

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

Ingegnerizzazione di nanocosmetici

Tesi di laurea sperimentale

CANDIDATO

Luca Viale

RELATORE

Prof.ssa Barbara Ballarin

CORRELATORE

Dott.ssa Anna Luisa Costa

Dott.ssa Magda Blosi

Sessione II

Anno Accademico 2012-2013

INDICE

SCOPO.....	1
Capitolo 1.0: Introduzione	
1.1: NANOMATERIALI	
1.1.1 Introduzione.....	2
1.1.2 Effetto delle dimensioni.....	4
1.1.3 Struttura e proprietà elettroniche.....	6
1.1.4 Reattività chimica.....	7
1.1.5 Materiali nanostrutturati.....	8
1.1.6 Energia superficiale	9
1.1.7 Metodi di caratterizzazione dei nanomateriali	10
1.1.8 Sistemi Colloidali	11
1.1.9 Nanoparticelle e colore	13
1.1.9.1 Introduzione	13
1.1.9.2 Assorbimento	13
1.1.9.3 Diffusione: Rayleigh e Mie	15
1.1.10 Proprietà ottiche dei colloidi nanometrici	18
1.1.11 Risonanze plasmoniche nei nanomateriali	19
1.1.11.1 Plasmoni propaganti	19
1.1.11.2 Plasmoni localizzati	20
1.1.11.3 Dimensione delle nanoparticelle	21
1.1.11.4 Morfologia delle nanoparticelle	22
1.1.11.5 Ambiente dielettrico	23
1.1.11.6 Assorbimento e scattering	25
1.1.11.7 Risonanza Plasmonica nell'argento	26
1.1.12 Spettroscopia di assorbimento UV-Visibile	28
Bibliografia.....	30
1.2: SINTESI DI SOSPENSIONI NANOMETRICHE	
1.2.1 Introduzione.....	32
1.2.2 Vie di sintesi dei nanomateriali.....	33
1.2.3 Metodo sol-gel.....	34
1.2.4 Microemulsione.....	35
1.2.5 Sintesi solvotermale.....	35
1.2.6 Sintesi in fase vapore.....	36
1.2.7 Sintesi in polialcoli.....	37
1.2.7.1 Introduzione.....	37
1.2.7.2 Nucleazione e crescita di nanoparticelle metalliche in polialcoli.....	38
1.2.7.3 Controllo morfologico delle nanoparticelle.....	38
1.2.8 Sintesi in acqua.....	43
1.2.8.1 Introduzione.....	43
1.2.8.2 Effetto della concentrazione di riducente, del pH (NaOH) e della temperatura.....	43
1.2.8.3 Effetto degli additivi chelanti.....	47
1.2.8.4 Effetto del tipo di riscaldamento e della concentrazione di precursore	51

1.2.9 Eco-compatibilità delle sintesi.....	53
Bibliografia.....	56
1.3 NANODELIVERY SYSTEMS	
1.3.1 Introduzione.....	59
1.3.2 Caratteristiche principali dei sistemi di nanodelivery.....	60
1.3.3 Liposomi.....	63
1.3.4 Drug loading.....	67
1.3.5 Drug release.....	69
1.3.6 Nanocarrier in cosmetica.....	71
1.3.7 Aquasome.....	73
Bibliografia	75
1.4 STRUTTURA E ASPETTO DEI CAPELLI	
1.4.1 Introduzione.....	76
1.4.2 Struttura del capello.....	76
1.4.3 Alterazione dei capelli per ossigenatura.....	83
1.4.4 Tinture per capelli.....	86
Bibliografia.....	91

Capitolo 2.0: PARTE SPERIMENTALE

2.1 Introduzione.....	92
2.2 Materie prime.....	93
2.3 Sintesi delle nanoparticelle di argento.....	94
2.3.1 Sintesi con polivinilpirrolidone in presenza di monosaccaridi.....	94
2.3.2 Sintesi con zuccheri semplici.....	98
2.3.3 Sintesi con polisaccaridi.....	103
2.3.3.1 Sintesi con amido.....	105
2.3.3.2 Sintesi con chitosano.....	107
2.3.3.3 Sintesi con idrossietilcellulose.....	109
2.3.4 Miscele di confronto.....	111
2.4 Prove di applicazione.....	111
2.5 Metodo di riscaldamento.....	114
2.6 Dynamic light scattering (DLS).....	117
2.6.1 Preparazione dei campioni.....	120
2.7 Diffrazione Raggi X Analisi XRD.....	120
2.7.1 Preparazione dei campioni.....	121
2.8 Spettrofotometria in riflettanza diffusa nel visibile.....	121
2.9 Spettroscopia in assorbimento UV-Visibile.....	123
2.9.1 Preparazione dei campioni.....	123
2.9.2 Analisi degli spettri di sospensioni nanometriche.....	124
2.10 Microscopia elettronica a scansione (SEM).....	124
2.10.1 Preparazione dei campioni.....	125
Bibliografia.....	126

Capitolo 3.0: RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 Introduzione.....	127
3.2 Nanoparticelle di argento metallico.....	129
3.2.1 Caratterizzazione del sistema stabilizzato con polivinilpirrolidone.....	129
3.2.2 Caratterizzazione del sistema stabilizzato con zuccheri semplici.....	132
3.2.3 Caratterizzazione del sistema stabilizzato con polisaccaridi.....	140
3.3 Applicazione dei sistemi di nanodelivery.....	150
Bibliografia.....	155

Capitolo 4.0: CONCLUSIONI.....	156
--------------------------------	-----

SCOPO

Lo scopo di questo lavoro sperimentale effettuato in collaborazione con la ditta ILIOS s.p.a. è stato quello di progettare un sistema di “nano delivery” in grado di potenziare l’affinità tra capello e colorante per la produzione di tinture semipermanenti per capelli per uso professionale. L’obiettivo era di ottenere un buon grado di colorazione (risultati analoghi o migliori di quelli ottenuti con prodotti hair styling commerciali) con minor dispendio di colorante (spesso costoso), minor uso di solventi (spesso allergenici) e migliorando la durata e stabilità ai lavaggi. Per raggiungere tale scopo si è studiata la formulazione di nano delivery del tipo aquasomes ovvero strutture sferiche con dimensioni di 60-300 nm formate da un nucleo solido cristallino (generalmente di dimensioni nanometriche) rivestito da un guscio oligomero in grado di adsorbire un elevato numero di molecole attive; nel nostro caso una sospensione di nanoparticelle di argento stabilizzate con composti polimerici compatibili all’uso cutaneo. Questo studio ha portato allo sviluppo di un processo di sintesi che, oltre a contenere sostanze già impiegate in cosmetica, risulta avere un impatto ambientale ridotto. Il motivo per cui sono stati utilizzati sistemi di nanodelivery a base di nano particelle di argento è dato principalmente dalle proprietà intrinseche di questo metallo, il quale realizza più funzioni all’interno della formulazione cosmetica oltre a quella di carrier:

- è di scarsa pericolosità, sulla base di studi tossicologici, nei confronti dell’organismo.
- ha proprietà antibatteriche e antimicotiche che favoriscono la conservazione delle formulazioni nel tempo e proteggono l’ambiente cutaneo in cui viene applicato.
- ha proprietà ottiche attive nei confronti delle radiazioni ultraviolette che contribuiscono a schermare e quindi salvaguardare i capelli.

L’attività di ricerca ha coinvolto due stadi: il primo in cui, partendo da procedure messe a punto presso l’ISTEC-CNR di Faenza, si è cercato di individuare e ottimizzare un procedimento di sintesi di aquasome a base di nano particelle di argento impiegando stabilizzanti polifunzionali già presenti nel settore cosmetico ed a ridotto impatto ambientale (preparativa dei sistemi nano delivery).

Il secondo in cui sono state studiate le formulazioni ottimali contenenti i sistemi nanodelivery selezionati ed un colorante già impiegato in cosmetica (il Basic Red 51), analizzando le strategie più opportune per l’applicazione di questi sistemi finalizzati a veicolare il colorante nei capelli.

1.1 I NANOMATERIALI

1.1.1 Introduzione

I materiali le cui dimensioni sono poco superiori a quelle dei singoli atomi sono descritti dal termine nanometrico, essi sono infatti solitamente costituiti da cluster di alcune decine di atomi e possiedono dimensioni nell'intervallo nanometrico ($1\text{nm} = 10^{-9}\text{ m}$); è basilare sottolineare che le proprietà dei nanomateriali sono molto differenti da quelli bulk.

Per dare un confronto all'ordine di grandezza, le celle elementari dei cristalli hanno lunghezze dell'ordine di un nanometro; la doppia elica del DNA possiede un diametro di circa 2 nm, inoltre si sottolinea che le più piccole dimensioni apprezzabili ad occhio nudo sono intorno ai 10.000 nm, un nanometro quindi è pari ad appena dieci atomi di idrogeno allineati.

I materiali nanostrutturati non sono indiscutibilmente le più piccole entità conosciute, ma sono (attualmente) i corpi solidi con le dimensioni più ridotte che sia possibile ottenere industrialmente ed utilizzare. La scienza che studia i principi fondamentali di molecole e strutture nanometriche, con particolare attenzione all'intervallo di dimensioni compreso tra 1nm e 100nm, è detta nanoscienza.

Analogamente la nanotecnologia è un ramo di questa scienza che osserva le applicazioni e le tecnologie dedicate a produzione e controllo della materia su scala dimensionale inferiore al micrometro e della progettazione e realizzazione di dispositivi in tale scala. Il termine “nanotecnologia” indica genericamente la manipolazione della materia a livello atomico e molecolare, in particolare si riferisce a lunghezze dell'ordine di pochi passi reticolari.

La nanotecnologia opera in un ambito di investigazione multidisciplinare, coinvolgendo molteplici indirizzi di ricerca tra cui: biologia molecolare, chimica, scienza dei materiali, fisica, ingegneria meccanica, ingegneria chimica ed elettronica.

Può essere vista sia come un'estensione delle scienze esistenti sulla scala nanometrica sia come un loro “riadattamento”.

Al fine di sviluppare corpi nanometrici si seguono principalmente due tipi di approccio:

- Bottom-up: i materiali e i dispositivi sono realizzati partendo da componenti molecolari che si auto-assemblano tramite legami chimici, sfruttando principi di riconoscimento molecolare (chimica supramolecolare)
- Top-down: i dispositivi sono fabbricati da materiali macroscopici attraverso un attento controllo dei processi di miniaturizzazione a livello atomico.

I nanomateriali devono la loro unicità alla sinergia tra proprietà comuni della materia, come conducibilità, durezza, punto di fusione e proprietà intrinseche del mondo atomico-molecolare, come la dualità onda-particella, e gli effetti quantici; le quali emergono dall'insolito rapporto superficie/volume di questi corpi e dal confinamento di un numero molto ridotto di atomi a costituire un corpo. Accade spesso nei materiali nanometrici che vengano sconvolte le leggi normalmente valide nella materia macrometrica, misurate nel bulk e assunte costanti per una determinata sostanza.

Le nanoparticelle sono di grande interesse scientifico dato che sono in effetti un ponte tra materiali grossolani e le strutture atomiche o molecolari; un materiale di grandi dimensioni avrebbe proprietà fisiche costanti rispetto alla sua dimensione, ma si osservano spesso variazioni delle stesse proprietà in funzione della dimensione per strutture su scala nanometrica.

Le proprietà dei materiali mutano sensibilmente non appena si avvicinano alla scala nanometrica, quando la percentuale di atomi della superficie del materiale diventa significativa e non più trascurabile.

Per i materiali di dimensioni più grandi di un micrometro (o micron), la percentuale di atomi a livello superficiale è insignificante in rapporto al numero di atomi compresi nella massa complessiva del materiale.

Alcune delle interessanti, e talvolta inaspettate, proprietà delle nanoparticelle sono tuttavia dovute principalmente all'ampia area superficiale del materiale, che prevale sui contributi apportati dalla piccola massa.

Attualmente atomi, molecole, clusters di nanoparticelle possono essere utilizzati come *building blocks* per fabbricare innovativi materiali funzionalizzati e nuove fasi solide su scala nanometrica. È possibile modulare le proprietà del materiale finale con una precisione fino ad ora mai raggiunta tramite il controllo delle proprietà fondamentali di

questi building blocks, quali ad esempio: dimensioni, morfologia, composizione chimica, cristallinità.

Lo studio di questi materiali è possibile grazie alle moderne tecniche di indagine e caratterizzazione: microscopia elettronica, diffrazione di raggi X, metodi spettroscopici, microscopia a forza atomica; con le dovute correzioni ai modelli e l'aumentare della conoscenza di questi sistemi si sono rese inoltre applicabili anche le tecniche di simulazione della chimica computazionale.

1.1.2 Effetto delle dimensioni

L'effetto delle dimensioni, *size effect*, rappresenta un aspetto determinante per conoscere il comportamento dei nanomateriali, infatti con il variare delle dimensioni si apprezzano cambiamenti delle caratteristiche strutturali, chimiche, termodinamiche, elettroniche, spettroscopiche ed elettromagnetiche della materia.

Le dimensioni nanometriche implicano conseguenze sia sulle singole particelle nanometriche, sia su nanostrutture più estese, dove gli effetti si amplificano [1]. Al diminuire delle dimensioni aumenta la percentuale di atomi superficiali (Figura 1.1.1), consentendo così di circondare piccole strutture con sostanze diverse e modulando le proprietà di entrambe nella particella risultante; questi atomi superficiali mostrano inoltre un incremento della reattività delle sostanze [2].

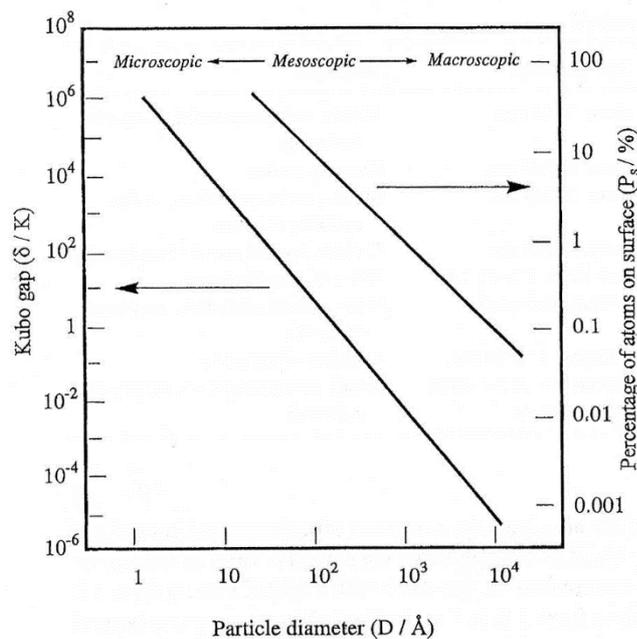


Figura 1.1. 1 - Percentuale di atomi superficiali per il sodio metallico in funzione del diametro particellare [2]

I materiali con dimensioni nanometriche subiscono un cambiamento delle proprietà fisiche oltre a quello delle proprietà ottiche e chimiche, infatti come si osserva in Figura 1.1.2 si osserva la variazione, ad esempio, del punto di fusione e di temperatura delle trasformazioni allotropiche.

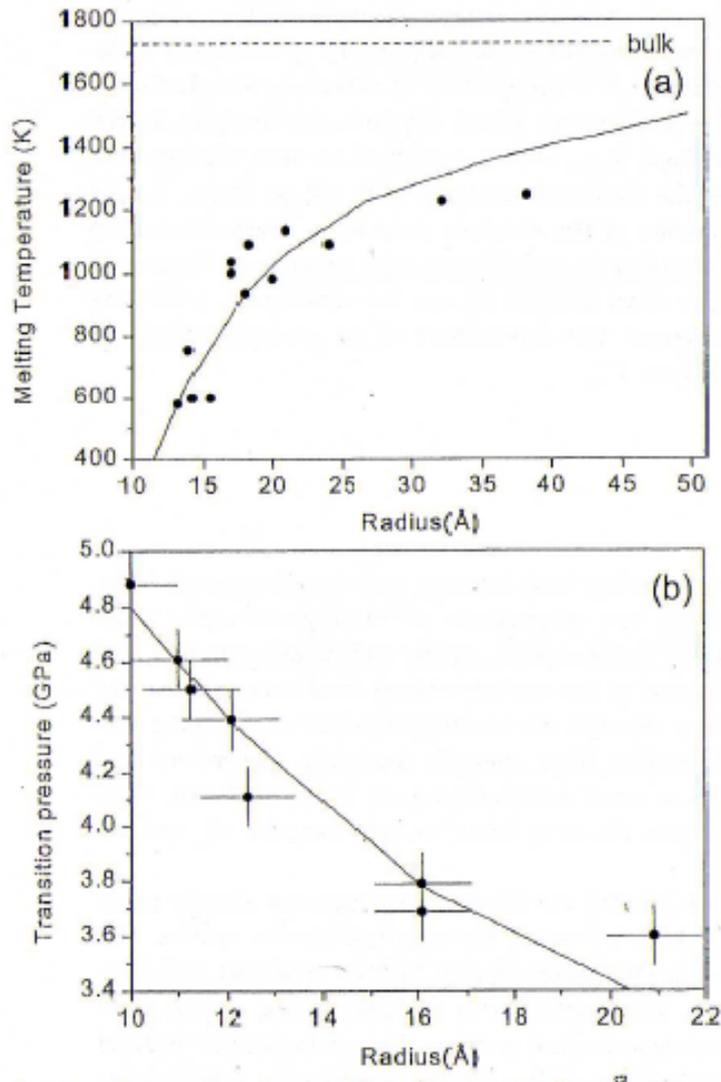


Figura 1.1. 2

(a): temperatura di fusione in funzione del raggio particellare per CdS;

(b): pressione di transizione wurtzite-sale di rocca in funzione del raggio particellare per CdSe [2].

1.1.3 Struttura e proprietà elettroniche ^[3]

La struttura elettronica dei nanomateriali cristallini dipende dalle loro dimensioni, per piccole particelle l'energia dei livelli elettronici non è continua come per i materiali bulk, ma discreta.

Il salto di energia tra due livelli quantici successivi risponde dalla seguente espressione:

$$\delta = \frac{4 E_f}{3 n}$$

E_f = energia corrispondente al livello di Fermi per la materia massiva [J]

n = numero totale di elettroni di valenza del nanocristallo

A causa della presenza di tale salto energetico, in nanoparticelle isolate alcune proprietà, come la conducibilità elettrica e la suscettibilità magnetica, presentano effetti quantici. L'energia discreta associata ai livelli elettronici, apporta variazioni fondamentali alle caratteristiche spettrali delle nanoparticelle, specialmente se si tratta di caratteristiche legate alla banda di valenza.

Si è osservato che per nanocristalli di diversi metalli il salto di banda diviene praticamente simile a quello di un non-metallo del mondo macroscopico; diverse tecniche sperimentali provano il passaggio da un comportamento metallico a non metallico, che avviene per la diminuzione del raggio dei cristalli. Tale passaggio avviene per nanocristalli con diametro pari a 1-2 nm o formati da 300 ± 100 atomi.

Ad esempio, dalle analisi in spettroscopia elettronica a raggi X, per molti metalli (oro, rame, nichel e palladio) diminuendo il raggio delle particelle si apprezza un aumento dell'energia di legame; tale fenomeno è evidente solo per piccoli diametri, oltre una certa soglia invece le energie di legame sono simili alla struttura massiva.

L'aumento dell'energia di legame, per piccoli diametri, è dovuto alla diminuzione dell'effetto schermante del nucleo da parte degli elettroni ed è indice della trasformazione indotta dal *size effect* tra i comportamenti metallico e non metallico.

1.1.4 Reattività chimica ^[3]

La reattività chimica dei solidi nanostrutturati risulta notevolmente amplificata con il decrescere delle dimensioni, infatti un cristallo di 1 nm ha circa il 100% degli atomi in superficie, mentre un cristallo di 10 nm ne possiede solo il 15%; inoltre, la variazione qualitativa della struttura elettronica per piccoli nanocristalli conferisce proprietà catalitiche inusuali a queste particelle, con comportamenti diversi da quelli noti per lo stesso materiale macrostrutturato.

Ad esempio, l'oro è un metallo nobile, ma Goodman e collaboratori hanno osservato che nanocristalli di oro supportati su una superficie di biossido di titanio mostrano un marcato *size effect* per quanto riguarda l'attività catalitica nella reazione di ossidazione del monossido di carbonio, le nanoparticelle di oro con diametro pari a 3,5 nm esibiscono la massima reattività (Figura 1.1.3b). La transizione da comportamento metallico a non-metallico è osservata in Figura 1.1.3a, per cluster con dimensioni ridotte fino a volumi di 3,5 nm³ corrispondenti a circa 300 atomi. In altri studi, inerenti nanoparticelle di oro supportate su ossidi di zinco, le particelle più piccole (con diametro inferiore a 5 nm) mostrano un'evidente tendenza ad adsorbire il monossido di carbonio, mentre le medesime con diametri di circa 10 nm non ne adsorbono quantità significative. In questo caso, l'aumento di attività di queste particelle è da attribuire al trasferimento di carica tra l'ossido che costituisce il supporto e la superficie della particella.

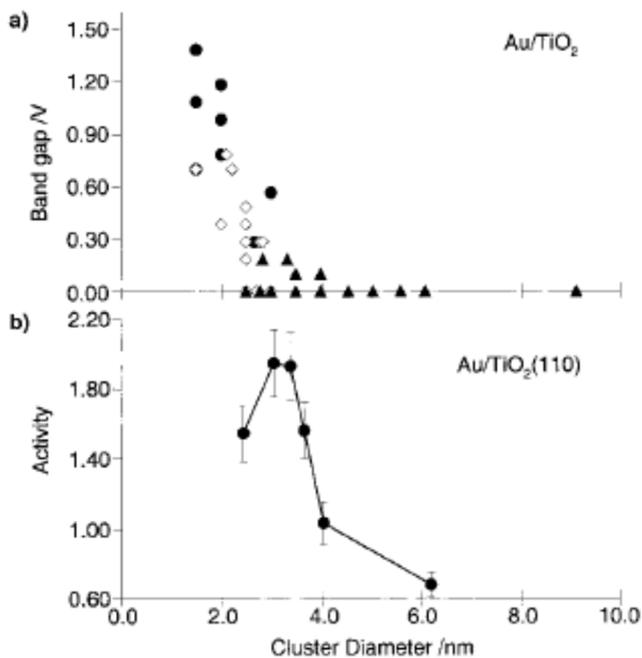


Figura 1.1. 3

(a): gap energetico misurato attraverso l'analisi STS (scanning tunneling spectroscopy) in funzione delle dimensioni dei cluster di oro; ● cluster bidimensionali; □ cluster tridimensionali, due strati di atomi; ▲ cluster tridimensionali, tre strati di atomi.

(b): attività (atomi di CO/atomi totali di Au) per l'ossidazione a 350K in funzione del diametro del cluster di oro supportato sulla superficie della TiO₂ ^[3].

1.1.5 Materiali nanostrutturati ^[4]

I materiali nanostrutturati si possono considerare come un sottoinsieme del più ampio gruppo formato dai nanomateriali; in generale vengono denominati materiali nanostrutturati quei materiali composti da costituenti elementari, detti building blocks, aventi dimensioni caratteristiche di alcuni nanometri (tipicamente da 1 a 100 nm e comunque non superiore a 500 nm), in almeno una direzione dello spazio (Figura 1.1.4).

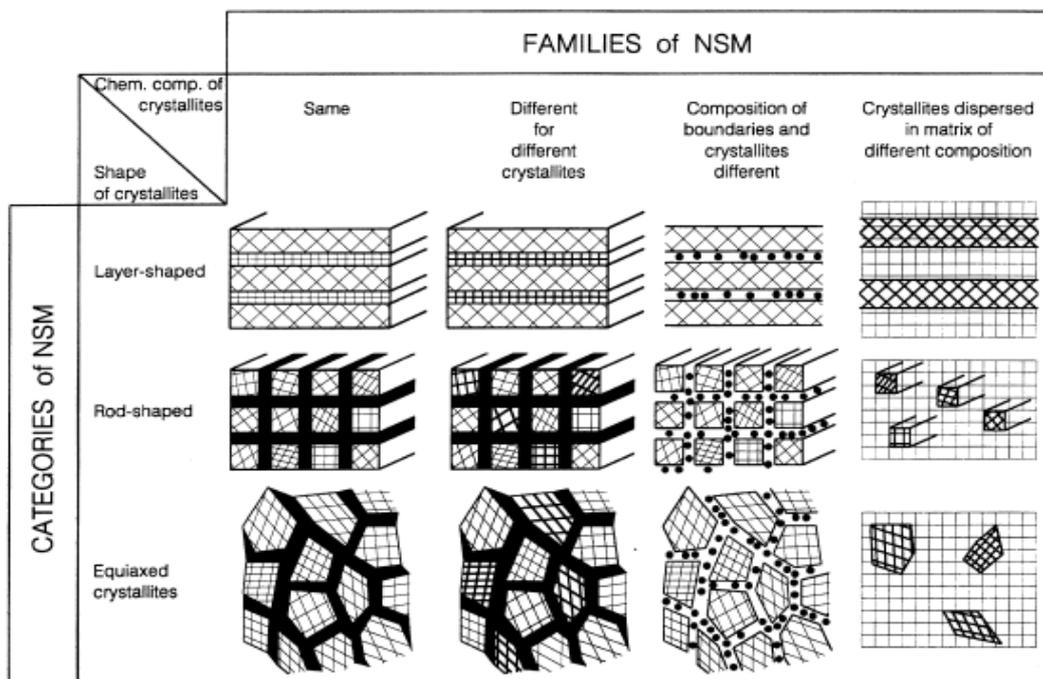


Figura 1.1. 4 - Classificazione dei Materiali Nanostrutturati (NSM), secondo la composizione chimica (in orizzontale) e la forma dei cristalliti (in verticale) ^[4].

Tali costituenti sono in genere dei cristalliti, ma possono essere anche amorfi (polimeri) che differiscono tra loro per la struttura atomica, l'orientazione cristallografica e la composizione chimica; questi sono i parametri per classificare i materiali nanostrutturati. Tra di essi si possono formare interfacce coerenti od incoerenti, a seconda delle caratteristiche dei cristalliti adiacenti.

Rientrano nella classe dei nanomateriali, ma non in quella dei materiali nanostrutturati, i colloidi, le polveri e le biomolecole nanometriche.

1.1.6 Energia superficiale

Nelle particelle nanometriche gli atomi prossimi alla superficie sono solo parzialmente saturi e pertanto si trovano in uno stato energetico più elevato rispetto a quelli all'interno del solido. Poiché le forze di interazione reciproca non risultano del tutto bilanciate, le superfici svolgono un ruolo determinante in qualsiasi classe di materiale nanometrico, condizionando ogni proprietà: dalle trasformazioni strutturali, all'interazione con la luce, alla solubilità.

Se per un solido di volume V e superficie A si pone:

E_t = contenuto di energetico totale di un solido [J]

e_i = energia interna per unità di volume [J/cm^3]

e_s = energia superficiale per unità di superficie [J/cm^2]

Allora si può formulare la seguente espressione:

$$\frac{E_t}{V} = e_i + \left(\frac{A}{V}\right) e_s$$

Nelle particelle per le quali il rapporto $\left(\frac{A}{V}\right)$ è compreso tra 10^6 cm^{-1} e 10^7 cm^{-1} l'energia superficiale acquista una significativa rilevanza, con questo criterio si possono giustificare i diversi aspetti e comportamenti chimico-fisici dei materiali nanometrici rispetto ai materiali in forma massiva.

Ad esempio, il caso della diminuzione del punto di fusione parallelamente con le dimensioni, verificato per il CdS (Figura 1.1.2a), e per molti altri materiali, è intuibile se si considera il contributo dell'energia superficiale. Infatti, un sistema nanometrico, contenente solo poche centinaia di atomi, è ampiamente influenzato dal fatto che la maggioranza di questi si trova in superficie, in uno stato di maggiore energia interna.

La chiave di interpretazione della depressione del punto di fusione sta nel fatto che l'energia superficiale della fase liquida è sempre minore di quella della fase solida, poiché la fase fluida è dinamica e permette agli atomi di spostarsi per minimizzare l'area superficiale e le interazioni sfavorevoli, mentre nel solido gli atomi sono costretti, dalla geometria rigida dei legami, in situazioni di maggiore energia.

La contrazione delle dimensioni anticipa il processo di fusione perché aumenta il contributo dovuto all'energia superficiale solida; gli effetti superficiali sono importanti in tutte le configurazioni nanoparticellari: polveri, dispersioni colloidali in un mezzo continuo, film sottili o solidi con microstruttura nanometrica.

In ogni caso, i nanomateriali sono caratterizzati dall'assenza di ordine a lungo raggio, peculiarità che rende necessario lo sviluppo di tecniche di caratterizzazione innovative e specifiche; nel processo di caratterizzazione è necessario, più che per altri materiali, considerare le interazioni delle nanostrutture con solvente, substrato, ecc.

Queste interazioni emergono poiché gli elementi nanometrici (siano essi film sottili, particelle disperse, grani cristallini, rivestimenti) sono in uno stato termodinamico metastabile, ma stabilizzato dalle interazioni con l'ambiente circostante [2].

In generale si possono individuare due classi principali di interfacce:

- *Interfaccia solido/liquido*: caratteristica dei nanocristalli colloidali, questa può essere di tipo inorganico/organico o inorganico/inorganico;
- *Interfaccia solido/solido*: caratteristica dei nanocristalli in un materiale solido, generalmente è di tipo inorganico/inorganico.

1.1.7 Metodi di caratterizzazione dei nanomateriali

L'utilizzo di strumenti appropriati per lo studio, su scala nanometrica, delle proprietà dei materiali e delle superfici è chiaramente fondamentale; inoltre, l'aumento delle potenzialità strumentali porta inevitabilmente alla scoperta di fenomeni e comportamenti della materia prima sconosciuti [5].

Oltre all'uso delle più comuni tecniche, quali analisi XRD (X-ray Diffraction), TEM (Transmission Electron Microscopy), UV-Visibile; il mondo scientifico ha designato come principale responsabile dell'esplosione delle nanoscienze, lo sviluppo della microscopia a scansione di sonda.

Tra i numerosi strumenti di indagine si citano i più utilizzati: STM (scanning tunneling microscopy, 1986), AFM (atomic force microscopy), SNOM (scanning near-field optical microscopy), MFM (magnetic force microscopy), e PFM (piezoresponse force microscopy).

1.1.8 Sistemi colloidali

Lo studio degli aggregati di dimensioni submicrometriche, e quindi anche delle nanoparticelle, ha le sue origini dagli studi sui colloidali ed aerosol; la loro rilevanza scientifica viene evidenziata per la prima volta nel 1857 da M. Faraday in una delle sue lezioni dal titolo: “*Experimental Relation for colloidal gold to light*” nella quale sottolinea l’influenza delle dimensioni delle particelle sulle proprietà ottiche, riferendosi in questo caso alle variazioni di colore delle particelle d’oro.

I colloidali sono un’importante classe di materiali, intermedi fra la fase massiva (bulk) ed i sistemi dispersi su scala molecolare; i sistemi colloidali consistono di una fase dispersa, finemente suddivisa, distribuita uniformemente in un mezzo di dispersione che si assume continuo; per finemente suddiviso si intende un sistema le cui dimensioni si collocano fra 1 nm e 1 μm , di conseguenza:

- Le particelle colloidali sono tipicamente di dimensioni molto maggiori delle molecole del mezzo disperdente;
- Le particelle colloidali hanno un rapporto fra area superficiale e volume molto più alto rispetto ai sistemi in fase massiva; una porzione significativa delle molecole del colloide si colloca sulla regione di interfase o vicino ad essa, quindi la superficie ha un controllo significativo sulle proprietà del colloide stesso.

E’ fondamentale conoscere i fattori che influenzano la stabilità delle dispersioni colloidali, per esempio sotto particolari condizioni le particelle colloidali si uniscono per formare una fase condensata.

Si distinguono due processi di aggregazione:

- **Coagulazione:** l’aggregato (detto coagulo) è densamente impacchettato e il processo è **irreversibile**;
- **Flocculazione:** l’aggregato (detto flocculato) è molto meno denso e il processo è **reversibile**.

Come teorizzato dal modello DLVO (Derjaguin and Landau, Verwey and Overbeek) per l'aggregazione delle particelle in sospensioni acquose, la stabilità delle dispersioni colloidali è dovuta principalmente a:

- Effetto dell'elevato rapporto superficie/volume, la superficie esposta si comporta con la soluzione come un doppio strato elettrico (EDL), andando a costituire uno shell di controioni che favorisce la repulsione delle altre particelle;
- Forze steriche, dovute all'eventuale adsorbimento di polimeri o macromolecole sulla superficie delle particelle disperse (Figura 1.1.5a.);
- Forze che agiscono fra particelle colloidali (interazioni di Van der Waals, repulsioni elettrostatiche date dalla carica netta della particella e del suo rivestimento, Figura 1.1.5b).

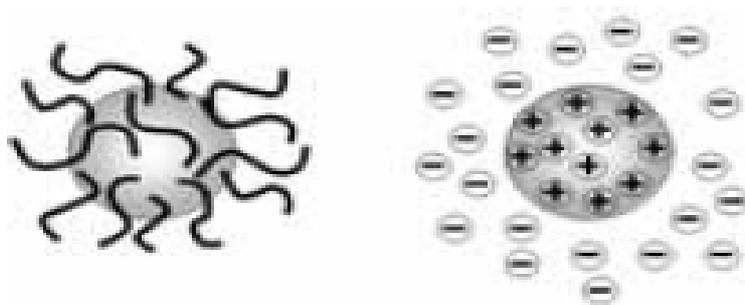


Figura 1.1. 5 - Particelle stabilizzate stericamente (sinistra) ed elettrostaticamente (destra)

Per quanto riguarda i colloidali nanometrici ^[1], le dimensioni delle particelle disperse non superano di solito i 100 nm, in questi casi l'aumentato rapporto superficie volume incrementa la reattività delle particelle che si aggregano più facilmente; per evitare coagulazione si ricorre a surfattanti con lunghe catene di tioli o ammine, molecole chelanti o polimeri come il polivinilpirrolidone (PVP) che, adsorbendosi in superficie, incrementano il contributo delle forze steriche, aumentando il fattore di repulsione.

Un altro metodo è quello di sfruttare la repulsione elettrostatica, aggiungendo specie cariche che diano chemiadsorbimento superficiale; spesso si ricorre ad entrambi i mezzi di stabilizzazione.

1.1.9 Nanoparticelle e colore^[6]

1.1.9.1 Introduzione

La luce è una radiazione elettromagnetica, ossia un campo elettromagnetico che si propaga nello spazio e nel tempo, nel vuoto e nella materia, con una velocità dipendente dalla natura del mezzo attraversato; essa viene divisa in diversi intervalli sulla base di lunghezza d'onda, frequenza o energia (Figura 1.1.6).

Tra questi intervalli, la regione che è interessata dal nostro apparato visivo viene detta “regione del visibile” e questa porzione dello spettro ha lunghezza d'onda compresa tra 380 e 780 nm (la lunghezza d'onda più piccola appartiene al colore viola, quella più grande al rosso), ed è percepibile da noi esseri umani grazie ai fotorecettori (coni e bastoncelli) che trasducono il segnale elettromagnetico in segnale chimico.

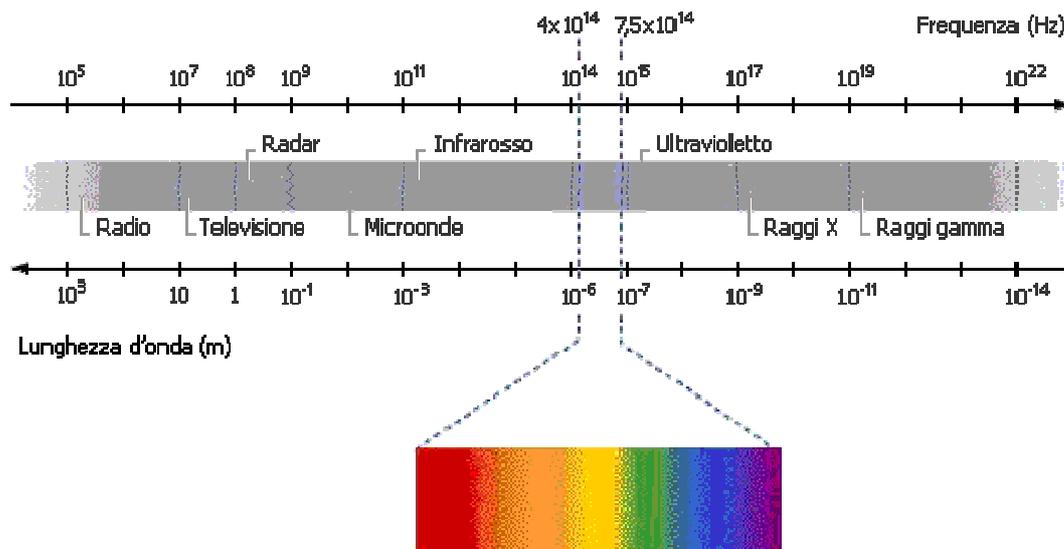


Figura 1.1. 6 - Spettro elettromagnetico

1.1.9.2 Assorbimento

Durante l'interazione tra onda elettromagnetica e materia, alcune frequenze della radiazione incidente sono rimosse selettivamente mediante assorbimento; in questo processo l'energia elettromagnetica associata ad una radiazione di determinata lunghezza d'onda λ viene trasferita agli atomi, agli ioni o alle molecole che costituiscono il campione; l'assorbimento di radiazione promuove gli elettroni di valenza dallo stato fondamentale a uno o più stati eccitati a più alta energia.

Negli atomi isolati, la differenza di energia tra lo stato fondamentale e lo stato eccitato degli elettroni più esterni, detti di valenza, ha una banda di assorbimento che si trova nella regione del visibile, costituendo la causa principale di colorazione, mentre, nella maggior parte delle molecole, gli elettroni di valenza sono legati con quelli degli atomi adiacenti, producendo il legame chimico, con conseguente spostamento della banda di assorbimento nella regione dell'ultravioletto.

Un'irregolarità si verifica nel caso del campo cristallino: questo meccanismo si verifica qualora gli ioni di metalli di transizione o di terre rare (es. Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} , Eu^{3+} , ecc), presenti all'interno di un reticolo cristallino in cui risentono dell'effetto degli ioni circostanti, vengano sottoposti ad un campo elettrico. Gli ioni dei metalli di transizione e delle terre rare, infatti, formano un insieme di stati elettronici, possedendo degli orbitali parzialmente vuoti, e di conseguenza degli elettroni spaiati, i cui stati eccitati cadono spesso nella regione del visibile.

Qualora tali sostanze assorbano una quantità di luce con l'energia necessaria a trasferire un elettrone di valenza dal livello fondamentale al livello superiore, si ha che la sostanza, a causa di tale trasferimento, assorba parte della radiazione visibile e appaia colorata.

Inoltre, tutti gli stati eccitati di questi ioni non corrispondono ad un'energia ben definita, ma si allargano formando delle bande, la cui struttura viene modificata dalla presenza di altri ioni nel reticolo cristallino; pertanto, avviene che lo stesso ione possa produrre colorazioni diverse a seconda dell'intensità del campo elettrico in cui viene immerso.

In alcuni casi si ha emissione per luminescenza che può generare una colorazione diversa da quella indotta dal campo; infatti, nel caso di composti colorati per effetto del campo cristallino, si può avere emissione di una radiazione nello spettro del visibile in corrispondenza del ritorno dello ione dallo stato eccitato a quello fondamentale.

Altra causa di colorazione è quella legata alla presenza di elettroni all'interno di orbitali molecolari, cioè quando gli elettroni di valenza impegnati nei legami chimici non rimangono confinati in un legame tra due atomi, ma si possono spostare a distanze molto grandi entro l'intera molecola o entro l'intero solido, occupando degli orbitali non più atomici, ma detti molecolari.

In tale caso, non essendo gli elettroni strettamente legati ai loro atomi, si ha che l'energia necessaria per farli passare ad uno stato eccitato diminuisce, passando dall'ultravioletto al visibile e determinando la colorazione della struttura; un meccanismo con il quale gli orbitali molecolari possono produrre colorazione è quello del trasferimento di carica da uno ione all'altro (esempio Fe^{2+} - Ti^{4+} nello zaffiro blu).

Si crea uno stato eccitato quando un elettrone viene trasferito da uno ione all'altro, determinando la variazione dello stato di ossidazione dei due ioni; affinché tale trasferimento avvenga, sono necessarie energie appartenenti alla parte visibile dello spettro della luce; è da notare che l'assorbimento dovuto a trasferimenti di carica è molto più intenso (da 100 a 1000 volte e più) rispetto a quello legato al campo cristallino.

1.1.9.3 Diffusione: Rayleigh e Mie ^[7]

Il principale meccanismo che dà luogo al colore delle dispersioni colloidali insieme all'assorbimento è la diffusione; essa è dovuta alla deviazione di un'onda ai margini di un ostacolo: quando questi è un oggetto macroscopico l'effetto è in generale trascurabile, ma diventa importante quando le sue dimensioni sono dello stesso ordine di grandezza della lunghezza d'onda della radiazione incidente.

La diffusione causata da particelle o da aggregati di particelle molto minori ($<0,1\mu\text{m}$) della lunghezza d'onda della radiazione incidente viene definita dalla teoria di Rayleigh: quando le piccole particelle sono colpite da un raggio di luce queste lo diffondono in tutte le direzioni trasformandosi in un nuovo punto di emissione.

La teoria di Rayleigh è ben descritta dalla seguente espressione:

$$I = I_0 \frac{1 + \cos^2 \theta}{2R^2} \left(\frac{2\pi}{\lambda} \right)^4 \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right)^2 \left(\frac{d}{2} \right)^6$$

I = intensità della luce diffusa [cd]

I_0 = intensità della luce incidente [cd]

n = indice di rifrazione della particella

θ = angolo di diffusione

R = distanza del punto di misura dalla particella [nm]

d = diametro della particella [nm]

λ = lunghezza d'onda della radiazione [nm]

Va notato però che l'intensità della luce diffusa dipende essenzialmente dal volume delle particelle e dalla lunghezza d'onda; infatti, dalla formula si osserva che l'intensità della luce diffusa è direttamente proporzionale al quadrato del volume e inversamente proporzionale alla quarta potenza della lunghezza d'onda della radiazione.

Di conseguenza, le radiazioni di breve lunghezza d'onda, come il blu, sono diffuse con intensità superiore rispetto a quelle con grande lunghezza d'onda, come il rosso; un esempio è il colore blu del cielo, derivante proprio dalla diffusione di Rayleigh delle molecole dell'aria; molto spesso questo fenomeno viene anche definito effetto Tyndall che spiega la colorazione blu dei materiali trasparenti, nei quali la presenza di particelle non visibili all'occhio umano comporta comunque la diffusione Rayleigh.

Se le particelle sono maggiori di $0,1 \mu\text{m}$, allora gli effetti dominanti sono quelli della riflessione, descritta dall'ottica geometrica, e della rifrazione, dovuta alla differenza di indice di rifrazione nel mezzo in cui si propaga la luce.

Se le particelle hanno dimensioni maggiori rispetto a quelle che provocano l'effetto Rayleigh, ma paragonabili alla lunghezza d'onda della luce incidente (ad esempio quelle delle dispersioni colloidali di Au), diffondono la luce secondo un meccanismo più complesso, descritto dalle leggi di Mie (1908).

Le tre caratteristiche fondamentali della diffusione di Mie, che occorre sottolineare, sono dimensioni, forma e dipendenza dalla lunghezza d'onda:

- Dimensioni del corpo “diffusore”, per esempio micron (μm);
- Forma: distribuzione spaziale, lo scattering di Mie (Figura 1.1.7), a differenza di quello Rayleigh, non è sfericamente distribuito, infatti produce uno spettro più intenso e di forma più allungata per particelle di dimensioni maggiori e nelle direzioni della luce incidente; nel modello di Mie si assume che le particelle abbiano forma sferica;

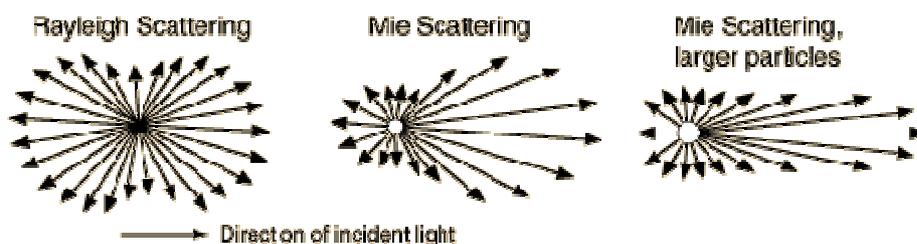


Figura 1.1. 7 - Lo scattering di Mie non è sfericamente distribuito come quello Rayleigh

- Dipendenza dalla lunghezza d'onda: tutte le frequenze dello spettro visibile vengono diffuse allo stesso modo, diversamente dal fenomeno di Rayleigh in cui vi è dipendenza inversa dalla quarta potenza della lunghezza d'onda; lo scattering di Mie è il responsabile della corona di luce bianca intensa intorno al sole, che si forma in presenza di un'alta concentrazione di particolato nell'atmosfera e della colorazione bianca di nebbia e fumo.

L'equazione base di Mie è la seguente:

$$\frac{R_s}{I_0} = 1 - \exp\left(-N \frac{\pi d^2}{4} LK\right)$$

I_0 = intensità della luce incidente [cd]

R_s = luce riflessa proveniente dallo scattering [cd]

N = numero degli agenti di scattering indipendenti per unità di volume [$1/\text{nm}^3$]

L = spessore del rivestimento delle particelle che attenua il fascio [nm]

K = area effettiva di scattering

d = diametro della particella [nm]

Maggiore è il termine dell'esponenziale, più alta sarà l'opacità provocata dalle particelle, dove con opacità si intende un basso rapporto tra luce riflessa e incidente; L'opacità è direttamente proporzionale alle dimensioni e al numero degli "scatteratori" ed allo spessore del rivestimento delle particelle; l'area effettiva di scattering dipende dalle dimensioni delle particelle, dalla lunghezza d'onda della luce e dall'indice di rifrazione. Comunemente l'equazione di Mie viene utilizzata in forme semplificate, adattate al fenomeno da analizzare, dato che i parametri che lo influenzano non sono tutti sempre determinabili.

1.1.10 Proprietà ottiche dei colloidali nanometrici

Lo studio della correlazione tra proprietà ottiche e dimensioni delle particelle ha origini lontane; sono state riscontrate nanoparticelle d'oro in diversi monili medievali e nelle chiese risalenti a quegli anni, alcuni colori delle vetrate, ad esempio, sono impartiti da nanoparticelle d'oro disperse nella matrice di vetro. Quindi già nel passato era nota e si sfruttava la proprietà del metallo di cambiare colore (da giallo, a blu o rosso nel caso dell'oro) passando da materiale "macro" a particelle di dimensioni "nano".

Come già sottolineato, la conseguenza più diretta della riduzione delle dimensioni dei nanocristalli sulla struttura elettronica è l'aumento del salto di banda. Esistono diversi modi per apprezzare questo fenomeno da un punto di vista teorico, mentre la determinazione sperimentale della variazione del gap di banda in funzione delle dimensioni può essere direttamente effettuata mediante misure di spettroscopia di estinzione ultravioletto-visibile (UV-Vis).

Nel caso di un semiconduttore, per esempio, se il gap di banda aumenta, si verifica lo spostamento della banda di assorbimento verso minori lunghezze d'onda, detto *blue shift*; tale scostamento segnala la formazione di nanocristalli più piccoli, mostrando la dipendenza delle proprietà ottiche da quelle elettroniche.

I plasmoni superficiali (SPO's: *Surface Plasma Oscillations*) sono eccitazioni collettive di cariche che si propagano all'interfaccia metallo/dielettrico; in presenza di radiazione elettromagnetica gli elettroni liberi sono influenzati dal campo elettrico e dalla forza di attrazione coulombiana tra la stessa nube elettronica ed il nucleo; coerentemente con la natura oscillante del campo elettrico la nube elettronica risuona sulla superficie ad una determinata frequenza.

Il dielettrico può essere semplicemente l'aria o qualunque altra interfaccia sotto forma di film sottile (monomolecolare o pochi strati molecolari) o di disperdente; il campo elettromagnetico associato con il moto di queste cariche è massimo all'interfaccia metallica e decade esponenzialmente, non simmetricamente, in entrambe le direzioni perpendicolari all'interfaccia, mostrando pertanto come l'interazione sia essenzialmente correlata alla superficie.

Lo spettro di assorbimento elettronico di nanocristalli metallici nella regione del visibile è dominato dalla banda dei plasmoni superficiali; tale banda di assorbimento è dovuta all'eccitazione collettiva degli elettroni del gas (o un altro dielettrico) sulla superficie della particella ed è caratteristica di nanocristalli metallici di determinate dimensioni.

Nei colloidi, le eccitazioni superficiali dei plasmoni conferiscono colori caratteristici alle sospensioni di metalli, come il rosso intenso tipico delle sospensioni di oro [8]; i nanocristalli di oro di dimensioni variabili tra 2 e 4 nm mostrano diverse bande intorno a 525 nm, la cui intensità cresce con le dimensioni; nel caso di particelle di 1 nm di diametro, l'intensità di questi assorbimenti si riduce ulteriormente, a causa della diminuzione del numero di elettroni itineranti nella nuvola elettronica, determinando una diversa colorazione.

1.1.11 Risonanze plasmoniche nei nanomateriali

Per un metallo bulk di dimensioni infinite in tutte e tre le dimensioni la frequenza di risonanza (ω_p) può essere espressa come [9]:

$$\omega_p = \sqrt{\frac{N e^2}{\epsilon_0 m_e}}$$

N = numero di densità elettronica [$1/m^3$]

ϵ_0 = permittività del vuoto [$C^2/m^2 \cdot N$]

e = carica dell'elettrone [C]

m_e = massa dell'elettrone [Kg]

I plasmoni superficiali generalmente sono classificati come localizzati e propaganti; i sistemi nanostrutturati di metalli nobili, sono di grande interesse, in quanto i loro plasmoni superficiali localizzati risuonano alla lunghezza d'onda della radiazione elettromagnetica.

1.1.11.1 Plasmoni propaganti

Il plasmone superficiale di un'interfaccia metallo/dielettrico possiede il carattere tipico dell'onda elettromagnetica come pure quello di carica superficiale ed è fortemente legato alla superficie stessa; di conseguenza il campo viene amplificato in prossimità della superficie, in direzione perpendicolare alla stessa, l'ampiezza varia esponenzialmente con la distanza dalla superficie.

Nel medium dielettrico (ad esempio acqua, DEG o EG), perpendicolarmente alla superficie del metallo, l'ordine di grandezza del decremento del campo è proporzionale alla metà della lunghezza d'onda della luce utilizzata; il plasmone propagante viene attenuato dalla perdita derivante dall'assorbimento nel metallo.

1.1.11.2 Plasmoni localizzati

I plasmoni localizzati si originano dalle oscillazioni degli elettroni liberi sulla superficie di metalli nanoparticellari, quando questi sono irraggiati da radiazione elettromagnetica; a differenza dei metalli massivi, i plasmoni superficiali, specialmente per metalli nobili, possono essere eccitati direttamente dalla radiazione nella regione del visibile.

Quando una nanoparticella metallica viene colpita dalla luce il campo elettrico oscillante induce il movimento degli elettroni stessi di conduzione. L'assorbimento si verifica quando la frequenza del fotone incidente è in risonanza con l'oscillazione degli elettroni di conduzione, dando luogo a fenomeni ottici particolari.

Nel 1908 Gustav Mie fornì una spiegazione quantitativa della risonanza risolvendo l'equazione di Maxwell per particelle sferiche; avvengono fenomeni di scattering e assorbimento della radiazione, profondamente influenzati dalle dimensioni e dalla forma delle nanoparticelle.

