimensioni nanometriche è caratterizzato da un elevato rapporto superficie/volume e, di conseguenza, le caratteristiche degli atomi di superficie prevarranno su quelle degli atomi interni. E' questo il principale fattore che causa la differenza di proprietà tra i nanomateriali ed i materiali convenzionali. Le nanocariche, promuovono la formazione di un sistema nano-strutturato caratterizzato da una elevata area di contatto tra la matrice e la carica.

Dunque, si può assumere l'interfaccia tra la matrice e la carica come una "regione di interfase" con nuove proprietà.

Uno dei principali vantaggi nell'uso di nanocariche è connesso alla possibilità di ottenere migliori proprietà fisiche e meccaniche della matrice utilizzando bassissime percentuali di carica[3]. E' possibile ottenere anche vantaggi estetici poiché le dimensioni nanometriche delle cariche minimizzano i fenomeni di scattering della luce incidente poiché le dimensioni delle particelle sono più piccole delle lunghezze d'onda della luce visibile, conferendo al materiale buona trasparenza ottica e brillantezza.



**Figura 2-Propagazione della luce all'interno di un nanocomposito con differenti dimensioni del filler.**

Nei compositi polimerici convenzionali, il miglioramento di certe proprietà mediante l'introduzione di un particolare filler macroscopico è comunemente accompagnato da una perdita di altre importanti proprietà. Ad esempio, un miglioramento di rigidità, proprietà barriera o proprietà ignifughe può portare a una perdita di tenacità, trasparenza o proprietà meccaniche, rispettivamente. Con l'utilizzo di nanofillers, la perdita di alcune proprietà desiderate può essere minimizzata o addirittura evitata[4].

Si riscontra, infatti, che i nanocompositi polimerici, ottenuti generalmente con un 5-10 % in peso di nanocariche, presentano proprietà superiori non solo rispetto alla matrice di partenza, ma anche rispetto ai compositi convenzionali caricati con percentuali di carica maggiori, tra cui: maggiore rigidità e tenacità; maggiore resistenza ai solventi; maggiore tenacità; maggiore resistenza all'abrasione; minore permeabilità ai gas; migliore processabilità.

## 1.2 VALORIZZAZIONE DI RIFIUTI CHERATINOSI

Negli ultimi anni abbiamo assistito a un crescente interesse per il recupero e il riutilizzo di biomassa, in particolare come valida alternativa ai materiali plastici tradizionali per la produzione di beni di consumo. I materiali (bio)plastici, ottenuti da fonti naturali, potrebbero ridurre la dipendenza della nostra economia sulle fonti fossili contribuendo anche a ridurre l'inquinamento ambientale. In questa prospettiva, la cheratina è una buona candidata. Essa è la più abbondante proteina fibrosa presente in natura poichè costituisce la componente principale di capelli, lana, piume, corna e unghie di mammiferi, rettili e uccelli. Pertanto, può essere estratta da materie facilmente reperibili e a basso costo. Fonti attrattive di cheratina sono i sottoprodotti di scarto dell'industria casearia, la lana non adatta alla filatura (sottoprodotto di scarto dell'industria tessile), ma anche le piume di pollo provenienti da scarti di macelleria.

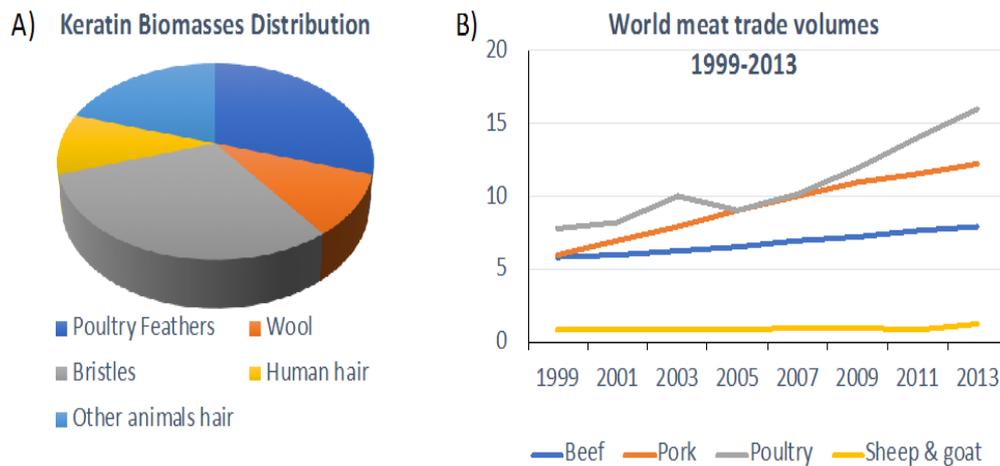


Figura 3- Principali fonti di biomassa di cheratina

L'industria alimentare, in particolare il mercato della carne, il macello e l'industria di pollame, produce milioni di tonnellate di rifiuti cheratinosi e sono in costante crescita. I principali produttori includono USA, Brasile e Cina, con oltre 40 milioni di tonnellate di rifiuti cheratinosi all'anno. Lo smaltimento di questo tipo di rifiuti rappresenta un problema da affrontare perché la combustione di questi scarti è inefficiente (la lana possiede un Limitin Oxygen Index, LOI, di circa 25 e la cheratina è autoestinguente) ed inquinante (a causa dell'elevato contenuto di zolfo).

I dati riguardanti la disponibilità totale di biomassa di cheratina in termini di tipo di rifiuto, è molto difficile da determinare a causa della disponibilità dei dati insufficiente, inefficiente ed incoerente[5][6][7].

Tuttavia, la maggior parte dei rifiuti cheratinosi è prodotta dalle industrie di pollame e carne suina, che guidano il mercato mondiale della produzione di carne (Figura 1A e Figura 1B).



**Figura 4- A) Distribuzione mondiale della disponibilità di biomassa a base di cheratina.; B) Volumi commerciali della produzione mondiale di carni 1999-2013..**

La possibilità di valorizzare questi rifiuti organici per estrarre cheratina costituisce un aspetto molto importante dal punto di vista ambientale. La cheratina estratta può essere utilizzata per la progettazione di biomateriali avanzati, grazie ad alcune caratteristiche chiave rilevanti: (a) la cheratina è una adsorbente efficiente di metalli pesanti e composti organici volatili (VOCs), quindi utile per la depurazione dell'acqua e dell'aria[8]; (b) le proprietà intrinseche bioattive della cheratina, come la capacità di promuovere l'adesione e la proliferazione delle cellule, la rendono estremamente interessante per applicazioni biomedicali (in particolare nel settore dell'ingegneria tissutale[9]); (c) infine, è un ritardante di fiamma[10] ed ha proprietà barriera, ed è pertanto molto promettente anche per lo sviluppo di imballaggi alimentari compostabili[11][12]. Inoltre, la cheratina estratta dalla lana risulta essere più adatta della cheratina estratta dalle piume di pollo, grazie alla sua maggiore estraibilità[8].

Dunque, la migliore soluzione da adoperare al fine di valorizzare questi rifiuti, consiste nell'estrazione della cheratina per la produzione di materiali compositi. Tuttavia, a causa dell'eccessiva fragilità e della veloce degradazione dei materiali a base di cheratina, che

ne limita fortemente la lavorabilità e l'utilizzo, la cheratina deve essere miscelata con altri polimeri e/o con agenti rinforzanti, sia di origine naturale che sintetica, al fine di ottimizzarne e modularne le proprietà, mantenendone allo stesso tempo l'elevata biodegradabilità e biocompatibilità[13][14]. Una adeguata soluzione a questo problema è rappresentata dai bio-nanocompositi. Essi, possiedono una matrice bio-polimerica rinforzata con nanoparticelle e sono diventati una soluzione promettente al fine di ottenere bio-materiali con buone proprietà meccaniche e termiche da poter utilizzare in diverse applicazioni. Grazie a tutto ciò, sarà possibile sviluppare con successo applicazioni industriali per la cheratina della lana.

### 1.3 LA CHERATINA

La cheratina è il nome di una famiglia di proteine strutturali che sono abbondanti nello strato esterno della pelle umana, nei capelli e nelle unghie[15]. La cheratina è ricca di aminoacidi cisteina e ha la capacità di auto-assemblarsi in fasci di fibre. All'interno di questi fasci di fibre, i singoli filamenti sono ulteriormente reticolati attraverso legami S-S (zolfo-zolfo) che coinvolgono le catene laterali della cisteina [16][17].

A livello molecolare la cheratina presenta una struttura primaria data da una catena polipeptidica elicoidale, costituita dalla ripetizione di 18 tipi di amminoacidi diversi (tra cui cistina e cisteina, serina, glutammina, glicina, arginina, asparagina, prolina, valina, leucina e isoleucina), di lunghezza intorno ai 450Å. Essa si distingue dalle altre proteine strutturali (fibroina o collagene) per l'elevata concentrazione di cisteina (7-20% dei residui totali di aminoacidi).

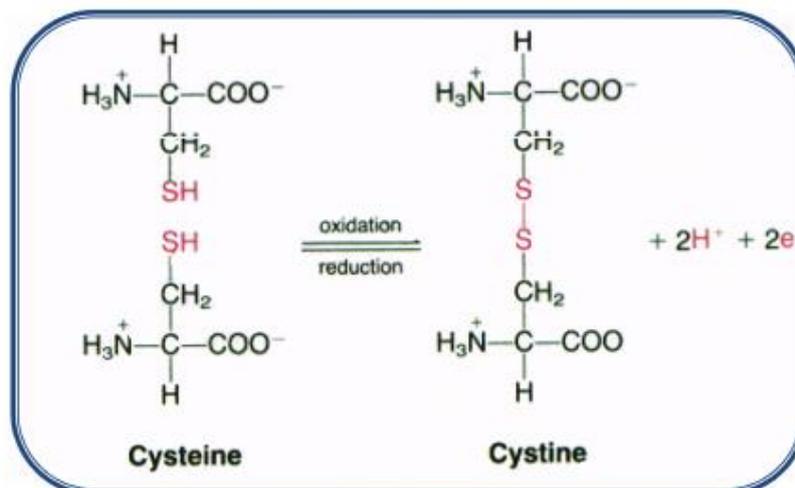


Figura 5-Zwitterione di cheratina al variare del pH

A livello di struttura secondaria, la cheratina può assumere tre differenti conformazioni:

- **α-cheratina:** costituita da α eliche intrecciate fra loro e ricca di amminoacidi solforati tra cui la cisteina, è debolmente basica (massa molecolare, approssimativamente, 55-60 kDa) se non neutra (massa molecolare,

approssimativamente, 40-50 kDa) [18]. Le alfa-cheratine sono ricche di cisteina e si trovano in gran parte nei tessuti molli, come lana, pelle e capelli[19].



Figura 6- Struttura ad  $\alpha$ -elica della cheratina

- **$\beta$ -cheratina:** costituita prevalentemente da foglietti  $\beta$ , non da alfa eliche, è leggermente acida (massa molecolare è, approssimativamente, 10 kDa)[18]. Le  $\beta$ -cheratine sono ricche in alanina e glicina e si trovano principalmente nei tessuti duri, come piume di uccelli, squame di pesce, unghia[20].

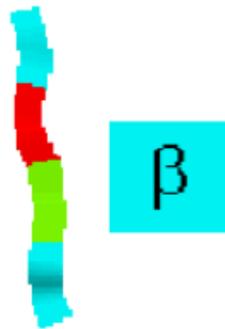


Figura 7- Struttura a  $\beta$ -foglietto della cheratina

- **Random coil:** costituita da una struttura disordinata.

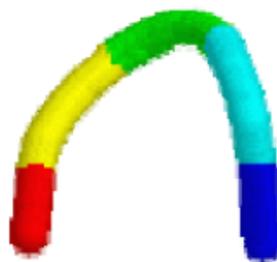
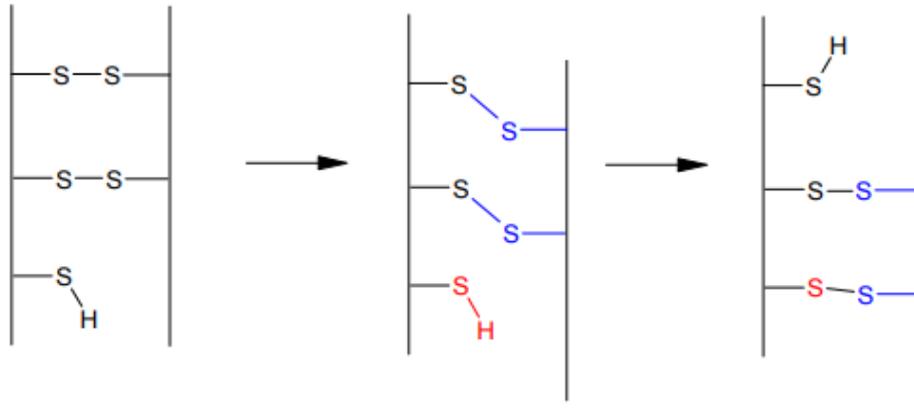


Figura 8- Struttura random coil della cheratina

La sequenza di aminoacidi che forma la cheratina è la responsabile della presenza di legami intermolecolari.

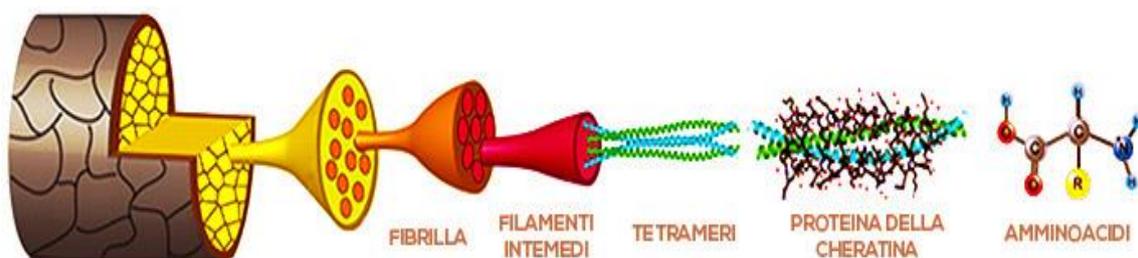
I legami S-S, dovuti alla presenza dell'amminoacido cisteina, danno origine ad una struttura tridimensionale compatta, responsabile della grande stabilità e della scarsa solubilità della proteina, nonché di altre proprietà meccaniche e termiche che la distinguono da proteine strutturalmente e chimicamente simili come la fibroina e il collagene. In questo modo, la cheratina forma strutture particolarmente dure e insolubili che sono tra i tessuti non mineralizzati più forti presenti in natura.



**Figura 9- Ponti disolfuro che impartiscono importanti proprietà alla cheratina**

Oltre ai ponti disolfuro, altri tipi di legami influenzano le proprietà meccaniche e strutturali della proteina: i legami a idrogeno e i legami ionici che si formano, in funzione del pH, tra gli anioni carbossilato ed i cationi ammonio[21].

Le  $\alpha$ -eliche si assemblano tra loro per formare strutture complesse dette protofilamenti. I protofilamenti si associano a loro volta per formare la protofibrilla (Figura 10). Le catene polipeptidiche sono legate tra loro prevalentemente attraverso ponti disolfuro, che stabilizzano la struttura quaternaria. Nel caso della struttura a  $\beta$ -foglietto l'idrogeno ed il gruppo metilico, consentono la formazione di legami a idrogeno.



**Figura 10- Rappresentazione della struttura gerarchica della cheratina**

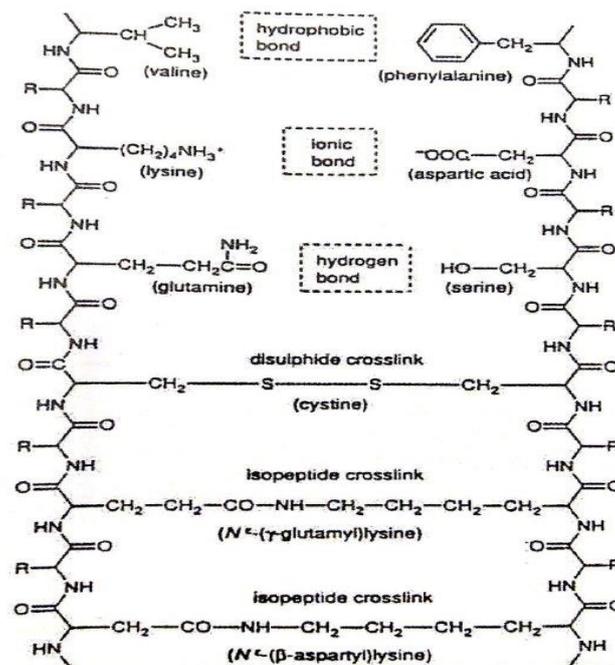


Figura 11- Rappresentazione della struttura chimica della cheratina

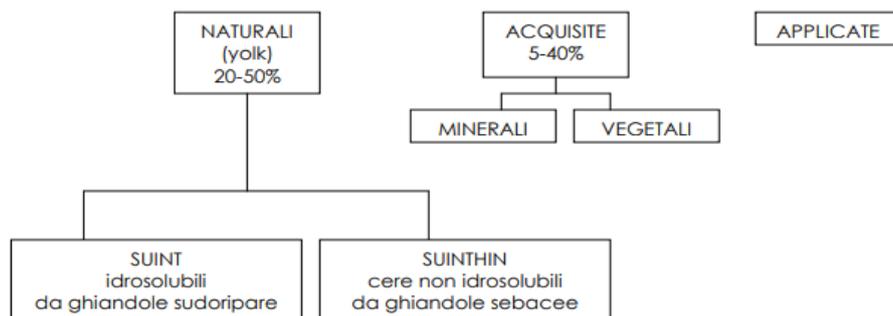
### 1.3.1 LA CHERATINA DELLA LANA

La lana è la fonte di cheratina utilizzata in questo lavoro di tesi. Essa è una fibra tessile naturale che si ottiene dal vello di ovini (pecore e di alcuni tipi di capre), conigli e camelidi ed è principalmente costituita da un gruppo di proteine cheratiniche (82%), caratterizzate da un elevato contenuto di residui di cistina (e quindi di zolfo), le quali possono essere classificate come dure o morbide secondo le loro proprietà tattili. Il resto della lana è composto da proteine non cheratiniche (circa il 17%), definite tali a causa del basso contenuto di cisteina, e da materiali non proteici (circa l'1%).

Nello specifico, le cheratine dure (lana) sono caratterizzate dalla presenza di circa il 3% in più di zolfo rispetto alle cheratine morbide.

Dal punto di vista chimico, la lana grezza contiene tre tipi di impurezze:

- **Impurezze naturali:** sostanze secrete dalle ghiandole che si depositano durante la crescita dell'animale. Si tratta essenzialmente di grasso di lana costituito da una miscela di lipidi complessi e non polari secreti dalle ghiandole sebacee e di prodotti di traspirazione come sali di potassio, composti azotati, solfati e fosfati, secreti dalle ghiandole sudoripare;
- **Impurezze acquisite:** sostanze di origine minerale o vegetale (come polvere o sporcizie) dovute a fattori esterni che si depositano sulla lana;
- **Impurezze applicate:** sostanze utilizzate sulla lana con lo scopo di combattere malattie o insetti.



**Figura 12- Impurezze della lana grezza**

La sequenza aminoacidica della cheratina svolge un ruolo fondamentale nelle reazioni chimiche delle fibre di lana ed è valutata attraverso un'idrolisi completa della lana che fornisce i seguenti risultati:

Amminoacido	Abbreviazione	Contenuto (moli %)
Glicina	Gly	8.6
Alanina	Ala	5.3
Fenilalanina	Phe	2.9
Valina	Val	5.5
Leucina	Leu	7.7
Isoleuvina	Ile	3.1
Serina	Ser	10.3
Treonina	Thr	6.5
Tirosina	Tyr	4.0
Acido aspartico	Asp	6.4
Acido glutammico	Glu	11.9
Istidina	His	0.8
Arginina	Arg	6.9
Lisina	Lys	3.1
Metionina	Met	0.5
Cistina	Cys	10.5
Triptofano	Trp	0.5
Prolina	Pro	5.9

**Tabella 1- Composizione aminoacidica della lana**

Come è possibile evincere dalla tabella, la cheratina della lana contiene un' elevata percentuale di glicina e di alanina che sono gli amminoacidi più semplici e le sequenze aminoacidiche RGD (Arg-Gly-Asp), e LDV (Leu-Asp-Val) responsabili dell'adesione e della crescita cellulare, in modo particolare per cellule fibroblastiche e cheratinocitiche [22] [23]. Inoltre, si ritiene che la cheratina giochi un ruolo fondamentale nelle funzioni regolatorie che mediano il comportamento cellulare.

Le proteine della lana sono tutte  $\alpha$ -cheratine e possono essere classificate in quattro gruppi in base alla loro composizione in amminoacidi:

- 1) Cheratine a basso contenuto di zolfo (LS);
- 2) Cheratine ad alto contenuto di zolfo (HS);
- 3) Cheratine ad ultra-alto contenuto di zolfo (UHS);
- 4) Proteine ad alto contenuto di glicina e tirosina (HGT);

Frazione proteica	% massa	N. di amminoacidi	S % in massa	Proprietà
a basso zolfo	58	392-416	1,5-2	
ad alto zolfo	18	94-211	4-6	16-24% in moli di cisteina
ad ultra-alto zolfo	8	168-197	8	33-37% in moli di cisteina
ad alto Gly-Tyr	6	61-84	0,5-2	35-60% in mol di Gly e Tyr

**Tabella 2- Composizione proteica della lana**

Dal punto di vista morfologico, una fibra di lana è costituita da tre strati, partendo dal più esterno:

- 1) **Cuticola (o cellule cuticolari):** corrisponde alla parte più esterna della fibra, costituisce la struttura scagliosa; ogni scaglia è formata da una singola cellula cuticolare disposta ad embrice ed è composta, dall'esterno all'interno, da tre strati sovrapposti (epicuticola, esocuticola, endocuticola) che si differenziano nella composizione chimica e conseguentemente nelle caratteristiche chimico-fisiche. La cuticola ha una funzione protettiva perché costituisce una barriera contro gli agenti chimici che attaccano il cortex; le cellule della cuticola rappresentano circa il 10% del peso della fibra. La cuticola è più ricca in cisteina rispetto al cortex, perciò è meno elastica;
- 2) **Cortex (o cellule corticali):** è un aggregato cellulare che rappresenta circa il 90% della massa totale della fibra per lane fini, ovvero non midollate, come le lane merino; è originato dalle cellule corticali formate principalmente da fasci di fibrille di cheratina orientate longitudinalmente e contenenti, nella loro parte centrale, residui di nuclei cellulari. Le cellule sono fusiformi e con dimensioni maggiori rispetto alle cellule cuticolari. La lana risulta composta nel suo tronco fibroso (il cortex) da un aggregato cellulare a due componenti, strutturato in fibrille di cheratina e organizzato nel seguente modo:
  - le cellule corticali (larghe 5  $\mu\text{m}$ ) sono formate da macrofibrille immerse in una sostanza amorfa, denominata sostanza intermacrofibrillare;
  - le macrofibrille (larghe 200 nm) a loro volta sono costituite da fasci di microfibrille immerse in una matrice proteica composta da cheratine ricche di zolfo e di tirosina;
  - le microfibrille (larghe 7 nm) sono organizzate in insiemi di protofibrille inserite nella matrice;
  - le protofibrille, sottostrutture delle microfibrille (larghe circa 2 nm), sono composte da due o tre catene polipeptidiche di cheratina a basso contenuto di zolfo, ritorte insieme nella loro conformazione ad  $\alpha$ -elica.
- 3) **Cemento intercellulare (CMC):** ha la funzione di unire cellule corticali e cuticolari. Il termine 'complesso della membrana cellulare' (CMC) è applicato alla

struttura completa che consiste delle due membrane vicine e del cemento tra esse. Tale cemento è stimato essere circa l'1% del peso della fibra di lana ed il suo spessore varia con la posizione, in quanto esso riempie tutti gli spazi vuoti tra le cellule. Dunque, la CMC forma una rete di canali nella fibra e crea le condizioni per la diffusione delle molecole in profondità della fibra di lana. È considerato non cheratinico, avente un alto contenuto di glicina e tirosina, perciò può essere disciolto da acidi, alcali, enzimi ed agenti riducenti ed ossidanti.

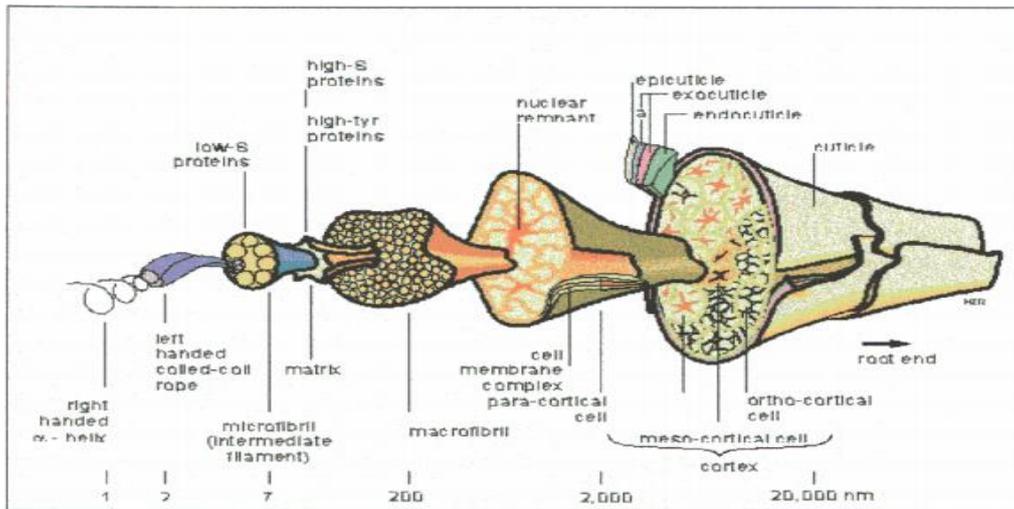


Figura 13- Rappresentazione di un filamento di lana fine

Inoltre, ulteriori tipi di indagini rivelano che sulle fibre di lana vi è un grande accumulo di Silicio.

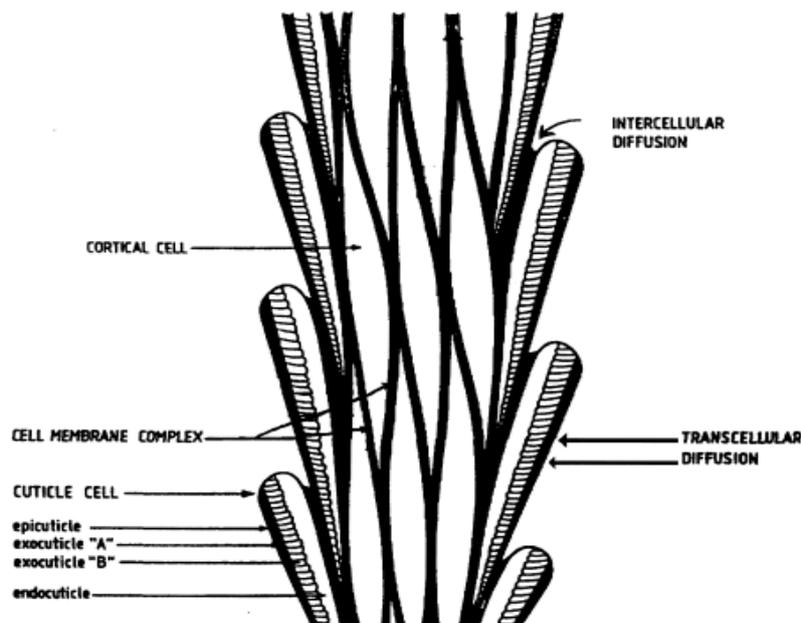
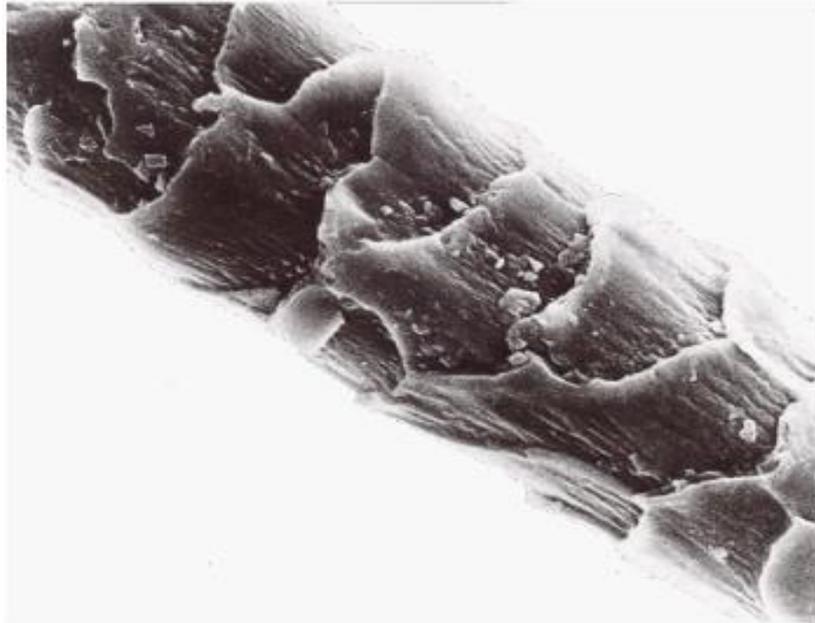


Figura 14- Diagramma schematico di una fibra di cheratina che mostra le cellule corticali e cuticole. Sono mostrati anche i canali attraverso i quali avviene la diffusione dei reagenti[24]

La lana è una fibra che risulta naturalmente ondulata e ciò impartisce voluminosità, potere isolante ed elasticità ai manufatti ed il numero di ondulazioni per centimetro, è un parametro importante per valutare la qualità della lana stessa. Inoltre, anche per via della struttura molecolare e dei legami chimici ed intermolecolari che si vengono a formare, le fibre di lana risultano essere caratterizzate da grande resilienza: presentano un grande allungamento a rottura ma allo stesso tempo, presentano un gran recupero elastico.



**Figura 15- Immagine al SEM di una fibra di lana**

#### Estrazione della cheratina:

La cheratina naturalmente presente nella lana, può essere estratta con l'utilizzo di trattamenti riducenti, ossidanti o attraverso la solfonazione, mediante scissione di legami disolfuro covalenti e dei legami inter-catena (legami idrogeno).

## **1.4 IL GRAFENE E IL GRAFENE OSSIDO**

### ***1.4.1 IL GRAFENE***

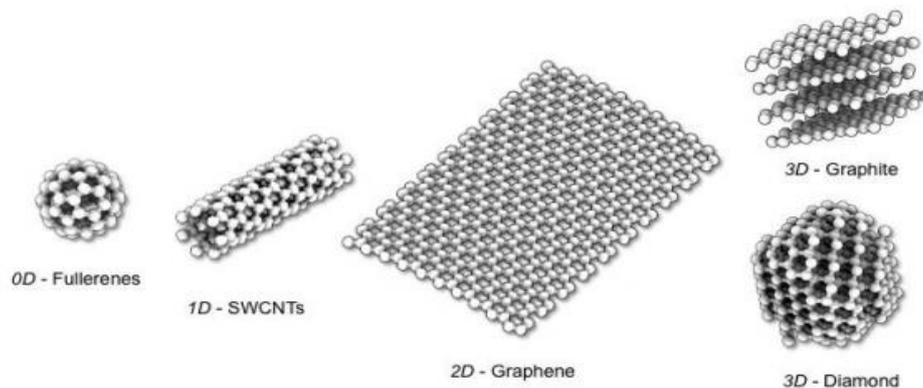
Nel 2004 i due fisici Andre Geim e Konstantin Novoselov hanno isolato un nuovo materiale dalle proprietà straordinarie: il grafene. Pochi anni dopo, nel 2010, i due scienziati hanno ottenuto il Nobel per la fisica per le loro ricerche su questo materiale.

Il Carbonio è uno degli elementi chimici più diffusi in natura ed è alla base della chimica organica e quindi della vita sulla Terra. La ragione di questo straordinario ruolo è probabilmente correlata all'alto numero di composti del carbonio, che hanno una grande

varietà di proprietà fisiche e chimiche[25]. Il carbonio si può legare con altri elementi e con sé stesso con diverse ibridizzazioni che presentano diverse geometrie, forme e dimensioni e sono alla base delle sue diverse forme allotropiche.

Diamante, grafite, grafene, nanotubi di carbonio e fullereni sono solo alcune forme allotropiche del carbonio. Il grafene può essere considerato come l'unità base con cui formare altri materiali grafiticici di diverse dimensionalità. In particolare arrotolando un foglio di grafene possiamo ottenere un nanotubo di carbonio, piegando un foglio di grafene su sé stesso possiamo formare un fullerene, mentre impilando più fogli di grafene uno sopra l'altro otteniamo la grafite. Si definisce come zero-dimensionale la struttura del fullerene, monodimensionale la struttura dei nanotubi di carbonio, bidimensionale la struttura del grafene e tridimensionali le strutture di diamante e grafite.

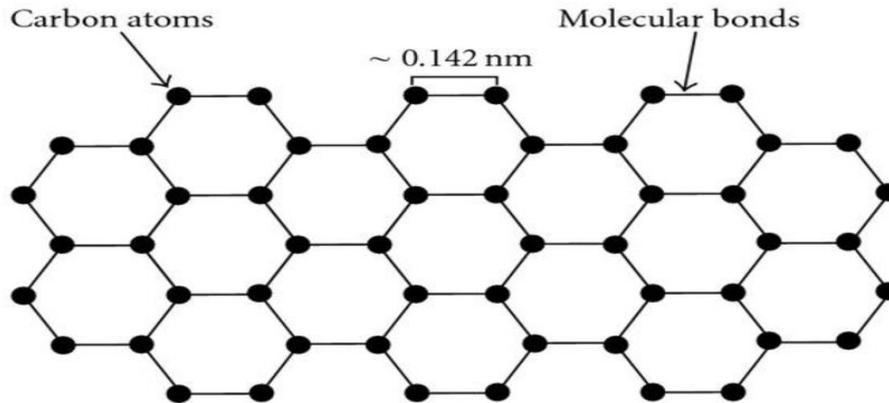
Nella figura 16 sono mostrate alcune delle differenti forme allotropiche del carbonio.



**Figura 16- Forme allotropiche del carbonio sviluppate in zero, una, due e tre dimensioni.**

Il grafene è un materiale composto da atomi di carbonio legati tra di loro a formare una struttura planare cristallina spessa un solo atomo: questa è organizzata con una geometria esagonale a nido d'ape (Figura 17), in cui ogni atomo è in grado di legarsi a tre atomi adiacenti, posti a  $120^\circ$  l'uno dall'altro[26]. I legami formati saranno quindi di tipo  $\sigma$ .

L'orbitale  $2p$  non coinvolto nell'ibridazione è posizionato perpendicolarmente ed è in grado di formare legami di tipo  $\pi$ . Questi legami  $\pi$ , doppi coniugati, posti sopra e sotto il piano della molecola, sono in grado di conferire al grafene un'elevatissima conducibilità elettrica ed una grande stabilità meccanica. L'unità fondamentale esagonale è ripetuta per un numero variabile di volte a formare una struttura planare di dimensioni micrometriche chiamata "foglio"[27].



**Figura 17-Reticolo cristallino esagonale a “nido d’ape”**

Le straordinarie proprietà del grafene, sono principalmente dovute alla combinazione di due fattori:

- La perfezione strutturale, data da legami forti ma al contempo flessibili, disposti in una struttura cristallina di atomi di carbonio priva di difetti.
- L'elevatissima mobilità degli elettroni dovuta alla presenza della sequenza di orbitali  $\pi$  coniugati tra loro.

Questi fattori portano il grafene ad avere delle ottime proprietà elettriche, termiche e meccaniche. Inoltre, il grafene, è trasparente, flessibile ed è impermeabile a tutti i comuni gas, ed infine, essendo spesso un solo atomo, possiede un'elevatissima superficie specifica ( $2630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ). Tutte queste proprietà ne fanno un materiale eccezionale, con potenziali applicazioni in moltissimi campi tecnologici.

#### ➤ PROPRIETÀ MECCANICHE DEL GRAFENE:

La particolare struttura del grafene, lo rende un materiale estremamente resistente. Il valore più frequente che si trova in letteratura per il Modulo di Young del grafene è di circa 1 TPa (per confronto, il titanio ha modulo di Young di 0,196 TPa, il nickel 0,214 TPa e il tungsteno 0,4 TPa) [28]. Inoltre per il grafene è stato misurato un carico a rottura di 130 GPa, maggiore di quello dell'acciaio, nonostante risulti essere molto più flessibile e leggero: la densità infatti è di appena  $0,77 \text{ mg/m}^2$  [29].

#### ➤ PROPRIETÀ ELETTRONICHE DEL GRAFENE:

Il grafene ha un'elevatissima mobilità di carica tipicamente  $15000 \text{ C}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$  che può arrivare a un valore di  $2000000 \text{ C}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Inoltre presenta una conducibilità elettrica di  $0,96 \cdot 10^6 \text{ } \Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}$  che è maggiore di quella del rame ( $0,6 \cdot 10^6 \text{ } \Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) [30][31][32].

#### ➤ PROPRIETÀ TERMICHE DEL GRAFENE:

Per il grafene è stata misurata una conducibilità termica a temperatura ambiente di circa  $5000 \text{ W/mK}$  [33], quindi il grafene conduce meglio il calore dei nanotubi di carbonio ( $3500 \text{ W/mK}$ ) e del rame ( $400 \text{ W/mK}$ ).

### ➤ PROPRIETÀ OTTICHE DEL GRAFENE:

Per quanto riguarda le proprietà ottiche, quello che rende il grafene estremamente interessante è l'elevata trasparenza alla radiazione elettromagnetica. Dati teorici e sperimentali evidenziano che un singolo “foglietto” di grafene assorbe circa il 2,3% della radiazione incidente ed è indipendente dalla lunghezza d'onda [34][30]. Dunque, il coefficiente di trasmissione ottica del grafene è pari a circa il 98% della luce incidente, e si mantiene pressoché invariato in tutto lo spettro visibile.

Per via di queste eccellenti proprietà, difficili da riscontrare in un solo materiale, il grafene ha rapidamente incontrato l'interesse dell'intera comunità scientifica mondiale.

