

POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

Corso di Laurea Magistrale

in Ingegneria Chimica e dei Processi Sostenibili

Tesi di Laurea Magistrale

**Analisi strutturale di un comune stabilizzante
alimentare naturale: gli esteri di saccarosio**



Relatrice

Prof.ssa Elena Simone

Candidata

Laura Ardagna

Luglio 2023

A mia madre, cui devo tutto il mio essere.

A mia nonna, costante presenza.

ABSTRACT

Gli esteri di saccarosio (SE) sono ampiamente utilizzati nell'industria alimentare e cosmetica e recentemente sono diventati di grande interesse per la loro applicabilità in diversi campi farmaceutici. Sono eccipienti naturali e biodegradabili con noto comportamento emulsionante e stabilizzante. Sono tensioattivi non ionici costituiti da saccarosio come gruppo idrofilo e catene di acidi grassi come gruppi idrofobi. Le proprietà termiche e le strutture cristalline degli esteri di saccarosio sono diverse in base al valore dell'equilibrio idrofilo-lipofilo (HLB).

L'estere di saccarosio analizzato è quello ottenuto dall'esterificazione dell'acido stearico con una molecola di saccarosio (C-1805, 67022311). Il numero 18 indica il numero di atomi di carbonio che costituiscono la catena dell'acido grasso principale, l'acido stearico, e il numero 05 corrisponde al valore di HLB.

In questo lavoro di tesi il campione di SE è stato analizzato sia nella sua forma pura, utilizzato in polvere così come fornito, sia che disperso al 5% in peso in olio extra-vergine d'oliva (SE5) per formare un oleogel e valutare se il SE risulta una sostanza, in tal senso, ideale, valutandone il comportamento stabilizzante; quindi, è stato approfondito il diverso comportamento del SE in diverse condizioni sperimentali.

Il SE puro è stato caratterizzato mediante un'analisi al microscopio ottico a luce polarizzata, mediante diffrazione di raggi X, con la calorimetria a scansione differenziale (DSC) e mediante spettroscopia Raman. Si è notata la presenza di un residuo di SE solido anche ad alta temperatura ($>100^{\circ}\text{C}$), indicante la disomogeneità del campione in analisi. Nella matrice a più bassa temperatura di fusione sono state identificate più fasi solide cristalline e una fase di cristallo liquido termotropico. È stata anche identificata una fase intermedia tra solido e cristallo liquido che necessiterà di ulteriori future analisi strutturali. Il comportamento termico del SE è stato determinato mediante DSC, identificando rispettivamente la temperatura di fusione (T_m) e la temperatura di cristallizzazione (T_c).

Il SE5 è stato analizzato con le stesse tecniche analitiche, il sistema è caratterizzato da fasi solide cristalline diverse e si ha, anche in questo caso, la formazione di una fase intermedia nel passaggio dalla fase di cristallo solido a quella di liquido cristallino termotropico. Mediante DSC sono state individuate la T_m e la T_c , con cui è stato determinato il comportamento termico.

RINGRAZIAMENTI

Alla mia relattrice, Prof.ssa Elena Simone, per avermi seguita nella realizzazione dell'intero lavoro di tesi, per la sua grande disponibilità, cortesia e umanità. Grazie.

A Giulia, per essere stata dal primo giorno all'ultimo presente con pazienza, entusiasmo, passione e dedizione. Lavorare con te è stato bello, sei una bella persona. Grazie.

A mia nonna, il mio angelo custode. Ti ho sentita vicina ogni giorno, per tutti i giorni. Avrei voluto renderti tanto fiera di me. Ti stringo, sempre e fin lì.

A mia madre, perno irremovibile della mia vita, a cui devo tutto il mio essere. Per tutto quello che, in questo particolare periodo e sempre, sei riuscita a trasmettermi; per quello che sappiamo e riusciamo a dirci anche senza dire niente. Lo sappiamo, non saremo mai da sole.

A mio padre, il mio insegnante di vita, sei costante sostegno, supporto, presenza, premura, cura, attenzione e amore. Per avermi da sempre, sempre ed instancabilmente spronata e ricaricata. Questo traguardo è anche il tuo, grazie.

Ad Elisa ed Emanuela, mie sorelle, mie migliori amiche, mie più grandi confidenti; siete per me i due più grandi esempi di vita, per non esservi mai stancate di ascoltarmi e, anche quando era impossibile, capirmi. Siete insostituibili.

A mia nonna Sara, per l'amore incondizionato.

A Rocco, puro amore e delicata e costante presenza. Sei la persona più rara che io conosca, per averci da sempre creduto prima che lo facessi io, per la tua pazienza, per il modo in cui i tuoi occhi non hanno mai smesso di guardarmi; con tutto il mio amore, grazie.

A Marta, che prima di essere una mia insostituibile sorella di studio, è una mia insostituibile sorella di vita, da sempre. Per ogni discussione, ogni esame, ogni pensiero, ogni sfogo, per le esperienze di vita e per come siamo cresciute, insieme, grazie.

A Sara, da cui non mi sono sentita mai un giorno lontana. In tutti i miei momenti impegnativi, ho sempre avuto la certezza che tu ci fossi. Ovunque ed in qualunque modo. Sei preziosa, grazie.

A Carlotta, per il profondo legame che ci tiene unite anche e soprattutto nonostante i non pochi chilometri di distanza. Hai vissuto ogni mio stato d'animo; per esserci sempre stata, grazie.

A Giovanni, su cui ho sempre potuto contare ovunque fossi; per una chiamata, un messaggio, un abbraccio, una parola, un aperitivo, due chiacchiere, per la tua autentica amicizia, grazie.

A Viviana, che è entrata nella mia vita quasi per caso e non ne è più uscita. Grazie, per l'amicizia, per il sostegno, per esserti fatta sentire vicina.

A Lorena, per essere stata, a volte una delle poche persone, ad avermi sempre capita. Sei importante.

A Greta, per non esserci mai perse e per esserci stata nonostante tutti i nonostante. Sarò sempre con te; una sorella è per sempre, indipendentemente da dove si è. Lei ci sarà.

A Cannizzaro, importante in questo percorso. Siamo cresciuti tanto, ci siamo voluti bene, ci siamo dati coraggio, supportati e spronati. Grazie per essermi stato vicino e per aver creduto in me.

A Enrica, il tempo ha provato a toglierci tanto ma non c'è mai riuscito. I rapporti, quelli veri, diventano più forti anche se non ci si vede o sente tutti i giorni. A prescindere da dove andremo, cosa faremo, noi ci saremo. Per tutto il tempo vissuto insieme e per quello che vivremo, grazie.

A Manfredi, per essere riuscito nonostante il tuo lavoro, la tua vita e la distanza, a farti sentire sempre, in qualche modo, vicino. Le amicizie vere, d'altronde, sono quelle in cui si sceglie di rimanere vicini.

INDICE

ABSTRACT	5
RINGRAZIAMENTI	6
LISTA DELLE FIGURE	9
LISTA DELLE TABELLE	12
LISTA DELLE ABBREVIAZIONI	13
1 INTRODUZIONE	14
1.1 Contesto applicativo	14
2 Stato dell'arte	16
3 Materiali e metodi	35
3.1 Materiali	35
3.1.1 Miscela di estere di saccarosio e olio	36
3.1.2 Esteri di saccarosio	37
3.2 Apparecchiature	40
3.2.1 Microscopio ottico a luce polarizzata	40
3.2.2 Diffrazione di raggi X (XRD)	42
3.2.3 Calorimetria a scansione differenziale (DSC)	43
3.2.4 Spettroscopia Raman	44
4 RISULTATI	45
4.1 Analisi della miscela estere di saccarosio e olio	45
4.2 Analisi al microscopio ottico	46
4.3 Analisi di diffrazione di raggi X (XRD)	56
4.3.1 Polimorfismo del SE puro	56
4.3.2 Polimorfismo del sistema SE-EVOO	66
4.4 Analisi calorimetria a scansione differenziale (DSC)	75
4.4.1 Comportamento termico del SE puro	75
4.4.2 Comportamento termico del sistema SE-EVOO	77
4.5 Analisi spettroscopia Raman	79
5 CONCLUSIONI	82
RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI /SITOGRAFIA	83

LISTA DELLE FIGURE

Fig. 2.1 Caso di nucleazione omogenea primaria.

Fig. 2.2 Variazione di energia libera associata alla nucleazione [7].

Fig. 2.3 Profilo di concentrazione vicino alla superficie del cristallo [7].

Fig. 2.4 Principali tipi di mesofasi liquido cristalline termotropiche di un mesogeno molecolare calamitico "standard", ordinate da sinistra a destra in funzione del crescente ordine al loro interno (temperatura decrescente): (A) fase liquida isotropa (I), (B) fase nematica (N), (C) fase smettica A (SmA) e (D) fase smettica C (SmC). (Figura presa da <http://www.chim.it/sites/default/files/cns/pdf/2010-3.pdf>)

Fig. 2.5 Diagramma dei livelli energetici dello scattering Rayleigh e Raman [13].

Fig. 2.6 Tipiche curve DSC di un polimero in corrispondenza della fusione e della cristallizzazione [16].

Fig. 2.7 Esempio di raggi X incidenti e diffratti.

Fig. 2.8 Microscopia a luce polarizzata del SE puro in prossimità di un difetto (bolla d'aria), obiettivo 10x.

Fig. 2.9 Composizione dell'estere di saccarosio, stereato di saccarosio S-570 (<https://www.mfc.co.jp/english/s570.htm>).

Fig. 3.1 Rappresentazione schematica della struttura chimica dell'estere di saccarosio.

Fig. 3.2 Composizione dell'estere di saccarosio, stereato di saccarosio S-570 (<https://www.mfc.co.jp/english/s570.htm>).

Fig. 4.1 Aspetto dei recipienti di SE5 varie temperature in °C raggiunte all'interno del Crystal16.

Fig. 4.2 Micrografia a luce polarizzata del C-1805 puro ad una temperatura di 120°C; obiettivo 40x.

Fig. 4.3 Micrografia a luce polarizzata del C-1805 puro ad una temperatura di 110°C; obiettivo 10x.

Fig. 4.4 Micrografia a luce polarizzata del C-1805 puro ad una temperatura di 80°C; obiettivo 10x.

Fig. 4.5 Micrografia a luce polarizzata del C-1805 puro dopo 15 min a 120°C; obiettivo 10x.

Fig. 4.6 Micrografia a luce polarizzata del SE5 a temperatura ambiente ($23 \pm 2^\circ\text{C}$); obiettivo 40x.

Fig. 4.7 Micrografia a luce polarizzata del SE5 mantenuto ad una temperatura di 120°C; obiettivo 10x.

Fig. 4.8 Micrografia a luce polarizzata del SE5 a diverse temperature in °C; obiettivo 10x.

Fig. 4.9 Aspetto dei recipienti di SE5 prima (a) e dopo (b) l'agitazione magnetica.

Fig. 4.10 Micrografia a luce polarizzata di SE5 in fase di riscaldamento (a) a 67.8°C e in fase di raffreddamento (b) a 20°C; obiettivo 10x.

Fig. 4.11 Micrografia a luce polarizzata di SE5 in fase di riscaldamento a 76°C (a) e 108°C (b) e in fase di raffreddamento a 50°C (c) e 20°C (d); obiettivo 10x.

Fig. 4.12 Andamento della temperatura in funzione del tempo.

Fig. 4.13 Modelli di raggi X del SE puro a diverse temperature, rispettivamente in fase di riscaldamento e raffreddamento; regione SAXS.

Fig. 4.14 Modelli di raggi X del SE puro a diverse temperature, in fase di riscaldamento; regione WAXS.

Fig. 4.15 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di una sola fase cristallina.

Fig. 4.16 Modelli di raggi X del SE puro a diverse temperature, rispettivamente in fase di riscaldamento e raffreddamento; regione SAXS.

Fig. 4.17 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di una sola fase.

Fig. 4.18 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di una sola fase.

Fig. 4.19 Modelli di raggi X del SE puro a diverse temperature, rispettivamente in fase di raffreddamento; regione SAXS.

Fig. 4.20 Modelli di raggi X del SE puro a diverse temperature in fase di riscaldamento; regione SAXS.

Fig. 4.21 Modelli di raggi X di SE5 a diverse temperature, rispettivamente in fase di riscaldamento e raffreddamento; regione SAXS.

Fig. 4.22 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di una sola fase cristallina.

Fig. 4.23 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di due fasi cristalline.

Fig. 4.24 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di una sola fase cristallina.

Fig. 4.25 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di due fasi cristalline.

Fig. 4.26 Modelli di raggi X del SE10 a diverse temperature, in fase di riscaldamento e raffreddamento; regione SAXS.

Fig. 4.27 Modelli di raggi X del SE disperso in EVOO a diverse temperature, in fase di raffreddamento; regione SAXS.

Fig. 4.28 Scansione DSC durante i processi di raffreddamento (cristallizzazione, esotermica) e riscaldamento (fusione, endotermica) di SE puro.

Fig. 4.29 Scansione DSC durante i processi di raffreddamento (cristallizzazione, esotermica) e riscaldamento (fusione, endotermica) del 5% di SE disperso in EVOO.

Fig. 4.30 Micrografia a luce non polarizzata del SE5, micelle inverse.

Fig. 4.31 Spettri Raman del SE puro in fase di riscaldamento e raffreddamento.

Fig. 4.32 Micrografia a luce non polarizzata del SE puro a diverse temperature, in fase di riscaldamento (a), (b), (c) e in fase di raffreddamento (d).

LISTA DELLE TABELLE

Tab. 3.1 Acidi grassi comunemente utilizzati negli SE commerciali [18].

Tab. 3.2 Temperatura di fusione e decomposizione S-570 (<https://www.mfc.co.jp/english/s570.htm>).

Tab. 4.1 Valori di q e d-spacing della fase 1

Tab. 4.5 Valori di q e d-spacing della fase 2 e 3.

Tab. 4.3. Valori di q e d-spacing della fase 2 e 3.

Tab. 4.4 Valori di q e d-spacing della fase 1 e 2.

Tab. 4.5 Valori di q e d-spacing della fase 1.

Tab. 4.6 Valori di q e d-spacing della fase 2.

Tab. 4.7 Valori di q e d-spacing della fase 3 e 4.

Tab. 4.8 Valori di q e d-spacing della fase 5 e 6.

Tab. 4.9 Valori di q e d-spacing della fase 7 e 8.

Tab. 4.10 Valori di q e d-spacing della fase 9.

Tab. 4.11 Valori di q e d-spacing della fase 1 e 2.

Tab. 4.12 Valori di q e d-spacing della fase 3.

LISTA DELLE ABBREVIAZIONI

C-1805 Estere di saccarosio con acido stearico

DSC Calorimetria a scansione differenziale

EVOO Olio extra-vergine d'oliva

HLB Equilibrio idrofilo-lipofilo

S-570 Estere di saccarosio con acido stearico

SAXS Small-Angle X-Ray Scattering

SE Estere di saccarosio

SE5 Estere di saccarosio al 5% in peso disperso in olio extra-vergine d'oliva

SE10 Estere di saccarosio al 10% in peso disperso in olio extra-vergine d'oliva

TAG triacilgliceroli

XRD Diffrazione di raggi X

1 INTRODUZIONE

1.1 Contesto applicativo

Negli ultimi anni si è iniziato a rivolgere particolare attenzione alle schiume liquide e più nello specifico alle loro possibili applicazioni in ambito alimentare, cosmetico o farmaceutico. Recenti studi infatti dimostrano che è possibile, ad esempio, evitare la diffusione di un virus sfruttando sia i meccanismi di formazione di una schiuma di disinfettante contenente un tensioattivo antibatterico, sia le interazioni tra il virus e il tensioattivo. Le schiume liquide sono delle dispersioni colloidali di gas all'interno di una fase liquida continua; se la fase continua è l'acqua vengono definite schiume acquose, quando la fase continua è un olio vengono definite oleoschiume (*oleofoams*). Quest'ultime sono prevalenti nell'ambito di industrie cosmetiche, farmaceutiche, alimentari, in: salse, condimenti, maionese, caramelle, cioccolatini, marshmallow, prodotti da forno.

Sono stati svolti diversi lavori di ricerca in cui è stata descritta la preparazione di oleoschiume relativamente stabili a partire da soluzioni e/o dispersioni di esteri di acidi grassi mono- e diglicerolici in alcani a catena lunga e olio d'oliva. Un protocollo generico per la preparazione di tali schiume prevede di riscaldare la miscela di emulsionante commestibile ad alto punto di fusione e di olio vegetale per creare una soluzione quanto più omogenea possibile. Poi è necessario raffreddare per indurre la cristallizzazione dell'emulsionante nell'olio. I cristalli preformati vengono adsorbiti sulla superficie delle bolle di aria, incorporate in fase di areazione. Tale adsorbimento rende la schiuma cinematicamente stabile. Queste schiume però sono sensibili alla temperatura e quindi durante il riscaldamento verso il punto di fusione, possono essere destabilizzate.

Oltre che come emulsionanti, gli SE sono stati utilizzati nei sistemi lipidici per la formazione di oleogel. Negli ultimi anni gli oleogel sono diventati più interessanti proprio per la necessità di "grassi sani" a basso contenuto di acidi grassi saturi. Gli oleogel sono oli liquidi strutturati dall'aggiunta di composti a basse concentrazioni (al massimo pari al 10% in peso) in modo da formare una sorta di rete e intrappolare oli liquidi; questi composti, devono essere di grado alimentare, economicamente validi, efficienti, versatili e corrispondere alle proprietà fisiche del prodotto finale.

In particolare, gli esteri di saccarosio sono tensioattivi non ionici costituiti da saccarosio come gruppo idrofilo e catene di acidi grassi come gruppi idrofobi. Le proprietà termiche e le strutture cristalline degli esteri di saccarosio sono diverse in base al valore dell'equilibrio idrofilo-lipofilo (HLB): vengono utilizzati come emulsionanti, come miglioratori di dissoluzione nel caso di HLB alto, come lubrificanti nel caso di HLB basso o medio.

1.2 Scopo e struttura della tesi

Il seguente lavoro si propone di analizzare il comportamento dell'estere di saccarosio (SE) ottenuto dall'esterificazione dell'acido stearico con una molecola di saccarosio, come agente emulsionante e stabilizzante.

In particolare, è stata effettuata la caratterizzazione del SE puro, svolgendo delle analisi al microscopio ottico a luce polarizzata, analizzandone il comportamento polimorfico con un'analisi di diffrazione di raggi X, il comportamento termico con la tecnica di calorimetria a scansione differenziale (DSC); infine, il campione è stato analizzato con la tecnica di spettroscopia Raman.

Inoltre, è stata effettuata la caratterizzazione del 5% di SE disperso in olio extra-vergine d'oliva (SE5) per formare un oleogel e valutarne il comportamento stabilizzante, ne è stato analizzato il comportamento mediante l'utilizzo del microscopio ottico a luce polarizzata, ne sono state individuate le forme polimorfiche con l'analisi di diffrazione di raggi X ed il comportamento termico mediante calorimetria a scansione differenziale (DSC).

La tesi, oltre al presente, si articola in ulteriori quattro capitoli:

- il capitolo 2 presenta una disamina degli articoli di letteratura che affrontano i principali aspetti relativi ai principi che regolano la cristallizzazione, ai cristalli liquidi e alle principali proprietà di quest'ultimi e ad alcune tecniche sperimentali che vengono utilizzate per caratterizzarli.
- Il capitolo 3 analizza il composto e il solvente utilizzati per gli esperimenti, oltre specifiche apparecchiature utilizzate per la raccolta dei dati sperimentali. Inoltre, si descrive la metodologia utilizzata per ciascun esperimento.
- Il capitolo 4 espone i risultati delle attività sperimentali effettuate sui vari campioni prodotti.
- Il capitolo 5 riporta conclusioni, riflessioni, considerazioni, valutazioni svolte derivanti dai risultati ottenuti.

2 Stato dell'arte

Il seguente capitolo fornisce una panoramica relativa ai principi che regolano la cristallizzazione, ai cristalli liquidi e alle principali proprietà di quest'ultimi e ad alcune tecniche sperimentali che vengono utilizzate per caratterizzarli.

2.1 Cristallizzazione

Nel processo di cristallizzazione dei lipidi, un parametro caratterizzante, a qualsiasi temperatura, è rappresentato dal contenuto di grassi solidi (SFC), cioè la frazione di materiale solido rispetto al contenuto globale di lipidi nel sistema [2]. Nel caso specifico, le condizioni di sovrasaturazione si ottengono raffreddando il liquido al di sotto della temperatura di fusione (T_M), cioè la temperatura oltre la quale l'SFC è pari a zero [3]. L'entità della riduzione di temperatura è definita come "grado di sottoraffreddamento" (ΔT):

$$\Delta T = T_M - T_{cr} \quad (2.1)$$

dove T_M e T_{cr} sono rispettivamente le temperature di fusione e cristallizzazione. Il valore di ΔT al quale si osserva l'inizio della cristallizzazione dipende dalle proprietà fisico-chimiche della fase lipidica, ovvero dalla composizione chimica e dai parametri di processo, come ad esempio la velocità di raffreddamento [4]. Al di sotto di T_M ci si aspetta la cristallizzazione, ma la presenza di barriere energetiche di attivazione associate alle molecole di TAG libere nel liquido aumenta la difficoltà nel trovare il corretto allineamento e, di conseguenza, l'ottenimento di nuclei di cristalli stabili [5]. La cristallizzazione avviene secondo due meccanismi consecutivi: nucleazione (generazione di nuovi cristalli) e accrescimento (aumento della massa dei cristalli esistenti).