La frequenza di oscillazione delle nanoparticelle metalliche è determinata principalmente dalla densità elettronica e dalla distribuzione di carica, questo permette di modificare le proprietà ottiche di queste particelle (spostamento della banda plasmonica, rapporto tra scattering ed assorbimento) variando appunto dimensioni e forma delle stesse e l'ambiente dielettrico in cui si trovano immerse.

1.1.11.3 Dimensione delle nanoparticelle

Generalmente per nanoparticelle di oro si può osservare un effetto batocromico (redshift) con l'aumento delle dimensioni, cioè uno spostamento del picco plasmonico verso lunghezze d'onda maggiori (Figura 1.1.8) [10]; viceversa per diametri particolarmente piccoli (2 nm nel caso dell'oro) la banda plasmonica è addirittura assente (Figura 1.1.9) [8]; questo è dovuto all'andamento dell'intensità dello scattering superficiale, che è inversamente proporzionale al raggio particellare; quando si è al di sotto di un certo valore lo spostamento della banda diviene quasi impercettibile, mentre cala drasticamente l'intensità della banda stessa.

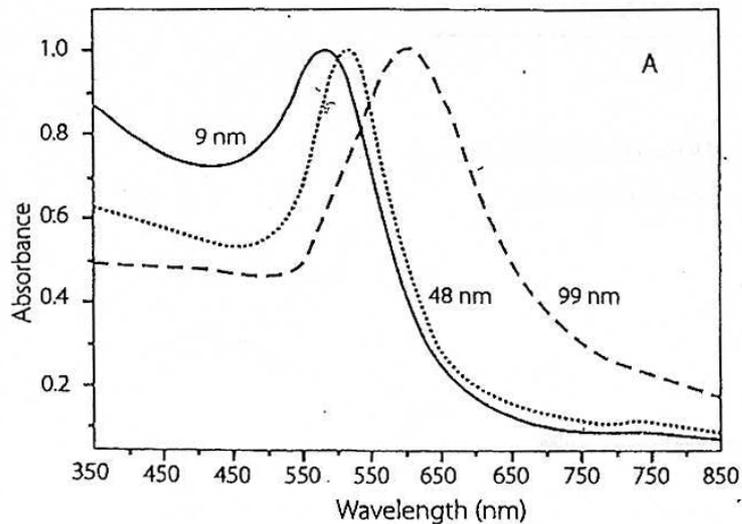


Figura 1.1. 8 - Spettri UV-Vis calcolati per nanoparticelle di Au in acqua ($n_d = 1.1.3329$) [8]

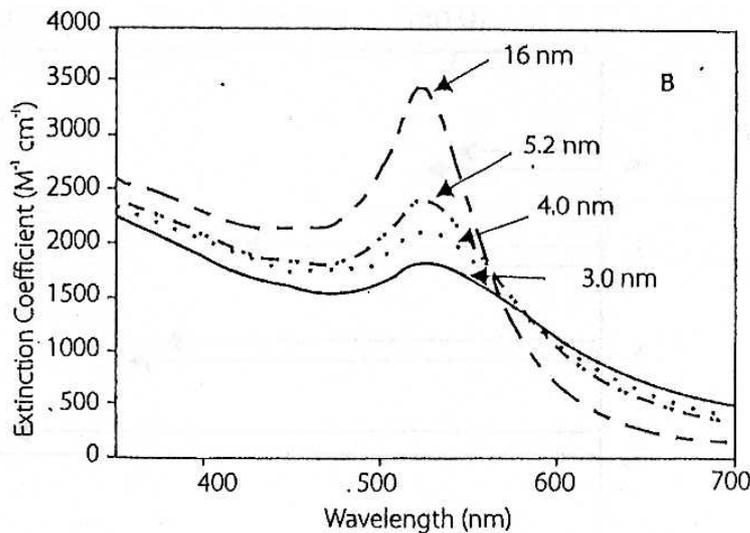


Figura 1.1. 9 - Spettri UV-Vis di nanoparticelle di Au in acqua [10]

1.1.11.4 Morfologia delle nanoparticelle

E' possibile sintetizzare non solo nanoparticelle sferiche, ma delle forme più svariate, in particolare è molto facile preparare forme allungate, a “bastoncini”, denominate *rods*.

Variando la loro *ratio* ossia il rapporto tra asse maggiore e asse minore e conferendo maggiore o minore sfericità al loro aspetto, si possono modificare le proprietà ottiche della sospensione.

La dipendenza dalle forma della risonanza plasmonica superficiale per ellissoidi fu individuata da Gans nel 1912, estendendo la teoria di Mie sulle particelle sferiche, anche se solo recentemente si è provato lo sdoppiamento della banda in due distinte lunghezze di assorbimento.

Nanorods di oro posseggono quindi due distinte bande di assorbimento plasmonico superficiale, associate alle oscillazioni elettroniche trasversali e longitudinali. La banda a lunghezza d'onda minore è originata dal modo di vibrazione trasversale, mentre quella a frequenze minori dall'oscillazione longitudinale. Aumentando la ratio si osserva uno shift batocromico della banda a maggiore lunghezza d'onda (longitudinale).

In assenza di un campo elettrico i nanorods sono orientati a caso e gli spettri evidenziano entrambi i picchi. Quando il campo è presente, e la luce incidente è polarizzata parallelamente al campo, la vibrazione trasversale sparisce e si mantiene quella longitudinale; avviene il contrario quando la luce è polarizzata perpendicolarmente. In tali condizioni le due bande appaiono diversamente colorate.

E' stato dimostrato sperimentalmente che aumentando la “ratio” dei nanorods il massimo di assorbimento della banda plasmonica longitudinale si sposta verso lunghezze d'onda più elevate (Figura 1.1.10); lo stesso andamento è stato osservato anche all'aumentare della costante dielettrica del mezzo (Figura 1.1.11) ^[12].

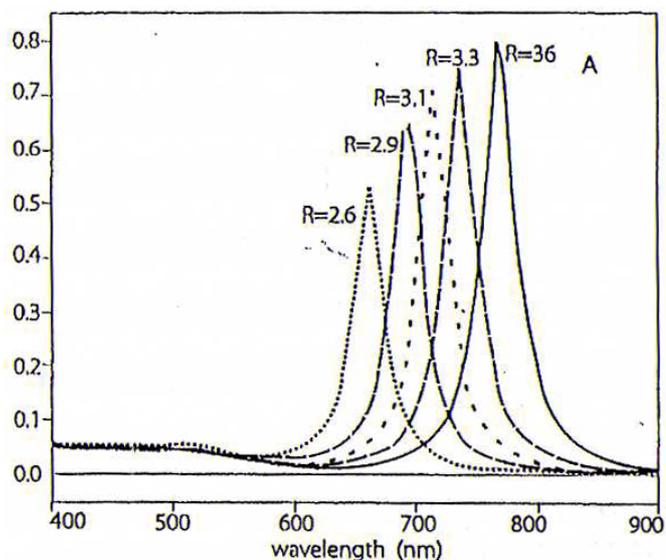


Figura 1.1. 10 - Spettri UV-Vis calcolati per rods di Au a ratio crescente (ϵ del mezzo = 2,05)

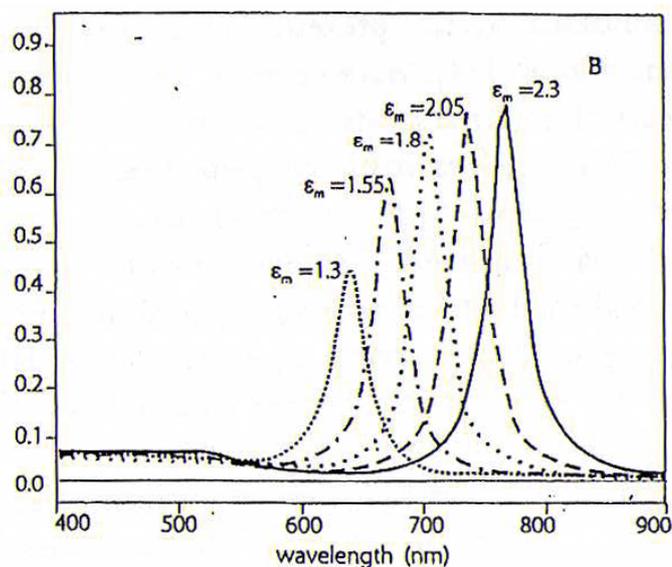


Figura 1.1. 11 - Spettri UV-Vis calcolati per rods di Au al variare della costante dielettrica del mezzo (ratio = 3,3) ^[12]

Nelle nanoparticelle di rame sferiche e nanorods, la prima differenza relativa alle particelle sferiche è la presenza di una banda plasmonica a più bassa energia. La figura 1.1.12 evidenzia gli spettri di assorbimento relativi a:

- a) nanoparticelle sferiche con diametro di circa 20 nm;
- b) nanorods con lunghezza di circa 116 nm e larghezza di circa 46 nm (b), in cui si osservano due picchi distinti corrispondenti alle bande plasmoniche associate alle oscillazioni elettroniche trasversali (472 nm) e longitudinali (740 nm);
- c) nanoparticelle sferiche con diametro di circa 4 nm (c).

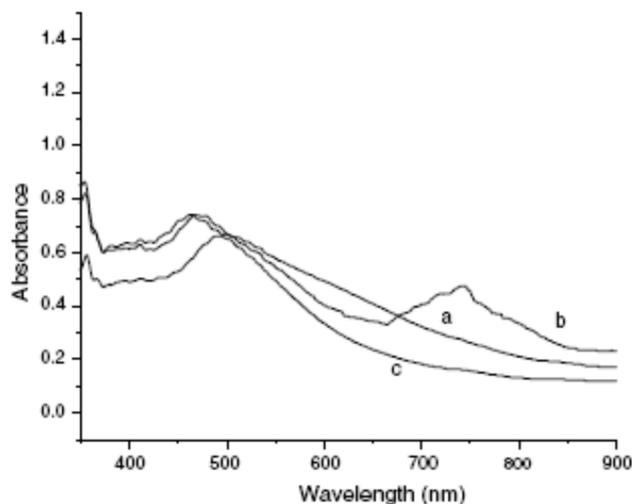


Figura 1.1. 12 - Spettri UV-Vis per nanoparticelle sferiche e nanorods di rame.
 Condizioni: $[CuSO_4] = 3.84 \cdot 10^{-4} M$, $[NaOH] = 2 \cdot 10^{-3} M$
 $[glucosio] = 5.78 \cdot 10^{-3} M$ (a), $8.68 \cdot 10^{-3} M$ (b), $1.1.16 \cdot 10^{-2} M$ (c) [13]

1.1.11.5 Ambiente dielettrico

La posizione dei picchi dei plasmoni superficiali è fortemente influenzata dalla dielettricità del mezzo in cui si trovano immerse le particelle [9]. Sulla base degli spostamenti delle bande dei plasmoni superficiali i disperdenti sono stati classificati in due categorie generali:

- Disperdenti che non complessano le nanoparticelle e che possono modificare l'indice di rifrazione
- Disperdenti che complessano le nanoparticelle.

Mezzi quali cicloesano, toluene, o-xylene, clorobenzene ed o-diclorobenzene ricadono nella prima classe e la banda plasmonica gradualmente si sposta verso lunghezze d'onda più elevate con l'aumento dell'indice di rifrazione del solvente.

Nei solventi complessanti (solventi con elettroni di non legame, come tetraidrofurano, dimetilformammide, dimetilsolfossido e acetone) le molecole di solvente sono in grado di penetrare attraverso lo scudo dell'agente "stabilizzante" organico, che riveste le particelle, e di interagire con la sostanza metallica, lasciando la posizione della banda inalterata.

Le peculiarità spettrali delle bande plasmoniche sono determinate dal rapporto tra le dimensioni nanoparticellari e la lunghezza d'onda della radiazione: quando questa è molto

più grande del diametro particellare i corpuscoli sono sottoposti ad un campo elettromagnetico uniforme.

All'aumentare del diametro il campo che interessa le particelle diventa meno uniforme e la luce non può polarizzarle in maniera omogenea, questo si traduce in uno sfasamento del campo applicato all'interno del materiale e le bande si allargano.

1.1.11.6 Assorbimento e scattering

L'eccitazione dei plasmoni superficiali nelle nanoparticelle dà luogo ad un forte incremento dei fenomeni di assorbimento, scattering e del campo elettrico locale nell'intorno delle particelle.

L'equazione di Maxwell per una sfera omogenea in un campo elettromagnetico fornisce una risposta analitica per il calcolo sia dell'intensità dello scattering che dell'assorbimento, in ogni caso questa soluzione presenta una limitazione: i risultati analitici sono validi solamente per particelle essenzialmente sferiche.

Si possono utilizzare metodi numerici approssimati per prevedere le proprietà ottiche di piccole particelle di forma arbitraria, ovviamente gli spettri sono sempre più complessi all'aumentare dell'asimmetria delle forme.

In conclusione, la grandezza dell'estinzione, così come il contributo relativo dello scattering, aumentano al crescere delle dimensioni nanoparticellari.

E' possibile verificare l'andamento del rapporto tra assorbimento e scattering al variare delle dimensioni e così individuare i loro contributi relativi all'estinzione totale.

Per nanoparticelle e nanorods di oro, ad esempio, l'aumento della ratio non produce effetti significativi sull'estinzione, quindi, per modificare il rapporto tra scattering ed assorbimento, si può agire solo sul raggio effettivo della particella (Figura 1.1.13) [14].

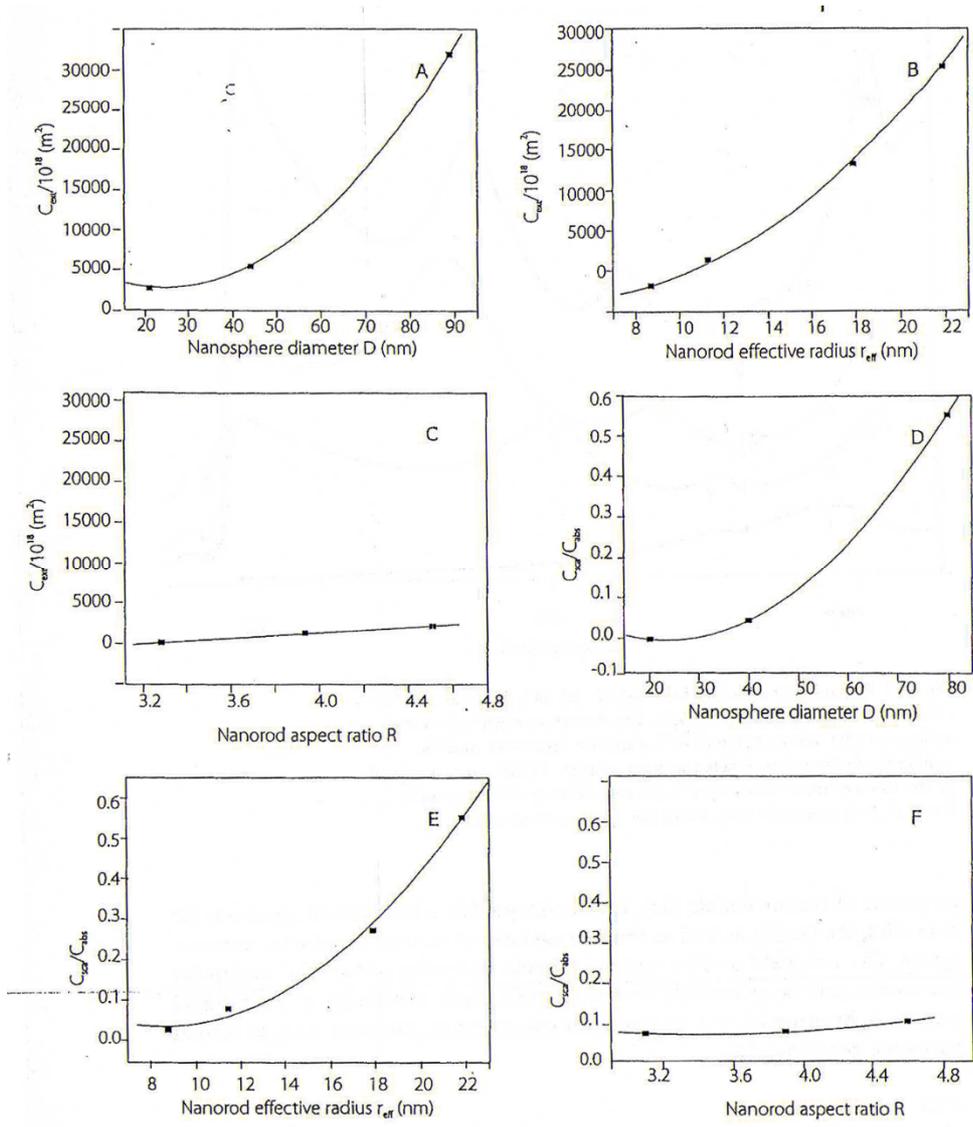


Figura 1.1. 13

Andamento dell'estinzione (A,B,C) e del rapporto scattering/assorbimento (D,E,F) in funzione del diametro (sfere: A,D), del raggio (nanorods: B,E) e della ratio (nanorods: C, F) per nanoparticelle di Au; costanti per i nanorods:

Raggio effettivo = 11,43 nm; ratio = 3,9^[14]

1.1.11.7 Risonanza Plasmonica nell'argento

Kumbhar e collaboratori^[15] hanno condotto uno studio delle proprietà ottiche specifiche di particelle di argento tra 10 nm e 215 nm; tali particelle sono state prodotte per riduzione con idrogeno dell'ossido di argento acquoso al fine di ottenere risultati indipendenti da agenti di rivestimento estranei.

Come riportato in figura 1.1.14 si nota che il numero di massimi di estinzione aumenta con l'aumentare del tempo di accrescimento concesso alle particelle, e quindi della relativa dimensione.

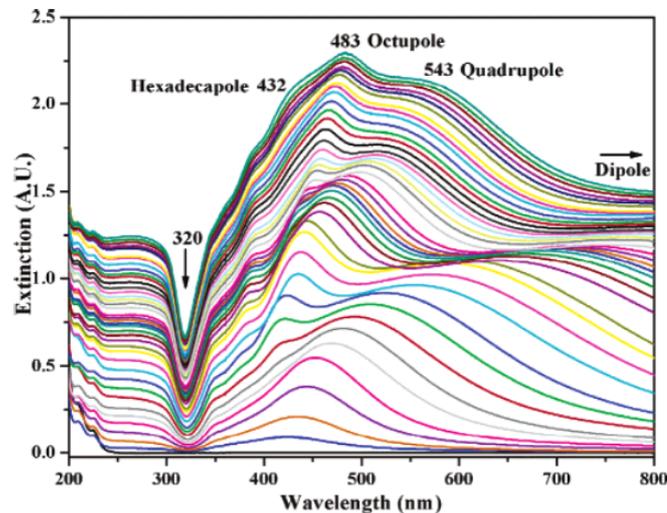


Figura 1.1.14

Spettri di estinzione di argento nanoparticellare sintetizzato per riduzione da idrogeno, tali spettri corrispondono a diverse aliquote prelevate dal reattore a distanza di 15 minuti dalla precedente. ^[15]

Per particelle tra 10 nm e 50 nm con morfologia sferica si attende la sola estinzione dovuta alla risonanza di dipolo mentre per particelle di maggiori dimensioni, a causa di un effetto di ritardo di propagazione del campo, emergono altri multipoli di risonanza; questa molteplicità di effetti di assorbimento e scattering provoca un cambiamento dell'aspetto delle sospensioni percepito, in prevalenza del solo assorbimento di dipolo l'aspetto appare giallo-arancione e trasparente, per particelle più grandi invece si ottengono sospensioni verde-grigio opalescenti ed opache, tendenti al giallo dopo diluizione.

È importante evidenziare due aspetti caratteristici di queste particelle:

- Ciascun multipolo compare nell'intervallo di banda tra 420 nm e 430 nm, con l'aumentare delle dimensioni della particella, subisce un progressivo red-shift; quando il precedente multipolo supera i 470 nm inizia a distinguersi il successivo, che evolve in un picco distinto e subisce anch'esso effetto di red-shift nel tempo.
- In accordo con l'equazione di Mie, i dati sperimentali mostrano un minimo a 320 nm dovuto ad una transizione intra-banda dell'argento, che attenua le oscillazioni plasmoniche.

1.1.12 Spettroscopia di assorbimento UV-Visibile

Il salto di banda di tutti i materiali semiconduttori ed isolanti aumenta monotonamente con il decrescere delle dimensioni dei cristalliti; tuttavia, l'aumento del gap è apprezzabile solo per dimensioni estremamente piccole, inferiori al raggio di Bohr, a_b , del materiale. L'aumento del gap di banda è facilmente osservabile mediante spettroscopia di assorbimento UV-Vis ed è indicata dallo spostamento della banda di assorbimento verso minori lunghezze d'onda: *blue-shift* (Figura 1.1.15 e 1.1.16); per tutti i materiali si apprezza un accrescimento del gap di banda al diminuire delle dimensioni [16, 11].

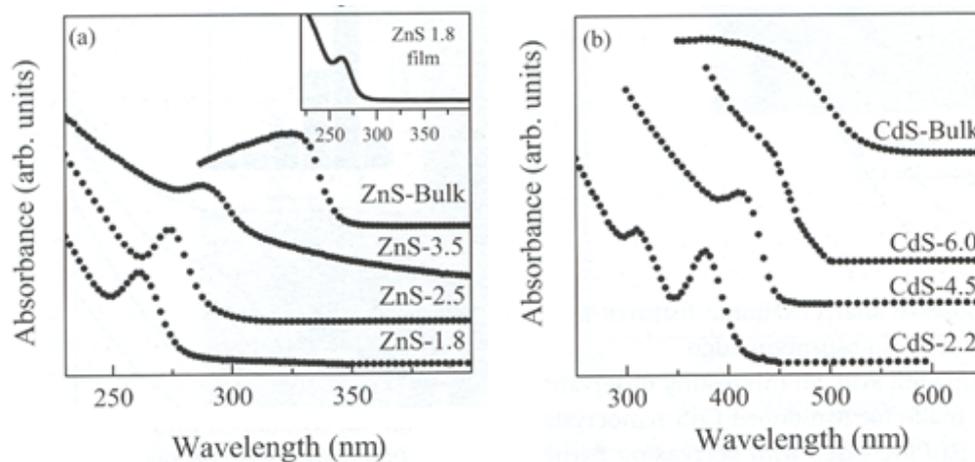


Figura 1.1. 145 - Spettri UV-Vis di: (a) nanocristalli di ZnS; (b) nanocristalli di CdS; entrambi eseguiti in dimetilformamide [16]

Dal blue shift della banda di assorbimento è possibile ricavare informazioni per lo più qualitative sulla dimensione dei cristalli, ma per indagare qualsiasi proprietà dipendente dalle dimensioni è importante che la distribuzione dimensionale sia uniforme. Per esempio, picchi stretti e allungati, come nel caso dei cristalli della figura 1.1.15 di dimensioni minori, indicano che i nanocristalli sono abbastanza monodispersi, mentre la presenza di picchi allargati indicano un alto grado di polidispersità all'interno della sospensione. Inoltre, quando il campione è molto polidisperso, si trovano più picchi a differenti energie, che corrispondono alle diverse dimensioni dei cristalli e i vari livelli di energia si sovrappongono causando la formazione di una banda allargata e non ben definita [16].

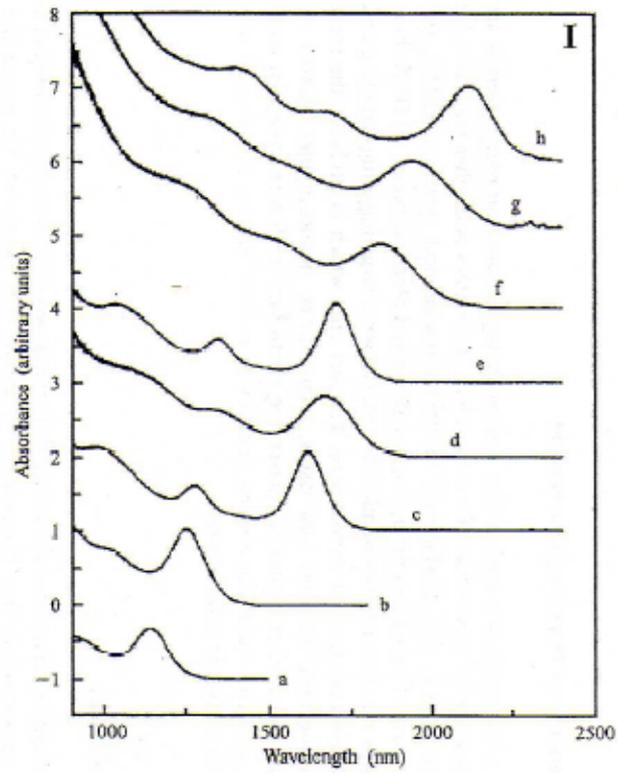


Figura 1.1. 156 - Spettri UV-Vis di cristalli di PbSe:
 (a) 3 nm, (b) 3,5 nm, (c) 4,5 nm, (d) 5 nm, (e) 5,5 nm, (f) 7 nm, (g) 8 nm, (h) 9 nm ^[16]

Bibliografia

- [1] C.N.R. Rao, A. Müller, A.K. Cheetham; “*The Chemistry of Nanomaterials. Synthesis, Properties and Applications*” Wiley-VCH **2005**, vol.I, 3-28
- [2] A.P. Alivisatos; “*Perspectives on Physical Chemistry of Semiconductor Nanocrystals*” J. Phys. Chem. **1996**, *100*, 13226-13239
- [3] C.N.R. Rao, G.U. Kulkarni, P.J. Thomas, P.P. Edwards; “*Size-Dependent Chemistry: Properties of Nanocrystals*” Chem. Eur. J. **2002**, *8*, 28-35
- [4] H. Gleiter; “*Nanostructured materials: basic concepts and microstructure*” Acta Mater. **2000**, *48*, 1-29
- [5] M. Fernandez-Garcia, A. Martinez-Arias, J.C. Hanson, J.A. Rodriguez; “*Nanostructured Oxides in Chemistry: Characterization and Properties*” Chem. Rev. **2004**, *104*, 4063-4104
- [6] Società Ceramica Italiana “*Colore, pigmenti e colorazione in ceramica*” Ed. Sala **2003**
- [7] F. Buchanan, R.J. Taylor, J.G. Helliwell; “*Application of Mie theory to opacification of zircon glazes*” British Ceramic Transaction **1998**, Vol. 97, No.2
- [8] A.C. Templeton, J.J. Pietron, R.W. Murray, P. Mulvaney; “*Solvent Refractive Index and Core Charge Influences on the Surface Plasmon Absorbance of Alkanethiolate Monolayer-Protected Gold Clusters*” J. Phys. Chem. B **2000**, *104*, 564-570
- [9] P. Mulvaney; “*Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles*” Langmuir **1996**, *12*, 788-800
- [10] S. Link, M.A. El-Sayed; “*Size and temperature dependence of the plasmon absorption of colloidal gold nanoparticles*” J. Phys. Chem. B **1999**, *103*, 4212-4217
- [11] T. Vossmeier, L. Katsikas, M. Giersig, I. G. Popovic, K. Diesner, A. Chemseddine, A. Eychmueller, H. Weller; “*CdS Nanoclusters: Synthesis, Characterization, Size Dependent Oscillator Strength, Temperature Shift of the Excitonic Transition Energy, and Reversible Absorbance Shift*” J. Phys. Chem. **1994**, *98*, 7665-7673
- [12] S. Link, M.A. El-Sayed, M.B. Mohamed; “*Simulation of the Optical Absorption Spectra of Gold Nanorods as a Function of Their Aspect Ratio and the Effect of the Medium Dielectric Constant*” J. Phys. Chem. B **2005**, *109*, 10531-10532
- [13] S. Panigrahi, S. Kundu, S. K. Ghosh, S. Nath, S. Praharaj, S. Basu, T. Pal; “*Selective one-pot synthesis of copper nanorods under surfactantless condition*” Polyhedron **2006**, *25*, 1263-1269

- [14] P.K. Jain, K.S. Lee, I.H. El-Sayed, M.A. El-Sayed; “*Calculated Absorption and Scattering Properties of Gold Nanoparticles of Different Size, Shape, and Composition: Applications in Biological Imaging and Biomedicine*” J. Phys. Chem. B 2006,110,7238-7248
- [15] A.S. Kumbhar, M.K. Kinnan, G.Chumanov; “*Multipole Plasmon Resonances of Submicron Silver Particles*” J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 12444-12445
- [17] C.N.R. Rao, A. Müller, A.K. Cheetham; “*The Chemistry of Nanomaterials. Synthesis, Properties and Applications*” Wiley-VCH 2005, vol. II, 374-378

1.2 SINTESI DI SOSPENSIONI NANOMETRICHE

1.2.1 Introduzione

Le particelle di dimensioni nanometriche inorganiche, sia di ossidi che di metalli, hanno acquistato notevole importanza nell'innovazione tecnologica di aree tradizionali come materiali ceramici, catalizzatori, componenti di elettronica. Il loro contributo permette di migliorare la tecnologia ed ampliare il campo di applicazione di questi materiali.

L'interesse del mondo scientifico/industriale verso nanoparticelle metalliche deriva dalle loro numerose possibili applicazioni. Infatti le loro proprietà conduttive, magnetiche, catalitiche ed ottiche le rendono interessanti per diversi settori: nella catalisi, nell'elettronica, nella ceramica, nella sensoristica, nei supporti magnetici ma anche in medicina in cui hanno dato inizio alla teragnostica: imaging biomedicale per diagnosi congiunto alla terapia.

La possibilità di poter modulare le proprietà del materiale regolandone dimensioni, forma o eventuali funzionalizzazioni ha suscitato l'interesse del mondo scientifico nei confronti di questi materiali, nel tentativo di trovare vie di sintesi sempre più versatili ed in grado di modulare ad hoc le caratteristiche dei prodotti ottenuti.

Per assicurare proprietà ottimali e riproducibili è necessario un metodo di sintesi che permetta un accurato controllo di forma, dimensioni, composizione e struttura delle particelle nanometriche.

Molti dei principali metodi di sintesi utilizzati tradizionalmente, sol-gel e microemulsione, non permettono un completo controllo delle dimensioni finali delle particelle e portano, nel caso di sospensioni, a bassi contenuti di solido; al contrario i metodi di sintesi in fase liquida presentano una grande flessibilità e soprattutto la possibilità di esercitare un più stretto controllo sulle proprietà dei nanomateriali, modificando i parametri di sintesi in base alle specifiche desiderate, inoltre la rielaborazione e lo stoccaggio di sospensioni risulta molto più facile e sicuro rispetto alla manipolazione delle polveri.

1.2.2 Vie di sintesi dei nanomateriali

I nanomateriali sono altamente influenzati, in termini di proprietà chimico-fisiche e struttura, dal metodo di preparazione utilizzato; si distinguono due diversi approcci nella realizzazione di materiali nanometrici (Figura 1.2.1).

- *Top down*: il metodo consiste nel raggiungere le dimensioni nanometriche, partendo da un materiale di dimensioni maggiori; il materiale massivo viene suddiviso in particelle più piccole, usando approcci di tipo meccanico, chimico o in altre forme;
- *Bottom up*: il materiale nanometrico è ottenuto partendo dai singoli atomi, opportunamente assemblati, mediante reazioni chimiche, permettendo al precursore di accrescere con le dimensioni e le caratteristiche desiderate.

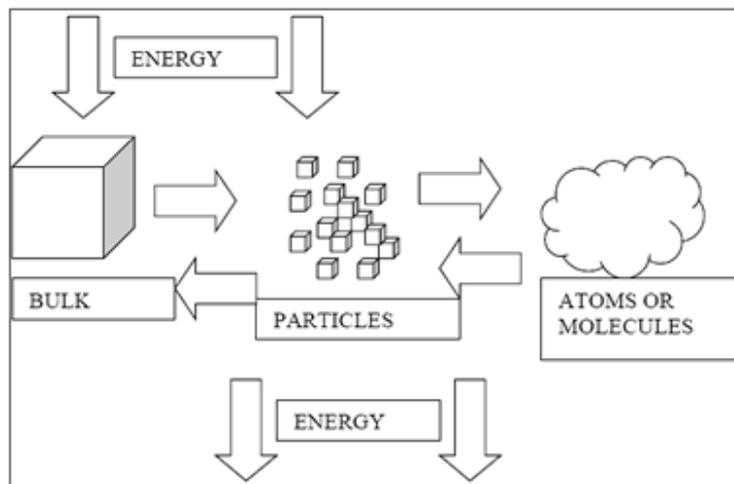


Figura 1.2. 1 - I due approcci fondamentali per la fabbricazione di nanomateriali: top down (da sinistra a destra) e bottom up (da destra a sinistra)

Entrambi gli approcci possono essere condotti in fase gas, in fase liquida, in fluidi supercritici, allo stato solido o sottovuoto; la maggior parte dei sistemi di sintesi ha come obiettivo il controllo più accurato possibile dei seguenti parametri:

- Dimensioni delle particelle
- Morfologia e forma
- Distribuzione delle dimensioni
- Composizione
- Grado di agglomerazione (nel caso siano sistemi colloidali)

Le principali vie di sintesi dei nanomateriali attualmente studiate sono:

- Metodo sol-gel
- Microemulsione
- Sintesi idrotermale
- Reazioni in fase vapore
- Sintesi in polialcoli
- Sintesi in acqua

Per quanto riguarda il metodo di riscaldamento si è sviluppato recentemente, a partire dalla metà degli anni '90, l'impiego del riscaldamento a microonde, da tempo diffuso nelle sintesi organiche, per la sintesi di nanoparticelle inorganiche, ottenute sia in acqua che in solventi organici.

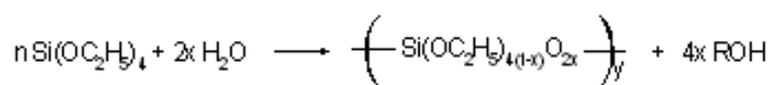
1.2.3 Metodo sol-gel ^[1]

Con il termine *sol* si intende una sospensione stabile di particelle solide colloidali all'interno di un liquido; il *gel* invece è costituito da una rete solida tridimensionale porosa che si espande in modo stabile in un mezzo liquido, limitata solo per la forma del contenitore.

Mediante tecnologia sol-gel è possibile produrre a temperature relativamente basse un'ampia varietà di materiali a base di ossidi inorganici usando come precursori complessi organometallici o alcossidi di silicio o di altri metalli.

Il processo *sol-gel* è versatile, poco costoso e facilmente applicabile; è utilizzato soprattutto per ottenere nanoparticelle colloidali, che vengono impiegate nella produzione di materiali avanzati come catalizzatori o rivestimenti (coatings); è indicato per la produzione di ossidi e di nanopolveri con composizione mista.

Il processo *sol-gel* da alcossidi implica: l'idrolisi dell'alcossido, la formazione di una sospensione colloidale e l'evoluzione di quest'ultima verso un gel in un processo di condensazione:



1.2.4 Microemulsione ^[2]

Una microemulsione è una dispersione termodinamicamente stabile di un liquido in un liquido con esso immiscibile, in forma di gocce di dimensioni submicrometriche (micelle), stabilizzate da un opportuno tensioattivo; l'uso delle microemulsioni nella produzione di materiali nanostrutturati consiste nell'impiego di micelle come reattori, in modo da limitare, data la loro dimensione, la crescita delle particelle ottenute.

La caratteristica più importante delle microemulsioni risiede, infatti, nella capacità di scambiare il contenuto delle gocce disperse; in particolare le micelle inverse (gocce d'acqua in olio) sono dei veri e propri compartimenti nanometrici che possono essere sfruttati per la riduzione o la precipitazione "in situ" di sali metallici o di materiali ceramici; è infatti sufficiente miscelare due microemulsioni, una contenente il sale metallico e l'altra l'agente riducente o precipitante, per ottenere delle particelle nanometriche.

Una volta che le particelle hanno raggiunto le dimensioni finali vengono stabilizzate dal tensioattivo che, adsorbendosi sulla superficie delle nanoparticelle, ne impedisce l'ulteriore accrescimento e permette quindi la formazione di una sospensione stabile.

1.2.5 Sintesi solvotermale

Si possono utilizzare comuni solventi organici (quindi generalmente basso-bollenti), lavorando in autoclave e quindi ad una temperatura di ebollizione ben superiore a quella a pressione ambiente; questi metodi sono comunemente impiegati nella preparazione di solidi inorganici, specialmente zeoliti ^[3].

Per esempio è possibile sintetizzare ZnSe (forma cristallina Wurtzite) nanoparticellare a partire dai metalli puri in etilendiammina ^[4]; oppure lavorare in toluene per la preparazione di CdSe a partire da stearato di cadmio e polvere di selenio ^[5]; sono dimostrati anche procedimenti a partire dai nitrati metallici in ambiente ammoniacale ^[6].

1.2.6 Sintesi in fase vapore

I metodi di sintesi in fase vapore possono classificarsi in metodi fisici e metodi chimici, in entrambi i casi si ottengono prodotti con dimensioni e caratteristiche controllate. I metodi fisici comprendono le diverse varianti della PVD (*physical vapour deposition*) e la condensazione atomica o molecolare, vengono impiegati per ottenere prodotti allo stato solido originati da metalli, ossidi, ceramici con determinate microstrutture.

Il metodo della deposizione di vapore è basato sul passaggio di stato vapore/solido: per riscaldamento si ottiene un vapore saturo di un metallo, che rapidamente raffreddato in atmosfera controllata si deposita su di un substrato; si distinguono numerose tecnologie a seconda della fonte di energia utilizzata: termica, elettrica, fotochimica o plasma; le proprietà del materiale finale sono modulabili variando le condizioni dell'ambiente, la fonte di calore, il substrato, ecc.

La condensazione atomica o molecolare è utilizzata per ottenere metalli nanoparticellari: un materiale solido è riscaldato sottovuoto, così da produrre un flusso di materia vaporizzata ed atomizzata, diretto ad una camera contenente gas, inerte o reattivo; il rapido raffreddamento degli atomi del metallo, provocato dalla loro collisione con le molecole di gas, porta alla formazione di nanoparticelle metalliche (se il gas è ossigeno si ottiene un ossido).

Questi metodi permettono di ottenere elevata purezza, ma sono costosi e laboriosi; tra i metodi chimici utilizzati per ottenere solidi nanostrutturati, è diffusa la deposizione chimica da vapore (*chemical vapour deposition, CVD*), in tutte le sue varianti, il principio è lo stesso del metodo PVD, ma il materiale finale è il risultato di una reazione chimica, avvenuta in fase vapore o sul substrato su cui il materiale si deposita.

Molti metodi di sintesi in fase gas di materiali nanoparticellari si svolgono a pressione ambiente o ridotta a partire da polveri; la distribuzione particellare che generalmente si ottiene è piuttosto ampia; ad esempio è possibile sintetizzare GaAs nanoparticellare a partire da $\text{Ga}(\text{CH}_3)_3$ e arsina, AsH_3 , in un sistema continuo [7].

1.2.7 Sintesi in polialcoli

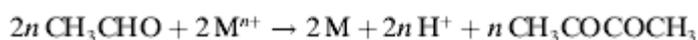
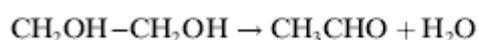
1.2.7.1 Introduzione

Una valida alternativa ai metodi di sintesi tradizionali è sicuramente rappresentata dalla sintesi in glicoli, polialcoli altobollenti con proprietà disperdenti, in grado di dissolvere sali inorganici; questo metodo permette di preparare metalli con morfologia controllata.

Attraverso il riscaldamento dei precursori in un alcol altobollente (es. dietilenglicole, DEG, o etilenglicole, EG) con proprietà riducenti, si ottiene un precipitato.

La sintesi in glicoli può essere schematizzata in tre fasi principali:

- 1) Solubilizzazione dei sali precursori del metallo nel diolo, scaldato ad una temperatura prefissata e mantenuto sotto agitazione, eventuale aggiunta di nuclei di metalli nobili nel caso di nucleazione eterogenea;
- 2) Eventuale aggiunta di una determinata quantità di acqua (eccetto che per la sintesi dei metalli) a seconda del grado di idrolisi desiderato, definito dal rapporto molare tra acqua aggiunta e metallo, dipende la tipologia delle particelle che si otterranno: metallo, ossido o idrossido;



- 3) Mantenimento del sistema sotto agitazione a temperature comprese tra 150-200°C; in questa fase si possono modulare tempo di reazione e temperatura in funzione delle caratteristiche finali desiderate.

La versatilità della sintesi in polialcoli è dimostrata da numerosi studi, nei quali si prova come, variando simultaneamente o separatamente, parametri quali tipologia del glicole, temperatura di reazione, grado di idrolisi, natura del precursore, tipo di additivo stabilizzante, pH del mezzo e tempo di reazione, si possano ottenere le caratteristiche finali desiderate; inoltre spesso hanno capacità chelanti nei confronti delle nanoparticelle, impedendone l'agglomerazione e quindi favorendo la stabilità della sospensione.

1.2.7.2 Nucleazione e crescita di nanoparticelle metalliche in polialcoli

Nella fase liquida si possono ottenere particelle con le caratteristiche desiderate mediante il controllo dei processi di nucleazione e crescita ^[8]; la loro dispersione è raggiunta sia mediante stabilizzazione elettrostatica, sia sterica.

La nucleazione può essere di due tipi ^[9]:

- 1) *Eterogenea*: prima del riscaldamento si aggiungono al glicole dei *semi solidi*, questi diventano i siti preferenziali per la crescita delle specie metalliche che si trovano disciolte nel polialcol;
- 2) *Omogenea*: la nucleazione avviene spontaneamente all'interno della fase liquida, il processo è generalmente più lento.

1.2.7.3 Controllo morfologico delle nanoparticelle

Il controllo morfologico delle nanoparticelle è un aspetto molto indagato permette di ottimizzarne numerose proprietà: elettroniche, ottiche, magnetiche, catalitiche, fondamentali per i molteplici campi di applicazione.

Le strategie utilizzate per controllare la morfologia sono numerose; per esempio è possibile modificare il decorso della reazione aggiungendo composti che generano intermedi di forme particolari o che rallentano il normale accrescimento favorendo forme anisotrope.

Ad esempio, recenti studi ^[10] mostrano come sia possibile ottenere un elevato controllo morfologico su nanoparticelle in crescita di platino variando opportunamente la quantità di NaNO_3 aggiunto al polialcol (Figura 1.2.2); in questo caso il precursore H_2PtCl_6 , viene ridotto dal solvente alcolico (etilenglicole) a PtCl_4^{2-} e a Pt^0 a 160°C .

Si è potuto osservare, tramite TEM (Figura 1.2.2), come all'aumentare del rapporto molare tra NaNO_3 e H_2PtCl_6 , da 0 a 11, evolva la morfologia delle nanoparticelle di platino passando da una forma sferoidale irregolare a strutture cristalline tetraedriche o ottaedriche con facce ben definite.

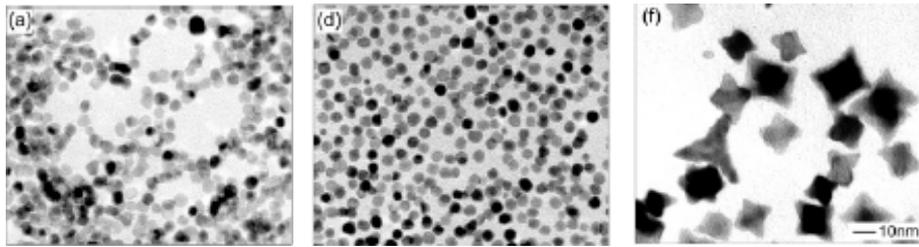


Figura 1.2. 2 - Micrografie TEM di nanoparticelle di platino sintetizzate con diversi rapporti tra NaNO_3 e H_2PtCl_6 : (a) 0, (d) 3,3, (f) 11; la scala di 10 nm è valida per tutte le immagini ^[10]

L'aumento di tale rapporto favorisce inoltre un accrescimento lungo alcune direzioni cristallografiche, producendo prominenze e aumentando la complessità geometrica del cristallo, come è ben visibile in figura 1.2.3.

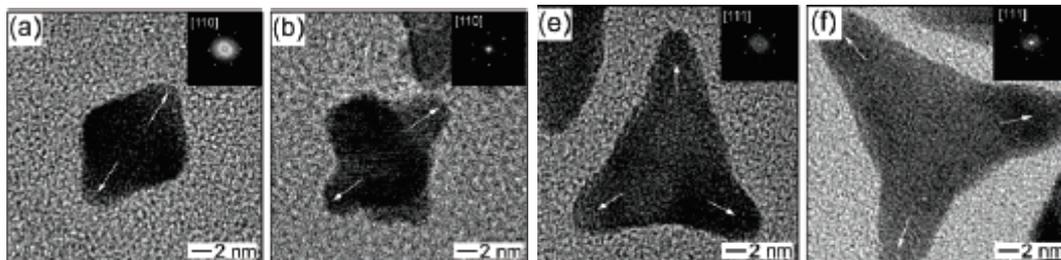


Figura 1.2. 3 - Micrografie HRTEM (high-resolution TEM) di nanoparticelle di Pt ottenute con rapporto diverso tra NaNO_3 e H_2PtCl_6 : (a,e) 5,5 ; (b,f) 11 ^[11]

Gli studi spettroscopici, effettuati nel corso della sintesi, mostrano che il nitrato è ridotto a nitrito da PtCl_4^{2-} nella prima fase e questo potrebbe poi formare complessi stabili con entrambe le specie Pt(II) e Pt(IV); dunque, il processo di riduzione dei precursori di platino da parte del glicole etilenico viene notevolmente rallentato, questo cambiamento nella cinetica di reazione modifica le direzioni cristallografiche preferenziali di crescita, portando alla formazione di molteplici morfologie.

Altri studi ^[11] mostrano come, sempre in glicoli, sia possibile controllare la morfologia di nanoparticelle di oro e argento, stabilizzate stericamente da PVP (polivinilpirrolidone) aggiunto nell'ambiente di reazione.

In particolare si è osservato come le microonde utilizzate come mezzo di riscaldamento permettano di ottenere più facilmente, rispetto alle vie di riscaldamento tradizionali, nanoparticelle di forme diverse da quella sferica, grazie al riscaldamento preferenziale e puntuale del microonde sugli agenti chelanti, come il PVP, che circondano i nuclei in formazione.

L'insorgere di punti termicamente favoriti, *hot spot*, permette così l'accrescimento lungo particolari direzioni cristallografiche (Figura 1.2.4) [12].

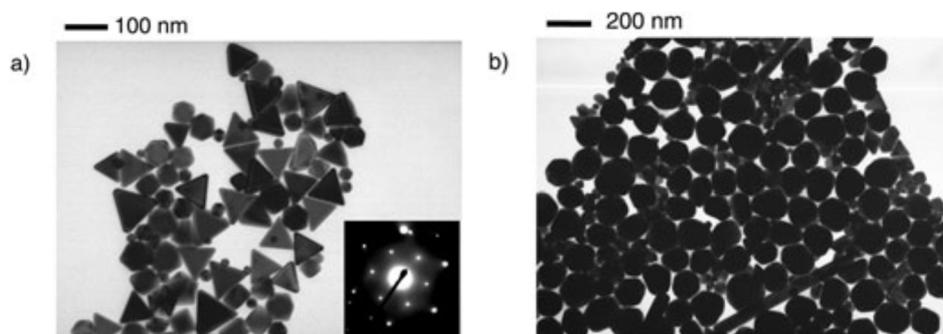


Figura 1.2. 4

Effetto del riscaldamento microonde sulle nanoparticelle di oro; con riscaldamento a microonde (a) si ottiene una maggiore formazione di particelle sfaccettate rispetto al riscaldamento tradizionale (b) [12]

Ancora, via microonde, si sono ottenute particelle di spessore molto ridotto rispetto agli altri assi e di forma poligonale (esagonali, triangolari e quadrati) di 30-90 nm [13] o allungate di tipo rods [14].

Risulta importante controllare la morfologia delle nanoparticelle sintetizzate, poiché a variazioni di forma corrispondono variazioni di proprietà e quindi di applicazione. Nel caso dei metalli nobili, differenze morfologiche sono spesso associate a variazioni di forma delle bande di assorbimento plasmonico. Gli studi riportati da Tsuji [13] evidenziano, soprattutto nei campioni sintetizzati mediante riscaldamento dielettrico, la presenza di bande di assorbimento UV-Vis con forme particolari (Figura 1.2.5).

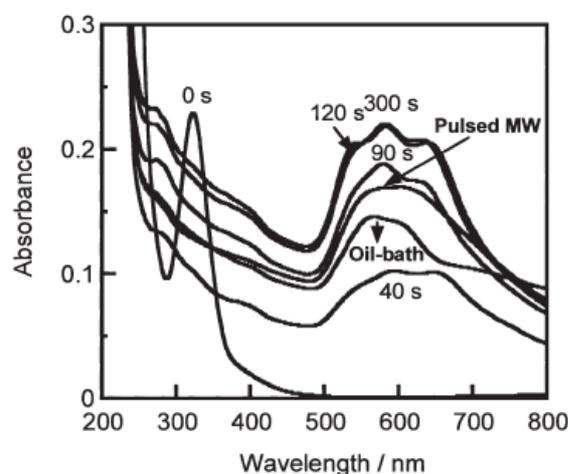


Figura 1.2. 5 - Spettri UV-Vis delle bande plasmoniche di campioni di oro sintetizzati con riscaldamento tradizionale (oil bath) e microonde (MW) [13]

In figura 1.2.5 si osserva infatti che la soluzione riscaldata in maniera tradizionale mostra la tipica banda dell'oro nanoparticellare a 525 nm, mentre per le soluzioni prodotte con riscaldamento a microonde si osservano più spalle di assorbimento e il massimo si trova spostato verso lunghezze d'onda maggiori. Tale variazione, confermata dalle osservazioni al TEM, è causata da cambiamenti di forma delle particelle, che da sferiche diventano planari poligonali. Nella soluzione riscaldata con microonde si osserva un maggior numero di particelle poligonali, mentre con il riscaldamento tradizionale è prevalente la morfologia sferica.

Anche sull'argento sono riportati diversi articoli che mostrano come l'effetto del riscaldamento dielettrico sulla sintesi in polialcoli promuova l'accrescimento di particelle allungate tipo nanorods. In figura 1.2.6 si osserva che aumentando il tempo di esposizione alle microonde, a parità di altre condizioni di reazione, si assiste al notevole incremento della densità di nanorods di argento ^[14].

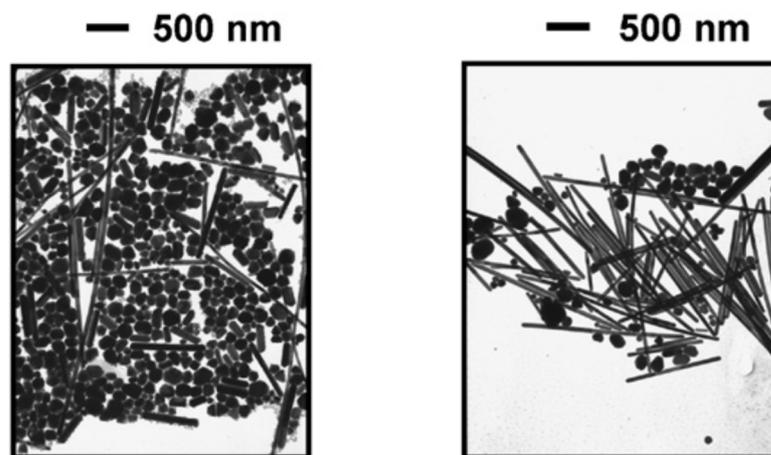


Figura 1.2. 6 - Campioni di Ag nanometrico sintetizzati nelle stesse condizioni ma su tempi diversi, riscaldamento microonde: (sinistra) 1,5 minuti, (destra) 3 minuti ^[14]

Un altro parametro in grado di variare la morfologia delle nanoparticelle è l'impiego di additivi in grado di adsorbirsi sulle nanoparticelle in crescita e agire da templanti. Spesso, infatti, vengono utilizzati additivi polimerici o tensioattivi a lunga catena per sintetizzare nanoparticelle allungate.