Numerose aziende e centri di ricerca stanno investendo risorse ed energie per studiare il suo possibile utilizzo in diversi campi. Esempi di tecnologie a base grafenica che si stanno sviluppando sono: dispositivi elettronici flessibili, materiali compositi più leggeri e resistenti, batterie, celle solari e sensori più performanti, membrane per la depurazione dell'acqua, nonché applicazioni biomedicali, in catalisi[35] e tanto altro.

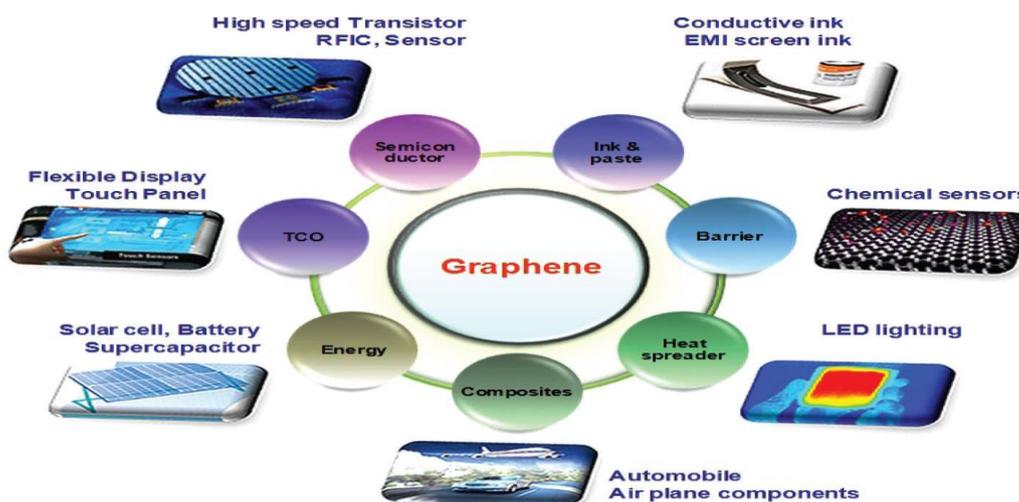
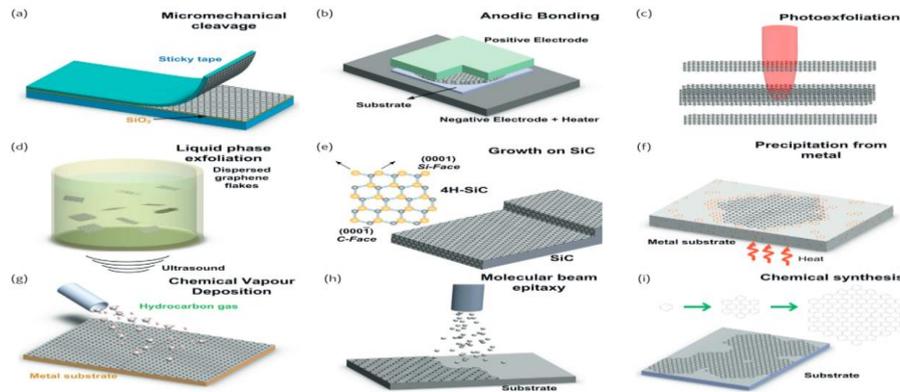


Figura 18- Potenziali applicazioni del grafene in diversi settori[36]

### PRODUZIONE DEL GRAFENE E SUOI DERIVATI:

Il grafene e i suoi derivati si possono produrre con diversi metodi che possono essere suddivise in due principali categorie:

- 1) approcci di tipo *top-down*: in cui è possibile ottenere il grafene mediante l'esfoliazione della grafite per mezzo di adeguati trattamenti chimici, elettrochimici o meccanici;
- 2) approcci di tipo *bottom-up*: in cui è possibile far crescere i cristalli di grafene partendo da precursori a base carbonio con tecniche diverse come ad esempio la crescita CVD (Chemical Vapour Deposition).

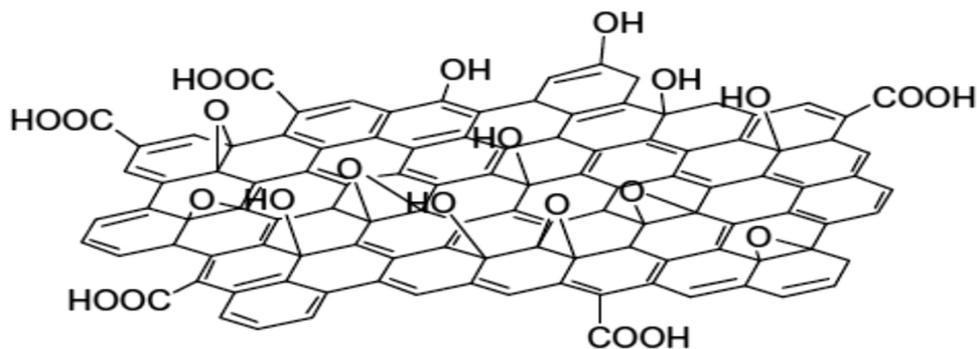


**Figura 19- Rappresentazione schematica delle principali tecniche di produzione del grafene e dei suoi derivati[37]**

E' possibile ossidare il grafene allo scopo di ottenere l'ossido di grafene, uno dei materiali grafenici di cui è molto studiata l'efficacia come rinforzo per compositi. Ciò permette di avere caratteristiche diverse e permette ai materiali grafenici di essere sfruttati in numerose applicazioni, in base al grado di ossidazione. Inoltre, il GO rispetto al grafene, possiede anche una relativa facilità di dispersione nei polimeri.

### **1.4.2 IL GRAFENE OSSIDO**

Il grafene è il primo di una famiglia di materiali bidimensionali che hanno struttura, proprietà e applicazioni anche molto diverse tra loro. Dalla ossidazione della grafite in ambiente acido è possibile ottenere l'ossido di grafene (GO), derivato ossidato del grafene contenente atomi di carbonio ibridati sp<sup>2</sup> e sp<sup>3</sup>[26].



**Figura 20- Struttura di un monolayer di ossido di grafene secondo Gao [38]**

Esso risulta essere un materiale molto complesso di cui esistono diversi modelli strutturali, inoltre la composizione del materiale dipende da diversi fattori come il metodo utilizzato per produrlo, il materiale di partenza e il tempo di reazione.

Nella tabella sottostante sono riportati diversi metodi sviluppati per la sua produzione:

	Brodie	Staudenmaier	Hummers	Modified Hummers	
Year	1859	1898	1958	1999	2004
Oxidants	KClO <sub>3</sub> , HNO <sub>3</sub>	KClO <sub>3</sub> (or NaClO <sub>3</sub> ), HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	NaNO <sub>3</sub> , KMnO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	pre-ox: K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> , P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ox: KMnO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	NaNO <sub>3</sub> , KMnO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
C:O ratio	2.16 <sup>[27]</sup> 2.28 <sup>[36]</sup>	N/A <sup>[28]</sup> 1.85 <sup>[36]</sup>	2.25 <sup>[29]</sup> 2.17 <sup>[36]</sup>	1.3 <sup>[60]</sup>	1.8 <sup>[119]</sup>
Reaction time	3–4 days <sup>[27]</sup> 10 h <sup>[36]</sup>	1–2 days <sup>[28]</sup> 10 days <sup>[36]</sup>	≈2 h <sup>[29]</sup> 9–10 h <sup>[36]</sup>	6 h pre-ox + 2 h ox <sup>[60]</sup>	≈5 days <sup>[119]</sup>
Intersheet spacing [Å]	5.95 <sup>[36]</sup>	6.23 <sup>[36]</sup>	6.67 <sup>[36]</sup>	6.9 <sup>[60]</sup>	8.3 <sup>[119]</sup>

**Tabella 3-Metodi per l'ossidazione della grafite in ossido di grafite**

L'ossido di grafene si può considerare come un insieme di vari “fogli” (o strati) di grafene in cui attorno a isole aromatiche di carbonio ibridizzato sp<sup>2</sup> sono presenti carboni ossidati con gruppi funzionali contenenti ossigeno. La quantità degli atomi di ossigeno dipende dal grado di ossidazione che la grafite ha subito. Nello specifico il GO è ricco di funzionalità di tipo idrossido ed epossido sopra e sotto al piano, mentre ai bordi del “foglio”, si trovano maggiormente i gruppi carbonilici (principalmente acidi carbossilici ma anche piccole quantità di esteri, lattoni, chetoni ed aldeidi), legati ad atomi di tipo sp<sup>2</sup> [39].

L'ossido di grafene si ottiene tramite l'essfoliazione dell'ossido di grafite. Uno dei metodi efficienti per produrlo è quello sviluppato nel 1958 da Hummers and Offeman, che prevede l'uso di acido solforico concentrato e permanganato di potassio[25]. Tali reazioni intaccano la rete di legami sp<sup>2</sup> dei fogli di grafene introducendo dei gruppi ossidati.

L'introduzione di funzionalità contenenti ossigeno ha due effetti principali:

- aumenta considerevolmente la distanza interlamellare;
- Favorisce l'infiltrazione di molecole d'acqua nel composto a causa della loro idrofilicità.

Per completare il distacco dei vari fogli, si sottopone la sospensione a processi di sonicazione.

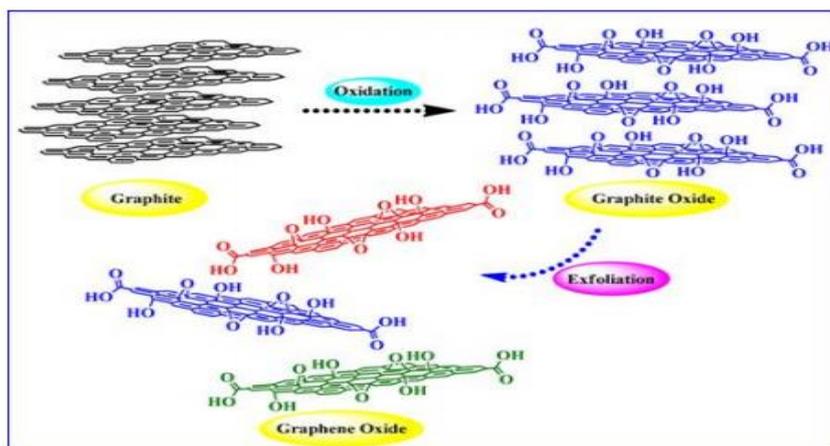


Figura 21-Sintesi dell'ossido di grafene a partire dalla grafite

Uno dei principali problemi del grafene è legato alla sua processabilità in soluzione o nei materiali compositi. L'ossido di grafene ha il vantaggio di poter essere disperso in acqua e in solventi organici ed è facilmente processabile in film, membrane e con materiali polimerici. Inoltre può essere prodotto in grande scala e grazie ai suoi gruppi funzionali risulta facilmente modificabile chimicamente. L'ossido di grafene è isolante elettricamente perché nel suo reticolo non esiste più un network continuo di carboni aromatici, ma mediante trattamenti termici, chimici o elettrochimici si può ripristinare in parte la sua la sua conducibilità elettrica.

## 1.5 COMPOSITI A BASE DI GRAFENE E SUOI DERIVATI

Il grafene e i suoi derivati sono additivi multifunzionali che, nel campo dei nanocompositi, in basse quantità, possono migliorare le proprietà meccaniche, elettriche, termiche e di barriera ai gas dei polimeri e, potenzialmente, sostituire i rinforzi fibrosi e a base di nanotubi di carbonio. In aggiunta, l'utilizzo dell'ossido di grafene, in adeguate quantità, può conferire anche proprietà antibatteriche ai manufatti.

Esistono differenti metodi per la preparazione di compositi polimerici con grafene e un parametro importante è la dispersione del grafene e dei suoi derivati all'interno della matrice polimerica. In letteratura si trovano principalmente tre approcci che vengono utilizzati per poter disperdere il grafene nei polimeri: il melt blending, il solution blending e la polimerizzazione in situ. Il solution blending sfrutta la solubilità di alcuni polimeri in appropriati solventi per scioglierli e miscelarli al grafene. Nel melt blending il polimero viene sciolto ad alta temperatura e poi si disperde il grafene all'interno. Infine nella polimerizzazione in situ il grafene viene disperso nel monomero o nel precursore polimerico, dopodiché si procede alla polimerizzazione del polimero mediante opportuni stimoli (e.g. calore, UV).

La dispersione del grafene in solventi polari, generalmente utilizzati per questi sistemi dipende dalle funzionalità di ossigeno presenti nella struttura grafenica. Pertanto l'ordine di dispersione sarà il seguente: il grafene ossido > grafene ossido ridotto > grafene[40].

Nella tabella sottostante sono riportati alcuni esempi di compositi polimerici caricati con grafene e le rispettive proprietà elettriche, meccaniche e termiche.

**Table 4**  
Comparison of thermal, mechanical and electrical properties of LPE and GO produced graphene in polymer composites.

Method	Graphene type	Matrix	Synthesis method	Filler loading	Penetration threshold, wt%	Electrical conductivity, S.cm <sup>-1</sup>	Increase in strength, %	Increase in modulus, %	Thermal properties	Ref.
via LPE method	Graphene	Epoxy	Solution	0.46 wt%	0.088	1E-05	38	37	-	[199]
	Graphene	Poly(vinyl chloride)	Solution	2 wt%	0.6 wt%	0.058 (6.47 wt%)	130	58	T <sub>g</sub> ↑ by 3.5 °C	[258]
	Graphene	Epoxy	Solution	0.244 wt%	0.24 wt%	1E-06	-19.6	17.3	T <sub>g</sub> ↑ by 7.4 °C	[259]
	Graphene	Nanofibrillated cellulose	Sonication	1.25 wt%	-	-	25	51	-	[260]
	Graphene	Polystyrene	Solution blending	4.19 wt%	0.1 wt%	0.1384	-	-	-	[219]
	Graphene	Poly(vinyl alcohol)	Solution	1.2 wt%	0.265 wt%	1.84E-04 (3 wt%)	129	116	-	[261]
	Graphene nanosheets	Polystyrene	In-situ	2 wt%	-	2.9E-02	-	-	T <sub>g</sub> ↑ by 8 °C	[262]
	Functionalized GO	Polystyrene	-	2.5 wt%	0.1 wt%	0.01	-	-	-	[22]
	GO	Polyurethane	In-situ	2.0 wt%	-	2.15E-08	239	202	Thermal stability by 40 °C at 5% loss	[263]
	GO	Poly(vinyl alcohol)	Solution	0.7 wt%	-	-	76	62	T <sub>g</sub> ↑ by 3.3 °C	[214]
	GO	Epoxy	Solution	0.54 wt%	-	-	10	25	-	[264]
	GO	Polyimide	In-situ	3 wt%	-	-	7	27	-	[265]
	TRGO	Polyamide 6	Melt extrusion	12 wt%	7.5 wt%	0.71E-02	-	47 (10 wt%)	-	[126]
	TRGO	Polyethylene terephthalate	Melt compounding	3 wt%	0.47 wt%	0.0211	-	-	-	[190]
	TRGO	Polycarbonate	Solution blending	2.2 wt%	0.38 wt%	0.226	-	-	T <sub>g</sub> ↓ by 3.3 °C	[266]
via GO route	TRGO	Polycarbonate	Emulsion mixing	2.2 wt%	0.14 wt%	0.512	-	-	T <sub>g</sub> ↓ by 9.7 °C	[266]
	Microwave-Exfoliated GO	Polycarbonate	Melt mixing	3 wt%	1.3 wt%	2.5E-03	-	30	T <sub>g</sub> ↑ by 0.6 °C	[267]
	CRGO	Epoxy	Solution	9 wt%	0.52 wt%	0.1	-	-	-	[192]
	TRGO	Polystyrene	Solution	1.1 wt%	0.33 wt%	0.0340	-	-	-	[268]
	GO	Poly(ε-caprolactone)	Electrospray	0.3 wt%	-	-	95	66	T <sub>g</sub> ↑ by 7.2 °C	[269]
	TRGO	Polyethylene terephthalate	Melt	3 wt%	0.47 wt%	0.0211	-	-	-	[190]
	TRGO	Poly(vinylidene fluoride)	Solution	4 wt%	2 wt%	1E-04	-	93	-	[217]
	TRGO	Poly(methyl methacrylate)	Solution	1 wt%	-	-	20	80	T <sub>g</sub> ↑ by 40 °C	[220]
	CRGO	Poly(vinyl alcohol)	Solution	0.8 wt%	-	1E-09 (1.6 wt%)	52	54	T <sub>g</sub> ↑ by 5.8 °C	[271]
	CRGO	Poly(butylene succinate)	Solution, melt	2 wt%	-	-	22	-	lower stability	[272]
	TRGO	Polyurethane	Solution	7 wt%	2 wt%	4.92E-04 (7 wt%)	-22.5 (3 wt%)	43 (3 wt%)	T <sub>g</sub> ↓ by 2.4 °C	[273]
	TRGO	High density polyethylene	Solution	3 wt%	1 wt%	0.015	-	-	-	[274]
	RGO	Polystyrene	Solution blending	2.45 wt%	0.19 wt%	0.7218	-	281.94 volt	T <sub>g</sub> ↓ by 5.5 °C	[275]
	RGO	Poly(vinyl alcohol)	-	3 wt%	-	-	53	52.6	Thermal stability ↑ by 12.1 °C	[276]
	Iodo phenyl functionalized GO	Polyimide	In-situ	0.5 wt%	0.5 wt%	9.2E-04 (2 wt%)	64	172	-	[277]
TRGO	Epoxy	Solution blending	0.2 wt%	-	1.47E-10	0	5	T <sub>g</sub> ↑ by 11 °C	[278]	
CRGO	Nanofibrillated cellulose	Solution mixing	10 wt%	-	0.154	12	70	-	[279]	
CRGO	Poly(vinyl alcohol)	Solution mixing	1.8%	-	-	150 (1.8 wt%)	940	-	[213]	
TRGO	Poly(lactide)	Melt blending	3 wt%	3-5 wt%	1E-10 (7 wt%)	12.9	33	Degradation temp ↑ by 14 °C (3.5 wt%)	[280]	
GO	Poly(vinyl alcohol)	Solution	2 wt%	-	-	167	92.2	T <sub>g</sub> ↑ by 8 °C	[281]	
TRGO	Isotactic poly(propylene)	Melt	10 wt%	<5 wt%	1.89E-4	-	53	-	[126]	

Note: TRGO - Thermally reduced Graphene Oxide; CRGO - Chemically Reduced Graphene Oxide; T<sub>g</sub> - glass-transition temperature; T<sub>c</sub> - crystallization temperature.

**Figura 22- Confronto delle proprietà termiche, meccaniche ed elettriche di LPE e GO in compositi polimerici**

Il miglioramento delle proprietà del polimero possono variare di molto a seconda del polimero, del tipo e dalla quantità di grafene utilizzati, dal grado di dispersione e dalla tecnica utilizzata per produrre il composito.

## 1.6 I POLIESTERI

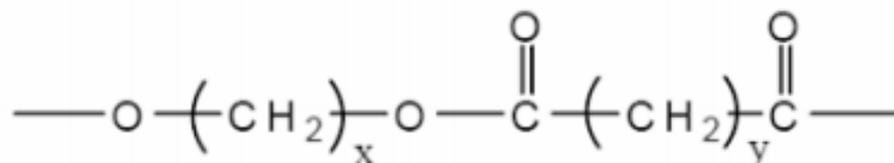
Tra i polimeri sintetici la classe più interessante dal punto di vista della biodegradabilità è senz'altro quella dei poliesteri. Questi polimeri biodegradabili contengono tutti nella loro struttura legami esterei idrolizzabili, ciò significa che il processo degradativo prevede la rottura del legame ad opera dell'acqua[41]. Per questi polimeri si parla perciò di degradazione idrolitica.

In base alla presenza o meno di anelli aromatici nella catena, i poliesteri si distinguono in alifatici ed aromatici.

## 1.7 I POLIESTERI ALIFATICI SINTETICI E BIODEGRADABILI

I poliesteri alifatici, caratterizzati dalla presenza di legami esterei all'interno della loro catena macromolecolare sono una delle classi di polimeri sintetici di maggior successo, importanza e diffusione commerciale. Grazie alle proprietà di biocompatibilità e biodegradabilità, questa classe di molecole può essere utilizzata progettare polimeri

biodegradabili e sintetici. Questi ultimi hanno attirato molto interesse negli ultimi anni, poiché possono essere utilizzati per molte applicazioni come, ad esempio, la medicina rigenerativa, l'agricoltura e l'imballaggio e rilascio controllato di farmaci. Nonostante siano stati studiati per questo uso numerosi polimeri di origine naturale come l'acido ialuronico o il collagene, i poliesteri lineari alifatici sono risultati particolarmente interessanti per la possibilità di modificarne facilmente le proprietà e per la versatilità dei loro processi produttivi. L'interesse verso i poliesteri sintetici è decisamente aumentato, grazie alla vantaggiosa caratteristica di modulare le proprietà chimiche, fisiche e meccaniche del manufatto finale relazione alle specifiche applicazioni.



**Figura 23- Struttura chimica che rappresenta la classe dei poliesteri alifatici**

In Tabella 2 sono riassunti i più comuni poliesteri alifatici biodegradabili[41].

POLIMERI	STRUTTURA
Acido poliglicolico (PGA)	$\left[ \text{---O---CH}_2\text{---CO---} \right]_n$
Acido polilattico (PLA)	$\left[ \text{---O---} \underset{\text{CH}_3}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}\text{---CO---} \right]_n$
Poli( $\epsilon$ -caprolattone) (PCL)	$\left[ \text{---O---} \left( \text{CH}_2 \right)_5 \text{---CO---} \right]_n$
Poli(para-diossanone) (PDS)	$\left[ \text{---O---} \left( \text{CH}_2 \right)_2 \text{---O---CH}_2\text{---CO---} \right]_n$
Poli(3-idrossibutirrato) (PHB)	$\left[ \text{---O---} \underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}\text{---CH}_2\text{---CO---} \right]_n$
Poli(valerolattone) (PVL)	$\left[ \text{---O---} \left( \text{CH}_2 \right)_4 \text{---CO---} \right]_n$
Poli(idrossivalerato) (PHV)	$\left[ \text{---O---} \underset{\text{CH}_2\text{---CH}_3}{\text{CH}}\text{---CH}_2\text{---CO---} \right]_n$

**Tabella 2 –Poliesteri alifatici sintetici e biodegradabili**

### 1.7.1 ACIDO POLILATTICO (PLA):

L'acido polilattico (PLA) è un poliestere termoplastico biodegradabile, biocompostabile e biocompatibile e possiede buone proprietà meccaniche [42][43].

Il PLA è stato sintetizzato per la prima volta nel 1932 da Carothers (DuPont) con un processo che prevedeva il riscaldamento dell'acido lattico sotto vuoto. Tuttavia, si otteneva un prodotto a basso peso molecolare ma nel 1954 Du Pont riuscì a sintetizzare il polimero ottenendo pesi molecolari maggiori. Successivamente la Cargill ha introdotto un nuovo processo di polimerizzazione a due stadi che ha permesso la produzione del PLA a prezzi più competitivi con una conseguente espansione del suo campo di applicazione.

Poiché l'acido lattico è una molecola chirale, PLA esiste in due forme stereo-isomeriche, acido poli-(D,L)-lattico (PDLA) e acido poli-L-lattico (PLLA), e la polimerizzazione dei due enantiomeri dell'acido lattico porta alla formazione di PDLLA[44]. I polimeri, che sono derivati da monomeri D e L, otticamente attivi, sono semi-cristallini mentre P(D,L)LA, otticamente inattivo, è amorfo. Questo, pertanto, fa sì che le proprietà dei due omopolimeri siano molto diverse tra di loro: in particolare, l'omopolimero P(L)LA è un polimero semicristallino con un punto di fusione (T<sub>m</sub>) compreso tra i 173-178°C e una temperatura di transizione vetrosa (T<sub>g</sub>) compresa tra 60-65°C[44]. Generalmente, P(L)LA cristallino è preferito in applicazioni in cui sono richieste elevata resistenza meccanica e tenacità[45].

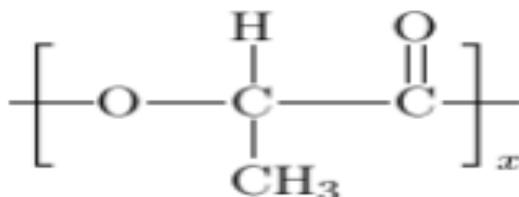
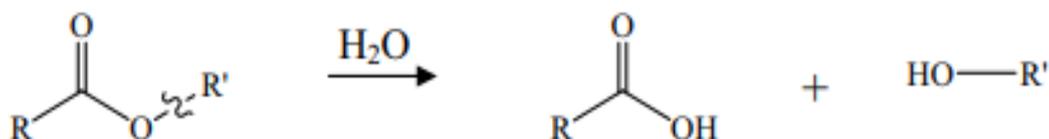


Figura 24-Unità ripetitiva della struttura dell'acido lattico

Esso può essere utilizzato per scopi in cui è richiesta biocompatibilità e biodegradabilità perché degrada principalmente attraverso l'idrolisi, processo durante il quale il peso molecolare del polimero viene ridotto fino a quando l'acido lattico e gli oligomeri a basso peso molecolare sono naturalmente metabolizzati dall'organismo vivente per produrre anidride carbonica e acqua.



Schema 1- degradazione idrolitica del gruppo estereo

I fattori che influenzano la degradazione la struttura e la composizione chimica, i difetti della catena, il peso molecolare, la lunghezza della catena, il grado di cristallinità, le condizioni di processo, la porosità e la concentrazione di catalizzatore[46]. Inoltre, è noto

che il tasso di degradazione del PLA è fortemente influenzato dal rapporto degli stereoisomeri L e D e si riscontra sperimentalmente che la cristallinità diminuisce con l'aumento del rapporto stereoisomerico[46][47]. La degradazione del PLA dunque, diminuisce all'aumentare del grado di cristallinità[48]. Pertanto, la miscela polimerica di PLLA e PDLA risulta un metodo efficace per variare il grado di cristallinità del polimero al fine di e modulare e ottenere le proprietà fisico-meccaniche volute e i tempi di degradazione idrolitica[49]. Durante la degradazione, il polimero mostra la variazione di molte proprietà a causa della riduzione del peso molecolare dovuta alla rottura delle macromolecole.

### Sintesi dell'acido polilattico:

Il PLA può essere preparato mediante diversi processi di polimerizzazione dall'acido lattico, tra cui:

- Policondensazione;
- polimerizzazione con apertura dell'anello;
- polimerizzazione enzimatica (rappresenta un passo avanti rispetto alle tecnologie esistenti, che prevedono una costosa fase intermedia di condensazione dell'acido lattico in lattide (diestere ciclico), che deve essere purificato prima della polimerizzazione in PLA).

Attualmente, le tecniche di produzione più utilizzate sono la polimerizzazione diretta che avviene per condensazione dell'acido lattico e la polimerizzazione con apertura ad anello del dimero dell'acido lattico, il lattide, senza utilizzo di solventi.

Nella figura 25 è illustrata una panoramica dei metodi principali utilizzati per la sintesi del PLA.

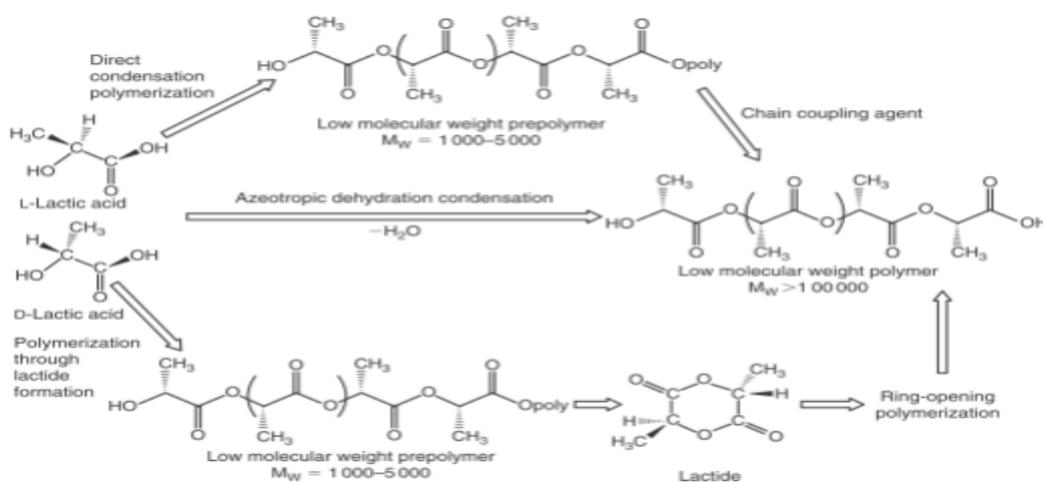


Figura 25- Principali metodi per la sintesi del PLA ad alto peso molecolare

## 1.8 IL PROCESSO DI ELETTROFILATURA

### 1.8.1 CENNI STORICI

Scoperta e brevettata all'inizio del 1900, la filatura elettrostatica (chiamata in seguito elettrofilatura o electrospinning) si propone oggi come una nuova tecnologia di produzione di polimeri fibrosi di dimensione nanometrica.

Grazie alla tecnica dell'elettrofilatura è possibile produrre fibre con un diametro medio che varia da 100 nm a 500 nm, comunemente definite "nanofibre", nella letteratura scientifica.

L'idea di adoperare un campo elettrico per produrre fibre molto sottili nasce intorno al 1930, ma è solo negli ultimi venti anni che questa tecnica è stata rivalutata a causa del crescente interesse verso le nanotecnologie. Inoltre, l'interesse per questa tecnica nasce dal fatto che nelle tecniche di filatura convenzionali è possibile produrre filamenti con diametri minimi dell'ordine di qualche micron ma non è possibile ottenere diametri dell'ordine dei nanometri poiché la soluzione polimerica è sottoposta a forze tensoriali, gravitazionali, aerodinamiche, reologiche e inerziali[50]. Per produrre filamenti continui con diametro nanometrico, dunque, occorre utilizzare metodi di produzione diversi, in cui il filamento in formazione possa essere stirato con forze di elongazione omogenee e costanti, per evitarne la rottura. Tutto ciò è realizzabile solo con la tecnica dell'elettrofilatura perché la fibra viene raggiunta principalmente dalle forze di trazione create nella direzione assiale del flusso polimerico mediante cariche indotte in presenza del campo elettrico e questo permette di abbattere di alcuni ordini di grandezza i limiti di diametro raggiungibili con i metodi di filatura meccanica[51]. L'interesse verso tale tecnica, inoltre è cresciuto perché quando i diametri delle fibre vengono ridotti dalla scala del micron (10<sup>-6</sup>nm) a quella del sub-micron (<10<sup>-6</sup> nm) e/o nano (10<sup>-9</sup> nm) compaiono proprietà interessanti. Nello specifico si riscontrano sorprendenti caratteristiche come un alto rapporto superficie/volume (rapporto che arriva ad aumentare anche di mille volte rispetto alle microfibre), flessibilità e interessanti proprietà meccaniche (come rigidità e resistenza alla trazione).

Grazie a queste importanti proprietà, le nanofibre elettrofilate trovano applicazione in svariati campi: Tessile: [52], Biomedicale: [53][54][55]; Trattamento aria/acqua; Nanocompositi; Elettronica e microelettronica: batterie[56] [57], sensori[58] Catalisi [59].

I vantaggi dell'electrospinning sono il suo basso costo, il suo tasso di produzione relativamente alto e la sua versatilità; infatti, con questa tecnica di filatura, diversi polimeri naturali, sintetici e alcuni materiali inorganici (compositi polimero/inorganico e ceramiche) sono stati elettrofilati con successo.

### 1.8.1 APPARECCHIATURA E MECCANISMO DI FUNZIONAMENTO DELL'ELETTROFILATURA:

Esistono diverse tipologie di apparati per elettrofilatura con configurazioni più o meno complesse, in funzione del tipo di produzione. Tuttavia, gli apparati di elettrofilatura sono costituiti da quattro componenti principali:

- un generatore di tensione ad alto voltaggio (10KV-40KV in DC);
- una siringa contenente il fluido polimerico dotata di pompa dosatrice;
- un capillare (generalmente un ago metallico) collegato alla siringa e al generatore di alta tensione;
- un collettore metallico (un conduttore messo a terra);

Lo schema di un classico apparato di elettrofilatura è mostrato nella figura 23.

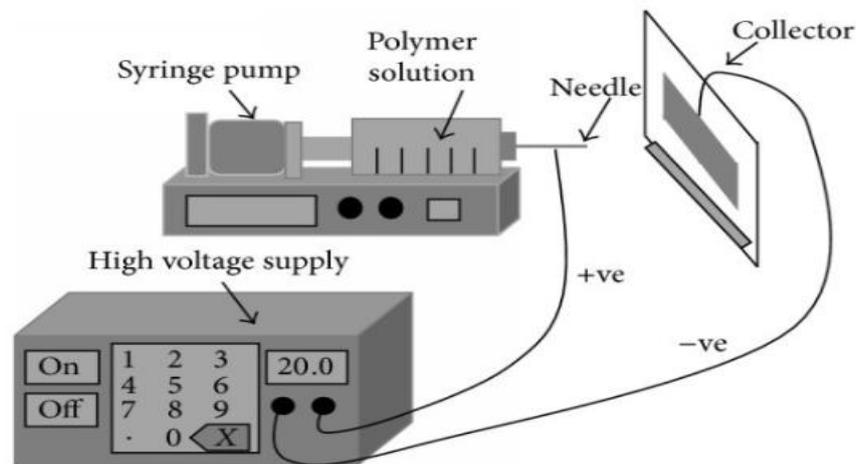


Figura 26- Schema del processo di elettrofilatura con set-up orizzontale

Come è mostrato in Figura 27, l'apparato di elettrofilatura appena descritto può essere assemblato sia con la configurazione in orizzontale (Figura 27a) sia con la configurazione in verticale (Figura 27b). Esse si differenziano unicamente per la direzione del getto.

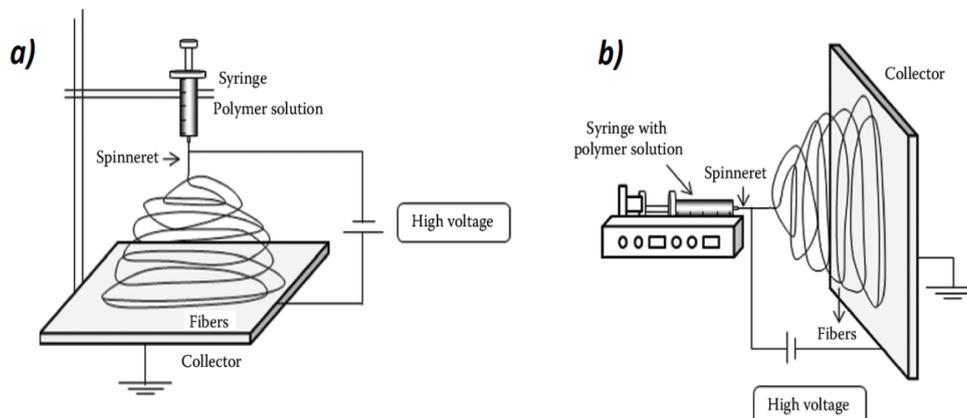


Figura 27- Apparato tradizionale per elettrofilatura in configurazione a) verticale e b) orizzontale.

Il potenziale ad alta tensione viene applicato alla soluzione polimerica all'interno della siringa per mezzo di un elettrodo, promuovendo una differenza di potenziale tra l'ago della siringa ed il collettore. Ciò induce delle cariche nella soluzione del polimero e la formazione di una goccia di polimero sulla punta del capillare. Se il campo elettrico è poco intenso la goccia di soluzione ha forma sferica e cade sulla piastra in forma liquida[60]. Man mano che il potenziale viene aumentato, aumenta la differenza di potenziale e si osserva una graduale distorsione della goccia fino alla formazione del cosiddetto "cono di Taylor" (Figura 22). Ciò si verifica quando il potenziale applicato è sufficientemente elevato da far sì che le forze elettrostatiche repulsive sulla goccia superino la tensione superficiale[61]. Le cariche indotte nella soluzione di polimero, in risposta al campo elettrico applicato, provocano l'eruzione della goccia con la conseguente formazione di un sottile getto nel verso del campo elettrico esterno, che termina sul collettore. Nel tempo che il getto impiega per raggiungere il collettore, si ha la solidificazione del fuso oppure l'evaporazione del solvente (nel caso di soluzione polimerica) con conseguente incremento della carica superficiale del getto[62]. Questo aumento di carica superficiale induce instabilità nel getto, che subisce un processo di stiramento a frusta con conseguente formazione di filamenti di polimero lunghi e sottili[60][63].

La presenza di nodi fisici (*entanglement*), caratteristici delle macromolecole ad alto e altissimo peso molecolare, conferisce viscosità al polimero e permette la trasmissione dell'effetto "stiro" delle macromolecole e ne consegue la formazione di una fibra carica che si deposita sul collettore. La deposizione continua e casuale di queste fibre produce una membrana le cui nanofibre si trovano sottoforma di un intreccio disordinato con struttura di tessuto non tessuto elettrostaticamente carico [64](Figura 18).

Uno dei principali vantaggi offerti dal processo di elettrofilatura è l'ampio intervallo di parametri che possono essere variati in funzione delle applicazioni richieste e da cui dipendono la morfologia, il diametro e la porosità delle nanofibre. I parametri si suddividono in tre categorie:

### 1) **Proprietà soluzione del fluido polimerico:**

- viscosità della soluzione: è fortemente influenzata dalla concentrazione del polimero e dal suo peso molecolare medio. Viscosità troppo basse, infatti, possono causare la rottura del getto producendo fibre corte aventi scarse proprietà meccaniche o addirittura formazione di micro o nanogocce (*electrospray*) Tuttavia, viscosità troppo elevate possono causare l'interruzione del processo a causa della solidificazione della soluzione;
- conducibilità e volatilità del solvente: gli ioni presenti nella soluzione polimerica incidono in maniera significativa sulla morfologia delle fibre. Nello specifico, all'aumentare della conducibilità elettrica della soluzione si verifica una diminuzione del diametro della fibra perché la maggiore densità di carica porta ed effetti stiro maggiore; mentre una conducibilità troppo bassa provoca la formazione di difetti morfologici per via di una insufficiente forza di stiro, che non

consente la giusta elongazione del getto. In genere, è stato osservato che, se il solvente ha un'alta costante dielettrica le fibre polimeriche mostrano un diametro inferiore e assenza di beads.