2.2 Nucleazione

La nucleazione può essere omogenea o eterogenea.

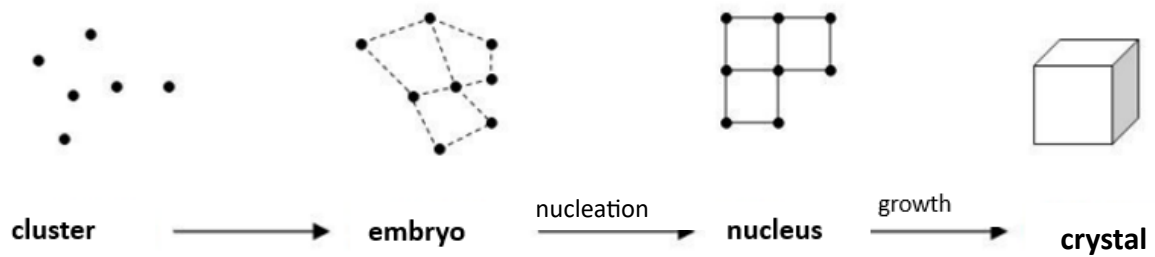


Fig.2.1 Caso di nucleazione omogenea primaria.

Il meccanismo descritto precedentemente è quello di nucleazione primaria omogenea, strettamente correlato alla sovrasaturazione o sottoraffreddamento. In fase di nucleazione omogenea, gli aggregati di atomi o molecole presenti all'interno di un liquido sottoraffreddato collidono e si uniscono tra di loro, aumentando progressivamente la dimensione dell'aggregato fino al raggiungimento del raggio critico r_c , oppure possono dividersi in aggregati più piccoli. Una volta raggiunto il valore di raggio critico, l'aggregato diventa stabile e forma un nucleo cristallino che inizia ad accrescersi. Nella nucleazione omogenea la variazione di energia libera di Gibbs riportata in **Fig. 2.2.** deve essere negativa per far avvenire questo processo spontaneamente.

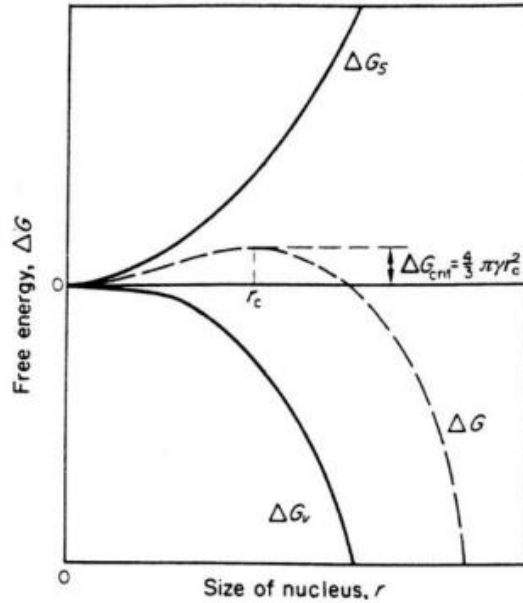


Fig.2.2 Variazione di energia libera associata alla nucleazione [7].

L'energia libera di Gibbs è data dalla somma tra l'energia libera di volume ΔG_v , che è negativa in quanto in fase di trasformazione da liquido a solido viene rilasciata, e l'energia libera di superficie ΔG_s , positiva, dal momento che in fase di nucleazione viene assorbita. La combinazione dei due termini di energia libera permette di calcolare l'energia totale associata alla formazione del nucleo di un cristallo, quantificabile mediante l'equazione:

$$\Delta G = \Delta G_v + \Delta G_s = \Delta g_v \frac{4}{3} \pi r_c^3 + \Delta g_s 4\pi r_c^2 \quad (2.2)$$

In cui Δg_v è l'energia libera per unità di volume, $\frac{4}{3} \pi r_c^3$ il volume dell'aggregato, Δg_s l'energia libera per unità di superficie e $4\pi r_c^2$ la superficie dell'aggregato.

Dall'analisi del grafico riportato in Fig. 2.2 è possibile affermare che esiste un valore minimo di raggio al di sotto del quale l'embrione precedentemente formatosi risulta instabile, tenderà a ridisciogliersi nel liquido piuttosto che accrescersi in cristallo; in particolare, al di sopra del valore critico di raggio r_c l'energia totale diminuisce, favorendo la cristallizzazione.

La velocità di nucleazione (2.3) si esprime facendo riferimento al numero dei nuclei formati per unità di volume e tempo, in funzione della costante di Boltzmann k , di un fattore pre-esponenziale A , della temperatura T e della variazione critica di energia libera ΔG_{cr} (2.4).

$$\Delta G_{cr} = \frac{16\pi\gamma^3 v^2}{3(kT \ln S)^2} \quad (2.3)$$

$$B_0 = A \exp\left(-\frac{\Delta G_{cr}}{kT}\right) \quad (2.4)$$

S è il rapporto di sovrasaturazione e v è il volume molecolare; quindi, si ha un'evidente influenza della sovrasaturazione sulla velocità di nucleazione e sulla dimensione critica che, all'aumentare della sovrasaturazione, diminuisce.

La teoria classica della nucleazione non sembra essere in grado di descrivere perfettamente il comportamento di tutti i sistemi. In particolare, la presenza di impurità riduce l'energia di attivazione correlata alla nucleazione, rendendo la formazione di nuclei un processo più termodinamicamente favorevole [2]. Questo fenomeno è chiamato nucleazione eterogenea e avviene a sovrasaturazioni inferiori rispetto a quella omogenea. Può verificarsi per adsorbimento non orientato o per epitassia [1].

Un'espressione comune per esprimere la velocità di nucleazione secondaria B (2.5) include molti parametri empirici [1]:

$$B = k_b M_T^j N^k \Delta C^b \quad (2.5)$$

Quest'ultima avviene in presenza di altri cristalli e può avvenire anche quando il sottoraffreddamento è inferiore rispetto alla nucleazione primaria.

2.3 Accrescimento

Quando i nuclei con un valore di raggio superiore rispetto al valore critico si formano in una soluzione sovrasatura o in un liquido sottoraffreddato, questi iniziano a crescere.

La crescita dei cristalli può essere spiegata attraverso teorie diverse che tengono in considerazione il mantenimento della forma del cristallo in fase di crescita. Le prime teorie associano la crescita ad un processo di diffusione controllato, legata soltanto alla differenza di concentrazione di soluto tra il bulk e la superficie del cristallo. Teorie più moderne, invece, considerano la crescita come somma di due passaggi, il trasferimento di massa e una reazione superficiale di primo ordine. Questa teoria reazione-diffusione introduce la formazione di uno strato di adsorbimento di molecole di soluto vicino alla superficie del cristallo. Le molecole che provengono dal bulk per diffusione vengono prima incluse in questo strato, poi migrano al suo interno per raggiungere siti energeticamente favorevoli sulla superficie del cristallo, in cui vengono inglobate attraverso la reazione superficiale. Il profilo di concentrazione tra il bulk e la superficie del cristallo è riportato nella Fig. 2.3, in cui sono evidenziate le forze spingenti della concentrazione.

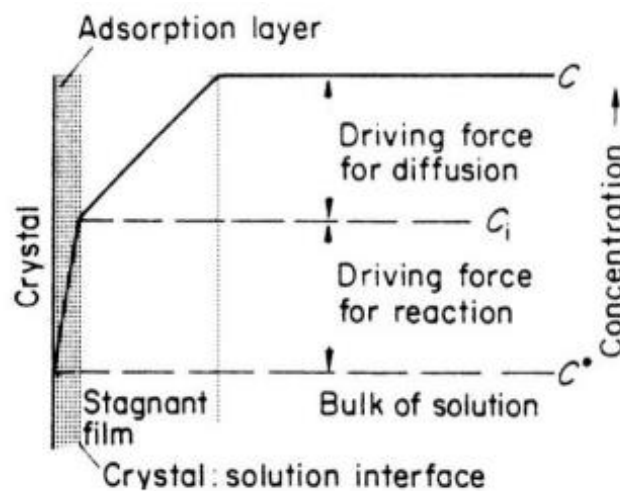


Fig.2.3 Profilo di concentrazione vicino alla superficie del cristallo [7].

Questi due passaggi possono essere descritti da un'equazione relativa allo stadio diffusivo (2.6) e da un'equazione relativa allo stadio di reazione superficiale (2.7) [7].

$$\frac{dm}{dt} = k_d A (C - C_i) \quad (2.6)$$

$$\frac{dm}{dt} = k_r A (C - C_{eq}) \quad (2.7)$$

La prima equazione (2.6) rappresenta la velocità di trasferimento di massa per diffusione, in funzione del coefficiente di trasferimento di massa k_d , dell'area superficiale A e della differenza tra la concentrazione al bulk C e quella all'interfaccia tra lo strato di adsorbimento e il film stagnante, C_i . La seconda equazione (2.7) rappresenta la velocità di reazione superficiale del primo ordine, in cui k_r è la velocità di reazione superficiale costante e C_{eq} è la concentrazione di saturazione.

Per ottenere un'espressione complessiva del trasferimento di massa per la crescita che non sia funzione della concentrazione C_i incognita, è possibile combinare le equazioni ottenendo (2.8):

$$\frac{dm}{dt} = k_G A (C - C_{eq})^g \quad (2.8)$$

In cui K_G è un coefficiente cinetico complessivo di crescita dei cristalli, la resistenza complessiva $1/K_G$ può essere vista come la somma della resistenza di diffusione $1/k_d$ e della resistenza di reazione superficiale $1/k_r$. Se $k_r \gg k_d$ la diffusione risulta essere lo stadio controllante il processo di crescita, se $k_d \gg k_r$ la reazione superficiale risulta essere lo stadio controllante il processo di crescita. L'esponente g è l'ordine complessivo del processo di crescita dei cristalli, se $g=1$ la concentrazione incognita C_i può essere eliminata dalle equazioni dei due passaggi precedenti per dare (2.9):

$$\frac{dm}{dt} = k_G A (C - C_{eq}) \quad (2.9)$$

2.4 Proprietà dei cristalli

2.4.1 Morfologia

La morfologia di un cristallo è determinata dalla simmetria della struttura cristallina interna e dalla velocità relativa di crescita delle facce. Il primo fattore si basa sulla simmetria dei gruppi di punti della forma cristallina, mentre il secondo è basato sull'energetica dell'attaccamento di molecole o ioni alle superfici cristalline [1]. È possibile definire la morfologia cinetica e quella di equilibrio. La morfologia cinetica è la forma che si sviluppa in fase di crescita del cristallo. La morfologia di equilibrio, invece, è la forma che si sviluppa quando il sistema raggiunge l'equilibrio ed in particolare è correlata al raggiungimento della minima energia superficiale libera dei cristalli [1]. La morfologia di un cristallo può essere influenzata da una serie di parametri quali, la sovrasaturazione, la temperatura, il solvente, la presenza di additivi o impurità.

2.4.2 Cristalli liquidi

I cristalli liquidi sono uno stato della materia intermedio tra quello di un solido cristallino e quello di un liquido isotropo. Le proprietà meccaniche che li caratterizzano sono in parte uguali a quelle di un liquido: l'elevata fluidità, l'incapacità di sopportare lo sforzo di taglio, la formazione e la coalescenza di goccioline. Allo stesso tempo risultano simili ad un solido cristallino dal momento che presentano anisotropia nelle loro proprietà ottiche, elettriche e magnetiche. La storia dei cristalli liquidi venne fatta iniziare ad opera di Reinitzer nel 1888, con la scoperta del fenomeno di "doppia fusione" negli esteri di colesterolo. In particolare, Reinitzer tentò di determinarne l'intervallo di fusione, ma sottoponendole a riscaldamento queste sostanze si accorse della presenza di quello che in apparenza sembrava essere un fenomeno di duplice fusione, dallo stato solido i cristalli passavano, a 145.5°C, ad uno stato liquido viscoso e opaco e, solo in seguito, ad una seconda temperatura di 178.5°C, si otteneva un liquido trasparente. Fra i due punti di fusione si notava la presenza di colori iridescenti bluastri e di chiari fenomeni di birifrangenza. Questo peculiare "comportamento cromatico" era già stato notato da Planar in Russia, da Raymann a Parigi, da Heintz studiando la stearina e da Lobisch che aveva notato la fluorescenza blu violacea della colesterilamina. Un anno dopo fu Lehmann a coniare per primo la definizione di "cristalli liquidi" per descrivere questo nuovo stato intermedio della materia. La proprietà per eccellenza di un cristallo liquido è la sua anisotropia. Composti organici possono formare dei cristalli liquidi; tali molecole organiche possono essere di diversa natura chimica, come acidi, composti azotati, esteri di saccarosio o esteri del colesterolo. Un ampio elenco è fornito da Kast (1969). Il ruolo della geometria molecolare nei cristalli liquidi è stato discusso da Gray (1962). Nelle molecole che formano fasi di cristalli liquidi si possono individuare alcune caratteristiche strutturali che possono essere riassunte come segue: (a) le molecole sono allungate; la cristallinità liquida è più probabile che si verifichi se le molecole hanno segmenti piatti, ad esempio anelli benzenici; (b) una rete abbastanza rigida contenente doppi legami definisce l'asse lungo della molecola; (c) è importante nella molecola l'esistenza di forti dipoli e gruppi facilmente polarizzabili; (d) i gruppi attaccati alle estremità delle molecole sono generalmente di minore importanza.[8] Per descrivere una fase liquido cristallina si utilizza il termine *mesofase* e per indicare un componente di tale fase, invece, il termine *mesogeno*. Negli anni seguenti furono scoperti nuovi composti liquido cristallini che possedevano un numero sempre maggiore di transizioni mesofasiche, in modo da poter elaborare le prime teorie di relazione struttura-proprietà. [9] Le mesofasi liquido-cristalline sono presenti in modo crescente in molti ambiti sia teorici che tecnologici: dai diagrammi di fase ai termometri, dalle membrane cellulari ai farmaci, dalle vernici agli schemi della telefonia.

2.4.3 Cristalli liquidi termotropici

Le mesofasi ottenute riscaldando un solido cristallino o raffreddando un liquido isotropo sono dette termotropiche, in quanto la transizione di fase è indotta dalla temperatura. Quando un normale cristallo ordinato viene riscaldato, il moto termico delle molecole all'interno del suo reticolo aumenta finché le vibrazioni divengono così intense da distruggerne la precedente disposizione, dando così luogo ad una fase completamente disordinata. La temperatura a cui questo fenomeno avviene è la temperatura di fusione, mentre il calore necessario a rompere il reticolo è il calore latente di fusione. Nei cristalli liquidi termotropici questo processo di fusione avviene attraverso una o più fasi intermedie, dando origine quindi ad ulteriori passaggi di fase, caratterizzati, come la normale fusione/solidificazione, da una precisa temperatura, da calore latente non nullo e da una variazione di densità. In genere le temperature di transizione rispettivamente al margine inferiore e superiore dell'intervallo di esistenza di mesofasi liquido cristalline, possono essere definite in modo più specifico "temperatura di fusione" (T_M) e "temperatura di isotropizzazione" (T_I). Le fasi termotropiche si dividono a livello fenomenologico in due categorie:

- enantiotropiche, se la transizione di fase avviene sia raffreddando che scaldando il campione;
- monotropiche, nel caso in cui questa avvenga in una sola direzione, o in raffreddamento o in riscaldamento.

Inoltre, il diverso comportamento di un sistema lungo un percorso (termodinamico in questo caso) in due sensi distinti prende in letteratura scientifica il nome di isteresi. Fino ad alcuni decenni fa si conoscevano solamente sistemi costituiti da molecole organiche a forma di bastoncino (cristalli liquidi calamitici), negli ultimi decenni sono state sintetizzate anche numerose molecole a forma di disco (cristalli liquidi discotici) e, più recentemente, a forma di banana (cristalli liquidi a banana).

2.4.4 Descrizione delle mesofasi

Si distinguono diverse categorie di fasi liquido cristalline, le fasi *nematiche*, le fasi *smettiche* e fasi *chirali*.

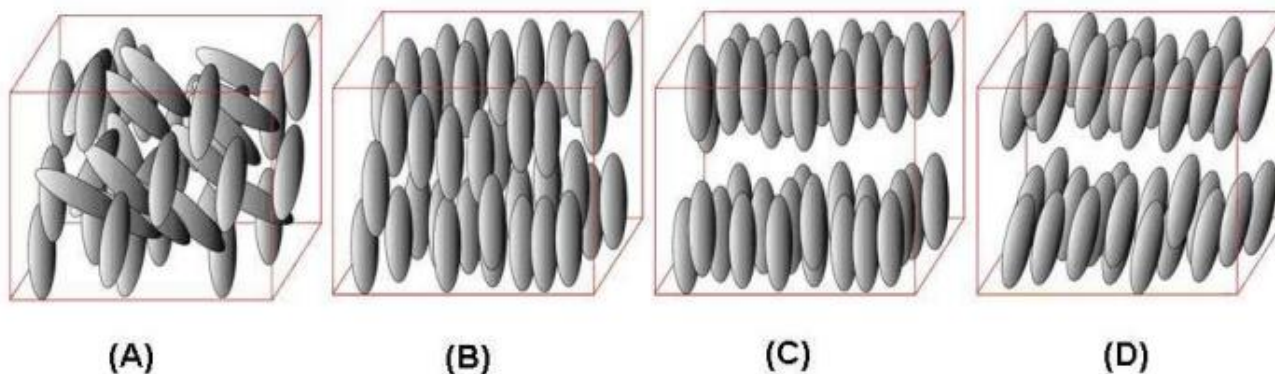


Fig. 2.4. Principali tipi di mesofasi liquido cristalline termotropiche di un mesogeno molecolare calamitico “standard”, ordinate da sinistra a destra in funzione del crescente ordine al loro interno (temperatura decrescente): (A) fase liquida isotropa (I), (B) fase nematica (N), (C) fase smettica A (SmA) e (D) fase smettica C (SmC). (Figura presa da <http://www.chim.it/sites/default/files/cns/pdf/2010-3.pdf>)

Fase liquida isotropa:

È indicata convenzionalmente con la lettera I. In questa fase, i centri di gravità delle molecole sono distribuiti casualmente e le orientazioni delle molecole sono anch’ esse totalmente casuali (**Fig. 2.4 A**). Ne consegue che tutte le proprietà macroscopiche, come la permeabilità magnetica, la permeabilità dielettrica, la conducibilità elettrica, sono isotrope. Il sistema si comporta, perciò, come un comune fluido isotropo.

Fasi nematiche:

Sono i cristalli liquidi più diffusi. Generalmente si trovano indicati con la lettera N. Nematico viene dal greco *νημα* (“filo”), osservando al microscopio ottico uno strato sottile di queste sostanze, sono state notate strisce parallele simili a filamenti. In questa mesofase le molecole allungate tendono ad allinearsi mediamente lungo una direzione preferenziale, manifestando un ordine di orientazione a lungo raggio, ma non posizionale (**Fig. 2.4 B**). La simmetria della mesofase è uniassiale, la natura della fase non cambia ruotando attorno a quest’ultimo. La direzione preferenziale non è costante all’interno del campione ad eccezione del caso in cui si sia in presenza di perturbazioni esterne, come campi elettromagnetici o particolari condizioni di superficie. In assenza di questi “agenti orientanti”, la direzione preferenziale varia con continuità in modo da mantenere localmente una simmetria uniassiale ma dal punto di vista macroscopico si ha una sostanziale isotropia. Nella fase nematica le molecole mostrano di regola una discreta mobilità intramolecolare e una certa dinamicità conformazionale. I moti diffusivi traslazionali sono simili a quelli presenti nella fase liquida isotropa. Una delle conseguenze dirette di questa elevata mobilità è la bassa viscosità della fase nematica,

molto simile a quella presente nei liquidi isotropi, anche se essa è anisotropa per effetto dell'ordine di orientazione. Alcune eccezioni sono state osservate recentemente per fasi nematiche formate da sistemi molecolari non calamitici.