Uno studio condotto sulla sintesi assistita da microonde di nanorods di oro ^[15], in presenza di diversi additivi (alkyltrimethylammonio bromuro, C_nTAB n=10-16, acetilpiridinio cloruro, C₁₆PC e PVP) ha permesso di osservare una forte dipendenza tra tipo e concentrazione di surfattanti utilizzati e morfologia delle particelle ottenute.

Si è visto come la morfologia finale dipenda dalla lunghezza delle catene alchiliche dei surfattanti e dal tipo di gruppo idrofilico.

In figura 1.2.7 sono riportate immagini di nanoparticelle di argento, sintetizzate in polialcoli a diversi rapporti molari PVP/Ag, utilizzando un PVP ad alto peso molecolare^[16].

Si osserva come diminuendo tale rapporto molare sia favorito l'accrescimento di nanoparticelle allungate, poiché ad alte concentrazioni il polimero circonda totalmente le particelle e favorisce la formazione di geometrie sferiche.

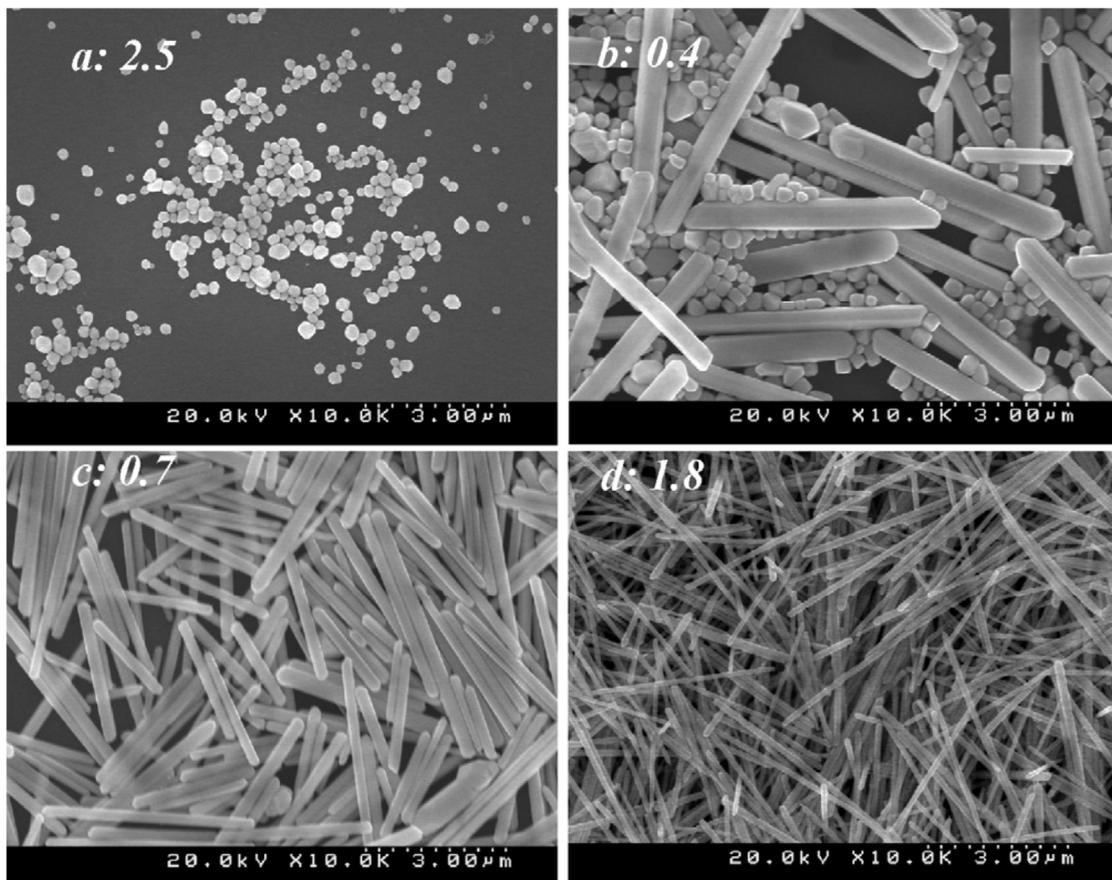


Figura 1.2. 7 - Immagini SEM di nanorods di argento preparati con rapporti molari PVP/Ag⁺ diversi; (a) 2,5 ; (b) 0,4 ; (c) 0,7 ; (d) 1,8^[16]

1.2.8 Sintesi in acqua

1.2.8.1 Introduzione

La sintesi di nanoparticelle metalliche può essere effettuata anche in acqua, in presenza di agenti riducenti e additivi protettivi in grado di proteggere dall'aggregazione le nanoparticelle formate (per repulsione sterica o elettrostatica a seconda del tipo di additivo introdotto). Poiché l'acqua non possiede proprietà chelanti per queste sintesi vengono solitamente utilizzate maggiori quantità di polimero protettivo rispetto alle sintesi in polialcoli.

In certi casi invece è lo stesso agente riducente, introdotto in largo eccesso, che può fungere anche da protettivo: ad esempio Raveendran e collaboratori [17] effettuano la riduzione di Au^{3+} in ambiente acquoso utilizzando il glucosio nella doppia funzione di riducente e protettivo, con un meccanismo di protezione di tipo elettrostatico. Analogamente Panigrahi e collaboratori dimostrano che glucosio e acido gluconico possono stabilizzare nanoparticelle di rame, sintetizzate partendo da CuSO_4 in presenza di glucosio e NaOH [18].

1.2.8.2 Effetto della concentrazione di riducente, del pH (NaOH) e della temperatura

La quantità di riducente è un fattore fondamentale per il controllo delle dimensioni delle nanoparticelle; generalmente alte concentrazioni di riducente portano alla formazione di un maggior numero di nuclei, se questi nuclei sono stabili la distribuzione sarà costituita da un gran numero di particelle piccole.

Questo fenomeno può essere chiaramente osservato indirettamente dallo spostamento della banda plasmonica della sospensione nanometrica verso lunghezze d'onda più basse (blue-shift), quindi con una diminuzione delle dimensioni particellari, all'aumentare della concentrazione di riducente, nell'esempio illustrato in figura 1.2.8 si tratta di glucosio [17]. Nelle sintesi in acqua il pH gioca un ruolo molto importante: ad esempio l'aggiunta di NaOH incrementa notevolmente il potere riducente del glucosio [19] permettendo di ottenere nanoparticelle più piccole.

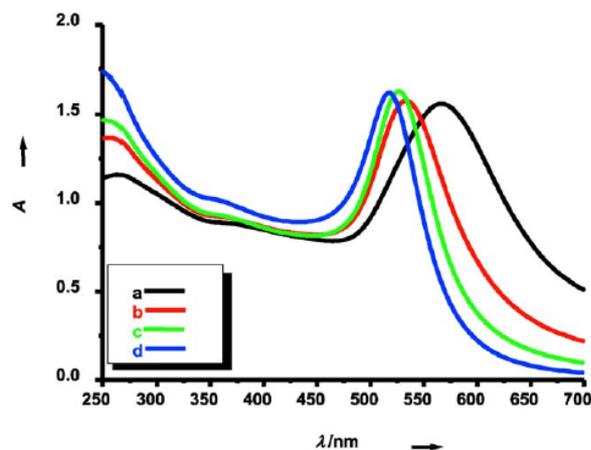


Figura 1.2. 8 - Effetto della concentrazione di glucosio sulla banda plasmonica di nanoparticelle di oro: (a) $5 \times 10^{-3} M$; (b) $1 \times 10^{-2} M$; (c) $3 \times 10^{-2} M$; (d) $5 \times 10^{-2} M$; pH 7.0 ^[17]

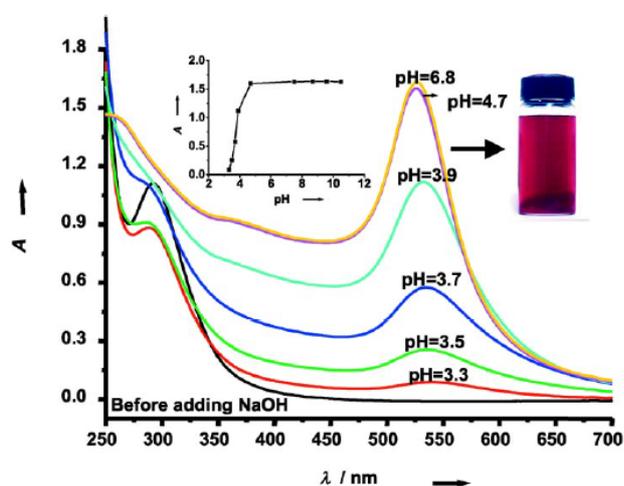


Figura 1.2. 9 - Effetto del pH sulla banda plasmonica di nanoparticelle di oro ottenute mediante riduzione con glucosio ^[17]

Nell'esempio illustrato in figura 1.2.9 si può osservare come l'innalzamento del pH derivante dalla presenza di una maggiore quantità di sodio idrossido nella reazione di riduzione di Au^{3+} con glucosio porti ad un incremento dell'intensità della banda plasmonica e al blue shift della banda stessa; lo stesso risultato si ottiene in una sintesi ^[20] in cui l'azione protettiva è svolta da amido e non dal glucosio stesso (Figura 1.2.10).

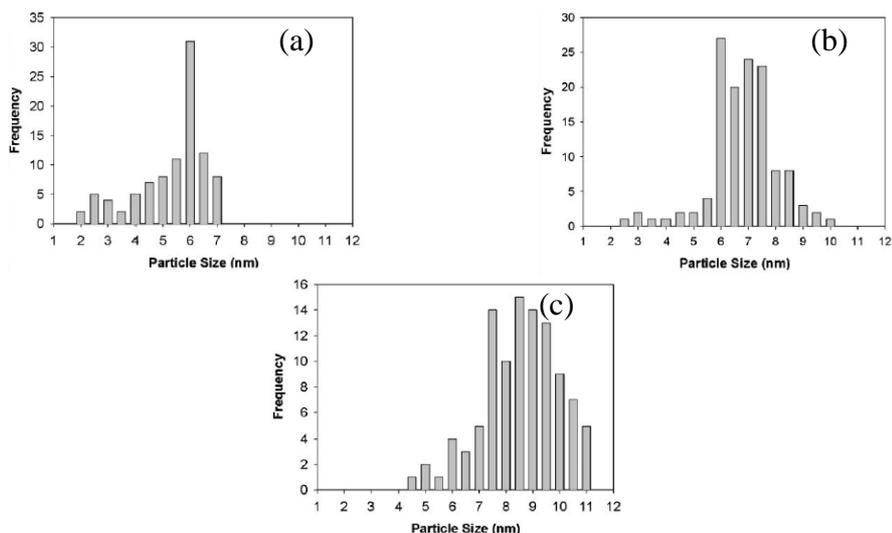


Figura 1.2. 10 - Effetto del pH sulla distribuzione (dati TEM) di nanoparticelle di oro ottenute mediante riduzione con glucosio: (a) pH 10.17, $d = 5,6 \text{ nm}$; (b) pH 9.84, $d = 6,70 \text{ nm}$; (c) pH 9.44, $d = 8,80 \text{ nm}$ [20]

Nella sintesi di nanoparticelle metalliche con glucosio, il sodio idrossido, oltre a ridurre le dimensioni particellari, contribuisce, nel caso dell'argento, anche dal punto di vista cinetico [19], favorendo la formazione di un intermedio instabile, Ag_2O , che viene poi ridotto più facilmente ad argento metallico comportando un'accelerazione complessiva della conversione del precursore (Figura 1.2.11).

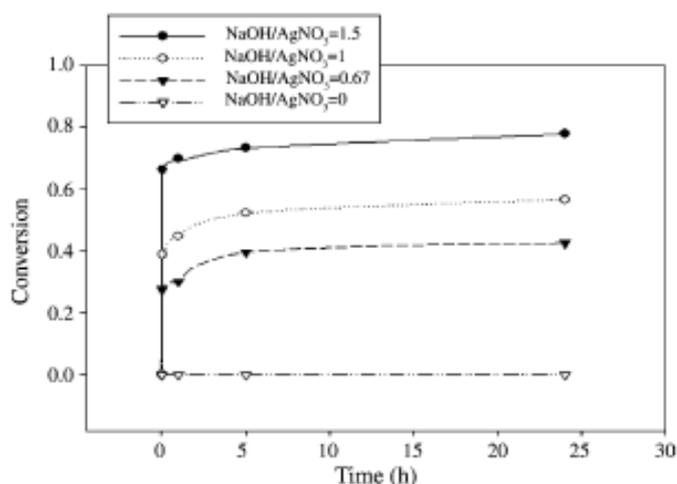


Figura 1.2. 11 - Conversione nel tempo di Ag^+ mediante riduzione con glucosio con differenti quantità di sodio idrossido [19]

L'effetto complessivo è simile a quello determinato dall'aumento di temperatura (Figura 1.2.12). Per queste reazioni di riduzione con glucosio ed NaOH in soluzione acquosa infatti si fa spesso riferimento al sodio idrossido, come ad un catalizzatore.

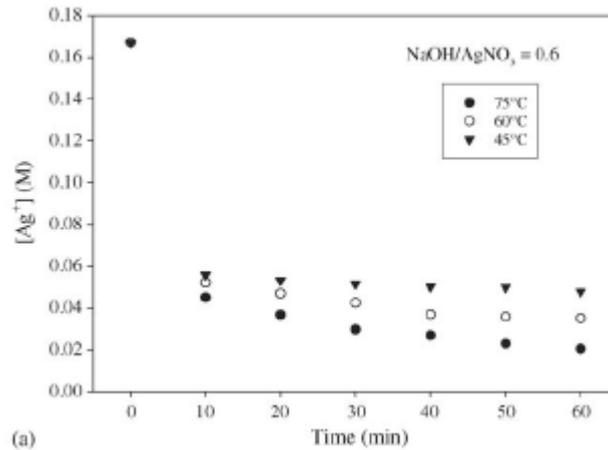


Figura 1.2. 12 - Conversione nel tempo di Ag^+ mediante riduzione con glucosio e NaOH a differenti temperature ^[19]

La quantità di glucosio, come riducente, e la presenza di ioni OH^- possono influenzare anche la morfologia delle nanoparticelle, in quanto responsabili del meccanismo di nucleazione e del successivo accrescimento.

Panigrahi e collaboratori ottengono nanoparticelle di rame con diversa morfologia e dimensione impiegando diverse quantità di glucosio. Le immagini TEM (Figura 1.2.13) mostrano infatti nanoparticelle sferiche con diametro di circa 20 nm (a), nanorods con lunghezza di circa 116 nm e con larghezza di circa 46 nm (b), e nanoparticelle sferiche con diametro di circa 4 nm (c); ottenute utilizzando rispettivamente 0,2 g, 0,3 g e 0,4 g di glucosio ^[18].

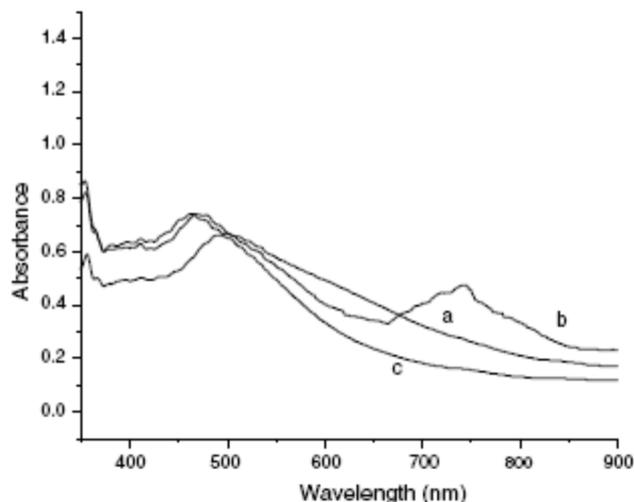


Figura 1.2. 13 - Immagini TEM di nanoparticelle di rame.
(a) Nanoparticelle sferiche (b) Nanorods (c) Nanoparticelle sferiche.

Condizioni: $[CuSO_4] = 3,84 \times 10^{-4}M$, $[NaOH] = 2 \times 10^{-3}M$,
 $[glucosio] = 5,78 \times 10^{-3}M$ (a), $8,68 \times 10^{-3}M$ (b) e $1,16 \times 10^{-2}M$ (c) ^[18]

1.2.8.3 Effetto degli additivi chelanti

Recenti studi testimoniano il ruolo fondamentale e bivalente del polivinilpirrolidone (PVP) nella sintesi di nanometalli in mezzi acquosi, dove è mostrato che il PVP può essere impiegato sia come riducente che come stabilizzante ^[21, 22].

Infatti, il polivinilpirrolidone, polimero polivinilico, solubile in acqua e in alcol, è prevalentemente utilizzato nelle sintesi di nanoparticelle perché è in grado di conferire stabilità sterica alle sospensioni colloidali. Tuttavia, si è osservato come il PVP non agisca solamente come agente stabilizzante, ma anche come agente riducente. Infatti sono state messe a punto sintesi in acqua che a partire dai sali solubili di metalli nobili permettono di ottenere sospensioni stabili, con il solo impiego di PVP come riducente e stabilizzante.

Si è dimostrato che il ruolo riducente del PVP è dovuto da due principali fattori:

- *Presenza di gruppi OH terminali*, il cui effetto è stato provato utilizzando PVP con diversi pesi molecolari, osservando come il potere riducente sia maggiore con minori pesi molecolari, e quindi all'aumentare dei gruppi OH terminali.
- *Tendenza all'ossidazione del polimero*, dovuta alla presenza di residui perossidici derivanti dalla stessa sintesi del PVP, che lo rendono facilmente ossidabile con l'aumento della temperatura.

La presenza dei cationi metallici della serie di transizione, inoltre, catalizza l'ossidazione della macromolecola, generando macroradicali.

In letteratura si riportano sia per oro che per argento sintesi che utilizzando solamente il potere riducente del polimero permettono di ottenere sospensioni stabili in acqua ^[21].

I rapporti PVP/metallo utilizzati sono molto elevati (da 20 a 6000) e sia per l'oro che per l'argento si riscontra, all'aumentare della concentrazione di PVP, una diminuzione delle dimensioni particellari, con un incremento della cinetica di reazione (Figura 1.2.14).

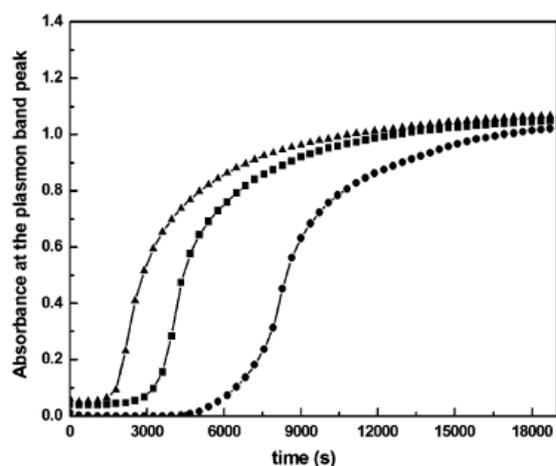


Figura 1.2. 14 - Variazione di intensità della banda plasmonica in funzione del tempo, per concentrazioni di PVP crescenti a concentrazione di precursore fissata [20]

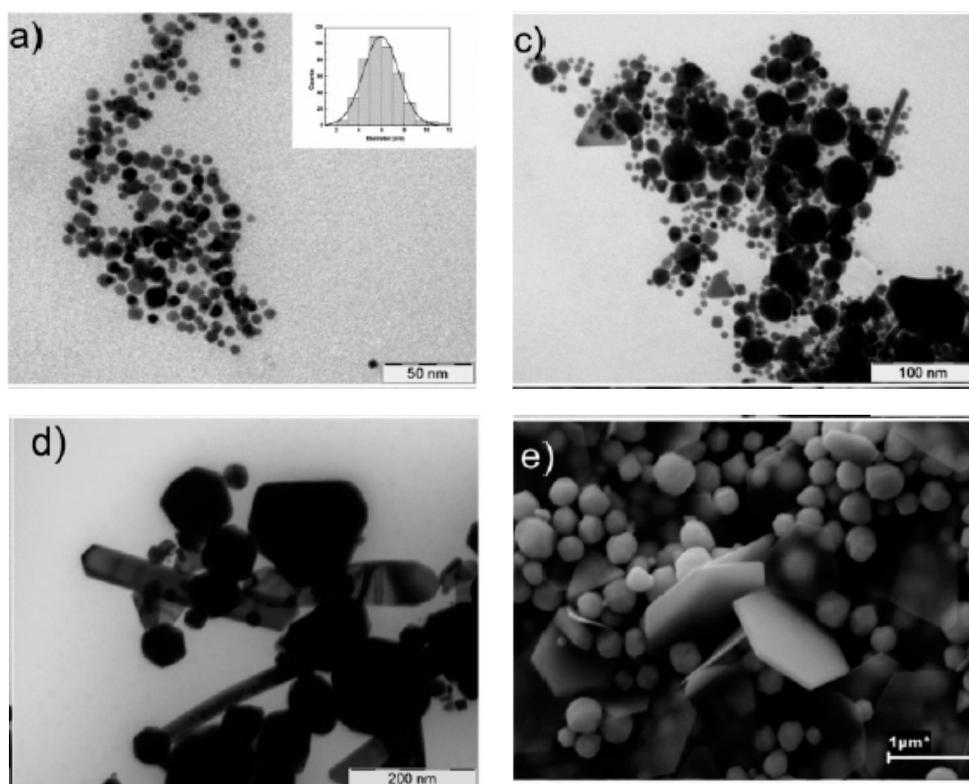


Figura 1.2. 15 - Abbassando il rapporto tra le concentrazioni di PVP e di precursore aumentano le dimensioni delle particelle e il loro carattere anisotropo [21]

Inoltre si può osservare (Figura 1.2.15) come l'incremento del rapporto PVP/precursore non determini solo variazioni di dimensioni, ma anche di forma. Alti rapporti originano particelle sferiche monodisperse, viceversa si ottengono particelle più grandi, polidisperse e anisotrope.

Questi effetti sono molto comuni con l'utilizzo di agenti protettivi e costituiscono lo strumento più semplice per ottenere la morfologia desiderata; ad esempio nella sintesi di Cu_2O nanoparticellare [23] l'incremento della concentrazione di CTAB consente il passaggio progressivo da una morfologia sferica ad una poligonale (Figura 1.2.16).

Anche la lunghezza della catena di polivinilpirrolidone influisce su forma e dimensioni delle particelle, oltre che sul colore [24]; generalmente con catene corte si ottengono piccole nanoparticelle sferiche, mentre aumentando il peso molecolare del PVP si ottiene un aumento dei raggi particellari (Figura 1.2.17), una prevalenza di forme poligonali ed un red shift degli spettri UV-Vis.

Questo perché l'accresciuta lunghezza di catena favorisce la crescita delle nanoparticelle lungo piani cristallografici preferenziali, dando così origine ad una prevalenza di forme allungate o poligonali (Figura 1.2.18).

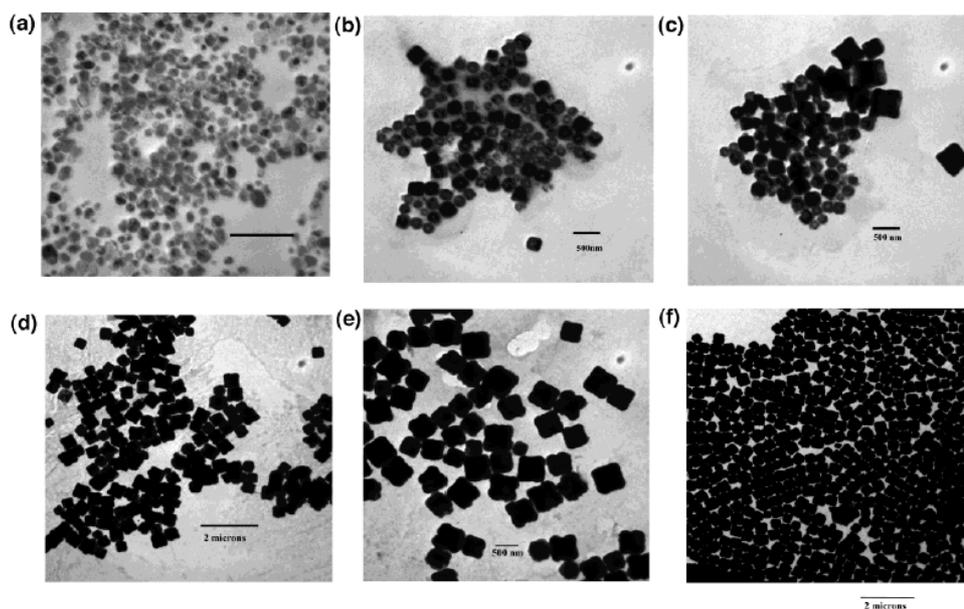


Figura 1.2. 16

Micrografie TEM di nanoparticelle di Cu_2O preparate a differenti concentrazioni di CTAB:
(a) 0,01 M ; (b) 0,02 M ; (c) 0,04 M ; (d) 0,06 M ; (e) 0,08 M ; (f) 0,10 M ;
(a, b, c, e) scala da 500 nm, (d, f) scala da 2 μm [23]

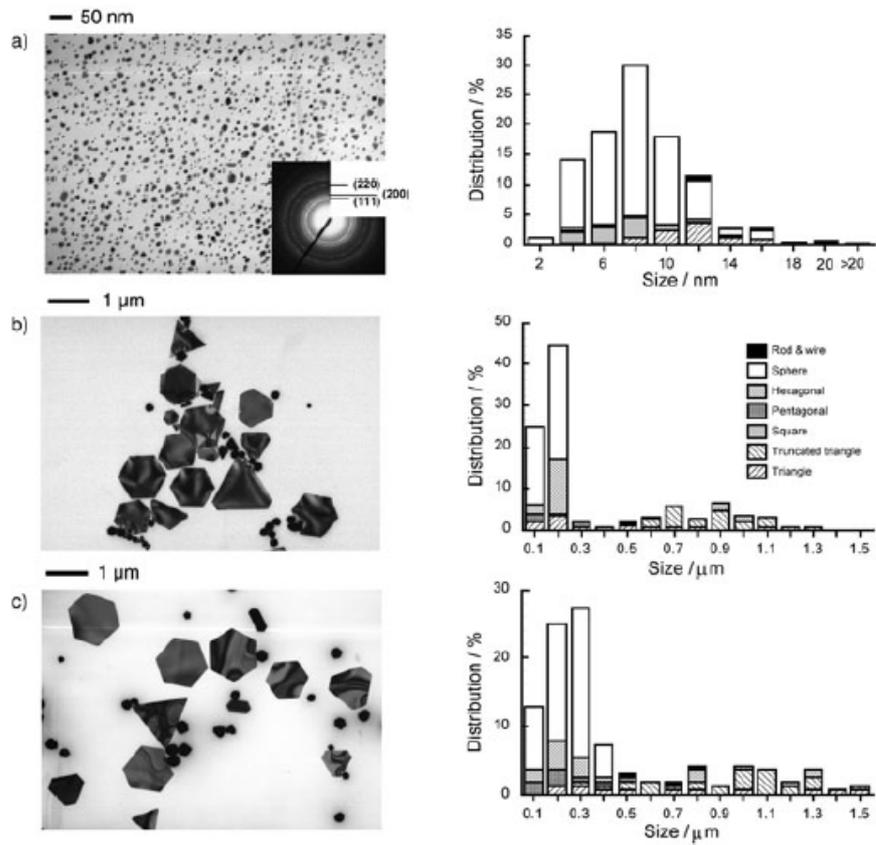


Figura 1.2. 17 - Micrografie TEM e PaSD di nanoparticelle di oro sintetizzate in H_2O con PVP a diversa lunghezza di catena: (a) 10 K, (b) 40 K, (c) 360 K ^[12]

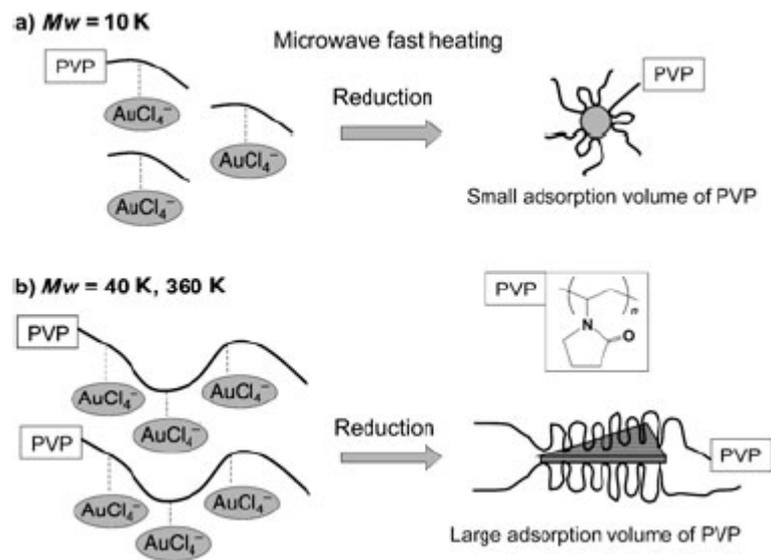


Figura 1.2. 18 - Schema di formazione di nanoparticelle di oro in H_2O utilizzando PVP a lunghezza di catena ^[12]

Da una sintesi di nanoparticelle di argento ^[25], condotta per via elettrochimica con PVP come riducente e stabilizzante, si possono confrontare le intensità e le lunghezze d'onda per diversi pesi molecolari (Figura 1.2.19); si noti come il risultato migliore sia prodotto da un compromesso tra la stabilizzazione, assicurata dalle catene più lunghe, e l'attività chimica dovuta al numero di gruppi terminali.

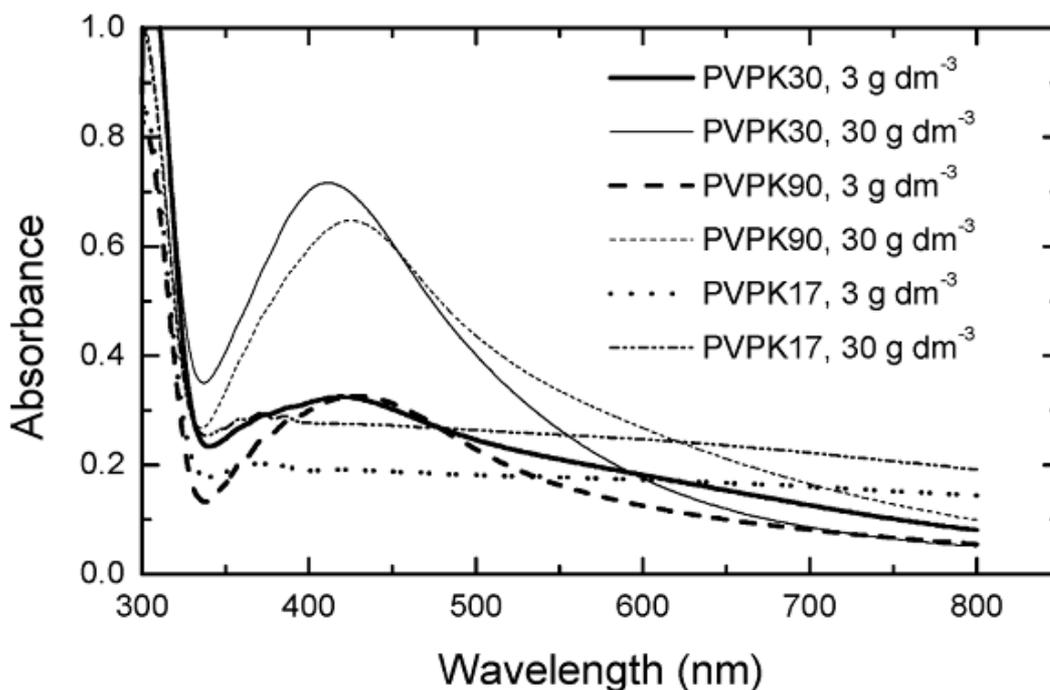


Figura 1.2. 19

Spettro di estinzione UV-Vis per particelle di argento sintetizzate per 180s con agenti di rivestimento a diversa concentrazione e/o lunghezza di catena crescente: PVPK3 < PVPK30 < PVPK90 ^[25]

1.2.8.4 Effetto del tipo di riscaldamento e della concentrazione di precursore

La sintesi assistita da microonde è attualmente di grande interesse perché è molto rapida e garantisce maggiore riproducibilità e la possibilità di modulare dimensione e forma delle particelle ^[26]: infatti un riscaldamento in continuo porta a nanostrutture sferiche di piccole dimensioni monodisperse, mentre un riscaldamento ad onda pulsata garantisce una prevalenza di forme poligonali.

Il riscaldamento tradizionale generalmente produce una prevalenza della morfologia sferica, ma con dimensioni e dispersione maggiore rispetto al riscaldamento a microonde (Figura 1.2.19).

Questo fenomeno è dovuto al riscaldamento preferenziale e puntuale del microonde sugli agenti chelanti (in questo caso PVP), che circondano i nuclei in formazione. L'insorgere di hot spot, favoriti dal riscaldamento pulsato, permette così l'accrescimento lungo particolari direzioni cristallografiche; lo stesso effetto si registra per l'argento [12] aumentando la concentrazione di precursore, favorendo in questo modo l'aggregazione di più nuclei sferici a formare nanoparticelle poligonali (Figura 1.2.20).

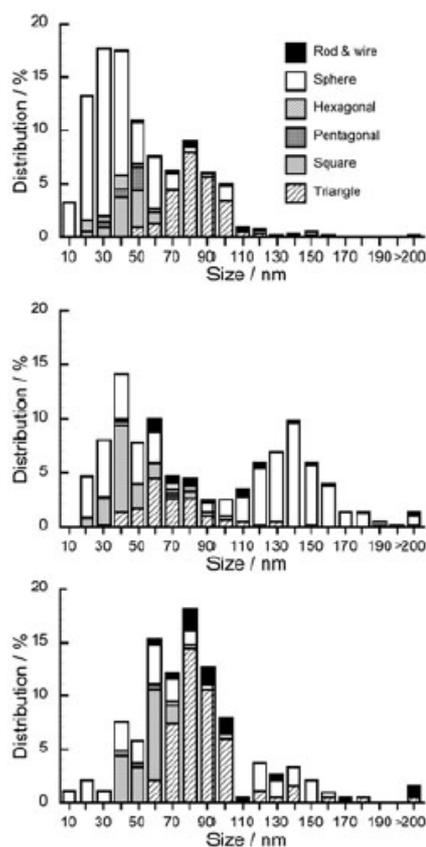


Figura 1.2. 20 - PaSD di nanoparticelle di oro sintetizzate in H₂O con PVP 40K con diverse tipologie di riscaldamento: (a) 2 minuti MW continuo, (b) 19 minuti tradizionale, (c) 19 minuti MW pulsato [12]

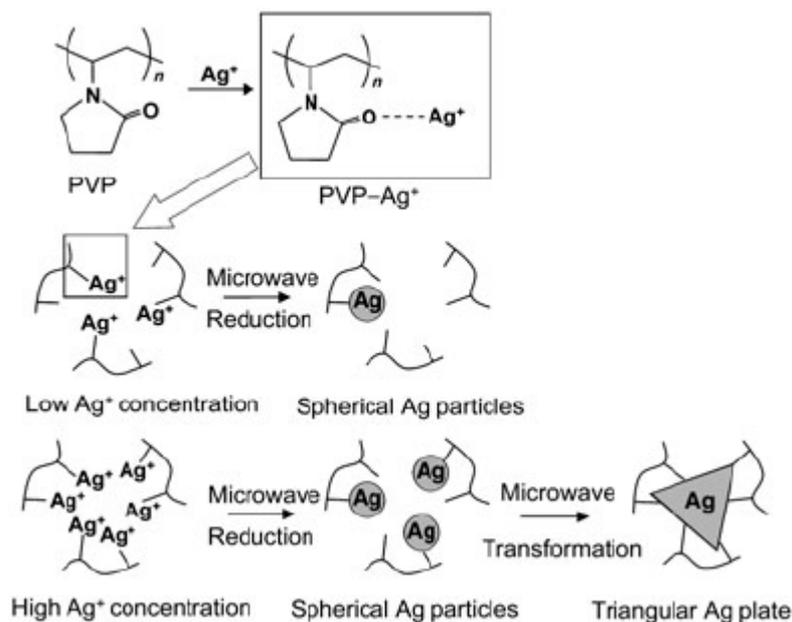


Figura 1.2. 21 - Schema di formazione di nanoparticelle di argento in H₂O con PVP, utilizzando riscaldamento a microonde con differenti concentrazioni di precursore [12]

1.2.9 Eco-compatibilità delle sintesi

Un aspetto importante da considerare, al fine delle applicazioni farmaceutiche, biomedicali e cosmetiche oltre che per la crescente attenzione verso la sicurezza e lo sfruttamento di risorse rinnovabili, è quello della eco e bio compatibilità delle particelle formulate (Fig 1.2.22). Tale attenzione deve essere posta al principio, nella fase di progettazione di un nuovo materiale, cominciando dal tipo di sintesi e dalla selezione dei reattivi.



Figura 1.2. 22 - Principali considerazioni nella preparazione di nanomateriali "green" [31]

Per raggiungere tali obiettivi devono essere evitate le sintesi che prevedono l'impiego di solventi potenzialmente dannosi per l'ambiente, come di specie riducenti molto reattive, quali il sodio-boro idruro; la ricerca ha posto attenzione quindi a processi di biomimetica: studiando sistemi naturali che producono nanoparticelle se ne ricavano i modelli da applicare per lo sviluppo tecnologico.

Uno studio condotto nel 2011 [32] ha evidenziato come certe famiglie di lieviti siano in grado di produrre nanoparticelle d'oro attraverso reazioni biochimiche, con dimensioni e morfologia vincolate dal processo enzimatico che le ottiene; successivi test hanno permesso di riprodurre tali particelle su campioni coltivati di questi lieviti (Figura 1.2.23).

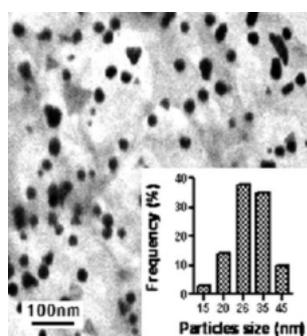


Figura 1.2. 23 - Immagine TEM di nanoparticelle d'oro ottenute da A.Pullulans.

Inset: distribuzione delle dimensioni (29 ± 6 nm) [32]

Si è notato^[33], per metalli quali argento e palladio, come il ruolo duplice di riducente e stabilizzante possa essere svolto da diverse sostanze presenti in natura, e sicure per l'uomo, come i polifenoli o i flavonoidi estratti da tè o caffè (Figura 1.2.23); tali sintesi sono soggette ad elevate variazioni di prodotti in relazione alla matrice biologica impiegata come fonte dei reattivi, cambiando fonte infatti sono state ottenute particelle da 5 nm a 100 nm.

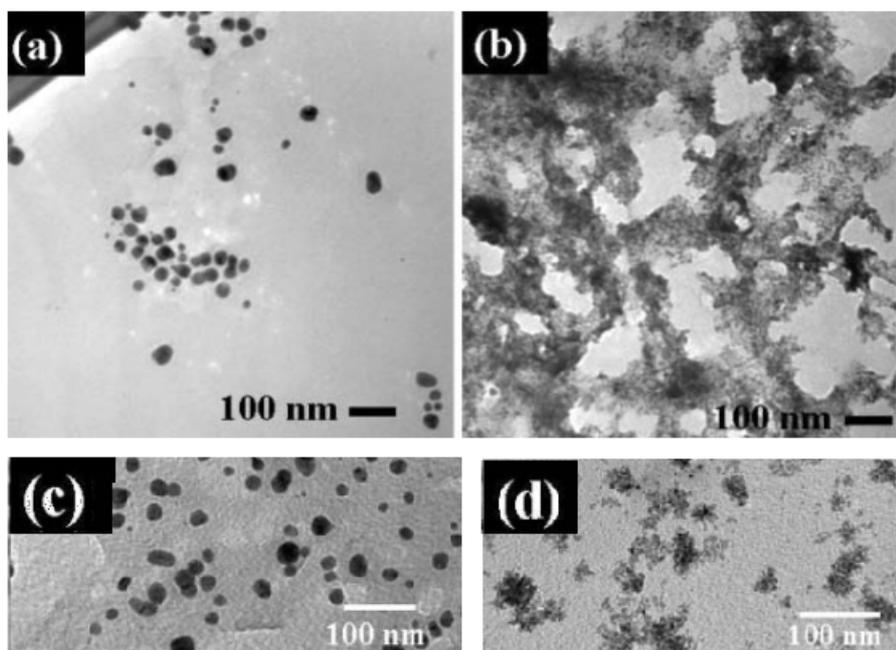


Figura 1.2. 24

Immagini TEM di argento (a,c) e palladio (b,d) ridotti con tè (a,b) o con catechina (c,d) ^[33]

Gli studi già menzionati per l'impiego di glucosio come riducente sono stati ulteriormente approfonditi ^[34] per cercare sostanze simili, utili alla sintesi e con proprietà templanti per l'accrescimento; è stato dimostrato come sia possibile effettuare una sintesi di nanoparticelle di argento in acqua con amilosio, la parte solubile dell'amido, il quale opera da riducente con i gruppi aldeidici terminali delle catene e riesce a chelare e stabilizzare le particelle formate.

Bibliografia

- [1] C.J. Brinker, G.W. Scherer; “*Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*” Academic Press Inc. New York **1990**
- [2] M.A. López-Quintela; Curr. Opin. “*Synthesis of nanomaterials in microemulsions: formation mechanisms and growth control*” Colloid Interface Sci. **2003**, 8, 137-144
- [3] M. Rajamathi, R. Seshadri; “*Oxide and chalcogenide nanoparticles from hydrothermal/solvothermal reactions*” Curr. Opin. Solid State Mater. Sci. **2002**, 6, 337-345
- [4] J.H. Zhan, X.G. Yhang, W. X. Zhang, D. W. Wang, Y. Xie, Y. T. Qian; “*A solvothermal route to wurtzite ZnSe nanoparticles*” J. Mater. Res. **2000**, 15, 629-632
- [5] P.W.D. Mitchell, P.E.D. Morgan; “*Direct Precipitation Method for Complex Crystalline Chalcogenides*” J. Am. Ceram. Soc. **1974**, 57, 278-279
- [6] S. Komarneni, M.C. D’Arrigo, C. Leonelli, G.C. Pellacani, H. Katsuki; “*Microwave-Hydrothermal Synthesis of Nanophase Ferrites*” J. Am. Ceram. Soc. **1998**, 81, 3041-3043
- [7] P.C. Sercel, W.A. Saunders, H.A. Atwater, K.J. Vahala; “*Nanometer-scale GaAs clusters from organometallic precursors*” Appl. Phys. Lett. **1992**, 61, 696-698
- [8] G. Viau, P. Toneguzzo, F. Guillet, E. Bruneton, O. Acher, F. Fièvet-Vincent, F. Fievet; “*CoNi and FeCoNi fine particles prepared by the polyol process: Physico-chemical characterization and dynamic magnetic properties*” J. Mater. Sci. **2000**, 35, 3767-3784
- [9] E.E. Finney, R.G. Finke; “*Nanocluster nucleation and growth kinetic and mechanistic studies: A review emphasizing transition-metal nanoclusters*” J. Colloid Interface Sci. **2008**, 317, 351-374
- [10] T. Herricks, J. Chen, Y. Xia; “*Polyol Synthesis of Platinum Nanoparticles: Control of Morphology with Sodium Nitrate Nano*” Lett. **2004**, 4, 2367-2371
- [11] B. Willey, T. Herricks, Y. Sun, Y. Xia; “*Polyol Synthesis of Silver Nanoparticles: Use of Chloride and Oxygen to Promote the Formation of Single-Crystal, Truncated Cubes and Tetrahedrons*” Nano Lett. **2004**, 4, 1733-1739
- [12] M. Tsuji, M. Hashimoto, Y. Nishizawa, M. Kubokawa, T. Tsuji; “*Microwave-Assisted Synthesis of Metallic Nanostructures in Solution*” Chem. Eur. J. **2005**, 11, 440-452

- [13] M. Tsuji, M. Hashimoto, Y. Nishizawa, T. Tsuji; “*Preparation of Gold Nanoplates by a Microwave-polyol Method*” Chem. Lett. **2003**, 32, 1114-1115
- [14] M. Tsuji, K. Matsumoto, Y. Nishizawa, T. Tsuji, H. Kawazumi; “*Rapid synthesis of gold nanostructures by a microwave-polyol method with the assistance of CnTAB (n=10, 12, 14, 16) or C16PC*” Mater. Lett. **2005**, 59, 3856-3860
- [15] M. Tsuji, Y. Nishizawa, K. Matsumoto, N. Miyamae, T. Tsuji, X. Zhang; “*Rapid synthesis of silver nanostructures by using microwave-polyol method with the assistance of Pt seeds and polyvinylpyrrolidone*” Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects **2007**, 293, 185-194
- [16] J. Jiu, K. Murai, D. Kim, K. Kim, K. Suganuma; “*Preparation of Ag nanorods with high yield by polyol process*” Mater. Chem. Phys. **2009**, 114, 333-338
- [17] J. Liu, G. Qin, P. Raveendran, Y. Ikushima; “*Facile “Green” Synthesis, Characterization, and Catalytic Function of β -D-Glucose-Stabilized Au Nanocrystals*” Chem. Eur. J. **2006**, 12, 2131-2138
- [18] S. Panigrahi, S. Kundu, S. K. Ghosh, S. Nath, S. Praharaj, S. Basu, T. Pal; “*Selective one-pot synthesis of copper nanorods under surfactantless condition*” Polyhedron **2006**, 25, 1263–1269
- [19] K.S. Chou, Y.C. Lu, H.H. Lee; “*Effect of alkaline ion on the mechanism and kinetics of chemical reduction of silver*” Mater. Chem. Phys. **2005**, 94, 429-433
- [20] P. Raveendran, J. Fu, S.L. Wallen; “*A simple and “green” method for the synthesis of Au, Ag, and Au–Ag alloy nanoparticles*” Green Chem. **2006**, 8, 34-38
- [21] C.E. Hoppe, M. Lazzari, I. Blanco, M.A. Lopez-Quintela; “*One-step synthesis of gold and silver hydrosols using poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) as a reducing agent*” Langmuir **2006**, 22, 7027-7034
- [22] Y. Xiong, I. Washio, J. Chen, H. Cai, Z.Y. Li, Y. Xia; “*Poly (vinyl pyrrolidone): a dual functional reductant and stabilizer for the facile synthesis of noble metal nanoplates in aqueous solutions*” Langmuir **2006**, 22, 8563-8570
- [23] L. Gou, C.J. Murphy; “*Solution-phase synthesis of Cu₂O nanocubes*” Nano Lett. **2003**, 2, 231-234
- [24] P. Gopinath, S.K. Gogoi, A. Chattopadhyay, S.S. Ghosh; “*Implications of silver nanoparticle induced cell apoptosis for in vitro gene therapy*” Nanotech. **2008**, 19, 75104

- [25] B.Yin, H.Ma, S.Wang, S.Chen; “*Electrochemical Synthesis of Silver Nanoparticles under Protection of Poly(N-vinylpyrrolidone)*” *J. Phys. Chem. B* 2003, 107, 8898-8904
- [26] F.-K. Liu, C.-J. Ker, Y.-C. Chang, F.-H. Ko, T.-C. Chu, B.-T. Dai; “*Microwave heating for the preparation of nanometer gold particles*” *Jpn. J. Appl. Phys. Part 1* 2003, 42, 4152-4158
- [27] C. L. Bracey, P. R. Ellis, G. J. Hutchings; “*Application of copper–gold alloys in catalysis: current status and future perspectives*” *Chem. Soc. Rev.* 2009, 38, 2231–2243
- [28] M.S. Bakshi, F. Possmayer, N. O. Petersen; “*Simultaneous Synthesis of Au and Cu Nanoparticles in Pseudo-Core–Shell Type Arrangement Facilitated by DMPG and 12-6-12 Capping Agents*” *Chem. Mater.* 2007, 19, 1257–1266.
- [29] J.-H. Gwak, S.J. Kim, M. Lee; “*Sol–Gel Preparation of AuCu and Au₄Cu Nanocluster Alloys in Silica Thin Films*” *J. Phys. Chem. B* 1998, 102, 7699-7704
- [30] T. Del Castillo-Castro, E. Larios-Rodriguez, Z. Molina-Arenas, M. M. Castillo-Ortega, J. Tanori; “*Synthesis and characterization of metallic nanoparticles and their incorporation into electroconductive polymer composites*” *Composites, Part A* 2006, 38, 107-113
- [31] M.A. Albrecht, C.W. Evans, C.L. Raston; “*Green chemistry and the health implications of nanoparticles*” *Green Chem.*, 2006, 8, 417–432
- [32] Z.Xiao-rong, H.Xiao-xiao, W. Ke-min, Y. Xiao-hai; “*Different Active Biomolecules Involved in Biosynthesis of Gold Nanoparticles by Three Fungus Species*” *Plant Resources Conservation and Utilization Research* 2011.2,1, 53-64
- [33] M.N. Nadagouda, R.S. Varma; “*Green synthesis of silver and palladium nanoparticles at room temperature using coffee and tea extract*” *Green Chem.*, 2008, 10, 859–862
- [34] N. Vigneshwaran, R. P. Nachane, R. H. Balasubramanya, P. V. Varadarajan; “*A novel one-pot ‘green’ synthesis of stable silver nanoparticles using soluble starch*” *Carbohydrate Research* 341 2006, 2012–2018

1.3 NANODELIVERY SYSTEMS

1.3.1 Introduzione ^[1]

La ricerca di sistemi cosiddetti di drug delivery da qualche anno si avvantaggia delle innovazioni apportate dalle nanotecnologie. Lo sviluppo di sistemi in grado di servire un principio attivo al sito desiderato, in modo specifico e sicuro, è attualmente uno dei compiti più impegnativi per la formulazione dei futuri rimedi farmaceutici. L'argomento è di particolare interesse per le aziende farmaceutiche poichè l'introduzione di sistemi di somministrazione innovativi consentirebbe di rilanciare e aumentare i campi di impiego dei principi attivi già esistenti, estendendo quindi la scadenza dei diritti di brevetto; parallelamente le tecniche studiate possono permettere la possibilità di utilizzo di nuove sostanze in medicina, favorendo il progresso delle terapie. I sistemi nanometrici per il trasporto dei farmaci sono principalmente costituiti da emulsioni, nanoparticelle di origine lipidica o polimerica e liposomi, più raramente si trovano studi inerenti nanoparticelle inorganiche o metalliche. L'azione iniziale di questi sistemi consisteva nel veicolare principi attivi lipofili attraverso il flusso sanguigno, tramite somministrazione endovenosa, facilmente ottenibile attraverso l'impiego di emulsioni. Successivamente è divenuto fine essenziale, dei sistemi di drug delivery, limitare gli effetti collaterali dei farmaci, favorendo l'efficacia e quindi riducendo la dose somministrata oppure alterando il normale percorso metabolico del principio attivo.

Sebbene siano state svolte numerose ricerche, nel corso degli ultimi tre decenni, incentrate sui sistemi liposomici, il numero di prodotti che hanno raggiunto la sperimentazione clinica ed il mercato è relativamente esiguo. L'attenzione scientifica si è spostata recentemente ai sistemi che sfruttano nanoparticelle con capacità di targeting, ossia capaci di mirare esattamente ad un organo o tessuto. Sono attualmente in studio nanocarrier di natura polimerica in grado di accumularsi nel tessuto desiderato e, tramite rilascio graduale, mantenere costante la concentrazione del principio attivo per estesi periodi di tempo.