Per quanto riguarda la volatilità, in letteratura viene descritto l'utilizzo di diversi solventi. In generale, l'impiego di solventi troppo volatili può non permettere uno stiramento completo del getto durante il tempo di volo a causa di un'evaporazione troppo veloce; d'altra parte, un solvente troppo poco volatile non permette di completare l'evaporazione e come conseguenza si ha una deposizione di fibre non totalmente asciutte che possono dar luogo a fenomeni di filmazione sul collettore.

- tensione superficiale: ha diversi effetti sul diametro fibre e influenza anche sul valore della tensione critica in corrispondenza del quale ha inizio il processo di filatura. Generalmente, si evidenzia il fatto che riducendo la tensione superficiale si ottengono fibre prive di difetti utilizzando valori di potenziali inferiori;

## 2) Parametri strumentali:

- potenziale elettrostatico: deve essere tale da permettere la formazione del cono di Taylor. Non esiste un valore universale di potenziale elettrostatico, esso deve essere scelto in funzione del sistema specifico che si vuole processare. In generale, un potenziale elettrostatico alto sottopone il getto a forze di stiro più intense con la formazione di fibre con diametri inferiori; d'altra parte, valori troppo elevati di potenziale elettrostatico portano ad accelerazioni del getto troppo alte che fanno diminuire il tempo di volo e ciò si riflette nella formazione di fibre maggiori;
- velocità di flusso della soluzione: questo parametro determina la velocità di rinnovo della goccia sulla punta dell'ago. Pertanto, per ottenere una buona filatura è necessario trovare il giusto compromesso tra la quantità di materiale sottratto alla punta dell'ago ad opera del campo elettrico e quello che viene alimentato all'estremità della siringa. In generale, alti valori di flusso generano fibre aventi pori di dimensioni maggiori, ma ciò, in dipendenza dalla soluzione del polimero, può causare anche difetti morfologici indesiderati, dovuti alla mancata evaporazione del solvente;
- distanza tra ago e collettore: ago e collettore devono essere sufficientemente distanti per favorire l'evaporazione del solvente. Se la distanza è troppo bassa, non c'è la corretta evaporazione del solvente, se, invece, la distanza è troppo elevata verranno formate fibre con difetti;

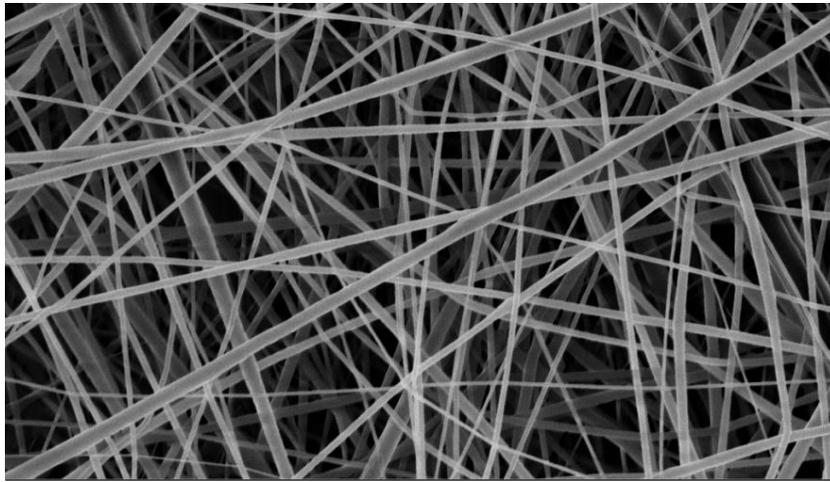
## 3) Parametri ambientali:

- Umidità relativa: influenza la morfologia delle fibre, specialmente se si tratta di polimeri disciolti in soluzione acquosa o in solventi igroscopico. Nello specifico, si verifica che un tasso elevato di umidità impedisce l'evaporazione del solvente,

mentre un tasso di umidità troppo basso aumenta la velocità di evaporazione del solvente, rendendo impossibile il processo di elettrofilatura.

- Temperatura: influenza il diametro delle fibre in relazione al fatto che la viscosità della soluzione del fluido (o fuso) polimerico dipende anche dalla temperatura. Generalmente, a temperature più alte si evidenziano valori di viscosità più bassi e viceversa ma bisogna precisare che è difficile attribuire un effetto generale della temperatura sul processo;

I parametri strumentali, ambientali e le proprietà della soluzione del fluido (o fuso) polimerico influenzano in modo non indipendente la morfologia, il diametro e la porosità delle fibre e la produttività del processo di elettrofilatura, rendendo difficile stabilire le correlazioni che esistono tra i tre parametri[65].



**Figura 28- Immagine SEM di nanofibre (senza difetti), orientate casualmente, prodotte con la tecnica di elettrofilatura**

Tuttavia, uno dei principali fattori limitanti del processo di elettrofilatura è la bassa produttività dovuta alle portate molto basse, che nel migliore dei casi, può raggiungere 1-2 ml/h. Per tentare di superare questo limite sono state ideate configurazioni multi-ago, che permettono di moltiplicare la portata nominale ma spesso, possono sorgere problemi legati alla repulsione dei getti posti a distanze troppo basse tra di loro.

Come è stato precedentemente detto, le nanofibre prodotte durante il processo di elettrofilatura possono presentare dei difetti se i parametri utilizzati non sono ottimizzati.

Dalle immagini è possibile vederne una panoramica:

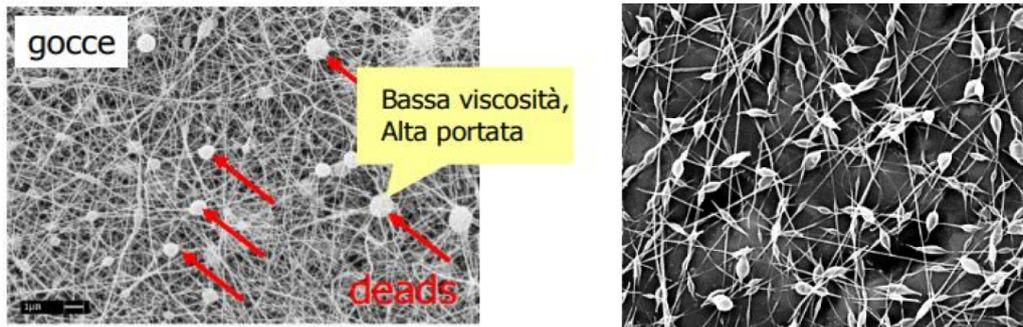


Figura 29 –Le gocce sono difetti morfologici dovuti a stiro insufficiente e si verificano per via della portata troppo elevata rispetto al campo elettrico.

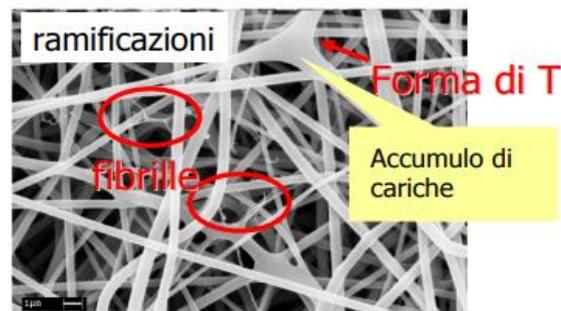


Figura 30-Le ramificazioni sono difetti morfologici dovuti ad un accumulo localizzato di cariche elettriche nel getto che origina getti secondari che partono dal getto principale.

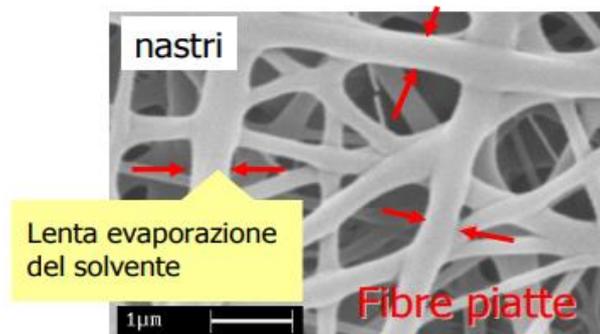


Figura 31- Le fibre con morfologia piatta sono dovute ad una lenta evaporazione del solvente oppure ad una evaporazione non uniforme

Il processo di elettrofilatura può essere suddiviso, pertanto, in tre fasi:

*1) Deformazione della goccia , formazione del cono di Taylor ed inizio del getto:*

Quando il potenziale elettrostatico applicato supera un valore di soglia, la forma della superficie del fluido polimerico incomincia a deformarsi a causa della perdita di tensione superficiale. Pertanto, il fluido polimerico in uscita dal capillare assume una particolare forma nota come “cono di Taylor”. La repulsione elettrostatica che supera in modulo la tensione superficiale e le forze viscoelastiche del fluido polimerico[61] si concentra sulla punta del cono di Taylor ed il fluido tende ad essere espulso dall’apice del cono per l’attrazione esercitata dal campo esterno che risulta maggiore sulla punta rispetto al bulk..

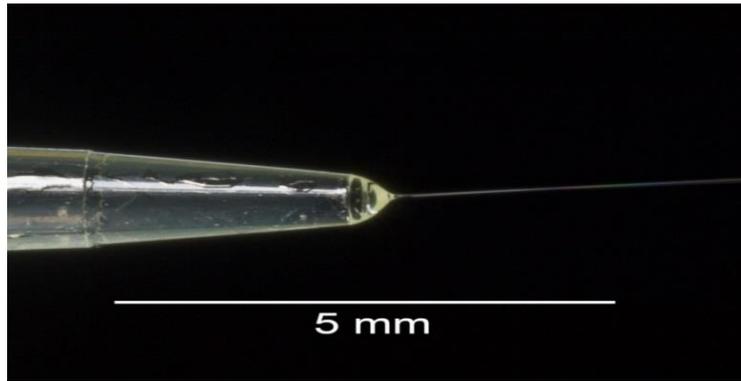


Figura 32- Fotografia del cono di Taylor

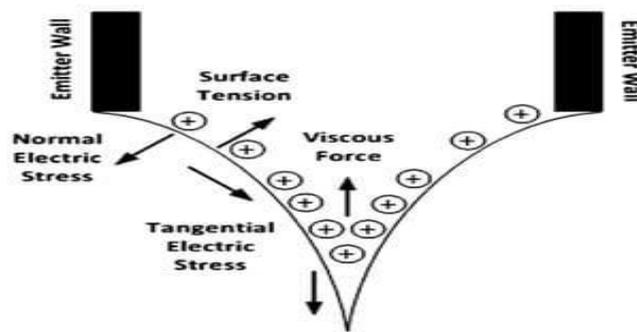


Figura 33- Rappresentazione delle forze in gioco all'interno del cono di Taylor

Inoltre, Taylor ha dimostrato che il voltaggio critico (espresso in kilovolts) alla condizione di equilibrio può essere calcolato utilizzando la seguente formula:

$$V_c^2 = 4 \left( \frac{H^2}{L^2} \right) * \left( \ln \frac{2L}{R} - 1,5 \right) * 0,117\pi R\gamma$$

Equazione 1

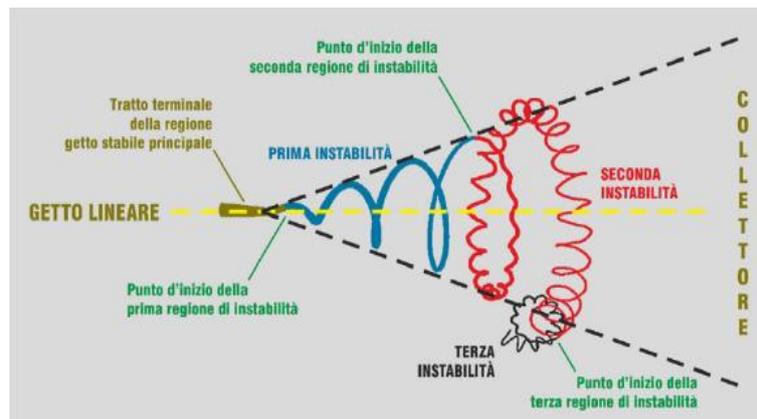
dove:

- H= distanza tra l'elettrodo ed il capillare (espressa in centimetri);
- L = lunghezza del capillare (espressa in centimetri);
- R= raggio del capillare (espresso in centimetri);
- $\gamma$ = tensione superficiale del liquido ( espresso in dyne/cm)

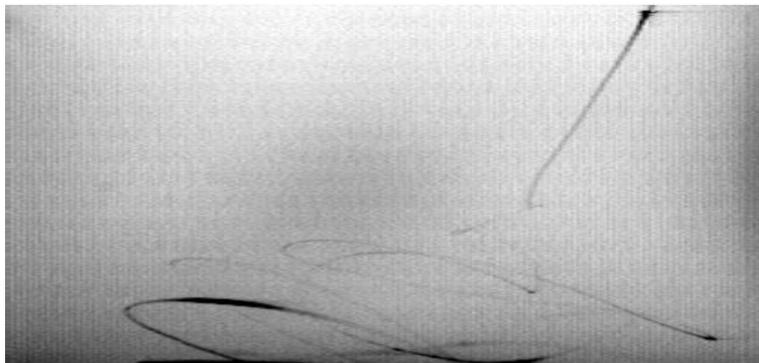
## 2) *Instaurarsi dell'instabilità:*

Il getto, indotto dall'applicazione del potenziale elettrostatico, è portatore di carica, pertanto, sarà indirizzato nel senso del campo elettrico esterno. Durante il tempo di volo il getto sarà soggetto ad instabilità. Ciò accade perché i rilassamenti viscoelastici delle catene polimeriche diminuiscono man mano che la fibra si assottiglia, pertanto, gli sforzi agenti sulla soluzione e l'interazione repulsiva tra le cariche elettrostatiche diventa sempre

più dominante, causando un'instabilità del getto. Dunque, partendo dalla punta del cono di Taylor, il getto attraversa una prima zona detta "regione stabile", per poi subire diversi cicli di instabilità che ne causano uno stiramento progressivo e di conseguenza una diminuzione del diametro delle fibre. Questo fenomeno è definito fenomeno del "whipping motion" (movimento a frusta). Man mano che la fibra si allunga e si assottiglia, aumenta l'area superficiale e ciò permette una veloce evaporazione del solvente e quindi la solidificazione delle fibre nonostante il breve tempo di volo.



**Figura 34- Fenomeno del "whipping motion" responsabile dello stiramento progressivo del getto**



**Figura 35- Instabilità di whipping estralata da un frame di un video ad alta velocità**

Mentre nelle prime fasi di volo questa forza è trascurabile perché è bilanciata dalla natura viscoelastica della soluzione che oppone resistenza al riassetto della forma e ne mantiene la forma originale, in zone più vicine al collettore questo bilancio diventa negativo e si verifica la distorsione del getto[66].

In passato, si riteneva che la diminuzione progressiva del diametro del getto fosse dovuta alla frammentazione del getto stesso in tanti filamenti a causa della repulsione tra le cariche superficiali[63]. Tuttavia, non è questo il fenomeno responsabile della diminuzione del diametro della fibra. Esso è da attribuirsi all'instabilità conduttiva che ad adeguati valori di potenziale e flusso genera il fenomeno del movimento di frusta (whipping motion) in cui il getto assume un moto spiraleggiante[67] (Figure 34-35). Ciò è

confermato anche da modelli matematici sviluppati da alcuni ricercatori i quali hanno calcolato, basandosi su osservazioni sperimentali e su teorie elettro-idrodinamiche, la traiettoria tridimensionale del getto utilizzando un'equazione di Maxwell lineare[67]. I risultati teorici, in accordo con quelli sperimentali, hanno evidenziato che la diminuzione del diametro del getto è da attribuirsi al fenomeno dell'instabilità di whitting e non alla frammentazione del getto[68]. Pertanto, la formazione di nanofibre è ottenuta mediante l'allungamento e l'accelerazione del filamento di fluido nella regione di instabilità[64]. Questi studi sono molto importanti perché forniscono una migliore comprensione del processo di elettrofilatura e possono aiutare gli sperimentalisti nella progettazione di nuove configurazioni che possono fornire un migliore controllo su diametro e struttura delle nanofibre elettrofilate. Inoltre, grazie ad appositi sistemi di osservazione con tempi di esposizione inferiori a 0,25 ms, è stato possibile osservare l'evoluzione della traiettoria del getto e confermare che la produzione di nanofibre è dovuto principalmente al fenomeno dell'instabilità di whipping.

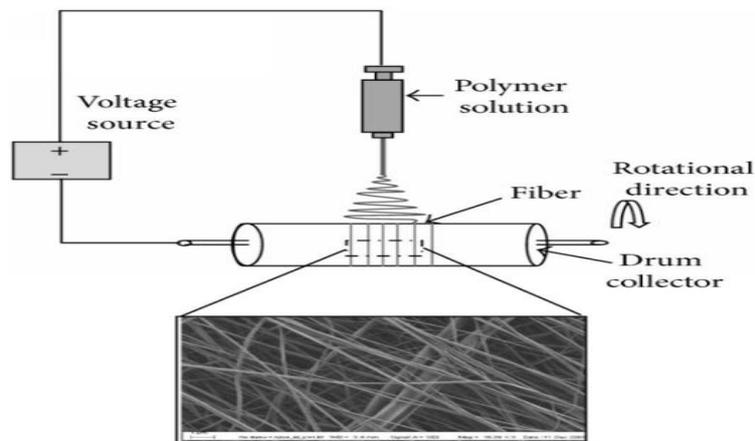
### *3) Arrivo sul collettore:*

Senza uno specifico controllo le fibre elettrofilate sono deposte sul collettore sotto forma di fogli di fibre non intrecciate disposte casualmente. Sono state sviluppate diverse tecniche per disporre ordinatamente le fibre. L'allineamento delle nanofibre risulta complesso per via delle instabilità che si instaurano durante il getto. Tuttavia, sono state proposte diverse tecniche per impartire un'orientazione preferenziale alle nanofibre elettrofilate. Vengono proposti l'utilizzo di un collettore cilindrico ad alta velocità di rotazione, un collettore basato su una coppia di elettrodi divisi, un collettore a telaio ed altri tipi. Uno di questi approcci è discusso di seguito:

#### *Collettore cilindrico ad alta velocità di rotazione:*

L'allineamento delle nanofibre, durante la tecnica di elettrofilatura può essere ottenuto utilizzando come collettore cilindrico che ruota a velocità molto elevata, fino a migliaia di giri al minuto (figura 36). In letteratura è riportato l'utilizzo di questo tipo di collettore per ottenere fibre di PGA e collagene di tipo I. Tuttavia, il grado di orientazione delle nanofibre era tutt'altro che perfetto. Anche se il meccanismo di questa tecnica non è stato ben compreso, di seguito sono spiegati alcuni concetti. Solo quando la velocità lineare della superficie del cilindro rotante corrisponde a quella di evaporazione del getto, le fibre subiranno il corretto allineamento[69]. Tale velocità viene definita *velocità di allineamento*. Se la velocità di rotazione della superficie del cilindro è più lenta della velocità di allineamento, le fibre vengono raccolte sul collettore in maniera casuale perché è il movimento caotico di tale getto che determina come avviene la deposizione. D'altra parte deve esserci un limite di velocità di rotazione del collettore al di sopra del quale non è possibile raccogliere le fibre in maniera continua poiché la velocità di avvolgimento troppo elevata interromperà il getto di fibra. Il motivo per cui è difficile ottenere un

allineamento perfetto delle nanofibre può essere attribuito al movimento caotico del getto[70].



**Figura 36- Apparato di elettrofilatura in cui è mostrato il collettore cilindrico ad alta velocità di rotazione**

### 1.9 APPLICAZIONI DELLE NANOFIBRE ELETTROFILATE

L'elettrofilatura permette di produrre tessuti-non-tessuti, detti anche membrane *non-woven*, i quali a differenza di un tessuto classico non sono caratterizzati dalla presenza ordinata di trama e ordito. Il vantaggio principale dei tessuti-non-tessuti prodotti tramite elettrofilatura è la scala nanometrica delle fibre che ha come effetto un incremento dell'area superficiale una struttura porosa interconnessa. Queste caratteristiche, oltre ai conferiscono ai materiali nanofibrosi proprietà desiderabili per una vasta gamma di applicazioni.

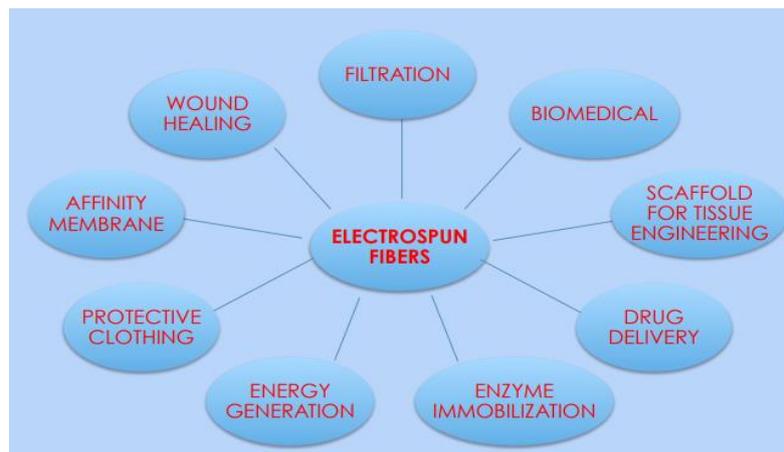


**Figura 37-Sruttore di una membrana elettrofilata**

Grazie a queste importanti proprietà, le nanofibre elettrofilate trovano applicazione in svariati campi:

- Tessile: per la realizzazione di indumenti protettivi[52],

- Biomedicale: per l'ingegneria tissutale [53], per sviluppo di sistemi a rilascio controllato di farmaci [54] e di materiali avanzati per la medicazione delle ferite[54][55];
- Trattamento aria/acqua: sviluppo di sistemi in grado di filtrare piccolo particolato<sup>[42]</sup>;
- Nanocompositi: rinforzo in materiali compositi[1];
- Elettronica e microelettronica: batterie[56], supercondensatori, transistor[57], sensori[58];
- Catalisi: supporti per catalizzatori[59].



**Figura 38- Applicazioni delle nanofibre elettrofilate**

Da dati in letteratura è possibile evincere che Circa due terzi dei brevetti depositati riguardanti applicazioni dell'elettrospinning si collocano in ambito biomedico. Metà del rimanente terzo riguarda applicazioni per la filtrazione. Di seguito sono riportate considerazioni su questi due principali ambiti applicativi.

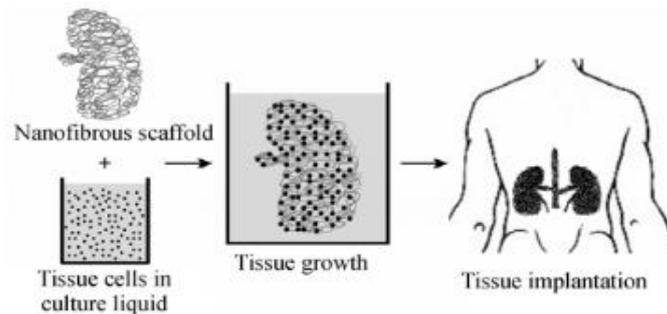
### 1.9.1 **APPLICAZIONI IN AMBITO BIOMEDICO:**

#### • Ingegneria tissutale: Scaffold

In particolare la dimensione delle fibre è paragonabile a quella delle fibrille della matrice extra-cellulare (ECM), ed è per questo in grado di mimare l'ambiente extracellulare e supportare la crescita di un tessuto tridimensionale. All'aumentare della porosità delle fibre aumenta la superficie disponibile all'adesione e proliferazione delle cellule, tuttavia, pori di dimensioni troppo ridotte non sono in grado di accogliere la migrazione cellulare dando luogo ad un tessuto bidimensionale. Per aumentare numero e dimensione dei pori sono state messe a punto diverse tecniche tra le quali wet electrospinning (il getto polimerico è direzionato direttamente verso un bagno di coagulo dove avviene la separazione di fase). È inoltre comune funzionalizzare la superficie delle fibre con sequenze proteiche che favoriscono l'adesione e/o guidano la differenziazione delle cellule.

In particolare l'uso dell'elettrofilatura per l'ingegneria tissutale è attualmente finalizzato a:

- 1) Supporti non tessuti di diversi biomateriali meccanicamente e chimicamente adeguati in grado di mimare morfologia e la nanostruttura naturale della ECM;
- 2) Elettrofilatura di materiali modificati con incorporazione di segnali di proliferazione e differenziamento per la mimesi della ECM (biofunzionalizzazione).



**Figura 39- Immagine che rappresenta come l'architettura dello scaffold influenza l'adesione cellulare**

- Sistemi per Drug Delivery:

Partendo dal principio per cui la velocità di dissoluzione di un farmaco in forma particellare aumenta all'aumentare della superficie sia della particella del farmaco che del suo carrier, le matrici polimeriche nanofibrose ottenute con il processo di elettrofilatura risultano ideali per il loro elevato rapporto superficie/volume che presentano. Il rilascio controllato di farmaci è un processo efficiente in terapia medica. Può minimizzare la tossicità del farmaco e gli effetti collaterali del paziente[71].

Le nanofibre elettrofilate hanno mostrato notevoli vantaggi come potenziali trasportatore per sistemi a rilascio controllato di farmaci. Il caricamento del farmaco è molto semplice da implementare tramite il processo di elettrofilatura, poiché la tensione applicata durante il processo di elettrofilatura non influenza l'attività del farmaco. L'elevata superficie specifica del materiale nanofibroso conferisce al sistema una velocità di rilascio complessiva superiore rispetto agli analoghi materiali non costituiti da nanofibre (ad esempio film). Inoltre, la cinetica del rilascio può essere controllata con precisione mediante la modulazione della morfologia, quindi il diametro delle nanofibre, la porosità e la composizione.

### 1.9.2 APPLICAZIONI PER FILTRAZIONE:

La struttura ad intreccio casuale dei costrutti ottenuti con il processo di elettrofilatura e la porosità delle fibre li rendono adatti a processi di filtraggio di fluidi contenenti particelle di dimensioni caratteristiche superiori alle dimensioni dei canali tra le fibre della membrana.

In generale grazie all'elevato rapporto superficie/volume e all'elevata coesione superficiale, delle particelle sottili di dimensioni inferiori ai 0.5mm possono essere facilmente intrappolate nelle membrane nanofibrose.

In letteratura sono riportati studi in cui si raggiunge un'efficacia del 100% nella rimozione di particelle di dimensioni comprese tra 1 e 5  $\mu\text{m}$ . In questo range il meccanismo di intrappolamento non è soltanto di tipo fisico ma anche elettrocinetico. Per facilitare questo meccanismo di "intrappolamento", le nanofibre possono essere caricate elettricamente per aumentare la capacità di attrazione delle particelle da rimuovere se elettricamente cariche, consentendo un abbassamento dell'aumento progressivo della pressione con cui il fluido è forzato attraverso la membrana. Questo è possibile con fibre di dimensioni inferiori ai 0.5 $\mu\text{m}$ .

## CAPITOLO 2: SCOPO DELLA TESI

La natura degradabile e rinnovabile dei biopolimeri ha portato ad un grande interesse per la sostituzione dei materiali plastici derivati da fonti a base di petrolio. I problemi di smaltimento e l'inquinamento creato dalle materie plastiche sono aumentati negli ultimi 50 anni. Questi problemi possono essere minimizzati sostituendo i classici materiali polimerici a base di petrolio con materiali a base biologica, che sono rinnovabili e rispettosi dell'ambiente.

I biopolimeri sono i polimeri derivati da materie prime naturali come proteine, cellulosa, amido e altri polisaccaridi. Questi possono essere sintetizzati chimicamente o possono essere preparati dalla polimerizzazione di monomeri naturali (ad esempio l'acido lattico).

In questo contesto, la cheratina è una buona candidata perché è una proteina molto abbondante in natura dato che è il principale componente di piume, capelli, lana, corna e unghie.

Negli ultimi anni, i materiali a base di cheratina hanno ricevuto grande considerazione a causa delle loro caratteristiche uniche in termini di adesione cellulare, capacità di assorbire metalli pesanti e altri composti tossici, risultando particolarmente utili per la purificazione di acqua e aria. Inoltre, a causa della sua intrinseca efficacia nel promuovere la crescita cellulare, insieme alla sua capacità di incapsulare sia i farmaci idrofobici che idrofili, la cheratina è stata sempre più studiata per la preparazione di una vasta gamma di dispositivi biomedicali, in particolare nel campo dell'ingegneria dei tessuti per sistemi a rilascio controllato di farmaci. L'estrazione di cheratina può essere effettuata a basso costo da biomasse derivanti dai sottoprodotti dell'industria alimentare e tessile. Tuttavia, a causa dell'eccessiva fragilità e della veloce degradazione dei materiali a base di cheratina, che ne limita fortemente la lavorabilità e l'utilizzo, la cheratina deve essere miscelata con altri polimeri ad alto peso molecolare e/o con agenti rinforzanti, sia di origine naturale che sintetica, al fine di ottimizzarne e modularne le proprietà, mantenendone allo stesso tempo l'intrinseca biodegradabilità e biocompatibilità.

L'obiettivo di questo lavoro di tesi, svolto presso l'Istituto di Sintesi Organica e la Fotoreattività del CNR di Bologna, è stato proprio quello di sfruttare la cheratina, in miscela con il PLA per la produzione di materiali nanofibrosi attraverso il processo di elettrofilatura. Queste membrane, caratterizzate da un'elevata area superficiale e caratterizzate da struttura porosa interconnessa, potrebbero trovare applicazione in differenti campi. Sebbene esistano diversi tipi di polimeri che possono essere utilizzati in miscela con la cheratina per migliorarne sia il processo di elettrofilatura che le proprietà meccaniche del materiale finito, la scelta del PLA, un poliesteri appartenente alla famiglia dei poli- $\alpha$ -idrossiacidi, è stata fatta con lo scopo di ottenere prodotti finali contraddistinti da un certo grado di biodegradabilità. Il PLA è un polimero di sintesi e ciò è un vantaggio perché attraverso la sintesi è possibile modulare facilmente le proprietà del materiale finale.

Inoltre, al fine di migliorare e conferire ulteriori proprietà alle membrane elettrofilate, è stato utilizzato l'ossido di grafene come nanorinforzo.

Il presente lavoro di tesi, pertanto, si è quindi basato principalmente sulla messa a punto del sistema di elettrofilatura di miscele di cheratina e PLA caricate con GO. In particolare sono stati studiati gli effetti del contenuto di GO sulla viscosità, morfologia e microstruttura delle membrane nanofibrose elettrofilate. Le membrane ottenute saranno poi caratterizzate in termini di proprietà termiche e meccaniche, cercando di mettere in correlazione tali proprietà con il contenuto di GO.

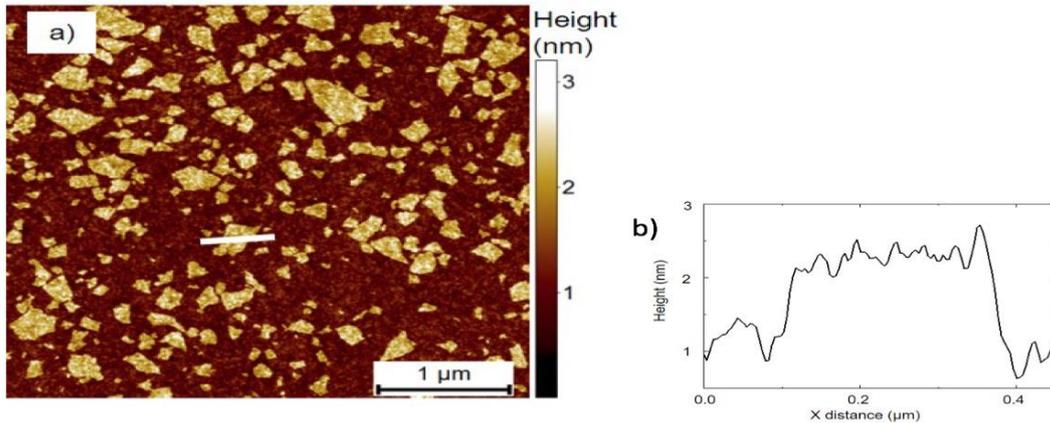
A tale fine, il lavoro di tesi è stato suddiviso nelle seguenti fasi:

- 1) studio di miscibilità e delle interazioni tra cheratina e PLA al fine di individuare il grado di compatibilità e la stabilità delle miscele dei due polimeri a diverso rapporto in peso;
- 2) studio dell'effetto della concentrazione di GO e dei parametri di processo (voltaggio applicato, flusso e distanza tra gli elettrodi) sulla morfologia delle nanofibre ottenute;
- 3) studio dell'influenza del GO nelle proprietà termiche e meccaniche dei materiali nanofibrosi

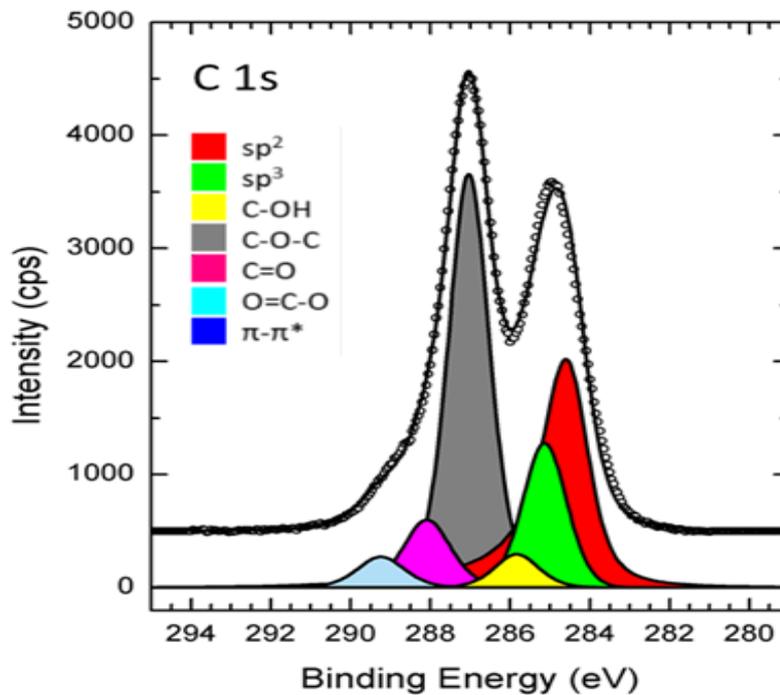
## CAPITOLO 3: PARTE SPERIMENTALE E DISCUSSIONE DEI RISULTATI

### 3.1 PREPARAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DELL'OSSIDO DI GREFENE

L'ossido di grafene è stato preparato utilizzando un metodo Hummers modificato[72] partendo da scaglie di grafite aventi un diametro delle particelle di circa 500  $\mu\text{m}$ . Nello specifico, 5 g di grafite e 3,8 g di  $\text{NaNO}_3$  sono introdotte in un pallone da 2 litri dotato di un dispositivo di agitazione meccanica. Sono stati successivamente aggiunti 375 ml di  $\text{H}_2\text{SO}_4$  in un bagno di ghiaccio a 0 °C e la soluzione è stata tenuta sotto agitazione fino a quando non è diventata macroscopicamente omogenea. Sono stati poi aggiunti, lentamente per 1 ora, 25 g di  $\text{KMnO}_4$ , mantenendo il sistema ad una temperatura al di sotto dei 10 °C per mezzo di un bagno di ghiaccio. Dopo 2 ore, la soluzione risultante, è stata rimossa dal bagno di ghiaccio ed è stata ulteriormente mantenuta sotto agitazione per 5 giorni a temperatura ambiente. In questa fase si evidenzia il cambio di colore della soluzione dal verde al marrone. Successivamente, sono stati aggiunti, goccia a goccia all'interno della soluzione marrone, 700 ml di soluzione acquosa di  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 5% ad una temperatura al di sotto di 40 °C. La miscela risultante è stata poi agitata per 2 ore a temperatura ambiente. Quindi, sono stati aggiunti 20 ml di  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30%, goccia a goccia, al fine di distruggere l'eccesso di permanganato e, la miscela, è stata tenuta sotto agitazione per 2 ore. La soluzione totale, così ottenuta, viene diluita a 2 L aggiungendo  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 5% e, dopo un giorno di sedimentazione, 1 L di surnatante è stato rimosso e sostituito con 1 L di acqua e 10 mL di  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Dopo una energetica agitazione, la sospensione è stata lasciata sedimentare per una notte. Successivamente, la soluzione di surnatante è stata rimossa ed il solido sedimentato è stato lavato, per 12 volte, con una miscela acquosa al 5% in peso di  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e allo 0,3% di  $\text{H}_2\text{O}_2$ . La procedura di lavaggio ha previsto anche l'utilizzo di una soluzione al 4% di  $\text{HCl}$ , per 3 volte, ed infine, l'utilizzo di acqua milli Q per 10 volte al fine di concludere il lavaggio, seguito dall'utilizzo della centrifuga dopo ogni singolo lavaggio. La soluzione di ossido di grafene ottenuta è stata diluita a 2,5 g/L e sottoposta a sonicazione per 40 ore in bagno ultrasonico.



**Figura 40- a) Immagine topografica ottenuta mediante AFM che raffigura dei fiocchi GO depositati su SiO<sub>2</sub>/Si mediante spincoating (la dimensione dell'immagine è 4 × 4 μm<sup>2</sup>); b) Profilo di altezza corrispondente alla linea bianca in a)**



**Figura 41- Spettro XPS relativo al C1s**

La Figura 40 a) mostra le immagini AFM dei fogli di GO depositati su SiO<sub>2</sub> / Si mediante spincoating provenienti dalla soluzione di grafene ossido sonicata per 40 ore. I fogli di GO hanno una dimensione laterale media di circa 120 nm e uno spessore di circa 1 nm. Le immagini sono state acquisite con un microscopio Multimode 8 (Bruker) gestito in modalità maschiatura in condizioni ambientali.

La Figura 41 mostra il segnale XPS relativo al C 1s del GO, in particolare la deconvoluzione dello spettro consente di discriminare i diversi gruppi funzionali Carbonio-Ossigeno:

- 1) carbonio aromatico (C=C sp<sup>2</sup> 284.4 eV);

- 2) carbonio alifatico (C-C sp<sup>3</sup>, 285.0 eV);
- 3) idrossile (C-OH, 285,7 eV);
- 4) resina epossidica (COC, 286,7 eV);
- 5) carbonile (C = O, 288,0 eV);
- 6) carbossile (OC = O, 289,1 eV).

Dall'abbondanza relativa dei vari gruppi funzionali è possibile ottenere il rapporto Ossigeno su Carbonio ( $0.37 \pm 0.04$ ). Ciò sta ad indicare un notevole grado di ossidazione del GO. Inoltre, la presenza di gruppi funzionali contenenti ossigeno determina la natura idrofila del GO.