Fasi smettiche:

Il nome deriva dal greco *σμηκτικός* ("sapone"), ciò è riconducibile al fatto che i detergenti sono esempi di questa categoria di cristalli liquidi. In queste fasi le molecole sono allineate le une rispetto alle altre come nella fase nematica, ma anche disposte in strati paralleli che scorrono uno sull'altro. Quindi, oltre ad un ordine di orientazione sono caratterizzati anche un ordine di posizione, dal momento che nella direzione perpendicolare ai piani compare una distribuzione regolare e periodica dei centri di massa delle molecole. È una fase più ordinata rispetto alla nematica, stabile a temperature più basse, altamente viscosa nonostante una certa fluidità dovuta allo scivolamento dei piani gli uni sugli altri. Questo tipo di fase presenta un alto grado di polimorfismo, perché nonostante un ordine maggiore, all'interno dei piani le molecole possono orientarsi in modi diversi creando una grande varietà di mesofasi, indicate con la sigla Sm seguita da una lettera dell'alfabeto, che individua la sottocategoria di fase smettica. Queste mesofasi sono caratterizzate con lo studio del comportamento polimorfico, da informazioni ottenibili dalla miscibilità fra le fasi in sistemi binari, dalle immagini ottenute al microscopio ottico e dal comportamento termico. È possibile suddividere le mesofasi smettiche sulla base della presenza o meno dell'ordine di posizione nei diversi piani. Le mesofasi smettiche più fluide, più comuni e meglio caratterizzate, sono quelle che non hanno ordine di posizione nei piani e sono dette A e C [10] (**Fig. 2.4 C e Fig. 2.4 D**).

Nella fase smettica A (SmA) la direzione preferenziale è perpendicolare al piano smettico, non si ha alcun ordine di posizione negli strati, in cui le molecole sono parallele e in grado di ruotare intorno al proprio asse (**Fig.2.4. C**). La fase è uniassiale, dal momento che le due direzioni perpendicolari a quella della direzione preferenziale risultano del tutto equivalenti; sia per quanto riguarda le proprietà elettro-ottiche sia per quelle meccaniche. In alcune SmA lo spessore dei piani è più piccolo rispetto alla lunghezza massima dei mesogeni. Meno frequente è il caso in cui lo spessore fra i due strati superi la lunghezza della molecola, questo accade quando le molecole hanno gruppi fortemente polari posti lateralmente, tali da indurre la disposizione antiparallela dei mesogeni, minimizzando le repulsioni intermolecolari.

La fase smettica C (SmC) è caratterizzata dalla presenza di un angolo di inclinazione tra il direttore locale, all'interno dei piani smettici, e la normale ai piani stessi, ciò la rende biassiale e monoclinica (**Fig.2.4 D**). Anche se il movimento delle molecole fra piani è simile alla fase smettica A, la rotazione intorno all'asse di simmetria principale della molecola è più impedita. L'angolo di inclinazione dipende dalla temperatura e tende a zero in prossimità della transizione SmC-SmA.

Inoltre, si hanno delle mesofasi smettiche con un ordine di posizione nei piani smettici. Tra queste vi sono sia fasi che presentano un'orientazione molecolare media perpendicolare ai piani, sia fasi in cui i mesogeni sono inclinati rispetto alla normale dei piani smettici. Nel caso in cui le molecole si impacchettano in modo compatto, assumono una struttura esagonale all'interno dei piani creando la fase smettica B (SmB), di cui si hanno due varianti: con ordine a lungo raggio, quasi cristallina (SmL) o con ordine a corto raggio costituendo una "fase esatica" (SmB esatica). Nel caso di strutture inclinate, con un ordine di posizione nei piani, è possibile individuare alcune varianti inclinate della SmB esatica

(I, F e M) e varianti della SmB cristallina (G e J), nella SmG si ha un ordine tridimensionale a corto raggio. Un caso più complesso è costituito dalla SmE, in cui si ha una disposizione degli assi corti a lisca di pesce, a formare una mesofase biassiale. Altre due possibili strutture inclinate sono la fase smettica H la fase smettica K, che si differenziano per l'inclinazione dell'orientazione molecolare media. Quindi, le mesofasi smettiche più comuni sono la SmA e la SmC, a cui si affiancano varianti con un ordine nei piani, la SmB e i suoi derivati (I, F, J, G e M), fino alle fasi E, H e K, che somigliano a veri e propri cristalli per il loro marcato ordine di posizione.

Fasi liquido cristalline chirali:

Ad eccezione dei nematici colesterici, dei quali fa parte il primo cristallo liquido termotropico scoperto da Reinitzer, gli effetti della chiralità nei cristalli liquidi sono stati studiati negli ultimi anni subendo uno sviluppo tumultuoso; infatti, la chiralità conferisce ai materiali proprietà fisiche particolari di grande interesse tecnologico [11]. L'introduzione di centri chirali nelle molecole mesogene può generare fasi chirali (purché non si usino miscele raceme), ma esistono anche fasi chirali formate da mesogeni achirali. La formazione di queste fasi può essere associata all'aggiunta di una limitata quantità di agente dopante chirale a mesogeni achirali. Un esempio è la fase colesterica indotta (N^*) utilizzata per molti scopi applicativi. In questo caso, la chiralità non è più a livello nanometrico, molecolare, ma al livello di dominio (gruppo di molecole in un intervallo di pochi micron) e si esplica in genere con la formazione di sovrastrutture elicoidali. Si possono distinguere le fasi chirali, semplici varianti delle corrispondenti achirali (N^* e la SmA^*); le fasi a cui la chiralità conferisce varianti nuove e articolate (SmC^* e le sue sottofasi); le fasi di mesogeni a banana, con la chiralità di tipo conformazionale e le fasi frustrate, che nascono dalla competizione tra la tendenza a formare una sovrastruttura elicoidale e la necessità termodinamica di riempire lo spazio in modo isotropo.

2.4.5 Spettroscopia Raman

La spettroscopia Raman rileva i tipi di molecole chimiche e organiche e le loro strutture fisiche [12]; è una tecnica che si basa sulla diffusione anelastica della luce monocromatica ed è inclusa nella categoria delle spettroscopie vibrazionali. L'effetto Raman è un processo di scattering anelastico durante il quale, l'energia cinetica posseduta dai fotoni della luce monocromatica non si conserva una volta avvenuta l'interazione con il campione. I fotoni vengono dispersi quando un'intensa sorgente di luce monocromatica, in particolare un raggio laser, irradia un campione e, come risultato di questa applicazione, la frazione maggiore di luce diffusa è quella alla stessa lunghezza d'onda della luce laser. Questa diffusione elastica è nota come diffusione di Rayleigh. Si verificano molte meno collisioni anelastiche tra il campione e i fotoni incidenti, legate all'effetto di scattering Raman (**Fig. 2.5**). Se una molecola guadagna energia durante lo scattering Raman, i fotoni dispersi si sposteranno su una lunghezza d'onda maggiore e daranno linee di Stokes; tuttavia, se perde energia, possono passare a lunghezze d'onda più corte e dare linee anti-Stokes, come mostrato in **Fig. 2.5** [13].

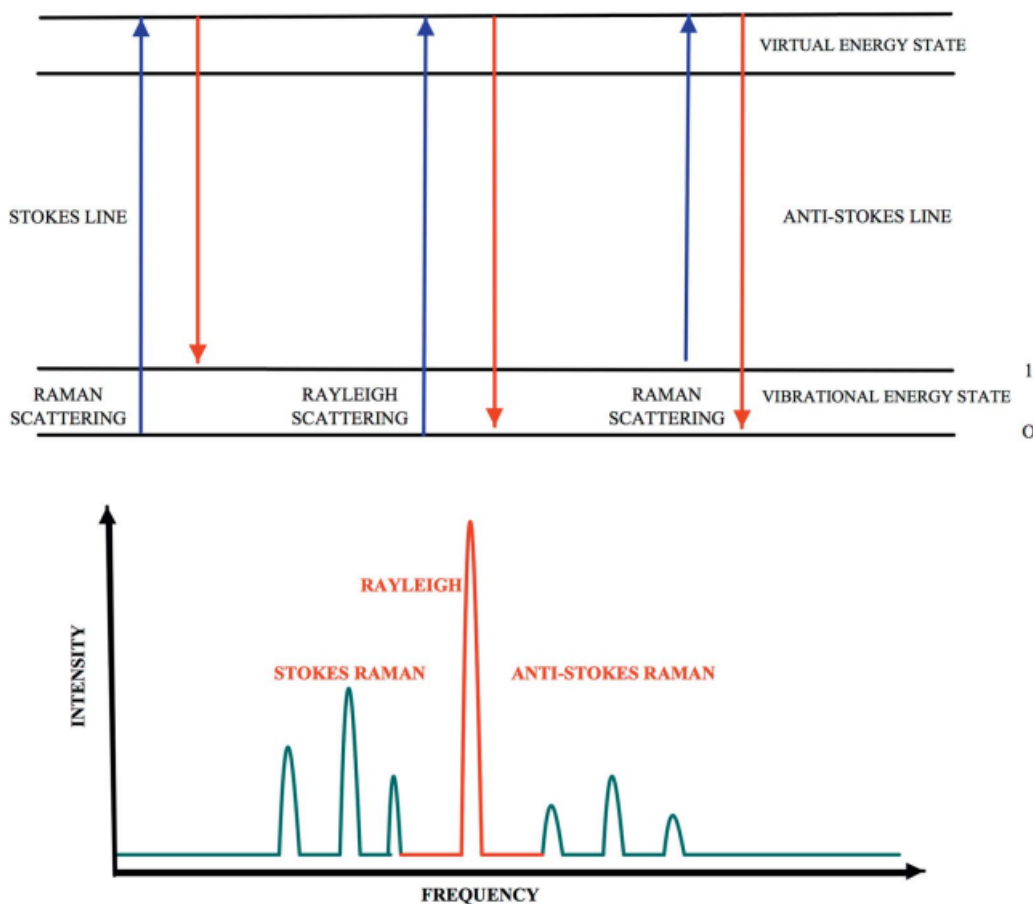


Fig.2.5 Diagramma dei livelli energetici dello scattering Rayleigh e Raman [13].

Il Raman shift è misurato in numeri d'onda, con unità di misura pari all'inverso di una lunghezza e costituiscono lo spettro Raman.

La relazione tra lunghezza d'onda spettrale e il numero d'onda di shift nello spettro Raman è la seguente (2.14):

$$\Delta\omega = \frac{1}{\lambda_0} - \frac{1}{\lambda_1} \quad (2.10)$$

dove $\Delta\omega$ è lo spostamento Raman espresso in numero d'onda, λ_0 è la lunghezza d'onda di eccitazione e λ_1 è la lunghezza d'onda Raman.

La quantità di vibrazioni normali, le masse atomiche, le disposizioni geometriche degli atomi all'interno molecola, le forze dei legami chimici tra gli atomi, formano lo spettro vibrazionale o il *finger print* di ciascuna molecola. Il termine *finger print* è giustificato dal fatto che due campioni o composti non possono avere lo stesso spettro in termini di frequenza, intensità di picchi e spalle [14]. La spettroscopia Raman può esaminare le vibrazioni molecolari che causano cambiamenti nella loro polarizzabilità, α . I fotoni luminosi monocromatici (con frequenza ν_0 e energia $h\nu_0$) interagiscono con gli elettroni della molecola e il campo elettrico E , e inducono un momento di dipolo elettrico che ha l'effetto di deformare le molecole, che iniziano a vibrare con una frequenza ν_m . La simmetria di una molecola è anche un requisito importante, poiché i tratti simmetrici sono più intensi negli spettri Raman che negli spettri infrarossi. Gruppi funzionali come C-X (X = F, Cl, Br o I), C-NO₂, C-S, S-S, C=C, C=N, mostrano maggiori variazioni di polarizzabilità e danno forti segnali Raman [15]. Ogni banda in uno spettro Raman corrisponde ad un Raman shift che si verifica a causa dell'energia della luce incidente, sono specifiche di legami chimici e/o gruppi funzionali della molecola.

2.4.6 Calorimetria a scansione differenziale (DSC)

La calorimetria differenziale a scansione è una tecnica analitica impiegata per caratterizzare materiali polimerici, prodotti alimentari e farmaceutici o macromolecole biologiche, dal momento che è in grado di fornire un'ampia gamma di informazioni; inoltre, la misura sul campione di interesse può essere svolta in maniera molto semplice. Un calorimetro DSC misura i flussi di calore associati alle transizioni termiche che si verificano in un campione in condizioni dinamiche, quando questo è riscaldato/raffreddato o in condizioni isoterme, quando è mantenuto a temperatura costante in maniera controllata. Ciò permette all'utilizzatore di determinare a che temperatura o in che intervallo di temperature avvengono eventuali transizioni quali, i processi di fusione o di cristallizzazione nel campione, misurando in maniera quantitativa le energie a esse associate [16].

La calorimetria DSC presenta il vantaggio di utilizzare piccole quantità di campione (pochi mg), è inoltre una tecnica tendenzialmente non distruttiva per cui, può essere utilizzata per determinare la reversibilità di un dato fenomeno a seguito di cicli termici successivi, a patto di non superare la soglia di degradazione termica del campione in esame.

Le analisi DSC svolte in condizioni isoterme permettono di effettuare test di stabilità termica o termo-ossidativa, si possono studiare cinetiche di cristallizzazione e cinetiche di transizione di fase, in genere di polimerizzazione o cinetiche di fenomeni che non comportano una variazione di massa del campione in esame. Con la calorimetria DSC in condizioni dinamiche, si è in grado di determinare una serie di variabili quali la temperatura di transizione vetrosa (T_g), la temperatura di fusione (T_M), la temperatura di cristallizzazione (T_c), l'entalpia di fusione (ΔH_M) e di cristallizzazione (ΔH_c), il grado di cristallinità (X_c) nel caso di polimeri semicristallini, il polimorfismo, le transizioni solido-solido, il comportamento di fase nel caso di polimeri liquido-cristallini e la temperatura di denaturazione delle proteine. I dati ottenuti in condizioni dinamiche sono influenzati dalla cinetica dei processi analizzati; quindi, più è elevata la velocità di scansione, più ci si discosta dalle condizioni di equilibrio termodinamico.

La temperatura di fusione (T_M) di un polimero semicristallino corrisponde al passaggio di stato della fase cristallina alla fase liquido viscosa che avviene in un certo intervallo di temperatura, dal momento che i polimeri non sono monodispersi ma presentano sempre una distribuzione dei pesi molecolari. I difetti presenti lungo la catena contribuiscono ad allargare l'intervallo di fusione dei polimeri. Con T_M di un materiale polimerico si indica il valore di picco della endoterma di fusione, come mostrato in **Fig. 2.6** Tale parametro è influenzato sia dalle condizioni in cui si sono formati i cristalli che dalla velocità di riscaldamento.

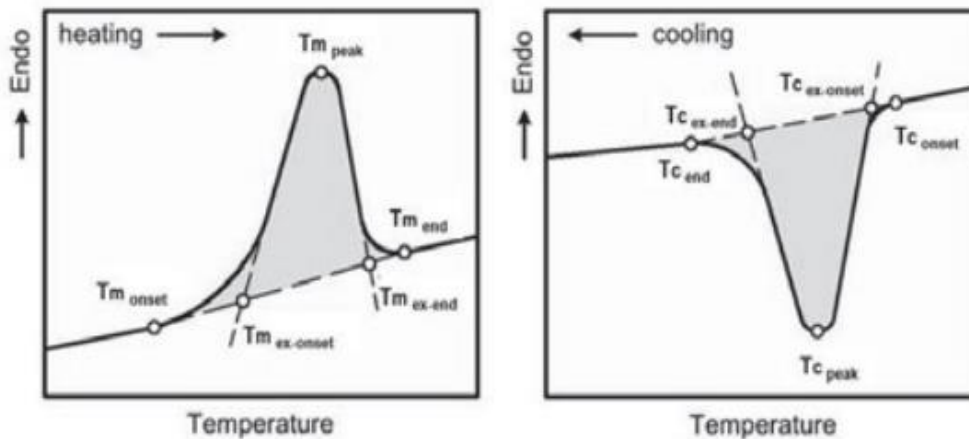


Fig. 2.6 Tipiche curve DSC di un polimero in corrispondenza della fusione e della cristallizzazione [16].

Un analogo ragionamento può essere fatto per la fase di cristallizzazione. La temperatura di cristallizzazione (T_c) che si misura sulla curva DSC è quella che corrisponde al valore del punto di minimo dell'esoterma nell'intervallo di temperature a cui si ha la cristallizzazione.

L'entalpia di un materiale, invece, è l'energia che è necessario fornire o sottrarre per ottenere il passaggio da una temperatura ad un'altra. Nello specifico, l'entalpia di fusione (ΔH_m) è il calore necessario per portare una mole di sostanza dallo stato cristallino allo stato liquido o liquido-viscoso nel caso dei polimeri, e l'entalpia di cristallizzazione (ΔH_c) è il calore sviluppato nel passaggio opposto.

Mediante il calorimetro DSC da una semplice misura di area del picco di fusione o di cristallizzazione, o dalla transizione solido-solido, solido-cristallo liquido, cristallo liquido-liquido isotropo, si può misurare il calore latente associato alla transizione.

2.4.7 Diffrazione di raggi X (XRD)

Si tratta di una tecnica analitica di scattering elastico che utilizza un fascio di raggi X. È molto accurata e permette di determinare la struttura cristallina, la cristallinità, le dimensioni delle celle unitarie e i parametri reticolari di un campione con struttura ordinata. Normalmente, i raggi X vengono inviati attraverso il campione, in modalità di trasmissione, e ogni atomo che si trova all'interno del fascio lo diffrange. Così, viene misurata la struttura media di tutte le particelle illuminate nel materiale sfuso.. I fotoni dei raggi X entrano in collisione con gli elettroni degli atomi del campione interagendo con essi. Nello specifico, se l'angolo θ formato tra il raggio e il piano degli atomi soddisfa una specifica equazione definita legge di Bragg, il fascio viene diffratto con lo stesso angolo θ interferendo in maniera costruttiva con le riflessioni provenienti dai vari piani atomici.

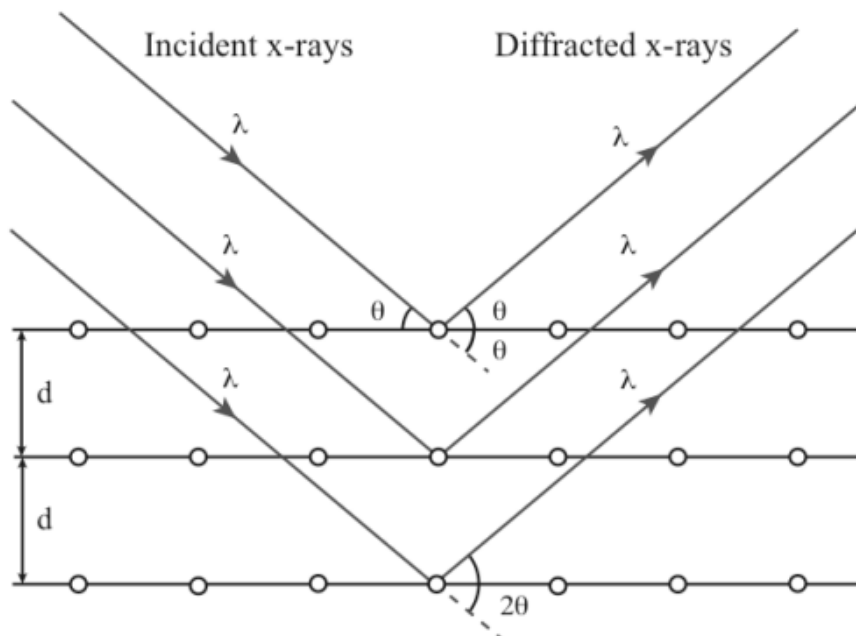


Fig.2.7 Esempio di raggi X incidenti e diffratti.

La legge di Bragg definisce le condizioni per ottenere la più forte interferenza costruttiva tra due onde riflesse:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (2.11)$$

In cui n è l'ordine del modello di diffrazione, λ è la lunghezza dell'onda incidente, d è la distanza tra i piani cristallini e θ è l'angolo di diffrazione. Dalla misura dei raggi X diffusi in funzione dell'angolo di diffrazione, si ottiene un diffrattogramma correlato in modo univoco alla struttura cristallina tridimensionale del campione grazie al quale è possibile determinarne le diverse proprietà.

Il campione può essere un cristallo singolo o una polvere di materiale cristallino. Più nello specifico, a partire da un pattern di diffrazione a raggi X, dalla posizione dei picchi si possono acquisire informazioni sulla simmetria e sulla dimensione della cella unitaria, sulla fase, sull'espansione o sulla contrazione del reticolo; invece, l'intensità dei picchi permette di effettuare un'analisi quantitativa, fornendo dettagli relativi alla distribuzione degli atomi nella cella unitaria, all'occupazione e quindi al

disordine. Infine, le forme e le larghezze dei picchi sono rappresentative della sollecitazione, della deformazione e della struttura del campione e si utilizzano per identificare eventuali difetti strutturali.