Oltre ai molti supporti disponibili, esistono varie tecniche per lo sviluppo di sistemi nanoparticella-farmaco, sviluppati per combinare al meglio le proprietà chimico-fisiche e biologiche del supporto e del principio attivo. L'insieme di materiali, tecniche e interazioni raccoglie diversi settori disciplinari; solo recentemente stanno emergendo pubblicazioni e studi che affrontano integralmente gli aspetti indagati.

1.3.2 Caratteristiche principali dei sistemi di nanodelivery

Nella maggior parte dei casi con il termine “nanodelivery systems” si intendono carrier di natura lipidica o polimerica con dimensioni comprese tra pochi nanometri e poche centinaia di nanometri. Questi sistemi sono caratterizzabili attraverso lo studio di diversi parametri chimico-fisici, come potenziale Z, dimensione e distribuzione delle dimensioni; e parametri biologici, come compatibilità cellulare ed evasione della fagocitosi. Sistemi nanoparticellari basati sulle strutture proteiche costituiscono un'evoluzione rispetto a quelli polimerici poichè, oltre alla superiore biodegradabilità e biocompatibilità, offrono numerosi siti chimicamente attivi per formare legami covalenti e non-covalenti; questi consentono di legare ad un solo carrier più farmaci, per esempio per targeting, diagnostica e terapia.

Sistemi lipidici – nanocapsule

Le nanocapsule lipidiche sono particelle submicrometriche costituite da un nucleo oleoso circondato da un rivestimento solido o semi solido (Figura 1.3.1).

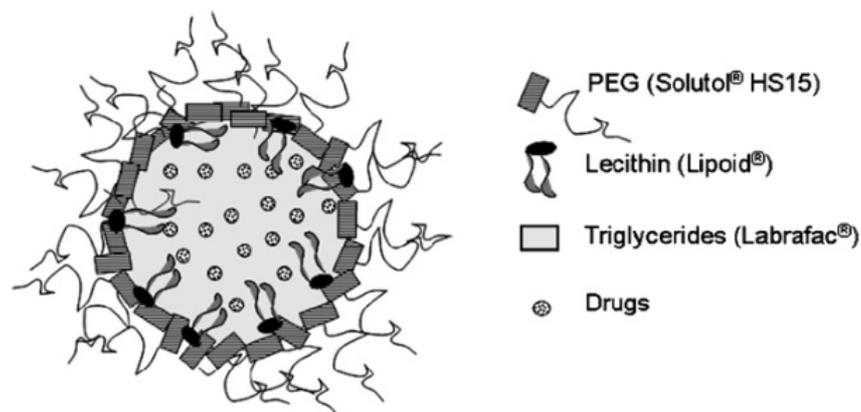


Figura 1.3. 1 - Rappresentazione schematica di una nanocapsula lipidica [2]

Le nanoparticelle lipidiche solide (SLN) sono state introdotte agli inizi degli anni 90 per combinare la stabilità delle sospensioni con le proprietà solvatanti; vengono prodotte tramite tecniche di omogeneizzazione ad alta pressione o di microemulsione. Grazie alla parete solida sono in grado di proteggere le sostanze incorporate dagli agenti chimici esterni e, modificando tale parete, è possibile regolare il rilascio dei componenti attivi. In particolare, le sospensioni colloidali di questo tipo non impiegano solventi organici oltre ai lipidi fisiologici ed i metodi produttivi sono già noti e disponibili per produzioni su scala industriale.

I principali difetti di queste strutture includono la crescita nel tempo delle particelle, la tendenza a gelificare ed a dare luogo a transizioni di fase con conseguente scarsa biodisponibilità. Per la caratterizzazione vengono misurati: concentrazione, forma, dimensione; spessore e composizione del rivestimento.

Sistemi polimerici – micelle

Le micelle polimeriche mostrano una buona propensione a solubilizzare molecole idrofobiche, inoltre godono di una dimensione ridotta, stabilità termodinamica e capacità di prolungare il rilascio di molti farmaci. Il parametro chiave di cui tenere conto è la concentrazione micellare critica (CMC) del polimero impiegato; si prediligono molecole anfifiliche con CMC molto ridotta poiché ciò comporta maggiore stabilità delle micelle, in caso contrario le micelle diluite nel flusso sanguigno si dissocerebbero depositando il farmaco. I polimeri selezionati per questi sistemi sono generalmente prodotti di copolimerizzazione a blocchi in cui le code idrofobiche formano il nucleo della micella e sono circondate dalle parti idrofiliche, che formano un rivestimento idratato. Questa particolare configurazione permette di caricare elevate quantità di farmaci liposolubili, contemporaneamente il rivestimento idrofilico ostacola l'aggregazione delle particelle tra loro e l'adesione a proteine o pareti cellulari, consentendo la veicolazione nel sangue per lunghi periodi. Il limite principale di questi sistemi è dovuto alla tendenza dei principi attivi di destabilizzare le micelle all'aumentare della quantità caricata.

Sistemi polimerici – idrogel

Diversamente dalle micelle ottenute da copolimeri a blocchi, innestando gruppi idrofobici in polimeri idrosolubili si osserva la formazione di nanoparticelle polimeriche tramite un meccanismo di self-assembly indirizzato a minimizzare le energie libere. In questa situazione i nuclei delle nanoparticelle sono composti principalmente dalla parte idrofilica del polimero generante e contengono più isole a carattere idrofobico, tale configurazione permette di veicolare molecole idrosolubili senza metterle a contatto con il mezzo, ad esempio con il sangue.

Modulando opportunamente i gruppi idrofobici è possibile anche forzare il rilascio del farmaco trasportato tramite stimolazione esterna, quale una variazione del pH, oppure sviluppare particelle ibride, attivabili e disattivabili ^[3] come illustrato nello schema della figura 1.3.2.

Queste particolari strutture uniscono la resistenza meccanica di un core di silicati, l'efficienza di carico e la polarità dei gel ad un sistema polimerico che risponde alle condizioni di temperatura esterne, fornendo un parametro per il controllo del rilascio.

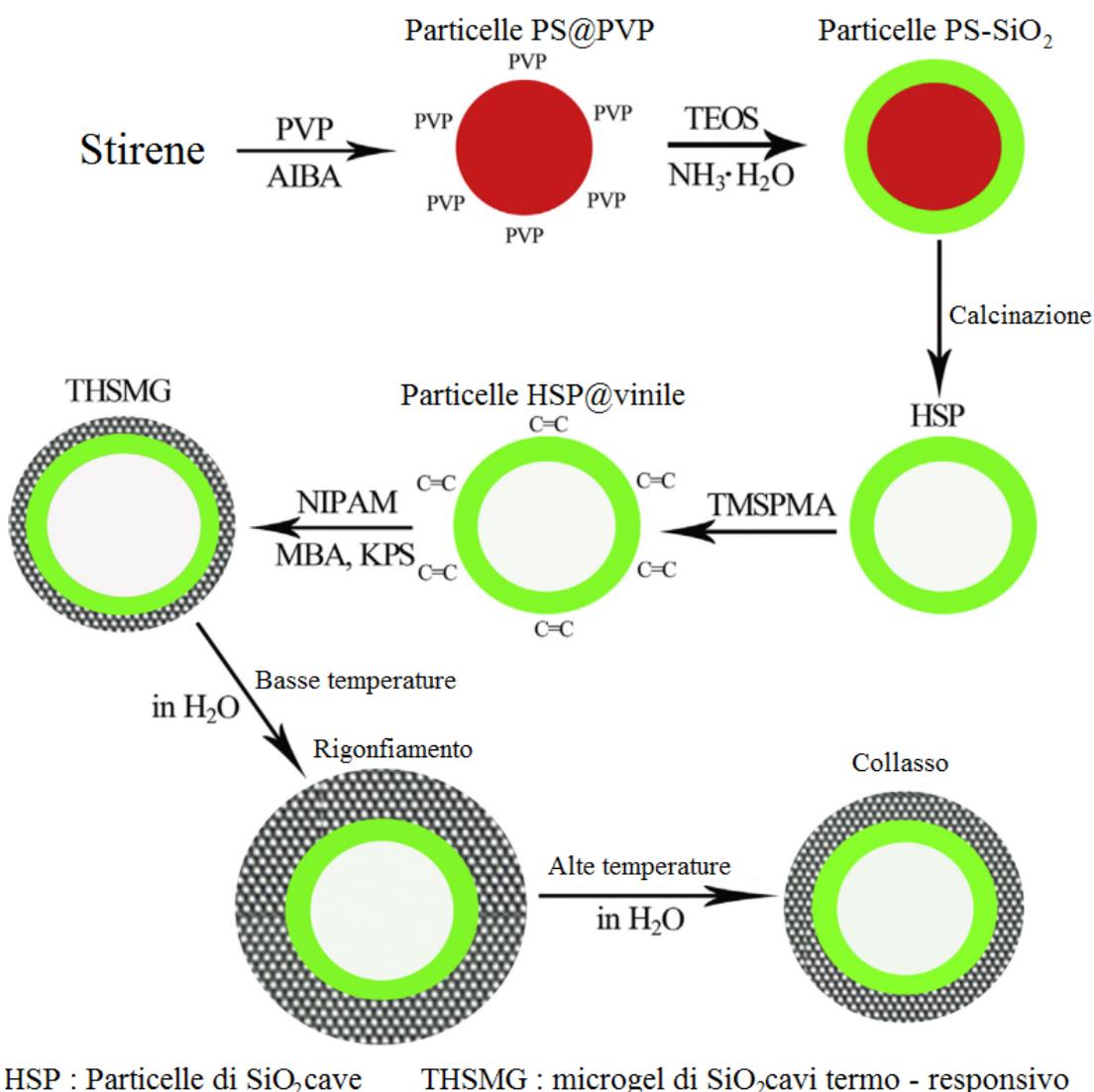


Figura 1.3. 2 – Diagramma illustrativo della formazione di particelle termo-controllate ^[3]

Sistemi macromolecolari – dendrimeri

La struttura dendritica è caratterizzata da una vasta area superficiale rispetto alla massa che la costituisce, biologicamente è stata osservata su scala nanometrica in composti derivati da polisaccaridi (glicogeno, amilopectina e proteoglicani) mentre è possibile ottenerla sinteticamente partendo da macromolecole di natura polimerica estremamente ramificata. Con il perfezionamento dei meccanismi di polimerizzazione e l'introduzione di tecniche che riducono la polidispersità dei prodotti, si è iniziato a studiare l'impiego dei dendrimeri sintetici come portatori di altre sostanze. Alcune molecole, caratterizzate da elevata simmetria, possiedono una cavità interna; se opportunamente sintetizzate con l'inserimento di gruppi funzionali a precisa idrofilicità, mostrano comportamento analogo a quello delle nanomicelle polimeriche (Figura 1.3.3). Un vantaggio particolare di questi sistemi "unimolecolari" è la capacità di formare le cosiddette scatole dendritiche: dopo aver inserito una molecola estranea all'interno della cavità, viene modificata la superficie esterna della macromolecola portatrice forzando la formazione di una sfera densa di legami a idrogeno, tale da mostrare caratteristiche solide e impedire interamente il rilascio del componente trasportato; questa barriera può essere attraversata solo in seguito alla variazione del mezzo esterno e all'idrolisi totale dei legami a idrogeno, si è osservato inoltre che l'idrolisi parziale fornisce un ulteriore percorso per modulare il rilascio poiché permette l'attraversamento selettivo delle molecole in funzione delle loro dimensioni.

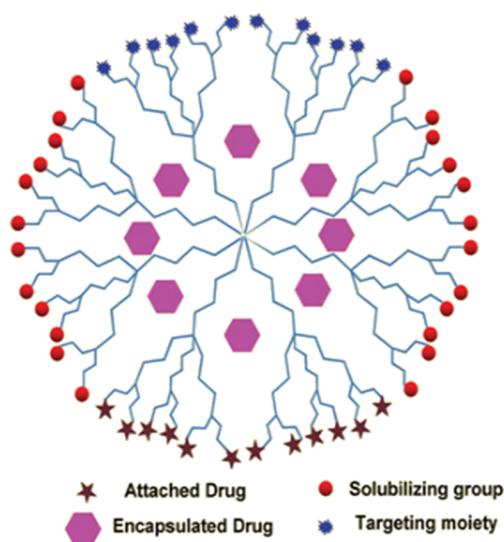


Figura 1.3. 3 - Rappresentazione 2D di un dendrimero e delle possibili modifiche della sua struttura ^[4]

Sistemi ceramici – nanoparticelle solide

La grande inerzia che caratterizza i sistemi ceramici ne promuove l'uso come portatori di farmaci; i sistemi di nanodelivery inizialmente studiati sono stati gli ossidi di calcio, silicio, alluminio e titanio, favoriti sia per la biocompatibilità che per la resistenza agli attacchi microbici. Esistono molte tecnologie disponibili per preparare e attivare superficialmente particelle di tali sostanze; è possibile quindi modulare la dimensione, la forma e la porosità oltre a renderle affini alle molecole da inserirvi. A seconda della geometria prescelta è possibile inserire un farmaco sia sulla superficie che nel nucleo, variazioni esterne di pH o di temperatura non causano rigonfiamento o mutamento della porosità di tali particelle rendendole ideali per il trasporto e la protezione simultanea di composti particolarmente sensibili. Sono molto impiegate per il trasporto di farmaci per la fototerapia poiché, oltre alla conservazione e alla capacità di accumularsi nelle cellule tumorali, assicurano che l'agente non entri in contatto col sistema biologico, mantenendolo segregato, ma non ne impediscono l'attività fotodistruttiva seguente all'irraggiamento, poiché sono permeabili all'ossigeno molecolare prodotto.

Sistemi metallici – nanoparticelle solide

I metalli nobili, argento, oro e platino, hanno suscitato un certo interesse poiché permettono la formazione di particelle di dimensioni molto ridotte (1nm – 150nm) emergono con interessanti proprietà fisiche, chimiche e biologiche. Questi portatori, nell'ambito dei sistemi di drug delivery, possono svolgere un ruolo duplice attivo e passivo; è possibile, ad esempio, attivarne le superfici in maniera da favorire il targeting di un determinato tessuto, seguire esternamente l'accumulo del metallo come mezzo di contrasto in determinate tecniche diagnostiche e modulare il rilascio delle molecole trasportate sia con sistemi passivi, come il riconoscimento del citoplasma e quindi il rilascio al momento dell'accumulo, sia con sistemi attivi, quale una radiazione opportuna. Dei diversi metalli studiati, per l'oro esistono già svariate applicazioni che spaziano dalla terapia fototermica al drug-delivery "teragnostico" (diagnosi e terapia); l'argento invece ha trovato successo grazie alla sua intrinseca capacità battericida ed è impiegato in diversi trattamenti come ad esempio nella cura di ferite e ustioni.

1.3.3 Liposomi

Il sistema di drug delivery basato sui lipidi più noto è il liposoma. È risaputo che i fosfolipidi formano spontaneamente, come conseguenza alla dispersione in un mezzo acquoso, vescicole che intrappolano parte della soluzione con una membrana a doppio strato idrofila-idrofoba-idrofila relativamente resistente. La loro naturale diffusione all'interno degli organismi viventi ne suggerisce la biocompatibilità ed è stato possibile impiegarli come “nanocarrier” grazie alle loro ridotte dimensioni; ne esistono principalmente tre categorie così distinte: unilamellari, se inferiori a 100 nm; grandi unilamellari, tra 100 nm e 400 nm; multilamellari, se costituiti da più barriere e di dimensioni superiori a 200 nm. Una rappresentazione di queste categorie, e di quelle che si distaccano dalla dimensione nanometrica, è fornita in figura 1.3.4. Un'altra distinzione possibile, legata alle modifiche effettuate al momento della produzione e determinata tramite misurazione del potenziale Z, è basata sulla carica superficiale e divide i liposomi in anionici, cationici e neutri. Oltre alla carica superficiale, queste particelle possono essere ingegnerizzate in modo da modificare il tempo di vita e circolazione, attribuire funzioni di “targeting”, sensibilizzarli verso sistemi riduttivi, temperatura o pH in modo da predisporli al rilascio del farmaco trasportato al verificarsi di determinate condizioni.

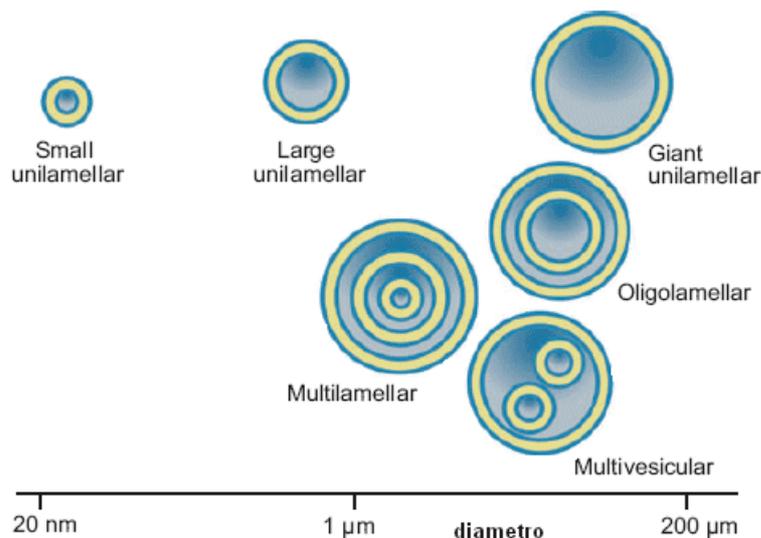


Figura 1.3. 4 - Rappresentazione grafica in scala delle diverse categorie di micelle sulla base della loro conformazione

Produzione dei liposomi

Sebbene la tendenza a formare micelle con doppio strato sia spontanea per i fosfolipidi, sono necessari ulteriori trattamenti al fine di modificare la distribuzione delle dimensioni e la lamellarità (numero di barriere) dei liposomi prodotti. Nel corso degli studi sono stati sviluppati diversi metodi produttivi che si adattano a specifiche del prodotto, come l'efficienza di incapsulamento, o ad esigenze impiantistiche ed alle diverse scale di produzione. Un processo modello comincia con la dispersione dei fosfolipidi in un mezzo non acquoso, come cloroformio o metanolo, per preparare un film sottile allontanando tali solventi tramite evaporatori rotanti; il film viene poi scaldato ad una temperatura in cui i fosfolipidi presentano una mesofase adatta alla formazione di micelle ed idratato con soluzioni tampone acquose. Il risultato di questo processo è altamente eterogeneo e dà luogo alla formazione di liposomi multilamellari ma può essere affinato tramite cicli di congelamento e scongelamento ripetuti. Variante produttiva importante è quella che prevede di disperdere inizialmente i fosfolipidi in un solvente miscibile all'acqua, quale etanolo, e diluire rapidamente la soluzione direttamente nel tampone acquoso. I liposomi ottenuti con questo metodo mostrano dimensioni relativamente piccole ma sono necessari ulteriori passaggi per rimuovere il solvente iniziale ed eventualmente affinare o ingegnerizzare le particelle.

Tra i processi impiegati per affinare le dimensioni dei liposomi i principali sono: sonicazione, avviene principalmente tramite ultrasuoni e riduce le dimensioni delle particelle per cavitazione sonora indotta; estrusione, operata attraverso membrane polimeriche con pori cilindrici che ne attraversano direttamente lo spessore, coadiuvata da temperatura superiore alla transizione di fase e pressioni fino a 200 atm, questo processo produce liposomi con una distribuzione delle dimensioni molto ridotta ed è facilmente scalabile aumentando l'area della membrana; omogeneizzazione ad alta pressione, con pressioni che superano le 350 atm consente una produzione in continuo e facilmente scalabile. Su scale più ridotte, in industria cosmetica e per esperimenti di laboratorio, sono state impiegate anche tecniche basate sull'evaporazione a fase inversa (da emulsione acqua-in-olio) che hanno il miglior rendimento di intrappolamento delle sostanze idrosolubili da veicolare. Le sostanze lipofile sono facilmente trattenute dai liposomi poichè possono essere codisperse insieme ai fosfolipidi prima di formare le micelle;

per inserire all'interno sostanze idrofiliche sono necessari procedimenti che permettono l'intrappolamento passivo durante la formazione delle particelle ma, per alcune molecole, è possibile seguire vie guidate da gradienti di pH: i liposomi sono preparati in soluzioni tampone a pH debolmente acido (ad esempio pH 4 per sodio citrato/acido citrico) e disperse in un mezzo a pH più elevato, farmaci debolmente basici tendono ad entrare nei liposomi e, dopo protonazione, non riescono più ad uscirne. Per conservare i liposomi è d'uso aggiungere un crioprotettore, quale il trealosio, per ostacolare la fusione o l'accrescimento delle particelle, e liofilizzarle; ciononostante, al momento della reidratazione parte del volume contenuto dalle particelle viene perso.

La caratterizzazione dei liposomi prodotti viene effettuata normalmente con analisi DLS (Dinamic Light Scattering) o per microscopia elettronica e a forza atomica per determinare dimensioni e distribuzione relativa, la carica superficiale viene determinata tramite misurazioni del potenziale Z. La stabilità nel tempo, la quantità di rilascio in sistemi di stoccaggio e in plasma vengono determinati con tecniche di dialisi; prove di assorbimento cellulare vengono effettuate producendo liposomi probe fluorescenti ed osservandone il comportamento in colture batteriche. Per completare lo sviluppo di nuovi prodotti sono necessarie inoltre prove di citotossicità sia per i liposomi che per i sistemi liposoma-farmaco e determinazioni delle cinetiche di scomparsa, bioaccumulo, distribuzione ed efficacia terapeutica.

1.3.4 Drug loading ^[5]

Il risultato più frequentemente desiderato dall'operazione di "carica" delle particelle è quello che consente di massimizzare la quantità di principio attivo e minimizzare quella del portatore. In altri casi si preferisce ridurre il rapporto in favore della capacità di alcuni sistemi di agire da conservanti del principio attivo oltre che da trasportatori, per proteggere il principio attivo oppure per evitare che reagisca in momenti indesiderati; nel caso dei sistemi micellari esiste inoltre un valore critico oltre il quale la micella viene destabilizzata e perde le proprietà di trasportatore. I metodi per effettuare la carica si possono raggruppare in due categorie: quelli ottenuti tramite l'aggiunta del principio attivo prima di formare le nanoparticelle, così che venga inglobato durante il loro sviluppo; oppure quelli ottenuti tramite adsorbimento del principio attivo sulla superficie attraverso una successiva incubazione delle particelle, già formate, in una opportuna soluzione.

La strategia migliore generalmente è quella di inglobare il principio attivo internamente alle particelle ma si verificano anche i casi opposti, vi sono molteplici parametri che stabiliscono quanto una configurazione riesca ad assorbire altre molecole, i principali sono:

- dimensione delle particelle rispetto al principio attivo, particelle inferiori hanno minore volume e maggiore superficie; come osservato da M.J. Sailor e J.H. Park ^[6], si può affermare che esiste una soglia del diametro delle particelle al di sotto della quale il carico è maggiore per adsorbimento, questa soglia è generalmente approssimabile a 10 volte il diametro della molecola da caricare (Figura 1.3.5).

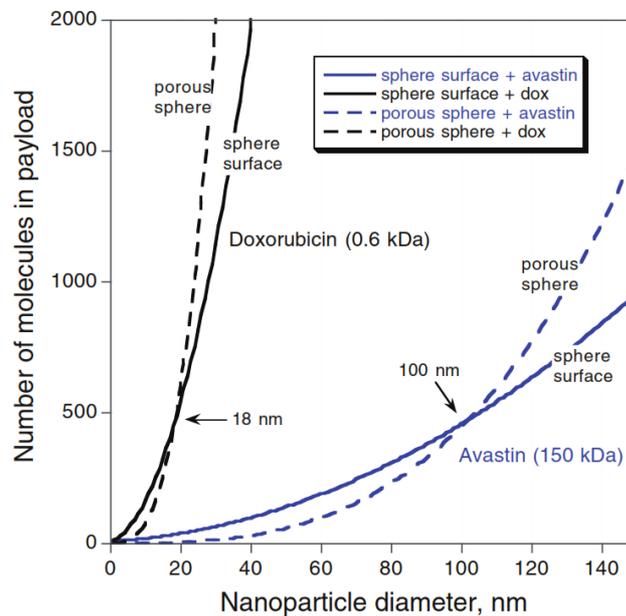


Figura 1.3. 5 - Confronto tra la quantità di molecole di ridotte dimensioni (linee nere) o grandi dimensioni (linee blu) all'interno (linee tratteggiate) o sulla superficie (linee continue) delle nanoparticelle ^[6]

- isoterma di adsorbimento caratteristica, le interazioni superficie-molecola variano sensibilmente per effetto dell'idrofobicità delle molecole e non sono costanti su tutta l'area superficiale delle particelle,
- mezzo di incubazione, il pH e la temperatura giocano un ruolo fondamentale per la stabilità e durante il rivestimento delle particelle, inoltre sono possibili interferenze dovute a sostanze più affini che inibiscono o sostituiscono l'adsorbimento del principio attivo.

Frequentemente la scelta è dettata dal comportamento finale desiderato o da questioni di tossicità e biocompatibilità. Nello sviluppo di nanocarrier, per massimizzare il carico su particelle molto inferiori ai 100 nm di diametro, si preferisce adsorbire il principio attivo modificandolo chimicamente in modo da favorirne l'adesione. Queste modifiche rendono però necessaria l'approvazione, tramite "trial" clinici, della nuova molecola e causano significativi rallentamenti allo sviluppo; per questa ragione non è raro che vengano preparati nanocarrier cavi in cui inglobare il principio attivo non modificato.

La determinazione specifica delle quantità di principio attivo libere o legate alle nanoparticelle risulta spesso complessa poichè richiede un processo di separazione, come ultrafiltrazione o ultracentrifugazione, che può interferire con il sistema facendo desorbire parzialmente le molecole; inoltre i metodi individuati per una tipologia di carrier possono risultare inefficaci per un'altra. Al momento, l'assenza di una regolamentazione atta a dimostrare scientificamente la sicurezza e l'efficacia delle terapie fondate sulle nanotecnologie è motivo di insicurezza per gli investitori e rallenta l'avanzamento del settore; l'impegno a sviluppare insieme di protocolli standardizzati per caratterizzare i nanomateriali e determinare i loro effetti biologici risulta fondamentale per fornire le basi a questi regolamenti.

1.3.5 Drug release^[5]

Il rilascio delle molecole veicolate dalle nanoparticelle e la successiva rimozione e biodegradazione delle stesse è importante per lo sviluppo di formulazioni adeguate. A seconda del tipo di sistema di nano delivery, il tasso di rilascio può dipendere principalmente da cinque fattori:

1. Desorbimento delle molecole adsorbite sulla superficie esterna;
2. Desorbimento dalle porosità interne e diffusione attraverso il corpo della particella;
3. Attraversamento diffusivo dell'involucro della particella;
4. Depauperamento parziale o totale della particella;
5. Combinazione dei precedenti.

In aggiunta a questi fenomeni, in molte formulazioni le particelle subiscono un trattamento detto di microincapsulamento, la particella viene rivestita da una membrana, costituita da disaccaridi o di natura polimerica, che ha lo scopo di ostacolare la diffusione, regolando quindi la velocità e la durata del rilascio, oppure di proteggere la particella sino al raggiungimento dei siti desiderati.

L'evoluzione delle tecniche di incapsulamento ha portato allo sviluppo delle capsule layer-by-layer (LbL), una tecnica che offre ampi margini di ingegnerizzazione delle particelle risultanti, risultano infatti modellabili: dimensione, composizione, porosità, stabilità biologica e chimica, funzionalità superficiali, stabilità colloidale e altre caratteristiche ancora. Sono state prodotte particelle LbL costituite da diversi materiali, ad esempio inorganici e polimerici, combinando le diverse proprietà a seconda degli scopi. La produzione di tali strutture avviene tipicamente con un meccanismo di successive deposizioni in modo che ogni rivestimento sia complementare con il precedente, tramite interazioni di carica opposta o interazioni di tipo Van der Waals, ed interagente con il successivo; infine il nucleo di queste particelle può essere funzionale o avere utilità solamente strutturali e templanti, per tanto è possibile rimuoverlo terminata la composizione della particella creando una grande porosità interna (Figura 1.3.6).

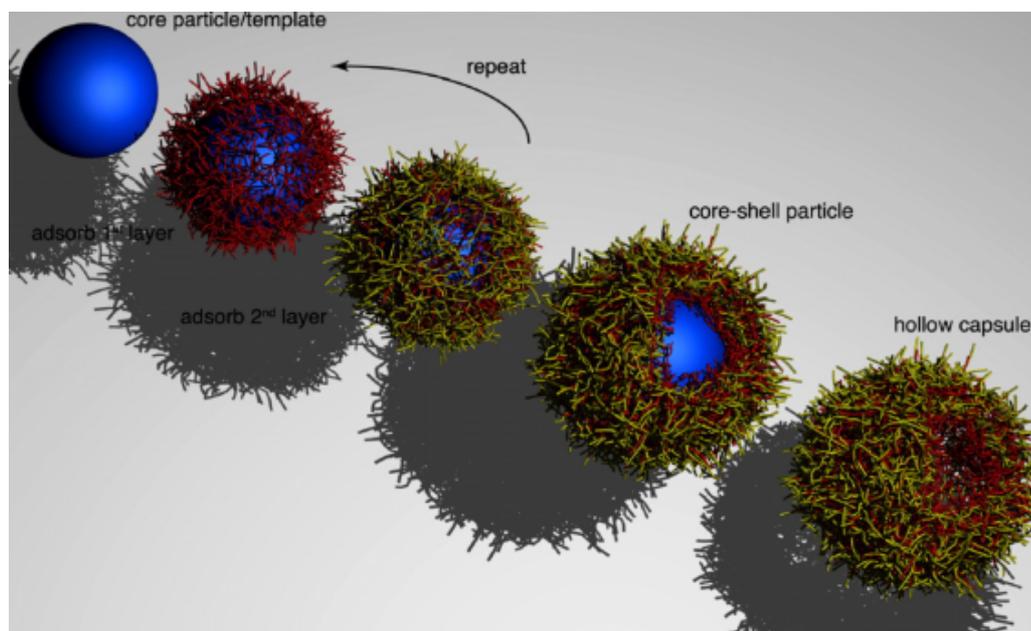


Figura 1.3. 6 - Rappresentazione della produzione di nanoparticelle LbL con rimozione finale del nucleo attraverso il rivestimento semipermeabile ^[7]

La polimerizzazione mista di differenti monomeri costituisce un altro importante metodo per controllare il comportamento dei sistemi di nano delivery, tra i sistemi meglio studiati emergono i carrier costituiti da PLGA, acido poli(lattico-co-glicolico), in cui il rilascio delle molecole incorporate segue principalmente il meccanismo dell'erosione strutturale per idrolisi; tale materiale viene polimerizzato con blocchi di acido polilattico e acido poliglicolico, il primo di questi è più lento a degradarsi grazie alla maggiore cristallinità e l'impedimento sterico che ostacola l'acqua.

Entrambi i polimeri sono sicuri ed eliminabili dagli organismi, variando la frazione relativa dell'uno rispetto all'altro è possibile bilanciare il carattere idrofilico-lipofilico della particella e conseguentemente la velocità di rilascio. Di recente, lo studio di processi auto-assemblanti ha permesso lo sviluppo di particelle costituite principalmente da polietilenglicole, idrosolubile, con blocchi di acido polilattico o policaprolattone; sistemi che vengono definiti *polimerosomi*. Questi si differenziano poiché, mantenendo l'efficienza di accumulo simile a quelle dei liposomi, il maggiore spessore della membrana conferisce loro migliori resistenze meccaniche ed il controllo sulla velocità di rilascio, dato dalle diverse frazioni polimeriche, attribuisce loro la capacità di restare in circolazione, attivi anche per settimane. Un polimero che ha mostrato un comportamento interessante ed insolito è stato prodotto assemblando catene a tre blocchi, estremi costituiti di ossido di polietilene (PEO) e parte intermedia di ossido di polipropilene (PPO), tale composto è in grado di rilasciare molto rapidamente i farmaci trasportati quando sollecitato esternamente tramite ultrasuoni e di riassorbire ed incapsulare queste sostanze una volta terminato l'impulso.

1.3.6 Nanocarrier in cosmetica

La pelle e le mucose costituiscono la barriera che separa l'ambiente interno di un organismo, molto stabile per quanto riguarda parametri quali umidità o temperatura, dall'ambiente esterno ed imprevedibile. La medicina moderna ha prodotto molte formulazioni specifiche per l'attraversamento di questa barriera; in tali formulazioni l'attenzione per il comportamento fisico delle sostanze carrier risulta importante quanto quello biochimico dei principi attivi che veicolano. Non è raro che, a seguito di esposizione diretta e prolungata con la pelle, alcune sostanze provochino reazioni avverse come sensibilizzazione o allergia. Tali rischi vengono esaltati dai sistemi di nano delivery i quali spesso risultano più adesivi nei confronti dell'epidermide e possono comportare, a seconda delle situazioni, ulteriori fenomeni più o meno desiderati, ad esempio: formazione di film e occlusione della pelle o aumento dell'adsorbimento e della penetrazione da parte di sostanze inglobate.

Ciononostante esistono molte formulazioni in cosmetica che fanno uso di sistemi di nano delivery:

- Profumazioni: grazie all'assorbimento facilitato e alla possibilità di rallentare il rilascio, formulazioni che veicolano le essenze, principalmente oli di origine vegetale, tramite nanoparticelle sono molto frequenti; in questo caso, oltre alla persistenza, tali sistemi permettono di ridurre la quantità di profumo impiegato incidendo notevolmente sul costo del prodotto.
- Sbiancanti: indagini di mercato hanno evidenziato che le formulazioni di colore bianco sono preferite dai consumatori pertanto agenti attivi naturalmente ingiallenti, come ad esempio la vitamina C che ha un ruolo di antiossidante, vengono intrappolati in nanoparticelle per ridurre l'effetto cromatico.
- Deodoranti e antitraspiranti: tali prodotti necessitano di sostanze antisettiche, grazie all'impiego dei sistemi di nano delivery si può aumentare l'efficacia nel tempo e favorire l'assorbimento di questi principi attivi nel dotto escretore, in cui possono concentrarsi i batteri.
- UV-Protettori: per limitare i danni provocati dall'esposizione a raggi ultravioletti vengono impiegate sostanze che assorbono preferenzialmente tali radiazioni, molecole organiche con legami coniugati, oppure sostanze che ne interrompono fisicamente il percorso, come il biossido di titanio; per le prime è importante ridurre al minimo l'esposizione e grazie ai sistemi di nano delivery è possibile arrivare a dimezzarne la concentrazione mantenendo lo stesso potere protettivo, per i secondi è necessario limitare la rimozione fisica favorendo invece l'assorbimento. Le nanoparticelle inoltre mostrano un comportamento sinergico poiché diffondono in maniera casuale la luce agendo anch'esse da schermo fisico e favorendo l'interazione con i principi attivi.

1.3.7 Aquasome ^[8-11]

Una tipologia particolare di sistema di nano delivery è l'aquasome, o corpo d'acqua, ovvero strutture sferiche con dimensioni di 60-300 nm. Questi sistemi nano particolati presentano strutture self assembled a tre strati: una fase solida monocristallina (core), un rivestimento di tipo oligomerico (generalmente carboidrati), un secondo rivestimento di molecole attive che vengono adsorbite con o senza modifiche sul film oligomerico (Figura 1.3.7). La combinazione della resistenza meccanica data da un nucleo solido cristallino e la disponibilità del rivestimento oligomerico di fornire molteplici ponti a idrogeno in modo da mantenere la molecola adsorbita nella sua forma idratata e attiva senza necessità di modificarla preventivamente contribuiscono sensibilmente alla protezione e conservazione delle molecole organiche più fragili. Per la loro struttura si preferisce accumulare le sostanze da trasportare sulla superficie esterna piuttosto che incapsularle, la molteplicità di siti che il rivestimento offre per interagire infatti consente di caricare grandi quantità di sostanze attraverso legami ionici, covalenti, Van der Waals; nel caso in cui questi legami siano deboli se considerati singolarmente, il loro concentrazione in una piccola area fa sì che siano possibili più interazioni contemporanee con la molecola trasportata, in tale circostanza è improbabile che la molecola si allontani dalla particella poiché tutti questi legami dovrebbero sciogliersi prima che se ne realizzino ulteriori. L'oligomero o gli oligomeri che costituiscono il rivestimento sono principalmente responsabili del comportamento di questo sistema di nano delivery per quanto concerne le proprietà tipiche di targeting e rilascio prolungato. L'idratazione artificiale che queste particelle conferiscono, in grado di preservare i principi attivi e consentire su di essi anche trattamenti altrimenti distruttivi come l'essiccamento, come già detto, è dovuta alla formazione di molteplici legami a idrogeno col rivestimento che per tanto risulta ricco di atomi donatori di elettroni, solitamente funzionalità idrossiliche oppure atomi di azoto, fluoro o zolfo. Il processo produttivo di tali particelle segue solitamente una reazione a stadi, facilitata da strutture auto-assemblanti che contribuiscono a garantire la stabilità del sistema; inizialmente si prepara il nucleo inorganico, ad esempio costituito da calcio fosfato o idrossiapatite, per conservarne la resistenza, vengono impiegate le tecniche più adatte a mantenere la struttura cristallina del materiale prescelto. I nuclei ottenuti hanno solitamente dimensioni tra 50 nm e 150 nm ed esibiscono una buona reattività superficiale; tale reattività permette al rivestimento di aderire spontaneamente ed in maniera resistente.

L'eccesso dell'oligomero, frequentemente uno zucchero data la disponibilità di gruppi idrossilici, è successivamente rimosso, per ultrafiltrazione, dalla sospensione poiché fornirebbe punti preferenziali per l'adesione del principio attivo da caricare; infine l'immobilizzazione sulla superficie del principio attivo ha luogo per parziale adsorbimento.

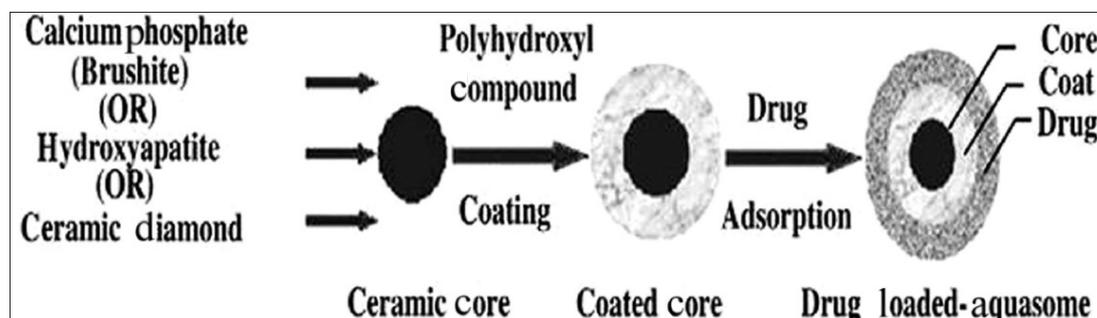


Figura 1.3. 7 - Rappresentazione schematica della struttura a tre strati di un aquasome ^[9]

Le particelle ottenute vengono caratterizzate morfologicamente, per determinarne le dimensioni, con tecniche microscopiche (SEM) e se ne controlla la cristallinità del nucleo attraverso diffrazione a raggi X. La qualità del rivestimento difficilmente può essere determinata, genericamente si usano tecniche di analisi termica; per osservare composti oligosaccaridi si possono effettuare test specifici (Concanavalin A, Antrone) che determinano la quantità di molecole adsorbite sulle particelle o di quelle libere e rimaste in soluzione.

Tra le applicazioni osservate per questi sistemi, oltre al trasporto di farmaci, antigeni virali, vaccini ed enzimi, si è notato che possono svolgere il ruolo di sangue artificiale: gli aquasome riescono a complessare l'emoglobina sostituendo gli eritrociti, possono inoltre svolgere loro stessi un ruolo simile a quello dell'emoglobina veicolando direttamente l'ossigeno.

Bibliografia

- [1] Y. Pathak, D. Thassu; “*Drug Delivery Nanoparticles Formulation and Characterization*” New York , Informa Healthcare USA, 2009
- [2] N.T. Huynh, C. Passirani, P. Saulnier, J.P. Benoit; “*Lipid nanocapsules: A new platform for nanomedicine*” International Journal of Pharmaceutics 379 (2009) 201–209
- [3] G. Liu, C. Zhu, J. Xu, Y. Xin, T. Yang, J. Li, L. Shi, Z. Guo, W. Liu; “*Thermo-responsive hollow silica microgels with controlled drug release properties*” Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 111 (2013) 7– 14
- [4] <http://www.nanopharmaceuticals.org/Dendrimers.html>;
“Dendrimeric NanoPharmaceuticals” 24 settembre 2013
- [5] K.S. Soppimath, T.M. Aminabhavi, A.R. Kulkarni, W.E. Rudzinski; “*Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices*” Journal of Controlled Release, 70, 2001, 1–20
- [6] M.J. Sailor, J. Park; “*Hybrid Nanoparticles for Detection and Treatment of Cancer*” Adv. Mater. 2012, 24, 3779–3802
- [7] A.P.R. Johnston, C. Cortez, A.S. Angelatos, F. Caruso; “*Layer-by-layer engineered capsules and their applications*” Current Opinion in Colloid & Interface Science 11 (2006) 203–209
- [8] Jain, S.S., Jagtap, P.S., Dand, N.M., Jadhav, K.R., Kadam, V.J.; “*Aquasomes: A novel drug carrier*” Journal of Applied Pharmaceutical Science; 2, 2012, 184-192
- [9] N. Narang; “*Aquasomes: Self-assembled systems for the delivery of bioactive molecules.*” Asian J Pharm 2012;6:95-100
- [10] Vikran, N.Patel, J.Parmar, A.Gupta, R.Choudhary; “*Aquasome: A selfassembling nanoparticulate drug carrier system*” Research Journal of Pharmacy and Technology; 5, 2012, 1369-1374
- [11] Kavitha, K., Bharath, N. , Mani, T.T.; “*Physical permeation enhancers for transdermal drug delivery: A brief review Research*” Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences; 2, 2011, 66-781

1.4 STRUTTURA E ASPETTO DEI CAPELLI

1.4.1 Introduzione

Il ruolo dei capelli umani svolge principalmente funzione protettiva e cosmetica. La scarsa conducibilità termica di queste fibre isola la testa proteggendola dalle temperature esterne, inoltre costituiscono un rivestimento che protegge la pelle dalle radiazioni luminose oltre a fornire una minima protezione da urti ed abrasioni.

Al fine di progettare una tintura per capelli innovativa è fondamentale conoscere come sono strutturati tipicamente, tenendo a mente che le variazioni tra persona e persona sono spesso notevoli, poiché influenzate non solo dalla genetica ma anche dalle abitudini, dalla cura, dalla dieta, ecc.

E importante inoltre conoscere come operano le tinture attualmente disponibili in commercio, quali sono i loro vantaggi ed in particolare quali svantaggi possono essere risolti da un sistema di nanodelivery come quello indagato.

1.4.2 Struttura del capello ^[1]

In prossimità della superficie le fibre dei capelli umani presentano un rivestimento protettivo relativamente spesso e costituito da 6 – 8 strati di squame sovrapposte, denominate cuticola; tali squame sono composte principalmente da lipidi strutturali, da cheratina e dalle altre proteine, a questa associate, ad elevato tenore di zolfo (KAP).

Sotto questa cuticola si trova la corteccia, il corpo principale della fibra, composto da cellule affusolate ed allineate parallelamente all'asse principale della fibra; contenenti a loro volta cheratina e KAP a minor tenore di zolfo. Tra queste cellule e tra la corteccia e la cuticola è presente un composto misto di lipidi e proteine a struttura lamellare, che tiene uniti i diversi componenti della fibra, chiamato complesso di membrana cellulare (cell membrane complex, CMC).

Il diametro di un capello umano varia sensibilmente sulla singola persona e tra più persone in base all'età, al sesso, a fattori ormonali e genetici; in generale si può assumere, per un adulto, che il diametro cada nell'intervallo tra 45 µm e 110 µm.

Verranno ora descritte le componenti principali del capello umano con attenzione a quanto è inerente alla cosmesi e colorazione di tali fibre.

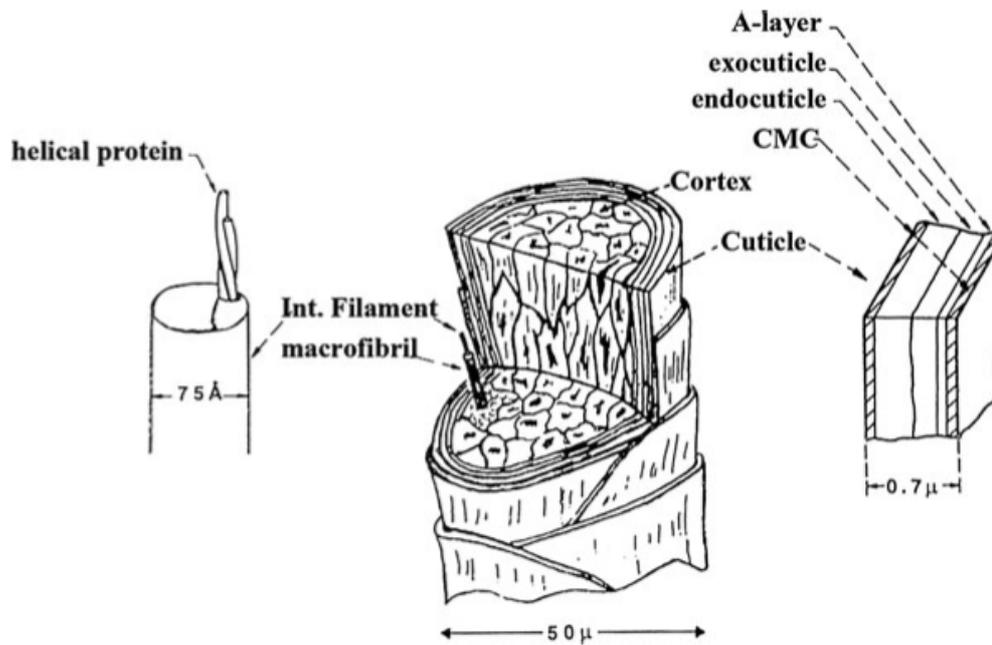


Figura 1.4. 1 – Illustrazione della struttura delle fibra di capello umana, con ingrandimento delle sottostrutture, corteccia (sinistra) e cuticola (destra) ^[1]

La cuticola

Lo strato più esterno della fibra protegge quest'ultima grazie ad un compatto rivestimento molto inerte chimicamente. La morfologia di questa struttura richiama quella delle tegole in un tetto, le cellule della cuticola sono piatte ed avvolgono la corteccia con orientazione dalla radice verso la punta del capello. La loro forma e tale orientazione sono responsabili principalmente della frizione e della tendenza ad aggrovigliarsi delle fibre. Lo spessore di una singola cellula cuticolare è variabile, principalmente per fattori genetici, intorno ai 400 nm – 500 nm; generalmente sono presenti dalle 6 alle 8 cellule sovrapposte, con conseguente moltiplicazione dello spessore cuticolare, ma sono possibili eccezioni che allargano tale intervallo.

Questo rivestimento si deteriora rapidamente a causa degli stress ambientali e meccanici subiti dai capelli, come mostrato in figura 1.4.2; prima si osserva l'insorgere di bordi irregolari delle cellule, poi queste perdono la loro adesione alla corteccia ed infine la corteccia stessa perde adesione con se stessa, fenomeno delle “doppie punte”.

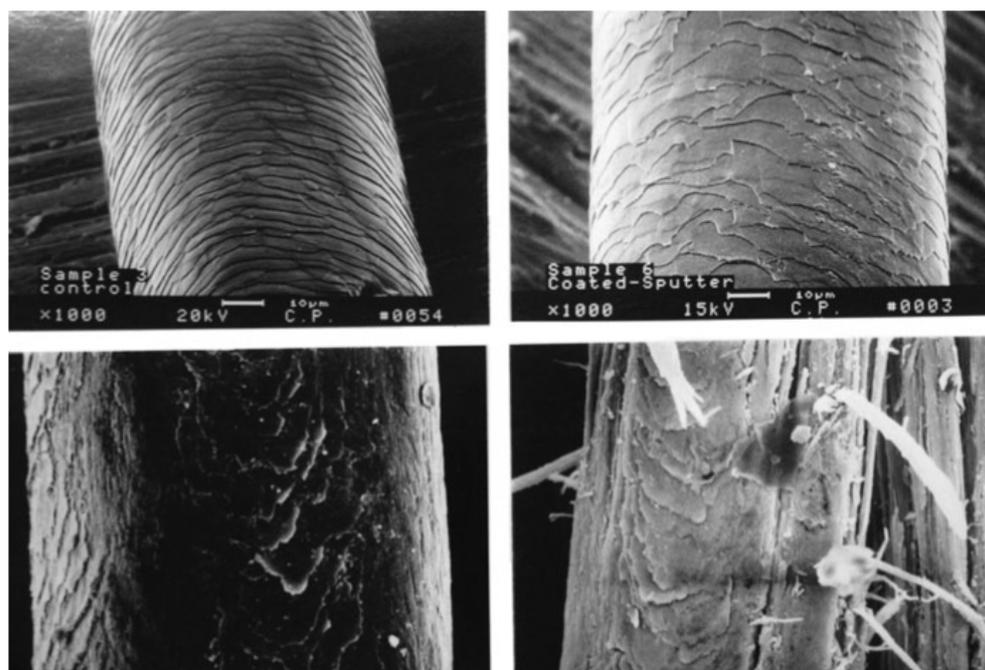


Figura 1.4. 2 – Micrografia elettronica di un capello sano a pochi cm dallo scalpo (alto a sinistra), che presenta principio di deterioramento a qualche centimetro (alto a destra), completamente privato della cuticola (basso a sinistra) ed infine deteriorato nella corteccia (basso a destra).^[1]

Chimicamente questo strato contiene quantità più elevate di cisteina rispetto al resto del capello, che favorisce la formazione di ponti disolfuro e quindi aumenta la resistenza meccanica della struttura; tramite analisi XRD è stato verificato che questa struttura è altamente reticolata e priva di domini cristallini, a differenza di quanto visto per la corteccia. Per isolare questo strato dal resto della fibra, a causa della elevata inerzia chimica, sono necessari processi enzimatici oppure lunghi trattamenti in soluzioni fortemente alcaline contenenti solventi organici, come butanolo, per rigonfiare la struttura.

Come illustrato in figura 1.4.1 e riportato in dettaglio in figura 1.4.3, la cellula cuticolare è a sua volta divisa in più strati, il rivestimento più esterno, 10 nm – 14 nm, è composto da una membrana lipo-proteica, ricca di acido 18-metilicosanoico (18-MEA), fortemente legato alla cellula da legami tioesterei, che conferisce la scarsa bagnabilità alla fibra, e quindi una ulteriore forma di protezione chimica, oltre ad essere responsabile del fenomeno “dell’ingrassamento” dei capelli per assorbimento di sostanze apolari.