## 3.2 STUDIO DI MISCIBILITÀ DELLA CHERATINA CON IL PLA

### 3.2.1 INTRODUZIONE

Come già detto in precedenza, la cheratina estratta dalla lana è difficile da processare e maneggiare per via delle scarse proprietà meccaniche dovute al basso peso molecolare (65-11 kDa). Per superare questo problema, il PLA amorfo (PLA 4060D, NatureWorks, LLC) ad alto peso molecolare è stato miscelato con la cheratina allo scopo di ottenere materiali biocompatibili nanofibrosi utilizzando la tecnica dell'elettrofilatura.

Perciò è stata svolta una valutazione preliminare della possibilità, dal punto di vista termodinamico, del sistema di essere miscibile e, al fine di valutare il grado di miscibilità tra cheratina e PLA, sono state preparate soluzioni in HFIP dei due polimeri a diversi rapporti di miscelazione. Inoltre, lo studio di miscibilità *dei due polimeri*, è iniziato dalla scelta del sistema solvente da utilizzare per preparare le soluzioni da elettrofilare. Per poter elettrofilare un polimero da soluzione è necessario che questo sia completamente solubilizzato in un solvente che permetta, al contempo un buon processo di elettrofilatura; di conseguenza la ricerca di un opportuno sistema solvente è fondamentale per la buona riuscita del processo. Dunque, da dati ottenuti dal team di ricerca di Aluigi e collaboratori e dal consulto in letteratura, la scelta è ricaduta sul solvente HFIP (1,1,1,3,3,3-esafluoro-2-propanolo o esafluoroisopropanolo). Nello specifico HFIP è stato scelto perché:

- a) è un solvente comune tra i due polimeri;
- b) possiede un elevato valore di costante dielettrica che favorisce la formazione di una densità di carica elevata facilitando la formazione di fibre;
- c) possiede una adeguata tensione di vapore che permette una facile evaporazione dello stesso lungo il percorso ago-collettore.

Le soluzioni a differenti rapporti di miscelazione di cheratina e PLA, sono state caratterizzate dal punto di vista reologico applicando un flusso di taglio stazionario (steady shear viscosity).

Inoltre, sono stati analizzati, mediante spettroscopia infrarossa, i film di cheratina/PLA 50/50, preparati per casting, al fine di valutare eventuali segregazioni di fase tra i due polimeri, a seguito della lenta evaporazione di solvente.

### **3.2.2 PROCEDURA SPERIMENTALE:**

#### **➤ Preparazione e caratterizzazione delle miscele di cheratina /PLA a diversi rapporti di miscelazione:**

Cheratina e PLA sono state preparate solubilizzando separatamente la proteina ed il poliestere in HFIP (1,1,1,3,3,3-esafluoro-2-propanolo o esafluoroisopropanolo) al 10% w/V per circa due ore. Successivamente, le diverse frazioni di volume dei polimeri puri sono state unite al fine di ottenere diverse miscele di cheratinae PLA a concentrazione polimerica totale del 10% w/V e con i seguenti rapporti in peso tra i due polimeri 100/0; 75/25; 50/50; 25/75. Tali miscele sono state tenute sotto agitazione e per 24 ore e poi caratterizzate dal punto di vista reologico.

Inoltre le miscele sono state mantenute in quiescenza per altre 24 ore al fine di valutare una eventuale separazione di fase tra i due polimeri.

#### **• Caratterizzazione reologica delle miscele di cheratina e PLA:**

Le prove reologiche delle miscele sono state effettuate attraverso misure di viscosità dipendenti dalla velocità di taglio, utilizzando il reometro Anton Paar MCR 102 equipaggiato con un dispositivo di controllo della temperatura Peltier PDT 200/56/1, impostato a 25 ( $\pm 0,1$ ) °C, utilizzando una geometria a piatto-cono (diametro 75 mm, angolo di 1° e troncamento di 45  $\mu\text{m}$ ). L'intervallo di velocità di taglio considerato va da 0,1 al 1000  $\text{s}^{-1}$ . I dati sono stati acquisiti con il software RheoCompass™ (Anton Paar GmbH) e sono stati elaborati per mezzo dello stesso software.

#### **➤ Preparazione e caratterizzazione del film di cheratina/PLA al rapporto di miscelazione 50/50:**

Il film di cheratina/PLA 50/50 è stato preparato per casting usando la miscela di cheratina e PLA, contenente la stessa quantità in peso dei due polimeri e preparata come descritto sopra. Un volume noto (2mL) di tale miscela è stata depositata su una vaschetta di polipropilene 2cm x 2cm ed il solvente è stato lasciato evaporare, sotto cappa, per una notte.

#### **• Caratterizzazione infrarossa del film 50/50 di cheratina e PLA:**

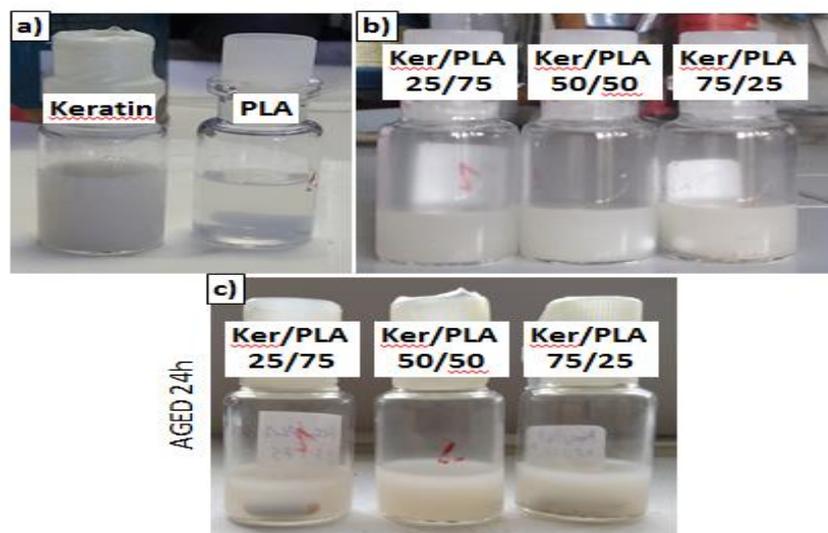
Il film ottenuto dalla miscela 50/50 di cheratina e PLA ottenuto è stato caratterizzato, sia sul lato superiore che su quello inferiore, tramite spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier in riflettanza totale attenuata (FT-ATR). Lo strumento utilizzato è uno spettrofotometro equipaggiato con un interferometro Bruker Vertex 70, dotato di un

accessorio Platinum ATR a riflessione il quale possiede un cristallo di diamante ad elevato indice di rifrazione. Gli spettri sono stati registrati nella regione tra 2500 e 500  $\text{cm}^{-1}$ , con 100 scansioni e una risoluzione di 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.2.3 RISULTATI E DISCUSSIONI:

#### ➤ *Caratterizzazione reologica delle soluzioni di cheratina /PLA a diversi rapporti di miscelazione:*

Come previsto, l'acido polilattico (PLA) disciolto in HFIP è una soluzione omogenea e incolore, mentre la cheratina in HFIP risulta essere una dispersione colloidale dall'aspetto lattiginoso, in cui, però, non sono visibili agglomerati della proteina (figura 40 a). Tutte le miscele di cheratina e PLA sono risultate stabili ed omogenee in condizioni statiche entro le 24 ore successive alla fine dell'agitazione (figura 40b). Dall'osservazione macroscopica delle miscele, dopo 24 ore di quiescenza, è stata riscontrata la presenza di cheratina agglomerata (figura 42c).



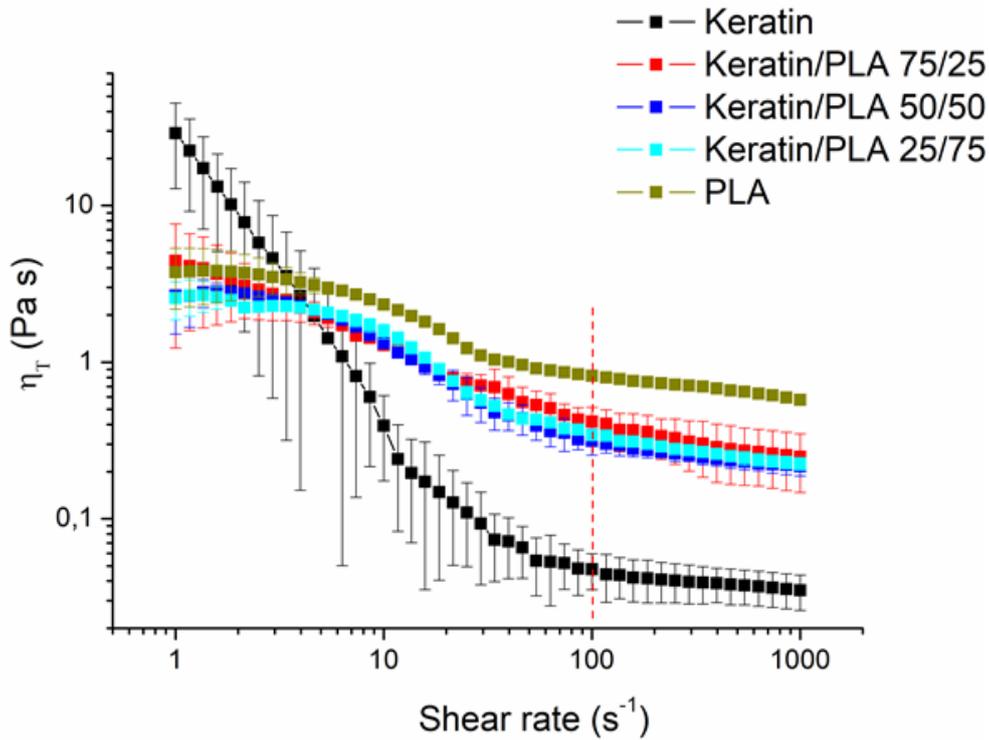
**Figura 42-** a) Soluzioni pure di cheratina e PLA; b) Miscele di cheratina e PLA fresche; c- Miscele di cheratina e PLA in stato stazionario dopo 24 ore

Le miscele di cheratina e PLA con le composizioni 25/75, 50/50, 75/25 sono state caratterizzate da un punto di vista reologico e confrontate con quelle dei componenti puri. La Figura 43 mostra la viscosità in funzione della shear rates delle soluzioni di cheratina e PLA pure e delle soluzioni ottenute con differenti rapporti di miscelazione dei due polimeri.

Nello specifico, la curva reologica del PLA puro mostra un comportamento Newtoniano per bassi valori di shear rates (minori di  $5 \text{ s}^{-1}$ ), mentre quella della cheratina pura mostra un comportamento non Newtoniano già per valori di shear rates più bassi ( $1 \text{ s}^{-1}$ ). Le miscele di cheratina e PLA, inecce, come previsto, mostrano un comportamento intermedio tra la dispersione di cheratina pura e la soluzione di PLA pura.

Per quanto riguarda il comportamento reologico della cheratina, lo shear thinning iniziale è riportato in letteratura per molte altre soluzioni colloidali di natura proteica[73]. Un comportamento simile è stato osservato nelle molecole di fibroina in diversi solventi[74]. Tutte le soluzioni, a parte quella di cheratina sono caratterizzate da tre zone ben distinte descritte di seguito.

- Regione 1 (a bassi valori di shear rates): le miscele, mostrano un comportamento Newtoniano (la viscosità è indipendente dallo sforzo di taglio e la velocità di flusso aumenta linearmente con l'aumentare dello sforzo applicato). Questa tendenza è attribuibile al fatto che l'applicazione dello sforzo di taglio che orienta le macromolecole in una specifica direzione dissolvendo i nodi fisici (*disentanglements*) è bilanciato dalla rapida formazione di nuovi nodi fisici che si traduce in un valore di viscosità costante (regione del *plateau Newtoniano*). In questa regione si instaura un equilibrio dinamico dovuto al bilanciamento delle forze del flusso, che vorrebbero orientare ed allungare la catena, e quelle Browniane, che tendono a riportare la catena nella conformazione isotropa. Si stabilisce quindi un equilibrio dinamico. Ne consegue che il tempo caratteristico del flusso, quindi dell'orientazione, diventa paragonabile al tempo caratteristico della formazione di nuovi nodi fisici.
- Regione 2 (a valori intermedi di shear rates): la velocità di orientazione delle macromolecole a cui consegue una dissolvenza dei nodi fisici (*entanglements*) non è bilanciata dalla velocità di formazione di nuovi nodi fisici e, pertanto, in questa regione della curva reologica, si riscontra una diminuzione della viscosità con l'aumento di shear rate (fenomeno dello *shear thinning*). Questa variazione di comportamento è dovuta al fatto che gli effetti di orientazione del flusso, indotti dallo sforzo di taglio, cominciano a dominare su quelli di formazione di nuovi nodi fisici, impedendo alla catena di rilassare alla conformazione di equilibrio. Ne consegue che il tempo caratteristico del flusso, quindi dell'orientazione, diventa più breve di quello caratteristico della formazione di nodi fisici;
- Regione 3 (ad alti valori di shear rates): le soluzioni mostrano, nuovamente, un comportamento Newtoniano. Per alti valori di shear rates, le macromolecole sono completamente orientate, quindi, libere da nodi fisici e la viscosità mostrerà il suo valore minimo. Ciò è dovuto al fatto che in tali condizioni l'effetto di orientazione domina completamente, rendendo trascurabile il ruolo svolto dalle forze Browniane.



**Figura 43-Curve reologiche delle soluzioni di cheratina e PLA ottenute a differenti rapporti di miscelazione**

Inoltre, al fine di studiare il comportamento di fase dei due polimeri nelle miscele a diverso rapporto in peso ed in condizioni di stress indotto dallo sforzo di taglio, è stata applicata la *legge di miscibilità* espressa matematicamente con l'equazione 3.

Le miscele polimeriche possono mostrare miscibilità o separazione di fase oppure parziale miscibilità (ad esempio a vari livelli di mescolamento). Non esistono coppie di polimeri quasi completamente miscibili o immiscibili, ma esistono varie condizioni a cui una coppia di polimeri risulta essere miscibile o immiscibile. Inoltre, in funzione della costituzione chimica dei componenti miscelati, la finestra di miscibilità può essere molto ampia o, al contrario, molto ristretta. Tuttavia, in fase liquida, l'immiscibilità tra i due polimeri mescolati è molto frequente, per cui la maggior parte dei blend polimerici risulta essere costituita da due fasi separate, con conseguenti rilevanti problemi sia per quanto riguarda la preparazione e il processo sia le proprietà finali del materiale.

L'approccio empirico più semplice, utilizzato in questo lavoro di tesi, prevede che la viscosità del blend,  $\eta_{mix}$ , dipende dalla viscosità dei polimeri componenti,  $\eta_i$  e dalla composizione del blend, esprimibile attraverso la frazione in peso dei polimeri espresse come  $\omega_i$ . Pertanto, la viscosità risultante dei blend composto da più polimeri sarà una funzione così esprimibile:

$$\eta_{mix} = f(\eta_i, \omega_i)$$

**Equazione 2**

Ovviamente, nel caso specifico di due polimeri, la viscosità risultante della miscela composta dai due polimeri sarà una funzione così esprimibile:

$$\eta_{mix} = f(\eta_A, \eta_B, \omega_A, \omega_B)$$

Equazione 3

Una legge di miscibilità generica utilizzata anche in questo lavoro di tesi è la seguente[75]:

$$\ln \eta_{mix} = \sum \omega_i \ln \eta_i$$

Equazione 4

L'equazione 4 non è altro che una legge di media logaritmica delle viscosità dei singoli componenti che costituiscono la miscela, pesate sulle frazioni volumetriche dei singoli polimeri. Essa prevede che il diagramma della viscosità in funzione della frazione volumetrica sia una retta con estremi coincidenti con i valori della viscosità dei componenti puri. Pertanto essa è una legge ideale che non tiene conto della natura chimica dei componenti che costituiscono la miscela polimerica. Per una miscela ideale, quindi, la differenza tra viscosità teorica e sperimentale è pari a zero. Tuttavia, in situazioni reali, miscele con forti interazioni di interfase mostrano una viscosità superiore della media lineare (deviazione positiva dalla situazione di idealità); mentre le miscele in cui le interazioni sono deboli, o addirittura repulsive, mostrano una viscosità minore della media lineare (deviazione negativa dalla situazione di idealità).

Nello specifico, le viscosità ottenute sperimentalmente ai valori di shear rate di  $100 \text{ s}^{-1}$  e quelle teoriche previste dalla legge di miscibilità sono state graficate in funzione della percentuale di cheratina presente nelle miscele e messe a confronto (Figura 44). Il valore di share rate di  $100 \text{ s}^{-1}$  è stato selezionato in quanto associato a diverse condizioni di stress come agitazione, pompaggio e flusso.

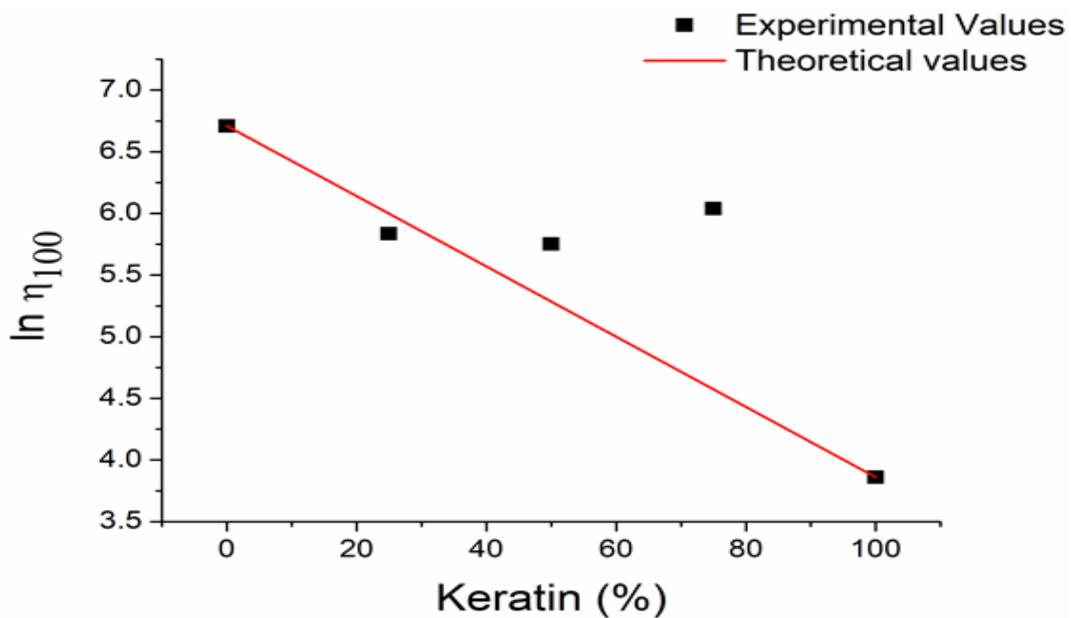


Figura 44- diagramma di viscosità teorica e sperimentale delle miscele di cheratina e PLA (al valore di shear rate  $100 \text{ s}^{-1}$ ) in funzione della frazione in peso della cheratina

La deviazione dei valori sperimentali di viscosità rispetto a quelli teorici è stata calcolata utilizzando l'equazione 5 e graficata in funzione della frazione in peso di cheratina (Figura 45):

$$\text{Dev}_\eta(\%) = \frac{\eta_{\text{sperimentale}} - \eta_{\text{teorico}}}{\eta_{\text{sperimentale}}} * 100$$

Equazione 5

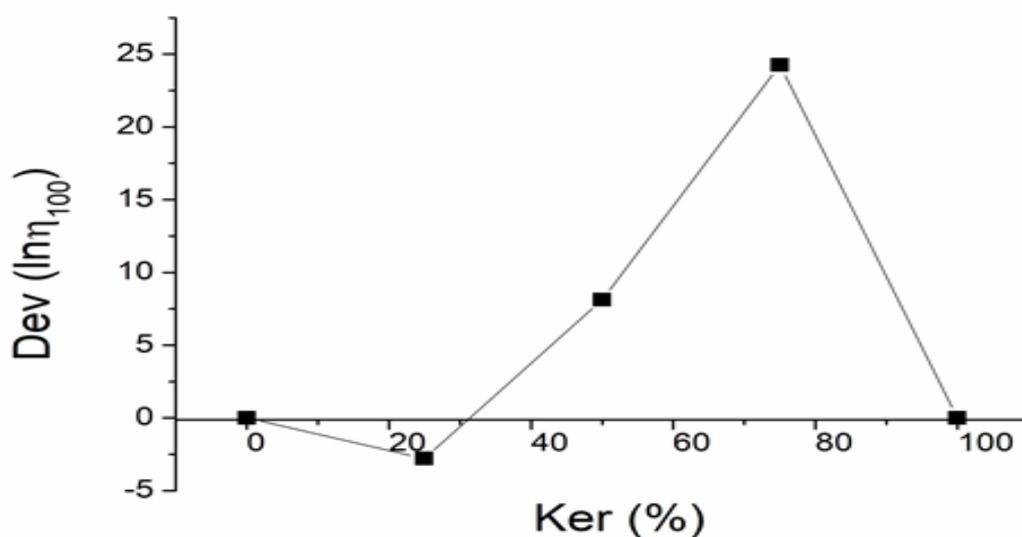


Figura 45- diagramma che mostra la deviazione di viscosità delle e di cheratina e PLA (al valore di shear rate  $100 \text{ s}^{-1}$ ) in funzione della frazione in peso della cheratina

Le miscele che contengono una quantità di cheratina superiore al 25% in peso mostrano una deviazione positiva della viscosità rispetto al valore teorico. Questo effetto sinergico sulla viscosità è una diretta conseguenza di interazioni positive di interfase promosse tra la cheratina ed il PLA[76]. La massima deviazione positiva dalla linearità si ha nella miscela cheratina e PLA 75/25, mentre la miscela 25/75 di cheratina e PLA mostra una deviazione negativa dalla linearità e ciò indica una interazione di interfase trascurabile o, addirittura repulsiva.

Tuttavia, al fine di ottenere membrane nanofibrose elettrofilate con buone proprietà meccaniche, è stata selezionata la miscela cheratina e PLA 50/50 (miscela co-continua), in quanto è la miscela più ricca di PLA (polimero di rinforzo) che presenta ancora interazioni positive di interfase.

#### ***Film di cheratina/PLA 50/50:***

La miscela cheratina/PLA 50/50, selezionata per l'elettrofilatura è stata processata per casting. In figura 46 sono riportate due fotografie del film, ottenuto per casting.

Come si evince dalla figura, il materiale risulta trasparente e free-standing, ovvero mantiene la propria integrità strutturale anche al di fuori del supporto, pertanto, risulta essere maneggiabile.



**Figura 46- Fotografie del film ottenuto per casting dalla miscela 50:50 di cheratina e PLA**

#### ***➤ Caratterizzazione spettroscopica IR del film 50/50 di cheratina e PLA:***

Lo spettro ATR-FTIR (figura 47), mostra la presenza dei picchi di assorbimento caratteristici della cheratina e del PLA.

In particolare lo spettro IR della cheratina è caratterizzato da bande di assorbimento che derivano dalle vibrazioni dei legami peptidici, note come ammidi I, II e III.

Il picco a  $1650\text{ cm}^{-1}$  (ammide I) è attribuibile allo stretching del carbonile (C=O); il picco a  $1520\text{ cm}^{-1}$  (ammide II) è attribuibile al bending sul piano del legame N-H ed allo stretching del legame C=O; il picco a  $1220\text{ cm}^{-1}$  (ammide III) è, invece, attribuibile alla combinazione in fase dello stretching del legame C-N e del bending sul piano del legame N-H con possibile contributo da parte dello stretching dei legami C-C e del bending dei gruppi C=O, influenzati dalla natura delle catene laterali e dai legami idrogeno.

I picchi di assorbimento caratteristici del PLA cadono a  $1740\text{ cm}^{-1}$ ,  $1180\text{ cm}^{-1}$ ,  $1130\text{ cm}^{-1}$ ,  $1083\text{ cm}^{-1}$ . Il picco a  $1740\text{ cm}^{-1}$  è dovuto alla vibrazione di stretching del C=O mentre i picchi a  $1180\text{ cm}^{-1}$ ,  $1130\text{ cm}^{-1}$ ,  $1083\text{ cm}^{-1}$  sono attribuibili alle vibrazionali dei legami

eteri. La quasi perfetta sovrapposizione degli spettri FT-IR effettuati sui due lati del film perfetta una omogeneità del film.

Ciò conferma che durante l'evaporazione del solvente non si verifica una macroscopica segregazione di fase tra i due polimeri e questo è probabilmente dovuto alle interazioni positive di interfase tra i due polimeri.

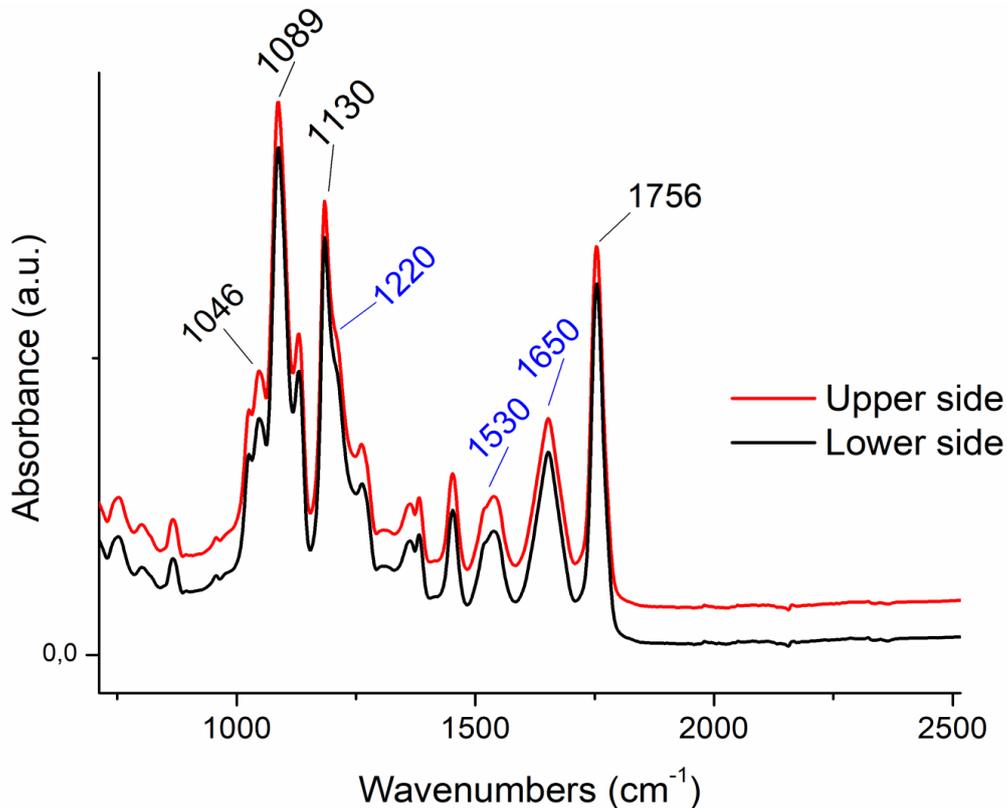


Figura 47- Spettri FT-IR dei due lati del film ottenuto dalla miscela 50/50 di cheratina e PLA

### 3.3 ELETTROFILATURA E CARATTERIZZAZIONE DELLE NANOFIBRE DI CHERATINA E PLA CARICATE CON GO

#### 3.3.1 INTRODUZIONE

Molto spesso nell'industria di processo, i polimeri non vengono quasi mai utilizzati puri, ma sempre "caricari" con altro materiale. La carica (o filler, riempitivo) corrisponde a particelle solide di varie dimensioni, fino all'ordine dei nanometri, e viene principalmente utilizzata per conferire migliori proprietà fisiche (meccaniche, termiche, elettriche) al polimero o alla miscela di polimeri. Chiaramente, la presenza della carica o nanocarica, può influenzare significativamente, il comportamento in flusso del processo e quindi anche il processo di elettrofilatura. Inoltre, l'utilizzo di nanocariche, cioè di particelle solide nelle quali almeno una dimensione risulta essere dell'ordine dei nanometri,

conferisce al polimero o alla miscela di polimeri, caratteristiche peculiari per i motivi spiegati nel Paragrafo 1.1.

Come è noto, la tecnica di elettrofilatura permette di produrre, a partire da una soluzione polimerica o da un fuso polimerico, fibre di dimensioni nanometriche o micrometriche, in funzione delle condizioni sperimentali. Tuttavia, il processo di elettrofilatura è fortemente influenzato dai parametri illustrati nel Capitolo 1.8, che non sono indipendenti l'uno dall'altro e le loro interazioni sono complesse e difficili da prevedere. Perciò è richiesto un lungo ed attento studio volto all'ottimizzazione dei parametri di processo, con lo scopo di ottenere un procedimento che sia il più solido possibile, che porti alla formazione di fibre prive di difetti e, se possibile, caratterizzato da un'elevata produttività.

Pertanto, ogni soluzione ha richiesto una preliminare ricerca dei parametri di processo (portata, voltaggio e distanza ago-collettore) al fine di condurre un processo stabile nel tempo e di ottenere membrane con meno imperfezioni possibili, quali fori o accumuli di materiale polimerico, oltre ad avere fibre di diametro nanometrico prive di difetti (*beads*). Si è deciso di mantenere costante la concentrazione dei polimeri ed il sistema solvente (HFIP). Nello specifico, l'utilizzo del rapporto di miscelazione 50/50 dei due polimeri e del sistema solvente è stato valutato con lo studio di miscibilità descritto nel Paragrafo 3.1. Pertanto, è stato deciso di ottimizzare le condizioni sperimentali di elettrofilatura delle miscele di cheratina e PLA caricate con GO, eseguendo molteplici prove in cui sono stati variati i seguenti parametri:

- 1) Percentuale in peso del GO;
- 2) Potenziale elettrostatico;
- 3) Distanza ago-collettore;
- 4) Velocità di flusso della soluzione.

Sebbene tutti i parametri citati sono stati variati in maniera indipendente l'uno dall'altro, l'effetto complessivo che hanno sul processo, quindi sulla morfologia delle nanofibre ottenute, mostra una forte dipendenza degli uni dagli altri. Infatti potenziale applicato e distanza ago-collettore determinano il campo elettrostatico, il quale rappresenta la forza trainante del processo di elettrofilatura.

Le miscele 50/50 di cheratina e PLA caricate con diverse concentrazioni di GO sono state analizzate da un punto di vista reologico sono state caratterizzate dal punto di vista reologico applicando un flusso di taglio stazionario (steady shear viscosity) per indagare l'effetto del GO sulla viscosità della miscela nanocaricata.

Le nanofibre ottenute, con il processo di elettrofilatura, dalle miscele 50/50 di cheratina e PLA caricate con differenti percentuale in peso di GO, sono state caratterizzate da un punto di vista morfologico, termico e meccanico al fine di valutare l'influenza del GO sulle proprietà chimico-fisiche delle membrane nanofibrose.

### ➤ **APPARATO DI ELETTROFILATURA:**

La Figura 48 mostra l'apparato di elettrofilatura assemblato nel laboratorio Electrospinning del CNR di Bologna.

Esso è costituito da un generatore di tensione ad alto voltaggio ( $\pm 30\text{KV}$ ,  $5\text{mA}$ ) SVH150, Alintel Power Electronics (Italia), una siringa dotata di ago di diametro  $0,8\text{ mm}$  ( $20\text{ gauge}$ ) nel quale si inserisce la soluzione polimerica da elettrofilare, una pompa per infusione KDS200, KD Scientific Inc. (USA) che ha la funzione di spingere lo stantuffo della siringa ad una velocità costante. Alcuni parametri di processo, come il flusso, sono controllati e regolabili tramite un sistema computerizzato. L'ago della siringa è collegato elettricamente al generatore di alta tensione. L'apparato è composto anche da un collettore metallico (collegato a terra) di dimensioni  $5 \times 5\text{ cm}$  in acciaio inossidabile su cui vengono depositate le nanofibre.



**Figura 48- Apparato di elettrofilatura utilizzato in cui sono indicate: (1) il generatore di alta tensione; (2) la siringa e la pompa dosatrice, (3) il collettore (disco metallico)**

### **3.3.2 PROCEDURA SPERIMENTALE**

#### ➤ **Preparazione delle nanofibre di cheratina/PLA 50/50 caricate con differenti frazioni in peso di GO:**

Le soluzioni di cheratina e PLA sono state preparate per solubilizzazione di quantità pesate dei due polimeri in HFIP (1,1,1,3,3,3-esafluoro-2-propanolo o esafluoroisopropanolo) al  $10\% \text{ w/v}$ . Nel sistema solvente, prima di effettuare la solubilizzazione dei polimeri, sono stati dispersi differenti quantità di grafene ossido (GO), precedentemente liofilizzato poiché conservato in soluzione acquosa, al fine di preparare soluzioni caricate allo  $0\%$ ,  $0,1\%$ ,  $0,3\%$ ,  $0,5\%$ ,  $0,7\%$  e  $1\%$  rispetto al peso dei polimeri. La soluzione totale veniva

lasciata sotto agitazione per una notte al fine di permettere una corretta miscelazione tra i due polimeri.

Come è possibile vedere nella Figura 49, le soluzioni assumevano un colore sempre più nero all'aumentare del GO aggiunto.



**Figura 49-Soluzioni di cheratina/PLA al 10% in HFIP caricate con diverse percentuali in peso di GO (crescente da sinistra a destra) prima di essere elettrofilate**

Il giorno successivo, le soluzioni venivano caricate all'interno della siringa, posta poi sulla campione pompa dosatrice. Il collettore in acciaio inossidabile e messo a terra (catodo), era ricoperto da un foglio di alluminio e carta da forno. All'interno della siringa venivano posti circa 5 mL di soluzione polimerica da elettrofilare. L'ago della siringa veniva collegato al generatore di alta tensione e caricato positivamente; quando quest'ultima raggiungeva un valore costante tra l'ago ed il collettore, la pompa di erogazione veniva azionata erogando un flusso costante della soluzione polimerica verso il collettore di raccolta. Durante il processo di elettrofilatura sono state controllate le condizioni ambientali: in particolare, la temperatura era compresa tra 20 e 26 °C e l'umidità relativa era compresa nell'intervallo di 50-65%

Sono stati variati i seguenti parametri di processo: valori di frazione in peso di GO, di voltaggio, di flusso e di distanza ago collettore, al fine di individuare la migliore combinazione tra loro per produrre nanofibre. I parametri di processo sono riportati in tabella 4.

Tali procedure, della durata complessiva di circa 2 ore ciascuna, hanno permesso di ottenere tappetini di dimensione 15x15 cm.

<b>Parametri</b>	<b>Valori</b>
Frazione in peso di GO (%)	0; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1
Voltaggio applicato (kV)	12; 15; 18
Flusso (ml/min)	0,03; 0,05; 0,1
Distanza ago-collettore (cm)	12; 15; 20
Diametro capillare (mm)	0,8

**Tabella 4- Parametri di processo utilizzati per la produzione di nanofibre elettrofilate**

➤ *Caratterizzazione delle nanofibre di cheratina/PLA 50/50 caricate con differenti frazioni in peso di GO:*

• **Prove reologiche delle soluzioni di cheratina-PLA caricate con GO:**

Le soluzioni di cheratina e PLA caricate con ossido di grafene (0%, 0,1%, 0,3%, 0,5%, 0,7% e 1% rispetto al peso dei polimeri) usate per la produzione delle nanofibre, sono state caratterizzate dal punto di vista reologico, effettuando misure di viscosità in funzione della velocità di taglio con un reometro Anton Paar MCR 102 (Figura 50) dotato di un dispositivo di controllo della temperatura Peltier PDT 200/56/1. Le prove sono state effettuate, impostando la temperatura al valore di 25 °C con un intervallo di errore di 0,1°C, utilizzando una geometria a piatto-cono aventi diametro 75mm, angolo 1° e troncamento di 45µm. E' stato utilizzato un programma di taglio controllato, il quale prevedeva l'aumento logaritmico della velocità di taglio da 1 a 1000 s<sup>-1</sup>. Successivamente, i dati acquisiti con il software Rheo Compass TM (Anton Paar GmbH), sono stati elaborati per mezzo dello stesso software.

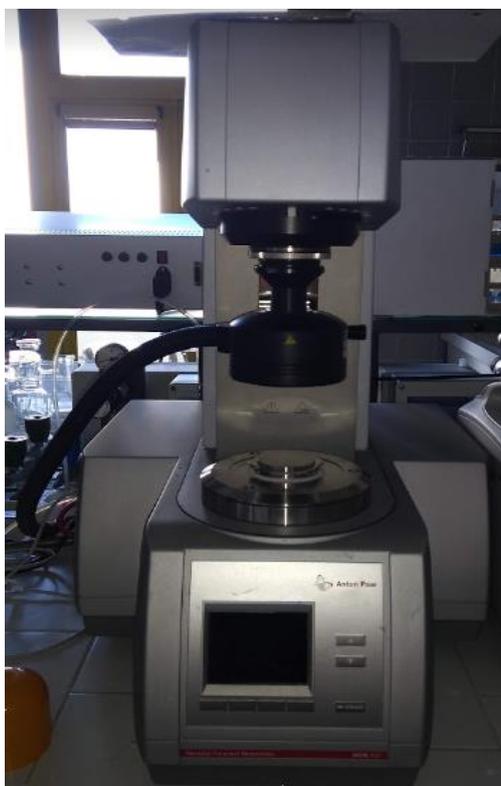


Figura 50- Fotografia del Reometro Anton Paar MCR 102 utilizzato per effettuare la caratterizzazione reologica delle miscele di cheratina/PLA caricate e non con GO

• **Studio morfologico delle nanofibre:**

La morfologia delle nanofibre elettrofilate è stata caratterizzata mediante microscopia elettronica a scansione (SEM). Lo strumento utilizzato per l'analisi è un microscopio Zeiss (LEO) Gemini 1530. Le immagini SEM sono state acquisite applicando una

differenza di potenziale per l'accelerazione degli elettroni di 15 kV ed una distanza di lavoro di 5 mm. Il supporto di alluminio e carta da forno utilizzato come supporto per le nanofibre è stato tagliato e posizionato su un portacampioni in alluminio con nastro biadesivo. I campioni nanofibrosi sono stati sottoposti ad una preliminare fase di preparazione in cui sono stati metallizzati con uno strato di oro (20-30 nm) in argon rarefatto, allo scopo di scaricare l'eventuale accumulo di carica sulla superficie del campione, che lo renderebbe invisibile al microscopio.