Lo scattering di raggi X ad angolo piccolo (SAXS) è accurato, non distruttivo e di solito non richiede di preparazione del campione. Le aree di applicazione sono molto ampie e includono materiali biologici, polimeri, colloidali, sostanze chimiche, nanocompositi, metalli, minerali, alimenti e farmaceutici e possono essere trovati nella ricerca e nel controllo della qualità.

Le dimensioni delle particelle o delle strutture che possono essere risolte vanno da 1 a 100 nm in un tipico set-up, ma possono essere estese su entrambi i lati misurando ad angoli più piccoli (Ultra Small-Angle X-Ray Scattering, USAXS) o più grandi (Wide-Angle X-Ray Scattering, WAXS). [17].

2.4.8 Microscopia a luce polarizzata

Una tecnica che si utilizza per studiare i cristalli liquidi prevede di osservare i campioni con il microscopio ottico a luce polarizzata. In questo strumento la luce che investe il campione viene polarizzata da un polarizzatore P, raccolta dall'obiettivo e fatta passare attraverso un secondo polarizzatore A, detto analizzatore. Il piatto del microscopio su cui si posiziona il campione può ruotare liberamente attorno all'asse ottico del microscopio. In genere i due polarizzatori sono incrociati, gli assi di polarizzazione sono disposti a 90° . In queste condizioni, se il campione osservato è un liquido isotropo, la polarizzazione incidente si mantiene durante l'attraversamento del campione e la luce trasmessa dal liquido viene bloccata dall'analizzatore incrociato. Quindi, il campione appare scuro. Se il campione è un cristallo liquido anisotropo, invece, la radiazione polarizzata nel piano contenente il direttore viaggia con una velocità di fase diversa da quella polarizzata, in direzione perpendicolare al direttore. Di conseguenza, la luce che esce dal campione non è polarizzata lungo P e una parte di essa attraversa A. L'intensità della radiazione trasmessa dall'analizzatore dipende dall'angolo che si forma tra l'asse del polarizzatore P e la direzione di orientamento del campione e si annulla quando il piano di polarizzazione contiene il direttore o quando è perpendicolare a tale direzione.

L'osservazione dell'immagine di un campione di cristallo liquido al microscopio ottico a luce polarizzata permette, quindi, di ottenere informazioni molto dettagliate circa l'orientazione locale del campione. I cristalli liquidi presentano spesso discontinuità nell'orientazione molecolare sotto forma di difetti; in tali zone l'orientamento preferenziale subisce variazioni discontinue facilmente evidenziabili con questa tecnica. Ad ogni fase di liquido cristallino (smettici, nematici, chirali) si attribuiscono particolari tipi di difetti. Quindi, l'analisi dei cristalli liquidi con il microscopio ottico a luce polarizzata permette di individuare la tipologia di cristallo liquido.

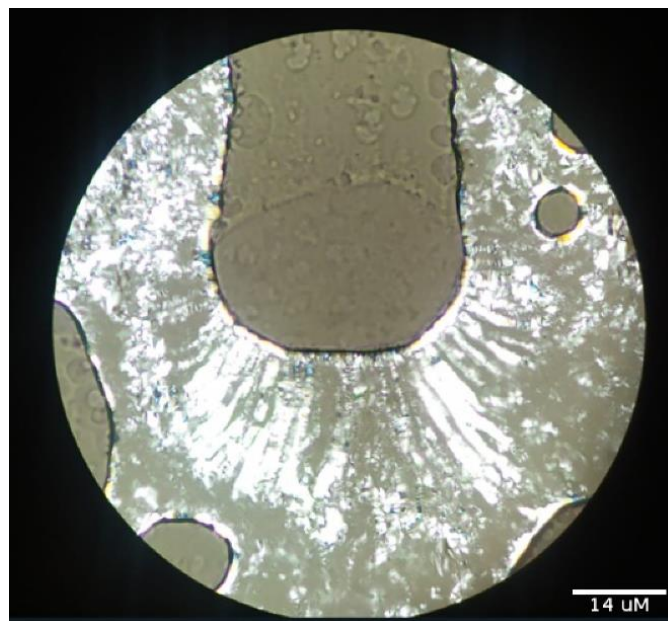


Fig.2.8 Microscopia a luce polarizzata del SE puro in prossimità di un difetto (bolla d'aria), obiettivo 40x.

3 Materiali e metodi

Nel seguente capitolo sono riportati il composto e il solvente utilizzati per gli esperimenti con le specifiche apparecchiature. Inoltre, si descrive la metodologia utilizzata per ciascun esperimento.

3.1 Materiali

L'estere di saccarosio (C-1805, 67022311) è stato fornito dalla Mitsubishi-Kagaku Food Corporation. Il numero 18 corrisponde alla lunghezza della catena del principale acido grasso esterificato con saccarosio, cioè acido stearico, e il numero 05 all'equilibrio idrofilo-lipofilo (HLB.) Il campione risulta per il 30% monosostituito, caratterizzato cioè da monoestere, per il restante 70% invece polisostituito, caratterizzato da di-, tri- e poliesteri. A temperatura ambiente è una polvere bianca ed è stato utilizzato così come ricevuto.

Come solvente è stato utilizzato l'olio extra-vergine di oliva (EVOO-SPLI-72120) fornito da Cargill NV, Belgio. La scelta è ricaduta su quest'ultimo in quanto caratterizzato da proprietà nutrizionali positive, attribuibili al suo profilo di acidi grassi bilanciato in maniera ottimale e alla presenza di componenti polari minori con specifiche proprietà salutari (Romani et al., 2019), (Martín-Peláez et al., 2017). L'olio è liquido a temperatura ambiente e rimane tale fino almeno a 0°C, nel caso specifico è stato purificato prima dell'uso mediante un unico passaggio all'interno di una colonna di allumina basica.

3.1.1 Miscela di estere di saccarosio e olio

Nel caso specifico si è creato un sistema olio-extravergine d'oliva–estere di saccarosio (SE5) al 5% in peso di estere. Sono stati pesati 50 mg di C-1805 e 950 mg di olio EVOO., utilizzando una bilancia analitica (Mettler Toledo). La corretta quantità di campione è stata inserita all'interno di un vial in vetro di volume pari a 1 mL e mantenuto sotto agitazione magnetica per circa 10 minuti, su una piastra a temperatura ambiente per produrre una soluzione quanto più omogenea possibile. Dopo di che la miscela ottenuta è stata scaldata in maniera controllata fino a 120°C all'interno del Crystal16 impostando le opportune condizioni operative. Il Crystal16 è un sistema di 16 reattori paralleli, con cui è possibile testare un'ampia varietà di condizioni di cristallizzazione come solventi e miscele di solventi, concentrazioni di composti, profili di temperatura e determinare facilmente le curve di solubilità. Presenta funzioni di temperatura avanzate, il raffreddamento ad aria è integrato con un intervallo di temperatura esteso; in particolare, da -20°C a 150°C con tutti e quattro i reattori di blocco in parallelo. È disponibile il raffreddamento chiller, cioè il raffreddamento del refrigeratore all'interno dello stesso intervallo di temperatura sopra citato ed è caratterizzato da un'avanzata precisione della temperatura, di 0.5°C. È caratterizzato da un software all'avanguardia, flessibile, intuitivo e facile da utilizzare; con funzionalità di ricerca e analisi migliorate. Presenta un'innovativa tecnologia di trasmissività, di elevata precisione e con un migliore rilevamento delle particelle sia ad alte che basse concentrazioni. Il sistema di agitazione è sviluppato per superare eventuali problemi di attrito. [20]

3.1.2 Esteri di saccarosio

Gli esteri di saccarosio (SE) sono ampiamente utilizzati nell'industria alimentare e cosmetica e sono di grande interesse per la loro applicabilità in diversi campi farmaceutici. Si tratta di eccipienti naturali e biodegradabili, con un noto comportamento emulsionante e solubilizzante. Sono formati da materie prime naturali quali, saccarosio e acidi grassi. Dal momento che il saccarosio è caratterizzato da 8 gruppi idrossilici, è possibile produrre composti che vanno dal mono- all'otta-estere di acidi grassi del saccarosio. Gli SE commerciali comprendono miscele con gradi di esterificazione diversi, l'elevata varietà di materiali all'interno della famiglia SE si traduce in una altrettanto elevata varietà di proprietà. Grazie al loro tensioattivo e ad altre proprietà versatili, gli SE hanno molte applicazioni in diverse aree della somministrazione di farmaci e alcuni di essi sono già utilizzati nell'industria farmaceutica. Come tensioattivi, possono svolgere un ruolo nella solubilizzazione o stabilizzazione di farmaci in diverse preparazioni e possono anche essere inclusi in formulazioni per modificare la biodisponibilità dei farmaci.

Gli acidi grassi che più comunemente si utilizzano negli SE sono l'acido laurico, miristico, palmitico, stearico, oleico, beenico ed erucico riportati in **Tab. 3.1**. In base alla natura o al numero dei gruppi dell'acido grasso è possibile ottenere diversi valori di equilibrio idrofilo-lipofilo (HLB). Le proprietà degli SE sono determinate dalla natura dell'acido grasso esterificato e dal grado di esterificazione della molecola di saccarosio [18].

Tab. 3.1 Acidi grassi comunemente utilizzati negli SE commerciali [18].

Acido grasso	Numero di atomi di carbonio	Grado di insaturazione
Acido laurico	12	0
Acido miristico	14	0
Acido palmitico	16	0
Acido stearico	18	0
Acido oleico	18	1
Acido beenico	22	0
Acido erucico	22	1

L'estere di saccarosio trattato è il C-1805, 67022311, in cui il numero 18 fa riferimento alla lunghezza della catena del principale acido grasso esterificato con saccarosio, che è l'acido stearico e il numero 05 è il numero HLB. Il composto contiene il 30% di monoestere e il 70% di di-, tri- e poliesteri [19].

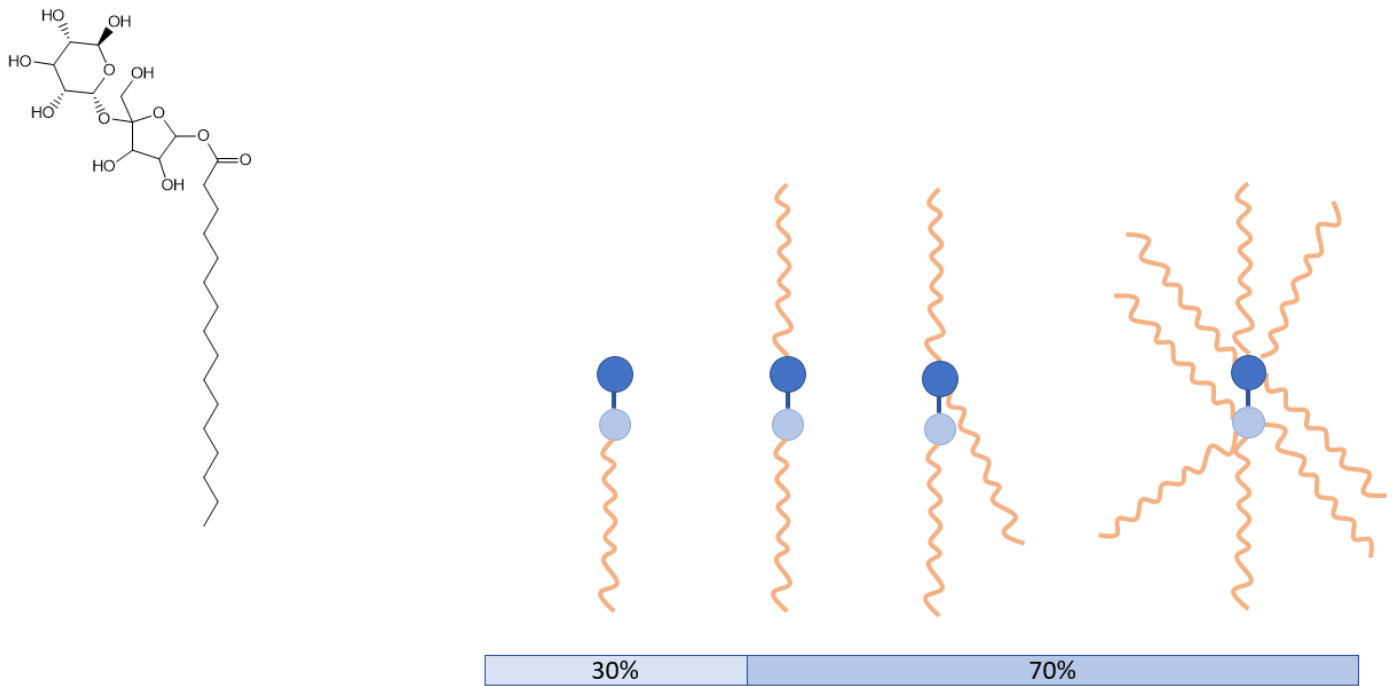


Fig. 3.1 Rappresentazione schematica della struttura chimica dell'estere di saccarosio.

HLB	Approx.5
Stearic acid	Approx.70%
Ester composition	
Mono ester	Approx.30%
Di,tri,poly ester	Approx.70%
Form	Powder

Fig.3.2 Composizione dell'estere di saccarosio, stearato di saccarosio S-570 (<https://www.mfc.co.jp/english/s570.htm>).

Tab. 3.2 Temperatura di fusione e decomposizione S-570 (<https://www.mfc.co.jp/english/s570.htm>).

2.Melting and decomposition temperatures			
Type	Melting Temp. °C		Decomposition Temp. °C
	Start point	Peak point	
B-370	53	63,79	241
S-170	51	61	260
S-270	52	61	253
S-370	51	58,69	238
S-570	50	57,65	231
S-770	49	60	233
S-970	49	56	234
S-1170	49	55	234
S-1570	49	55	234
S-1670	49	56	237

La temperatura di fusione è stata determinata mediante calorimetria a scansione differenziale a scansione a 20°C/min e la temperatura di composizione mediante termogravimetria a 20°C/min.

3.2 Apparecchiature

3.2.1 Microscopio ottico a luce polarizzata

È stata eseguita la microscopia ottica utilizzando un microscopio ottico Zeiss 415500-0001-001, caratterizzato da una testa binoculare con angolo di 30 gradi con rotazione di 360 gradi e distanza interpupillare regolabile (48 mm- 75 mm). Sono stati utilizzati tre obiettivi diversi: 10x,40x,50x la fonte di luce è l'HAL (30 W/6 V) con condensatore Abbe 0.9/1.25.

Il campione 1 è stato realizzato ponendo il C-1805 con una spatola su un vetrino. La temperatura del vetrino è stata regolata utilizzando una specifica apparecchiatura (Linkam PE120) con la quale è possibile realizzare dei cicli termici controllati. In particolare, si è effettuato un riscaldamento controllato con una velocità di 5°C/min fino al raggiungimento della temperatura di 110 °C, a tale riscaldamento è stato fatto seguire un raffreddamento; in particolare, il raggiungimento della temperatura di 25°C con una velocità di -5°C/min. Un primo cambiamento del campione si è notato ad una temperatura di circa 90°C, motivo per cui l'esperimento è stato ripetuto una seconda volta effettuando il riscaldamento in più step: con una prima rampa più veloce, ad una velocità di 10°C/min si è scaldato il campione fino al raggiungimento della temperatura di 80°C, dopo di che è stata impostata una seconda rampa di riscaldamento con una velocità minore e pari a 5°C/min fino al raggiungimento di 110°C, a seguire è stato effettuato lo step di raffreddamento.

L'esperimento è stato ripetuto effettuando un riscaldamento molto veloce e ottenendo il campione 2: con una velocità di 10°C /min fino ad una temperatura di 80°C, dopo di che è stata impostata una seconda rampa di riscaldamento con una velocità minore e pari a 5°C/min fino al raggiungimento di 120°C, temperatura mantenuta per circa 15 minuti. È stato utilizzato l'obiettivo 40x. Nel seguente esperimento non è stata posta sopra il campione alcuna slide né prima del riscaldamento né durante la fusione, in quanto nell'esperienza precedente, ponendola in fase di fusione, si osservavano dei microcristalli probabilmente a causa di una cristallizzazione dovuta alla differenza di temperatura fra la slide (fredda) e il campione (caldo).

Considerando i dati della DSC è stato svolto un altro esperimento da cui si è ottenuto il campione 3 prendendo il C-1805 puro e impostando un ciclo termico controllato con la piastra Linkam con tre rampe: una prima di riscaldamento fino al raggiungimento della temperatura di 70°C con una velocità di riscaldamento di 20°C/min, una seconda rampa di riscaldamento fino al raggiungimento della temperatura di 110°C con una velocità di riscaldamento di 5°C/min ed infine una rampa di raffreddamento controllato con una velocità di 1°C/min fino alla temperatura di 25°C. È stato utilizzato l'obiettivo 10x ed è stata posta una slide sul campione prima del riscaldamento.

È stato fatto un altro esperimento in cui si è effettuato un riscaldamento in piastra a 80°C, temperatura registrata da una sonda immersa in un becker di acqua, seguito da un rapido raffreddamento (sono stati utilizzati sia l'obiettivo 10x che 40x). In queste condizioni si è ottenuto il campione 4.

È stato effettuato un ulteriore esperimento al Linkam impostando quattro diverse rampe, in modo da ottenere il campione 5: un rapido riscaldamento fino al raggiungimento dei 70°C con una velocità di

riscaldamento di 20°C/min, un secondo riscaldamento fino ai 110°C con una velocità di riscaldamento di 10°C/min, un riscaldamento molto più controllato con una velocità di 1°C/min fino al raggiungimento dei 120°C e un'ultima rampa di rapido raffreddamento con una velocità di 20°C/min fino al raggiungimento dei 25°C. È stato utilizzato l'obiettivo 40x, il campione è stato ricoperto con una slide prima del riscaldamento.

Il campione 6 è stato realizzato utilizzando il SE5, una goccia di campione è stata posta su un vetrino con una slide sopra a temperatura ambiente. È stato utilizzato l'obiettivo 40x.

Con un ulteriore esperimento è stato ottenuto il campione 7, una goccia di SE5 è stata posta su un vetrino con slide sopra, scaldata fino a 120°C e mantenuta a quella temperatura. È stato utilizzato l'obiettivo 10x.

Il campione 8, invece, è stato ottenuto per analizzare il comportamento a caldo del SE5; è stato utilizzato il Linkam, con cui si è inizialmente scaldato il vetrino vuoto per evitare di creare uno shock termico col campione riscaldato al Crystal16. Portato a temperatura il vetrino, una goccia di campione vi è stata posta su e dall'analisi a caldo mediante il microscopio ottico sono state ottenute una serie di immagini. A questo punto è stata impostata una rampa di raffreddamento dai 120°C ai 20°C con una velocità di 10°C/min, fino ad ottenere l'oleogel. È stato utilizzato l'obiettivo 10x.

Un ulteriore esperimento è stato svolto utilizzando il sistema SE5 precedentemente creato, e mettendolo in agitazione su una piastra per garantire una migliore solubilizzazione del C-1805. In seguito a ciò, è stato svolto un primo da cui si è ottenuto il campione 9. Con un'apposita pipetta è stata presa una goccia del campione e posta su un vetrino, utilizzando l'ago di una siringa è stata fatta una bolla d'aria e dall'analisi al microscopio ottico, con obiettivo 10x, si è ottenuta una prima immagine. Il vetrino con su la goccia di campione è stato posto sul Linkam, con il quale è stato effettuato un ciclo di riscaldamento e raffreddamento controllato. In particolare, è stata impostata una prima rampa di riscaldamento fino ai 60°C con una velocità di riscaldamento di 10°C/min, seguita da una seconda rampa molto più controllata dai 60°C ai 110°C con una velocità di 5°C/min. Prima di impostare la rampa di raffreddamento è stata fatta, utilizzando l'ago di una siringa, la bolla d'aria ed è stata posta una slide al di sopra per mantenerla. Il raffreddamento è veloce, a 20°C/min la temperatura è stata fatta scendere dai 110°C ai 20°C.

È stata ripetuta l'esperienza creando la bolla d'aria e mantenendola per tutta la durata dell'esperimento, ottenendo così il campione 10. Anche questa prova è stata svolta col Linkam impostando le stesse condizioni dell'esperienza precedente: un primo riscaldamento con una velocità di 10°C/min fino ai 60°C, un secondo riscaldamento con una velocità di 5°C/min fino ai 110°C e poi un raffreddamento veloce con una velocità di 20°C/min dai 110°C fino ai 20°C. Durante il riscaldamento sono state prese delle immagini, dai 76°C ai 110°C, ogni grado. Durante il raffreddamento, invece, le immagini sono state prese ogni dieci gradi, dai 100°C ai 20°C.