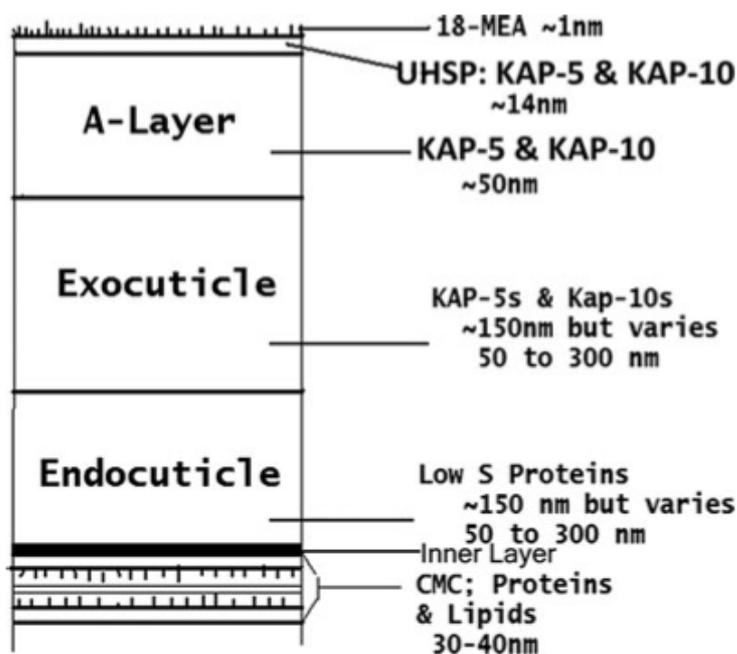


Figura 1.4. 3 – Diagramma schematico della struttura di una cellula cuticolare in sezione ^[1]

Tra questa membrana e la esocuticola è inoltre presente il cosiddetto strato-A, una regione spessa 50 nm – 100 nm e caratterizzata da un numero ancora maggiore di reticolazioni, dovute non solo all'elevata presenza di cisteina, superiore al 30%, ma anche a particolari trasformazioni enzimatiche svolte sulla struttura stessa, detti legami isopeptidici.

La esocuticola è anch'essa ricca di cisteina, 15% – 20%, e costituisce la parte più spessa della cellula, seguita dallo strato finale, più interno, la endocuticola, relativamente povera di cisteina, contenuto inferiore al 3%.

La corteccia

Le cellule corticali, e la materia intercellulare della corteccia (CMC), costituiscono la parte principale in massa delle fibre, arrivando al 90% del peso totale. Nella figura 1.4.4 si può vedere una micrografia SEM di cellule corticali che escono dalla fibra e appaiono simili a legno spezzato.



Figura 1.4. 4 - Micrografia SEM di un capello spezzato che evidenzia le cellule corticali ^[1]

Queste cellule, seppur molto variabili, possono essere descritte come corpi affusolati lunghi fino a 100 μm e spessi da 1 μm a 6 μm . Esistono almeno 3 tipi di cellule corticali la cui distribuzione dipende principalmente da fattori genetici, siccome lo scopo di isolamento termico viene svolto inglobando aria nelle fibre e la porosità varia tra queste tipologie di cellule, esiste una fluttuazione stagionale tra le frazioni di cellule, residua di un comportamento animale di “muta”.

All'interno delle cellule si trovano principalmente le fibrille proteiche, costituite da diverse forme di cheratina; oltre ad altri componenti inclusi durante la formazione della cellula, quali ad esempio alcuni pigmenti. La morfologia di queste fibrille è altamente ordinata e caratterizzata da un'elevata cristallinità, contrariamente alla matrice semi amorfa che le circonda; questo comporta l'anisotropia di rigonfiamento, in condizioni di elevata umidità i capelli tendono ad assorbire acqua ed ad aumentare di volume ma, a causa della diversa cristallinità lungo l'asse longitudinale e trasversale della fibra, si è osservato che passando da 0% a 100% di umidità l'aumento longitudinale è stato solo del 2% mentre quello trasversale è arrivato al 14%.

Il complesso di membrana cellulare

Tale complesso è costituito dalle membrane e da composti adesivi che si dispongono in uno strato a cuscino, strato delta, e tengono unite le cellule della fibra, sia intra che inter cuticola e corteccia. La differenza principale tra il CMC cuticolare e quello corticale risiede nell'interazione tra lo strato delta e la membrana delle cellule, nella cuticola infatti questo strato sfrutta interazioni covalenti simili a quelle dell'acido 18-MEA (tioesteri) mentre nella corteccia i legami sono prevalentemente di natura polare. Il materiale che compone questo complesso è principalmente costituito da proteine ad elevato tenore di zolfo, ultra high sulfur protein (UHSP), già viste all'interno delle cellule cuticolari (KAP-5 e KAP-10); in tali strutture si stima che sia possibile un legame disolfuro per ogni nanometro di lunghezza della proteina.

La medulla

Può esistere infine un ulteriore strato cellulare al centro del capello, la medulla, ma che generalmente è assente, molto ridotto e/o discontinuo; lo si trova tipicamente in peli e setole animali (ad esempio crine di cavallo), nell'uomo è raro e non influenza sensibilmente le proprietà o l'aspetto della fibra. Viene studiato principalmente per studi forensi di attribuzione di un campione ad un soggetto; in cosmesi può diventare influente con la comparsa di capelli bianchi: il carattere discontinuo della medulla fa sì che si possano formare cavità all'interno del capello, la luce incidente incontra quindi un cambio di indice di rifrazione ed eventualmente può comportare fenomeni di scattering che risultano, visivamente, in aree più chiare.

La pigmentazione del capello avviene per mezzo delle melanine, divisibili in eumelanina per i capelli marroni e feomelanina per quelli arancioni o rossi (figura 1.4.5); tali pigmenti sono concentrati in melanosomi, in qualche misura carrier ovoidali con dimensioni comprese tra 400 nm e 1000 nm contenenti il cromoforo, e vengono dispersi nelle cellule della corteccia e della medulla, come illustrato in figura 1.4.6.



Figura 1.4. 5 - Confronto tra un capello bruno (eumelanina) ed uno rosso (feomelanina) ^[2]

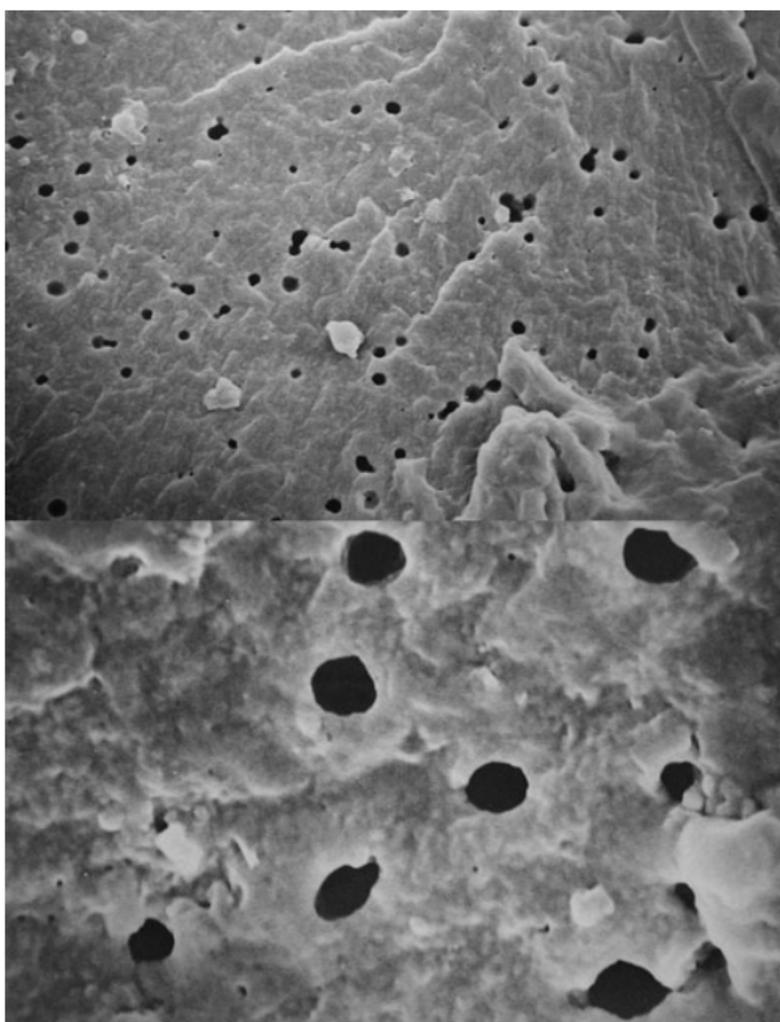


Figura 1.4. 6 - Micrografie SEM a diversi ingrandimenti in cui si possono notare le cavità lasciate dall'ossidazione dei melanosomi con perossido di idrogeno ^[1]

1.4.3 Alterazione dei capelli per ossigenatura ^[3]

I formulati disponibili in commercio per ossigenare i capelli sono costituiti principalmente da acqua ossigenata in ambiente alcalino con o senza aggiunta di persolfati, che svolgono un ruolo di acceleranti. Lo scopo principale degli agenti ossigenanti è quello di schiarire i capelli, obiettivo raggiungibile mediante l'ossidazione dei cromofori (melanina); sebbene tale reazione sia cineticamente favorita in soluzione, l'ambiente di reazione reale fa sì che il controllo sia principalmente guidato dalla diffusione e che avvengano prima le ossidazioni dei legami tioesterei e dei ponti disolfuro superficiali e, successivamente, ossidazioni parallele ed indesiderate nella corteccia.

È stata misurata sperimentalmente la variazione degli amminoacidi presenti nella fibra, principalmente relativa alla tirosina, alla metionina ed alla cisteina; un uso non continuato di perossidi lascia praticamente inalterati i primi due mentre la cisteina viene sempre convertita ad acido cisteico.

L'impoverimento di acido 18-MEA comporta immediatamente la riduzione del carattere idrofobico delle fibre, oltre a produrre un certo numero di gruppi funzionali sulfonato in superficie che aumentano l'acidità complessiva del capello; all'interno e sotto la cuticola l'ossidazione comporta il distacco del CMC dalle cellule, come evidenziato in figura 1.4.7 in cui un capello ossidato e posto in trazione a rottura a secco mostra come residuo uno strato cuticolare cavo, privo della corteccia.

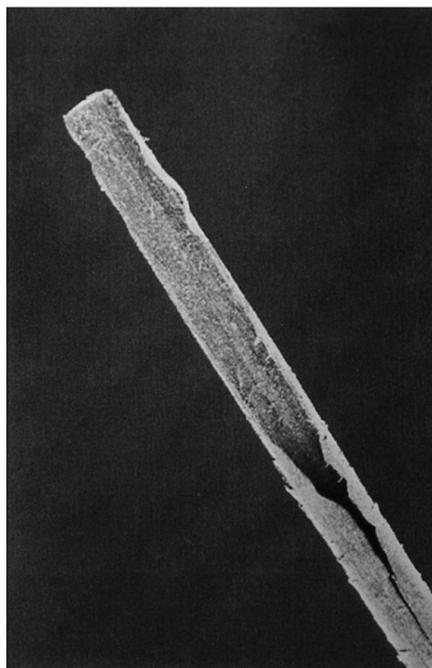


Figura 1.4. 7 - Micrografia SEM di un capello ossidato con perossido di idrogeno in ambiente alcalino per qualche ora e posto a prova di rottura per trazione a secco. ^[1]

L'estensione della degradazione dei ponti disolfuro in una ossigenatura "normale" coinvolge fino al 25% dei legami presenti nella fibra, un uso intenso, tipico del trattamento di capelli molto scuri (neri o nero-marroni) a risultati biondo chiari, può arrivare al deterioramento del 45% dei legami disolfuro.

L'ambiente di questi formulati è solitamente compreso tra pH 9 e pH 11, in tale ambiente avvengono reazioni di idrolisi delle catene polipeptidiche e dei legami ammidici tra esse (Figura 1.4.8).

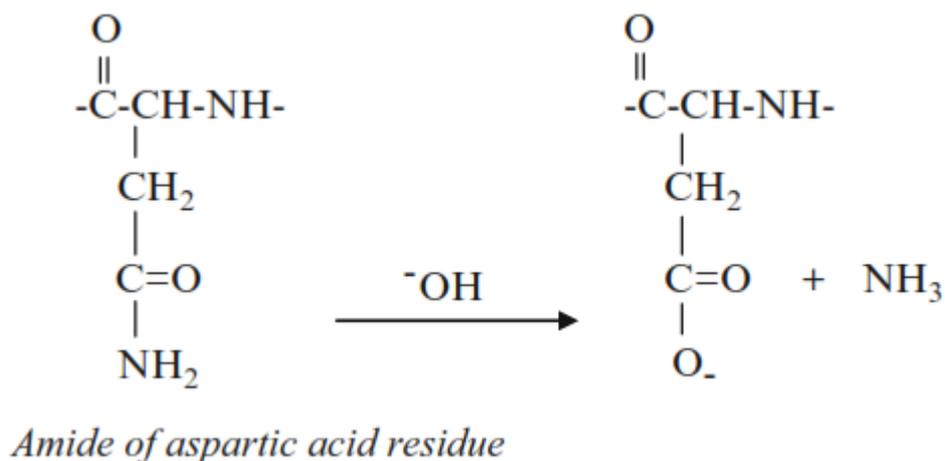
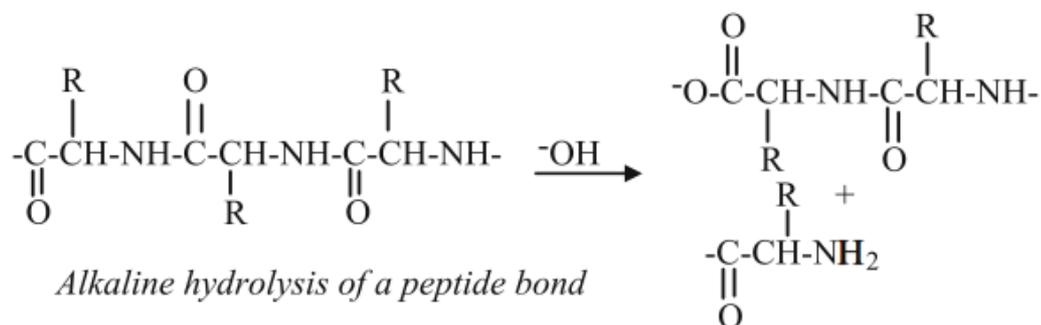


Figura 1.4. 8 - Reazioni di idrolisi in ambiente alcalino^[1]

Si può affermare che la resistenza a trazione dei capelli dipenda principalmente dai ponti disolfuro per capelli bagnati e dai legami peptidici per capelli secchi, dopo un trattamento normale di ossigenatura quest'ultima è risultata ridotta del 4% – 8%.

Un processo simile alla degradazione da perossidi viene normalmente effettuato per foto ossidazione dei legami C – S e S – S all'interno della struttura dei capelli; è per limitare tale processo che sono naturalmente presenti i pigmenti, che dissipano l'energia elettromagnetica sotto forma di calore, inoltre l'eumelanina è in grado di assorbire i radicali liberi formati dalle radiazioni incidenti dando luogo allo schiarimento che si nota nei periodi estivi. Le colorazioni artificiali possono contribuire a salvaguardare la struttura delle fibre, ed è dimostrato che più scuro è il pigmento maggiore è la protezione apportata, ma soffrono anch'esse di un effetto di degradazione foto ossidativa per cui tendono a variare, anche sensibilmente, la tonalità dopo l'esposizione prolungata alla luce solare.

Eventuali metalli di transizione presenti anche in tracce, in particolare ferro e rame, catalizzano la reazione di propagazione dei radicali e sono spesso responsabili di gravi danni permanenti alle fibre, di natura sia strutturale, per via di reticolazioni amorfe che si vengono a creare e deviano i normali percorsi di propagazione delle cricche; che di aspetto, poiché i radicali possono mutare la struttura degli agenti cromofori o causare un diffuso ingiallimento delle fibre.

1.4.4 Tinture per capelli

Tra le diverse formulazioni disponibili per la tintura dei capelli umani riconosciamo le colorazioni permanenti, anche dette ossidative, quelle semipermanenti e quelle temporanee. Nelle tinture ossidative si prevede di formare il colore direttamente in situ, nei capelli, partendo da determinati precursori e da sistemi ossidativi. In Europa le sostanze, siano esse precursori, ossidanti o altri componenti della matrice, ammesse all'uso in cosmesi sono strettamente regolate dall'ente *European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association* (COLIPA).

Tinture permanenti o ossidative

I componenti principali di una formulazione per tinture permanenti consistono in un precursore di colorante che formi intermedi attivi, un fissatore (coupler) del colorante, un agente ossidante, solitamente perossido di idrogeno, ed i composti di matrice come tensioattivi, conservanti ed altri additivi. Queste formulazioni hanno un pH solitamente tamponato nell'intervallo tra pH 8 e pH 10.

Il consumatore è in grado di gestire direttamente la tonalità risultante correggendo i rapporti tra i componenti principali. I precursori (Figura 1.4.9) sono principalmente composti polifunzionali derivati dall'anilina in grado di formare, per ossidazione, diimine o quinonimine ioniche.

I fissatori sono composti aromatici che reagiscono con gli intermedi attivati dei coloranti, in assenza di questi i coloranti risulterebbero grigi o marroni mentre questi da soli darebbero prodotti di ossidazione incolori (Figura 1.4.9)

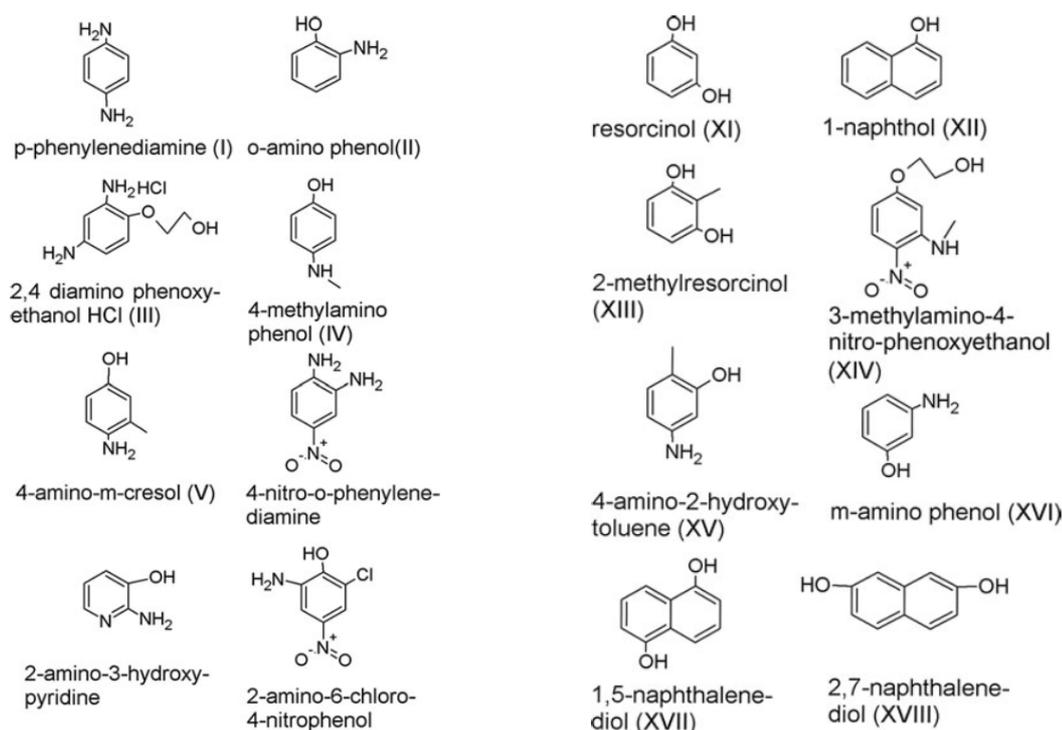


Figura 1.4. 9 - Alcuni precursori dei coloranti (prime due colonne) e dei fissatori (ultime due colonne) impiegati nelle tinture ossidative ^[1]

Le formulazioni disponibili contengono spesso più di un precursore e più di un fissatore, per tanto le reazioni che possono avere luogo nei capelli sono molteplici. Gli agenti ossidanti possono variare ma solitamente viene impiegato perossido di idrogeno, data la possibilità di reazioni radicali catalizzate da metalli di transizione queste formulazioni contengono spesso agenti sequestranti per chelare tali sostanze.

I precursori riescono a diffondere all'interno della fibra per piccoli spessori prima di dare luogo alla formazione dei coloranti, che è guidata da una cinetica molto

rapida; ciò comporta la cosiddetta “colorazione ad anello”; i coloranti che si formano possono essere dinucleari, accoppiando un precursore ad un fissatore, o polinucleari, se aumentano le molecole accoppiate. In ogni caso i prodotti che si formano hanno dimensioni tali da non riuscire più ad uscire dalla fibra per diffusione e vengono pertanto definiti shampoo-resistenti.

Nei tardi anni '80 le sostanze di cui è noto l'impiego come precursori o fissatori, elencate nella direttiva per la cosmesi europea, erano oltre 150, l'ente COLIPA ha ridotto questo numero ad appena 25 e molte di queste sono in attesa di ulteriori test che potrebbero respingerle. È doveroso far notare però che spesso non c'è accordo tra le direttive proposte da questo ente ed i diversi paesi, ad esempio in Italia è vietato l'uso del 1-nitro-p-fenilendiammina che invece risulta “sicura” secondo COLIPA; tali disaccordi possono confinare certe industrie al mercato interno e compromettere lo sviluppo di nuove formulazioni.

Tinture semipermanenti

Con tintura semipermanente si fa riferimento a colorazioni che resistono a 4 – 6 lavaggi normali con shampoo; in tali formulazioni non avvengono reazioni di sintesi del colorante ma si impiegano sostanze colorate preformate. Per ottenere la tonalità desiderata e garantire che questa resti tale dopo i lavaggi, poiché un colorante potrebbe essere rimosso più facilmente di altri comportando un viraggio nel tempo, vengono dosati nelle formulazioni anche 18 diverse sostanze coloranti (figura 1.4.10). Oltre a questi non esistono altri componenti essenziali ma una serie di additivi come tensioattivi, tamponi e profumi.

L'assorbimento del colorante avviene solamente per diffusione ed è influenzato sensibilmente dallo stato superficiale della fibra, con conseguente assorbimento preferenziale in prossimità delle punte; il capello trattiene queste sostanze tramite interazioni deboli di tipo Van der Waals. L'applicazione di queste tinture viene effettuata sui capelli appena lavati, con un tempo di posa di 20 – 30 minuti a cui segue un risciacquo senza shampoo ed eventualmente un trattamento con un balsamo che agisce da fissatore “lisciando” le cuticole in modo da favorire la ritenzione del colorante.

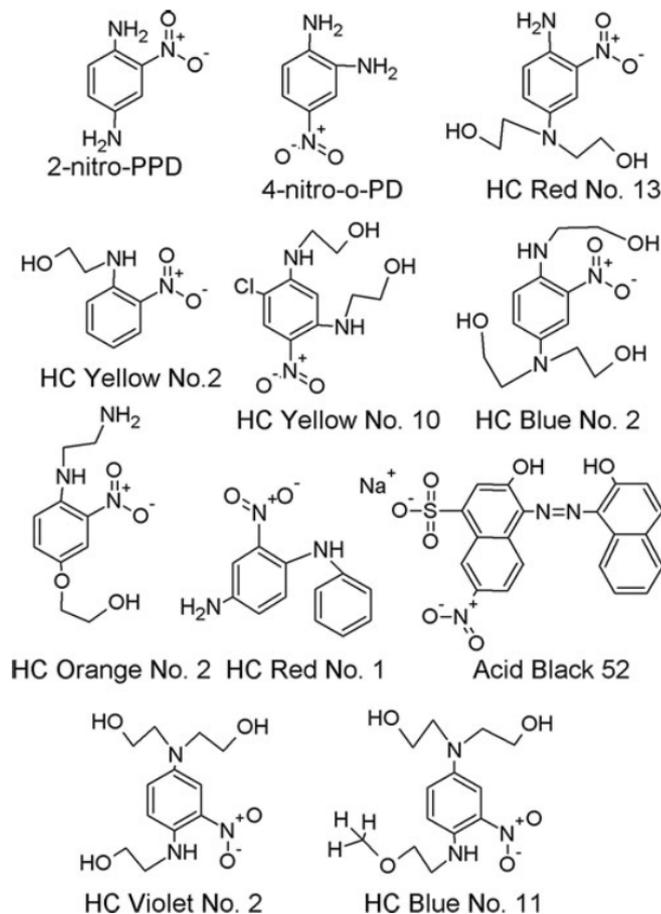


Figura 1.4. 10 - Alcuni dei coloranti impiegati nelle tinture semi-permanenti ^[1]

Tinture temporanee

L'obiettivo delle tinture temporanee è quello di conferire ai capelli una colorazione che risulti lavabile con un normale shampoo. In queste formulazioni la quantità di sostanze coloranti diverse è inferiore poiché non è necessario modulare il rilascio nel tempo, si vuole ottenere solamente la tonalità richiesta, pertanto sono sufficienti dalle 2 alle 5 sostanze.

L'applicazione avviene su capelli appena lavati o direttamente su capelli asciutti, via spray, a cui segue solamente la pettinatura, non si risciacqua e si evitano condizioni in cui i capelli sono molto bagnati per ostacolare la diffusione dei coloranti all'interno delle fibre. Le sostanze impiegate sono simili a quelle impiegate per le tinture tessili (figura 1.4.11), che avvengono però a tutt'altre condizioni di solventi, temperatura, pH e per tempi più lunghi; i parametri di interesse principale sono una elevata solubilità, così da favorire la rimozione, ed una scarsa diffusività, per ostacolare la penetrazione.

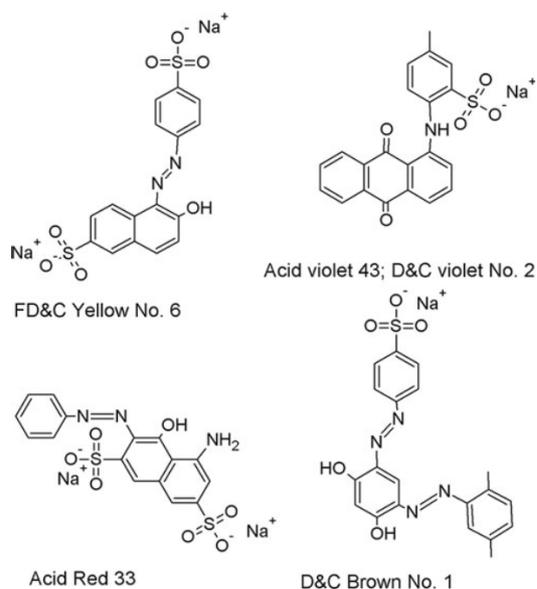


Figura 1.4. 11 - Alcuni coloranti impiegati nelle tinture temporanee

Altri tipi di tinture

Tra le tinture meno frequenti, ma comunque importanti dal punto di vista di mercato, troviamo le tinture con coloranti metallici in cui in passato sono stati impiegati come coloranti sali di piombo, argento, bismuto, cobalto, rame, ferro e mercurio.

Ad oggi restano presenti sul mercato solamente alcune formulazioni di piombo acetato che, reagendo con gli atomi di zolfo presenti nella cuticola, provocano un progressivo annerimento del capello; dato che questo effetto avviene in maniera graduale e continuata sono impiegate principalmente dagli uomini ma sono limitate a questa sola tonalità.

Hanno inoltre lo svantaggio di accumulare piombo nei capelli, che può reagire successivamente con perossidi e persino con altri coloranti.

Un altro tipo di tintura, molto antico, è quello che fa uso di estratti vegetali; attualmente sono presenti sul mercato principalmente due sostanze che rientrano in questa categoria, sebbene il mercato sia attento a questo tipo di formulati e siano in corso di studio altre sostanze nuove riguardo all'impiego come coloranti^[4].

Il lawsone (figura 1.4.12) viene ricavato dalle foglie della pianta di henné tramite un processo relativamente semplice di estrazione con acqua e bicarbonato di sodio; è stato usato come tintura per capelli e pelle fin dall'antico Egitto. L'altra sostanza è l'apigenina (figura 1.4.12), estratta dai fiori della camomilla.

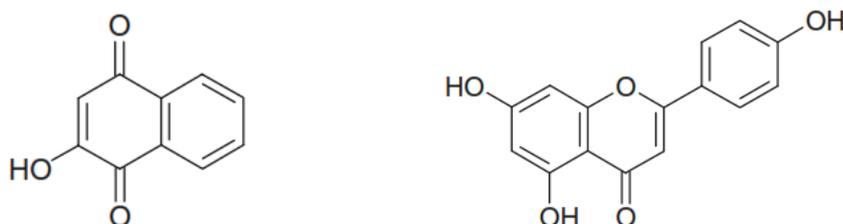


Figura 1.4. 12 – Strutture del 2-idrossi-1,4-naftochinone o lawsone estratto dall'henné (sinistra) e del 4',5,7-triidrossi flavone o apigenina estratta dalla camomilla (destra)^[1]

Entrambe queste molecole sono in grado di formare legami covalenti con i gruppi funzionali amminici, o altri gruppi nucleofili, liberi presenti nelle catene proteiche del capello e risultano molto difficili da rimuovere una volta legati.

Le stesse sostanze vengono usate anche per tingere tessuti ed in tale ambito sono coadiuvate dall'impiego di mordenti, sali metallici, tipicamente di cromo, ferro e stagno, che aiutano il fissaggio e modificano anche sensibilmente il tono risultante. Certe formulazioni commerciali di tinture all'henné "artigianali", formulate da piccoli laboratori o erboristerie, fanno uso degli stessi sali per conferire alla colorazione toni meno arancioni e più bruni; in questo modo si apportano ai capelli metalli di transizione che comportano rischi analoghi a quelli descritti per il piombo.

Bibliografia

- [1] C.R. Robbins; *“Chemical and Physical Behavior of Human Hair”* 5th Edition, Springer, 2012
- [2] CHEM 107 Hair handout. *“Basic Structure of Hair”* www.fbi.gov
- [3] L.J. WOLFRAM, K. HALL, I. HUI; *“The Mechanism of Hair Bleaching”* J. Soc. Cosmet. Chem., 21, 875-900 (Dec. 9, 1970)
- [4] C. Boga, C. Delpivo, B. Ballarin, M. Morigi, S. Galli, G. Micheletti, S. Tozzi; *“Investigation on the dyeing power of some organic natural compounds for a green approach to hair dyeing”* Dyes and Pigments 97 (2013) 9-18

2.0 PARTE SPERIMENTALE

2.1 Introduzione

In questo capitolo viene descritta la preparativa di nanoparticelle di argento con differenti rivestimenti. Il processo di sintesi selezionato come più idoneo è stato quindi ottimizzato del punti di vista chimico-fisico. Il prodotto nano strutturato finale è stato abbinato ad un colorante commerciale in una opportuna formulazione e ne è stata valutata la prestazione in seguito all'applicazione, seguendo diverse strategie, su capelli umani decolorati.

Le sintesi sono state svolte in ambiente acquoso, coadiuvate da riscaldamento con sistema a microonde se necessario; i sistemi riducenti esplorati sono classificabili in tre famiglie:

- Polimero con riducente – si è impiegato polivinilpirrolidone (PVP) come agente di rivestimento ed un monosaccaride, fruttosio o glucosio, attivato da sodio idrossido, come agente riducente.
- Zuccheri semplici – si è riprodotto il processo di sintesi precedente impiegando solo glucosio o diversi disaccaridi come agenti di rivestimento, in alcuni casi svolgendo anche il ruolo di agenti riducenti.
- Polisaccaridi – sono state esplorate sintesi in cui un polisaccaride, composto polimerico con molti gruppi funzionali, naturale (amido, chitosano) o modificato (idrossietilcellulose), agisce contemporaneamente sia da agente riducente che da rivestimento.

Le analisi svolte per caratterizzare le sospensioni ottenute sono state finalizzate all'individuazione di particelle con dimensioni inferiori a 100nm, monodisperse e termodinamicamente stabili nel tempo; tra queste:

- Determinazione del diametro idrodinamico mediante analisi DLS (dynamic light scattering)
- Determinazione dello stato di ossidazione dell'argento nelle fasi ottenute attraverso analisi per diffrazione a raggi X (XRD)

- Determinazione della resa di reazione effettuata misurando l'argento residuo in soluzione, con analisi spettrofotometrica a raggi X (XRF), dopo separazione delle nanoparticelle formatesi operata con ultracentrifugazione
- Registrazione dello spettro di risonanza plasmonica superficiale al fine di determinare la lunghezza d'onda a cui avviene il massimo di estinzione, parametro correlato alla natura e dimensione nanometrica delle particelle.
- Analisi morfologica, effettuata con l'ausilio di tecniche di microscopia elettronica a scansione con sorgente ad effetto di campo (SEM-FEG), per determinare la disposizione del rivestimento e la dimensione delle particelle sintetizzate.

2.2 Materie prime

In tabella 2.1 vengono elencate le materie prime impiegate nelle sintesi e nelle successive applicazioni, accompagnate dalle principali informazioni chimico-fisiche e con indicato il fornitore.

Composto	Stato fisico	Aspetto	PM* (g/mol)	Purezza % (m/m)	Produttore
Acido Ascorbico	Solido	Bianco	176,12	≥ 99,7	Riedel-de Haën
Amido di riso	Solido	Bianco	180,16	≥ 99,0	Sigma Aldrich
Argento nitrato	Solido	Bianco	169,87	≥ 99,0	Sigma Aldrich
Chitosano	Solido	Beige	179,17	≥ 99,0	Sigma Aldrich
Fruttosio	Solido	Bianco	180,16	≥ 99,0	Sigma Aldrich
Glucosio	Solido	Bianco	180,16	≥ 99,0	Merk
Lattosio monoidrato	Solido	Bianco	360,31	≥ 99,5	Sigma Aldrich
Maltosio monoidrato	Solido	Bianco	360,31	≥ 99,0	Sigma Aldrich
PVP K25	Solido	Bianco	111,14	≥ 99,0	Sigma Aldrich
Sodio citrato	Solido	Bianco	294,10	≥ 99,0	Sigma Aldrich
SoftCAT™ SL-30	Solido	Bianco	178,25	≥ 99,0	Amerchol
SoftCAT™ SL-5	Solido	Bianco	178,25	≥ 99,0	Amerchol
SoftCAT™ SL-60	Solido	Bianco	178,25	≥ 99,0	Amerchol
SoftCAT™ SX-1300H	Solido	Bianco	178,25	≥ 99,0	Amerchol
Trealosio diidrato	Solido	Bianco	378,33	≥ 98,5	Sigma Aldrich

Tabella 2. 1 - Elenco delle materie prime utilizzate

*per i polimeri si è intesa l'unità monomerica relativa

2.3 Sintesi delle nanoparticelle di argento

2.3.1 Sintesi con polivinilpirrolidone in presenza di monosaccaridi

Questa sintesi, già nota ed ottimizzata in lavori precedenti ^[1], è stata utilizzata come sistema di riferimento con cui confrontare le sintesi successive (sintesi standard). Le variazioni che sono state apportate riguardano principalmente ordine, tempi e metodi con cui vengono aggiunti i diversi reattivi.

La procedura comune seguita in queste sintesi prevede la dispersione in soluzione acquosa dell'agente di rivestimento, polivinilpirrolidone K30, dell'agente riducente, glucosio o fruttosio, e dell'idrossido di sodio; una volta sciolti i composti, la soluzione viene riscaldata in un sistema a microonde, seguendo una velocità di riscaldamento impostata. Al raggiungimento della temperatura di reazione viene addizionato al sistema una soluzione contenente argento nitrato, che provoca la formazione quasi istantanea delle nanoparticelle; il processo è ultimato con alcuni minuti di incubazione alla stessa temperatura ed il raffreddamento a temperatura ambiente.

L'idrossido di sodio è necessario per catalizzare la reazione di riduzione dell'argento da parte dei monosaccaridi.

In figura 2.1 viene rappresentato lo schema logico dei procedimenti della sintesi:

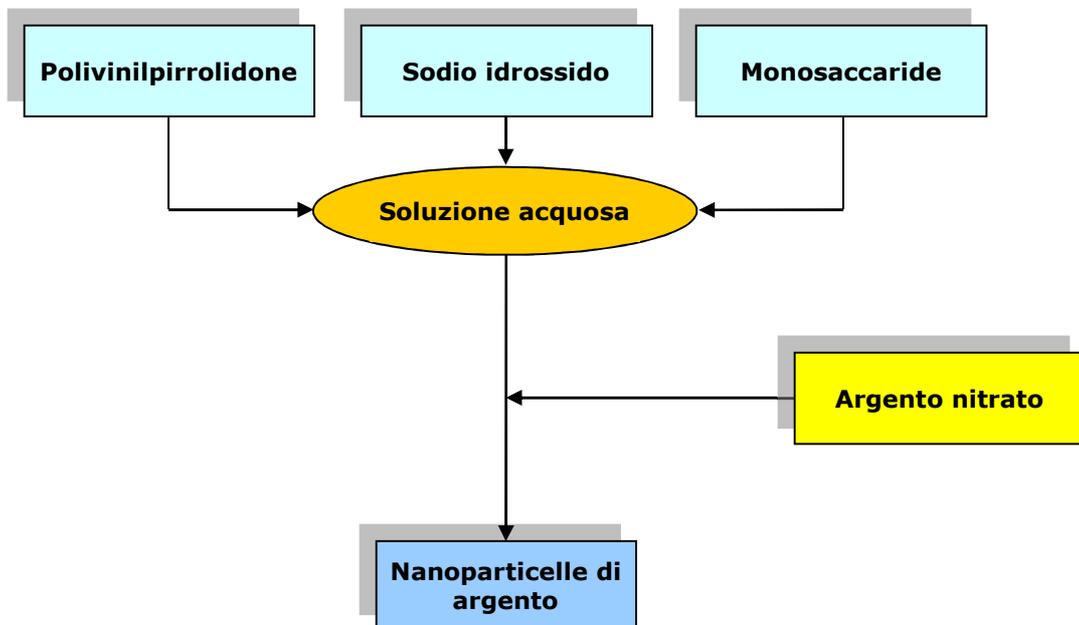


Figura 2. 1 - Schema di sintesi per nanoparticelle di argento con polivinilpirrolidone

Le operazioni e le quantità delle sostanze impiegate in ciascuna sintesi sono riportate di seguito in dettaglio sia per la sintesi con glucosio che con fruttosio.

Sintesi di una sospensione nanoparticellare di argento ridotto tramite glucosio:

(100ml 0,5% di argento in peso)

1. Preparazione, in un becher, della soluzione di precursore, 850mg di argento nitrato in 10ml di acqua distillata.
2. Preparazione, in un pallone, della soluzione di reazione, 3138mg di polivinilpirrolidone K25, 282mg di sodio idrossido, 901mg di glucosio in 90ml di acqua distillata.
3. Riscaldamento della soluzione di reazione fino alla temperatura di 70° C, con sistema di riscaldamento a microonde impostato in modo da portare la temperatura ambiente a quella di reazione in 4 minuti.
4. Inserimento nella soluzione calda della soluzione di precursore.
5. Mantenimento della temperatura per 3 minuti.
6. Raffreddamento a temperatura ambiente in aria.
7. Raccolta della sospensione colloidale ottenuta, concentrazione 0,05M di argento.

Sintesi di una sospensione nanoparticellare di argento ridotto tramite fruttosio:

(100ml 0,5% di argento in peso)

1. Preparazione, in un becher, della soluzione di precursore, 850mg di argento nitrato in 10ml di acqua distillata.
2. Preparazione, in un pallone, della soluzione di reazione, 3056mg di polivinilpirrolidone K25, 282mg di sodio idrossido, 901mg di fruttosio in 90ml di acqua distillata.
3. Riscaldamento della soluzione di reazione fino alla temperatura di 70° C, con sistema di riscaldamento a microonde impostato in modo da riscaldare dalla temperatura ambiente a quella di reazione in 4 minuti.
4. Inserimento nella soluzione calda della soluzione di precursore.
5. Mantenimento della temperatura per 3 minuti.
6. Raffreddamento a temperatura ambiente in aria.
7. Raccolta della sospensione colloidale ottenuta, concentrazione 0,05M di argento.

I rapporti molari, mantenuti costanti, tra i reagenti nelle sintesi sono stati quelli riportati nei lavori precedentemente pubblicati ^[1]; per 1 mole di argento sono aggiunte: 5,5 moli di polivinilpirrolidone, 1,41 moli di sodio idrossido, 1 mole di monosaccaride. Per quanto riguarda le impostazioni ottimali circa la potenza erogata dal sistema a microonde, la temperatura ed il tempo di reazione ci si è basati da dati di letteratura.

In questo lavoro sono state svolte le sintesi variando:

- La quantità di sospensione preparata
- La preparazione dei reagenti
- La diversa velocità di miscelazione dei precursori
- Sostituzione di alcuni reagenti

Le diverse sospensioni ottenute sono state analizzate e confrontate. Inoltre i dati relativi alla stabilità nel tempo, alla lunghezza d'onda di estinzione plasmonica, alla resa di reazione e alla dimensione e distribuzione delle nanoparticelle sono stati presi come riferimento per poter poi confrontare le sospensioni di nanoparticelle di argento ottenute usando altri rivestimenti.

A titolo esemplificativo si riportano di seguito la distribuzione delle dimensioni e lo spettro di estinzione sovrapposti (Figure 2.2 e 2.3), per la sintesi standard (AgL01), per una sintesi effettuata utilizzando una vetreria prelavata con acqua regia (AgL03) e per una sintesi in cui sono stati impiegati reattivi da una diversa fornitura appena iniziata (AgL05).

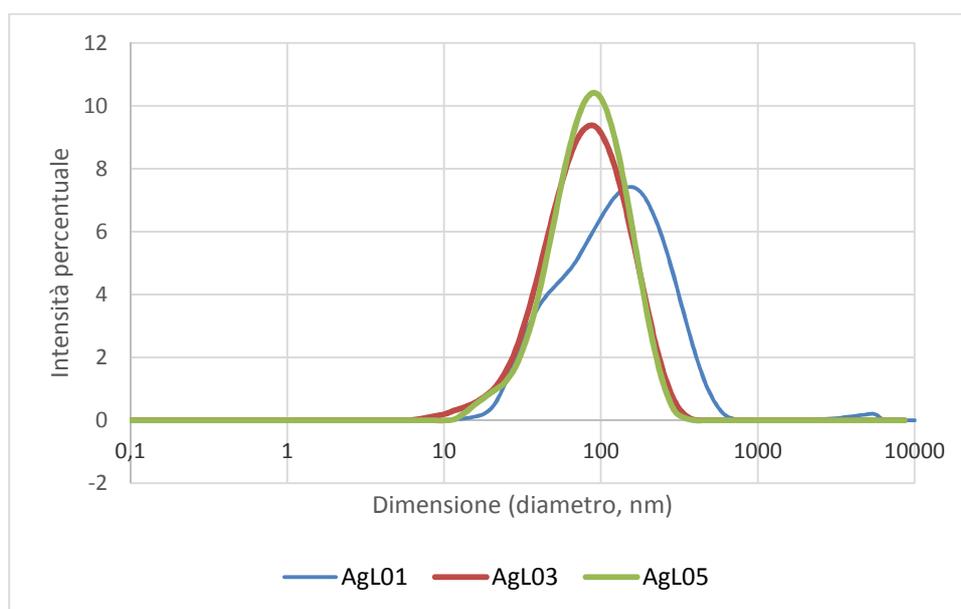


Figura 2. 2 – Distribuzioni delle dimensioni per intensità

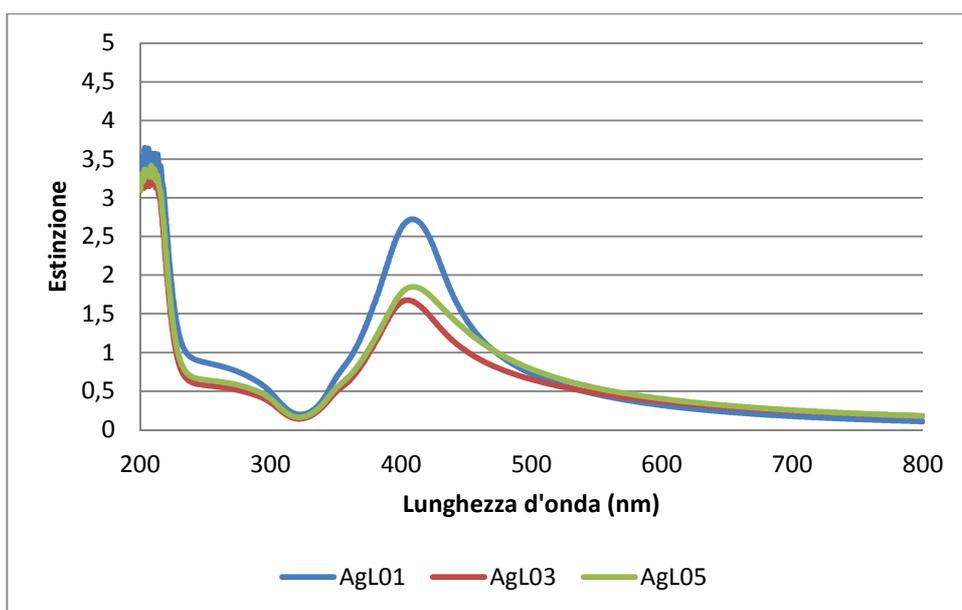


Figura 2. 3 - Spettri di estinzione registrati in diluizione 1 a 200

In Tabella 2.2 sono riportate le variazioni sperimentali investigate, rispetto alla sintesi standard con polivinilpirrolidone, mentre in Tabella 2.3 la programmata di temperatura utilizzata per il sistema a microonde.

Parametri di sintesi	Valori
Base impiegata	Sodio idrossido, Sodio carbonato
Sistema riducente	Solo glucosio; solo fruttosio; glucosio e fruttosio 50/50
Diverso inserimento del precursore	Veloce da beuta; Lento con imbuto gocciolatore
Diverse condizioni dei reagenti	Freschi; Iniziati e stoccati per mesi
Diverse condizioni di vetreria	Trattamento classico; Pretrattata con acqua regia
Volume totale batch di reazione (ml)	90; 100; 110

Tabella 2. 2 – Condizioni di reazione studiate per le sintesi di sospensioni di argento stabilizzate da PVP

Tempo	Potenza massima impostata [W]	Temperatura impostata
4 min	250	70 °C
30 sec	150	70 °C
2,5 min	100	70 °C

Tabella 2. 3 - Programma di riscaldamento microonde impostato

2.3.2 Sintesi con zuccheri semplici

Sulla base dei risultati ottenuti dalle sintesi descritte nel paragrafo precedente, si sono studiate sintesi alternative per la produzione di sospensioni di argento utilizzando mono e disaccaridi come agenti sia riducenti che di rivestimento.

Inizialmente si sono mantenute le stesse condizioni di reazione del sistema con PVP in presenza di monosaccaridi, sostituendo il polimero con i seguenti zuccheri:

- Glucosio
- Lattosio
- Maltosio
- Trealosio

Allo scopo di ottenere una struttura core-shell tipo aquasome: nucleo inorganico e rivestimento esterno (shell) costituito da un carboidrato.

Lo schema di sintesi è riportato in figura 2.4; la procedura è stata modificata nei casi in cui lo zucchero di rivestimento ha svolto anche ruolo di riducente. In questo caso infatti era necessario impiegare una concentrazione maggiore di zucchero in soluzione. Inoltre, poiché il ruolo di agente di rivestimento, più che essere dovuto all'eccesso di glucosio, è svolto dall'acido gluconico e da altri prodotti di ossidazione, sono state effettuate prove variando la temperatura di reazione e/o la velocità di aggiunta del precursore. Lo scopo di tali variazioni è quello di produrre, attraverso la degradazione termica del glucosio indicata dall'imbrunimento della soluzione stessa, una frazione iniziale di composti in grado di contribuire maggiormente alla stabilizzazione dei primi semi di nucleazione ed ostacolare la formazione di macroagglomerati.

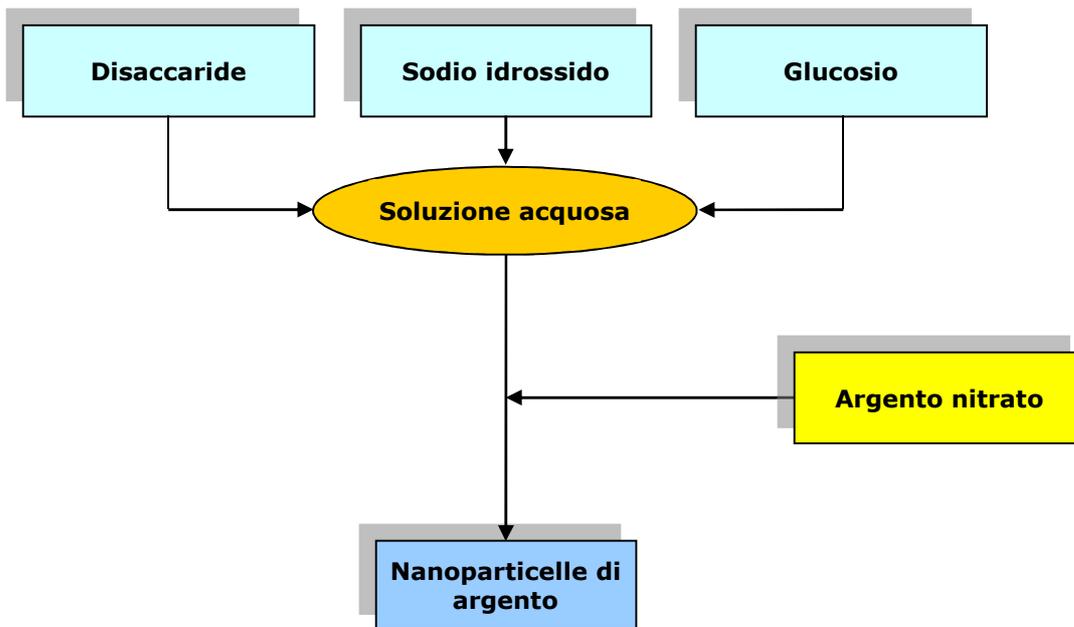


Figura 2. 4 - Schema di sintesi per nanoparticelle di argento stabilizzate da disaccaridi

In figura 2.5 viene rappresentato lo schema logico del procedimento di sintesi generico con glucosio.

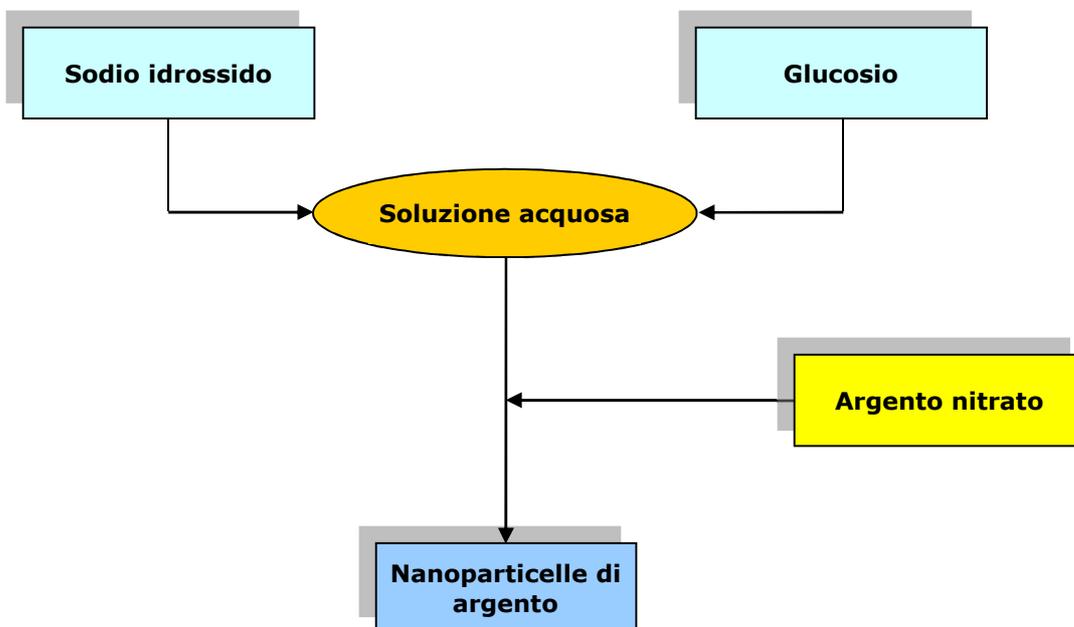


Figura 2. 5 - Schema di sintesi per nanoparticelle di argento ridotte e stabilizzate da glucosio

La sintesi con trealosio è stata indagata maggiormente in quanto è risultata più promettente sia dal punto di vista dei risultati iniziali che da quello riguardante lo sviluppo di sistemi di nanodelivery. In particolare sono state svolte sintesi con o senza aggiunta di sodio idrossido o sostituendo l'agente riducente (glucosio) con sodio citrato o acido ascorbico (vedi figura 2.6).