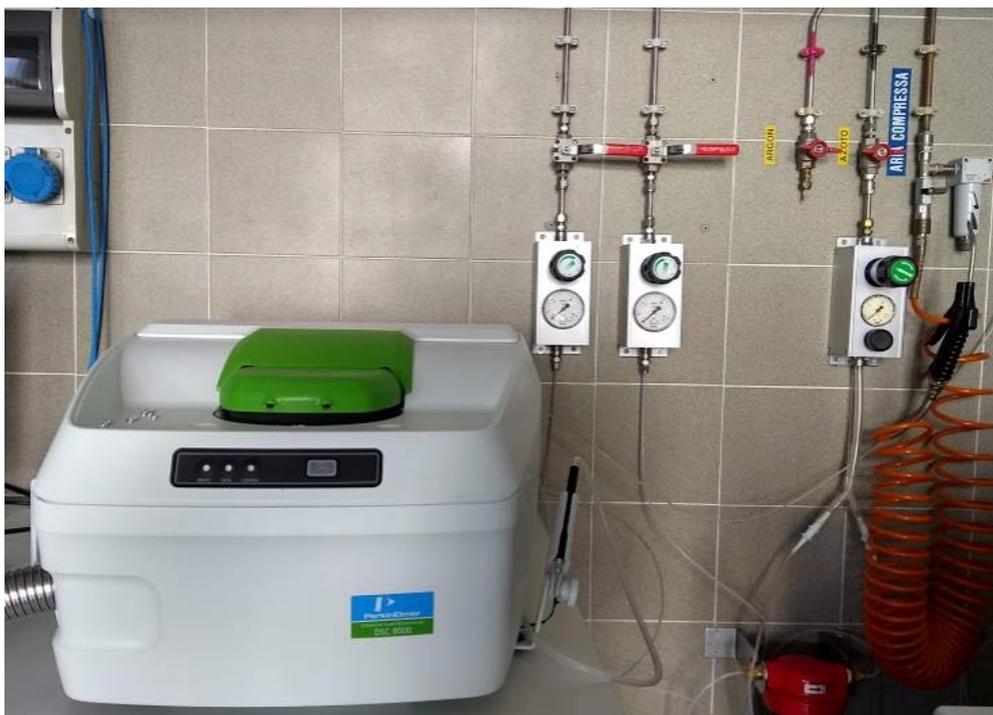
La distribuzione dimensionale dei diametri ed i diametri medi delle nanofibre, sono stati misurati utilizzando le immagini SEM acquisite in maniera casuale su zone differenti dei campioni, utilizzando Image J come software di elaborazione e manipolazione di immagini digitali. Nello specifico, per ogni campione la distribuzione dei diametri è stata valutata su 150 misure. Ogni curva di distribuzione dei diametri è stata poi stata interpolata con una curva Gaussiana usando Origin® 8.0 per ricavare i parametri  $\chi_c$  (picco massimo della curva gaussiana) e W (ampiezza a metà altezza della curva Gaussiana).



**Figura 51- Strumentazione SEM utilizzata per la caratterizzazione morfologica delle membrane nanofibrose**

- **Analisi DSC delle nanofibre di cheratina e PLA caricate con l'1% di GO:**

Le curve DSC sono state ottenute con un calorimetro differenziale a scansione della PerkinElmer DSC 8000. Nello specifico, circa 8 mg di campione sono stati incapsulati in crogioli di alluminio e riscaldati da 25°C a 105°C alla velocità di 10°C/min (I scan) e poi mantenuti a 105°C per 5 minuti, per eliminare tutto il contenuto di umidità. Dopo un ciclo di raffreddamento da 105°C a 20°C alla velocità di 10°C/min, i campioni sono stati scaldati di nuovo da 25°C a 190°C alla velocità di 10°C/min (II scan).



**Figura 52- Fotografia dello strumento utilizzato per effettuare le analisi DSC delle membrane nanofibrose**

- **Prove meccaniche delle nanofibre di cheratina e PLA caricate con l'1% di GO:**

Tutti le membrane nanofibrose, sono state testate meccanicamente per valutare il loro comportamento alla trazione.

Le prove meccaniche in trazione sono state condotte utilizzando un dinamometro Remet TC-10 dotato di cella di carico di 100 N. Lo strumento è costituito da una struttura rigida di base e una traversa orizzontale mobile posta nella parte superiore. Dalle membrane nanofibrose sono stati prelevati dei campioni e utilizzati come provini, le cui dimensioni del tratto utile e larghezza erano di 30x15 cm. Per valutare lo spessore dei tappetini nanofibrosi è stato utilizzato un micrometro.

Per ogni tipo di materiale selezionato sono stati testati da 3 a 5 campioni e al fine di effettuare la normalizzazione dello sforzo rispetto alla massa, dopo le prove in trazione, è stato misurato il peso dei provini.

I provini sono stati fissati, per mezzo di agganci ed il carico è stato applicato facendo scorrere verticalmente verso l'alto la struttura superiore grazie all'attuatore meccanico che ne controlla il moto. Il valore della tensione applicata veniva misurato direttamente dalla cella di carico, mentre l'allungamento veniva determinato e segnalato dal software sulla base della distanza percorsa dalla traversa orizzontale mobile.

Le prove meccaniche in trazione sono state condotte a temperatura ambiente, su 3-5 provini per ogni tipo di provino caricato con diversa percentuale di GO, per un totale di 18 provini, con velocità pari a 10 mm/min.

Il modulo elastico, calcolato dalla pendenza del tratto iniziale della curva sforzo-deformazione ottenuta, è stato riportato come valore medio  $\pm$  deviazione standard delle 3-

5 prove. I risultati sono stati analizzati in termini di curve sforzo-deformazione, secondo il metodo della normalizzazione della forza basata su massa descritto nel Paragrafo 3.3. I parametri modello “a”, “b” e “c” del modello di Data Fitting descritto nel Paragrafo 3.3, sono stati calcolati mediante il risolutore Excel ed il data fitting è stato fatto minimizzando la somma delle differenze dei quadrati, cioè minimizzando  $\Sigma(X_{\text{reale}}-X_{\text{modello}})^2$ .



Figura 53- Fotografie del dinamometro Remet TC10 utilizzato per le prove meccaniche in trazione delle membrane nanofibrose



Figura 54- Fotografia dei provini utilizzati per le prove meccaniche in trazione

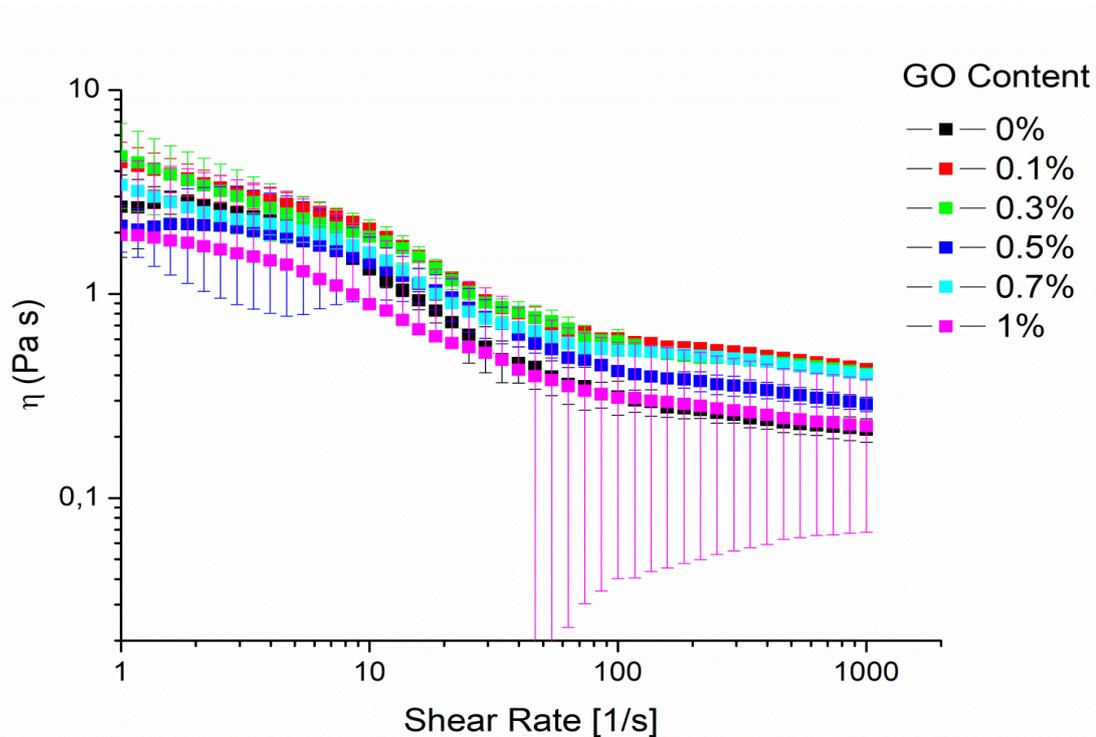
### 3.3.3 Risultati e discussioni

#### ➤ *Caratterizzazione reologica delle miscele di cheratina e PLA caricate con GO:*

In figura 55 sono rappresentate le curve di viscosità in flusso stazionario delle miscele 50/50 di cheratina/PLA caricate con diverse quantità di GO.

Si osserva che tutte le miscele composite presentano un comportamento non-Newtoniano, caratterizzato da uno shear thinning pronunciato a bassi valori dei shear rates, seguito da un plateau a shear rates più elevati. La viscosità delle soluzioni aumenta all'aumentare del

contenuto di GO fino allo 0.3%. Tuttavia, per concentrazioni maggiori di GO, la viscosità diminuisce e, nello specifico, quando il contenuto di GO è pari all'1%, la viscosità della miscela composita diventa paragonabile a quella della miscela non caricata (in assenza di GO). Questa diminuzione di viscosità può essere dovuta a fenomeni di aggregazione tra i foglietti di GO.



**Figura 55-Viscosità in flusso stazionario delle miscele di cheratina/PLA con diverse concentrazioni di grafene.**

➤ **Studio Morfologico delle nanofibre:**

L'elettrofilatura della miscela 50/50 di cheratina e PLA caricata con differenti percentuali di GO è risultata stabile, senza il problema del distacco di gocce dall'ago e la deposizione delle nanofibre sul collettore è uniforme; ciò consente di ottenere membrana omogenea e free-standing senza significative imperfezioni (Figura 56).

Da un punto di vista macroscopico, le membrane elettrofilate si presentano di colore bianco mostrando lieve tonalità marrone all'aumentare della carica del GO e prive di difetti quali buchi o accumuli di materiale.

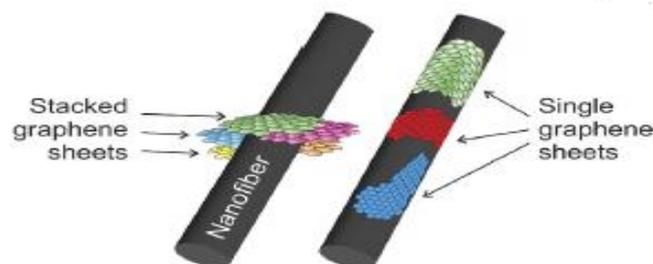


**Figura 56- Fotografia rappresentativa delle membrana nanofibrose elettrofilate dalle miscele 50/50 di cheratina e PLA caricate con differenti percentuali in peso di GO**

Le immagini ottenute al SEM (Figura 58 e figura 60) evidenziano che le membrane ottenute sono costituite da nanofibre di forma cilindrica, intrecciate ed orientate in modo casuale, a formare una struttura 3D altamente porosa con pori interconnessi.

Le nanofibre risultano essere lisce e regolari e non presentano, se non nel caso in cui vi è una distanza ago-collettore di 12 cm, difetti a forma di goccia (beads). Inoltre, non si sono osservate sulle nanofibre delle sporgenze attribuibili ai foglietti di grafene, probabilmente perché, a seguito del processo di elettrofilatura, tali foglietti di grafene sono depositati lungo la fibra, come mostrato in figura 57.

I diametri delle nanofibre ottenute cadono nel range 70-400 nm, pertanto, hanno una misura paragonabile a quella dei foglietti di GO.



**Figura 57- Possibili disposizioni dei foglietti di GO all'interno delle nanofibre**

In figura 58 e 60, sono riportate le distribuzioni dei diametri delle nanofibre, interpolate con curve Gaussiani, dove  $\chi_c$  rappresenta il valore in nanometri dove cade il massimo del

picco della curva gaussiana e  $W$  rappresenta l'ampiezza a metà altezza della curva gaussiana.

Si riscontra che il GO influisce sulla morfologia delle nanofibre di cheratina e PLA.

Nello specifico, si riscontra che all'aumentare del contenuto di GO, si evidenzia la formazione di nanofibre con diametro medio minore e con una distribuzione dei diametri più stretta. In particolare, per i valori di 12 e 18 kV, la distribuzione dei diametri tende a diminuire all'aumentare della percentuale di GO. Questo può essere dovuto al fatto che il GO conferisce una maggiore plasticità alla miscela composita, che risulta pertanto in grado di mantenere i rapporti di stiro impartiti dal processo di elettrofilatura. Tuttavia, per confermare questa ipotesi è necessario indagare questo aspetto con misure reologiche in oscillatorio.

L'ampiezza delle curve Gaussiane è stata utilizzata come parametro identificativo per valutare l'omogeneità delle nanofibre elettrofilate: più piccola è l'ampiezza e più omogenee sono le nanofibre.

Come si osserva in figura 59 e 61, l'ampiezza delle curve Gaussiane diminuisce all'aumentare della percentuale di GO e all'aumentare del voltaggio. Le nanofibre più sottili ed omogenee si ottengono per concentrazioni di GO pari a 0,5% e 1% in peso e questo può essere dovuto a due fenomeni concomitanti:

- a) aumento di conducibilità delle miscele all'aumentare del contenuto di GO;
- b) diminuzione della viscosità delle soluzioni composite corrispondenti.

Infatti, una conseguenza viscosità della viscosità più elevata (come nel caso di 0,1% e 0,3% di GO), è che il getto polimerico diventa più resistente allo stiramento delle forze indotte dalla carica durante il processo di elettrofilatura.

% GO	VOLTAGGIO APPLICATO		
	12 kV	15 kV	18 kV
0%			
0,1%			
0,3%			
0,5			
0,7%			
1%			

Figura 58- Nanofibre di cheratina e PLA caricate con GO elettrofilate con un valore di flusso pari a 0,03 ml/min ed una distanza ago-collettore pari a 15 cm

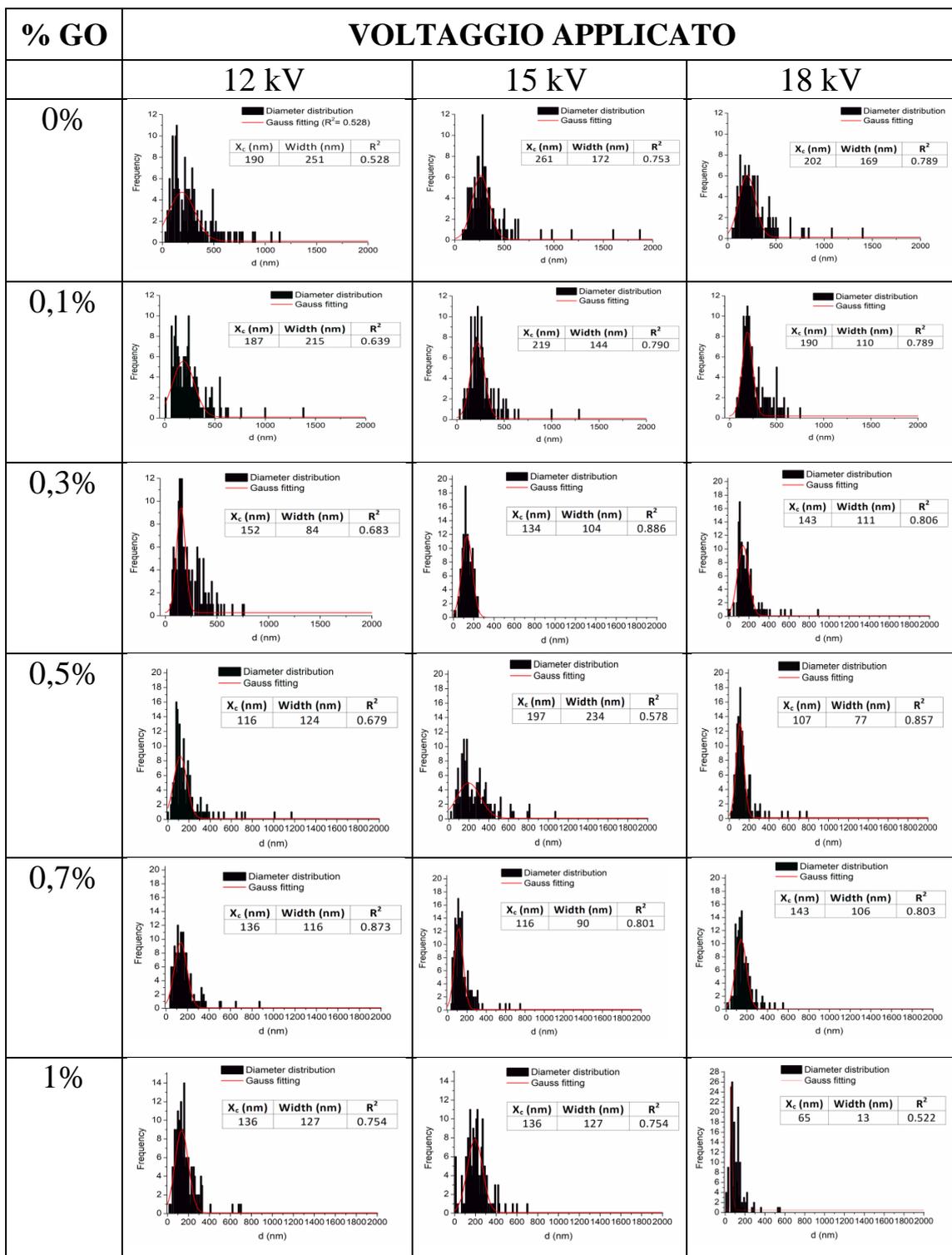


Figura 59- Distribuzione dei diametri delle fibre di cheratina e PLA caricate con differenti percentuali di GO, elettrofilate con un valore di flusso pari a 0,03 ml/min ed una distanza ago-collettore pari a 15 cm. Le distribuzioni sono interpolate con curve Gaussian

Flusso	Distanza ago-collettore		
	12 cm	15 cm	20 cm
0,03 ml/min			
0,05 ml/min	NOPE		NOPE
0,10 ml/min			NOPE

Figura 60- Nanofibre di cheratina e PLA caricate con l'1% di GO ed elettrofilate con valore di voltaggio pari a 18 kV

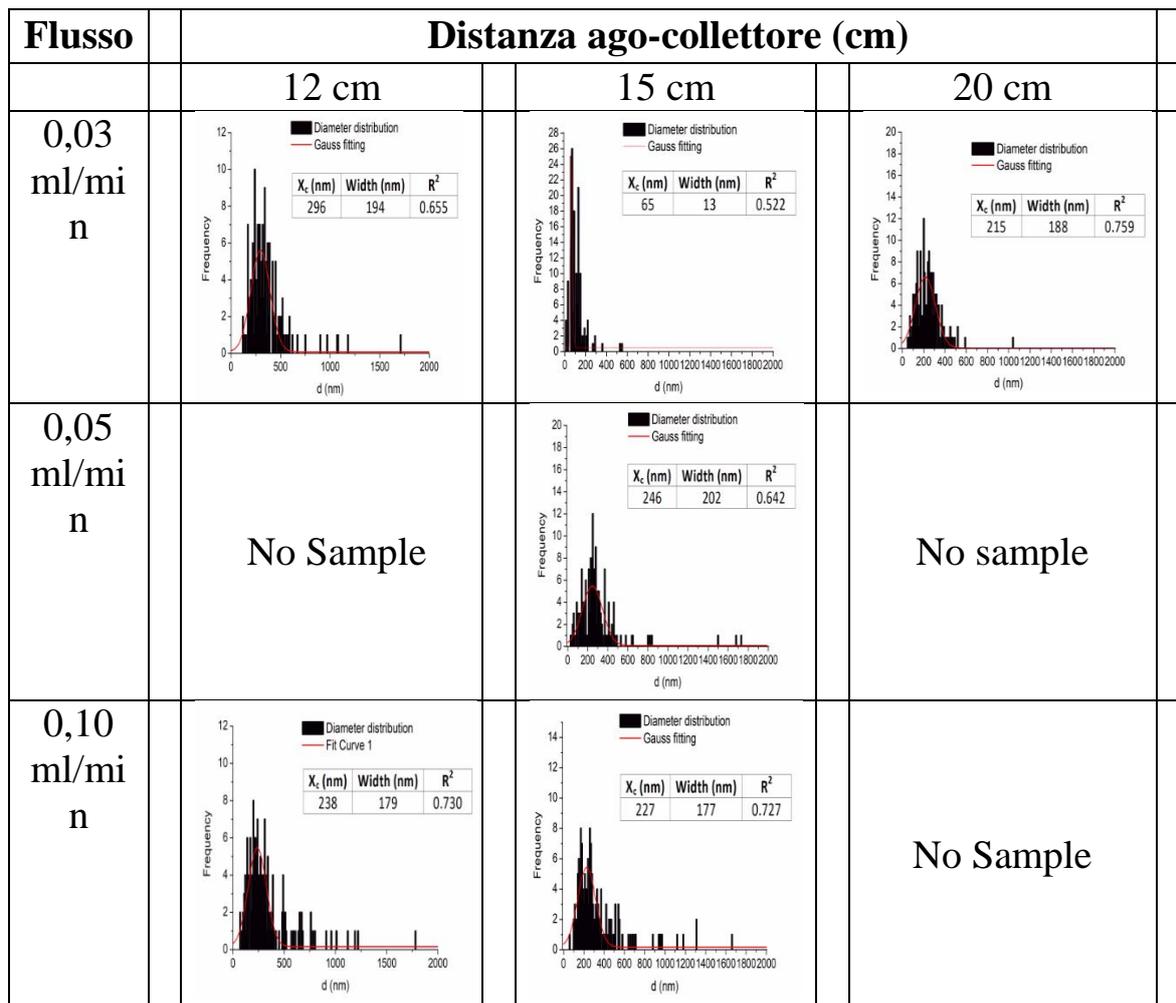
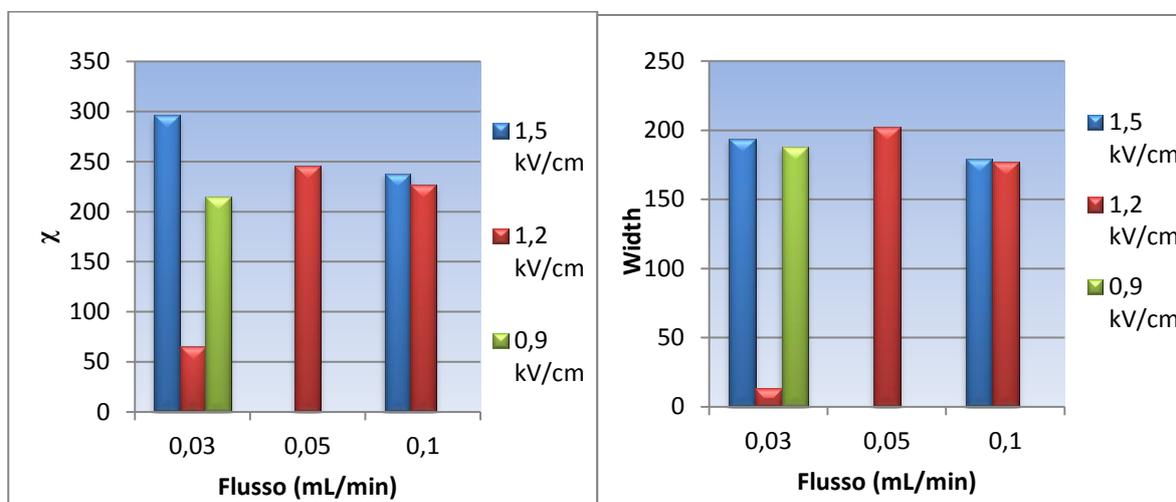


Figura 61- Distribuzione dei diametri delle fibre di cheratina e PLA caricate con l'1% di GO ed elettrofilate con valore di voltaggio pari a 18 kV. Le distribuzioni dei diametri sono interpolate con curve Gaussianhe

In Figura 62 sono riportati gli andamenti di  $\chi_c$  (picco massimo della curva gaussiana) e di W (l'ampiezza a metà altezza della curva gaussiana) in funzione del flusso e dell'intensità del campo elettrostatico applicato.



**Figura 62- Valori di  $\chi_c$  (picco massimo della curva gaussiana) e di W (l'ampiezza a metà altezza della curva gaussiana) in funzione del flusso e dell'intensità del campo elettrostatico applicato**

Ciò che si può riscontrare è che a parità di voltaggio applicato, cioè 18 kV, le nanofibre più sottili ed omogenee (quindi con un diametro minore ed una distribuzione più stretta) si ottengono quando è applicato un flusso di 0,03 mL/min ad una distanza ago-collettore di 15 cm.

A distanze inferiori di 15 cm, invece, si ottengono nanofibre più grandi e meno omogenee, (cioè con un diametro più grande e da una distribuzione più ampia, come mostrato in Figura 61), probabilmente a causa di una incompleta evaporazione del solvente. Inoltre, le nanofibre tendono ad essere più grandi e meno omogenee anche a distanze maggiori di 15 cm, probabilmente perché la soluzione polimerica risente di una più bassa intensità di campo elettrostatico con conseguente diminuzione dell'effetto stiro delle macromolecole. Inoltre, come atteso, per flussi maggiori di 0,03 mL/min, a voltaggio applicato pari a 18kV, si ottengono fibre con diametri più grandi e meno omogenei probabilmente a causa di una incompleta evaporazione del solvente dovuta al flusso troppo elevato.

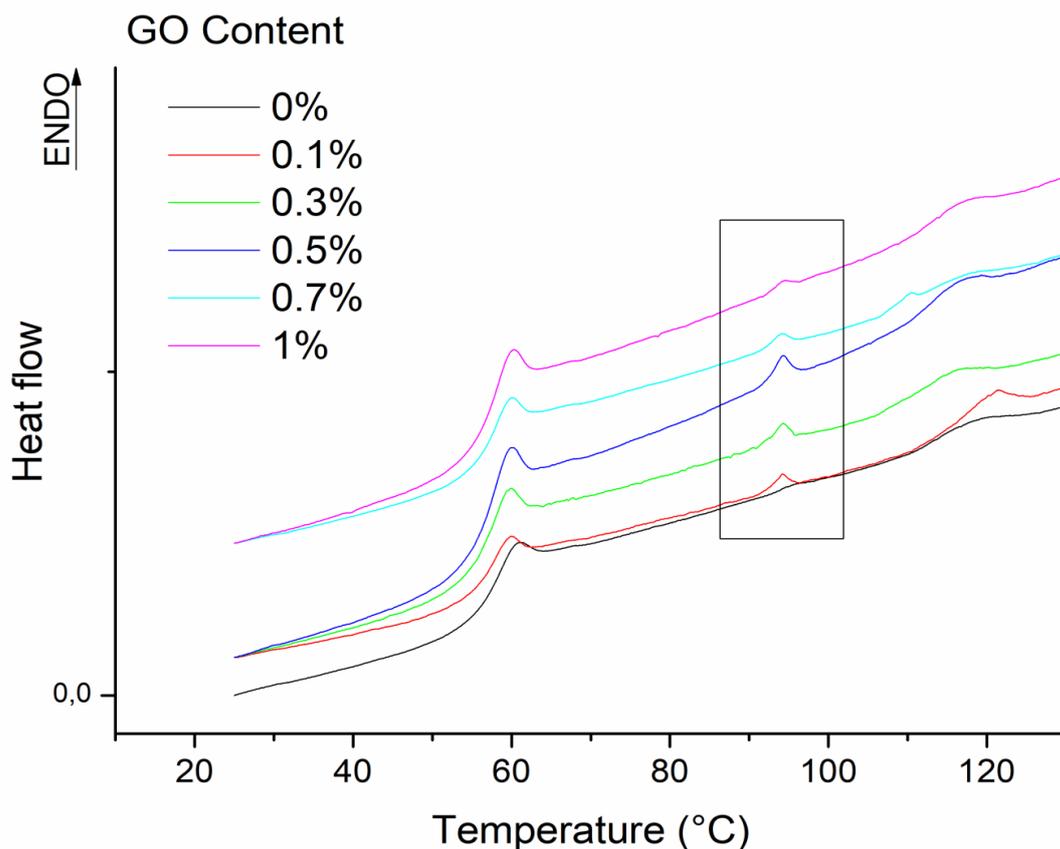
### ➤ *Caratterizzazione termica delle nanofibre di cheratina e PLA caricate con GO:*

Le membrane nanofibrose di cheratina e PLA caricate con diverse quantità di GO sono state analizzate mediante calorimetria differenziale a scansione (DSC). Le curve DSC di II scan sono riportate in figura 63 ed i dati ottenuti relativi all'analisi DSC sono schematizzati in tabella 5.

Le curve DSC delle membrane con e senza GO presentano una variazione endotermica della linea di base associata alla transizione vetrosa ( $T_g$ ) caratteristica del PLA amorfo,

seguito da un picco endotermico a 120°C legato alla denaturazione delle strutture secondarie della cheratina.

Come si può osservare in tabella 5 e nelle curve DSC, l'aggiunta di GO non modifica in modo significativo la transizione vetrosa del PLA ma, al contrario, con l'aggiunta di GO il termogramma presenta un picco endotermico a 90°C circa, assente nel campione privo di GO. Ciò è probabilmente legato alla denaturazione di strutture ordinate della cheratina. Il calore di denaturazione  $\Delta H_d$  aumenta all'aumentare della carica di GO e raggiunge il massimo alla concentrazione di GO dello 0,5%, dopodiché diminuisce. Pertanto, è plausibile che la presenza di GO porti ad un aumento della cristallinità, fungendo, probabilmente, da agente nucleante. L'effetto nucleante del GO è ben evidente per concentrazioni della nanocarica che variano da 0,1 a 0,5%. Tuttavia, per concentrazioni superiori allo 0,5% di GO, l'effetto nucleante del GO diminuisce e ciò può essere attribuito al fatto che l'effetto nucleante viene ostacolato in modo significativo dall'elevato rapporto di stiro che viene impartito alla miscela durante il processo di elettrofilatura (a causa sua della bassa viscosità ed elevata conducibilità) e che permette la formazione di nanofibre più sottili. In particolare, questo fenomeno risulta rilevante per la concentrazione di GO pari all'1%.



**Figura 63- Curve DSC in seconda scansione (II scan) delle miscele di cheratina/PLA 50/50 caricata con diverse quantità di GO.**

GO (%)	T <sub>g</sub> (°C)	ΔC <sub>p</sub> (J/g°C)	T <sub>d</sub> (°C)	ΔH <sub>d</sub> (J/g)
0	56,55	0,25	95,74	0,069
0,1	55,58	0,27	94,19	0,190
0,3	55,91	0,30	94,28	0,208
0,5	54,89	0,34	92,51	0,269
0,7	56,09	0,27	94,09	0,174
1	56,13	0,30	94,31	0,082

**Tabella 5- dati ottenuti dalla caratterizzazione termica DSC, II scan delle membrane nanofibrose di cheratina/PLA caricate con GO**

➤ ***Caratterizzazione meccanica delle nanofibre di cheratina e PLA caricate con GO:***

Per valutare le proprietà meccaniche delle singole membrane, queste sono state sottoposte a prove di trazione.

Le considerazioni sulla rigidità del materiale e la razionalizzazione degli andamenti delle curve sforzo-deformazione risulta essere piuttosto complessa a causa della struttura nanofibrosa dei provini analizzati e alla risposta che essi mostrano quando sono sottoposti ad un carico monoassiale.

Studiare il comportamento meccanico di materiali nanofibrosi necessita di un approccio differente rispetto a quello usato per i materiali bulk. Il comportamento meccanico mostrato da materiali macroscopicamente simili, ma caratterizzati dall'aver una struttura nanofibrosa, può essere differente proprio a causa dell'architettura nanofibrosa (orientazione delle fibre, diametro delle fibre, ecc.). Essa risulta difficile da riprodurre in maniera accurata attraverso gli attuali processi utilizzati ed influenza notevolmente le proprietà meccaniche del materiale. Proprio per questo è difficile valutare le sollecitazioni che agiscono su questo tipo di materiali durante le prove di trazione.

L'approccio classico utilizzato per stimare lo sforzo si basa sul metodo di normalizzazione della forza rispetto all'area della sezione perpendicolare all'asse di applicazione della forza, come mostrato dall'equazione 6:

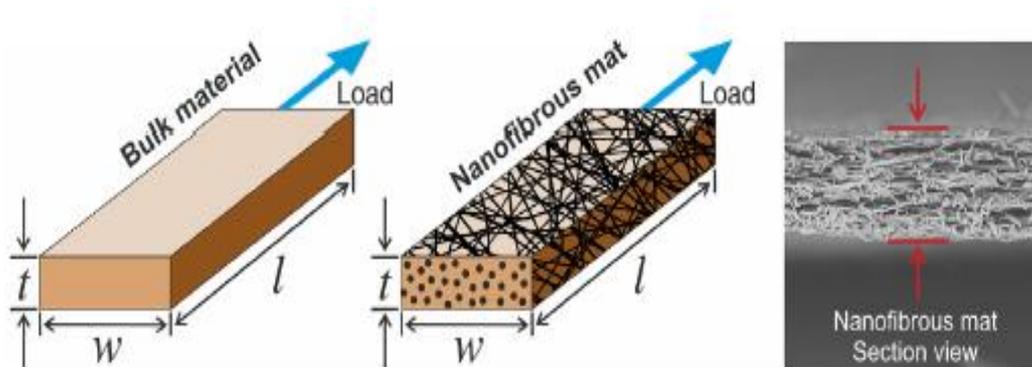
$$\sigma = \frac{F}{A}$$

Equazione 6

dove:

- m = massa del provino (misurata in mg);
- F= forza (espressa in N);
- A= area della sezione trasversale (misurata in mm<sup>2</sup>)

Nello specifico, si calcola l'area della sezione del provino in base alla larghezza ed allo spessore macroscopici del campione. Purtroppo, questo metodo, non tiene conto della morfologia fibrosa del materiale e si assume che il volume libero tra le fibre sia riempito con lo stesso materiale che costituisce la fibra. Ciò è una grossolana approssimazione perché il volume di vuoto che caratterizza un tappetino nanofibroso medio è molto alto e può arrivare fino al 90%. La figura 64, mostra la chiara differenza morfologica esistente tra un materiale bulk ed un materiale nanofibroso. Il volume vuoto non contribuisce affatto alla risposta meccanica dei materiali durante l'applicazione dello sforzo e l'ipotesi sbagliata che non ci siano vuoti tra le fibre è una grossolana approssimazione perché porta ad una sottostima degli sforzi e di tutte le proprietà meccaniche correlate (ad es. modulo di Young, carico a rottura, tenacità). Inoltre, il classico sistema di misurazione dello spessore risulta limitante perché la valutazione dello spessore del tappetino è molto complicata. La misura è fortemente influenzata dalla strumentazione utilizzata, poiché il suo valore dipende dalla pressione applicata al campione durante la misurazione. In sostanza, in base al tipo di strumento utilizzato, o anche se la misura è effettuata da operatori differenti, il tappetino risulterebbe possedere spessori differenti che variano a seconda di come vengono misurati, portando al calcolo di sezioni differenti e, di conseguenza, a valori di sforzo altrettanto variabili. Dunque, la valutazione dello sforzo con il metodo classico, è poco affidabile.



**Figura 64- Rappresentazione schematica della morfologia di un materiale di bulk e di un materiale nanofibroso**

Per superare questo problema, è stato introdotto un nuovo modo di normalizzazione della forza basata sulla massa del provino anziché rispetto la sua sezione, così da eliminare

l'incertezza dello spessore. In questo modello, lo sforzo è funzione della massa e di altri parametri facilmente misurabili[77], come mostrato nella seguente equazione:

$$\sigma = \rho \frac{F}{m} L$$

**Equazione 7**

dove:

- $m$  = massa del provino (misurata in mg);
- $\rho$  = densità del materiale (espressa in  $\text{mg}/\text{mm}^3$ );
- $L$  = lunghezza iniziale del provino (espressa in mm);
- $F$  = forza (espressa in N);
- $\sigma$  = sforzo (espresso in MPa).

La densità  $\rho$ , nel caso di miscele polimeriche o polimeri caricati, può essere calcolata come il valore medio di viscosità dei componenti puri ponderato sulle frazioni dei singoli componenti della miscela.

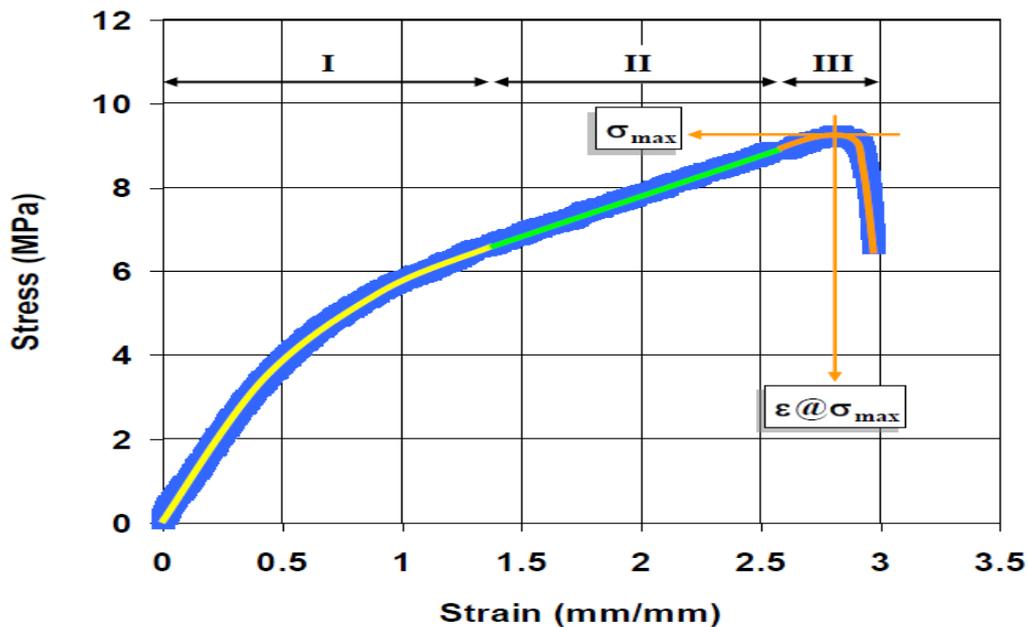
Nel caso in cui si utilizzino agenti rinforzanti di dimensioni nanometriche (nanorinforzi), poiché, molto spesso, essi sono utilizzati in piccole quantità, si può approssimare che la densità della nanocarica non influenzi la densità del composito. Tuttavia, se la frazione di agente nano-rinforzante utilizzata risulta essere non trascurabile, è necessario calcolare in modo appropriato la densità del materiale per non commettere errori significativi nel calcolo degli sforzi.