3.2.2 Diffrazione di raggi X (XRD)

Lo scattering di raggi X ad angolo piccolo (SAXS) e ad angolo ampio (WAXS) permettono di studiare le caratteristiche strutturali di campioni cristallini (solidi e cristalli liquidi). La linea di luce SAXS presso il Sincrotrone di Trieste, (Italia) è stata utilizzata per misurazioni simultanee di SAXS/WAXS. Per il segnale SAXS (intervallo = $0.76 < q < 57.5 \text{ \AA}^{-1}$), è stato utilizzato un rivelatore Pilatus3 1M (Dectris, DH) mentre per la regione WAXS (intervallo = $63 < q < 163 \text{ \AA}^{-1}$) un rivelatore Pilatus 100k. L'energia del raggio era di 8 keV (1.54 \AA di lunghezza d'onda) e la calibrazione è stata eseguita con beamato d'argento (spaziatura di 58.38 \AA) per SAXS, acido p-bromobenzoico per la regione WAXS. Come portacampione è stato utilizzato un capillare di quarzo dal diametro di $1.4 \pm 0.1 \text{ mm}$ di diametro e circa 80 mm di lunghezza, che si inseriva nel DSC in linea; invece, come riferimento è stato utilizzato un capillare vuoto della stessa dimensione. I capillari sono stati riempiti con campioni fusi a $50 \text{ }^\circ\text{C}$. Dopo essere stati posizionati nel sample holder la temperatura è stata aumentata a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ e quindi i campioni sono stati raffreddati a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ e mantenuti a questa temperatura per 2 ore. Poi la temperatura è stata aumentata a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ad una velocità di $1 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$, mantenuta per 15 minuti e poi riportata a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ per almeno un'altra ora. Le immagini 2D sono state elaborate utilizzando il software SAXSDOG. I dati elaborati sono stati ulteriormente analizzati utilizzando Excel 2020 e Origin 2020. I valori dei picchi, q ($1/\text{nm}$), sono stati ottenuti con il comando Peak Analyzer con il programma Origin 2020, il valore del d-spacing è stato determinato con l'equazione di Bragg (3.1).

$$d = \frac{2\pi}{q_{max}} \quad (3.1)$$

In cui q_{max} è il segnale ad intensità maggiore.

3.2.3 Calorimetria a scansione differenziale (DSC)

I profili di cristallizzazione e fusione dei vari campioni, tra cui polvere di C-1805 e dispersione C-1805 in EVOO, sono stati studiati utilizzando un calorimetro a scansione differenziale Mettler Toledo, a flusso di calore. Nel calorimetro DSC a flusso di calore vi è una sola fornace al cui interno si trova posto un piatto in lega di rame e nichel, che fornisce o sottrae calore al campione e al riferimento. Ci sono inoltre, uno o più sensori di temperatura che rilevano la temperatura dei singoli crogioli, misurando la differenza di temperatura tra il campione e il riferimento, poi convertita in energia equivalente. [16] L'azoto è stato utilizzato come gas di spurgo. Gli strumenti sono stati calibrati con indio. I campioni sono stati pesati in piatti di alluminio, utilizzando una bilancia analitica (Mettler Toledo) e quindi sigillati ermeticamente a temperatura ambiente. Come riferimento è stata utilizzato un piatto di alluminio vuoto e sigillato. A seconda del tipo di campione sono stati applicati diversi cicli di riscaldamento e raffreddamento. Per la polvere di C-1805 sono stati pesati 3.5 mg di campione e sono stati effettuati cicli di riscaldamento a 10°C/min e raffreddamento a 10°C/min, da 25°C a 125°C per un totale di tre cicli, dai 25°C ai 250°C per un totale di due cicli e un ultimo riscaldamento fino ai 200°C. Per quanto riguarda il C-1805 in dispersione EVOO sono stati pesati 9.5 mg di campione, è stato dapprima effettuato un rapido riscaldamento con una velocità di 10°C/min fino ai 90°C, temperatura alla quale il campione è stato mantenuto per 10 minuti ottenendo un'isoterma; successivamente, è stato effettuato un raffreddamento più controllato con una velocità di 3°C/min dai 90°C ai 20°C, temperatura alla quale il campione è stato mantenuto per 5 minuti ottenendo un'isoterma. Infine, è stato effettuato un ultimo riscaldamento con una velocità di 3°C/min dai 20°C ai 90°C. I dati elaborati sono stati ulteriormente analizzati utilizzando Excel 2020 e Origin 2020.

3.2.4 Spettroscopia Raman

La spettroscopia è uno dei principali metodi sperimentali di determinazione delle frequenze di vibrazione di una molecola. Il microscopio utilizzato per la spettroscopia Raman è il LabRAM HR Evolution Raman che offre funzionalità avanzate di imaging confocale in 2D e 3D. È caratterizzato da elevate risoluzioni spaziali e spettrali, questo spettrometro consente di caratterizzare con facilità il campione in termini di cristallinità, polimorfismo, deformazione e altre analisi delle bande. La gamma di lunghezze d'onda di misurazione si estende dai 200 nm a 2100 nm. Il LabRAM HR Evolution combina un semplice accesso a frequenze molto basse fino a 5 cm^{-1} con uno spettrometro a stadio singolo ad alta produttività, utilizzando il modulo ULF. La nuova generazione di filtri notch e passa-banda consente di effettuare un'ulteriore caratterizzazione del campione in una regione spettrale raramente disponibile con altri spettrometri di base. Il ParticleFinder offre uno strumento di facile utilizzo per la localizzazione automatizzata, la caratterizzazione e l'analisi Raman delle particelle. Centinaia o migliaia di particelle possono essere rapidamente individuate e caratterizzate utilizzando le funzionalità Raman avanzate di LabRAM HR Evolution. La flessibilità di campionamento dello strumento assicura che la ricerca possa essere completamente ottimizzata. È dotato di un microscopio verticale. [21] La spettroscopia Raman è una tecnica non invasiva e non distruttiva che si basa sull'interazione radiazione-materia. In particolare, la radiazione emessa da un fascio laser interagisce con i moti roto-vibrazionali delle molecole con la conseguente riemissione di luce a lunghezze d'onda diverse da quella incidente (quindi è una tecnica di emissione). Lo spettro che si ottiene, detto spettro Raman, fornisce così una impronta digitale (finger print) del campione in esame, permettendone l'identificazione. Il composto viene eccitato a diverse lunghezze d'onda da 532 nm a 1064 nm (dal visibile all'infrarossi) mandando segnali. È stato preso un vetrino su cui è stata posta una certa quantità di C-1805 puro ed è stata effettuata una spettroscopia di tipo Raman, in particolare sono state impostate delle rampe di riscaldamento e raffreddamento utilizzando il Linkam, poiché utilizzando il software, non si era in grado di mettere a fuoco l'immagine nel momento in cui il composto iniziava a fondere (laser 633 nm). Sono stati effettuati diversi spettri con lo scopo di capire in che modo, dopo essere stato opportunamente eccitato, il composto rispondesse mandando dei segnali tradotti, appunto, dallo spettro. Utilizzando la spettroscopia di tipo Raman è possibile individuare diverse strutture cristalline di una stessa molecola: se varia lo spettro, c'è stato un cambiamento nello stato di aggregazione. La prima rampa prevede il riscaldamento del campione da 25°C a 45°C con una velocità di riscaldamento di $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, ogni 10°C è stato fatto uno spettro ed è stata catturata un'immagine. La seconda rampa prevede il riscaldamento controllato del campione da 45°C a 110°C con una velocità di riscaldamento di $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, anche in questo caso ogni 10°C è stato fatto uno spettro ed è stata catturata un'immagine. La terza rampa prevede il raffreddamento controllato del campione da 110°C a 20°C con una velocità di raffreddamento di $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$, ogni 10°C è stata catturata un'immagine; invece, sono stati catturati gli spettri a 90°C e a 70°C , poi dai 70°C in poi ogni 10°C .

4 RISULTATI

Nel seguente capitolo sono riportati i risultati ottenuti dagli esperimenti svolti.

4.1 Analisi della miscela estere di saccarosio e olio

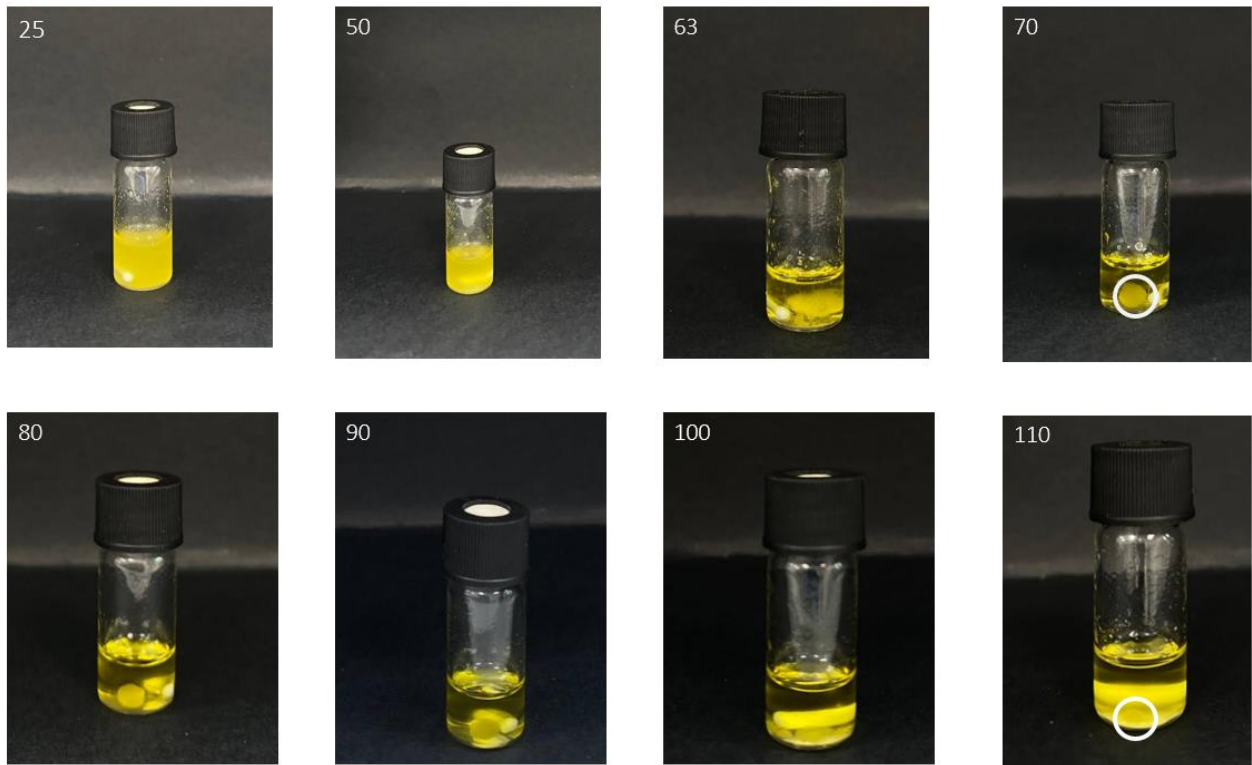


Fig.4.1 Aspetto dei recipienti di SE5 varie temperature in °C raggiunte all'interno del Crystal16.

Da un'analisi periodica del campione a diverse temperature è possibile notare che a 50°C appare torbido e opaco, a 63°C si inizia a vedere la formazione di un «aggregato», a 70°C quest'ultimo ha una forma più definita e risulta meno opaco, a 80°C la dimensione dell'«aggregato» appare decisamente ridotta, a 90°C questo risulta molto più trasparente, a 100°C appare quasi completamente solubilizzato, in particolare si nota un alone in basso; infine, a 110°C il campione ha una parvenza un po' più opaca e si notano piccolissimi aloni sul fondo. Da questa analisi è possibile dedurre che il campione è disomogeneo ed è costituito da fasi con temperature di fusione diverse.

4.2 Analisi al microscopio ottico

Dal primo esperimento svolto da cui si è ottenuto il campione 1, come descritto nel capitolo Materiali e metodi, si è notato che a 110°C il C-1805 non è sciolto, ciò è stato intuibile dal fatto che a quel valore di temperatura rimaneva del solido residuo conseguenza di uno scioglimento non del tutto avvenuto.

È stato quindi ripetuto l'esperimento e dall'analisi del campione 2 si è osservato che quest'ultimo ad occhio nudo appariva bianco opaco. Il campione si scioglieva con difficoltà, è stato infatti mantenuto ad una temperatura di 120°C per circa 15 minuti, tempo dopo cui si è notata la formazione di cristalli cromatici. Durante l'esperimento il campione non sembrava essere completamente sciolto. Il cambiamento di colore è relativo al cambiamento dello stato di aggregazione delle molecole, e delinea il passaggio da un cristallo solido ad una fase di cristallo liquido.

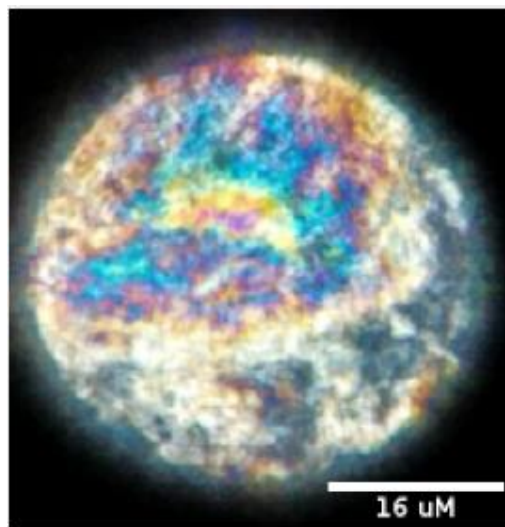


Fig. 4.2 Micrografia a luce polarizzata del C-1805 puro ad una temperatura di 120°C; obiettivo 40x.

Dall'analisi del campione 3 si è visto che intorno ai 70°C si aveva fusione. A partire dai 90°C si notava inoltre un fenomeno di birifrangenza. Tra i 50°C e i 55°C la formazione del cristallo diventava più evidente. In questo caso non sono stati osservati gli effetti cromatici riscontrati nell'esperienza precedente. Questo dipende dal fatto che il campione 2 e il campione 3 sono stati ottenuti in condizioni operative differenti, descritte rispettivamente nella sezione materiali e metodi; in particolare, nel campione 2 a 120°C è stato possibile individuare una fase di cristallo liquido delineata dal tipico comportamento cromatico [22], invece il campione 3 a 110°C appariva non del tutto sciolto e costituito da fasi cristalline diverse.

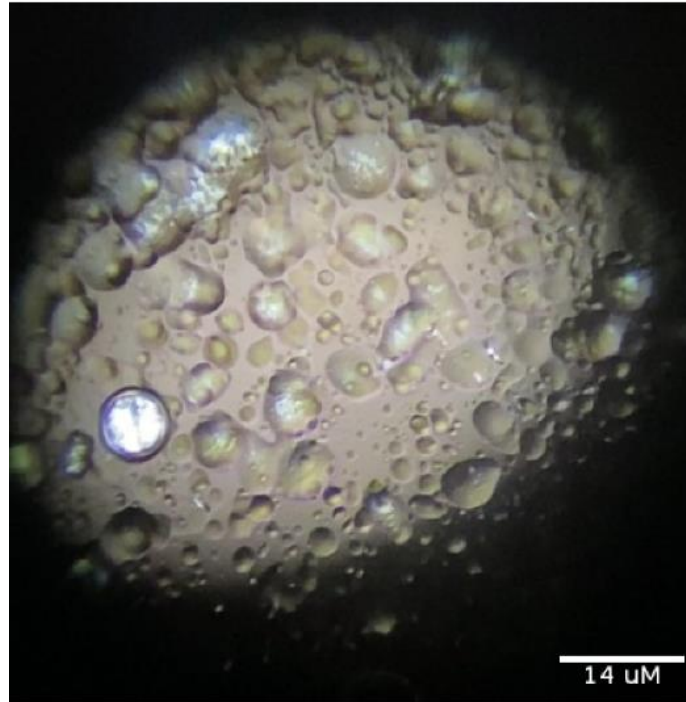


Fig. 4.3 Micrografia a luce polarizzata del C-1805 puro ad una temperatura di 110°C; obiettivo 10x.

Dall'analisi del campione 4, ottenuto come precedentemente descritto in materiali e metodi, è stato apprezzato il fenomeno ottico della birifrangenza; si nota la presenza di macchie gialle: ci si è chiesti se si trattasse di caramellizzazione ma in realtà non lo era perché ruotando e cambiando angolazione, si è notato che cambiava il modo in cui il cristallo rifrangeva la luce. È stato possibile notare come in prossimità di un difetto (quale può essere una bolla d'aria) il C-1805 ricristallizzava. Con tempi di raffreddamento maggiori, la struttura cristallina ordinata aveva più tempo di formarsi e la varietà di fasi presenti risultava più apprezzabile.

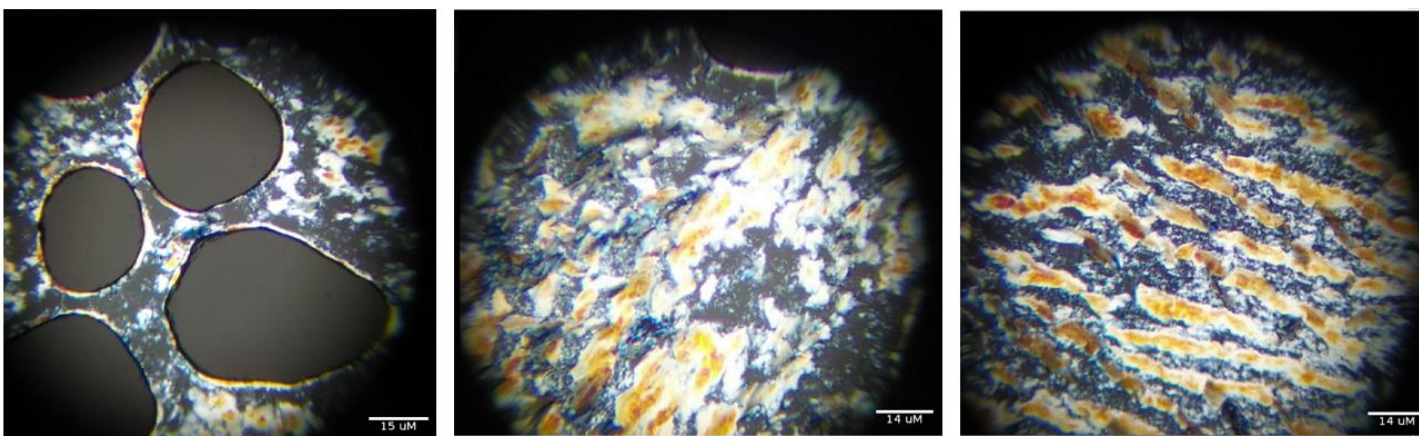


Fig. 4.4 Micrografia a luce polarizzata del C-1805 puro ad una temperatura di 80°C; obiettivo 10x.

Analizzando il campione 5, come descritto in materiali e metodi, si nota che a 70°C non sono stati rilevati grandi cambiamenti, ma intorno ai 76.5°C iniziava la fase di fusione. Intorno agli 80°C sono stati intravisti fenomeni di birifrangenza. Ad 85°C sono state viste delle gocce, che con l'aumentare della temperatura diventavano sempre più ampie; nello specifico, a 113°C apparivano più definite e dopo 40 minuti in cui il campione è stato mantenuto a 120°C, le gocce apparivano molto più estese. Dopo circa tre minuti in cui il C-1805 è stato mantenuto a 120°C, iniziava ad essere visibile il colore giallo apprezzato nell'esperimento precedente, dopo circa 5 minuti è stato possibile notare la comparsa di piccole strutture coniche, sferuliti che nel corso del tempo aumentavano. Dopo il raffreddamento non sono stati osservati altri fenomeni.



Fig. 4.5 Micrografia a luce polarizzata del C-1805 puro dopo 15 min a 120°C; obiettivo 10x.