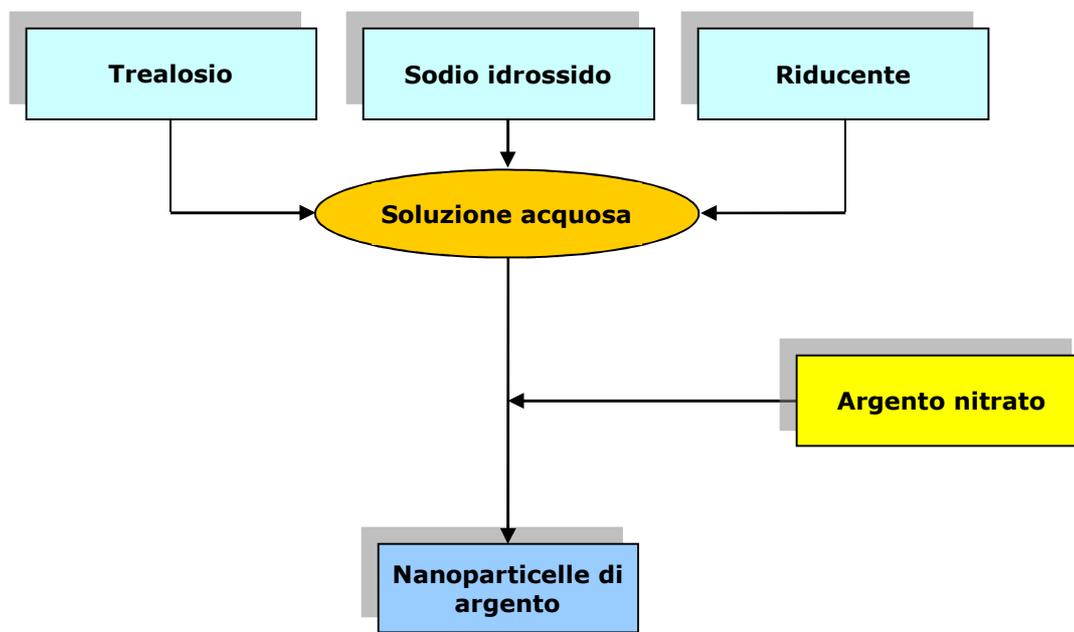


Figura 2. 6 - Schema di sintesi per nanoparticelle di argento stabilizzate da trealosio

In Tabella 2.4 sono riassunte le diverse condizioni di sintesi esplorate.

Parametri di sintesi	Valori
Base	Sodio idrossido
Rapporto molare [base]/[argento]	Per disaccaridi 1.41 / 1 Per glucosio 1 / 1
Riducente	Glucosio
Rapporto molare [riducente]/[argento]	1 / 1
Stabilizzante	Glucosio; Lattosio; Maltosio; Trealosio
Rapporto molare* [stabilizzante]/[argento]	Glucosio 0 / 1 Altri 5.5 / 1

Tabella 2. 4 – Condizioni di reazione di riferimento per le sintesi di sospensioni di argento stabilizzate da mono e disaccaridi.

* nel caso del glucosio impiegato anche come stabilizzante si intende concentrazione [glucosio] = [riducente] + [stabilizzante]

In tabella 2.5 si riportano i diversi rapporti molari indagati, sempre riferiti ad una mole di argento nitrato e suddivisi per agente stabilizzante.

Parametri di sintesi	Valori
Glucosio	1; 2; 2,5; 6,5
Base con glucosio	1; 1,5; 2; 2,5
Trealosio	1,5; 3; 5,5
Base con trealosio	0; 1,41; 2,5
Riducente con trealosio	0; 1; 1,5

Tabella 2. 5 – Condizioni di reazione studiate per le sintesi di sospensioni di argento stabilizzate da PVP

La temperatura ed il programma di riscaldamento sono stati mantenuti costanti (tabella 2.3) per le sintesi con disaccaridi mentre sono state investigate condizioni diverse la sintesi in presenza di glucosio (tabella 2.6).

Procedura 1		
Tempo	Potenza massima [W]	Temperatura
-	-	Ambiente (< 30 °C)
Procedura 2*		
Tempo	Potenza massima [W]	Temperatura
5 min	250	90 °C
30 sec‡	150	90 °C
2,5 min	120	90 °C
Procedura 3		
Tempo	Potenza massima [W]	Temperatura
2 min	250	60 °C
10 min	120	60 °C
1 min	250	70 °C
30 sec‡	150	70 °C
2,5 min	120	70 °C
Procedura 4		
Tempo	Potenza massima [W]	Temperatura
1 min	250	50 °C
10 min	120	50 °C
Raffreddamento	-	-
‡	-	Ambiente (< 30 °C)

Tabella 2. 6 - Diversi programmi di riscaldamento per la sintesi stabilizzata con glucosio.

* sintesi condotta con sistema di raffreddamento attivo sui vapori (chiller) impostato a 15 °C

‡ all'inizio di questo passaggio viene inserito il precursore metallico

In tabella 2.7 sono riportate le condizioni di sintesi utilizzate con trealosio e miscele riducenti diverse dal glucosio e diversi rapporti molari rispetto all'argento nitrato.

Parametri di sintesi	Valori
Rapporto molare [riducente totale]/[argento]	Mantenuto fisso: 1
Frazione percentuale di glucosio sostituita:	
da sodio citrato	100 %; 50%; 10%
da acido ascorbico	100 %; 50%; 10%

Tabella 2. 7 – Condizioni di reazione studiate per le sintesi di sospensioni di argento stabilizzate da trealosio e ridotte con sistemi differenti dal solo glucosio

A fine esemplificativo si descrivono le sintesi di sospensioni rivestite da trealosio in presenza o meno di glucosio.

Sintesi di una sospensione nanoparticellare di argento stabilizzato da trealosio e riduzione mediata da glucosio:

(100ml 0,2% di argento in peso)

1. Preparazione, in un becher, della soluzione di precursore, 340mg di argento nitrato in 10ml di acqua distillata.
2. Preparazione, in un pallone, della soluzione di reazione, 4162mg di trealosio diidrato, 113mg di sodio idrossido, 360mg di glucosio in 90ml di acqua distillata.
3. Riscaldamento della soluzione di reazione fino alla temperatura di 70° C, con sistema di riscaldamento a microonde impostato in modo da riscaldare dalla temperatura ambiente a quella di reazione in 4 minuti.
4. Inserimento nella soluzione calda della soluzione di precursore.
5. Mantenimento della temperatura per 3 minuti.
6. Raffreddamento a temperatura ambiente in aria.
7. Raccolta della sospensione colloidale ottenuta, concentrazione 0,02M di argento.

Per la sintesi priva di glucosio si è mantenuto costante il rapporto argento-trealosio e si è notata la riduzione nonostante questo disaccaride sia classificato come non riducente.

Sintesi di una sospensione nanoparticellare di argento ridotto e stabilizzato da trealosio:

(100ml 0,2% di argento in peso)

1. Preparazione, in un becher, della soluzione di precursore, 340mg di argento nitrato in 10ml di acqua distillata.
2. Preparazione, in un pallone, della soluzione di reazione, 4162mg di trealosio diidrato e 113mg di sodio idrossido in 90ml di acqua distillata.
3. Riscaldamento della soluzione di reazione fino alla temperatura di 70° C, con sistema di riscaldamento a microonde impostato in modo da riscaldare dalla temperatura ambiente a quella di reazione in 4 minuti.
4. Inserimento nella soluzione calda della soluzione di precursore.
5. Mantenimento della temperatura per 3 minuti.
6. Raffreddamento a temperatura ambiente in aria.
7. Raccolta della sospensione colloidale ottenuta, concentrazione 0,02M di argento.

2.3.3 Sintesi con polisaccaridi

Allo scopo di incrementare la disponibilità di gruppi funzionali superficiali e aumentare la stabilità delle sospensioni colloidali attraverso una maggior repulsione di carattere principalmente entropico; sono state effettuate sintesi utilizzando polisaccaridi (catene polimeriche, anziché oligomeriche) contenenti gruppi amminici o gruppi con carattere lipofilo.

Nella figura seguente (2.7) sono riportate le strutture ridotte dei polisaccaridi impiegati nelle sintesi.

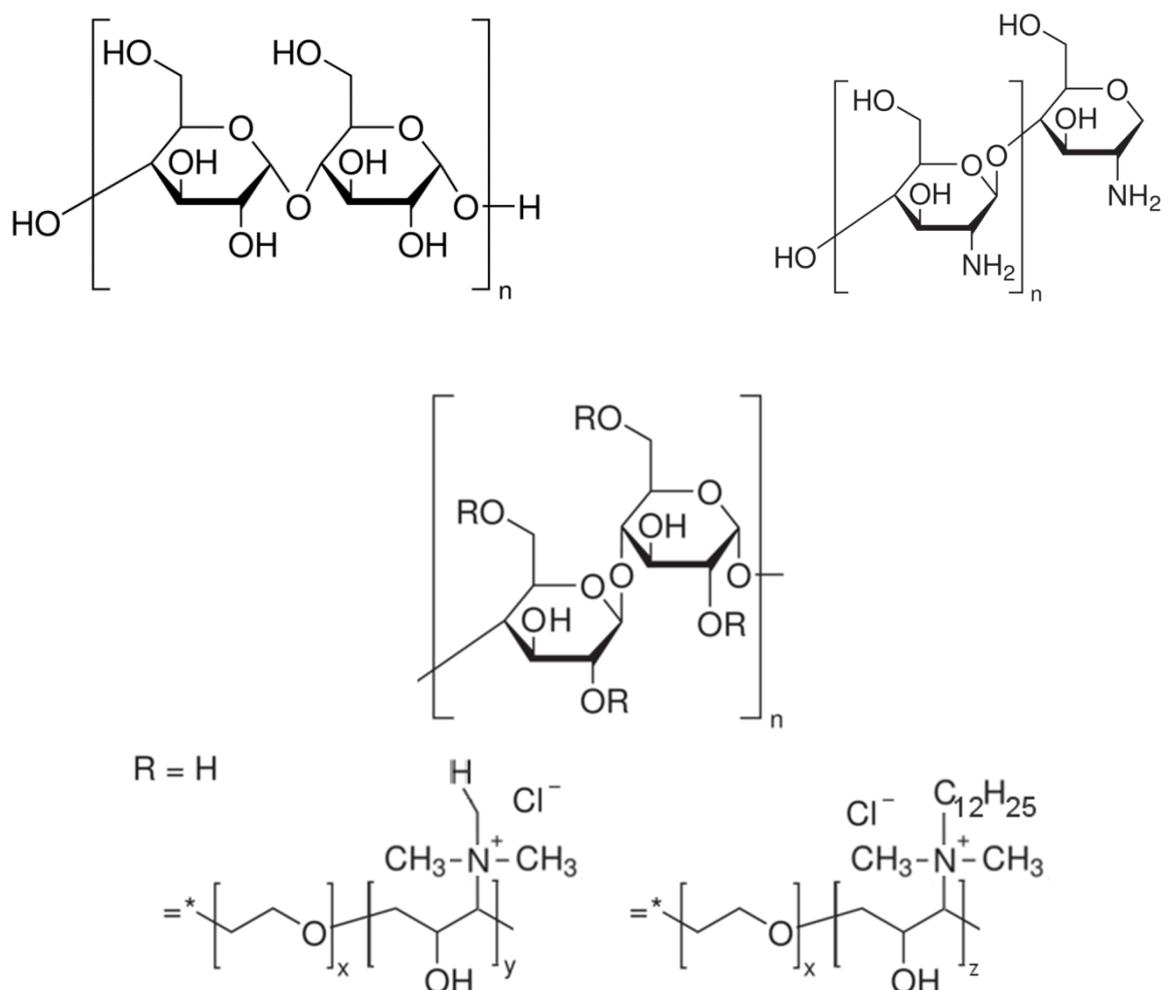


Figura 2. 7 - Strutture dei polimeri impiegati:
 alto a sinistra: amido; alto a destra: chitosano; in basso: SoftCAT™ (polyquaternium 67)

Le sintesi sono state inizialmente condotte seguendo lo stesso approccio impiegato per le sospensioni con polivinilpirrolidone ottenendo risultati insufficienti, si è quindi modificata la strategia di sintesi, per ciascun agente di rivestimento, in base a quanto disponibile in letteratura; i processi di sintesi considerati migliori, risultati dall'impiego di idrossietilcellulose, sono stati ottimizzati per la fase successiva di applicazione.

La procedura iniziale non ha prodotto risultati soddisfacenti a causa di problemi di solubilizzazione delle sostanze polimeriche nell'ambiente di reazione, acquoso, e della tendenza di alcune di queste sostanze a formare gelatine, con relative complicazioni nella distribuzione omogenea del precursore metallico; le sintesi alternative adottate vengono qui di seguito trattate separatamente.

2.3.3.1 Sintesi con amido

L'amido mostra una solubilità praticamente nulla in acqua, in letteratura viene impiegato come stabilizzante in sintesi di nanoparticelle metalliche a concentrazioni inferiori rispetto all'intervallo studiato in questo lavoro e spesso si tratta di amido modificato (amido solubile), privato della parte ramificata di amilopectina, oppure trasformato tramite tecniche di idrolisi acida, ossidazione o degradazione termica in presenza di glicerolo. Nelle prove da noi effettuate è stato mantenuto lo schema di sintesi riportato in Figura 2.8. Tuttavia prima di raggiungere la temperatura di reazione (70 °C), si verifica la degradazione della struttura polimerica e la formazione di una fase gelatinosa; in tali condizioni l'agitazione magnetica del sistema a microonde viene arrestata ed il precursore aggiunto non riesce a miscelarsi sufficientemente con la soluzione di reazione. La procedura è stata ripetuta successivamente riducendo le concentrazioni e variando il programma di riscaldamento per ottenere una fase gelatinosa omogenea prima dell'aggiunta del precursore; come riportato nelle seguenti tabelle 2.8 e 2.9 che riassumono le condizioni di reazione, i rapporti molari considerati rispetto alla quantità di argento introdotta ed i programmi di riscaldamento imposti.

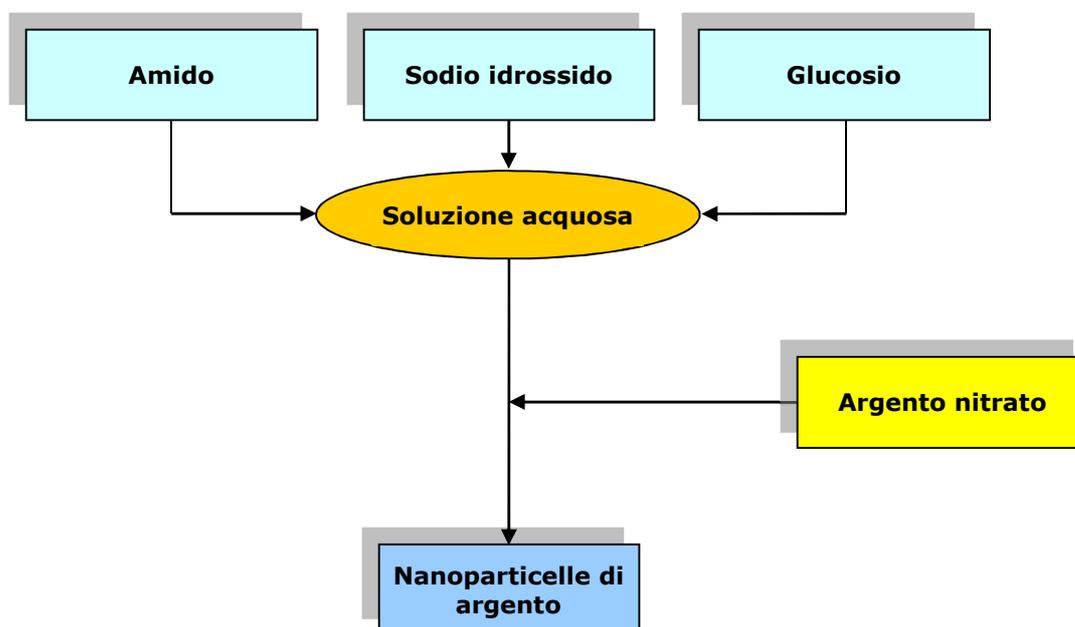


Figura 2. 8 - Schema di sintesi per nanoparticelle di argento stabilizzate da amido

Parametri di sintesi	Valori
Rapporto molare [amido]/[argento]	Mantenuto fisso: 5,5
Rapporto molare [riducente]/[argento]	Mantenuto fisso: 1
Rapporto molare [base]/[argento]	Mantenuto fisso: 1,41
Temperatura	70 °C
Volume di reazione (ml)	100
Concentrazione argento (mM)	20; 50

Tabella 2. 8 – Condizioni di reazione studiate per le sintesi di sospensioni di argento stabilizzate da amido

Procedura 1		
Tempo	Potenza massima [W]	Temperatura
4 min	250	70 °C
30 sec‡	150	70 °C
2,5 min	100	70 °C
Procedura 2		
Tempo	Potenza massima [W]	Temperatura
4 min	250	80 °C
30 sec‡	150	70 °C
2,5 min	100	70 °C

Tabella 2. 9 – Diversi programmi di riscaldamento per la sintesi stabilizzata con amido. ‡ all'inizio di questo passaggio viene inserito il precursore metallico

Il procedimento svolto nella sintesi a concentrazioni ridotte è conseguentemente simile a quello visto per le sospensioni ottenute con polivinilpirrolidone.

Sintesi di una sospensione nanoparticellare di argento stabilizzato da amido:

(100ml 0,2% di argento in peso)

1. Preparazione, in un becher, della soluzione di precursore, 340mg di argento nitrato in 10ml di acqua distillata.
2. Preparazione, in un pallone, della soluzione di reazione, 1784mg di amido di riso, 113mg di sodio idrossido, 360mg di glucosio in 90ml di acqua distillata.
3. Riscaldamento della soluzione di reazione fino alla temperatura di 80° C in 4 minuti.

4. Inserimento nella soluzione calda della soluzione di precursore.
5. Mantenimento della temperatura per 3 minuti.
6. Raffreddamento a temperatura ambiente in aria.
7. Raccolta della sospensione colloidale a concentrazione 0,02M di argento.

2.3.3.2 Sintesi con chitosano

Lo schema classico di sintesi (vedi figura 2.1) per questo polisaccaride non è impiegabile; il chitosano è solubile (scarsamente) soltanto in ambienti acidi, è stato pertanto seguito il processo di sintesi indicato da altri lavori ^[2] e rappresentato in Figura 2.9, in cui l'ambiente di reazione è mantenuto acido, con acido acetico, ed il riducente, acido ascorbico, non necessita di sodio idrossido come catalizzatore.

I parametri fisici e le concentrazioni riguardanti la sintesi svolta con il procedimento standard e quelli inerenti il procedimento in ambiente acido sono riportati nella tabella (2.10) sottostante.

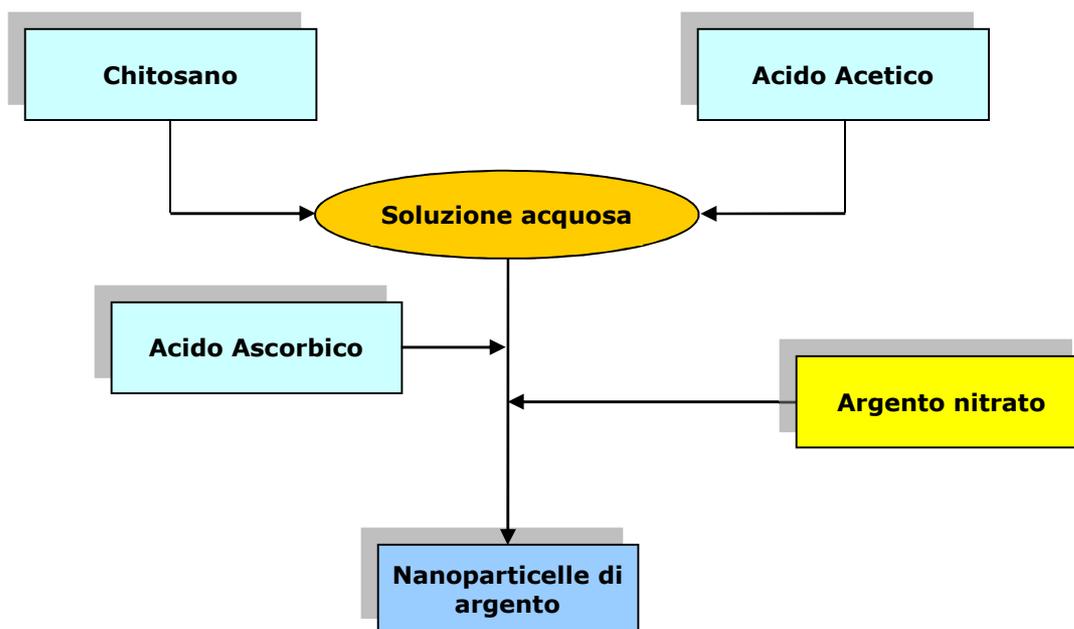


Figura 2. 9 – Schema di sintesi per nanoparticelle di argento stabilizzate da chitosano

Sintesi Basica		Sintesi Acida	
Parametri di sintesi	Valori	Parametri di sintesi	Valori
Rapporto molare [chitosano]/[argento]	Mantenuto fisso: 5,5	Rapporto molare [chitosano]/[argento]	Mantenuto fisso: 3,1
Rapporto molare [riducente]/[argento]	Mantenuto fisso: 1	Rapporto molare [riducente]/[argento]	Mantenuto fisso: 0,96
Rapporto molare [base]/[argento]	Mantenuto fisso: 1,41	Rapporto molare [Ac. Acetico]/[argento]	Mantenuto fisso: 8,31
Temperatura	70 °C	Temperatura	100 °C
Volume di reazione (ml)	100	Volume di reazione (ml)	100
Concentrazione argento (mM)	20	Concentrazione argento (mM)	20

Tabella 2. 10 – Condizioni di reazione studiate per le sintesi di sospensioni di argento stabilizzate da chitosano

Il procedimento in ambiente acido è stato svolto secondo i passaggi descritti di seguito, impostando il sistema a microonde come riportato in tabella 2.11 e attivando un circuito di raffreddamento termostato a 15° C per operare in condizione di riflusso.

Sintesi basica		
Tempo	Potenza massima [W]	Temperatura
4 min	250	70 °C
30 sec‡	150	70 °C
2,5 min	100	70 °C
Sintesi acida		
Tempo	Potenza massima [W]	Temperatura
4 min	250	100 °C
30 sec‡	150	100 °C
2,5 min	100	100 °C

Tabella 2. 11 – Diversi programmi di riscaldamento per la sintesi stabilizzata con amido. ‡ all'inizio di questo passaggio viene inserito il precursore metallico e l'acido ascorbico nella sintesi acida

Sintesi di una sospensione nanoparticellare di argento stabilizzato da chitosano:

(100ml 0,2% di argento in peso)

1. Preparazione, in un becher, della soluzione di precursore, 340mg di argento nitrato in 10ml di acqua distillata.
2. Preparazione, in un becher, della soluzione di precursore, 340mg di acido ascorbico in 10ml di acqua distillata.
3. Preparazione, in un pallone, della soluzione di reazione contenente 1g di acido acetico e 1g di chitosano in 80ml di acqua distillata.
4. Riscaldamento della soluzione di reazione fino alla temperatura di 100° C, con sistema di riscaldamento a microonde impostato in modo da riscaldare dalla temperatura ambiente a quella di reazione in 4 minuti.
5. Inserimento nella soluzione calda della soluzione di precursore.
6. Mantenimento della temperatura per 3 minuti.
7. Raffreddamento a temperatura ambiente in aria.
8. Raccolta della sospensione colloidale ottenuta, concentrazione 0,02M di argento.

2.3.3.3 Sintesi con idrossietilcellulose

Al fine di agevolare lo sviluppo di un prodotto cosmetico è stata impiegata una sostanza già presente nelle formulazioni commerciali (in particolare nei balsami) e distribuita sotto il nome registrato di SoftCAT™ o polyquaternium-67. Se impiegato seguendo lo schema standard (figura 2.1), questo polisaccaride dà luogo ad una reazione di gelificazione rapida in seguito all'introduzione del sodio idrossido; si è optato quindi per l'introduzione della base come ultimo passaggio, quando il precursore ed il polisaccaride sono già dispersi in soluzione. Non è necessario aggiungere glucosio, in quanto l'idrossietilcellulosa svolge anche il compito di riducente; la reazione ha luogo a temperatura ambiente ma sono state studiate anche: i) la sintesi assistita da microonde secondo il programma riportato in tabella 2.3, e ii) la sintesi ottenuta previo riscaldamento con bagno termostato a 45 °C.

In figura 2.10 viene rappresentato lo schema del procedimento di sintesi e in tabella 2.12 sono riportati i parametri e le condizioni di reazione investigati.

Parametri di sintesi	Valori
Rapporto molare [SoftCAT™]/[argento]	0,5; 1; 1,375; 1,5; 2,75; 5,5
Categoria di polimero	SL-5; SL-30; SL-60; SX-1300H
Rapporto molare [base]/[argento]	0; 0,7; 1,4; 2,8
Temperatura*	Ambiente; 45 °C; 70 °C
Volume di reazione (ml)	10; 40; 50; 100
Concentrazione argento (mM)	20; 50; 100; 200
Miscelazione	manuale; automatica (miscelatore elettrico)

Tabella 2. 12 – Condizioni di reazione studiate per le sintesi di sospensioni di argento stabilizzate da SoftCAT™

* temperatura ambiente: senza riscaldamento, 45 °C: in bagno termostato; 70 °C con sistema a microonde

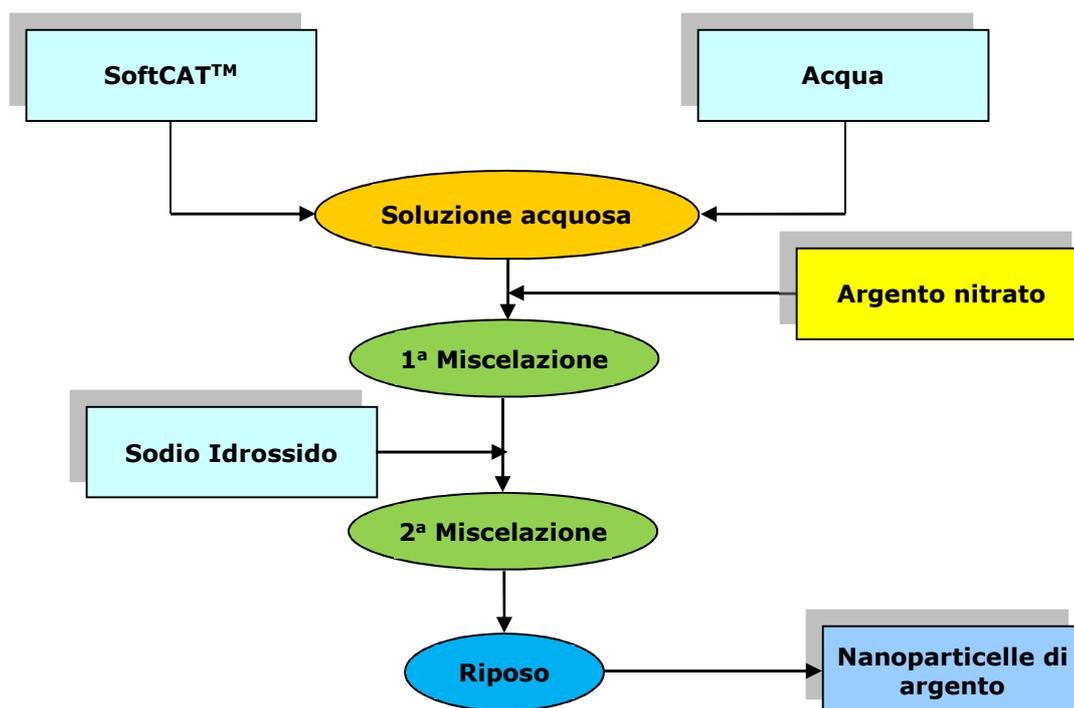


Figura 2. 10 – Schema di sintesi per nanoparticelle di argento stabilizzate da SoftCAT™

Viene descritta a titolo di esempio la sintesi di nanoparticelle di argento ridotte e stabilizzate con SoftCAT™ SL-5 “AgL-58”.

Sintesi di una sospensione nanoparticellare di argento stabilizzato da idrossietilcellulosa:

(50ml 0,5% di argento in peso)

1. Prelievo, in un becher, dell'agente di rivestimento, 2451mg di SoftCAT™ SL-5 in polvere.
2. Aggiunta di 12,5ml di una soluzione 0,2M di argento nitrato precedentemente preparata.
3. Diluizione della soluzione con 28ml di acqua distillata e agitazione fino a completa dissoluzione del composto polimerico.
4. Aggiunta di 7ml di una soluzione 1M di sodio idrossido precedentemente preparata.
5. Miscelazione meccanica della soluzione altamente viscosa ottenuta per facilitare la distribuzione uniforme dei reattivi.
6. Riposo per 48 ore.
7. Raccolta della sospensione colloidale ottenuta, concentrazione 0,05M di argento.

2.3.4 Miscele di confronto (*bianchi in assenza di nanoparticelle di argento*)

Le procedure di sintesi ottimizzate (trealosio nel caso delle sintesi con oligosaccaridi e idrossietilcellulosa per i sistemi con polisaccaridi) sono state eseguite anche per preparare delle soluzioni dette di confronto (bianchi) in cui non veniva aggiunto il precursore metallico.

Inoltre, per i sistemi con idrossietilcellulosa, sono state preparate soluzioni in cui il precursore metallico è stato sostituito da perossido di idrogeno in uguale quantità molare.

2.4 Prove di applicazione

Le prove di applicazione sono state condotte su capelli umani decolorati, al fine di studiare l'effetto degli aquasome a base di argento come nanodelivery per il rilascio di un colorante.

Il colorante impiegato nelle prove è stato il basic red 51, riportato in figura 2.11, già impiegato commercialmente in tinture temporanee e semipermanenti per capelli.

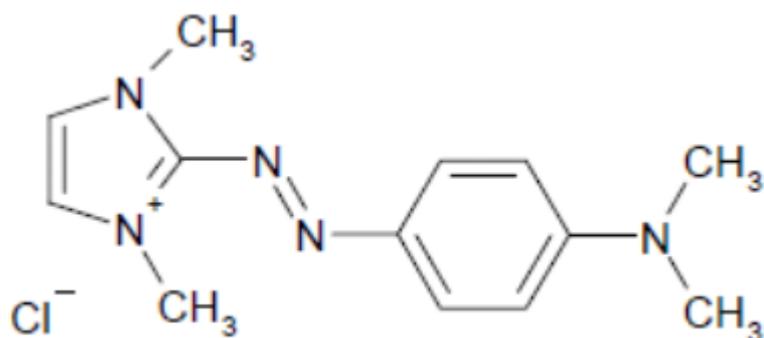


Figura 2. 11 – Struttura del colorante Basic Red 51

Per attribuire effettivamente la causa dei fenomeni osservati alla presenza di nanoparticelle le stesse prove sono state effettuate tingendo i capelli con il solo colorante, con il colorante e la miscela di reazione contenente nanoparticelle di argento stabilizzate da idrossietilcellulosa e una miscela contenente le stesse concentrazioni di colorante e idrossietilcellulosa ma priva di argento.

Inoltre sono state investigate diverse strategie di tintura dei capelli. Immergendo i capelli nella soluzione di reazione, prima della formazione delle nanoparticelle di argento (campioni “PRE”), oppure applicando sulle ciocche di capelli la gelatina, contenente nanoparticelle di argento rivestite (campioni “POST”).

Terminata l’applicazione le ciocche trattate sono state sottoposte a prove di stabilità del colore nel; effettuate svolgendo numerosi lavaggi, della durata di 15 minuti ciascuno, in acqua distillata con agitazione assicurata dal bagno ad ultrasuoni. Le acque di ciascun lavaggio sono state raccolte e se ne è determinato il contenuto di colorante, tramite analisi spettrofotometrica confrontata con una retta di calibratura esterna.

Le soluzioni preparate per le prove di applicazione hanno tutte concentrazione di colorante pari all’1% in massa, si è mantenuto l’argento alla stessa quantità ottenuta dalla sintesi (0,5% in massa) e le altre sostanze, di conseguenza, sono presenti in quantità fissate dai rapporti molari selezionati durante l’ottimizzazione delle singole sintesi utilizzate, salvo la presenza o assenza di sodio idrossido; nella tabella di seguito (2.13) si elencano le caratteristiche delle soluzioni provate, ciascuna utilizzata sia secondo il metodo “PRE” che secondo quello “POST”.

Campione	Tipologia di SoftCAT™	Argento (percentuale m/m)	Colorante (percentuale m/m)
1	SL-5	0,5%	1%
2	SL-30	0,5%	1%
3	SL-60	0,5%	1%
1_N	SL-5	0,5%	1%
2_N	SL-30	0,5%	1%
3_N	SL-60	0,5%	1%
CELL	SL-30	Assente	1%
CELL_N	SL-30	Assente	1%
COL	Assente	Assente	1%
COL_N	Assente	Assente	1%

Tabella 2. 13 – Soluzioni di tintura provate e loro caratteristiche

Poiché i coloranti possono dare luogo a reazioni reversibili in funzione del pH, che incidono sulla colorazione e sull'assorbimento osservati; si sono preparate due rette di calibrazione, una ottenuta partendo da una soluzione madre a concentrazione di colorante pari a $0,1\% \frac{m}{m}$ e da un'altra con stessa concentrazione di colorante in cui venivano aggiunti 7 ml di soluzione 1 M di sodio idrossido. Le soluzioni diluite utilizzate per la costruzione delle rette riportate in tabella 2.14.

Soluzione	Madre	1a10	5a100	1a100	5a1000	1a1000
Concentrazione (mM)	3,57	$3,57 \cdot 10^{-1}$	$1,79 \cdot 10^{-1}$	$3,57 \cdot 10^{-2}$	$1,79 \cdot 10^{-2}$	$3,57 \cdot 10^{-3}$

Tabella 2. 14 – Soluzioni misurate per la costruzione della retta di taratura UV-Vis di Basi Red 51

Sia le prove PRE che quelle POST sono state svolte lasciando i capelli a contatto con la miscela per un tempo fisso (30 minuti) terminato il quale i campioni vengono tamponati con carta da laboratorio e posti in stufa ad essiccare a 90 °C per altri 30 minuti. I campioni essiccati vengono poi lavati per 15 minuti in acqua e shampoo a 40 °C sotto agitazione per ultrasuoni, sciacquati e posti in un becher per 30 minuti sotto agitazione magnetica con una soluzione di acqua e shampoo appena preparata a 40 °C, nuovamente sciacquati e lasciati in un becher sotto agitazione magnetica ricambiando la stessa soluzione, per una notte (15 ore).

Le prove di rilascio sono state svolte solamente sui campioni preparati in assenza di sodio idrossido, per simulare un prodotto più compatibile all'applicazione sul cuoio capelluto.

2.5 Metodo di riscaldamento

Le sintesi che richiedevano riscaldamento sono state condotte in un sistema a microonde. Il forno microonde che è stato utilizzato, riportato in figura 5.15, modello: *Microsynth Plus* (Milestone, FKV, Bergamo), è uno strumento specifico per sintesi chimiche.

Lo strumento, permette il controllo della temperatura tramite sonda a fibra ottica, è dotato di una cavità per alloggiare il sistema refrigerante, fornisce agitazione magnetica alle soluzioni ed emette onde elettromagnetiche ad una frequenza di 2,45 GHz (banda ISM standard per forni a microonde). La potenza massima erogabile dal sistema è pari ad 1 KW; viene generata da due magnetron laterali con capacità di 800W ciascuno. Ciascun magnetron è, inoltre, provvisto di una protezione contro l'eccesso di energia derivante da microonde riflesse. La temperatura massima raggiungibile nel forno è 300°C.

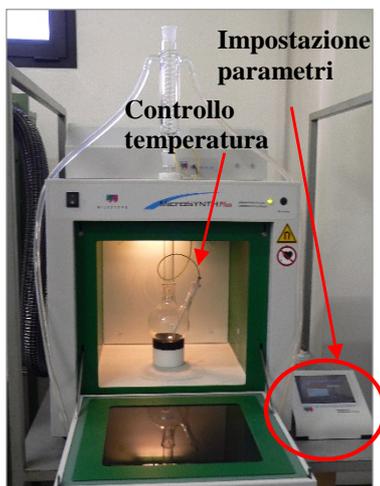


Figura 2. 12 – Sistema di riscaldamento a microonde *Microsynth Plus*

Lo strumento è costruito interamente con una struttura in acciaio inossidabile smaltato e da un portellone in acciaio con finestrino di osservazione in vetro, la cavità è completamente rivestita in teflon. Il sistema di emissione è di tipo multimodale e possiede un dispositivo magnetico in grado di omogeneizzare la potenza in tutta la cavità. L'erogazione della potenza può essere sia continua nel tempo e di potenza modulata (modalità utilizzata per le sintesi sviluppate) che pulsata, cioè intervallata da pause a potenza nulla e periodi a potenza fissata.

Microsynth plus possiede un modulo di controllo esterno in cui un software consente di impostare le rampe di riscaldamento e la persistenza in temperatura, gestire automaticamente ed in tempo reale il livello di potenza emessa e riprodurre in maniera sistematica e costante le reazioni memorizzatevi, permettendo, inoltre, l'acquisizione di tutti i parametri operativi e di processo per la sintesi in corso; la temperatura è controllata mediante una sonda a fibra ottica interfacciata con l'ambiente di reazione e protetta da un apposito supporto in teflon.

Durante lo sviluppo delle sintesi mediate da riscaldamento si è sfruttato il controllo di temperatura, in modo che la potenza erogata venisse modulata dallo strumento seguendo istante per istante la temperatura misurata dalla sonda, così da ottenere un andamento più simile al profilo di riscaldamento impostato.

Tra i dispositivi di sicurezza del forno è presente un sensore di gas capace di rilevare l'eventuale presenza di vapori organici nella cavità di lavoro, con interruzione istantanea dell'emissione di microonde in caso di superamento di una soglia limite massima.

I volumi processabili dal sistema, così come è costruito e accessoriatato, variano da 70 a 500 ml.

Il forno possiede anche un dispositivo per il controllo della pressione, che non è stato necessario poiché tutte le sintesi sono state svolte a pressione atmosferica e con refrigerante a cadere aperto; utilizzando un'apposita camera di reazione sarebbe stato possibile condurre sintesi idrotermali, ad una pressione massima di 30 bar.

Inoltre, operando in pressione sarebbe necessaria una sonda a termocoppia per la misurazione della e il massimo volume processabile risulterebbe limitato a 150 ml.

Il software di controllo, impostato per riprodurre il riscaldamento in funzione della temperatura, permette di dettare per ogni sintesi una rampa di riscaldamento, definita in più passi e caratterizzata dalle seguenti istruzioni:

- Temperatura finale, automaticamente letta come temperatura iniziale del passo successivo, il primo passo inizia alla temperatura rilevata dalla sonda.
- Tempo per il raggiungimento della temperatura finale, ossia quanti secondi costituiscono il passo attuale.
- Potenza massima erogabile, nell'intervallo di tempo si può impostare una potenza massima, nel caso in cui tale potenza risulti insufficiente al raggiungimento della temperatura finale il sistema termina il programma.

In tabella 2.15, a titolo di esempio, si riporta il programma di riscaldamento microonde, con controllo della temperatura, adottato per una sintesi di nanoparticelle d'oro rivestite da polivinilpirrolidone.

Tempo	Potenza massima impostata [W]	Temperatura impostata
3 min	400	90° C
30s	400	90° C
2 min	150	90° C

Tabella 2. 15 – Programma di riscaldamento modello, riferito ad una sintesi di nanoparticelle d'oro

In figura 2.13 si mostrano i dati registrati durante l'esecuzione relativa, si osserva che il profilo di temperatura segue il programma impostato, (la diminuzione di temperatura a 3 minuti è dovuta all'apertura dello sportello del forno per effettuare l'aggiunta del precursore), mentre la potenza viene progressivamente modulata.

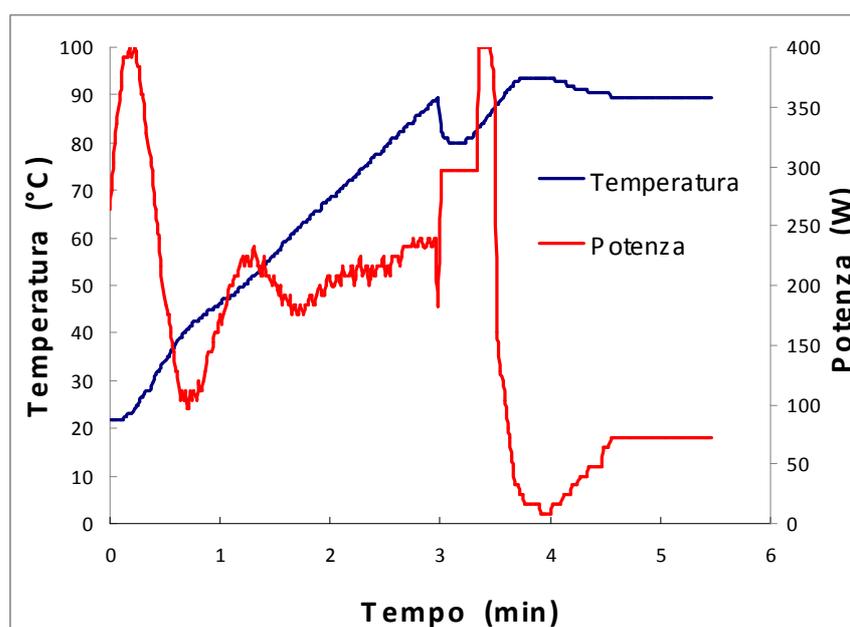


Figura 2. 13 – Profilo potenza-temperatura registrato durante la sintesi modello di nanoparticelle d'oro

2.6 Dynamic light scattering (DLS)

La stima delle dimensioni delle particelle in sospensione, attraverso determinazione del diametro idrodinamico, e della relativa distribuzione è stata effettuata attraverso la tecnica DLS (*dynamic light scattering*), utilizzando lo strumento *Zetasizer Nanoseries* (Malvern Instruments, UK), disponibile presso il CNR-Istec di Faenza.

La tecnica DLS si fonda sulla riflessione casuale causata da una sospensione colloidale investita da un raggio laser; fenomeno che avviene se le dimensioni delle particelle risultano inferiori al micron (la rilevabilità dello strumento è compresa tra 0,6 nm a 6 μm).

Questo metodo di analisi non è invasiva, si fonda sull'assunzione che ogni particella soggetta al moto casuale, di tipo browniano, quando investita dalla luce laser produca il fenomeno di diffusione, riflessione senza un angolo specifico. La velocità con cui si muovono le particelle nella sospensione è correlata alle loro dimensioni: particelle che possiedono un moto veloce avranno dimensioni minori rispetto ad altre che si muovono più lentamente. L'intensità della luce diffusa ha una cadenza di fluttuazione dipendente dalla velocità con cui si muovono le particelle che a sua volta dipende dalla loro dimensione: quindi le dimensioni delle particelle possono essere estrapolate dall'analisi delle fluttuazioni dell'intensità della luce diffusa tramite funzioni di correlazione.

La luce laser monocromatica, rossa, che investe il campione, con una lunghezza d'onda di 633 nm, viene diffusa dalle particelle in tutte le direzioni e rilevata solo in un determinato angolo di riflessione, quello in cui viene posizionato il rilevatore. Le fluttuazioni dell'intensità della luce sono convertite in segnali elettrici che vengono poi elaborati da un correlatore digitale nel calcolatore; il software infine fornisce i dati sulle dimensioni insieme ad una serie di controlli sulla qualità dell'analisi svolta.

La luce laser emessa dalla sorgente viene attenuata da una lente per ridurre l'intensità del fascio ed evitare sovraccarichi nel rilevatore. Se il fascio laser non fosse attenuato, una grande quantità di luce sarebbe diffusa ed andrebbe a stimolare il rivelatore generando artefatti ed errori di determinazione. Nello strumento utilizzato, il detector è posizionato ad un angolo di 173° rispetto alla direzione del fascio incidente (Figura 2.14).

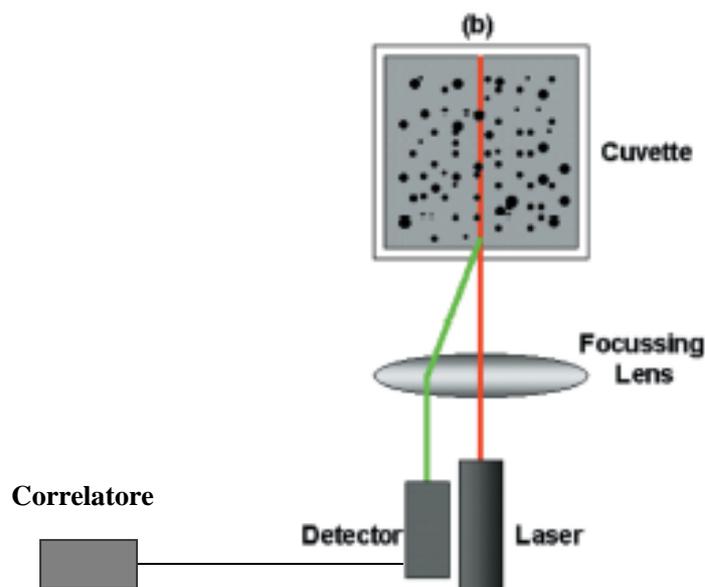


Figura 2. 14 – Schema dei principali componenti nel DLS

Lo strumento determina il diametro idrodinamico delle nanoparticelle, ossia il diametro dell'unità cinetica in movimento, comprendente della sfera di coordinazione e delle eventuali specie adsorbite sulla superficie (per esempio polimeri o tensioattivi).

Le concentrazioni di solido raccomandabili per avere una misura attendibile dipendono dalle dimensioni delle particelle in sospensione: per diametri inferiori a 10 nm è fissato solamente un limite inferiore di solido ($[concentrazione] > 0,5 \text{ g/l}$), mentre per particelle con diametro compreso tra 10 e 100 nm l'intervallo di concentrazione ottimale, riportato dallo strumento, è compreso tra 0,1 mg/l e 500 mg/l (per densità prossime a 1 g/cm^3), onde evitare fenomeni di interazione particella-particella che, modificando la velocità di diffusione, alterano la stima delle dimensioni.

Un altro effetto negativo sulla qualità dell'analisi dovuto alle alte concentrazioni è la diffusione multipla, che si verifica quando la luce diffusa non passa direttamente al fotorivelatore, ma è nuovamente diffusa da altre particelle, portando ad una sottostima delle dimensioni. Il fenomeno della diffusione multipla viene ridotto grazie al rivelatore posto a 173° rispetto al campione; tale disposizione permette di rilevare le radiazioni retrodiffuse ed è detta NIBS (*non invasive back scattered*). Grazie a questo rivelatore il segnale risulta migliorato, visto che si elimina il problema della diffusione multipla ed è ridotto l'effetto di eventuali impurezze.

Un accorgimento che il software dello strumento attua in automatico, per migliorare la determinazione delle dimensioni, consiste nel variare la distanza di acquisizione della misura nella cuvetta. Infatti, nel caso di particelle molto piccole e poco concentrate, al fine di massimizzare l'effetto di diffusione il fascio laser è focalizzato al centro della sospensione, mentre per sospensioni molto concentrate è focalizzato sulle pareti dove la densità delle particelle è minore; anche questo adattamento automatizzato contribuisce a ridurre gli effetti delle diffusioni multiple (Figura 2.15).

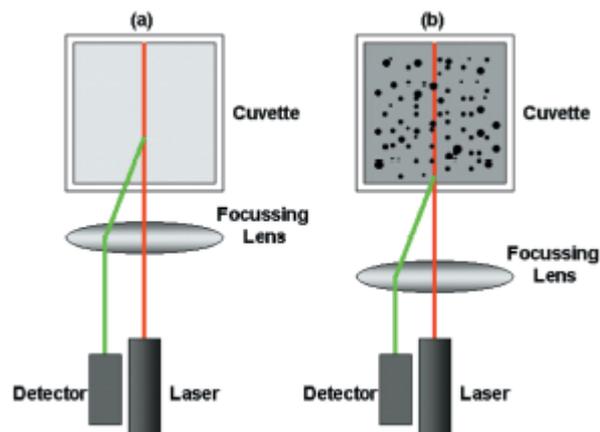


Figura 2. 15 - Schema delle posizioni di misura consigliate nell'analisi DLS: (a) per basse concentrazioni di solido; (b) per alte concentrazioni di solido

Lo strumento permette di registrare una distribuzione statistica delle dimensioni, non calcolata mediante distribuzioni matematiche preimpostate, ma reale, sulla base dell'intensità di diffusione rilevata. Inoltre, dai risultati ottenuti è possibile ricavare due diverse tipologie di distribuzioni calcolate: la prima fornisce la distribuzione rispetto al volume occupato dalle particelle mentre la seconda rispetto al numero.

Dalla misura si ottengono direttamente: una curva di distribuzione granulometrica, un valore di diametro medio e un indice che fornisce informazioni sul grado di polidispersione (PDI) della sospensione. Tale indice è compreso tra 0 e 1, quanto più è vicino a 0 tanto più la sospensione è monodispersa, per indici pari a 1 le sospensioni si considerano totalmente polidisperse. In generale, una sospensione può considerarsi monodispersa per valori di $PDI \leq 0,2$, mediamente polidispersa per $0,2 \leq PDI \leq 0,5$ e polidispersa per valori superiori a 0,6.

2.6.1 Preparazione dei campioni

I campioni vengono diluiti con acqua distillata per ottenere concentrazioni compatibili con i valori consigliati ed evitare diffusione multipla. Si procede inserendo la sospensione diluita nella cuvetta e disponendola nell'apposito sito dello strumento; per eseguire l'analisi è necessario impostare nel software la viscosità del solvente (acqua: 0,8872 cP a 25 °C) e gli indici di rifrazione del mezzo e delle particelle da analizzare; quest'ultimo parametro, facile da reperire per i metalli puri, diventa più complicato da determinare per particelle rivestite da materiale organico, si considera in prima approssimazione, che il rivestimento sia talmente sottile da non influenzare l'indice di rifrazione del solo argento. Sono stati utilizzati i valori presente nel database del software (acqua: 1,33; particelle di argento: 1,52).

Al fine di ottenere risultati confrontabili tra le diverse sintesi si è operato in modo da diluire tutte le soluzioni analizzate alla concentrazione di (75 ± 15) mg/l di solo argento.

2.7 Diffrazione Raggi X Analisi XRD

La diffrazione di raggi X (XRD) è la tecnica principale per lo studio e la caratterizzazione dei solidi cristallini.

Il fenomeno di diffrazione, su cui è fondata, scaturisce dall'interazione tra i reticoli ordinati, delle fasi cristalline presenti nel campione, con un fascio collimato di raggi X che vi si fa incidere; la legge di Bragg interpreta matematicamente questo comortamento:

$$n \lambda = 2 d \sin(\theta)$$

In cui n è un numero intero; λ è la lunghezza d'onda del raggio X incidente; d è la distanza tra i piani atomici in un reticolo cristallino e θ è l'angolo di incidenza.

L'intensità del raggio diffratto viene misurata in funzione dell'angolo di diffrazione e dell'orientazione del campione.

L'analisi permette di quantificare le varie componenti di un campione solido, e di ricavarne informazioni sulla struttura cristallina e sulla dimensione dei cristalliti.

Lo spettro di diffrazione (diffrattogramma) che si ottiene dall'analisi, viene utilizzato per identificare le fasi cristalline presenti nel campione e per misurarne le proprietà strutturali, incluse le tensioni e il grado di cristallinità (dimensione ed orientazione dei cristalli).