La normalizzazione dello sforzo rispetto alla massa del campione anziché rispetto alla sezione, è utile per scartare qualsiasi errore dovuto alla misura dello spessore della membrana che, a sua volta, è necessario per calcolare la sezione: si ottengono così risultati più affidabili, accurati e riproducibili. Questo metodo, dunque, consente di effettuare calcoli più realistici degli sforzi rispetto al metodo della normalizzazione rispetto all'area.

#### **Modello di data fitting:**

E' necessario sottolineare che una curva sforzo-deformazione di un materiale nanofibroso risulta essere differente da un materiale bulk in cui non sono presenti vuoti. In particolare, in un diagramma sforzo-deformazione caratteristico dei materiali nanofibrosi, è possibile riscontrare tre fasi caratterizzanti il comportamento del materiale (figura 65):

- 1) un andamento iniziale non lineare (zona I) ;
- 2) un andamento lineare per valori di deformazione elevati (zona II);
- 3) un secondo comportamento non lineare, in cui lo sforzo e la tensione raggiungono i loro valori massimi prima della rottura (zona III).



**Figura 65- Curva sforzo deformazione mostrato da un materiale nanofibroso in cui sono ben evidenti il tratto lineare (zona I) e non lineare (zona II) [77]**

Tale comportamento, caratteristico dei materiali fibrosi sottoposti ad un carico monoassiale [78] è correlato alla natura della struttura del tessuto-non-tessuto, ed è attribuibile a fenomeni come una distribuzione non omogenea delle fibre, grado di vuoto, intrecci fisici tra le fibre e presenza di fasci di fibre.

La rigidità iniziale mostrata dal materiale è dovuta alla complessa architettura nanofibrosa costituita da intrecci di fibre, aggregazione tra le fibre ed attrito tra le fibre ma anche al numero di fibre che si trovano già orientate nella direzione di stiro. Pertanto, il comportamento iniziale del tappetino nanofibroso, caratterizzato da andamento non lineare (Zona I), in cui il materiale mostra una diminuzione della rigidità, può essere attribuito alla riorganizzazione della rete nanofibrosa in cui si verificano lo scioglimento degli intrecci fisici tra le fibre e la rottura di quelle che inizialmente si trovavano orientate nella direzione di stiro.

Il comportamento caratterizzato da andamento lineare (Zona II), invece, è dovuto alle fibre che ormai risultano essere prevalentemente orientate nella direzione di stiro.

Sulla base di queste ipotesi, con l'obiettivo di fornire un quadro completo del comportamento meccanico globale dei materiali nanofibrosi, viene proposto un modello fenomenologico per il data fitting dei dati sperimentali dei diagrammi sforzo-deformazione di materiali nanofibrosi[78][77]. Con l'obiettivo di fornire un quadro completo del comportamento meccanico globale dei materiali nanofibrosi, il segmento non lineare iniziale e quello lineare successivo, devono essere analizzati ed interpretati al fine di comprenderli.

Secondo il modello di data fitting dei dati sperimentali, riportato nell'equazione 2, lo sforzo viene espresso come la somma di due contributi, uno lineare e uno esponenziale, (rispettivamente  $\sigma_1$  e  $\sigma_2$ ):

$$\sigma(\varepsilon) = \sigma_1(\varepsilon) - \sigma_2(\varepsilon) = (a\varepsilon + b) - (be^{-c\varepsilon}) = a\varepsilon + b(1 - e^{-c\varepsilon})$$

Equazione 8

dove "a", "b" e "c" sono parametri determinati sperimentalmente di volta in volta, per ottenere il miglior data fitting dei dati sperimentali utilizzando il metodo dei minimi quadrati. Nell'equazione 2, svolgendo la derivata dello sforzo rispetto alla deformazione è possibile calcolare la pendenza della tangente alla curva sforzo-deformazione, la quale esprime la misura della rigidità del materiale.

Pertanto, risulta:

$$\frac{d\sigma}{d\varepsilon} = E(\varepsilon) = a + b \cdot c \cdot e^{-c\varepsilon}$$

Equazione 9

dove, in questo caso,  $E(\varepsilon)$  è usato per indicare la funzione che descrive la pendenza della tangente alla curva.

Inoltre, l'equazione 8 consente di derivare due parametri che possono essere utilizzati per studiare e caratterizzare il comportamento del materiale nanofibroso:

- 1) Il modulo elastico iniziale (modulo di Young),  $E_0$ :

$$E_0 = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} E(\varepsilon) = a + b \cdot c$$

Equazione 10

- 2) Il modulo nel tratto lineare della curva sforzo-deformazione (Zona II),  $E_{lin}$ :

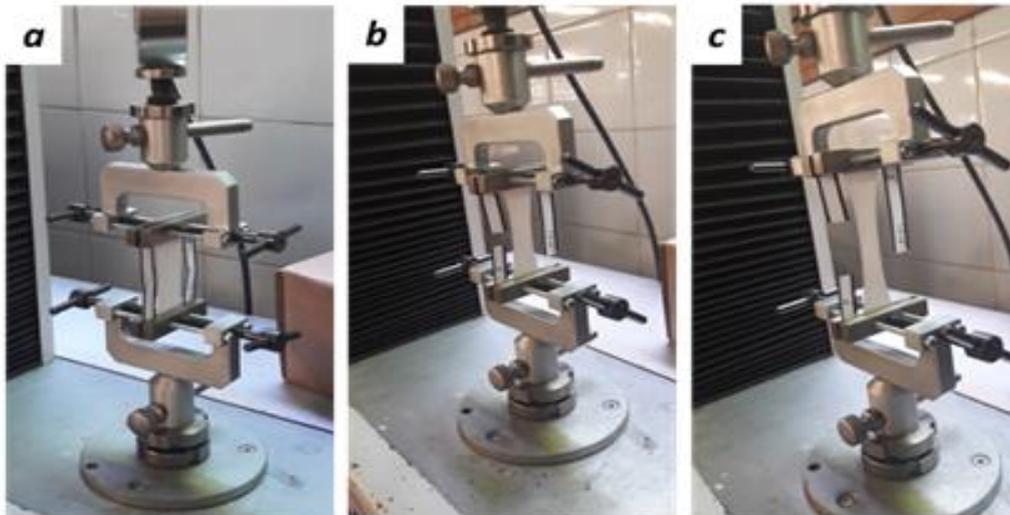
$$E_{lin} = \lim_{\varepsilon \rightarrow \infty} E(\varepsilon) = a$$

Equazione 11

Il modello espresso nell'equazione 2 è stato utilizzato per fittare i dati delle curve sforzo-deformazione dei campioni nanofibrosi, utilizzando il metodo dei minimi quadrati e calcolando, per ogni campione, i due parametri principali  $E_0$  e  $E_{lin}$ .

Le proprietà meccaniche delle nanofibre caricate con GO non sono di banale interpretazione perché il modo in cui il GO influenza la stabilità meccanica delle membrane nanofibrose non è facile da interpretare.

Durante le prove di trazione le membrane hanno esibito una buona capacità di deformazione e la rottura della membrana non avviene istantaneamente ma si ha un cedimento graduale (Figura 66).



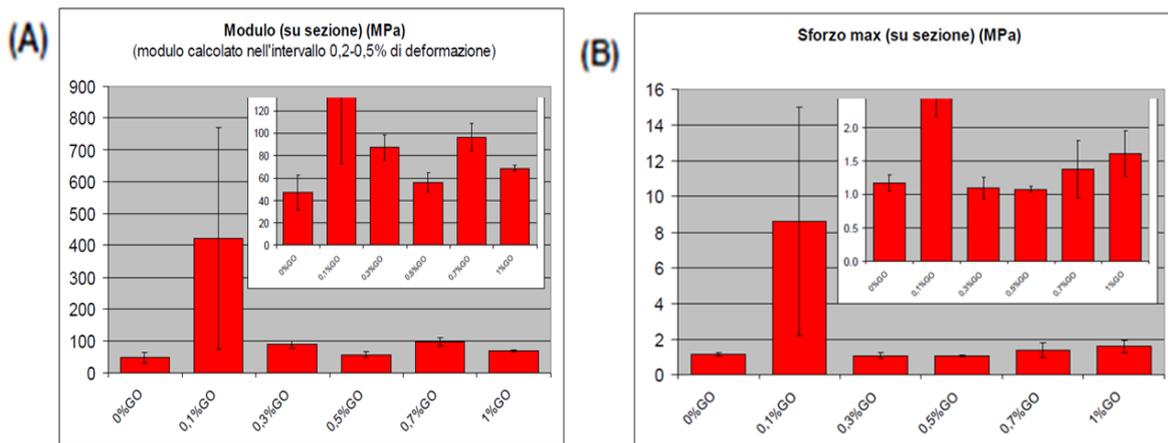
**Figura 66- Fasi consecutive della prova di trazione: a) Inizio dell'applicazione del carico; b) Allungamento della membrana; c) Rottura della membrana**

Nella tabella 6 sono riportati, in modo schematico, i risultati in sintesi delle prove di trazione delle membrane nanofibrose. Essi riportano i valori del modulo di Young e dello sforzo a rottura, con le relative deviazioni standard, calcolati sia con il metodo classico sia con il metodo della normalizzazione della forza basata sulla massa.

	Modulo (su massa)			Modulo (su sezione)			Sforzo max (su massa)			Sforzo max (su sezione)		
	MPa	MPa	%	MPa	MPa	%	MPa	MPa	%	MPa	MPa	%
0%GO	363.57	93.33	25.67	47.02	15.61	33.19	9.24	1.48	16.01	1.17	0.12	10.25
0,1%GO	448.71	84.05	18.73	421.54	348.72	82.73	9.06	0.73	8.08	8.60	6.42	74.71
0,3%GO	511.10	91.59	17.92	87.27	11.71	13.42	6.47	1.65	25.44	1.09	0.16	14.64
0,5%GO	382.49	38.35	10.03	56.11	8.84	15.75	7.41	0.77	10.36	1.08	0.04	3.96
0,7%GO	468.33	83.09	17.74	96.49	12.06	12.50	6.73	2.45	36.35	1.38	0.43	31.07
1%GO	491.36	36.29	7.39	68.76	2.49	3.63	11.37	1.39	12.21	1.61	0.34	21.14

**Tabella 6- Risultati in sintesi delle prove di trazione delle membrane nanofibrose**

I risultati ottenuti con l'approccio classico (Figura 67 A) e Figura 67 B) mostrano che il GO influenza in maniera poco significativa il modulo di Young ed i valori di sforzo massimo e di allungamento a rottura delle membrane nanofibrose. Quello che si verifica, nello specifico, è che sia il modulo di Young che lo sforzo a rottura aumentano solo nel caso dello 0,1% di GO, mentre, negli altri casi tali valori rimangono quasi inalterati. Dunque, con l'approccio classico non è apprezzabile un cambiamento significativo delle proprietà meccaniche.



**Figura 67- Sintesi dei dati dei risultati secondo la valutazione delle proprietà meccaniche basata sull'approccio classico dei provini in termini di A) modulo di Young calcolato nell'intervallo 0,2-0,5% di deformazione; B) massimo valore di sforzo**

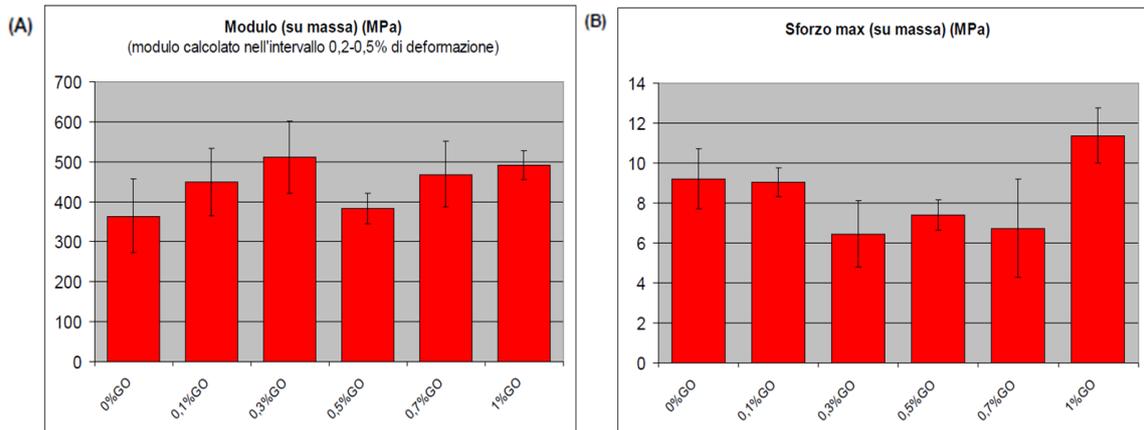
I risultati delle prove di trazione sono stati, quindi, rielaborati utilizzando il metodo di normalizzazione della forza basata sulla massa (equazione 7) ed il modello di data fitting (equazione 8).

Come previsto, si riscontra che i valori di sforzo sono notevolmente maggiori rispetto a quelli calcolati con l'approccio classico e ciò è dovuto al fatto che la normalizzazione della forza basata sulla massa, piuttosto che sulla sezione trasversale, non considera il volume vuoto tra le fibre. Inoltre, il modello di normalizzazione della forza basato sulla massa sembra essere un approccio più affidabile di quello classico, in quanto i valori di deviazione standard che si ottengono risultano essere significativamente inferiori.

Con questa procedura di analisi, si evidenzia che il GO continua a non influenzare significativamente i valori di allungamento a rottura, al contrario, si riscontra che esso influenza in modo piuttosto significativo i valori del modulo di Young e di carico a rottura.

Nello specifico, si osserva un aumento del Modulo di Young all'aumentare della frazione in peso di GO ed il massimo aumento si ottiene allo 0,3% e all'1% di GO.

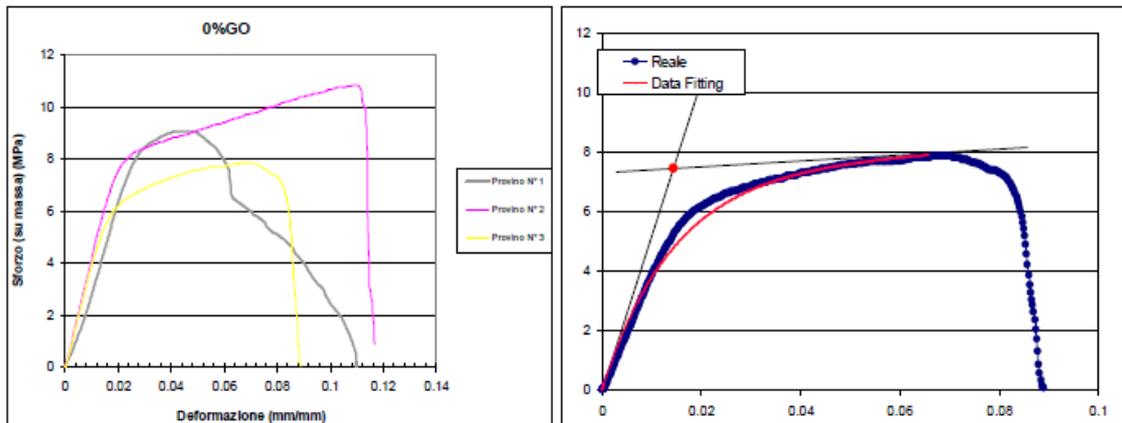
Invece, con l'aggiunta di GO si evidenzia, in generale, una diminuzione del carico a rottura. Fa eccezione il campione con l'1% di GO, il quale mostra un carico a rottura maggiore di quello della membrana nanofibrosa senza GO e di tutte le altre membrane nanofibrose.



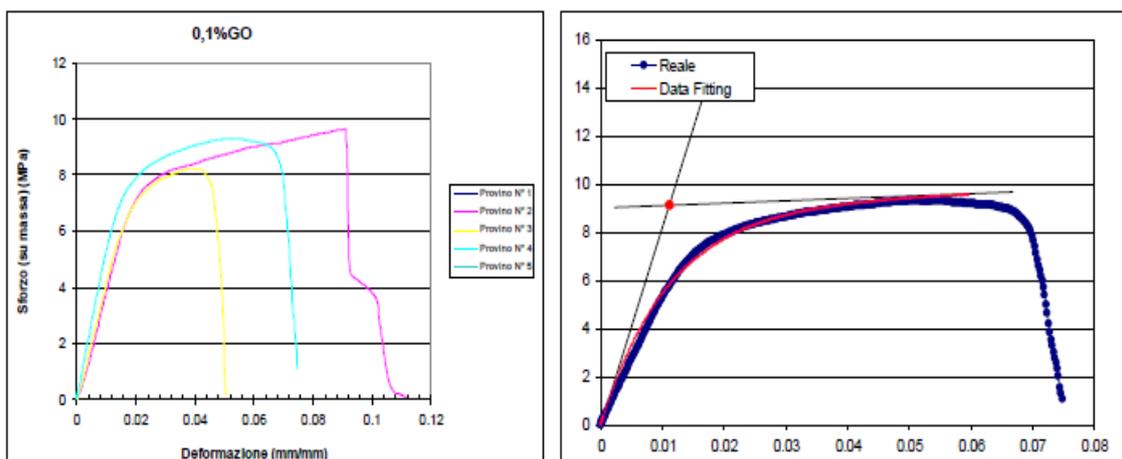
**Figura 68- Sintesi dei dati dei risultati secondo la valutazione delle proprietà meccaniche basata sulla normalizzazione della forza basata sulla massa dei provini in termini di A) modulo di Young calcolato nell'intervallo 0,2-0,5% di deformazione; B) massimo valore di sforzo**

In figura 69 sono riportate le curve sforzo-deformazione costruite calcolando lo sforzo con il metodo della normalizzazione basata sulla massa, utilizzati per calcolare i due parametri principali  $E_0$  ed  $E_{lin}$  (Fig. 74), usando il modello di interpolazione dei dati descritto dall'equazione 9.

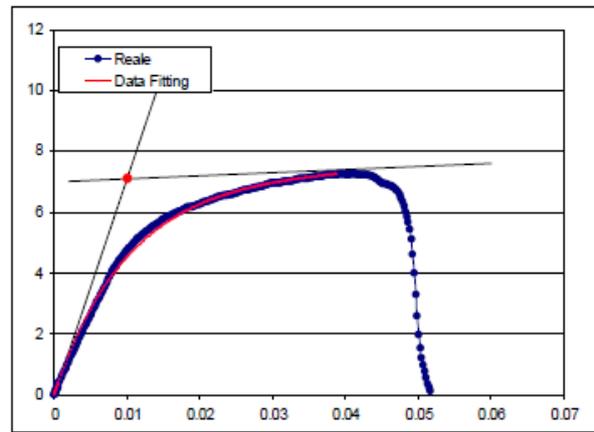
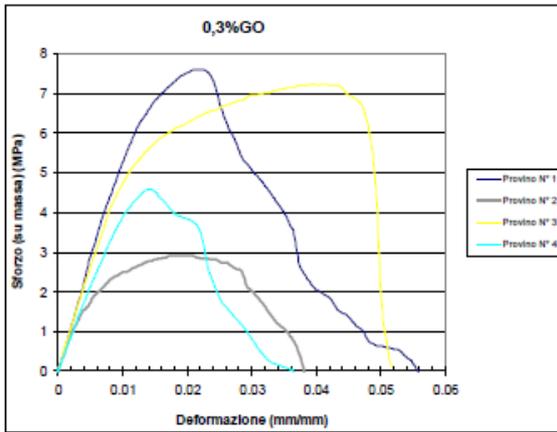
#### KER/PLA – 0% GO



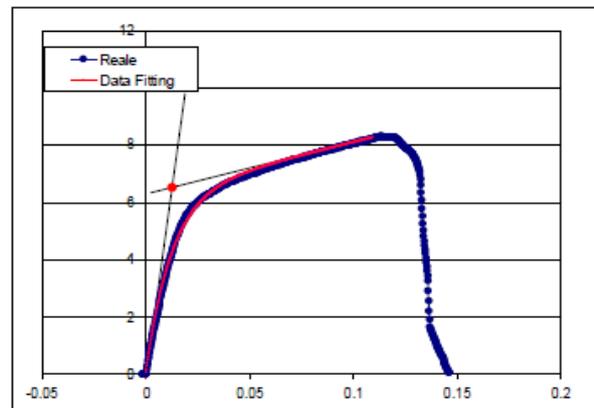
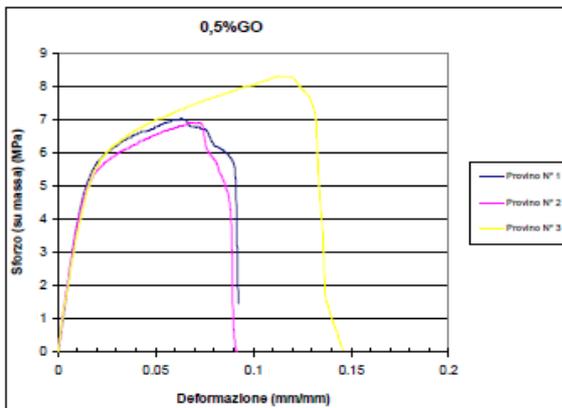
#### KER/PLA – 0,1% GO



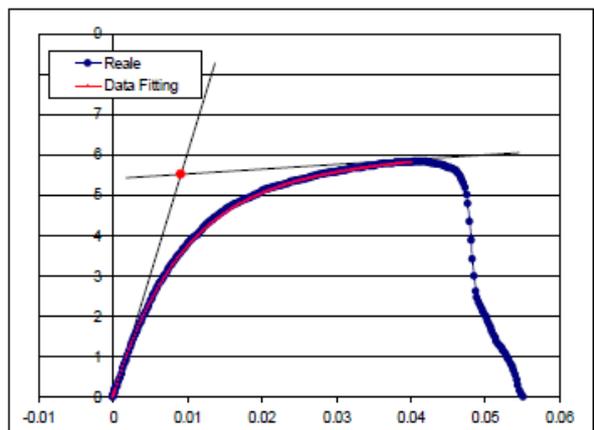
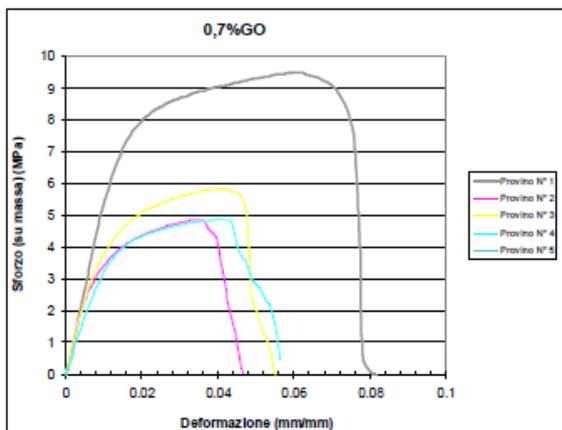
### KER/PLA – 0,3% GO



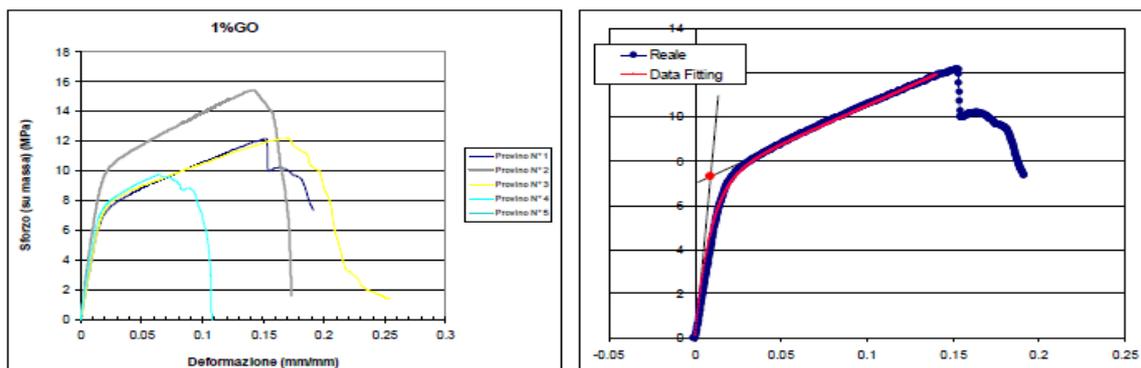
### KER/PLA – 0,5% GO



### KER/PLA – 0,7% GO



## KER/PLA – 1,0% GO



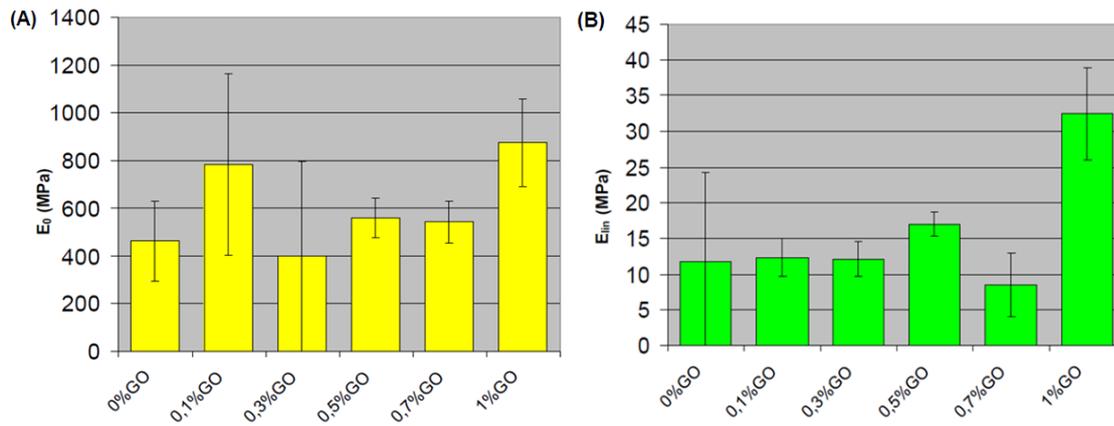
**Figura 69- Grafici sforzo-deformazione delle membrane nanofibrose ottenute con l'approccio di normalizzazione della forza basata su massa ed esempi di data fitting**

I risultati ottenuti confermano che l'ossido di grafene influenza le proprietà meccaniche delle membrane nanofibrose poiché i valori del modulo di Young dei provini contenenti GO sono maggiori di quelli senza GO ed il maggior aumento del modulo si ha nel campione nanofibroso in cui è presente l'1% di GO.

Inoltre, l'analisi della zona lineare delle curve sforzo-deformazione, rappresentata dal parametro  $E_{lin}$ , conferma ulteriormente i benefici forniti dall'aggiunta di GO. In particolare, ancora nel caso dell'1% di GO vi è un incremento del modulo nella tendenza lineare rispetto al campione in cui è assente GO. Pertanto, ciò suggerisce che la presenza di GO non altera, in maniera significativa solo le proprietà meccaniche nella zona lineare ma influenza anche il modo in cui le nanofibre si comportano quando sono organizzate all'interno della membrana nanofibrosa.

In sostanza, durante l'applicazione del carico monoassiale al materiale nanofibroso, avviene uno scioglimento dei nodi tra le fibre, seguito dall'orientazione lungo la direzione dello stiro e rottura finale delle fibre stesse. Inoltre, a rafforzare questa ipotesi è il fatto che un aumento della presenza di grafene ossido, contribuisce principalmente alla diminuzione dei diametri delle nanofibre, con conseguente assottigliamento dei materiali filati ed un incremento dei nodi fisici tra le fibre (entanglements tra le fibre). Una diminuzione del diametro delle nanofibre permette al materiale di mantenere costante il proprio volume per via delle nanofibre più lunghe che, grazie all'elevato numero di nodi fisici, si opporranno al carico applicato. Difatti, è stato dimostrato che la morfologia del materiale, quindi l'architettura nanofibrosa, potrebbe migliorare le prestazioni meccaniche, quando il diametro delle nanofibre scende al di sotto di un valore di soglia che si aggira nell'ordine 400-500 nm[66]. Inoltre, attraverso l'utilizzo del modello di data fitting e dai parametri da esso ricavabili è plausibile che la presenza di GO influenza anche il comportamento delle fibre che si trovano orientate nella direzione di stiro. Il GO, caratterizzato da elevata area superficiale, funge da rinforzo delle nanofibre ritardando la rottura di queste ultime orientate nella direzione dell'applicazione del carico.

Inoltre, è necessario evidenziare che il provino contenente lo 0,7% di GO, mostra un allungamento minore rispetto ai provini contenuti il 0,5% di GO e 1% di GO a causa della presenza di imperfezioni nella membrana. Questo particolare provino, infatti a prima vista non mostrava difetti, ma proseguendo con l'analisi, e quindi con la deformazione del campione, sono state osservate delle imperfezioni (buchi) fungendo da innesco della frattura, e portando al crollo delle proprietà meccaniche in anticipo rispetto agli altri campioni.



**Figura 70-Proprietà meccaniche valutate secondo il modello proposto in Eq. 3: A) rigidità del materiale iniziale ( $E_0$ ); B) rigidità del materiale nella tendenza lineare ( $E_{lin}$ ).**

## CAPITOLO 4: CONCLUSIONI

Nel presente elaborato di tesi sperimentale è stata utilizzata la cheratina estratta dalla lana per creare membrane nanofibrose che potrebbero trovare impiego in diversi settori. La cheratina estratta dalla lana è difficile da processare e maneggiare per via delle scarse proprietà meccaniche dovute al basso peso molecolare (65-11 kDa), pertanto è stata miscelata insieme al PLA amorfo per consentire il processo di elettrofilatura e conferire proprietà meccaniche e strutturali migliori alle membrane elettrofilate. Inoltre, sono state disperse nelle soluzioni a base di cheratina, diverse frazioni in peso di grafene ossido, per produrre membrane elettrofilate nanocomposite. Infine è stato studiato l'effetto del grafene ossido sulle proprietà delle miscele e sul processo di elettrofilatura, nonché sulla morfologia, comportamento termico e meccanico delle membrane ottenute.

Le soluzioni di cheratina e PLA per l'elettrofilatura sono state preparate usando HFIP (1,1,1,3,3,3-esafluoro-2-propanolo) come solvente comune.

E' stato effettuato uno studio di miscibilità tra i due polimeri in soluzione, attraverso misure reologiche e mediante spettroscopia infrarossa. Le miscele di cheratina che hanno mostrato interazioni positive di interfase tra i due polimeri sono le miscele cheratina/PLA 50/50 e 75/25. Tra queste, è stata selezionata per l'elettrofilatura la miscela 50/50 in quanto costituita da un più elevato contenuto di PLA in grado di garantire adeguate proprietà meccaniche delle membrane elettrofilate.

Nella soluzione 50/50 di cheratina e PLA sono state disperse differenti quantità di grafene ossido (GO), in particolare dallo 0,1% all'1% in peso e le miscele composite così ottenute sono state elettrofilate variando il voltaggio (da 12 a 18 kV), la distanza ago-collettore (da 12 a 20 cm) e il flusso (da 0,03 a 0,1 mL/min).

La morfologia nanofibrosa delle membrane elettrofilate è stata osservata mediante microscopia a scansione elettronica (SEM), la quale ha confermato la presenza di nanofibre lisce e prive di difetti (*beads*), con struttura tridimensionale altamente porosa e con pori interconnessi. La distribuzione dei diametri varia da 70 a 500 nm. L'aggiunta di GO ha permesso di produrre nanofibre più fini e più omogenee, caratterizzate da una più stretta curva di distribuzione dei diametri. Questo può essere dovuto ad un aumento del carattere plastico delle soluzioni composite rispetto alla soluzione senza grafene ossido, in grado di mantenere il rapporto di stiro impartito durante il processo di elettrofilatura. Tra le soluzioni contenenti il GO, quella caricata all'1% in peso è la miscela che permette di ottenere nanofibre più fini e questo è dovuto alla minore viscosità e probabilmente, anche alla maggiore conducibilità della miscela.

Inoltre, è stata studiata l'influenza del GO sulle proprietà chimico-fisiche delle membrane elettrofilate di cheratina e PLA.

Dalla caratterizzazione termica, effettuata mediante analisi calorimetria differenziale a scansione (DSC), è stato riscontrato che il GO non influenza la temperatura di transizione vetrosa ed il processo di denaturazione termica della proteina. Tuttavia, il GO sembra

conferire un effetto nucleante alla matrice polimerica, in quanto promuove la formazione di strutture ordinate, probabilmente di cheratina.

Le proprietà meccaniche sono state valutate sottoponendo le nanofibre elettrofilate a prove di trazione al dinamometro. È stato possibile osservare sempre un aumento del modulo di Young e dello sforzo a rottura delle nanofibre all'aumentare della concentrazione di GO. Attraverso l'utilizzo del modello di data fitting e dai parametri da esso ricavabili è plausibile che la presenza di grafene ossido influenzi le proprietà meccaniche in due modi: in un caso promuovendo la formazione di nanofibre sottili e maggiormente aggrovigliate che si oppongono al carico per bassi valori di deformazione mostrando un aumento del Modulo di Young rispetto alle nanofibre prive di grafene ossido; in un altro caso, la presenza di GO, caratterizzato da elevata area superficiale, funge da rinforzo delle nanofibre ritardando la rottura di quelle già orientate nella direzione dell'applicazione del carico.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] M. Sethupathy, V. Sethuraman, and P. Manisankar, 'Preparation of PVDF / SiO<sub>2</sub> Composite Nanofiber Membrane Using Electrospinning for Polymer Electrolyte Analysis', vol. 2013, no. April, pp. 37–43, 2013.
- [2] F. Du, R. C. Scogna, W. Zhou, S. Brand, J. E. Fischer, and K. I. Winey, 'Nanotube networks in polymer nanocomposites: Rheology and electrical conductivity', *Macromolecules*, vol. 37, no. 24, pp. 9048–9055, 2004.
- [3] A. Olad, 'Polymer / Clay Nanocomposites', 1996.
- [4] K. Brandt *et al.*, 'Novel ceramic – polymer composites synthesized by compaction of polymer-encapsulated TiO<sub>2</sub> -nanoparticles', vol. 72, pp. 65–71, 2011.
- [5] A. Gupta, 'Human Hair "Waste" and Its Utilization: Gaps and Possibilities', *J. Waste Manag.*, vol. 2014, pp. 1–17, 2014.
- [6] M. Taskin and E. B. Kurbanoglu, 'Evaluation of waste chicken feathers as peptone source for bacterial growth', *J. Appl. Microbiol.*, vol. 111, no. 4, pp. 826–834, 2011.
- [7] I. O. Oladele, J. L. Olajide, O. O. Daramola, and K. B. Siaw, 'Re-Evaluation of Bovine Fiber Biomass as Exploitable Keratinous Bio-Resource for Biomedical and Industrial Applications', *J. Miner. Mater. Charact. Eng.*, vol. 05, no. 01, pp. 1–17, 2017.
- [8] M. Zoccola, A. Aluigi, and C. Tonin, 'Characterisation of keratin biomass from butchery and wool industry wastes', *J. Mol. Struct.*, vol. 938, no. 1–3, pp. 35–40, 2009.
- [9] A. Shavandi, A. E. D. A. Bekhit, A. Carne, and A. Bekhit, 'Evaluation of keratin extraction from wool by chemical methods for bio-polymer application', *J. Bioact. Compat. Polym.*, vol. 32, no. 2, pp. 163–177, 2017.
- [10] G. Sanchez-Olivares, A. Sanchez-Solis, F. Calderas, and J. Alongi, 'Keratin fibres derived from tannery industry wastes for flame retarded PLA composites', *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 140, pp. 42–54, 2017.
- [11] D. O. S. Ramirez, R. A. Carletto, C. Tonetti, F. T. Giachet, A. Varesano, and C. Vineis, 'Wool keratin film plasticized by citric acid for food packaging', *Food Packag. Shelf Life*, vol. 12, no. December 2016, pp. 100–106, 2017.
- [12] N. Ramakrishnan, S. Sharma, A. Gupta, and B. Y. Alashwal, 'Keratin based bioplastic film from chicken feathers and its characterization', *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 111, pp. 352–358, 2018.
- [13] X. Mi, H. Xu, and Y. Yang, 'Submicron amino acid particles reinforced 100% keratin biomedical films with enhanced wet properties via interfacial strengthening', *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 177, no. September 2018, pp. 33–40, 2019.
- [14] T. Posati *et al.*, 'Keratin-hydroxycalcites hybrid films for drug delivery applications', *Eur. Polym. J.*, vol. 105, no. April, pp. 177–185, 2018.
- [15] B. P., 'Keratin Nanofibers as a Biomaterial', *2010 Int. Conf. Nanotechnol. Biosens.*, vol. 2, no. January 2011, pp. 120–124, 2010.