Il campione 6 è stato ottenuto ponendo su un vetrino una goccia di SE5, come descritto in materiali e metodi, a temperatura ambiente. Analizzando la microstruttura del "gel", il C-1805 ha formato una struttura costituita da numerosi cristalli di diverse forme anisotropi, luminosi, polidispersi. Successivamente, il SE con un valore di HLB basso è un probabile fattore che contribuisce alla crescita di numerosi cristalli. Sebbene si siano formati più cristalli, il tipo di cristallo ha influenzato direttamente l'intrappolamento dell'olio. [23]

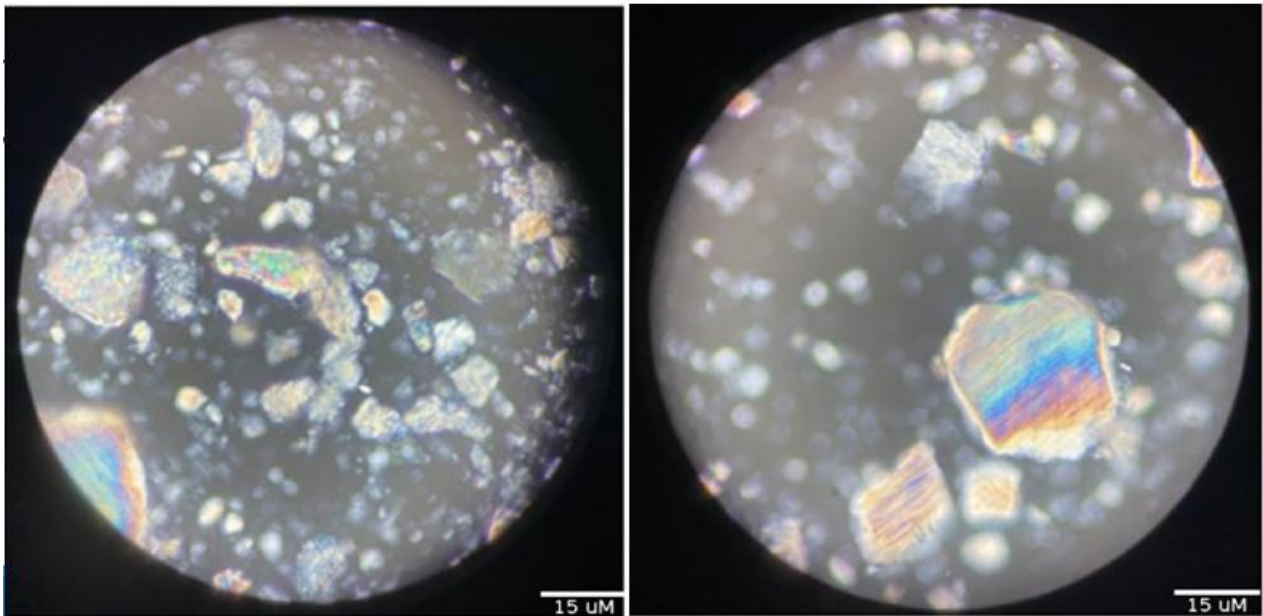


Fig. 4.6 Micrografia a luce polarizzata del SE5 a temperatura ambiente ($23 \pm 2^\circ\text{C}$); obiettivo 40x.

Nel campione 7 si è notato che scaldando fino a 120°C una goccia di SE5, e mantenendola a quella temperatura avveniva la fusione. Nello specifico, il C-1805 formava piccoli cristalli di forma allungata disposti in modo caotico. In queste condizioni il C-1805 formava una fase nematica; infatti, la fase liquido cristallina non presenta alcun ordine posizionale residuo. [22]

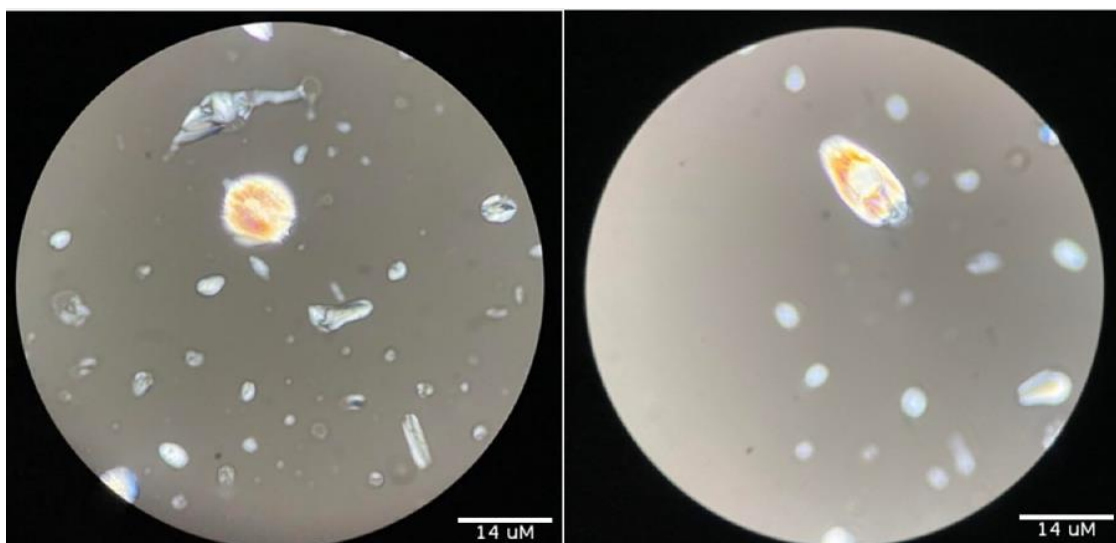


Fig. 4.7 Micrografia a luce polarizzata del SE5 mantenuto ad una temperatura di 120°C ; obiettivo 10x.

L'analisi del campione 8, ottenuto con l'esperimento descritto in materiali e metodi, ha mostrato come raffreddando molto velocemente il SE5, si ottiene un oleogel abbastanza omogeneo e compatto.

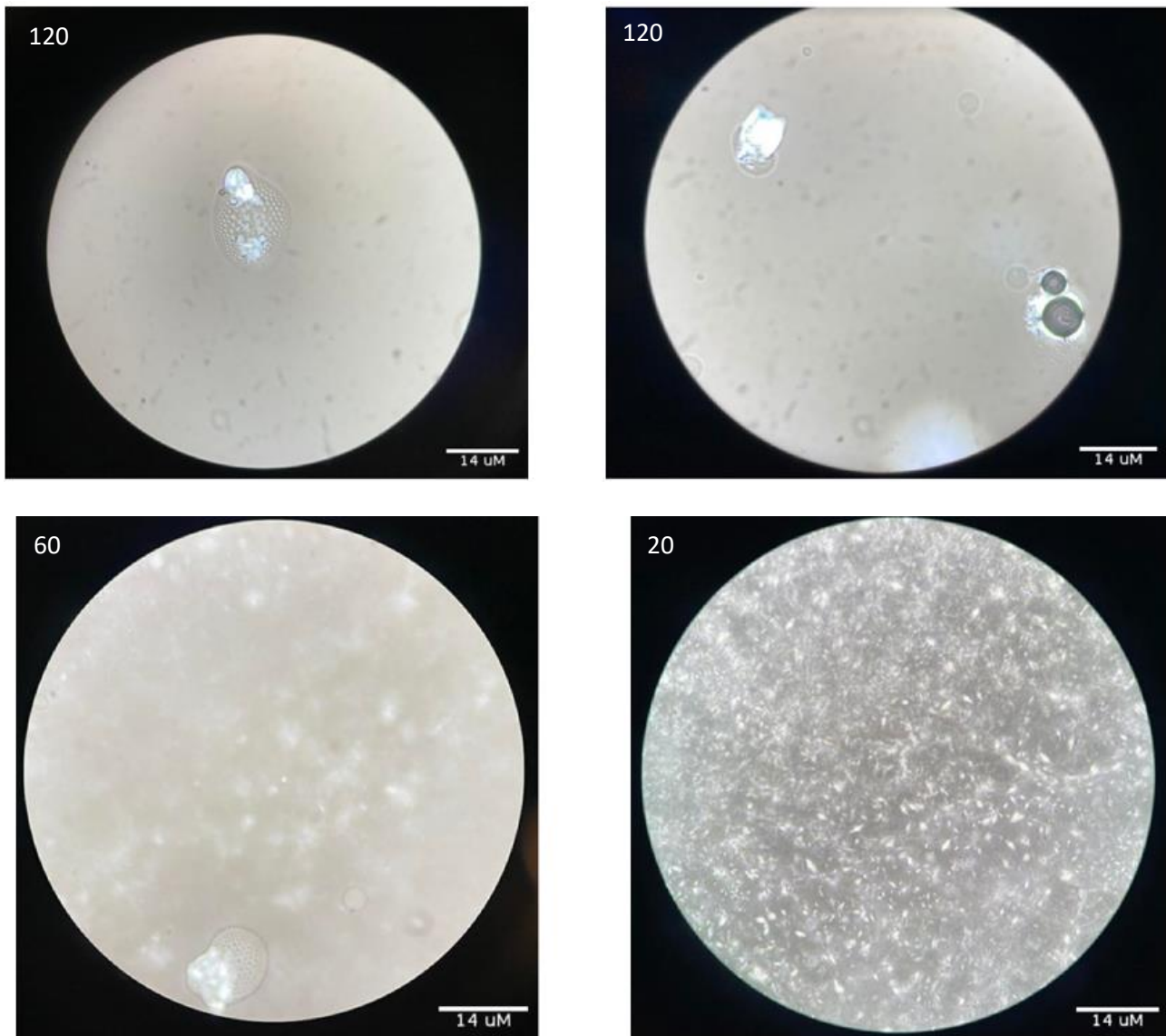


Fig. 4.8 Micrografia a luce polarizzata del SE5 a diverse temperature in °C; obiettivo 10x.

È possibile areare una miscela di tensioattivo di estere di saccarosio e olio per produrre un'oleoschiuma stabile. Inoltre, si può formare una schiuma stabile a partire da soluzioni monofasiche o dispersioni cristalline bifasiche. Il processo prevede di areare la miscela con conseguente formazione della schiuma e di sottoporre il sistema ad un rapido raffreddamento in modo da indurre la cristallizzazione del tensioattivo, che ne migliora la stabilità. [19] Per capire l'effetto stabilizzante del tensioattivo sono stati svolti altri due esperimenti con cui sono stati ottenuti rispettivamente il campione 9 e il campione 10. Come opportunamente citato nella sezione relativa ai materiali e metodi, l'oleogel precedentemente fatto è stato sottoposto ad agitazione magnetica per garantire una migliore solubilizzazione del C-1805.

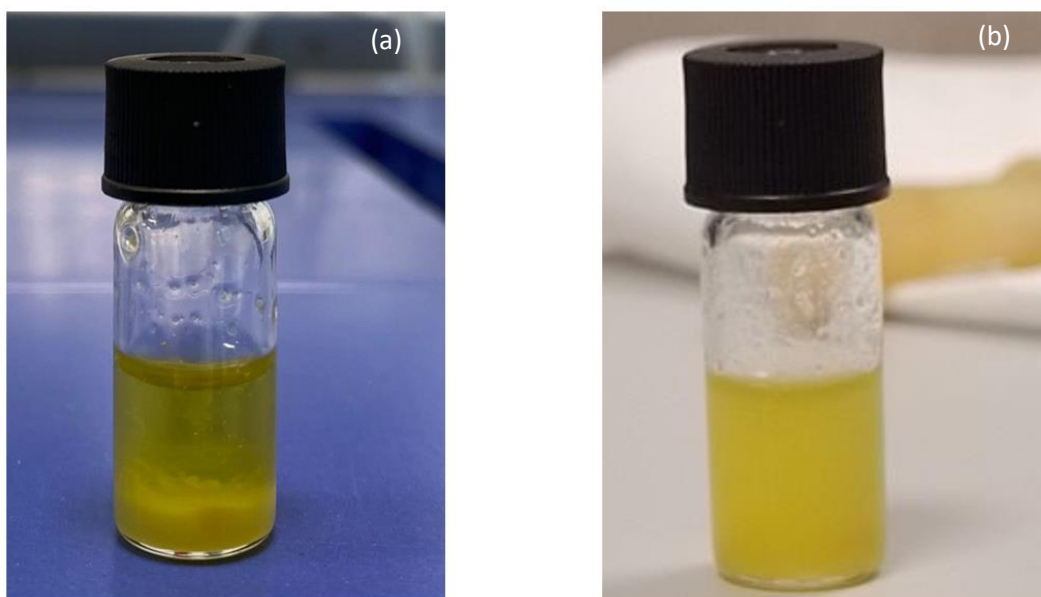


Fig.4.9 Aspetto dei recipienti di SE5 prima (a) e dopo (b) l'agitazione magnetica.

Dall'analisi al microscopio ottico a luce polarizzata del campione 9 si notava, in fase di riscaldamento, già a temperature inferiori ai 60°C un cambiamento dello stato di aggregazione delle molecole che si traduceva in un cambiamento di fase evidente dagli effetti cromatici presenti. In fase di raffreddamento, invece, intorno ai 60°C è stato possibile notare la formazione di un piccolo cristallo all'interfaccia della bolla d'aria che incrementa la stabilità del sistema.

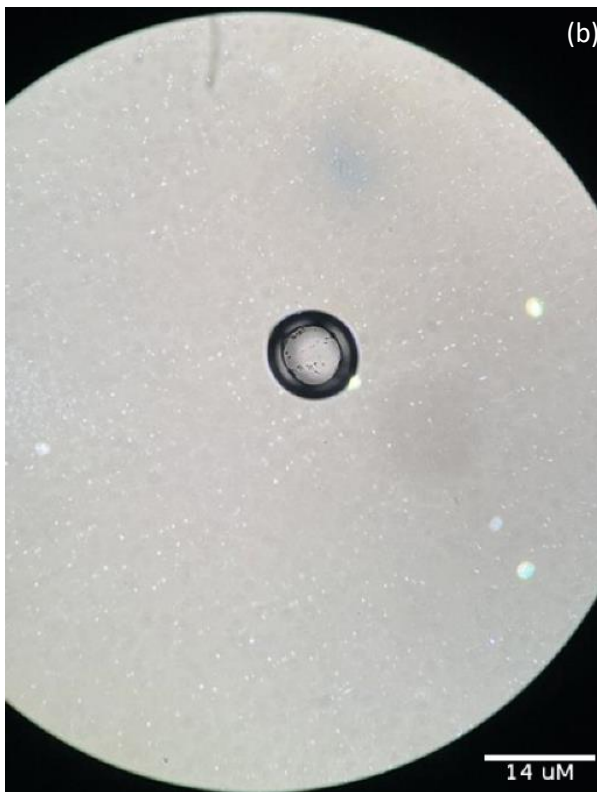
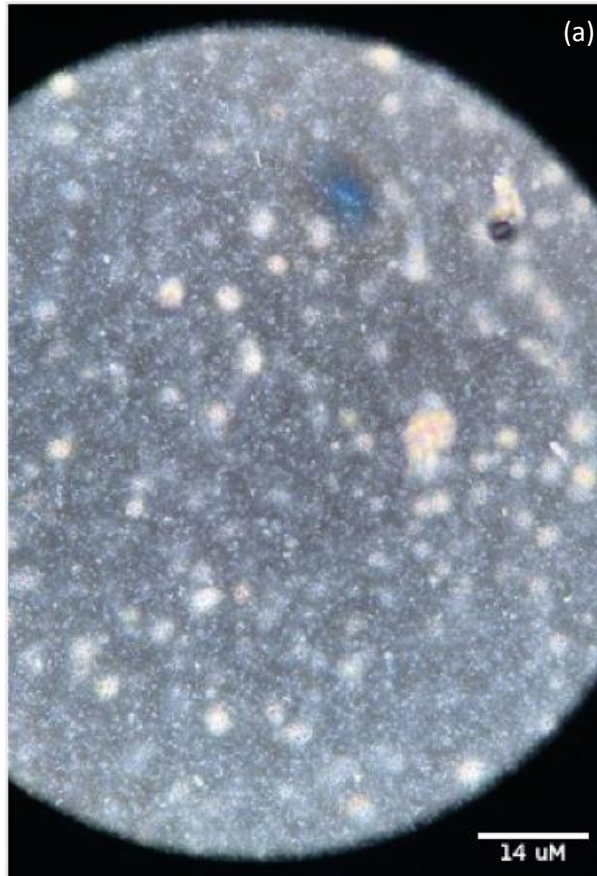
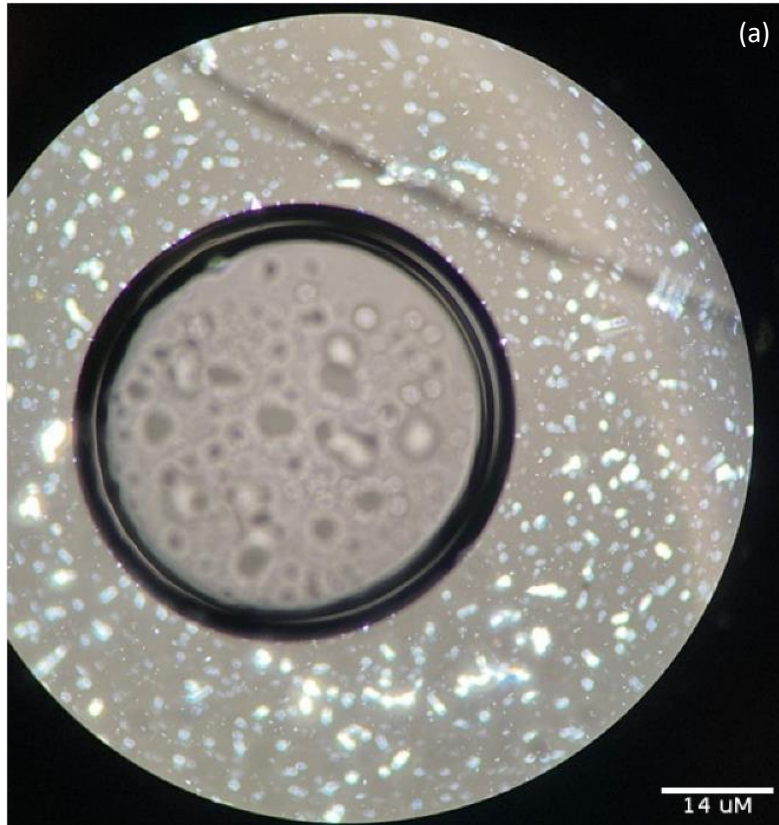
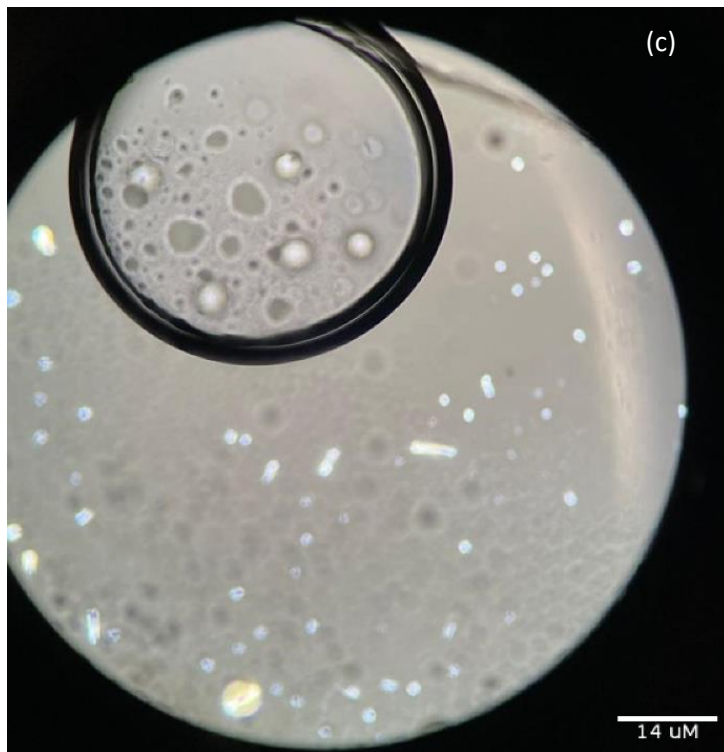
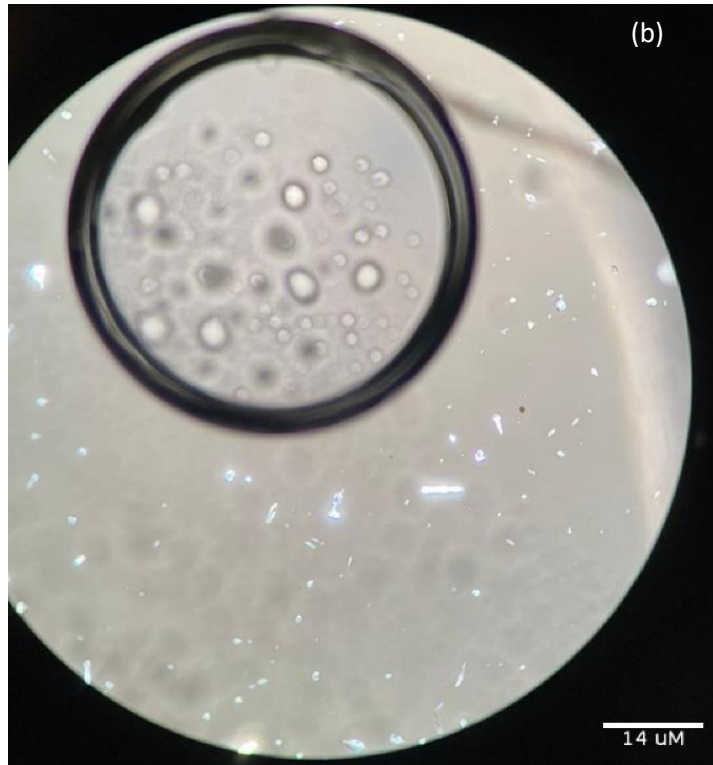


Fig. 4.10 Micrografia a luce polarizzata di SE5 in fase di riscaldamento (a) a 67.8°C e in fase di raffreddamento (b) a 20°C; obiettivo 10x.