Nel corso dello studio si sono effettuate analisi XRD su sospensioni nanometriche di argento, con lo scopo di determinare le fasi cristalline presenti ed escludere la presenza di ossido di argento, e su campioni di capelli trattati, per osservare la presenza di argento in tali matrici.

Lo strumento *Bruker D8 Advance*, con cui sono state eseguite le analisi, è disponibile presso le strutture del CNR-Istec. È dotato di un particolare sistema di rivelazione veloce (*Accelerator*), in grado di fornire in pochi secondi di acquisizione spettri con migliore rapporto segnale/rumore rispetto ai normali rilevatori. Infatti un secondo di analisi con questo rilevatore corrisponde a 180 secondi acquisiti con classici rilevatori.

2.7.1 Preparazione dei campioni

I campioni sono stati preparati secondo due differenti procedure:

- Analisi della sospensione a reazione terminata: le sospensioni vengono depositate sul vetrino portacampione, il vetrino viene poi lasciato essiccare in stufa a 80° C per un'ora, il processo di deposizione ed essiccamento viene ripetuto sul primo strato fino a quattro volte, per ottenere uno spessore uniforme e una migliore risposta strumentale; con questa metodologia sono state analizzate le sintesi di argento nanoparticellare a diversi stadi della sintesi;
- Analisi del campione applicato su capelli: i capelli vengono ben lavati, districati e tenuti in tensione, senza supporto per ridurre le interferenze, all'interno del portacampione; il metodo consente facilmente di rilevare le fasi cristalline organiche che costituiscono la struttura dei capelli, le strutture adsorbite superficialmente sono invece più complicate da rilevare.

2.8 Spettrofotometria in riflettanza diffusa nel visibile

I coloranti sono per definizione sostanze che assorbono la radiazione incidente nelle frequenze del visibile e quindi riflettono un fascio di luce. La spettrofotometria in riflettanza diffusa è il metodo che più direttamente si accosta alla misurazione di questo fenomeno e quindi si presta alla caratterizzazione della tintura di fibre. Lo spettrometro produce il cosiddetto spettro di riflessione misurando l'intensità della luce riflessa non specularmente e non assorbita dal supporto; tale metodo risulta di scarsa efficacia per le determinazioni qualitative, poiché lo spettro prodotto è l'effetto della riflessione di molte sostanze, separare i segnali risulta problematico.

Tale metodo di analisi è stato introdotto principalmente per fornire una caratterizzazione matematica ed oggettiva del colore o del tono di un supporto, sottraendo al contesto le percezioni soggettive o derivanti da diverse condizioni di illuminazione; a tale scopo è stato introdotto il sistema di coordinate tridimensionale CIE $L^*a^*b^*$ (dove L^* Luminosità, a^* grado di magenta/verde e b^* grado di giallo/blu) con cui possono essere descritti tutti i colori, le stesse coordinate possono essere riformulate in uno spazio cilindrico dando luogo al così chiamato spazio CIELCH in cui le coordinate cromatiche sono sostituite da C^* , colore (chroma), e h , tono (hue). Nella seguente immagine (figura 2.16) sono rappresentate le coordinate tridimensionali $L^*a^*b^*$ affiancate a quelle cilindriche c ed h .

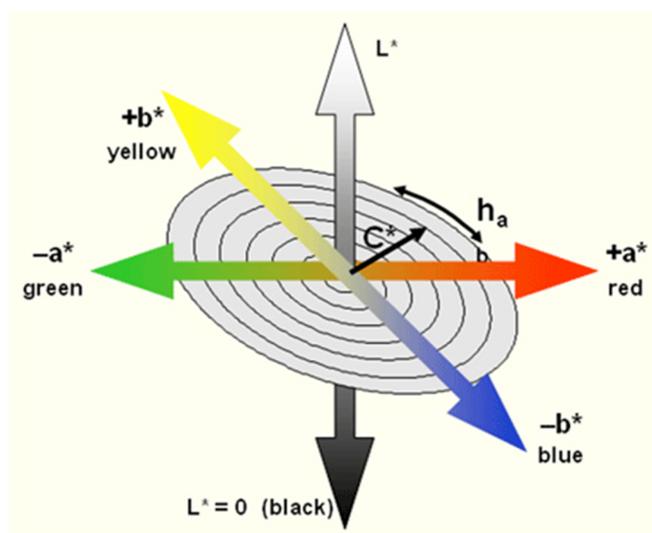


Figura 2. 16 – Sistema di coordinate CIE $L^*a^*b^*$ unito alle coordinate CIELCH

Lo strumento impiegato per tali misurazioni è stato uno spettrometro USB2000+ (Ocean Optics) a fibra ottica e dotato di un detector ad array lineare di dispositivi ad accoppiamento di carica (CCD); con sorgente luminosa UV-Visibile (Ocean Optics DH-2000-BAL) e bianco, impiegato come riferimento, costituito da un supporto in solfato di bario ad elevato indice di diffusione (Ocean Optics WS-1).

Tale strumento consente di effettuare numerose analisi rapidamente, registrando in pochi millisecondi l'intero spettro di riflessione, e senza necessità di dover effettuare trattamenti sul campione (metodo non distruttivo).

Per tenere conto della non uniformità della colorazione su capelli reali, i campioni sottoposti a prova sono stati misurati in 10 punti diversi, mediando i risultati di ciascun punto su 15 scansioni.

2.9 Spettroscopia in assorbimento UV-Visibile

La spettrofotometria molecolare UV-Visibile si basa sull'assorbimento selettivo, da parte di molecole, delle radiazioni con lunghezza d'onda compresa fra 10 nm e 780 nm. Con questo tipo di analisi è in generale possibile identificare la natura della specie che assorbono a specifiche lunghezze d'onda e in certi casi determinarne la concentrazione.

Tuttavia durante l'attività si è utilizzata la spettroscopia di assorbimento UV-Vis prevalentemente con un'altra finalità: infatti si è utilizzata questa tecnica poiché le nanoparticelle dei metalli nobili sono caratterizzate da forti assorbimenti nel campo del visibile, causati da eccitazioni elettroniche superficiali alla base del fenomeno di risonanza plasmonica superficiale [3]. Considerato che tale fenomeno è strettamente correlato a dimensioni e forma delle particelle coinvolte, dall'analisi dello spettro di estinzione delle sospensioni, in particolare da lunghezza d'onda, intensità e forma della banda, è possibile ricavare informazioni utili su dimensioni e distribuzione delle nanoparticelle.

Nel corso dell'attività si sono anche eseguite misure di spettroscopia UV-Vis su soluzioni che costituiscono le acque di lavaggio provenienti dalle prove di applicazione delle miscele aquasome/colorante su; in questo caso l'impiego lo spettrofotometro permette di raccogliere informazioni sulla quantità di colorante rimosso da ciascun lavaggio e quindi di fornire dei parametri osservabili sull'influenza delle nanoparticelle.

La valutazione delle proprietà ottiche delle sospensioni sintetizzate e lo studio sulle cinetiche di rilascio delle applicazioni sono state effettuate mediante misure di assorbimento (UV-Vis), con lo spettrofotometro a doppio raggio *Lambda 35* (Perkin Elmer, Shelton, USA), disponibile presso le strutture del CNR-Istec.

2.9.1 Preparazione dei campioni

Nel caso delle sospensioni, al fine di limitare il fenomeno di diffusione dato dalle particelle disperse, queste vengono diluite prima della misura, sempre in solvente acquoso, in modo che la quantità di argento presente sia prossima a 25 mg/l; l'obiettivo di confrontare al meglio i risultati delle misure sui campioni, per ciascun tipo di sintesi, impone che si utilizzi una concentrazione di metallo più costante possibile tra i campioni, effettuando le opportune diluizioni.

Il campione viene ben agitato e misurato poco tempo dopo la diluizione, al fine di evitare cambiamenti significativi delle caratteristiche della sospensione apportate dalla diluizione stessa.

Nel caso delle prove di applicazione, si è preventivamente registrata la retta di calibrazione; le soluzioni ottenute dai lavaggi vengono condotte ad un volume noto in matraccio tarato (25ml) e non subiscono ulteriori diluizioni.

2.9.2 Analisi degli spettri di sospensioni nanometriche

Il segnale sperimentalmente rilevato dipende da due fattori:

- Assorbimento, dovuto ai fenomeni di risonanza plasmonica superficiale
- Scattering, dovuto alle dimensioni nanometriche delle particelle in sospensione

Per tale motivo negli spettri, in vece dell'assorbimento (A), viene riportata come ordinata la somma di questi fattori, definita "estinzione" (A^*).

2.10 Microscopia elettronica a scansione (SEM)

Lo studio morfologico, delle dimensioni e della composizione delle nanoparticelle sintetizzate, è stato effettuato con microscopio elettronico a scansione con sorgente ad effetto di campo SEM-FEG (*Gemini Zeiss*) disponibile presso le strutture del CNR-Istec.

La microscopia elettronica a scansione è una tecnica mediante la quale un fascio di elettroni viene condotto e fatto scorrere sul campione. L'interazione tra il campione e il fascio di elettroni genera una moltitudine di segnali differenti, di interesse principale per questo studio sono gli elettroni secondari ed i retrodiffusi, i quali vengono captati da appositi sensori. La qualità del segnale dipende fortemente dal tipo di campione, e dalla sua conducibilità, ma anche da molti parametri strumentali quali:

- Differenza di potenziale applicata
- Luminosità e contrasto
- Distanza di lavoro
- Ingrandimento
- Tempo di scansione
- Correzione delle aberrazioni sferiche (stigmatismo)
- Tipo di rilevatore impiegato (esempio, InLens)
- Interpretazione dell'operatore

Il microscopio elettronico in scansione opera in condizioni di vuoto ($1,5 \cdot 10^{-5}$), e fornisce diversi segnali che vengono tradotti dal computer in un'immagine virtuale (poiché non entrano in gioco radiazioni visibili) ricostruita, la quale viene proiettata su uno schermo.

Gli elettroni del fascio sono generati, solitamente, attraverso un processo noto come emissione termoionica, da un filamento di tungsteno. Gli elettroni vengono poi accelerati da un potenziale elettrico ($2 \div 5$ keV) e collimati da fenditure, lenti elettrostatiche ed elettromagnetiche sul campione, mantenuto ad una working distance di 3 mm. In questo strumento la sorgente classica è sostituita da una ad effetto di campo (SEM-FEG), con un filamento schottky di tungsteno ricoperto di zirconio, la quale consente migliori prestazioni e migliore risoluzione, necessaria per osservare particelle di dimensioni nanometriche. Al fascio di elettroni viene imposto un movimento lungo le coordinate X e Y del campione al fine di operare la lettura dei segnali in tutta l'area osservata e ricavarne un'immagine.

Le informazioni di carattere morfologico derivano principalmente dagli elettroni secondari generati, che risentono degli effetti geometrici (spigoli) del campione; gli elettroni retrodiffusi conferiscono invece un "tono" al campione osservato in funzione dell'elemento colpito, facendo risultare più chiare le zone in cui sono presenti nuclei ad elevato peso atomico e quindi fornendo una chiave di interpretazione sulla composizione chimica del campione.

2.10.1 Preparazione dei campioni

Le sospensioni di nanoparticelle vengono diluite secondo la stessa diluizione operata per le analisi in DLS (75 ± 15 mg/l di solo argento). Il portacampione viene lavato accuratamente prima con acetone in ultrasuoni quindi con acqua in ultrasuoni; viene numerato per il riconoscimento e la superficie viene rivestita con uno strato di grafite adesiva. La sospensione diluita viene deposta (drop-casting) sopra questa grafite e il tutto viene lasciato essiccare sotto irraggiamento IR per 30 minuti. Al fine di evitare umidità o presenza di residui volatili, ad esempio dell'acetone, che risultano dannosi per lo strumento.

Bibliografia

- [1] F. Gatti “*Sintesi assistita al microonde di nanoparticelle metalliche*” Tesi di Laurea Specialistica in Chimica Industriale, **A.A. 2008-2009**, Università degli Studi di Bologna
- [2] Y.Lou “*Preparation of silver nanoparticles with antimicrobial activities and the researches of their biocompatibilities*” Indian Journal of Chemistry, 46A, 2007, 1266-1269
- [3] S. Link and M. A. El-Sayed; “*Size and Temperature Dependence of the Plasmon Absorption of Colloidal Gold Nanoparticles*” J. Phys. Chem. B 1999, 103, 4212-4217

3.0 RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 Introduzione

Allo scopo di ottenere un sistema di nanodelivery in grado di potenziare l'affinità tra capello e colorante, consentendo quindi di ottenere risultati analoghi a quelli che vedono l'impiego di coloranti semipermanenti per uso professionale disponibili in commercio, con minor dispendio di colorante e migliorandone le performance, è stata studiata la formulazione di una sospensione di nanoparticelle di argento stabilizzate con composti compatibili all'uso cutaneo.

Questo studio ha portato allo sviluppo di un processo di sintesi che, oltre a utilizzare sostanze già impiegate in cosmetica, risulta avere un impatto ambientale ridotto.

Il primo stadio dell'attività di ricerca è consistito nell'individuazione di un procedimento di sintesi ottimale per nanoparticelle di argento stabilizzate con sistemi polifunzionali (tipo aquasome), partendo dall'esperienza del gruppo di ricerca dell'ISTEC – CNR di Faenza sulla preparazione di nano particelle di metalli nobili stabilizzate con polivinilpirrolidone.

In particolare sono stati testati numerosi agenti riducenti e stabilizzanti:

- Monosaccaridi: glucosio e fruttosio
- Disaccaridi: lattosio, maltosio e trealosio
- Polisaccaridi: amido (di riso), chitosano, SoftCAT™ (idrossietilcellulose)

Poiché i dati sperimentali hanno individuato la sintesi con idrossietilcellulosa come la più promettente, si sono esplorate diverse condizioni di reazione quali:

- Tipo di cellulosa, sono state provate quattro diverse formulazioni del polimero (denominate SoftCAT™ SL-5, SL-30, SL-60 e SX-1300H)
- Influenza della concentrazione di sodio idrossido
- Influenza della concentrazione di argento nitrato
- Influenza della diluizione

In particolare si è notato che la reazione di ossidazione delle idrossietilcellulose è catalizzata dalla presenza di basi forti nell'ambiente di reazione in maniera simile a quanto noto in letteratura per la riduzione dei metalli da parte di glucosio, secondo il meccanismo di reazione riportato in Figura 3.1.

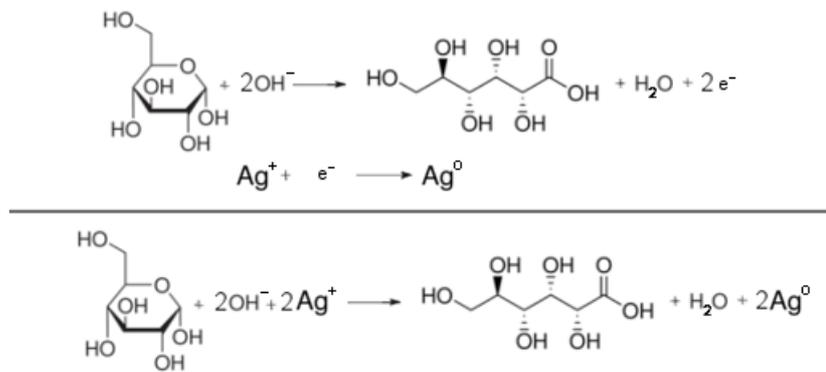


Figura 3.1 – Semireazioni e reazione complessiva di riduzione dell'argento con glucosio

L'aggiunta di sodio idrossido permette di ottenere una sospensione nanometrica di particelle d'argento in tempi relativamente brevi. Tuttavia, per l'impiego del prodotto finale in formulazioni cosmetiche si è preferito evitarne l'uso.

Dalle osservazioni fatte durante le prove sperimentali, e dai dati riportati in letteratura ^[1], si è ipotizzato che il meccanismo di reazione coinvolto nella sintesi dell'argento metallico catalizzato da sodio idrossido coinvolga due passaggi, schematizzati in Figura 3.2:

- Formazione di interazioni tra le catene polimeriche dell'agente stabilizzante, che agisce quindi da templante per aumento di viscosità della reazione e rallentamento dei processi di convezione interna; contemporanea precipitazione di ossido di argento, di dimensioni nanometriche, per reazione di scambio tra argento nitrato e sodio idrossido.
- Riduzione dell'ossido di argento precedentemente formato con ossidazione, e idrolisi, delle catene polimeriche; annullamento della struttura tridimensionale organica e crollo delle proprietà reologiche iniziali.



Figura 3.2 – Schema del meccanismo di riduzione dell'argento

Una volta ottenuti e selezionati i sistemi di nano delivery (tipo aquasome) ottimali si è passati al secondo stadio che ha coinvolto lo studio delle formulazioni cosmetiche e delle strategie più opportune per l'applicazione dei sistemi nanotrutturati selezionati alla veicolazione nei capelli utilizzando come test un colorante già impiegato in cosmetica, il Basic Red 51 (vedi parte sperimentale).

Il prodotto risultante è stato applicato direttamente su capelli umani, senza pretrattamenti, secondo diverse strategie:

- Presenza / assenza di sodio idrossido nella sintesi delle particelle.
Poiché si era osservato che la sintesi delle nanoparticelle di argento può avere luogo anche in assenza di sodio idrossido, sono state utilizzate sia la formulazione di riferimento (con uso di sodio idrossido) che quella più compatibile all'uso in cosmetica (senza uso di sodio idrossido).
- Applicazione diretta della miscela di reazione.
La tendenza della soluzione di reazione a presentare viscosità elevata offre la possibilità di applicare direttamente il prodotto come gel, per confronto è stata effettuata la stessa prova immergendo i capelli direttamente nella soluzione quando questa era ancora a viscosità bassa.

Le condizioni di sintesi trattate nel corso di questa tesi sono ampiamente discusse nella parte sperimentale; qui di seguito vengono riportati i risultati sperimentali ottenuti.

3.2 Nanoparticelle di argento metallico

3.2.1 Caratterizzazione del sistema stabilizzato con polivinilpirrolidone

La sintesi di nanoparticelle di argento stabilizzate da polivinilpirrolidone (la cui struttura è riportata in Figura 3.3) permette facilmente di giungere ad una sospensione stabile ma il polimero presenta un'elevata inerzia verso le altre sostanze chimiche e non si presta a compiere il ruolo di rivestimento polifunzionale atteso da una struttura tipo aquasome.

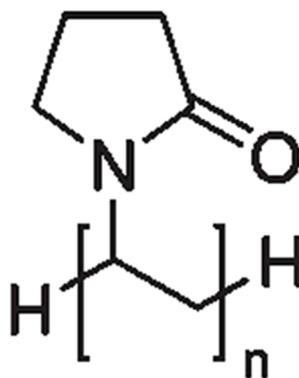


Figura 3. 3 – Struttura del polivinilpirrolidone

Tale sintesi, essendo già stata studiata approfonditamente, è stata tuttavia utilizzata come sistema di partenza per poter effettuare delle modifiche nella procedura sperimentale. A tal fine la procedura è stata riprodotta più volte mantenendo fissi i rapporti molari tra i reagenti e cambiando ad esempio: i) la velocità di aggiunta del precursore metallico; ii) la tipologia dei sistemi riducenti (inizialmente glucosio); iii) il tipo di sostanza alcalina (es. da sodio idrossido a sodio carbonato); iiiii) i tempi di riscaldamento, la potenza applicata dal sistema a microonde e la temperatura (vedi per dettagli la Parte Sperimentale).

In Figura 3.4 vengono riportati come esempio i profili tipici di potenza e temperatura (del sistema a microonde) registrati nel corso delle diverse sintesi, impiegando polivinilpirrolidone.

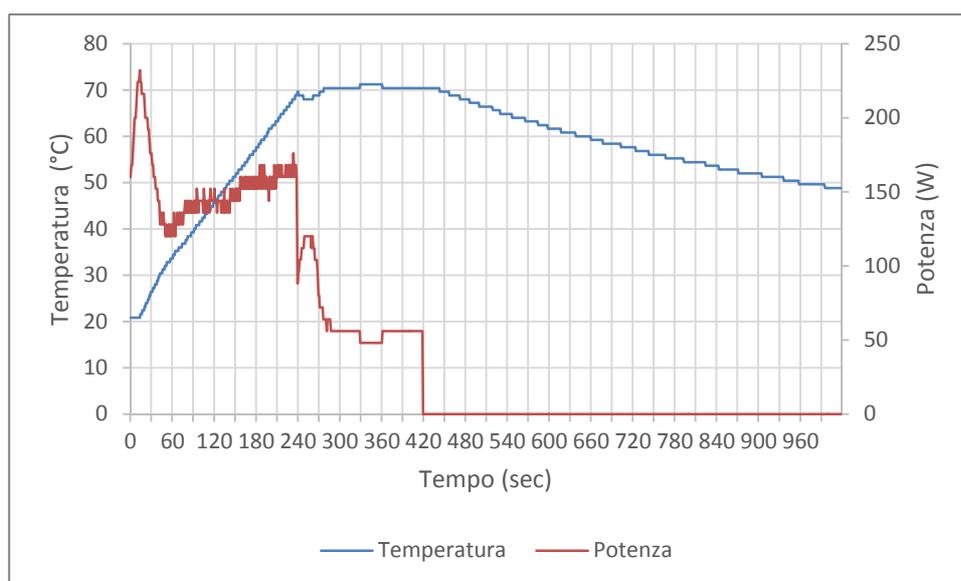


Figura 3. 4 – Profili di potenza e temperatura applicati alla sintesi AgL0

Tale studio ha permesso di evidenziare l'importanza di:

- Qualità dei reagenti (preparazione e uso immediato)
- Metodo e tempo di aggiunta del precursore
- Esclusione di nuclei di accrescimento estranei (tramite trattamento con acqua regia della vetreria)

Fatta eccezione per la sintesi condotta con sodio carbonato che ha portato alla formazione di un precipitato grigio e di una soluzione surnatante incolore; le altre sintesi hanno fornito tutte sospensioni stabili nel tempo (oltre 3 mesi), con diametro idrodinamico delle nano particelle di argento (determinato dalle analisi DLS) distribuito intorno a (80 ± 20) nm (vedere distribuzione delle dimensioni riportata in Figura 3.5). Lo spettro UV-Vis di tutte le soluzioni stabili, presenta un picco di massimo assorbimento corrispondente alla lunghezza d'onda di (407 ± 3) nm (Figura 3.6).

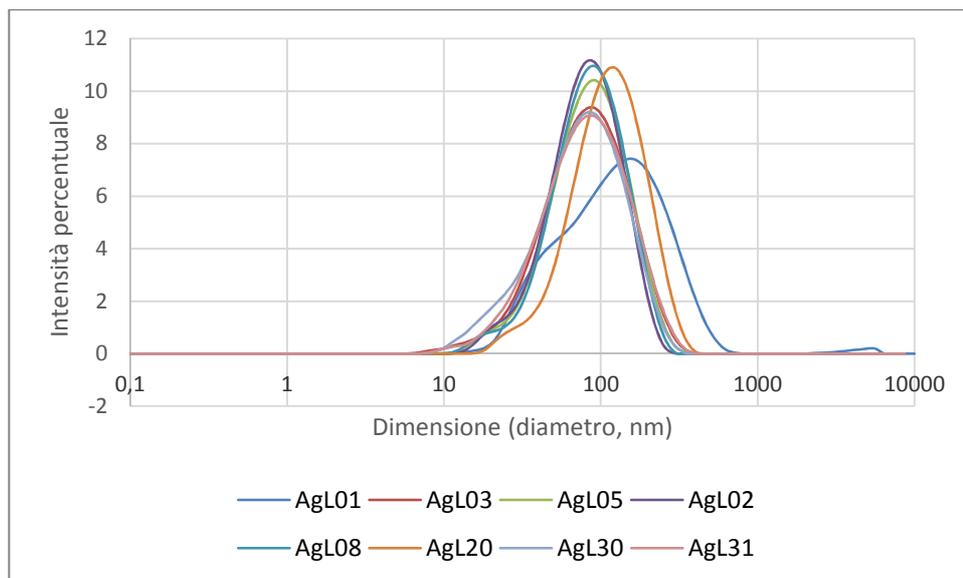


Figura 3. 5 – Distribuzione delle dimensioni risultanti dalle sintesi di argento con PVP

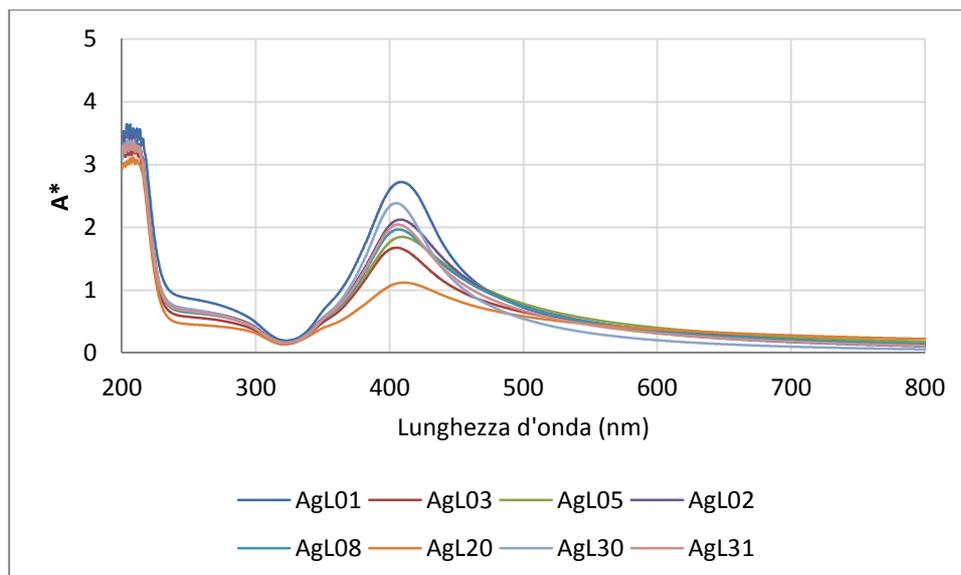


Figura 3. 6 – Spettri di estinzione registrati in diluizione 1 a 200

3.2.2 Caratterizzazione del sistema stabilizzato con zuccheri semplici

Allo scopo di raggiungere delle particelle simili a quelle impiegate nei sistemi di nanodelivery tipo aquasome, si è cercato di riprodurre i risultati ottenuti dalle sintesi con polivinilpirrolidone impiegando però monosaccaridi e disaccaridi, caratterizzati dall'elevato numero di gruppi funzionali, in qualità di agenti di stabilizzazione e/o riducenti.

Dati di letteratura ^[2] riportavano già delle sintesi in cui il glucosio, insieme ad altri mono e disaccaridi, veniva usato o come riducente o come riducente e stabilizzante, ma a concentrazioni inferiori rispetto a quelle della sintesi con PVP ed in presenza anche di ammoniaca.

In un primo momento sono state condotte diverse sintesi impiegando solo glucosio (elencate in Tabella 3.1) e variando diversi parametri:

- il rapporto molare di glucosio rispetto all'argento
- il rapporto molare di sodio idrossido rispetto all'argento
- la temperatura di reazione
- il programma di riscaldamento

Campione	Concentrazione Ag (M)	Concentrazione NaOH (M)	Concentrazione Glucosio (M)	Temperatura	Risultato
AgL11	0,02	0,02	0,02	Come PVP	A
AgL12	0,02	0,02	0,04	Come PVP	B
AgL13	0,02	0,04	0,02	Come PVP	A
AgL14	0,02	0,04	0,04	Come PVP	B
AgL15	0,02	0,04	0,04	Procedura 1	A
AgL16	0,02	0,03	0,13	Come PVP	B
AgL17	0,02	0,04	0,04	Procedura 2	B
AgL18	0,02	0,04	0,04	Procedura 3	B
AgL19	0,02	0,04	0,04	Procedura 4	A

Tabella 3. 1 – Prove con glucosio studiate, per la temperatura si faccia riferimento al capitolo 2.

In nessuno dei casi esplorati si è ottenuta una sospensione stabile ma si è notato che le sintesi con glucosio in rapporto equimolare con l'argento e quella condotta a temperatura ambiente danno luogo alla formazione di un precipitato grigio polveroso (Risultato "A") mentre quelle in cui il rapporto glucosio/argento è almeno uguale a 2 e la temperatura di reazione superiore a 70° C colorano il surnatante di giallo molto pallido e formano un agglomerato solido spugnoso come precipitato (Risultato "B"); tale agglomerato è stato essiccato, ed è stato caratterizzato tramite analisi, da cui è comunque emerso che si tratta di argento ridotto (metallico).

Riscontrando queste difficoltà nella sintesi con solo glucosio, si è passati a provare le sintesi che impiegano diversi disaccaridi come agenti di rivestimento:

- Maltosio
- Lattosio
- Trealosio

In tutti i casi si ottengono delle sospensioni metastabili (le particelle stabilizzate con lattosio sono decantate dopo 24 ore), che sono state caratterizzate via DLS e spettroscopia UV-Vis (Figure 3.7 e 3.8). I dati ottenuti sono riportati in Tabella 3.2.

Campione*	Stabilizzante	Temperatura	Dimensioni medie(nm)	Indice di polidispersione	estinzione λ_{\max} (nm)
AgL07	Trealosio	70	318,06	0,976	401,07
AgL27	Maltosio	70	151,86	0,980	393,83
AgL28	Lattosio	70	217,46	0,785	395,55

Tabella 3. 2 – Prove con i tre disaccaridi in condizioni di reazione simili a quelle con PVP

*concentrazioni: [Ag] = 0,02 M; [Disaccaride] = 0,11 M; [NaOH] = 0,028 M; [Glucosio] = 0,02 M

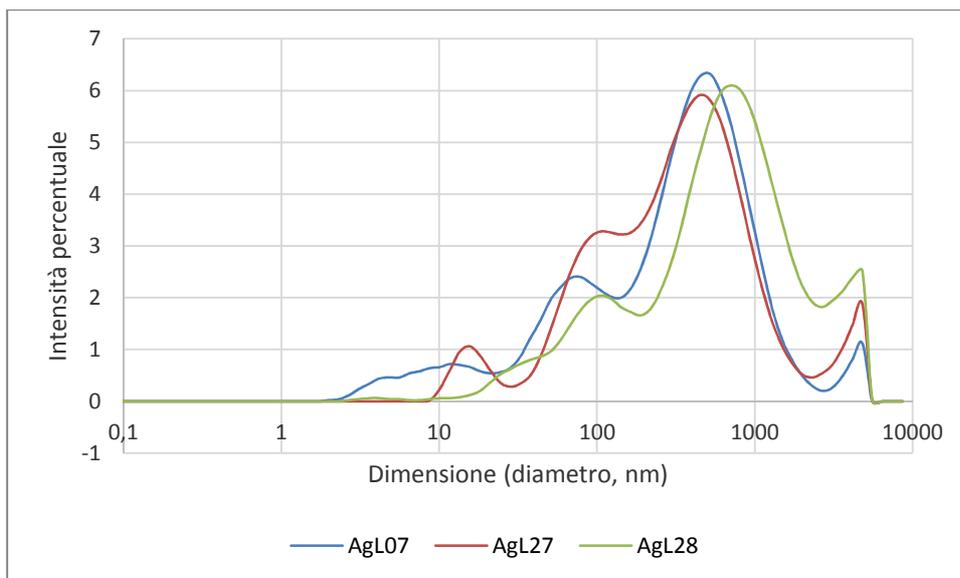


Figura 3. 7 - Distribuzione delle dimensioni risultanti dalle sintesi di argento con disaccaridi

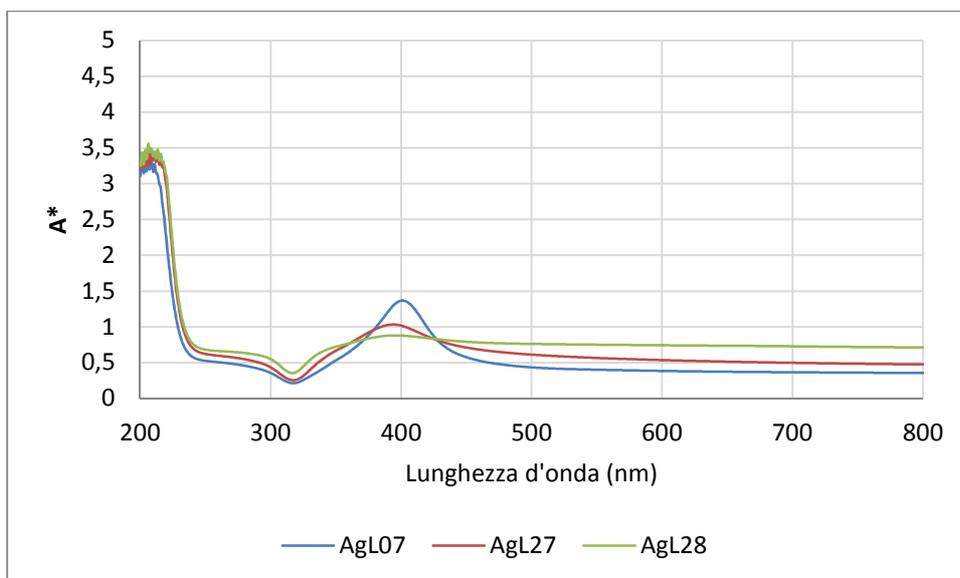


Figura 3. 8 – Spettri di estinzione registrati in diluizione 1 a 50

Si è deciso in ogni modo di effettuare nuove sintesi (elencate in Tabella 3.3), variando alcuni parametri, utilizzando unicamente il trealosio per molteplici ragioni:

- Stabilità nel tempo, nella sospensione ottenuta con lattosio si è notata la formazione di un precipitato già dopo 24 ore dalla sintesi, quelle con maltosio e trealosio sono risultate più stabili
- Lunghezze d'onda di massima estinzione (riportate in tabella) dovute alla risonanza plasmonica superficiale delle particelle (correlata alla relativa dimensione e forma); il risultato mostrato dal trealosio risulta più assomigliante a quello osservato per la sintesi con il polivinilpirrolidone, mentre per maltosio lattosio si osservano i massimi a lunghezze d'onda inferiori, blueshift, che secondo letteratura ^[3] potrebbero essere dovuti ad una dimerizzazione o parziale agglomerazione delle particelle.
- Indice di polidispersione, ricordando che tale indice calcolato dall'analisi DLS attribuisce a 0 la monodispersione e ad 1 la dispersione totale, tra i campioni è stata notata una dispersione molto vicina ad 1, si nota infatti un andamento multimodale per i tre campioni. Escludendo il lattosio poiché la precipitazione del campione distorce la misurazione, tra trealosio e maltosio il primo è risultato leggermente migliore sia come indice di polidispersione (0,976 contro 0,980) che come deviazione standard su tale indice (0,035 contro 0,044).
- Proprietà chimico-fisiche intrinseche, è noto da letteratura ^[4] che il trealosio favorisce l'idratazione "a secco" delle macromolecole organiche, permettendo di conservare la conformazione tridimensionale, che avrebbero in condizione idratata, per formazione di ponti ad idrogeno con i gruppi ossidrilici del disaccaride.

Sistema riducente glucosio e/o trealosio									
Campione	Concentrazione (M)				Temperatura (°C)	Dimensioni medie (nm)	Indice di polidispersione	estinzione λ_{max} (nm)	note sul riducente
	Ag	NaOH	Riducente	Trealosio					
AgL09	0,02	0,028	Assente	0,11	70	794,8	0,365	419,66	Senza glucosio
AgL25	0,02	0,05	0,02	0,11	70	Instabile	-	Instabile	100% glucosio
AgL26	0,02	0,028	0,03	0,11	70	509,88	0,562	399,86	100% glucosio
AgL29	0,02	0,028	0,02	0,06	70	172,56	0,622	404,67	100% glucosio
AgL35	0,02	0,028	0,02	0,03	70	Instabile	-	Instabile	100% glucosio
Sistema riducente "misto"*									
AgL41	0,02	0,028	0,02	0,11	70	Instabile	-	Instabile	100% sodio citrato
AgL42	0,02	Assente	0,02	0,11	70	Instabile	-	Instabile	100% sodio citrato
AgL43	0,02	0,028	0,02	0,11	70	69,53	0,501	402,91	50% sodio citrato
AgL44	0,02	0,028	0,02	0,06	70	87,32	0,615	407,37	10% sodio citrato
AgL32	0,02	0,028	0,02	0,11	70	106,22	0,563	405,18	10% sodio citrato
AgL33	0,02	0,028	0,02	0,11	70	Instabile	-	Instabile	10% Ac. Ascorbico

Tabella 3. 3 – Prove di ottimizzazione con trealosio

* riportate le frazioni di sodio citrato ed acido ascorbico, differenza a 100 costituita da glucosio

Sebbene il trealosio sia noto in letteratura come zucchero non riducente, un esperimento in cui la sintesi è stata condotta col sistema Ag/trealosio in assenza di glucosio ha dimostrato che è in grado di ridurre l'argento nelle condizioni di temperatura e pH imposte. La via di sintesi è stata tuttavia scartata in quanto portava alla formazione di sospensioni con nano particelle molto diverse in termini di diametro idrodinamico rispetto a quelle precedentemente ottenute (794,8 nm contro 318,0 nm).

L'incremento della concentrazione di riducente, glucosio, ha comportato la complessiva destabilizzazione del sistema, che è decantato entro le 24 ore. Tali risultati hanno condotto a mantenere, nelle sintesi successive, l'agente riducente sempre in concentrazione equimolare rispetto all'argento nitrato.

Sono stati impiegati anche sistemi riducenti alternativi in cui il glucosio veniva parzialmente o totalmente (vedi Tabella 3.3) sostituito da acido ascorbico o sodio citrato; i risultati di tali esperimenti sono stati discordanti: l'acido ascorbico ha portato a sospensioni instabili quando presente al 10% e non ne sono state svolte ulteriori prove; il sodio citrato ha mostrato un netto miglioramento a basse concentrazioni (10% e 50%), ulteriormente perfezionate dalla riduzione del trealosio, descritta in seguito, ma ha prodotto una sospensione instabile quando è stato impiegato in assenza di glucosio, sia in presenza che in assenza di sodio idrossido. Questi risultati hanno suggerito che un simile metodo di sintesi sia possibile ma richieda un'ottimizzazione che esula dal lavoro di questa tesi, inoltre l'assenza di sintesi con sistemi riducenti "misti" riscontrata in letteratura ci ha portati ad abbandonare questa procedura.

Di seguito vengono riportate le distribuzioni di dimensioni misurate (Figura 3.9) e gli spettri di estinzione registrati (Figura 3.10) per i soli sistemi con sodio citrato come riducente, confrontati con lo spettro ottenuto dal primo sistema con solo glucosio (AgL07).

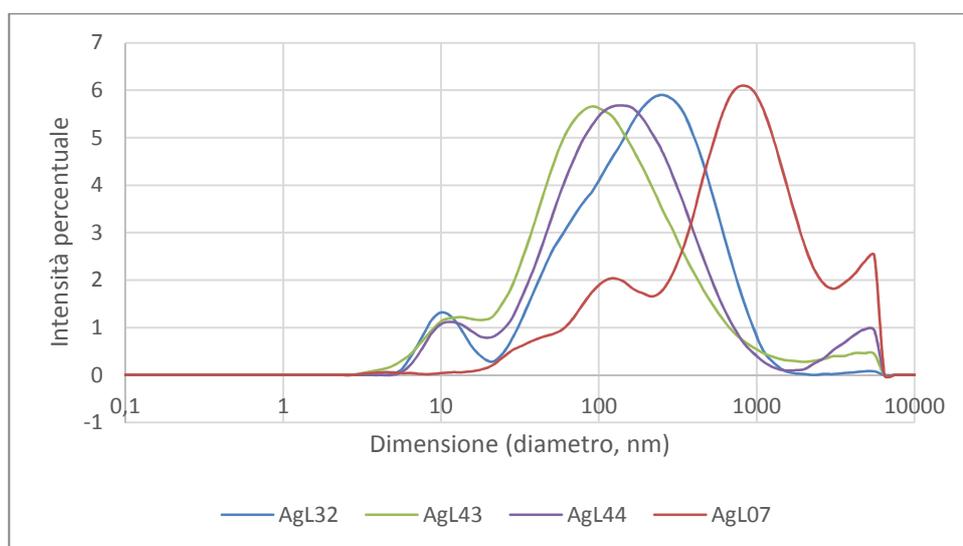


Figura 3. 9 – Distribuzione delle dimensioni risultanti dalle sintesi di argento con PVP

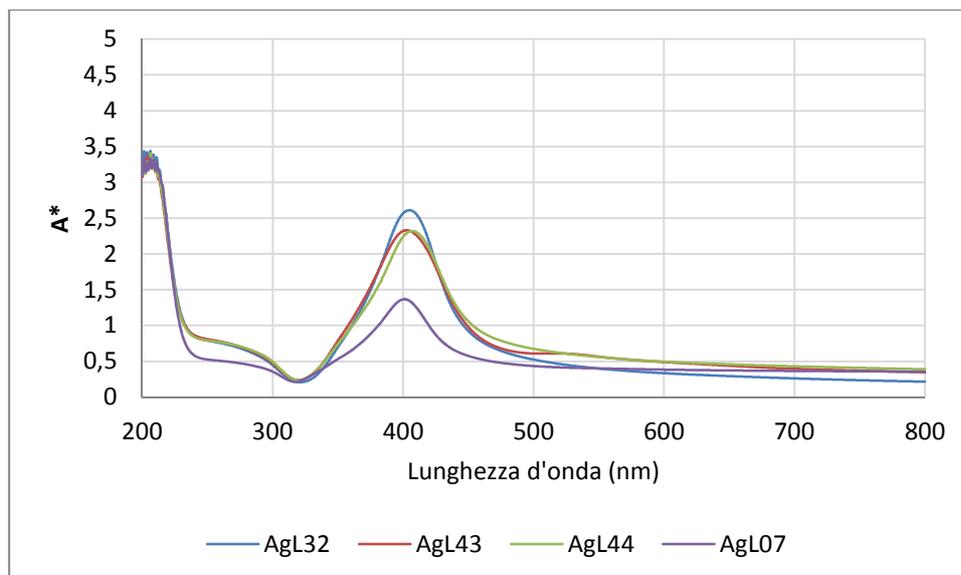


Figura 3. 10 – Spettri di estinzione registrati in diluizione 1 a 50

Aumentando, raddoppiando, la concentrazione di sodio idrossido si è verificata la produzione di un agglomerato solido spugnoso e di un surnatante giallo pallido simile a quanto già osservato nelle sintesi effettuate con solo glucosio.

Si è notato un miglioramento, sia in termini di diametro idrodinamico che di polidispersione delle nanoparticelle di argento, diminuendo il rapporto trealosio/argento da 5,5:1 a 3:1 e la destabilizzazione della sospensione al di sotto di questo rapporto; tale comportamento è stato interpretato come conseguenza della formazione di particelle con più strati di rivestimento esterni; il trealosio, grazie ai diversi gruppi funzionali, può adsorbirsi su se stesso dando la formazione di agglomerati tra particelle. Per contro, utilizzando il rapporto 3:1 si osserva un diametro idrodinamico inferiore.

Per verificare questa ipotesi è stato condotto uno studio mediante microscopia elettronica SEM-FEG, per la preparativa del campione vedere paragrafo 2.10.1 Parte sperimentale. Dall'analisi delle immagini SEM (Figura 3.12) si è ricavata la distribuzione delle dimensioni delle particelle e di cluster (Figura 3.11) è possibile notare che si formano nanoparticelle di argento con diametro 20-50nm che tendono ad agglomerarsi tra loro in strutture di un ordine di grandezza superiore. Va comunque evidenziato che un possibile contributo alla formazione di aggregati può essere dato dall'essiccamento del campione durante la preparativa.

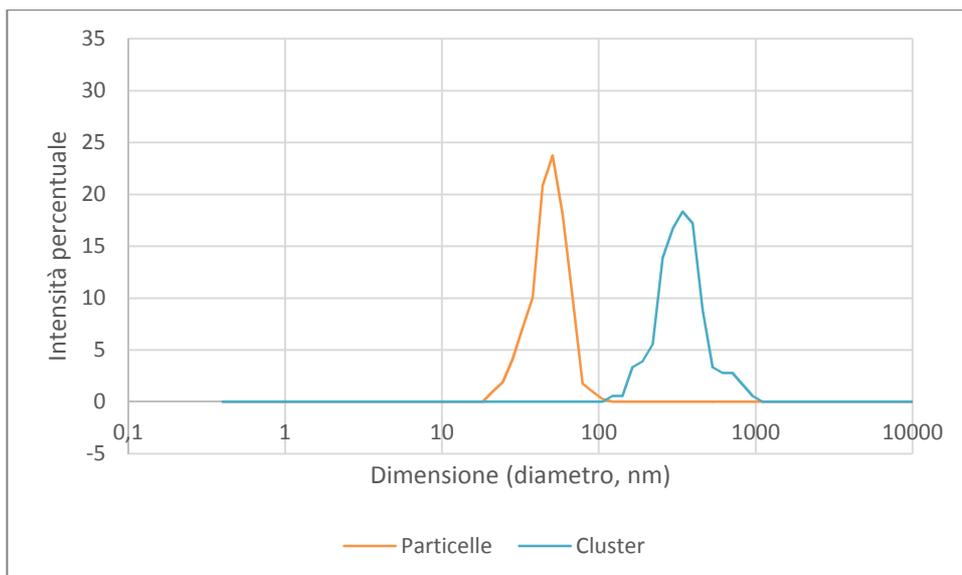


Figura 3. 11 - Distribuzione delle dimensioni di particelle e cluster ricavata dalle micrografie per AgL29

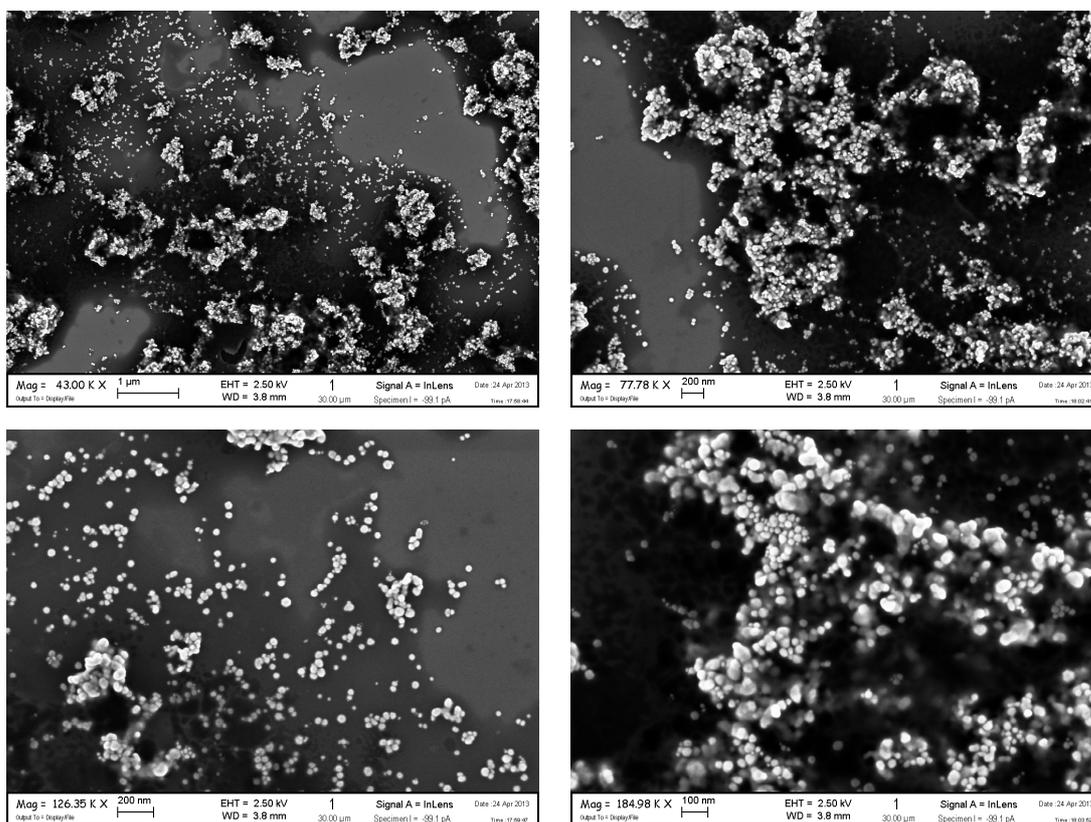


Figura 3. 12 – Micrografie SEM-FEG della sospensione di argento stabilizzata con trealosio AgL29

Si osserva anche una corrispondenza tra le informazioni ricavate dal SEM e l'analisi DLS (Figura 3.13): esistono infatti due distinte popolazioni, una di dimensioni molto simili a quella osservata al SEM (circa 60 nm) per le particelle libere ed una, maggiore, (circa 400 nm) dovuta ai cluster. Il valore sistematicamente maggiore osservato con il DLS rispetto al SEM deriva dalla misurazione del diametro idrodinamico delle particelle.

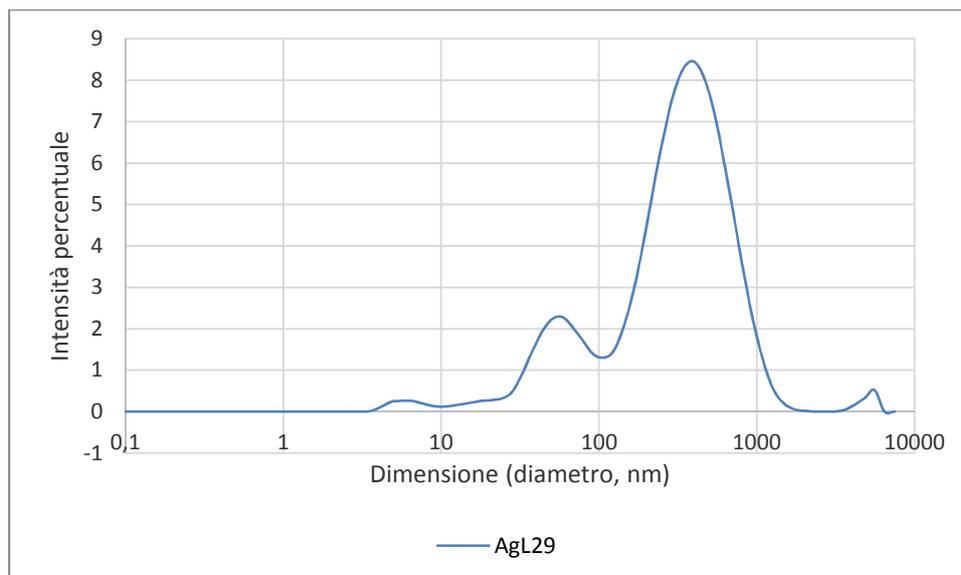


Figura 3. 13 – Distribuzione delle dimensioni risultanti misurate con analisi DLS

3.2.3 Caratterizzazione del sistema stabilizzato con polisaccaridi

Parallelamente alle prove con zuccheri semplici, sono state condotte sintesi di nanoparticelle di argento stabilizzate con polisaccaridi, sfruttando i diversi gruppo funzionali presenti in tali sistemi. I polisaccaridi investigati sono stati:

- Amido di riso, sostanza naturale di origine vegetale, l'amido è un polimero altamente ramificato in cui l'unità ripetente è costituita da molecole di glucosio legate tra loro attraverso legami α -glicosidici 1-4, 1-6 per le ramificazioni; vincolando gli ossigeni aldeidici nella polimerizzazione questa sostanza è praticamente non riducente
- Chitosano, polisaccaride naturale di origine animale, si differenzia dall'amido per due aspetti principali: è un copolimero, composto da monomeri di glucosammina e N-acetilglucosammina, quindi funzionalizzato con gruppi amminici oltre che ossidrili; ed è lineare, quindi più facilmente solubile. Inoltre il suo uso è già noto in applicazioni mediche, cosmetiche ed alimentari. La presenza di ossigeni aldeidici lungo la catena conferisce al polimero limitate capacità riducenti, in questo studio è stato assistito comunque dalla presenza di altri riducenti.