- [16] K. Nam, T. Kimura, and A. K. Å, 'Preparation and characterization of cross-linked collagen – phospholipid polymer hybrid gels', vol. 28, pp. 1–8, 2007.
- [17] K. H. Stenzel and A. L. Rubin, 'Collagen as a biomaterial1', pp. 231–254, 1974.
- [18] B. Srinivasan, R. Kumar, K. Shanmugam, U. T. Sivagnam, N. P. Reddy, and P. K. Sehgal, 'Porous Keratin Scaffold – Promising Biomaterial for Tissue Engineering and Drug Delivery', pp. 5–12, 2009.
- [19] J. M. Gillespie, 'The high-sulfur proteins of  $\alpha$ -Keratins: Their relation to fiber structure and properties', *J. Polym. Sci. Part C Polym. Symp.*, vol. 20, no. 1, pp. 201–214, 2007.
- [20] A. Gupta, R. Perumal, R. B. M. Yunus, and N. B. Kamarudin, 'Extraction of keratin protein from chicken feather', *Chemeca Eng. a Better World*, pp. 1–10, 2011.
- [21] A. Vasconcelos, G. Freddi, and A. Cavaco-Paulo, 'Biodegradable materials based on silk fibroin and keratin', *Biomacromolecules*, vol. 9, no. 4, pp. 1299–1305, 2008.
- [22] S. W. Cui, *FOOD Edited by FOOD*. 2005.
- [23] J. A. Hubbell, 'Materials as morphogenetic guides in tissue engineering', pp. 551–558, 2003.
- [24] E. Wojciechowska, A. Wl, and A. Wesel, 'Application of Fourier-transform infrared and Raman spectroscopy to study degradation of the wool fiber keratin', vol. 512, pp. 307–318, 1999.
- [25] D. R. Dreyer, S. Park, W. Bielawski, and R. S. Ruoff, 'The chemistry of graphene oxide', 2010.
- [26] V. Singh, D. Joung, L. Zhai, and S. Das, 'Progress in Materials Science Graphene based materials : Past , present and future', *Prog. Mater. Sci.*, vol. 56, no. 8, pp. 1178–1271, 2011.
- [27] K. Mikhail I, 'Graphene : carbon in Carbon is one of the most intriguing elements in the Periodic Table .', *Materialstoday*, vol. 10, no. 1, pp. 20–27, 2007.
- [28] C. Lee, 'No Title', vol. 385, no. 2008, 2010.
- [29] S. Graphene *et al.*, 'Organic Light-Emitting Diodes on', vol. 4, no. 1, pp. 43–48, 2010.
- [30] N. M. R. Peres and A. H. C. Neto, 'Electronic properties of disordered two-dimensional carbon', pp. 1–23, 2006.
- [31] S. V Morozov *et al.*, 'Giant Intrinsic Carrier Mobilities in Graphene and Its Bilayer', vol. 016602, no. January, pp. 11–14, 2008.
- [32] F. Bonaccorso, Z. Sun, T. Hasan, and A. C. Ferrari, 'Graphene photonics and optoelectronics', vol. 4, no. August, pp. 611–622, 2010.
- [33] J. Lee, D. Yoon, and H. Cheong, 'Estimation of Young ' s Modulus of Graphene by Raman Spectroscopy', 2012.
- [34] A. A. Balandin *et al.*, 'Superior Thermal Conductivity of Single-Layer Graphene 2008', 2008.

- [35] A. M. Dimiev *et al.*, ‘Terms of Use Mechanism of Graphene Oxide’, no. 3, pp. 3060–3068, 2014.
- [36] A. C. Ferrari *et al.*, ‘Science and technology roadmap for graphene, related two-dimensional crystals, and hybrid systems’, *Nanoscale*, vol. 7, no. 11, pp. 4598–4810, 2015.
- [37] F. Bonaccorso, A. Lombardo, T. Hasan, Z. Sun, L. Colombo, and A. C. Ferrari, ‘Production and processing of graphene and 2d crystals’, *Mater. Today*, vol. 15, no. 12, pp. 564–589, 2012.
- [38] O. C. Compton and S. T. Nguyen, ‘Graphene oxide, highly reduced graphene oxide, and graphene: Versatile building blocks for carbon-based materials’, *Small*, vol. 6, no. 6, pp. 711–723, 2010.
- [39] Y. Ishii, D. Yang, A. Velamakanni, S. J. An, and M. Stoller, ‘Structural Characterization of C-Labeled Graphite Oxide’, vol. 321, no. September, pp. 1815–1817, 2008.
- [40] C. Bourgenot, C. D. Saunter, J. M. Taylor, J. M. Girkin, and G. D. Love, ‘Durham Research Online Version of attached le : light sheet microscope’, vol. 44, no. July, pp. 0–17, 2014.
- [41] M. Vert, J. Mauduit, and S. Li, ‘Biodegradation of PLA / GA polymers : increasing complexity’, vol. 15, no. 15, pp. 1209–1213, 1994.
- [42] M. S. Lopes, A. L. Jardini, and R. M. Filho, ‘Poly ( lactic acid ) production for tissue engineering applications’, vol. 42, no. August, pp. 1402–1413, 2012.
- [43] D. Garlotta, ‘A Literature Review of Poly ( Lactic Acid )’, vol. 9, no. 2, 2002.
- [44] R. Auras, B. Harte, and S. Selke, ‘An Overview of Polylactides as Packaging Materials’, pp. 835–864, 2004.
- [45] J. C. Middleton and A. J. Tipton, ‘Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices’, vol. 21, 2000.
- [46] F. C. Pavia, V. La Carrubba, V. Brucato, and U. Palermo, ‘TUNING OF BIODEGRADATION RATE OF PLLA SCAFFOLDS VIA BLENDING WITH PLA’.
- [47] V. La Carrubba, F. C. Pavia, V. Brucato, and S. Piccarolo, ‘PLLA / PLA scaffolds prepared via Thermally Induced Phase Separation ( TIPS ): tuning of properties and biodegradability’, no. April, 2008.
- [48] S. P. Mccarthy, ‘Effects of Physical Aging, Crystallinity, and Orientation on the Enzymatic Degradation of Poly( Lactic acid )’, pp. 2701–2708.
- [49] H. Tsuji and K. Ikarashi, ‘In vitro hydrolysis of poly ( l -lactide ) crystalline residues as extended-chain crystallites . Part I : long-term hydrolysis in phosphate-buffered solution at 37 C’, vol. 25, pp. 5449–5455, 2004.
- [50] V. Beachley and W. Xuejun, ‘Effect of Electrospinning Parameters on the Nanofibre diameter and length’, *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.*, vol. 29, no. 3, pp. 663–668, 2011.

- [51] F. Yang, R. Murugan, S. Wang, and S. Ramakrishna, 'Electrospinning of nano / micro scale poly ( L -lactic acid ) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering', vol. 26, pp. 2603–2610, 2005.
- [52] P. W. Gibson and D. Rivin, 'Electrospun Fiber Mats : Transport Properties', vol. 45, no. 1, 1999.
- [53] A. Abdal-hay, A. Salam, K. Abdelrazek, and J. Hyun, 'Characterization of the surface biocompatibility of an electrospun nylon 6 / CaP nanofiber scaffold using osteoblasts A novel simple one-step air jet spinning approach for deposition of poly ( vinyl acetate ) / hydroxyapatite composite nano fi bers on Ti i', *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 49, no. January, pp. 681–690, 2013.
- [54] J. Zeng, L. Yang, Q. Liang, X. Zhang, and H. Guan, 'Influence of the drug compatibility with polymer solution on the release kinetics of electrospun fiber formulation', vol. 105, pp. 43–51, 2005.
- [55] M. Khil, D. Cha, H. Kim, I. Kim, and N. Bhattarai, 'as Wound Dressing', pp. 675–679, 2003.
- [56] X. Mao, T. A. Hatton, and G. C. Rutledge, 'A Review of Electrospun Carbon Fibers as Electrode Materials for Energy Storage'.
- [57] A. Alvaro *et al.*, 'Rotational dynamics of optically trapped nanofibers', vol. 18, no. 2, pp. 871–878, 2010.
- [58] C. Chen, Y. Tang, B. Vlahovic, and F. Yan, 'Electrospun Polymer Nanofibers Decorated with Noble Metal Nanoparticles for Chemical Sensing', 2017.
- [59] B. S. Jang *et al.*, 'Welded Electrochromic Conductive Polymer Nanofibers by Electrostatic Spinning \*\*', pp. 2177–2180, 2005.
- [60] N. Fibers *et al.*, 'Nanostructured Fibers via Electrospinning\*\*', no. 1, pp. 2000–2002, 2016.
- [61] O. A. Basaran and R. Suryo, 'The invisible jet', vol. 3, no. 7, 2007.
- [62] V. Mottaghitalab, 'DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF HIGHLY ORIENTED PAN NANOFIBER', no. December, 2011.
- [63] S. Rafiei, S. Maghsoodloo, B. Noroozi, V. Mottaghitalab, and A. K. Haghi, 'CELLULOSE CHEMISTRY AND TECHNOLOGY MATHEMATICAL MODELING IN ELECTROSPINNING PROCESS OF NANOFIBERS : A DETAILED REVIEW', vol. 47, pp. 323–338, 2013.
- [64] Z. Huang, Y. Zhang, M. Kotaki, and S. Ramakrishna, 'A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites', vol. 63, pp. 2223–2253, 2003.
- [65] N. H. A. Ngadiman, M. Y. Noordin, A. Idris, and D. Kurniawan, 'Effect of Electrospinning Parameters Setting Towards Fiber Diameter', vol. 845, pp. 985–988, 2014.
- [66] J. M. Deitzel, J. Kleinmeyer, D. Harris, and N. C. B. Tan, 'The effect of processing

- variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles', vol. 42, pp. 261–272, 2001.
- [67] A. L. Yarin and D. H. Reneker, 'Taylor Cone and Jetting from Liquid Droplets in Electrospinning of Nanofibers', 2001.
- [68] J. M. Deitzel, 'The Effect of Processing Variables on the Morphology of Electrospun Nanofibers and Textiles nanofibers and textiles', no. May, 2016.
- [69] Z. X. Meng, Y. S. Wang, C. Ma, W. Zheng, L. Li, and Y. F. Zheng, 'Electrospinning of PLGA/gelatin randomly-oriented and aligned nanofibers as potential scaffold in tissue engineering', *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 30, no. 8, pp. 1204–1210, 2010.
- [70] P. Katta, M. Alessandro, R. D. Ramsier, and G. G. Chase, 'Continuous electrospinning of aligned polymer nanofibers onto a wire drum collector', *Nano Lett.*, vol. 4, no. 11, pp. 2215–2218, 2004.
- [71] *et al.*, 'Abstracts from the Food Allergy and Anaphylaxis Meeting 2016', *Clin. Transl. Allergy*, vol. 7, no. S1, 2017.
- [72] N. I. Zaaba, K. L. Foo, U. Hashim, S. J. Tan, W. W. Liu, and C. H. Voon, 'Synthesis of Graphene Oxide using Modified Hummers Method: Solvent Influence', *Procedia Eng.*, vol. 184, pp. 469–477, 2017.
- [73] C. L. A. Berli, J. A. Deiber, and M. C. Añón, 'Connection between rheological parameters and colloidal interactions of a soy protein suspension', *Food Hydrocoll.*, vol. 13, no. 6, pp. 507–515, 1999.
- [74] A. Aluigi, M. Zoccola, C. Vineis, C. Tonin, F. Ferrero, and M. Canetti, 'Study on the structure and properties of wool keratin regenerated from formic acid', *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 41, no. 3, pp. 266–273, 2007.
- [75] S. Communication, 'Synergistic blends from aqueous solutions of two cellulose derivatives', vol. 890, pp. 886–890, 1999.
- [76] L. Zhang and J. Zhou, 'Synergistic viscosity characteristics of aqueous mixed solutions of hydroxypropyl- and carboxymethyl hydroxypropyl-substituted guar gums', vol. 279, pp. 34–39, 2006.
- [77] N. Bujan, R. Cox, and G. Masselink, 'From fine sand to boulders: Examining the relationship between beach-face slope and sediment size', *Mar. Geol.*, vol. 417, p. 106012, Nov. 2019.
- [78] E. Maccaferri, L. Mazzocchetti, T. Benelli, A. Zucchelli, and L. Giorgini, 'Morphology, thermal, mechanical properties and ageing of nylon 6,6/graphene nanofibers as Nano2 materials', *Compos. Part B Eng.*, vol. 166, no. November 2018, pp. 120–129, 2019.
- [79] S. Edition, *No Title.* .
- [80] J. Greener, B. Abbasi, and E. Kumacheva, 'Attenuated total reflection Fourier transform infrared spectroscopy for on-chip monitoring of solute concentrations †', pp. 1561–1566, 2010.

- [81] H. N. Southworth, 'Scanning Electron Microscopy and Microanalysis', *Physicochem. Methods Miner. Anal.*, pp. 421–450, 1975.
- [82] P. Meredith, A. M. Donald, and B. Thiel, 'Electron-gas interactions in the environmental scanning electron microscope gaseous detector', *Scanning*, vol. 18, no. 7, pp. 467–473, 1996.
- [83] S. R. Sandler, W. Karo, J.-A. Bonesteel, and E. M. Pearce, 'Thermogravimetric analysis', *Polym. Synth. Charact.*, vol. 1, no. 906, pp. 108–119, 2007.
- [84] T. Zhang, J. Jin, S. Yang, D. Hu, G. Li, and J. Jiang, 'Synthesis and characterization of fluorinated PBO with high thermal stability and low dielectric constant', *J. Macromol. Sci. Part B Phys.*, vol. 48, no. 6, pp. 1114–1124, 2009.
- [85] A. C. U, 'Heat capacity of hydrogen-bonded networks : an alternative view of protein folding thermodynamics', *Biophys. Chem.*, pp. 25–39, 2000.
- [86] A. Cooper, C. M. Johnson, J. H. Lakey, and M. Nollmann, 'Alan Cooper', *Biophys. Chem.*, pp. 215–230, 2001.
- [87] G. William and S. Blair, 'George William Scott Blair – the pioneer of fractional calculus in rheology 1', no. 1, pp. 1–22.
- [88] 'CAPITOLO 6 PRINCIPALI PROPRIETA ' MECCANICHE DEI POLIMERI E loro metodi di misura le prove'.

## APPENDICE

### TECNICHE DI CARATTERIZZAZIONE

#### 1) Spettrofotometria infrarossa:

La spettroscopia infrarossa (spettroscopia IR) è una tecnica analitica che sull'interazione della radiazione elettromagnetica infrarossa e la materia. Nello specifico, la radiazione infrarossa è compresa nella zona dello spettro elettromagnetico che si trova tra le regioni del visibile e delle microonde (Figura 71).

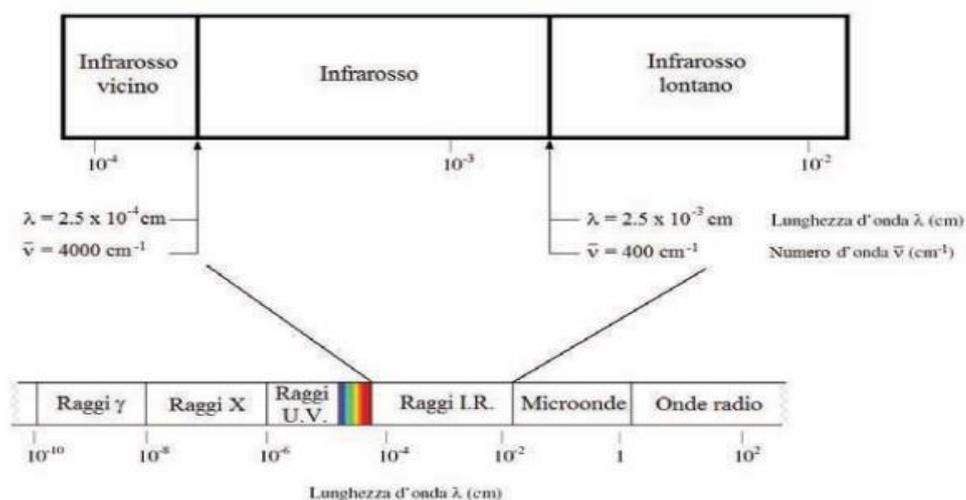


Figura 71--Regione della radiazione infrarossa nella spettro elettromagnetico

La spettroscopia infrarossa copre una serie di tecniche principalmente basate sulla spettroscopia di assorbimento. Difatti, quando una radiazione infrarossa viene assorbita da una molecola, l'energia ceduta dalla radiazione viene convertita in energia rotazionale e vibrazionale e la molecola passa dal suo stato fondamentale ad uno stato eccitato, cui compete maggiore energia. Come per tutte le tecniche spettroscopiche, essa è utilizzata per identificare e studiare sostanze chimiche. Non sempre e non in tutte le molecole si verifica l'eccitazione dei livelli vibrazionali, ma ciò accade solo se la frequenza della radiazione ha un valore ben preciso che dipende dalle caratteristiche chimiche della molecola. Difatti, i vari gruppi funzionali assorbono a frequenze ben precise e ciò rappresenta il segnale analitico.

Le vibrazioni che si possono verificare, sono di due tipi: stiramento del legame chimico (*stretching*) e deformazione dell'angolo di legame (*bending*) come rappresentato in figura 72. Lo *stretching* consiste in una variazione periodica della distanza interatomica e può essere *simmetrico* se i due atomi si avvicinano o allontanano contemporaneamente o *asimmetrico* nel caso contrario. Il *bending* può anch'esso essere simmetrico o asimmetrico e può avvenire lungo il piano su cui giace l'angolo di legame o fuori da tale piano. Il *bending* simmetrico nel piano è definito *scissoring* (apertura e chiusura di una forbice), mentre il

bending asimmetrico è definito *rocking* (oscillazione); il bending asimmetrico fuori dal piano è definito *twisting* (torsione) mentre il bending simmetrico fuori dal piano è definito *wagging* (agitamento).

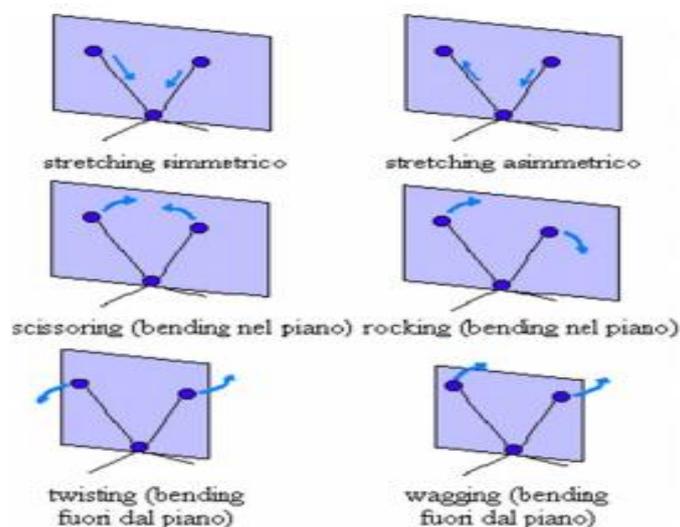


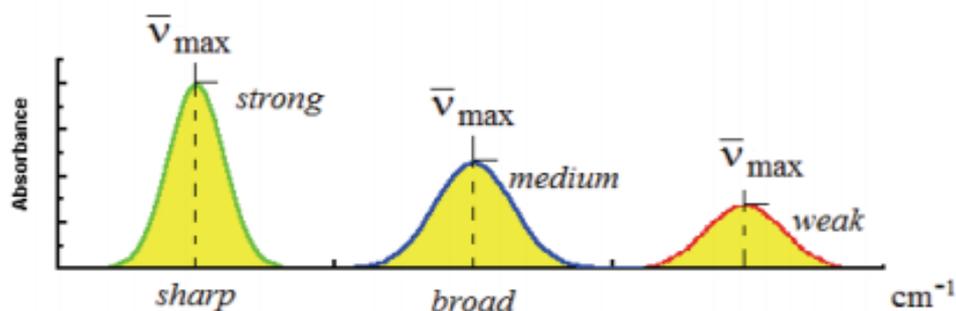
Figura 72- Possibili vibrazioni molecolari

In un tipico spettro IR di assorbimento in ascissa vengono rappresentate le frequenze espresse in numero d'onda, ovvero quantità di onde per centimetro e in ordinata l'assorbanza (percentuale di radiazione assorbita) o la trasmittanza (percentuale di radiazione trasmessa) espresse in percentuale. Un classico spettro IR di assorbimento è generalmente caratterizzato da due “tipi” di segnali:

- 1) Segnali relativi ai gruppi funzionali: segnali caratteristici di particolari gruppi funzionali. I picchi che caratterizzano i differenti gruppi funzionali risultano essere collocati, quasi sempre, alle stesse lunghezze d'onda (o numero d'onda) o in un intervallo abbastanza ristretto. Pertanto, i picchi risultanti possono essere distinti tra *acuti* e *ampi* e ciò riflette il carattere di un legame che può vibrare in un raggio di frequenze a seconda dell'ambiente chimico in cui si trova, dipendentemente dalla struttura complessiva della molecola.
- 2) Impronte digitali (finger-print): segnali propri e caratteristici di una particolare molecola nel suo complesso, pertanto, risultano di difficile interpretazione se analizzati singolarmente. Essi sono le “impronte digitali” di una particolare molecola e sono il risultato della combinazione di diversi modi vibrazionali che danno origine ad una serie di bande di assorbimento. Se il materiale analizzato è trasparente alla radiazione infrarossa, il suo spettro si presenterà come una linea parallela all'asse delle ascisse. Se, invece, il materiale analizzato non è completamente trasparente si verificheranno degli assorbimenti e quindi delle transizioni tra livelli energetici vibrazionali. In questo secondo caso lo spettro di assorbimento registrato si presenterà come una serie di bande di assorbimento, di altezza variabile per ciascuna transizione, posizionate in funzione del numero d'onda.

Dunque, i parametri caratterizzanti una banda di assorbimento sono:

- 1) posizione del picco: espressa come numero d'onda " $\bar{\nu}_{\max}$ ";
- 2) l'intensità del picco: esprime l'altezza del picco di assorbimento;
- 3) forma del picco.

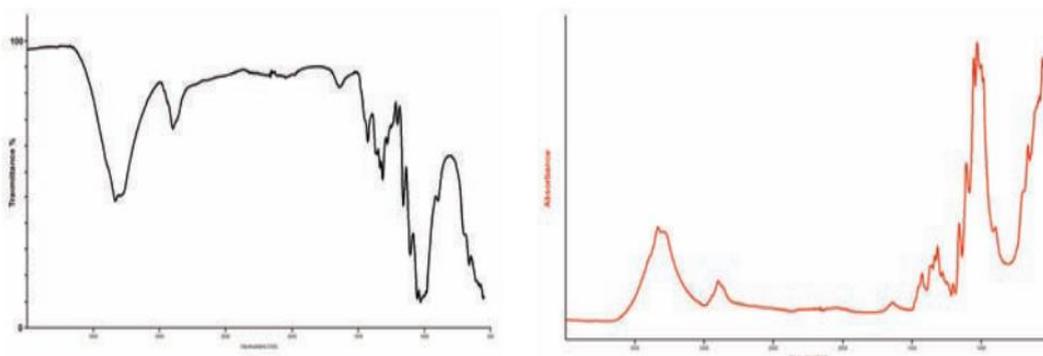


**Figura 73-Parametri caratterizzanti una banda di assorbimento**

La radiazione (I) analizzata, in uscita dal campione può essere:

- uguale alla radiazione in entrata ( $I_0$ ) interagente con il campione: non si verifica assorbimento;
- minore di  $I_0$ : si verifica assorbimento.

Come già detto precedentemente, nell'asse delle ordinate di uno spettro di assorbimento IR possiamo trovare la trasmittanza  $T$  ( $T = \frac{I}{I_0}$ ) che può assumere valori compresi tra 0 (max assorbimento) e 100% (non c'è assorbimento) oppure l'assorbanza ( $A = \log \frac{1}{T}$ ) che può variare tra  $+\infty$  (max assorbimento) e 0 (non c'è assorbimento).



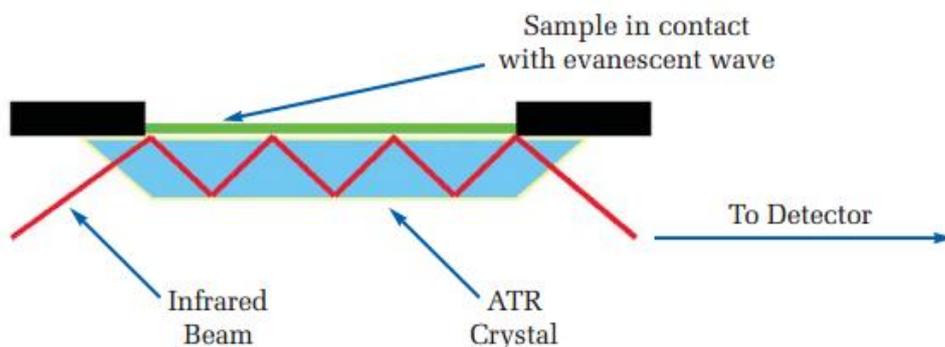
**Figura 74--Spettri FT-IR in trasmittanza (a sinistra) e in assorbanza (a destra)**

I primi strumenti erano spettrometri a dispersione (CW-IR) ed erano costituiti da una sorgente di radiazioni infrarosse, da un sistema ottico che consisteva in una serie di specchi in grado di dividere la radiazione IR, da un monocromatore che consisteva in un reticolo o prisma in grado di scomporre la radiazione nelle sue componenti spettrali ed, infine, da un detector capace di convertire la radiazione IR in un segnale elettrico inviato al sistema di elaborazione dati che permetteva l'elaborazione dello spettro finale. Negli ultimi anni, grazie allo sviluppo

informatico e dei calcolatori, è nata una nuova generazione di spettrofotometri detti a interferenza (FT-IR). Questi spettrofotometri non utilizzano un monocromatore bensì un interferometro, il quale permette la scansione di tutte le frequenze presenti nella radiazione IR generata dalla sorgente. In questo modo si ottiene un interferogramma che mostra la rappresentazione dell'intensità del segnale nel dominio del tempo. Utilizzando il calcolatore in grado di applicare la trasformata di Fourier, è possibile ottenere lo spettro di assorbimento IR, ovvero la rappresentazione dell'intensità nel dominio della frequenza. Tra i principali vantaggi della FT-IR rispetto a quella a dispersione, vi è la garanzia di prestazioni più elevate nonostante ci sia una riduzione dei tempi di analisi e un miglior rapporto segnale-rumore.

Oltre alla classica spettroscopia infrarossa in trasmissione, esiste una tecnica che si basa sul principio della riflettanza attenuata totale (ATR). Questa tecnica sfrutta le proprietà della onda evanescente nella riflessione totale.

In questa tecnica il campione viene collocato a stretto contatto con un elemento ottico definito elemento di riflessione interna che consiste in un cristallo (ZnSe o Ge) ad elevato indice di rifrazione e trasparente alla radiazione IR[79]. Per via dell'elevato indice di rifrazione del cristallo, e creando le condizioni tali per cui l'angolo di incidenza è maggiore dell'angolo critico, la radiazione IR prodotta dalla sorgente, prima di giungere al campione, viene dapprima riflessa all'interno del cristallo. Durante questo fenomeno, noto come riflessione interna totale, la radiazione IR, interagisce con il campione, posto al di sopra del cristallo, penetrandolo per qualche frazione di micron e venendone in parte assorbita (o attenuata). Dopo alcune riflessioni la radiazione IR, che subirà una attenuazione, verrà rilevata dal rivelatore all'uscita del cristallo e il segnale elaborato, dando uno spettro FT-IR in riflettanza totale attenuata (ATR). La limitata lunghezza del cammino ottico (penetrazione) nel campione risulta essere un vantaggio perchè elimina il problema della forte attenuazione del segnale infrarosso in mezzi molto assorbenti. Tuttavia, il valore esatto di penetrazione, che tipicamente è compreso tra 0.5 e 2  $\mu\text{m}$ , può essere modificato poichè dipende dalla lunghezza d'onda impiegata, dall'angolo di incidenza, dall'indice di rifrazione del cristallo ATR e del campione da studiare[80]. Inoltre, è anche possibile variare il numero di riflessione variando l'angolo di incidenza. Ciò risulta importante perché il rapporto segnale rumore, che deve essere mantenuto il più alto possibile, dipende sia dal numero di riflessioni che dalla dimensione del cammino ottico (maggiore cammino riduce l'intensità)



**Figura 75-- Strumentazione in Riflettanza Totale Attenuata (ATR)**

La spettrometria di assorbimento IR in riflettanza totale attenuata è molto usata per analizzare le superfici dei materiali e per la loro caratterizzazione. Risulta particolarmente utile sia per materiali solidi o film spessi (es. carta, pergamena, legno, materiali polimerici, ecc..) sia perché non è necessaria nessuna preparazione del campione, sia perché risulta essere una tecnica non distruttiva e, pertanto, può essere sfruttata in tutti quei casi che richiedono che il campione resti integro. Nel caso in cui si analizzano campioni liquidi, è necessario versare una piccola aliquota sulla superficie del cristallo ATR; nel caso in cui si analizzano campioni solidi, è necessario che questi ultimi siano pressati contro la superficie del cristallo al fine di evitare che rimanga dell'aria intrappolata che possa influenzare la misura.

## 2) Caratterizzazione morfologica:

### - **Microscopia elettronica a scansione (SEM)**

La Microscopia Elettronica a Scansione (SEM) sfrutta un fascio di elettroni che colpisce il campione e non i fotoni della luce come la microscopia ottica. Grazie alla lunghezza d'onda degli elettroni, di gran lunga inferiore rispetto a quella dei fotoni, il potere di risoluzione di un microscopio elettronico a scansione è nettamente superiore rispetto a quella di un microscopio ottico e si possono ottenere immagini con risoluzione molto più alta e dettagli dalle dimensioni anche inferiori al nanometro. Pertanto, la microscopia elettronica a scansione, si rende adatta a studiare la superficie della materia con ingrandimenti superiori a 10000 volte. Inoltre, anche la profondità di campo di un microscopio elettronico a scansione è molto più elevata consentendo la registrazione di immagini nitide anche per campioni con elevato spessore.

La struttura di un classico microscopio elettronico a scansione è illustrata in Figura 76 ed è costituita principalmente da quattro componenti:

- 1) *sorgente di elettroni (o cannone di elettroni)*, costituita da un filo metallico portato ad elevata temperatura che emette elettroni per effetto termoionico, i quali verranno accelerati in una data direzione per mezzo di una differenza di potenziale.
- 2) *Colonna dove viaggiano gli elettroni emessi*, costituita da un sistema di lenti elettromagnetiche che ha il compito di focalizzare gli elettroni verso il campione, evitando che si disperdano in diverse direzioni.
- 3) *Una camera sottovuoto* ( $10^{-4}$  mmHg), dove viene posto il campione e vengono poste delle lenti collimatrici che assicurano la convergenza sullo stesso, mentre un sistema di deflettori elettrostatici costituito da quattro bobine di scansione fa scorrere il fascio su tutta la superficie del campione. Prima dell'avvio alla fase di scansione elettronica, sono create le condizioni di vuoto spinto, tramite l'utilizzo di pompe da vuoto, per minimizzare le interazioni tra gli elettroni e le molecole d'aria. Se non si creassero le condizioni di vuoto, l'interazione degli elettroni e le molecole di aria fa sì che il fascio di elettroni devii compromettendo la qualità dell'immagine.

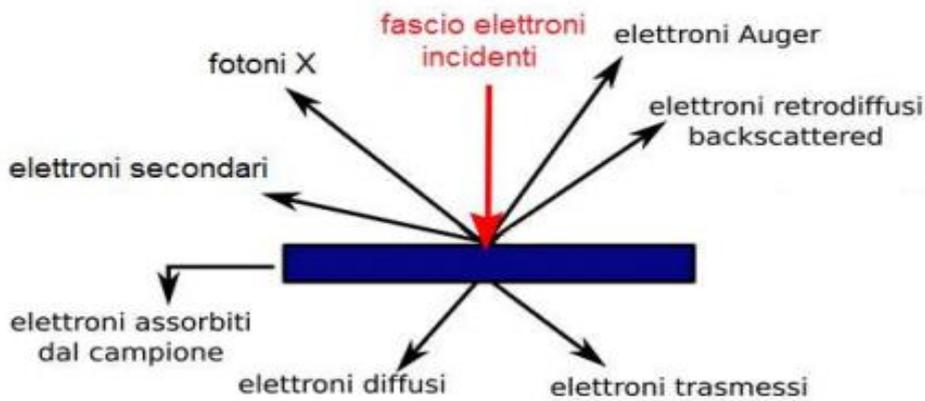
- 4) *un rivelatore del segnale* che consente l'acquisizione delle immagini grazie ai seguenti passaggi: il fascio di elettroni primario investe il campione, posto su un supporto mobile, per poi colpire una serie di lenti che lo proiettano su uno schermo fluorescente che converte il segnale elettronico in luce visibile ed in seguito su un secondo schermo, generando, così, l'immagine finale del campione all'ingrandimento desiderato che è osservabile su uno schermo digitale[81].



**Figura 76- Strumentazione e schema di funzionamento di un microscopio SEM**

Poiché l'elettrone risulta essere molto più piccolo degli atomi costituenti il campione, l'interazione del fascio di elettroni non riguarderà solo la superficie del campione ma anche gli strati sottostanti. Pertanto, gli elettroni rilevati dai sensori possono provenire da profondità diverse del volume di interazione e di conseguenza riportare informazioni differenti in merito alla topologia superficiale, alla composizione e alle proprietà elettroniche del materiale. Nello specifico, l'interazione del fascio di elettroni con il campione induce i seguenti fenomeni:

- emissione di *elettroni secondari*, emessi dal campione in seguito alle interazioni inelastiche con il fascio di elettroni (primari). Interessano un volume di interazione ridotto;
- emissione di *elettroni retrodiffusi*, appartengono al fascio primario e subiscono scattering elastico in seguito all'interazione con il campione, subendo deflessione all'indietro;
- emissione di *elettroni Auger*, provengono dalle zone più superficiali (1-5 nm di profondità) e sono rilasciati per effetto Auger;
- emissione di *raggi X caratteristici*, emergono dalla regione più profonda del volume d'interazione (alcuni micron);
- emissione di *radiazione UV-visibile*;



**Figura 77- Fenomeni che si verificano alla superficie del campione in seguito all'applicazione di un fascio elettronico incidente**

Ognuna di queste radiazioni emesse può essere rilevata utilizzando adeguati rivelatori, ed utilizzata per ricavare informazioni su alcune qualità specifiche del campione.

Tuttavia, nei microscopi elettronici a scansione convenzionali, l'osservazione del campione avviene tramite l'elaborazione del segnale fornito dagli elettroni secondari diffratti dal campione perché, questi ultimi, provengono da strati molto superficiali e sono quindi utili per ottenere informazioni legate alla topografia ed alla morfologia del campione[82]. Essi permettono di rilevare anche i più piccoli dettagli con risoluzione fino a 5 nm[81].

Tuttavia, in molti microscopi elettronici a scansione vengono rivelati anche i fotoni X, che vengono generati dall'interazione elettrone-materia e permettono l'analisi elementare del campione. I raggi X caratteristici hanno un'energia specifica e rappresentano l'impronta digitale degli elementi chimici. Dallo spettro di energie dei raggi X che provengono dal campione incognito, è possibile effettuare una analisi qualitativa del campione. Anche grazie all'analisi degli elettroni retrodiffusi è possibile estrapolare informazioni di tipo composizionale del campione perché il fenomeno del backscattering, a cui sono soggetti gli elettroni retrodiffusi, dipende principalmente dal numero atomico e dalla densità del materiale che si vuole analizzare.

La microscopia elettronica a scansione, necessita di una fase preparativa del campione, prima che questo venga inserito nello strumento, in quanto quest'ultimo è un composto di natura organica ed è un materiale isolante. La fase preparatoria del campione infatti, differisce a seconda che il campione sia conduttore, semiconduttore e/o isolante.

La fase preparatoria consiste nella creazione di un sottile strato di materiale conduttore (Au, in quanto non si ossida ed ha minore granulosità) mediante Auto Sputter Coater, utilizzando un particolare nastro adesivo ricoperto di grafite. La superficie del campione viene infine ricoperta di un sottile strato di oro (metallizzazione del campione) al fine di:

- (i) aumentare la conducibilità del campione,
- (ii) fornirgli una maggiore resistenza al calore ed evitare quindi la sua combustione,
- (iii) aumentare la quantità di elettroni secondari così da utilizzare correnti meno elevate e fornire una maggiore risoluzione.

Bisogna creare un rivestimento adeguato e non troppo spesso, al fine di non mascherare i dettagli della superficie.

### 3) Caratterizzazione termica

Si definiscono ANALISI TERMICHE un gruppo di tecniche nelle quali una proprietà fisica di una sostanza viene misurata in funzione della temperatura mentre la sostanza è sottoposta ad un trattamento a temperatura programmata.

#### - Termogravimetria (TGA)

L'analisi termogravimetrica (TGA) è un metodo di analisi termica in cui la massa di un campione viene misurata nel tempo al variare della temperatura in atmosfera controllata (N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>). Essa risulta particolarmente utile per lo studio di materiali polimerici (materiali termoplastici, termoindurenti, elastomeri, compositi, film plastici, fibre, vernici e carburanti) e fornisce informazioni sui fenomeni fisici, quali transizioni di fase, assorbimento, adsorbimento e desorbimento; nonché fenomeni chimici tra cui, decomposizione termica e reazioni chimiche (ad es. ossidazione o riduzione), che modificano la natura del composto attraverso la scissione dei legami chimici, portando generalmente, alla formazione di prodotti volatili[83]. La TGA è particolarmente utilizzata per valutare:

- 1) Il tipo di componenti ed il meccanismo di degradazione dei materiali;
- 2) La stabilità termica dei materiali sia durante il processo di lavorazione sia durante il tempo di utilizzo;
- 3) La presenza e quantità di additivi e/o di composti a basso peso molecolare (vengono desorbiti intorno alla loro temperatura di ebollizione);
- 4) La presenza e quantità di composti inorganici (definita “carica inorganica”);
- 5) Determinazione del contenuto di umidità.

Tale tecnica fornisce informazioni sulla stabilità relativa dei materiali e del loro comportamento complessivo nel processo di degradazione a prodotti volatili. Pertanto, si rende utile nel determinare l'intervallo di temperatura in cui il materiale in esame non subisce degradazione termica. Nell'intervallo di temperatura desiderato, se una specie è termicamente stabile, non si verificherà alcun cambiamento di massa[84]

La tecnica fornisce informazioni riguardo ad aspetti fisici e chimici che sono di seguito elencati nella tabella 3:

<b>Fenomeni fisici</b>	<b>Fenomeni chimici</b>
Transizione cristallina	Chemisorbimento
Transizione di secondo ordine	Desolvatazione
Fusione	Decomposizione
Vaporizzazione	Degradazione ossidativa
Adsorbimento	Reazione allo stato solido
Absorbimento	Reazione gas-solido

### Tabella 7-Fenomeni fisici e chimici studiati in TGA[83]

La termogravimetria può fornire informazioni su tutti i fenomeni sopra elencati, ad eccezione delle transizioni cristalline, fusioni e quelle reazioni allo stato solido che si verificano senza essere accompagnate da una variazioni di peso.