Nel secondo esperimento, in cui si è ottenuto il campione 10, è stato possibile fare le stesse considerazioni. La fusione iniziava intorno ai 76°C, temperatura alla quale si notavano effetti cromatici riconducibili alla formazione di una fase di liquido cristallino termotropico; inoltre, a 108°C il campione non appariva del tutto sciolto, il C-1805 aveva formato piccoli cristalli allungati e polidispersi che sono caratteristici della fase liquida anisotropa. In fase di raffreddamento, la cristallizzazione iniziava intorno ai 50°C, alla temperatura di 20°C è stato possibile notare la presenza di piccoli cristalli dispersi in maniera abbastanza omogenea e compatta.





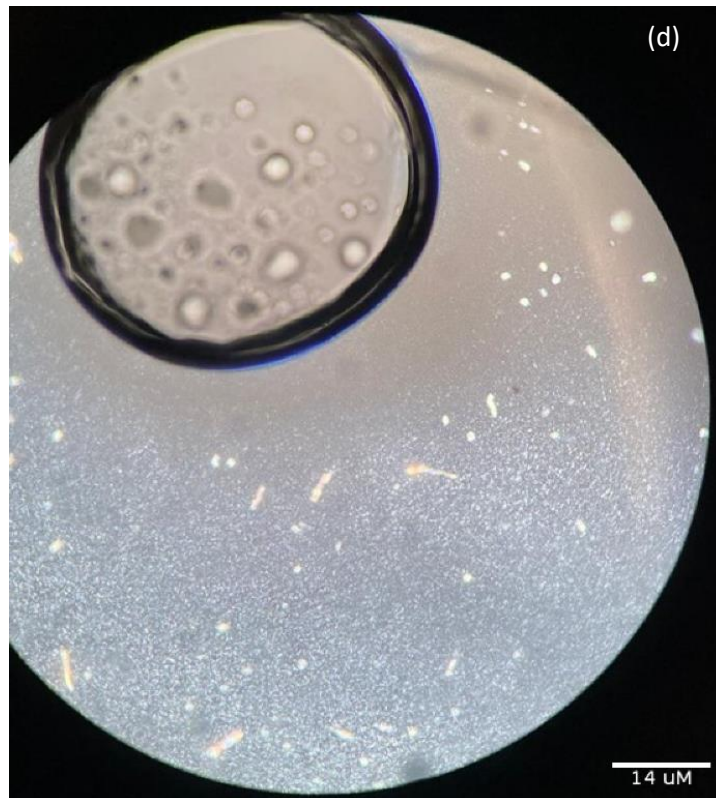


Fig. 4.11 Micrografia a luce polarizzata di SE5 in fase di riscaldamento a 76°C (a) e 108°C (b) e in fase di raffreddamento a 50°C (c) e 20°C (d); obiettivo 10x.

È stato visto che questo composto è un ottimo stabilizzante di interfacce, e quindi questi esperimenti sono stati fatti per vedere come le varie fasi di SE interagiscono con un'interfaccia aria-liquido e capire se c'è un'interazione durante la cristallizzazione. L'effetto di polarizzazione sull'interfaccia della bolla metteva in evidenza tale interazione ma in fase di ricristallizzazione, in quanto in fase di riscaldamento questo effetto di polarizzazione non era visibile.

4.3 Analisi di diffrazione di raggi X (XRD)

Il comportamento polimorfico dei cristalli di estere di saccarosio (SE) è stato determinato mediante diffrazione di raggi X, l'identificazione delle forme polimorfiche è stata effettuata dalle d-spacing caratteristiche dei cristalli. [24]

4.3.1 Polimorfismo del SE puro

I modelli di diffrazione dei raggi X delle polveri SE riportano che quel poliestere di saccarosio si impacca in maniera simile alla fase α e β' dei TAG. [23]

Dai risultati ottenuti con l'analisi SAXS del campione di SE puro si nota che al di sopra dei 70°C/ 80°C rimane soltanto una fase termotropica di liquido cristallino, caratterizzata da due picchi a valori di q diversi che variano insieme, linearmente, all'aumentare della temperatura. Il passaggio dalla fase di solido cristallino alla fase termotropica di liquido cristallino prevede il passaggio per una fase intermedia. La presenza di una fase intermedia è associata alla comparsa di picchi a valori di q intermedi, che poi spariscono. L'esperimento è stato svolto impostando un ciclo di riscaldamento e raffreddamento molto controllato, con una velocità di 1°C/min. Questa condizione permette di vedere in maniera più precisa le diverse temperature di fusione e cristallizzazione.

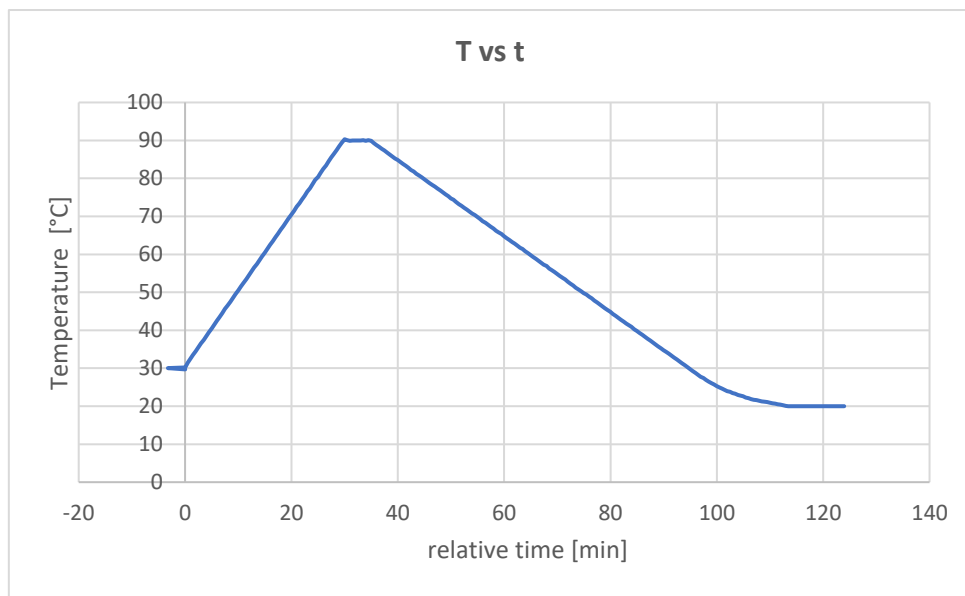


Fig. 4.12 Andamento della temperatura in funzione del tempo.

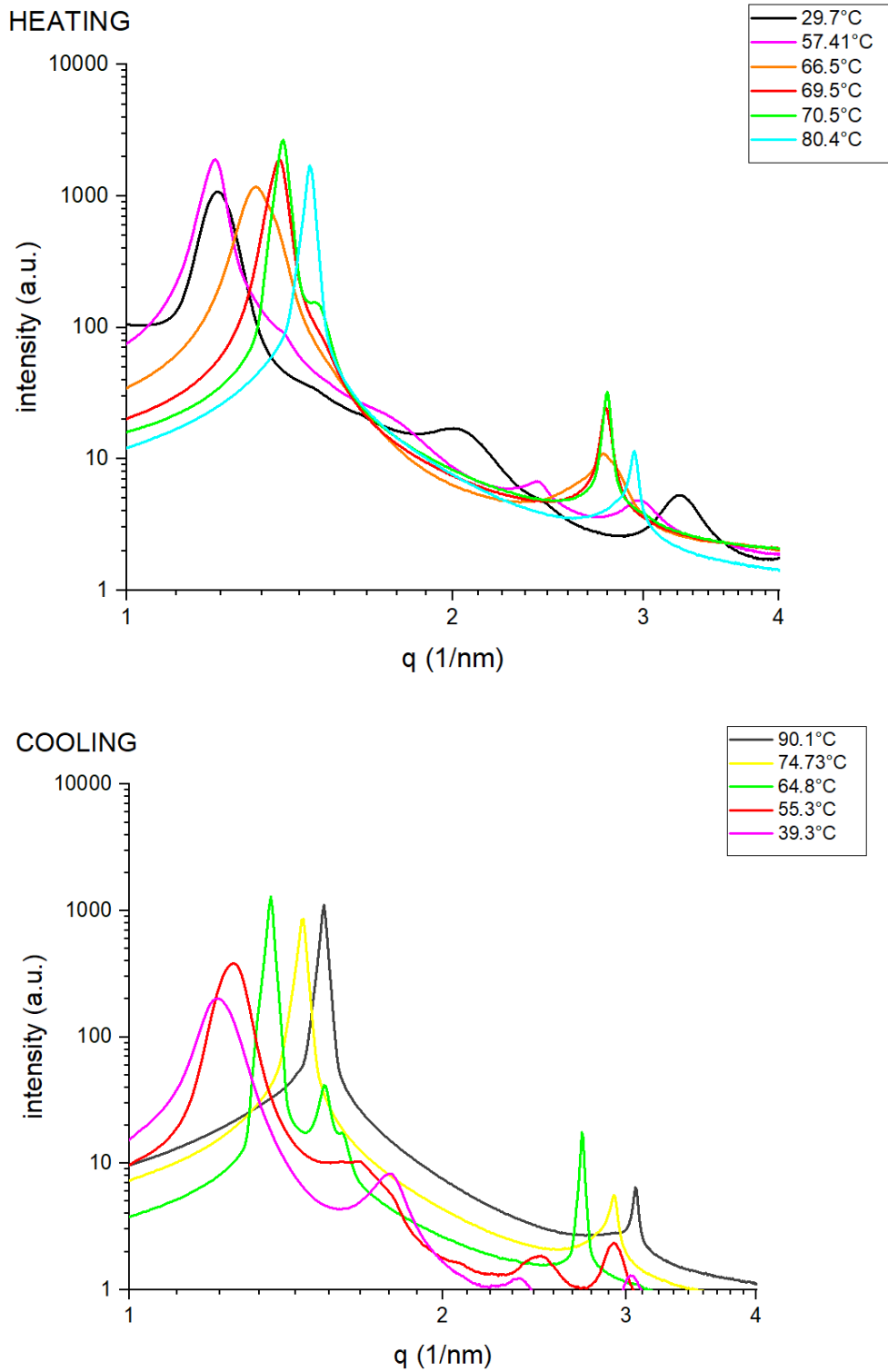


Fig. 4.13 Modelli di raggi X del SE puro a diverse temperature, rispettivamente in fase di riscaldamento e raffreddamento; regione SAXS.

A 29.7°C si hanno tre picchi, a $q_1 = 1.21$ 1/nm a $q_2 = 2.04$ 1/nm e $q_3 = 3.23$ 1/nm che corrispondono alla fase di solido cristallino.

Tab 4.1 Valori di q e d-spacing della fase 1

29.7°C	fase 1
q (1/nm)	1.21
	2.04
	3.23
d (nm)	5.2
	3.08
	1.94

A 57.41°C si ha la formazione di una sporgenza ad un valore di $q = 1.4$ 1/nm che corrisponde alla presenza di una fase intermedia che si mantiene, diventando più definita, fino ai 70.5°C ad un valore di $q = 1.51$ 1/nm. A quest'ultimo valore di temperatura si ottiene una curva con tre picchi, a $q = 1.39$ 1/nm, a $q = 1.51$ 1/nm e a $q = 2.39$ 1/nm. Diagrammando i valori di q in funzione dell'indice di Miller è possibile affermare che si ha la coesistenza di due fasi cristalline diverse: la fase intermedia che poi scompare (fase 2) e la fase termotropica di liquido cristallino (fase 3).

Tab 4.2 Valori di q e d-spacing della fase 2 e 3.

70.5°C	fase 2	fase 3
q (1/nm)	1.51	1.39
		2.78
d (nm)	4.16	4.52
		2.26

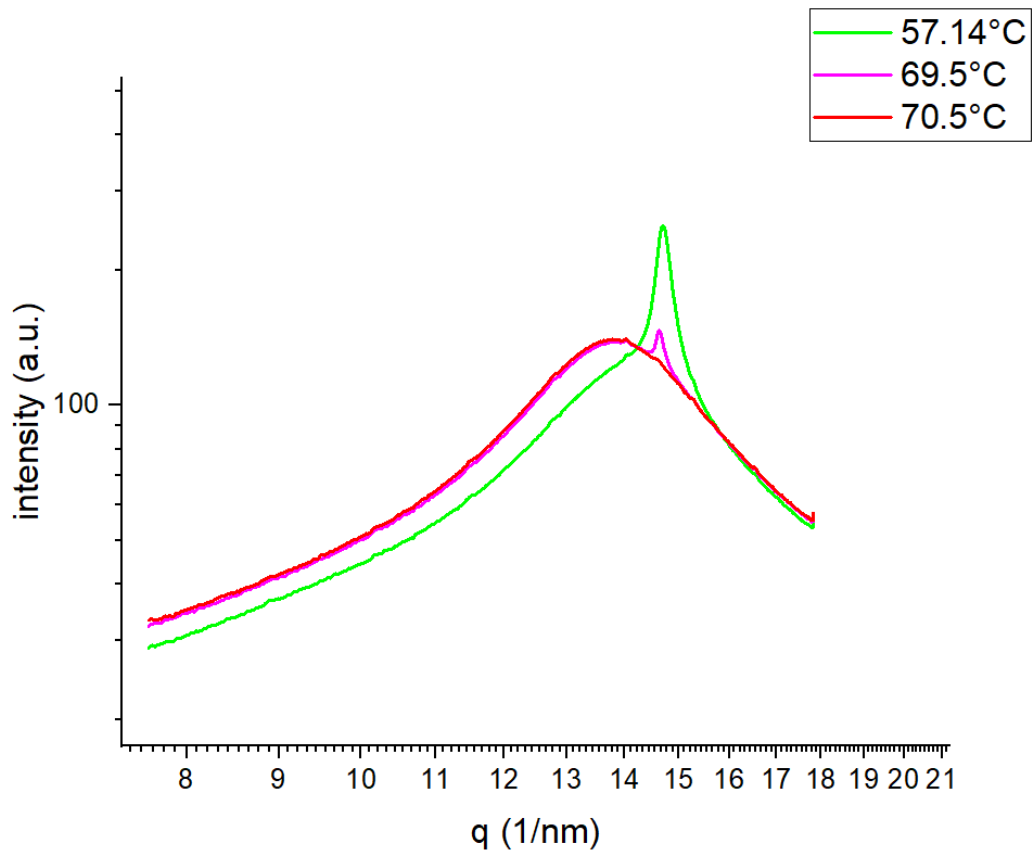


Fig. 4.14 Modelli di raggi X del SE puro a diverse temperature, in fase di riscaldamento; regione WAXS.

Dall'analisi WAXS del campione è possibile dedurre che dai 57.14°C ai 70.5°C , ovvero nel range di temperatura in cui nella regione SAXS la curva appariva splittata, si ha la presenza di un picco che poi a 70.5°C scompare. Quindi, la fase intermedia è associata al fatto che il solido durante lo scioglimento subisce delle variazioni strutturali.

Tornando alla regione SAXS, a 80.4°C è avvenuta la trasformazione da solido cristallino a cristallo liquido termotropico. Si hanno soltanto due picchi a $q = 1.47$ $1/\text{nm}$ e $q = 2.94$ $1/\text{nm}$, diagrammando tali valori in funzione dell'indice di Miller è possibile affermare che si è in presenza di una sola fase termotropica di liquido cristallino; infatti, graficamente si ha una retta.

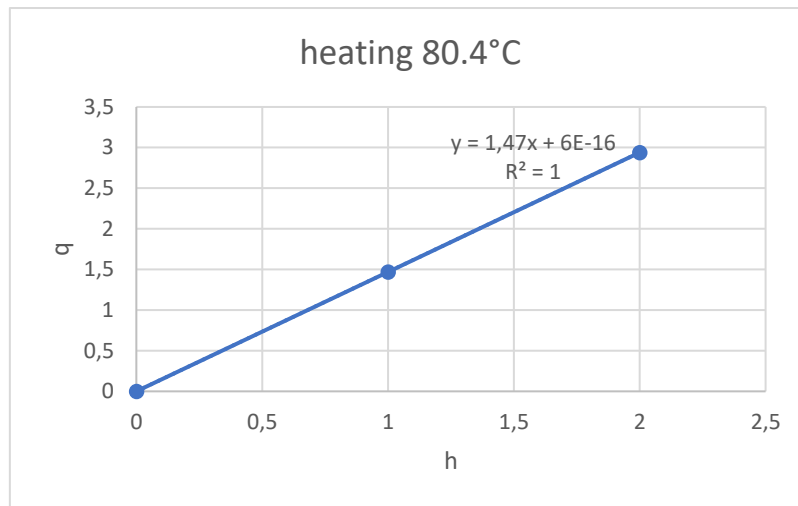


Fig. 4.15 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di una sola fase cristallina.

Tab 4.3. Valori di q e d-spacing della fase 2 e 3.

80.4°C	fase 4
	1.47
q (1/nm)	2.94
	4.26
d (nm)	2.14

In fase di raffreddamento, si passa direttamente da una fase termotropica di liquido cristallino ad una fase di solido cristallino. In particolare, la fase di liquido cristallino si mantiene fino a 64.8°C dopo la quale si ha la ricristallizzazione del SE.

I risultati ottenuti risultano del tutto in linea con l'analisi del campione di SE puro al microscopio ottico da cui si vedeva la presenza di una fase molto altobollente, un residuo, che iniziava a fondere a temperatura superiore di 70°C. In fase di fusione, lo specifico comportamento cromatico delineava la completa fusione e la formazione della fase di cristallo liquido.

Sono stati ripetuti più esperimenti sul campione di SE puro, variando le condizioni operative. Impostando un ciclo di riscaldamento e raffreddamento dai 25°C ai 110°C con una velocità di 20°C/min, sono state individuate in maniera meno precisa le temperature di fusione e cristallizzazione, rispetto al caso precedente.

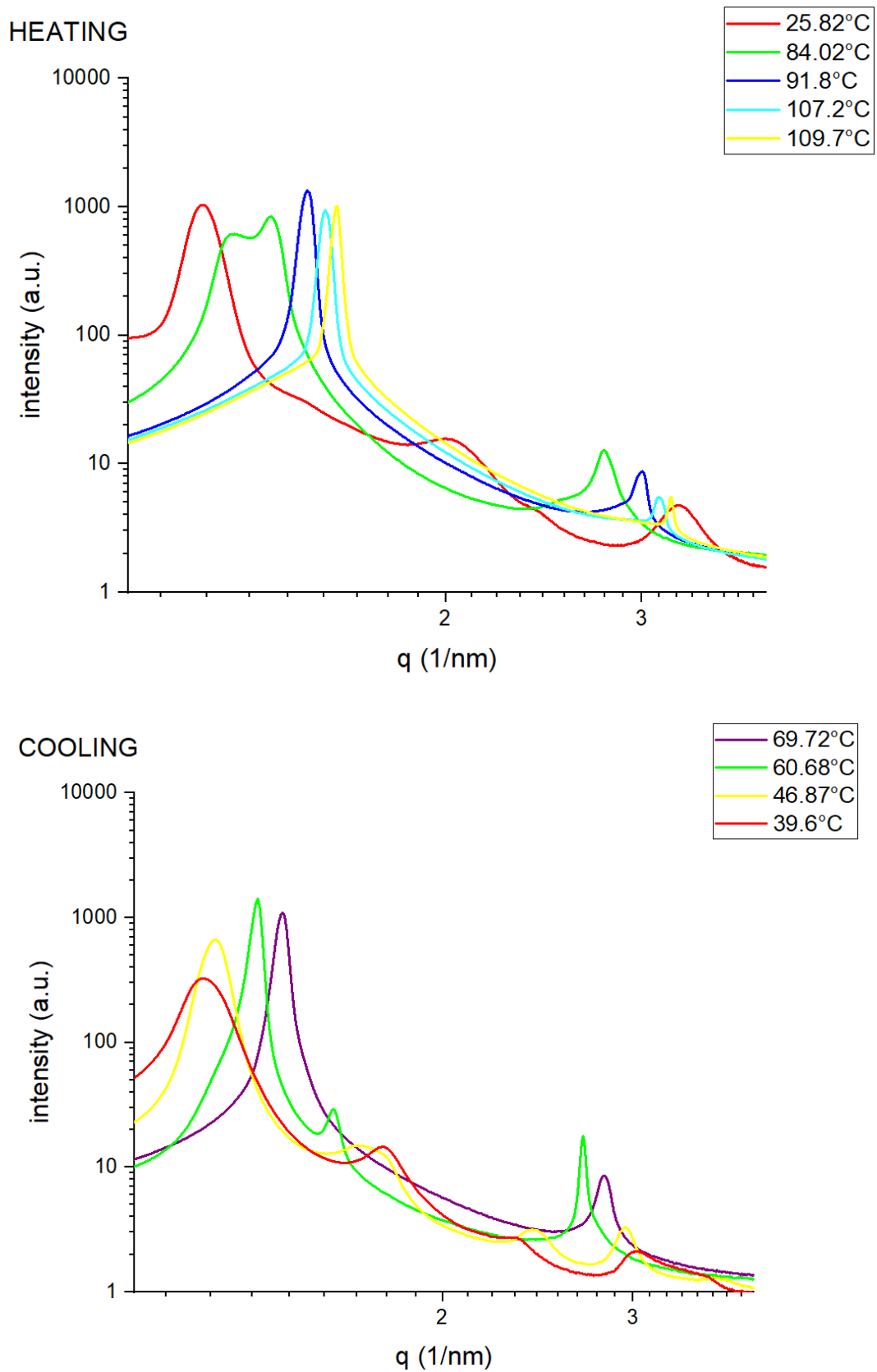


Fig. 4.16 Modelli di raggi X del SE puro a diverse temperature, rispettivamente in fase di riscaldamento e raffreddamento; regione SAXS.