- SoftCATTM, polisaccaride derivato dalla cellulosa; la struttura, lineare con unità ripetenti di glucosio unite mediante legame β -glicosidici 1-4, viene modificata in modo da sostituire alcuni gruppi ossidrilici della catena con gruppi idrossi etilici, il processo avviene in maniera statistica producendo da una a più unità ossietileniche seguenti la prima, infine queste nuove funzioni subiscono una sostituzione in modo da terminare in trimetilammonio e dimetildodecilammonio. Queste modifiche, e in particolare le ammine quaternarie inserite, rendono il polimero più facilmente solubile e di carica cationica, ideale per l'adsorbimento sulle superfici dei capelli.

Sebbene le sintesi effettuate con amido, in condizioni più diluite rispetto alle sintesi con PVP, abbiano portato risultati in accordo con quelli attesi (Tabella 3.4), il processo di sintesi risulta piuttosto complesso e necessita di notevoli modifiche rispetto a quello standard. L'amido risulta insolubile a temperatura ambiente e, prima di raggiungere la temperatura di reazione, dà luogo ad una degradazione strutturale con formazione di una gelatina compatta; a questo punto è impossibile miscelarvi il precursore ed il risultato osservato è frutto delle sole interazioni interfacciali, inoltre, terminata la sintesi, spesso si osservava l'effetto specchio dovuto alla deposizione di argento massivo.

La sintesi con chitosano ha incontrato ostacoli simili riguardanti la solubilità ma non ha dato luogo alla formazione di gel. Ottimizzando comunque la procedura si sono ottenute particelle di dimensioni superiori al micron ed una sospensione instabile. La sintesi alternativa condotta in ambiente acido (per acido acetico), vedi parte sperimentale, dove l'agente riducente è costituito da acido ascorbico ha permesso la solubilizzazione del chitosano l'ottenimento di una sospensione stabile e monodistribuita, come evidente dal grafico di intensità DLS riportato in Figura 3.14. L'analisi spettrofotometrica però ha mostrato uno spostamento di λ_{max} significativo rispetto al valore ottenuto con la sintesi standard (PVP) (Tabella 3.4 e Figura 3.15). Per tali ragioni si è deciso di abbandonare tale sintesi.

Campione	Concentrazione Ag (M)	Stabilizzante	Condizioni di reazione	Dimensioni medie(nm)	Indice di polidispersione	estinzione λ_{max} (nm)
AgL23	0,05	Amido	Come PVP	667,44	0,793	414,95
AgL24	0,02	Amido	Come PVP	305	0,436	414,77
AgL45	0,02	Chitosano	Come PVP	2365,4	0,624	Non Rilevabile
AgL48	0,02	Chitosano	In ambiente acido	261,9	0,169	426,91

Tabella 3. 4 – Prove effettuate con amido e chitosano

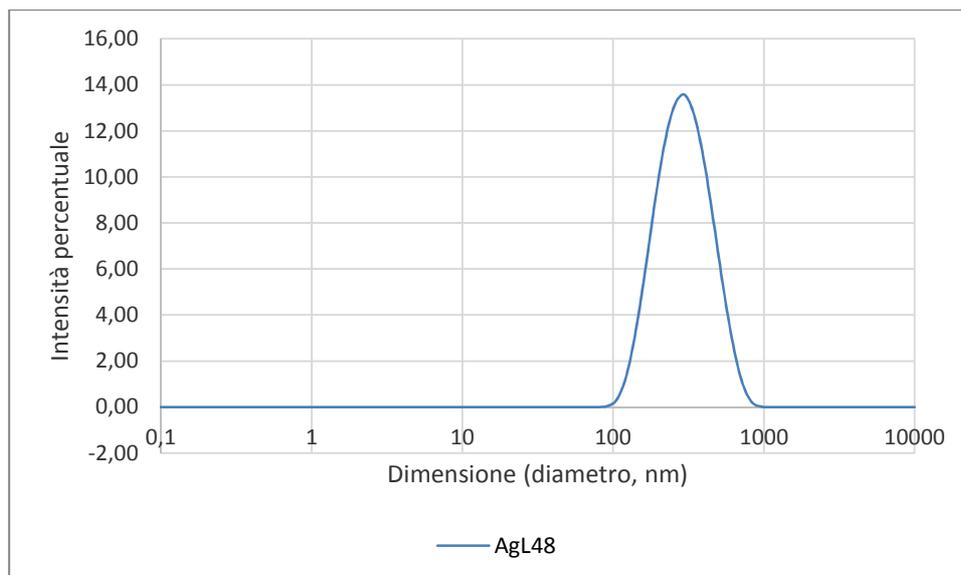


Figura 3. 14 - Distribuzione delle dimensioni del campione stabilizzato con chitosano in ambiente acido

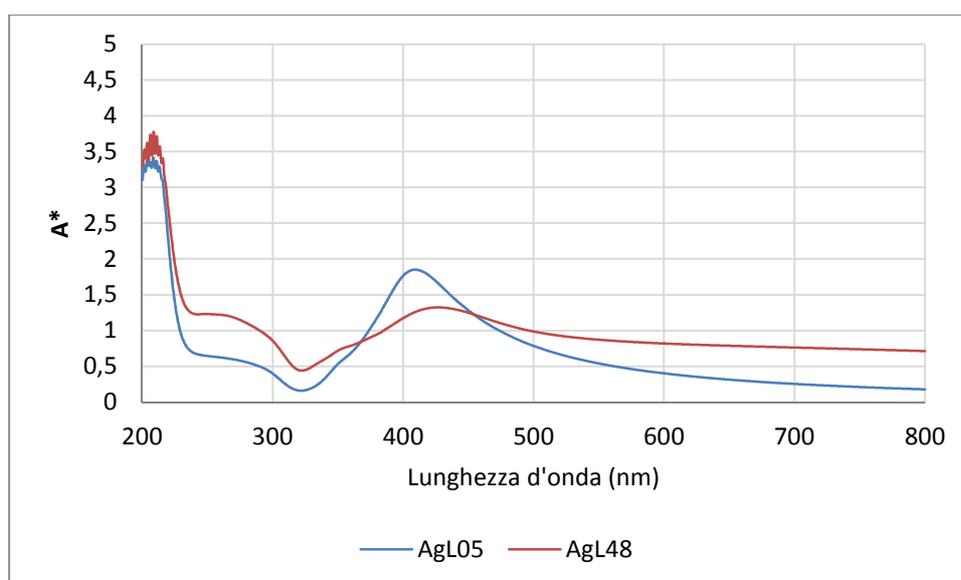


Figura 3. 15 – Spettri di estinzione a confronto tra le sintesi con PVP o con chitosano in ambiente acido
 nota: il campione con chitosano è quattro volte più concentrato in argento rispetto a quello in PVP

Per quanto riguarda le sintesi in presenza di idrossietilcellulose non sono state eseguibili praticando il processo già impiegato con il polivinilpirrolidone (riportate in Tabella 3.5) e si è dovuto utilizzare un rapporto stabilizzante/argento inferiore rispetto a quello usato per la sintesi con il PVP, poiché all'immissione del sodio idrossido nell'ambiente di reazione l'idrossietilcellulosa forma un gel incolore ad alta viscosità. Le altre condizioni sono rimaste inalterate. In tali sintesi non è stato aggiunto nessun riducente dal momento che l'idrossietilcellulosa agisce da riducente dell'argento.

Si è voluto verificare l'effetto dello stabilizzante ad esempio impiegando nella sintesi il SoftCAT™ SL-5 (il composto a minore peso molecolare tra quelli proposti) in presenza di glucosio confrontandola con i risultati ottenuti per una sintesi in assenza del polisaccaride; nel primo caso si ottiene una sospensione stabile (campione AgL38) mentre nel secondo caso (campione AgL11) si osservava un precipitato, nonostante la minor concentrazione di argento utilizzata per questa sintesi (vedi parte sperimentale), a conferma dell'effetto stabilizzante del sistema polisaccaride. Nelle Figure 3.16 e 3.17 sono riportati i grafici di distribuzione delle dimensioni ottenute per DLS e gli spettri UV-Vis.

Campione	Categoria SoftCAT™	Concentrazione SoftCAT™ (M)	Concentrazione Glucosio (M)	Dimensioni medie(nm)	Indice di polidispersione	estinzione λ_{max} (nm)
AgL37	SL-5	0,05	Assente	273,22	0,288	444,35
AgL38	SL-5	0,025	0,05	724,46	0,670	422,25
AgL39	SL-60	0,05	Assente	316,4	0,260	427,85
AgL40	SX-1300H	0,05	Assente	151,74	0,203	432,05

Tabella 3. 5 – Prove “a caldo” con idrossietilcellulose, ottenute a concentrazione di $[Ag] = 0,05 M$

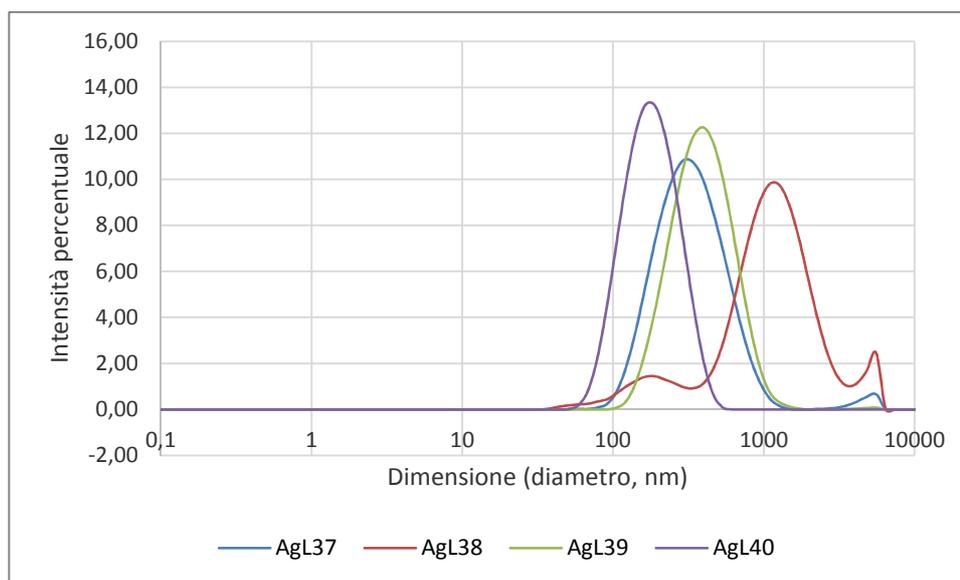


Figura 3. 16 – Distribuzione delle dimensioni delle prove “a caldo”

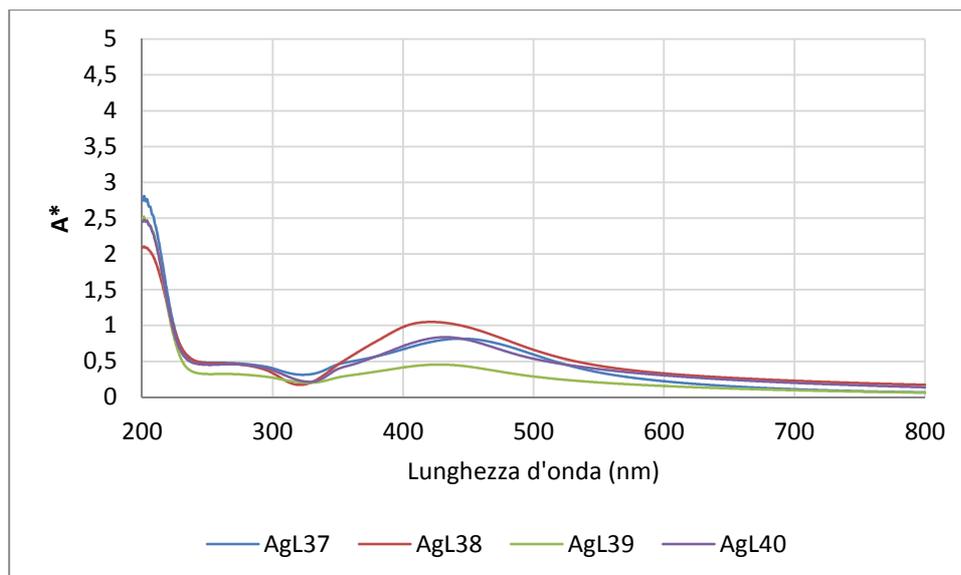


Figura 3. 17 – Spettri di estinzione delle prove “a caldo”, diluizione dei campioni 1 a 200

Per le soluzioni AgL37, AgL39, AgL40 il grafico di Intensità DLS mostra delle distribuzioni di nanoparticelle monodisperse con dimensioni del diametro idrodinamico da 151 a 316 nm, mentre un sistema polidisperso è osservabile nel caso del campione AgL38 (sintesi in presenza di glucosio) con distribuzioni pari a 724 nm (vedi Tabella 3.5) a conferma della presenza di aggregati. Gli spettri UV-Vis mostrano una λ_{\max} piuttosto simile per i diversi campioni a circa 420-440 nm.

Essendo l'idrossietilcellulosa facilmente solubile a freddo, si è optato per cambiare la procedura di sintesi con l'introduzione dell'NaOH (riducente) come ultimo passaggio, quando il precursore ed il polisaccaride sono già dispersi in soluzione. Questo ha comportato: 1) una semplificazione al processo in quanto la reazione ha luogo a temperatura ambiente; 2) all'atto dell'immissione del riducente alcalino si forma un gel ma questo assume immediatamente colorazione bruno-nera dovuta all'avvio del meccanismo di riduzione dell'argento. I campioni così ottenuti sono riportati in Tabella 3.6. È stata inoltre investigata l'influenza della concentrazione di sodio idrossido, i campioni prodotti con un rapporto molare NaOH/Ag pari a 1,41/1 portavano alla formazione di una sospensione di colore arancio-rosso solo dopo tempi di reazione lunghi (circa 1 mese) mentre raddoppiando la concentrazione viene ottenuta una sospensione di nanoparticelle a bassa viscosità dopo 48 ore di reazione.

Campione	Concentrazione Ag (M)	Categoria SoftCAT™	Concentrazione SoftCAT™ (M)	Concentrazione NaOH (M)	Dimensioni medie (nm)*	Indice di polidispersione	estinzione λ_{max} (nm)*
AgL56	0,05	SL-5	0,275	0,07	516,74	0,522	403,00
AgL49 [†]	0,05	SL-5	0,275	0,07	507,2	0,484	407,44
AgL52	0,02	SL-5	0,110	0,06	445,8	0,461	407,78
AgL53	0,05	SL-60	0,275	0,14	244,1	0,336	407,98
AgL54	0,05	SX-1300H	0,275	0,14	281,4	0,302	423,71
AgL58	0,05	SL-5	0,275	0,14	304,56	0,326	412,94
AgL69	0,05	SL-30	0,275	0,14	261,44	0,429	415,10

Tabella 3. 6 – Prove “a freddo” con idrossietilcellulose.

* misurazioni effettuate a 48 ore per tutti i campioni, i campioni con rapporto base 1,41 sono stati dispersi con agitazione magnetica per 3 ore prima della misurazione

[†] Campione analogo ad AgL46 ma preparato con sistema di agitazione meccanica continua

Le distribuzioni delle dimensioni acquisite tramite DLS mostrano dei valori nell’intervallo 200-300 nm (Figura 3.18) ottenuti per le concentrazioni molarie di sodio idrossido maggiori, pari a 0,14 M; mentre diametri nettamente superiori (attorno ai 500 nm) a concentrazione 0,07 M. Inoltre la tipologia dell’idrossietilcellulosa utilizzata (es. SL-5, SL-30 o SL-60) non sembra avere nessuna influenza sulla grandezza delle nano particelle sintetizzate, il campione con SX-1300H (AgL54) è discusso in seguito. Gli spettri UV-Vis per le diverse cellulose “SL” (AgL53, AgL58, AgL69), riportati in Figura 3.19, mostrano gli assorbimenti incentrati intorno a λ_{max} 412 nm (vedi Tabella 3.6).

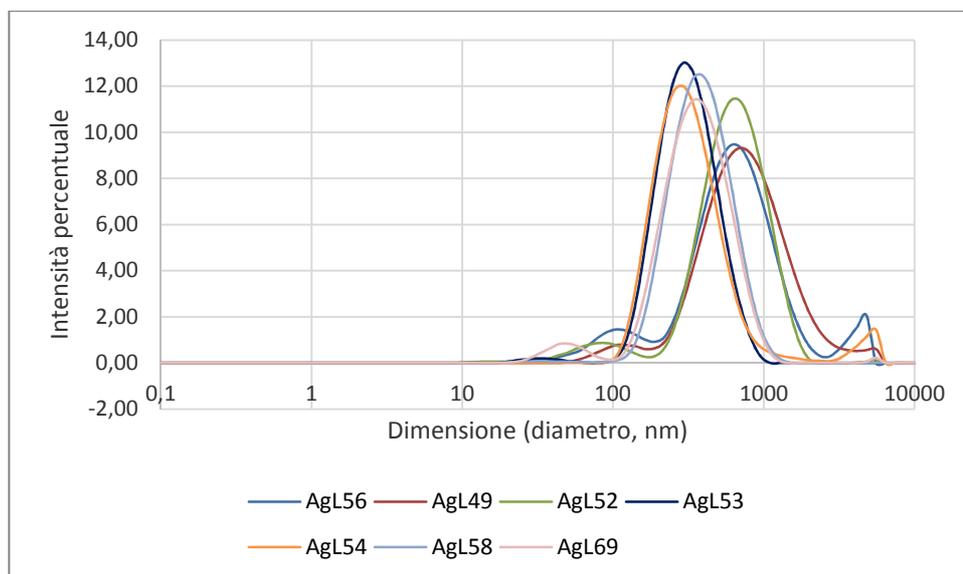


Figura 3. 18 – Distribuzione delle dimensioni delle prove “a freddo”

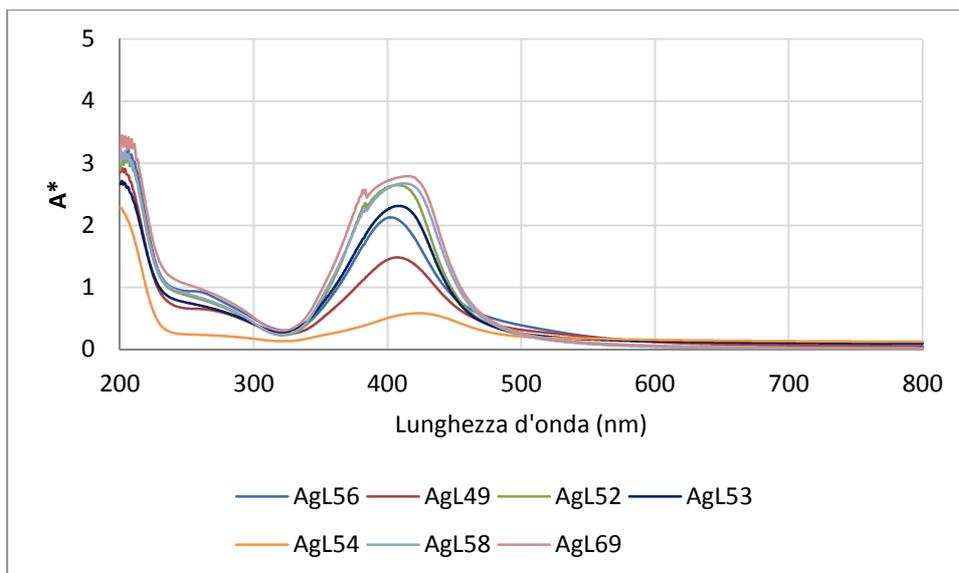


Figura 3. 19 – Spettri di estinzione delle prove “a freddo”, diluizione dei campioni 1 a 200

Le sospensioni ottenute sono risultate stabili per lunghi periodi, oltre 6 mesi; nelle Figure 3.20 e 3.21 sono riportati, come esempio, le distribuzioni DLS e gli spettri UV-Vis per il campione AgL46 appena sintetizzato e dopo 2 settimane.

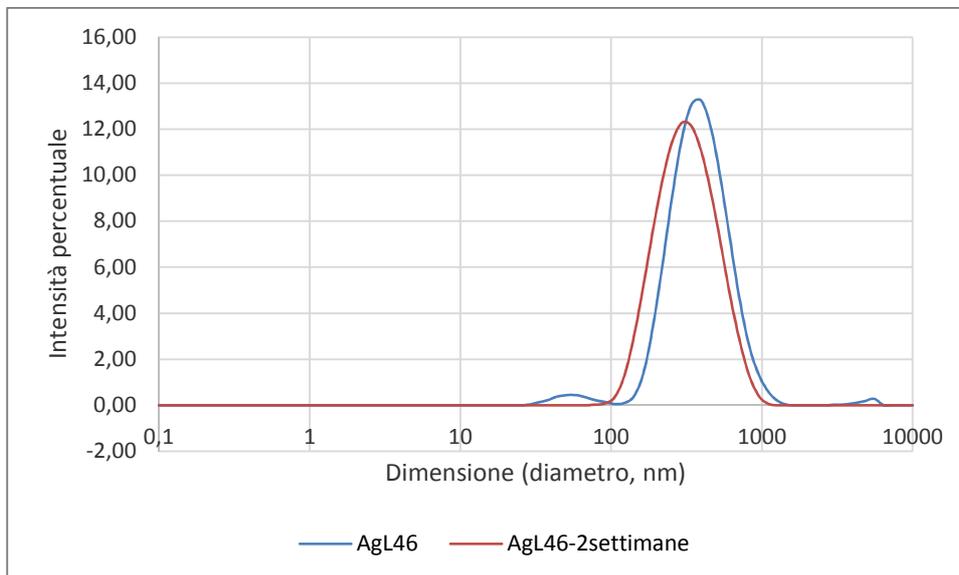


Figura 3. 20 – Distribuzioni delle dimensioni a confronto per lo stesso campione a 2 settimane di distanza

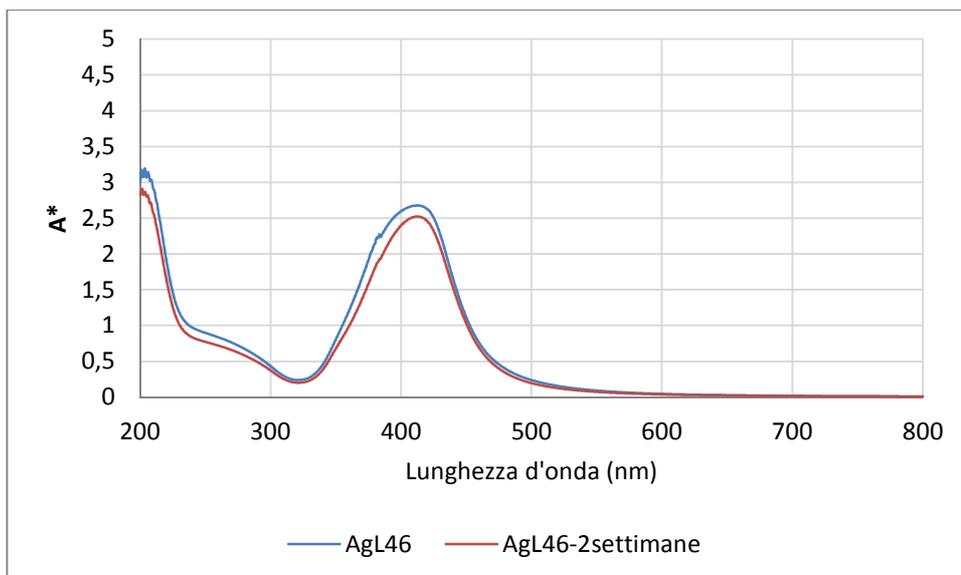


Figura 3. 21 – Spettro di estinzione a confronto per lo stesso campione a 2 settimane di distanza

Per quanto riguarda il campione AgL54, ottenuto utilizzando il polimero SX-1300H, lo spettro UV-Vis (Figura 3.19) presenta un assorbimento molto diverso, con massimo spostato verso maggiore lunghezza d'onda ed intensità molto ridotta rispetto agli altri campioni, indicando una minore concentrazione di nano particelle di Ag (reazione di riduzione incompleta) con maggiori dimensioni. La sintesi ottenuta in presenza di tale polimero ha portato alla formazione di una gelatina bianca e opaca, per la formazione di argento cloruro a discapito della riduzione ad Ag metallico. Il polimero SX-1300H sembra pertanto non avere potere riducente nelle condizioni sperimentali adottate (temperatura ambiente). A conferma di ciò, una netta colorazione bruna è stata ottenuta solo quando la gelatina veniva esposta all'irraggiamento di una lampada UV per un certo tempo.

La riproducibilità è stata investigata ripetendo più volte la sintesi con la stessa procedura. Le sospensioni così ottenute (ad es. campioni AgL58 e AgL46) presentano valori perfettamente confrontabili sia in termini di massimo assorbimento che in termini di distribuzione DLS (Tabella 3.7).

	AgL58	AgL46
Dimensione nm	304,56	309,86
Indice di polidispersione	0,326	0,397
Estinzione λ_{max} (nm)	412,94	412,59

Tabella 3. 7 - Riproducibilità

Effetto della Concentrazione

Per verificare l'effetto della concentrazione di argento nitrato si sono fatte delle sintesi utilizzando concentrazioni pari a 100 mM e 200 mM (rispetto a 50 mM precedentemente impiegato). Tali sintesi sono state condotte in due modi diversi: 1) mantenendo costanti i rapporti di NaOH e stabilizzante (quindi raddoppiando o quadruplicando la quantità) oppure 2) mantenendone fisse le concentrazioni, e conseguentemente riducendo i rapporti. Raddoppiando la concentrazione di argento nitrato non si osservano differenze significative in termini di λ_{\max} (circa 412 nm) e assorbanza negli spettri UV-Vis

Diverso è il responso delle misurazioni DLS (Tabella 3.8): un incremento della quantità di NaOH (catalizzatore di reazione) a parità di stabilizzante porta a una distribuzione di particelle con dimensioni dimezzate (campioni AgL64 e AgL65).

Campione	Concentrazione Ag (M)	Concentrazione NaOH (M)	Concentrazione SoftCAT™ (M)	Dimensioni medie (nm)	Indice di polidispersione	estinzione λ_{\max} (nm)
AgL63	0,1	0,28	0,550	416,2	0,371	412,61
AgL64	0,1	0,14	0,275	186,5	0,264	410,16
AgL65	0,1	0,28	0,275	94,55	0,228	412,21

Tabella 3. 8 – Effetto della concentrazione di argento, campioni sintetizzati con SL-5

Le sospensioni sintetizzate a partire da concentrazioni di argento nitrato pari a 200 mM si presentano con aspetto gelatinoso e risultano difficilmente disperdibili in acqua, anche dopo le 48 ore. La riduzione della concentrazione di argento nitrato (AgL52 in tabella 3.6) da 50 mM a 20 mM, mantenendo gli altri rapporti costanti, ha portato ad un peggioramento; con un aumento della dimensione media (445,8 nm), dell'indice di polidispersione (da 0,33 a 0,46) ed un blue shift di λ_{\max} osservata (Figure 3.18 e 3.19).

La cinetica di riduzione dell'argento è stata seguita compiendo una sintesi e effettuando un campionamento ogni ora con caratterizzazione UV-Vis. Tale procedura non è ancora ottimizzata in quanto i prelievi vanno a modificare le condizioni di reazione, tuttavia può portare ad alcune osservazioni se il controllo viene effettuato al valore di massimo assorbimento (circa 420 nm). Nella prima ora non si osserva nessun assorbimento significativo nell'intorno di frequenza d'interesse, dalla seconda ora di reazione in poi si osserva un aumento del segnale, corrispondente alla formazione dei primi nuclei di argento, che si stabilizza dalla terza ora dall'inizio di reazione (Figura 3.22).

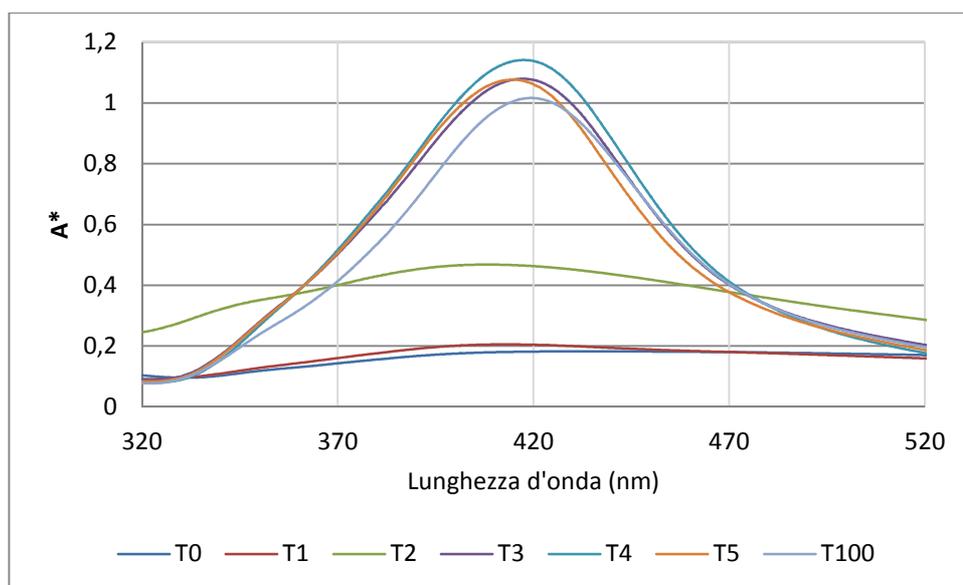


Figura 3. 22

Spettri di estinzione registrati in diluizione 1 a 200 per una sintesi di argento stabilizzato con SL-5, T# indica a quante ore dall'inizio della sintesi è stato effettuato il campionamento e la successiva analisi.

Dall'analisi dei risultati sperimentali e tenendo in considerazione che le sospensioni devono poi essere impiegate in una formulazione per scopi cosmetici si è deciso di: 1) utilizzare esclusivamente le sintesi che prevedono l'impiego di cellulose tipo "SL"; 2) riprodurre le sintesi in assenza di catalizzatore (NaOH). I risultati e gli spettri UV-Vis sono riportati in Tabella 3.9 e Figura 3.24. Il polimero "SL-60" è stato scartato in quanto non portava ai prodotti attesi. In queste condizioni sperimentali tutte le sintesi sono estremamente rallentate e, anche dopo 48 ore la frazione di nano particelle di argento formatasi è minima rispetto alla concentrazione di argento introdotta, tuttavia osservabile all'UV-Vis ed in microscopia elettronica (Figure 3.23 e 3.24).

Campione	Categoria SoftCAT™	estinzione λ_{max} (nm)*
AgL70	SL-5	403,00
AgL71	SL-30	407,44

Tabella 3. 9 – Campioni sintetizzati in assenza di sodio idrossido

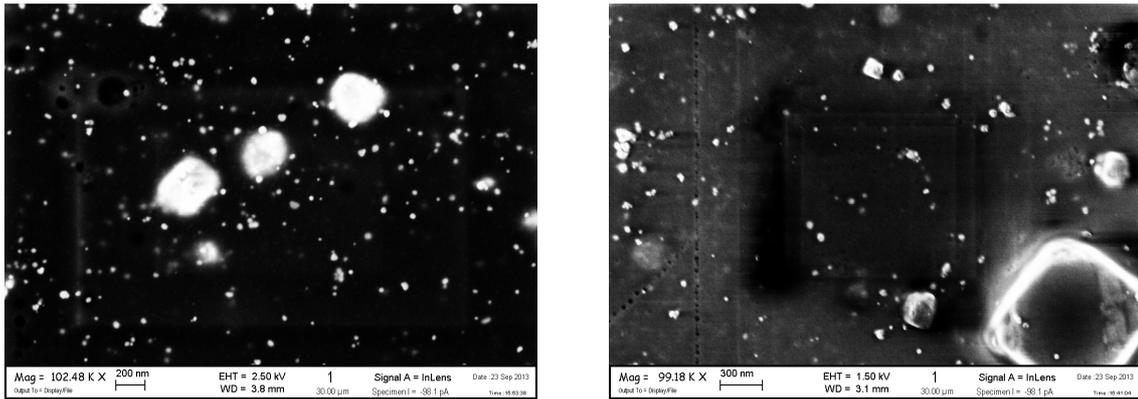


Figura 3. 23 – Micrografie SEM delle sospensioni AgL71 (sinistra) e AgL70 (destra)

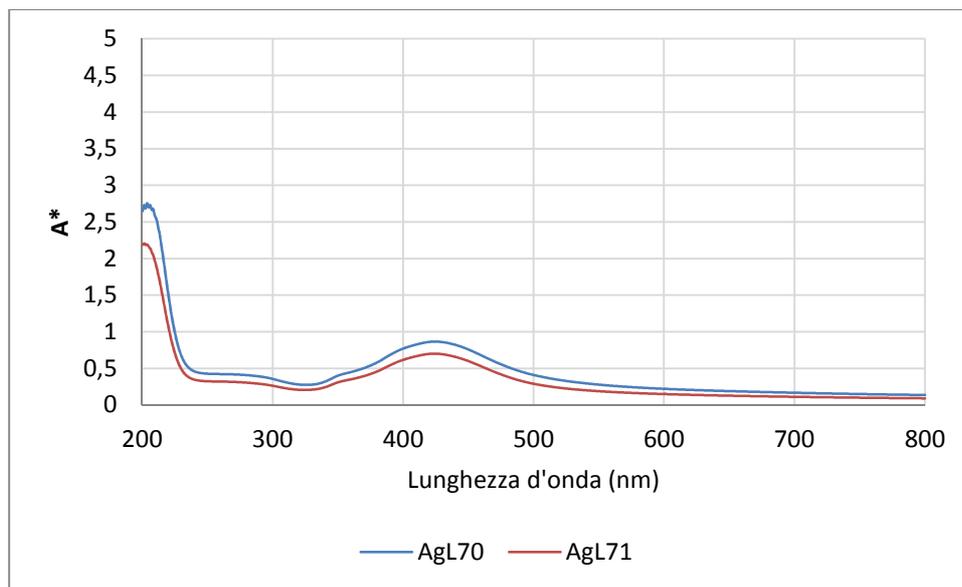


Figura 3. 24 – Spettri di estinzione registrati per le sintesi in assenza di sodio idrossido, diluizione 1 a 200

3.3 Applicazione dei sistemi di nanodelivery

I test di colorazione sono stati condotti su capelli umani decolorati utilizzando la formulazione con polimero “SL-30” (AgL71) seguendo due strategie di applicazione:

PRE = Inserendo i capelli nell’ambiente di reazione prima della sintesi delle nanoparticelle di Ag;

POST = Stendendo la formulazione contenente le nanoparticelle di Ag e colorante sui capelli dopo 48 ore dall’inizio reazione.

Le sospensioni ottenute in assenza di sodio idrossido dopo 48 ore di reazione hanno la consistenza di una “crema” che si presta facilmente all’applicazione.

Parallelamente sono state effettuate delle tinture di confronto impiegando formulazioni contenenti solo il solo colorante (indicate come COL) o con colorante ed idrossietilcellulosa (CELL N), sciolte in acqua.

La descrizione dei diversi campioni preparati è riepilogata in Tabella 3.10 mentre in figura 3.25 sono riportate le fotografie delle ciocche.

Campione	Tipo di cellulosa	Argento	Colorante
2 N PRE	SoftCAT™ SL-30	Presente	Basic Red 51
2 N POST	SoftCAT™ SL-30	Presente	Basic Red 51
CELL N PRE	SoftCAT™ SL-30	Assente	Basic Red 51
CELL N POST	SoftCAT™ SL-30	Assente	Basic Red 51
COL	Assente	Assente	Basic Red 51

Tabella 3. 10 – Campioni impiegati per i test di colorazione

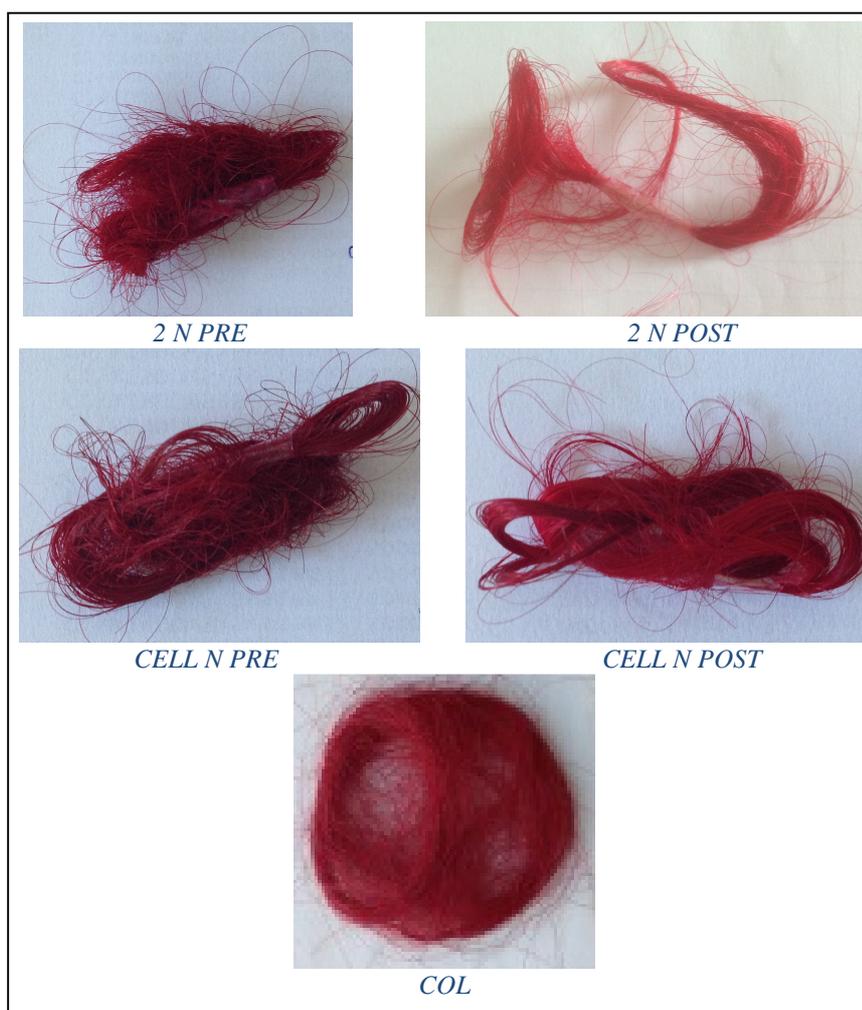


Figura 3. 25 – Ciocche a confronto dopo tintura

Il grado di colorazione è stato determinato analizzando le ciocche in riflettanza diffusa e rielaborando i dati con il sistema CIEL*a*b* impostando una sorgente D65 e un angolo di osservazione di 2°. I valori di L*, a* e b*, ottenuti dalla media di cinque misure effettuate sulla stessa ciocca (in punti diversi), sono stati utilizzati per calcolare il valore di ΔE, una misura della differenza di colore esistente tra due oggetti, espresso dall'equazione:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Dove $\Delta L = L_i - L_0$; $\Delta a = a_i - a_0$; $\Delta b = b_i - b_0$ e L_0 , a_0 e b_0 sono i valori ottenuti per la ciocca di capelli non colorati e L_i , a_i e b_i sono i valori ottenuti per la ciocca di capelli appena colorata.

Dai dati riportati in Tabella 3.11 si può osservare che:

1. La variazione di luminosità, ΔL , risulta simile per tutti i campioni analizzati
2. la variazione di tinta, $\Delta h = h_i - h_0$, risulta influenzata dalla presenza delle nanoparticelle di argento, probabilmente a causa della colorazione delle stesse nanoparticelle.
3. Il valore di ΔE risulta maggiore nel caso di applicazione del solo colorante rispetto alle altre formulazioni contenenti idrossietilcellulosa o idrossietilcellulosa e aquasome di argento

Campione	ΔL	Δh	ΔE colorazione	ΔE resistenza ai lavaggi
2 N PRE	72,90	39,58	80,78	81,90
2 N POST	68,56	41,16	87,81	80,07
CELL N PRE	73,06	29,46	91,00	78,21
CELL N POST	72,10	27,24	87,15	60,03
COL	78,51	25,65	117,78	58,27

Tabella 3. 11 – Variazione dei parametri colorimetrici

Sono state condotte delle prove di estrazione del colorante effettuando lavaggi con etanolo per un tempo pari a 2 ore, sotto agitazione per ultrasuoni, dei capelli appena tinti ed analizzando la soluzione così ottenuta, tramite spettroscopia UV-Vis ^[5]. Tali prove sono state condotte sui campioni 2 N (sia PRE che POST) e COL.

La determinazione spettrofotometrica, tramite retta di calibrazione esterna (Figura 3.9), della concentrazione del colorante trasferito alle soluzioni di lavaggio è in questo caso direttamente correlabile alla quantità di colorante inizialmente adsorbita sui capelli sia superficialmente che all'interno della corteccia.

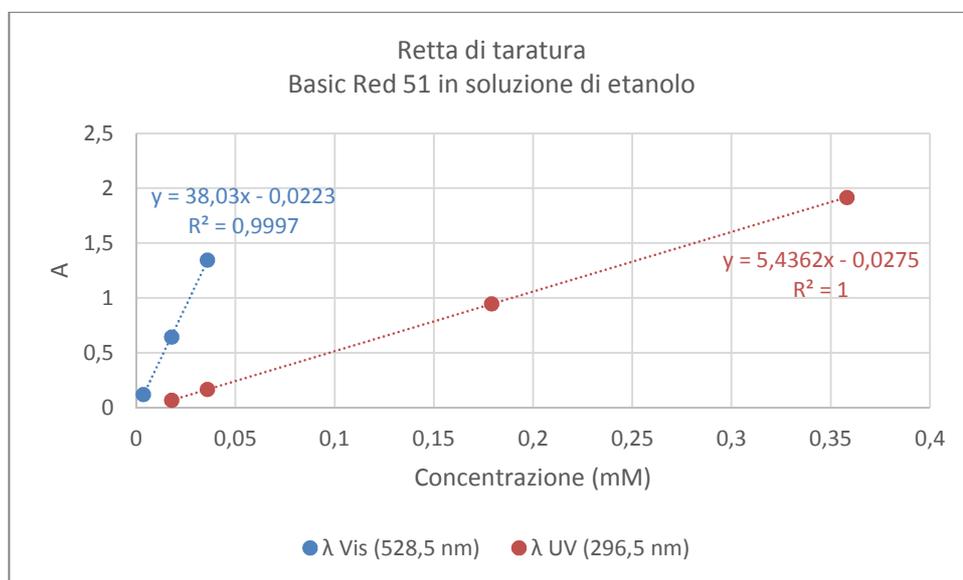


Figura 3.26 – Rette di taratura alle due lunghezze d'onda di assorbimento del colorante Basic Red 51

Le concentrazioni misurate, rispettivamente per i campioni COL, 2 N PRE e 2 N POST, sono pari a $1,3 \cdot 10^{-5}$ mM; $3,5 \cdot 10^{-5}$ mM; e $3,0 \cdot 10^{-5}$ mM. Entrambi i campioni 2NPOST e 2NPRE presentano una quantità di colorante superiore 2 - 2,5 volte rispetto a quella rilevata nel campione COL.

Sono state condotte anche prove di rilascio del colorante dal capello a seguito di lavaggi con acqua e agitazione per ultrasuoni, effettuati come descritto nella parte sperimentale (8 lavaggi consecutivi), e le soluzioni di lavaggio sono state analizzate per via spettrofotometrica. Le curve massa di colorante/massa di capelli vs numero di lavaggi, riportate in Figura 3.27, mostrano un comportamento di rilascio pressoché simile per tutti i campioni analizzati: una prima parte, a più elevata pendenza (2° e 3° lavaggio) giustificata dalla perdita dell'eccesso di colorante, o di sistema colorante/cellulosa, adsorbito esternamente ai capelli; ed una seconda parte che porta ad un plateau dopo circa 4 lavaggi.

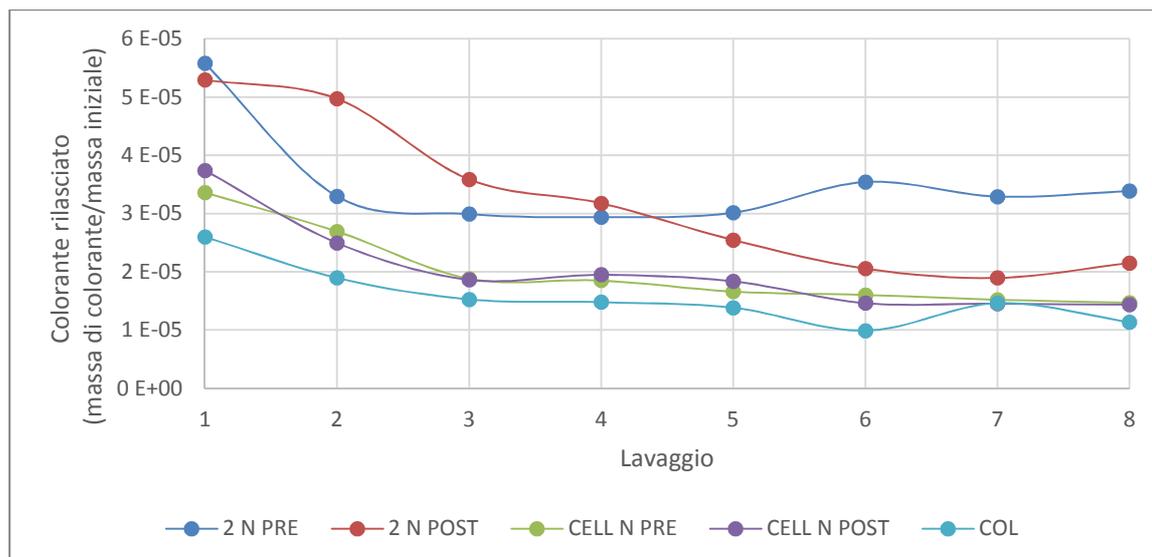


Figura 3. 27 – Risultati delle prove di rilascio

L'impiego di nanoparticelle di Ag stabilizzate con idrossietilcellulosa, (PRE o POST), non modifica l'andamento della curva di rilascio. È invece evidente l'influenza sulla quantità di colorante rilasciato dopo il 1 lavaggio e dopo il lavaggio finale (8°), che risulta in entrambi i casi maggiore rispetto alle altre prove.

I valori di resistenza del colore, ottenuti analizzando in riflettanza le ciocche dopo l'8 lavaggio e calcolando il valore di ΔE con L_0 , a_0 e b_0 corrispondenti ai valori ottenuti per la ciocca di capelli non colorati mentre L_i , a_i e b_i sono i valori ottenuti per la ciocca di capelli dopo 8 lavaggi sono riportati in tabella 3.11. Si osserva un andamento di resistenza del colore ai lavaggi $2\ N\ PRE > 2\ N\ POST > CELL\ N\ PRE > CELL\ N\ POST > COL$. I migliori risultati ottenuti nella condizione in cui è presente l'idrossietilcellulosa nella formulazione, rispetto al campione COL, sono in accordo con quanto riportato in letteratura ^[6] poiché l'idrossietilcellulosa favorisce la permanenza del colorante sul capello. L'incremento osservato nelle due formulazioni 2 N è pertanto imputabile alla presenza degli aquasome di argento.

Bibliografia

- [1] R.Janardhanan, M.Karuppaiah, N.Hebalkar, T.N.Rao; “*Synthesis and surface chemistry of nano silver particles*” Polyhedron Volume, 28, 12, 2009, 2522–2530
- [2] A.Panáček, L.Kvítek, R.Prucek, †M.Kolář, R.Večeřová, N.Pizúrová, V.K. Sharma, T.Nevěčná, R.Zbořil; “Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity” J. Phys. Chem. B, 2006, 110 (33), pp 16248–16253
- [3] J.S.Kim et al.; “*Antimicrobial effects of silver nanoparticles*” Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 3, 1, 2007, 95–101
- [4] R.D. Lins, C.S. Pereira, P.H. Hünenberger; “Trehalose–Protein Interaction in Aqueous Solution” Proteins. 2004 Apr 1; 55(1):177-86
- [5] B.Ballarín, S.Galli, M.Morigi; “*Study of dyeing properties of semipermanent dyestuffs for hair*” Int J Cosmet Sci. 2007, 29(1), 49-57
- [6] B.Ballarín, S.Galli, M.Morigi; “*Influence of cellulose polymers on the semipermanent dyestuff process for yak hair: An analytical investigation*” J Cosmet Sci. 2008, 59(2), 105-15

4.0 CONCLUSIONI

Nel corso di questo lavoro di tesi sono state studiate e sintetizzate diverse nanosospensioni di argento, tipo aquasome, al fine di poterle impiegare come carrier di coloranti per la tintura dei capelli.

Per semplificare lo sviluppo di un prodotto commerciale, le sintesi sono state svolte in fase acquosa, garantendo così un minore impatto ambientale rispetto alle comuni sintesi di nanoparticelle. La metodica di sintesi ottimale individuata, inoltre, fa uso di una sostanza di origine vegetale (idrossietilcellulosa) in funzione di stabilizzante, già impiegata in alcuni formulati per balsamo commerciali; questo per favorire ulteriormente l'aspetto di eco-compatibilità del processo e di compatibilità alla destinazione d'uso cosmetico. L'ottimizzazione e lo studio dei parametri di reazione ha mostrato infine che l'aquasome è ottenibile anche utilizzando una sintesi che non richiede né una fase di riscaldamento, né di un ambiente basico di reazione, riducendo nuovamente l'impatto ambientale così come i costi ed i problemi di processo. La sospensione di nanoparticelle così selezionata ha mostrato una buona stabilità nel tempo, non sono state osservate separazioni di fasi o precipitazioni nei 6 mesi successivi alle prime sintesi.

Allo scopo di impiegare queste sospensioni di nanoparticelle di argento come carrier, la sintesi è stata condotta anche in presenza di un colorante di tipo "semi-permanente" per capelli, Basic Red 51. L'aggiunta del colorante non influenza le caratteristiche del prodotto finale, fatta eccezione per la colorazione che passa da un giallo-arancione dovuto agli effetti di risonanza plasmonica superficiale delle nanoparticelle d'argento, ad un rosso scuro. Le particelle così sintetizzate sono state impiegate come formulazioni per tintura, rispettando per il colorante le indicazioni di concentrazione massima stabilite dall'associazione europea dell'industria cosmetica (COLIPA), senza l'ausilio di eccipienti e senza effettuare pretrattamenti sui capelli. Sono state investigate due possibili strategie d'applicazione: producendo le nanoparticelle con colorante in presenza dei capelli, in maniera analoga ad una tintura permanente in cui il precursore delle particelle sostituisce il precursore del colorante; ed applicando le particelle con colorante sui capelli 48 ore dopo la loro sintesi, metodo facilitato dall'aspetto cremoso del formulato.

I campioni preparati, 2 N PRE/POST, CELL N PRE/POST e COL sono stati sottoposti a misure spettrofotometriche e analisi CIEL*a*b* sia per quanto riguarda il grado di colorazione che per quanto riguarda le condizioni di rilascio del colorante a seguito di lavaggi successivi. La presenza di idrossietilcellulosa e delle nanoparticelle di argento non sembra influire sul grado di colorazione del capello dopo applicazione della formulazione ma influiscono sensibilmente sulla stabilità del colorante a seguito dei risciacqui. In particolare una maggiore resistenza ai lavaggi (grado di colorazione dopo 8 lavaggi) è stata osservata nei campioni in cui erano presenti le nanoparticelle di argento stabilizzate con idrossietilcellulosa.

Sebbene queste formulazioni esibiscano migliori prestazioni, è necessario in futuro indagare approfonditamente gli effetti sulla salute di queste nanoparticelle, così come è necessario ripetere gli esperimenti con diversi coloranti.