Un tipico analizzatore termogravimetrico è costituito da:

- Bilancia di precisione con un piatto di campionamento;
- Forno con un controllo della temperatura programmabile in funzione del tempo;
- Sistema di gas di spurgo che assicura un'atmosfera inerte o reattiva;
- Elaboratore per il controllo dello strumento, l'acquisizione e la visualizzazione dei dati;

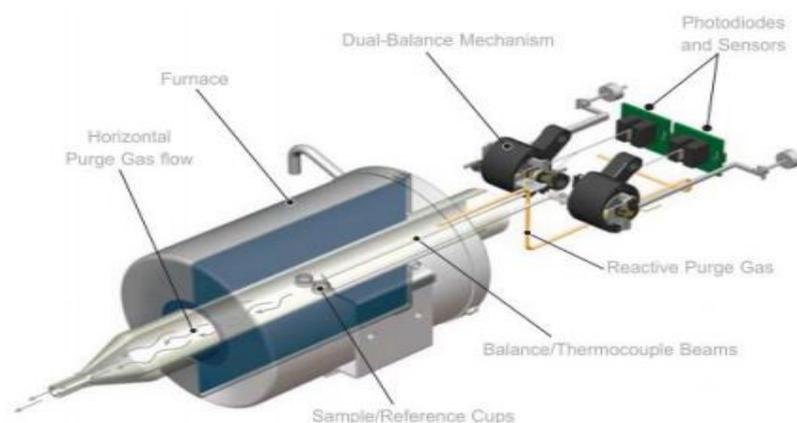


Figura 78- Rappresentazione schematica di una termobilancia TGA

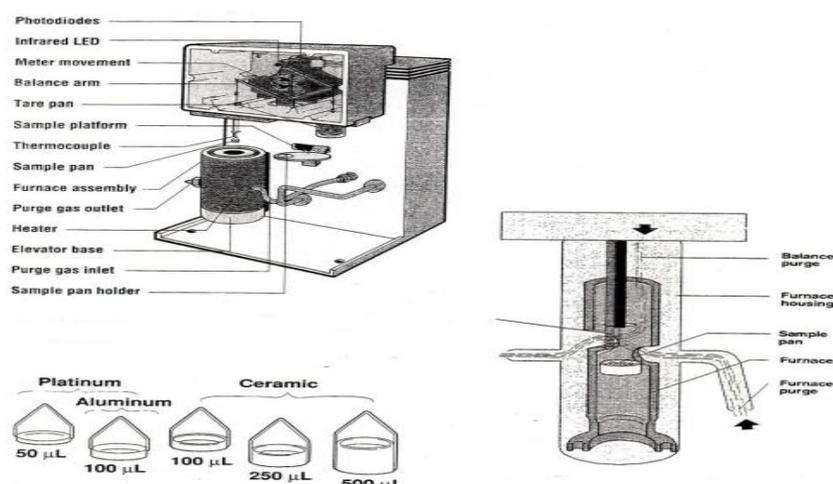


Figura 79- Strumentazione per TGA

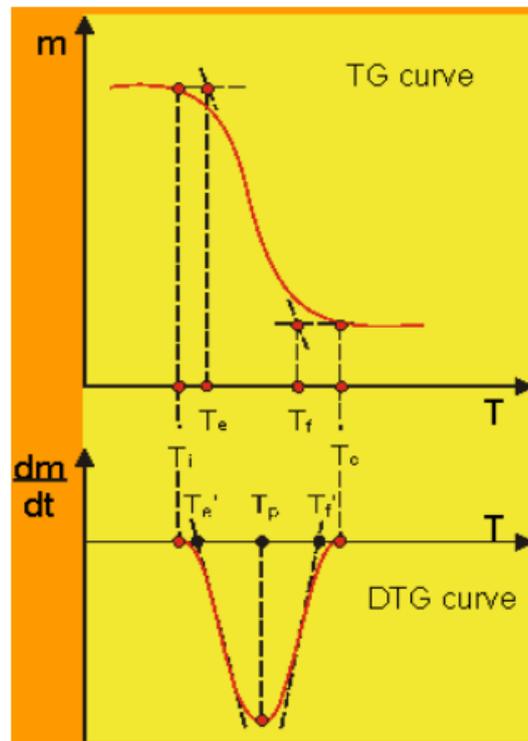
L'analisi termogravimetrica viene effettuata quando il campione polimerico viene posto (2-10 mg) su un supporto (platino) all'interno del forno termostato nel quale viene fatto fluire

del gas di trasporto (aria o azoto). La temperatura del forno viene aumentata a velocità costante (spesso 20°C al minuto) misurando istante per istante il peso del campione. Con i dati raccolti durante l'analisi si costruisce un grafico della massa o percentuale della massa iniziale sull'asse y rispetto alla temperatura o al tempo sull'asse x. Questo diagramma, viene definito curva termogravimetrica. La derivata prima della curva termogravimetrica, definita curva DTG può essere tracciata per determinare i punti di flesso utili per interpretazioni approfondite e più accurate.

A partire da un termogramma è possibile ricavare i seguenti indici sperimentali:

- Temperatura di inizio decomposizione ( $T_{onset}$ ): temperatura in corrispondenza della quale inizia il processo di degradazione. Graficamente è rappresentato dal punto di inclinazione della curva termogravimetrica;
- Temperatura di massima velocità di perdita ( $T_{max}$ ): temperatura alla quale si rileva la massima velocità di perdita di peso.

Un esempio di curva termogravimetrica è raffigurata in figura 30:



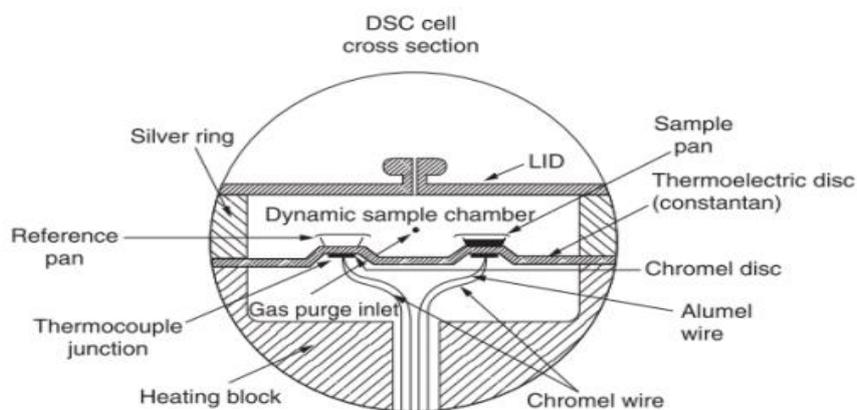
**Figura 80- Tipico andamento di una curva termogravimetrica in cui sono raffigurati i parametri ricavabili sperimentalmente**

### - **Calorimetria a scansione differenziale (DSC)**

La calorimetria a scansione differenziale o DSC (differential scanning calorimetry) è una tra le tecniche di caratterizzazione termiche più utilizzate per misurare la temperatura e il flusso di calore associato alle transizioni che avvengono in un campione, le entalpie di fusione, le transizioni vetrose e le cinetiche di cristallizzazione di materiali polimerici, metallici e ceramici. Essa misura il modo in cui le proprietà fisiche e termodinamiche di un materiale

variano con la variazione della temperatura nel tempo. In un esperimento DSC, l'energia viene introdotta simultaneamente in una cella campione contenente il campione e una cella di riferimento, generalmente vuota. Le temperature di entrambe le celle vengono variate in modo identico nel tempo. La differenza di energia in ingresso richiesta per mantenere uguale la temperatura del campione a quella del riferimento equivale alla quantità di calore in eccesso assorbito o rilasciato dal campione stesso (rispettivamente durante un processo endotermico o esotermico)[85][86].

La strumentazione, pertanto, è costituita da due piatti dedicati all'alloggiamento di due crogioli, l'uno contenente il campione, l'altro il riferimento che servirà per la misura differenziale, generalmente costituito da una capsula vuota. I due crogioli sono identici e sono scelti in modo tale da resistere alle temperature di prova senza interagire con il campione in esame.



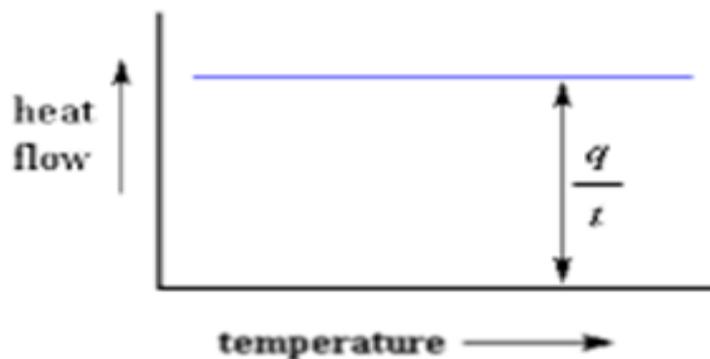
**Figura 81- Rappresentazione schematica di una cella DSC**



**Figura 82- Interno di un calorimetro differenziale a scansione**

La fornace con all'interno i due alloggiamenti, viene chiusa in maniera ermetica così da isolare l'ambiente in cui sono presenti il campione ed il riferimento dall'ambiente esterno. Una volta inserita la programmata in temperatura (solitamente una rampa lineare di temperatura), l'interno della fornace è mantenuta in atmosfera inerte con un flusso continuo ed uniforme di

azoto o di argon. Il flusso di calore viene regolato e controllato tramite un computer che garantisce una distribuzione del calore omogenea tra il campione in esame e quello di riferimento cosicché il calore sviluppato all'interno della fornace riscalda sia il campione che il riferimento in egual modo. Quando avvengono delle transizioni nel materiale, il crogiolo contenente il campione sperimenta una temperatura diversa rispetto al riferimento (una reazione esotermica innalza la temperatura del campione mentre una reazione endotermica raffredda il campione) e viene immediatamente fornita energia all'interno della fornace, in modo da riportare il campione e il riferimento alla medesima temperatura. La quantità di energia fornita per ristabilire l'equilibrio termico rappresenta una misura diretta dell'energia termica assorbita o sviluppata nella transizione. Durante tutto l'arco dell'esperimento un sistema di termocoppie misura la differenza tra i flussi di calore del campione, quindi raccoglie i dati di temperatura e li invia ad un elaboratore che mediante un apposito software li elabora per generare l'output per l'utente. Tramite lo stesso software che regola le temperature, è possibile anche effettuare l'elaborazione dei dati e una volta terminata la prova il sistema di raffreddamento permette all'operatore di aprire la macchina e rimuovere i crogioli. Il diagramma in uscita, definito termogramma, riporta il flusso di calore,  $\Delta Q$ , in funzione della temperatura, T.



**Figura 83- Termogramma ricavabile in DSC in cui è mostrata la linea di base**

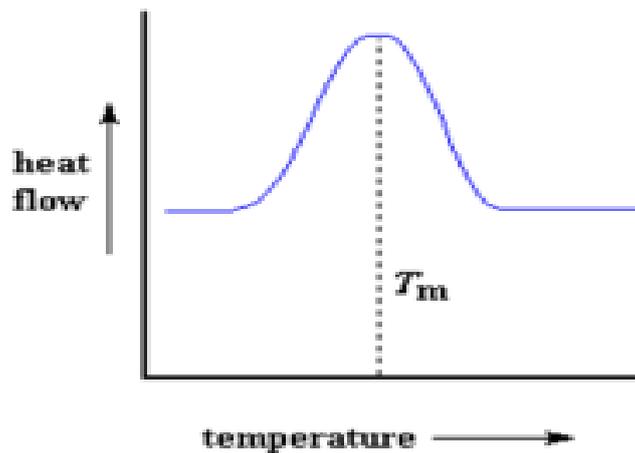
Con questo tipo di analisi si possono misurare le seguenti grandezze:

- Temperatura di fusione (endotermica);
- Temperatura di transizione vetrosa (endotermica);
- Temperatura di induzione dell'ossidazione;
- Temperatura di induzione della reticolazione;
- Temperatura di cristallizzazione;
- Temperatura di una transizione polimorfica;
- Temperatura di una transizione liquido cristallina;
- Temperatura di denaturazione delle proteine;
- Temperatura di transizione solido-solido;

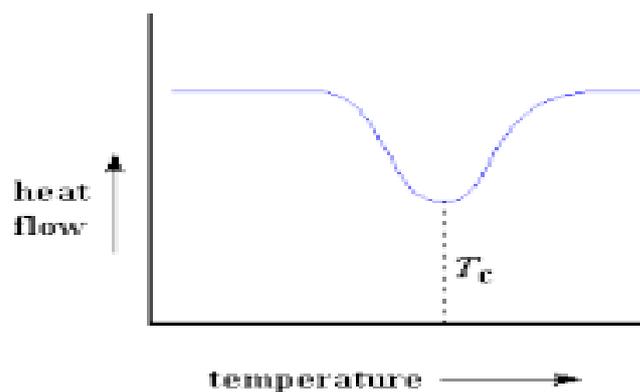
Più in dettaglio, le transizioni di primo ordine, cioè transizioni termiche che coinvolgono sia il calore latente sia un cambiamento di calore specifico, come la fusione e la cristallizzazione, si manifestano con dei picchi rispettivamente endotermici ed esotermici. Le transizioni di

secondo ordine, cioè transizioni termiche che coinvolgono solo un cambiamento di calore specifico, invece, provocano una variazione endotermica “a scalino” della linea di base.

Per convenzione si può registrare il termogramma in “endo-up” o in “endo-down”: nel caso si operi in endo-up, i fenomeni endotermici verranno registrati sul termogramma con una variazione della linea di base rivolta verso l’alto (che corrisponde all’aumento del flusso di calore), mentre i fenomeni esotermici verranno registrati sul termogramma con una variazione della linea di base rivolta verso il basso.



**Figura 84- Termogramma in cui è mostrata la fusione di un materiale (fenomeno esotermico). Il picco è rivolto verso l’alto (endo-down) perché vi è aumento del flusso di calore in quanto l’agitazione molecolare, indotta dalla temperatura è tale da vincere le forze di coesione nei cristalli che si fondono assorbendo calore.**



**Figura 85- Termogramma in cui è mostrata la cristallizzazione di un materiale (fenomeno endotermico). Il picco è rivolto verso il basso (endo-down) perché vi è una diminuzione del flusso di calore in quanto il composto, cristallizzando, cede calore.**

In entrambi i termogrammi mostrati in figura 84 e 85, l’area dei picchi corrisponde alla quantità di calore assorbita o ceduta dal materiale nell’intervallo considerato.

In DSC è possibile osservare anche la temperatura di transizione vetrosa ( $T_g$ ) di un polimero. Essa rappresenta il valore di temperatura al di sotto del quale un materiale amorfo si comporta da solido vetroso. Dopo una certa temperatura, otteniamo un maggiore flusso di calore ed anche un aumento del calore specifico del polimero e ciò si manifesta come una variazione endotermica della linea di base. Il valore della temperatura di transizione vetrosa è determinato in corrispondenza della metà della variazione di calore specifico associata alla transizione.

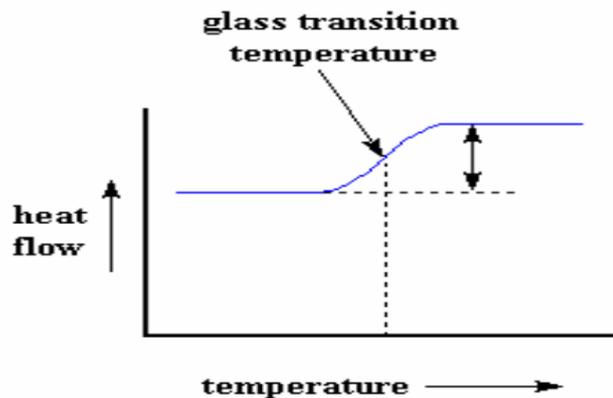


Figura 86- Termogramma in cui è mostrata la temperatura di transizione vetrosa di un materiale

Una variazione del grafico di questo tipo, come mostrato in figura 86, è dovuta alla variazione del calore specifico a pressione costante ( $C_p$ ) del polimero poiché essi sono caratterizzati dal possedere un  $C_p$  maggiore al di sopra della temperatura di transizione vetrosa ( $T_g$ ).

Un esempio di curve DSC è riportato in Figura 87:

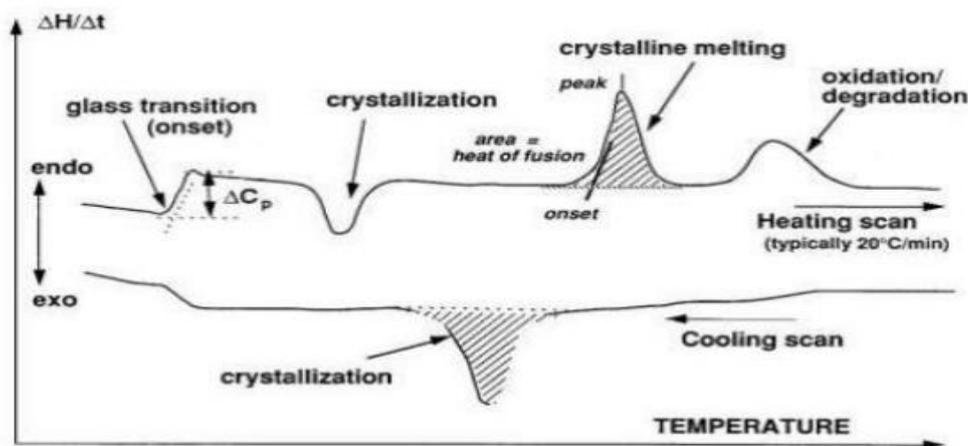


Figura 87- Andamento di un tipico termogramma ricavabile in DSC

#### 4) Caratterizzazione reologica

La reologia nella sua definizione più rigorosa nasce agli inizi del ventesimo secolo, quando fu dato il nome alla scienza antica che si era occupata nel corso dei secoli di studiare la deformazione ed il flusso della materia. Essa è definita come “*la disciplina che studia lo scorrimento e la deformazione dei materiali in seguito all’azione di una forza ed in relazione all’intensità della forza, la durata di applicazione della forza e la velocità di applicazione della forza*”, descrivendo il comportamento meccanico di materiali che non obbedivano alle classiche leggi della viscosità e dell’elasticità introdotte da Newton e Hooke nel diciottesimo secolo. Il termine reologia è ispirato dall’*apofrasi* di Simplicio *panta rei* che significa “tutto scorre”. La reologia è una scienza relativamente giovane che si è sviluppata in tempi brevi e si è rapidamente diffusa a livello mondiale, trovando impiego principalmente nei settori industriali grazie ad un’ampia varietà di materiali. La reologia applicata ai sistemi liquidi o semisolidi studia essenzialmente il flusso, mentre quella applicata ai sistemi solidi (ed a semisolidi molto consistenti) si occupa della deformazione.

I materiali polimerici possono essere classificati come liquidi, viscoelastici o solidi in relazione al loro comportamento in risposta a stimoli meccanici. Nello specifico, la maggior parte dei materiali reali è di tipo viscoelastico, ma essi vengono percepiti come liquidi puri o solidi puri perché il loro comportamento è dipendente dalla scala temporale di osservazione. Ciò significa che molti materiali che appaiono come solidi si comporterebbero come fluidi se osservati sufficientemente a lungo e materiali che appaiono solidi si comporterebbero come fluidi se osservati in tempi sufficientemente brevi.

Pertanto, in reologia, il concetto di tempo di osservazione è un parametro molto importante ed è definito dal cosiddetto numero di Deborah ( $De$ ):

$$De = \frac{\tau}{t}$$

Equazione 12

Dove:

- $T$  = tempo di osservazione (o tempo di misura);
- $\tau$  = tempo di rilassamento (o tempo di risposta).

Il tempo di rilassamento,  $\tau$ , può essere definito in molti modi, tuttavia, il modo più semplice ed intuitivo consiste nel considerarlo come il tempo necessario ai legami delle molecole costituenti il materiale di rispondere ad uno stimolo esterno.

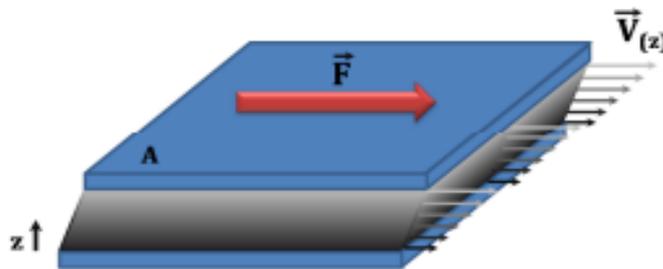
Pertanto, come conseguenza del numero di Deborah, è possibile classificare i materiali in tre categorie:

- **$De \gg 1$  ( $\tau \gg t$ ):** i materiali di questo tipo rispondono molto lentamente e, di conseguenza, verranno percepiti come solidi. Essi sono definiti materiali **solid-like**;
- **$De \ll 1$  ( $\tau \ll t$ ):** i materiali di questo tipo rispondono istantaneamente, di conseguenza, verranno percepiti come liquidi. Essi sono definiti materiali **liquid-like**;

- **De = t ( $\tau=t$ ):** i materiali di questo tipo risultano avere un comportamento intermedio, di conseguenza, verranno percepiti come liquidi o solidi a seconda della natura e dal tempo dello stimolo . Essi sono definiti materiali **liquid-like**

Inoltre, nello studio del flusso dei materiali esiste un altro fenomeno anomalo. Esso è la variazione di viscosità in relazione al tempo in cui lo stimolo è applicato. Tuttavia la trattazione di tali fenomeni esula dallo scopo di questa tesi.

Un fluido viscoso è tale se durante il suo processo deformativo l'energia meccanica applicata è tutta, o in parte, dissipata sotto forma di calore. La grandezza fondamentale caratterizzante il comportamento viscoso è la viscosità, definita come la resistenza allo scorrimento che incontra il materiale sotto l'azione di un determinato sforzo[87]. Il **flusso**, parametro fondamentale in reologia, rappresenta il moto laminare di un materiale in cui gli elementi adiacenti, che lo costituiscono, si muovono in maniera relativa gli uni agli altri. Se tali elementi si muovono uno dietro l'altro o uno sull'altro, si parla di flusso di taglio (shear flow).



**Figura 88-Flusso tra piani paralleli**

Per lo studio dei materiali liquidi e semi-solidi si applica uno shear stress e si misura una shear rate (sforzo di taglio). Nei liquidi viscosi si osserva uno scorrimento in seguito all'applicazione di uno sforzo di taglio.

Il concetto di flusso viscoso e viscosità sono legati dalla legge di Newton:

$$\eta = \frac{\tau}{\gamma}$$

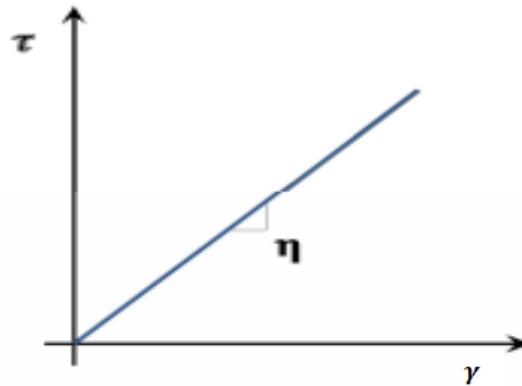
**Equazione 13**

dove:

- $\tau$  = sforzo di scorrimento (shear stress);
- $\gamma$  = gradiente velocità di scorrimento (shear rate);
- $\eta$  = viscosità.

La costante di proporzionalità tra lo shear stress e la shear rate è definita viscosità,  $\eta$ , ed è in relazione con la resistenza di un materiale allo scorrimento. L'applicazione di uno sforzo di taglio crescente e la contemporanea misura della shear rate viene definita curva di flusso.

Se nella curva di flusso,  $\eta$  è costante, il fluido è detto newtoniano e la viscosità varia solamente al variare della temperatura. Pertanto, il diagramma dello sforzo di taglio applicato in funzione del gradiente di velocità di scorrimento è rappresentato da una retta, il cui coefficiente angolare rappresenta proprio la viscosità. Questo tipo di comportamento è comune in molti liquidi puri come l'acqua o la glicerina, tuttavia è ampiamente disatteso dalla maggior parte dei sistemi colloidali, emulsioni, gel e sospensioni.



**Figura 89- Curva di flusso per un fluido newtoniano**

Se, invece, nella curva di flusso,  $\eta$  non è costante, quindi la legge di proporzionalità tra tensione e gradiente non è rispettata, il fluido è definito genericamente non-newtoniano. In questo tipo di materiali la viscosità non dipende solamente dalla temperatura, ma è anche una funzione della velocità di scorrimento. Bisogna aggiungere, però, che molti fluidi non-newtoniani si comportano in maniera newtoniana a shear rate molto basse.

In questi casi si parla di viscosità apparente,  $\eta_{app}$  e la legge di Newton diventa:

$$\tau = \eta(\gamma) \cdot \gamma$$

**Equazione 14**

dove:

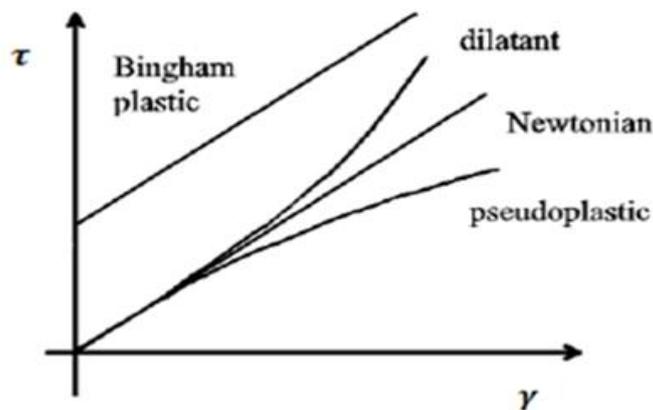
- $\tau$  = sforzo di scorrimento (shear stress);
- $\gamma$  = gradiente velocità di scorrimento (shear rate);
- $\eta$  = viscosità apparente.

La non linearità tra tensione e gradiente può manifestarsi in diversi modi in relazione alla tipologia delle particelle/goccioline disperse e dalla loro concentrazione, nonché dal peso molecolare dei polimeri se si tratta di una soluzione o miscela polimerica. A seconda dell'andamento dello sforzo di taglio ( $\tau$ ) e della viscosità ( $\eta$ ) in funzione della velocità di deformazione ( $\gamma$ ) si possono definire diversi tipi di comportamento shear-dipendenti (figura 89):

- **pseudoplastico (shear-thinning fluids)**. In questo tipo di materiali si verifica che la viscosità *diminuisce* all'aumentare dello sforzo di taglio (velocità di deformazione). In pratica, questi materiali divengono più fluidi all'aumentare dello stress applicato. A questo gruppo appartengono, di solito, le dispersioni di polimeri a lunga catena. A riposo o per bassi valori di sforzo di taglio, le molecole si trovano disperse nel solvente

in uno stato più o meno disordinato (gomitolo statistico) ed intrecciato. Man mano che lo sforzo di taglio applicato aumenta si ha il “disintrecciamento” delle catene polimeriche che si orientano nella direzione dello sforzo. Questo permette un migliore scorrimento e, quindi, una diminuzione della viscosità;

- **dilatante (shear-thickening fluids)**. In questo tipo di materiali si verifica che la viscosità *aumenta* all'aumentare dello sforzo di taglio (velocità di deformazione). In pratica, questi materiali divengono più fluidi all'aumentare dello stress applicato. E' un fenomeno osservato soprattutto in sospensioni concentrate. A bassi sforzi di taglio le particelle solide sono disposte nella direzione dello scorrimento; a valori di sforzo di taglio maggiori, però, le particelle tendono ad agglomerarsi e si oppongono allo scorrimento. Pertanto, il materiale mostrerà un aumento della viscosità
- **plastico**. Questo tipo di fluidi necessitano dell'applicazione di un certo valore di sforzo di taglio per iniziare a scorrere (yield stress). In questo senso è come se il sistema passasse da uno stato solid-like ad uno liquid-like in funzione della sollecitazione applicata. Al di sotto dello yield stress il campione mostra un comportamento elastico. Per sforzi di taglio maggiori dello yield stress il fluido può mostrare comportamento pseudoplastico (fluido viscoplastico) o newtoniano (fluido di Bingham). In ogni caso, la curva shear stress-shear rate non parte mai da zero.



**Figura 90- Alcuni esempi di curve di flusso nei casi di fluidi non-newtoniani**

Gli strumenti più utilizzati per effettuare analisi reologiche dei sistemi liquid-like sono:

- Viscosimetri capillare;
- Viscosimetri rotazionali;
- Reometri rotazionali.

Nello specifico i viscosimetri permettono di applicare uno sforzo o una velocità di taglio, pertanto, si rendono utili solo per la determinazione della viscosità del sistema.

I reometri, invece, possono lavorare sia in flusso che in oscillazione, permettendo l'analisi del campione sia in termini di curve di flusso che in termini di test dinamico-meccanici, entrambi in modalità shear.

## 5) Caratterizzazione meccanica

Le misure di resistenza meccanica permettono di studiare il comportamento dei materiali in presenza di sollecitazioni meccaniche di diverso tipo. In particolar modo, quando si vuole indagare la resistenza di un materiale alla trazione, vengono eseguite prove di trazione.

Le prove di trazione consistono nel sottoporre un provino, di dimensioni standard costituito da un certo materiale in esame, ad un carico monoassiale inizialmente nullo che viene incrementato fino a un valore massimo in cui si verifica la rottura del materiale.

La prova di trazione serve a determinare diverse caratteristiche del materiale in esame:

- resistenza meccanica;
- modulo di Young (modulo di elasticità);
- tensione di snervamento;
- l'allungamento a rottura.

La resistenza del materiale è solitamente definita come il massimo valore di tensione che il materiale può sopportare prima del cedimento strutturale. Nel caso di prove in trazione monoassiale, si parla di tensione a rottura.

Sulla macchina è presente una cella di carico che misura istante per istante la forza applicata al provino sul quale è anche applicato un estensimetro, che misura l'allungamento.

Grazie all'estensimetro e alla cella di carico, si ottengono valori di sforzo e deformazione a intervalli di tempo costanti ottenendo quindi un diagramma sforzo-deformazione.

Il diagramma sforzo-deformazione, rappresenta l'andamento della tensione applicata al materiale in funzione della deformazione subita. Nello specifico si definisce la tensione  $\sigma$  come il rapporto tra il carico applicato in direzione normale (F) e l'area della sezione del provino resistente a riposo (A):

$$\sigma = \frac{F}{A}$$

Equazione 15

La deformazione,  $\varepsilon$ , indica l'allungamento subito dal provino, indicato con  $\Delta l$ , rispetto alla lunghezza iniziale  $l$ :

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l}$$

Equazione 16

La strumentazione con cui si effettuano le prove tensili è dinamometro costituito dai seguenti componenti (Figura 91):

- Aggancio rigido;
- Due aste laterali di sostegno;
- Traversa orizzontale con aggancio superiore che può spostarsi verticalmente lungo le barre laterali;
- Attuatore meccanico che controlla il moto della struttura superiore;

- Pannello di controllo;
- Visualizzatore a video

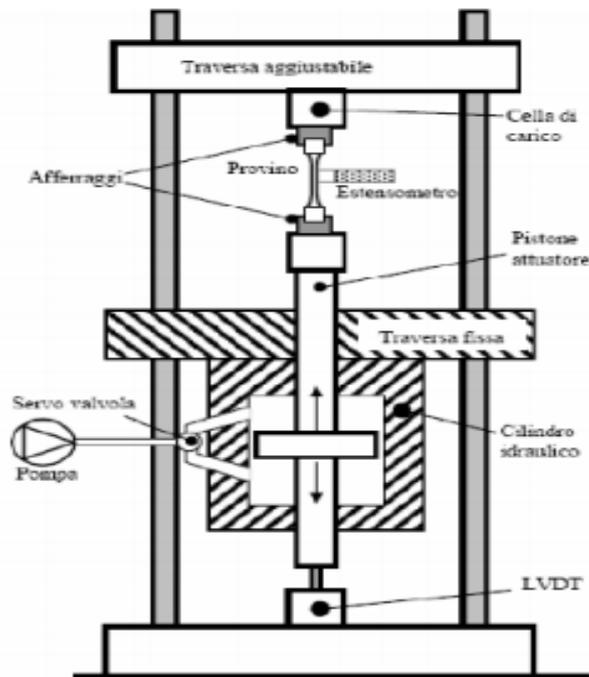


Figura 91-- Rappresentazione di un tipico dinamometri e dei componenti prove meccaniche in trazione

Un tipico andamento di un grafico sforzo-deformazione, nel caso di materiali polimerici, è il seguente (figura 92):

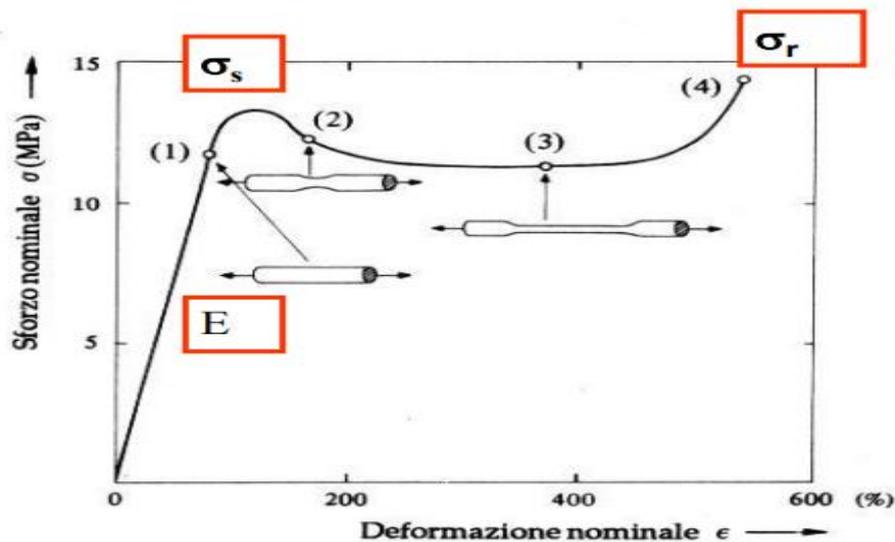


Figura 92- Tipica curva sforzo-deformazione di un materiale polimerico in cui sono mostrate le varie zone che sperimenta il materiale in esame

Su tale grafico è possibile individuare caratteristiche fondamentali del materiale in esame: il modulo elastico (o modulo di Young) e, quindi, il campo elastico; il punto di snervamento (yield stress); il carico a rottura, l'allungamento a rottura (la fine della

curva coincide con il momento in cui il materiale si rompe) e la tenacità del materiale, calcolando l'area sottesa della curva, corrispondente all'energia necessaria per portare a rottura il materiale. Durante la prova di trazione il provino passa attraverso alcune fasi caratterizzate da un comportamento differente:

- 1) *campo elastico* (tratto 0-1), rappresenta la zona lineare, approssimabile ad una retta. In questa particolare zona la tensione e la deformazione risultano essere direttamente proporzionali e la costante di proporzionalità che lega le due grandezze è proprio il modulo di Young (o modulo elastico). In questa regione la deformazione risulta essere istantanea e completamente reversibile, in accordo con la legge di Hooke:

$$\sigma = \varepsilon \cdot E$$

Equazione 17

Il modulo elastico è calcolato come la tangente alla porzione iniziale (tratto elastico) della curva sforzo-deformazione ed è espresso come forza per unità di superficie.(Figura 54) [88]: In genere, l'ordine di grandezza per i materiali polimerici è MegaPascal. In pratica, per valori di carichi applicati fino al punto 1 nel grafico, il materiale non subisce deformazioni permanenti, cioè, se il carico viene rimosso, esso perde l'allungamento  $\Delta l$  e torna alla lunghezza iniziale  $l$ .

Il reciproco del modulo elastico viene definito modulo di cedevolezza,  $J$ , e rappresenta la cedevolezza di un materiale:

$$J = \frac{1}{E}$$

Equazione 18

- 2) *campo plastico* (tratto 1-2), si raggiunge quando il valore di tensione applicata supera un certo valore limite in cui il materiale subisce una deformazione plastica irreversibile e permanente che cresce all'aumentare della tensione applicata. Il punto 2, nella curva sforzo-deformazione, viene chiamato limite elastico o punto di snervamento. Nello specifico, nel campo plastico non è più valida la legge di Hooke, pertanto, in questa regione la risposta del materiale risulta essere non lineare e, se il carico applicato viene rimosso, il materiale non torna più alla lunghezza originaria ma sperimenta un allungamento finale permanente  $\Delta l$ . Ciò si verifica perché la tensione induce lo scorrimento dei piani reticolari presenti all'interno del materiale.
- 3) *zona di strizione* (tratto 2-3), si raggiunge per sforzi superiori a quello a cui corrisponde il punto di snervamento. Questa zona risulta essere caratterizzata da grandi deformazioni per piccoli incrementi di carico applicati;
- 4) *zona di rottura* (tratto 3-4), si raggiunge per ulteriori valori di carico applicati in cui il materiale mostrerà non solo allungamento,  $\Delta l$ , ma anche un restringimento della sua sezione, prima di raggiungere la rottura (figura 93).



**Figura 93- Restringimento della sezione trasversale in un campione sottoposto a trazione**

Bisogna, però, considerare che l'andamento delle curve sforzo-deformazione, oltre ad essere funzione del materiale in esame, è funzione anche delle condizioni ambientali, quali temperatura e umidità, e delle condizioni sperimentali, come velocità di scorrimento, forma e dimensione dei provini.

In base al diagramma sforzo-deformazione che è caratteristico di ogni materiale, è possibile avere materiali polimerici con comportamento differente. Esistono materiali con basso modulo elastico ma grande allungamento a rottura (tipicamente sono gli elastomeri), materiali teneri ma resilienti, materiali rigidi e tenaci (comportamento tipico di materiali semicristallini) o rigidi e fragili (comportamento tipico di termoindurenti e amorfi vetrosi), materiali molto rigidi ma con basso allungamento a rottura (come le fibre). A sua volta uno stesso materiale polimerico può possedere proprietà differenti in funzione alla lunghezza e alla disposizione delle catene polimeriche. L'orientazione delle catene polimeriche in una certa direzione rendono il materiale più rigido e resistente in quella direzione ma anisotropo in quanto sarà meno rigido e debole nelle direzioni ortogonali (tipico comportamento delle fibre). Il modulo elastico (E) dipende dalla capacità dei legami atomici di deformarsi ed è una grandezza intrinseca e caratteristica di ogni materiale. Durante la deformazione elastica i legami vengono allungati, ma non rotti. Più è alta la forza di legame e maggiore è la rigidità del materiale.