In fase di riscaldamento, la curva a 25.82°C presenta tre diversi picchi rispettivamente a $q_1 = 1.21$ 1/nm, $q_2 = 2.05$ 1/nm e $q_3 = 3.24$ 1/nm. Il fatto che i picchi si mantengono allo stesso valore di q fino ad 84.02°C denota che si è in presenza di un solido cristallino. A 84.02°C si vede che la curva si splitta, ciò è riconducibile alla presenza di una fase intermedia, a $q = 1.27$ 1/nm, tra il solido e il liquido termotropico che si forma. Si tratta di una fase (fase 1) che poi scompare. Sempre ad 84.02°C si hanno altri due segnali rispettivamente a $q = 1.39$ 1/nm e a $q = 2.77$ 1/nm, diagrammando questi due valori di q in funzione dell'indice di Miller si ottiene una retta, per cui questi due picchi costituiscono una fase di cristallo liquido termotropico (fase 2).

Tab 4.4 Valori di q e d-spacing della fase 1 e 2.

84.02°C	fase 1	fase 2
q (1/nm)	1.27	1.39 2.77
d (nm)	4.95	4.52 2.27

Dai 91.8°C ai 109.7°C si hanno delle curve con due picchi che si spostano, all'aumentare della temperatura verso valori di q più alti. Quindi, si mantiene la fase termotropica di liquido cristallino. Ciò è dimostrabile graficamente, diagrammando i valori di q in funzione dell'indice di Miller, a titolo di esempio, a 107.2°C.

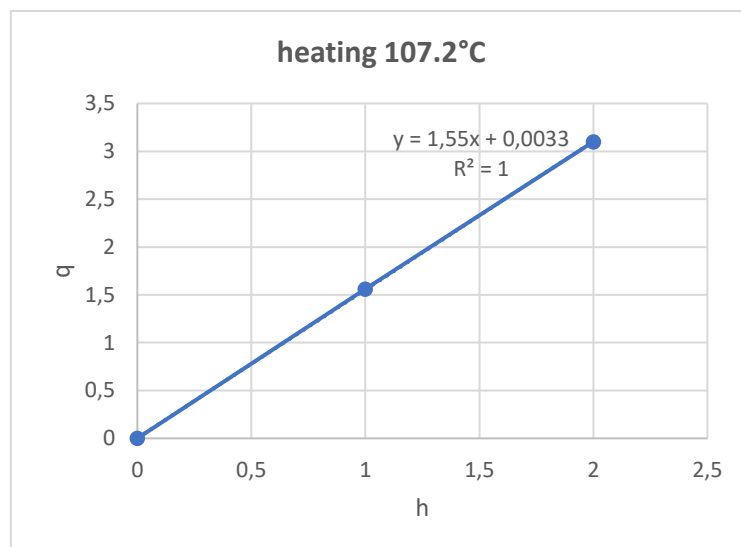


Fig. 4.17 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di una sola fase.

Quindi, in fase di riscaldamento, da un sistema costituito da tre diverse fasi cristalline si ottiene un sistema di una sola fase.

In fase di raffreddamento, invece, a 69.72°C ci sono due picchi ($q_1 = 1.42 \text{ 1/nm}$ e $q_4 = 2.82 \text{ 1/nm}$) che rappresentano una fase termotropica di liquido cristallino, infatti dal diagramma riportato in **Fig. 4.18** si ottiene una retta. Questa fase si mantiene fino alla temperatura di 60.8°C, dopo la quale il campione ricristallizza.

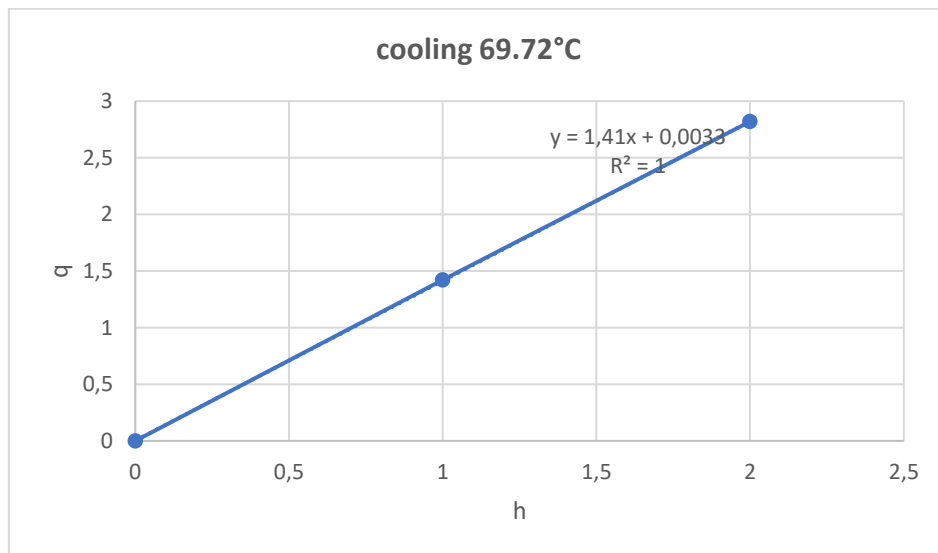


Fig. 4.18 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di una sola fase.

L'esperimento 3 è stato svolto sottoponendo il campione di SE puro ad un raffreddamento controllato dai 90°C a 30°C con una velocità di -1°C/min.

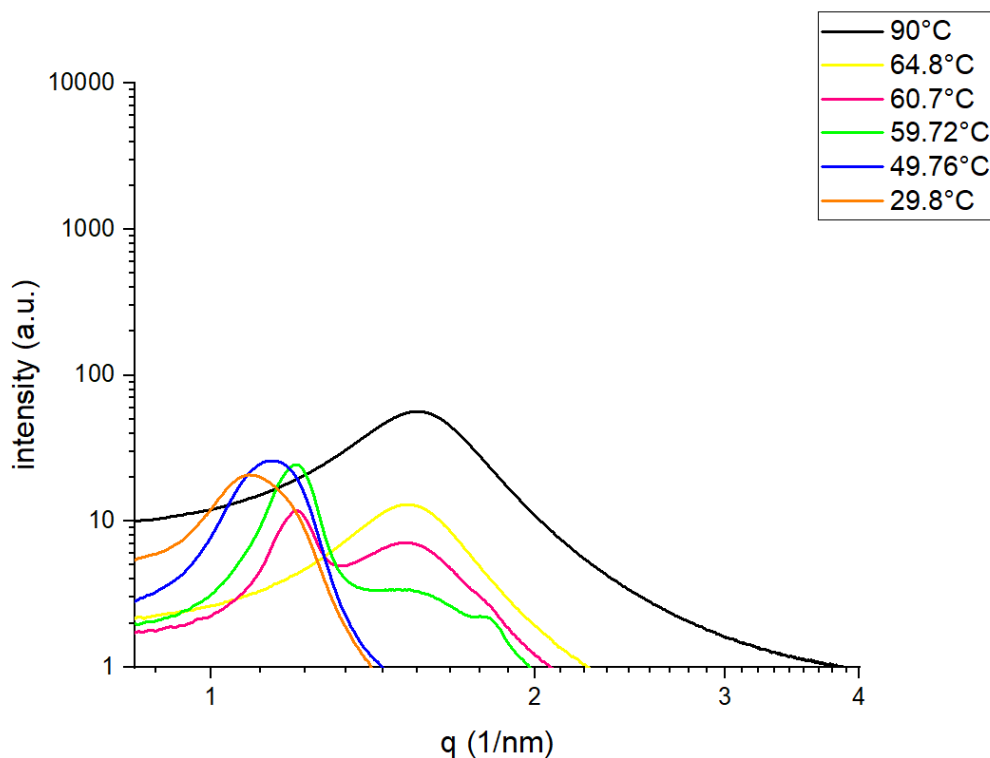


Fig. 4.19 Modelli di raggi X del SE puro a diverse temperature, rispettivamente in fase di raffreddamento; regione SAXS.

A 90°C si ha la presenza di una fase termotropica di liquido cristallino ($d = 4.05 \text{ nm}$). Questa fase si mantiene per tempi sufficientemente lunghi fino a 64.8°C, infatti dai risultati ottenuti si evince che diminuendo la temperatura le curve si mantengono ad un valore di q_{max} pressoché costante. A 60.7°C il comportamento del composto cambia e ciò lo si nota dal fatto che la curva si splitta, in questo caso si ha la coesistenza di due diverse strutture a valori di d -spacing di 5.24 nm e 4.14 nm, a questo corrisponde una variazione dello stato di aggregazione il che significa che il SE inizia a cristallizzare. Riducendo la temperatura fino a 29.8°C si ha la formazione di una forma cristallina con d -spacing di 5.74, graficamente si notano altri due segnali a valori di q decisamente superiori, presumibilmente riconducibili al fatto che il SE essendo per il 70% polisostituito, in fase di cristallizzazione avrà dato origine a forme cristalline diverse.

L'esperimento 4 prevede di scaldare il campione dai 30°C ai 190°C proprio perché il SE, come riscontrato dalle analisi svolte al microscopio ottico, non appare mai del tutto sciolto.

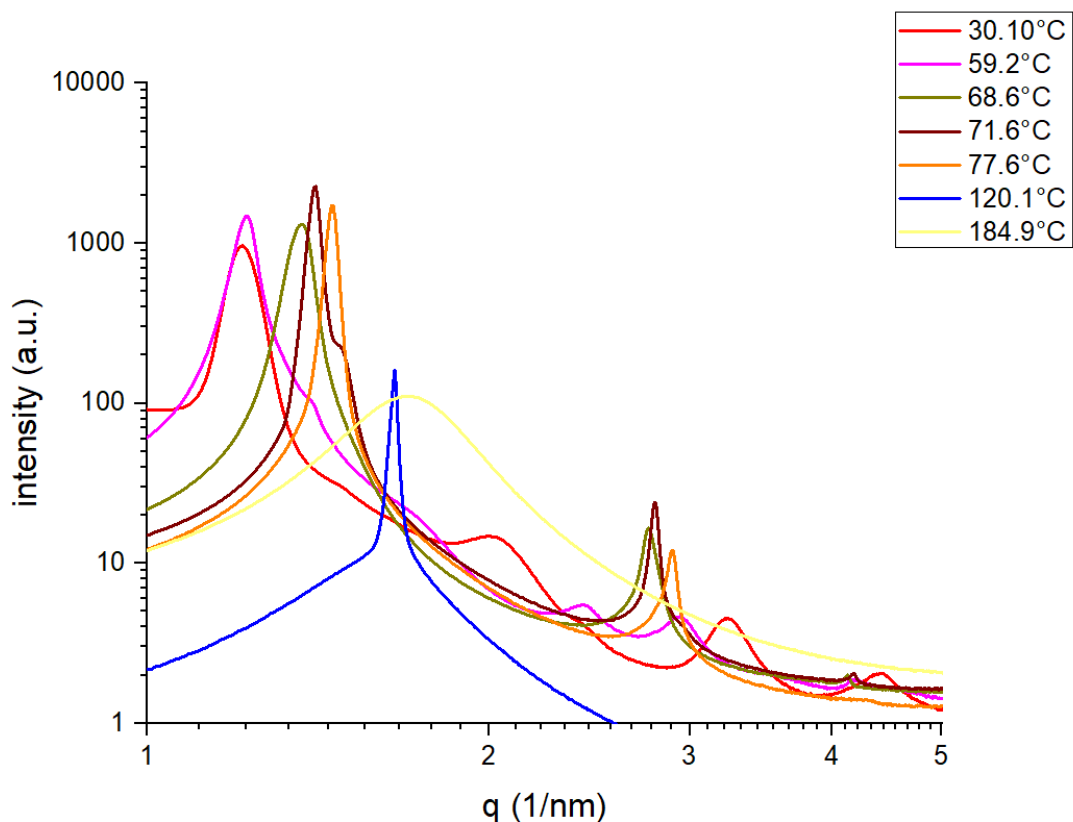


Fig. 4.20 Modelli di raggi X del SE puro a diverse temperature in fase di riscaldamento; regione SAXS.

A 30.10°C si ha un segnale a 1.21 $1/\text{nm}$ di maggiore intensità che corrisponde alla fase di solido cristallino (fase 1), che in questo caso si mantiene per un range di temperatura più basso rispetto alle analisi svolte in precedenza; infatti, già a 68.6°C si ha la formazione della fase termotropica di liquido cristallino ($d = 4.6 \text{ nm}$), (fase 2). Nella curva a 30.10°C è inoltre possibile notare due segnali di minore intensità a valori di q notevolmente più alti che già a 59.2°C scompaiono, questo fenomeno è da ricondurre al fatto che il SE è per il 70% polisostituito, per cui alcuni tra i di-, tri-, poliesteri che lo

caratterizzano, intorno a quel valore di temperatura fondono. Aumentando la temperatura, si nota come la fase termotropica si sposta verso valori di q maggiori e ciò come si evince dai risultati ottenuti, si traduce in valori di d-spacing più bassi; quindi, tale liquido cristallino termotropico si mantiene inalterato fino a 190°C .

Quindi, in conclusione, è possibile affermare che nonostante le diverse condizioni operative in cui ciascun esperimento è stato svolto, il campione si comporta più o meno nello stesso modo; quindi, il comportamento è ripetibile.

4.3.2 Polimorfismo del sistema SE-EVOO

L'analisi di diffrazione di raggi X è stata inoltre effettuata su un campione contenente il 5% in peso di SE disperso in olio extra-vergine d'oliva. I risultati di SAXS hanno dimostrato che a seconda della temperatura di cristallizzazione, l'estere di saccarosio favorisce la cristallizzazione dei trigliceridi nelle forme α e β e inibisce la forma β' soprattutto il polimorfo β'_{2L} . [25]

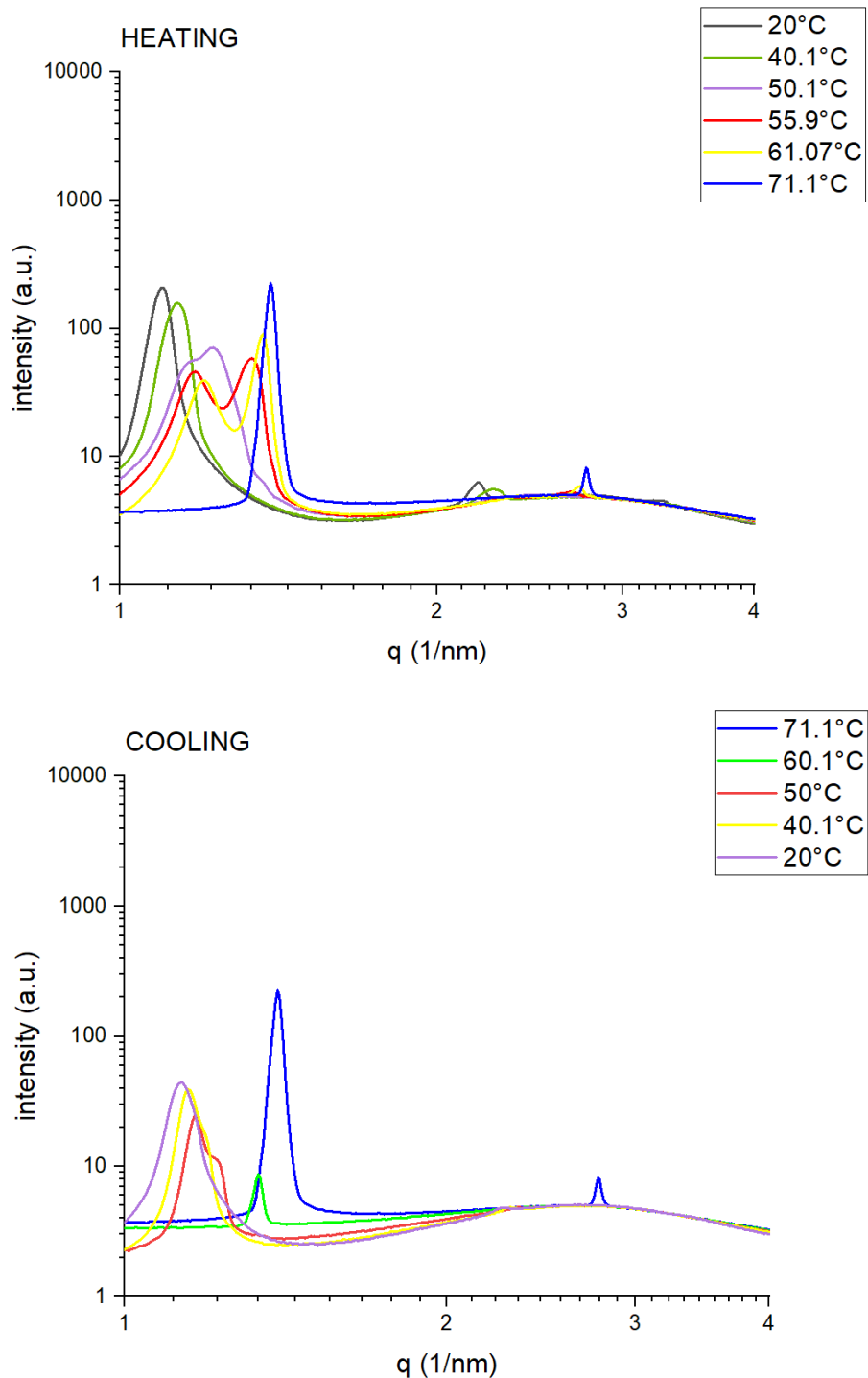


Fig. 4.21 Modelli di raggi X di SE5 a diverse temperature, rispettivamente in fase di riscaldamento e raffreddamento; regione SAXS.

In fase di riscaldamento, a 20°C si ha una curva caratterizzata da due picchi rispettivamente a

$q_1 = 1.1 \text{ 1/nm}$ e a $q_2 = 2.18 \text{ 1/nm}$. Diagrammando i valori di q in funzione dell'indice di Miller è possibile affermare che il campione è costituito da una sola fase, indicata con fase 1; infatti; graficamente si ottiene una retta. Il SE e i trigliceridi, per lo più monoinsaturi, che costituiscono l'olio d'oliva sono stati in grado di co-cristallizzare a causa della loro struttura chimica in qualche modo simile. Tuttavia, la differenza strutturale tra i due può causare un ritardo nella nucleazione e nella crescita dei cristalli. [26] Sulla base di quanto detto, è ragionevole supporre un'incorporazione dei TAGs.

Tab. 4.5 Valori di q e d-spacing della fase 1.

20°C	fase 1
$q \text{ (1/nm)}$	1.1 2.18
$d \text{ (nm)}$	5.72 2.88

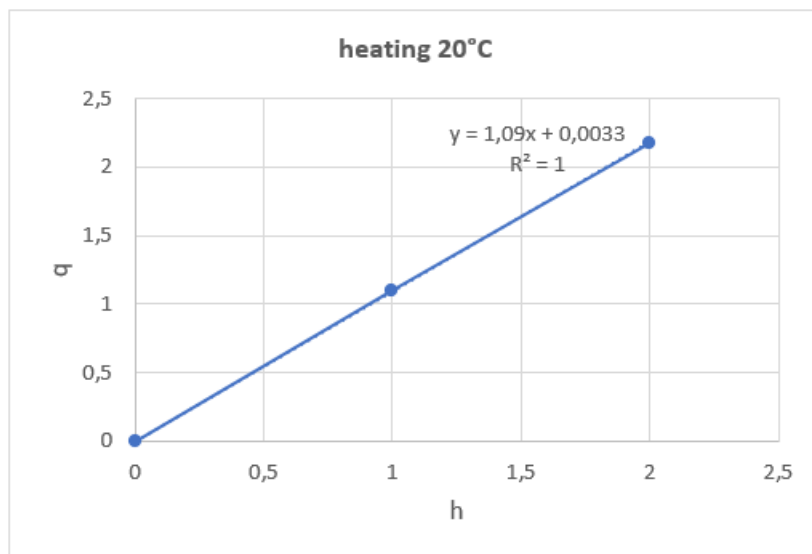


Fig. 4.22 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di una sola fase cristallina.

Confrontando la prima curva del sistema SE5 e la stessa del composto puro, si nota che il picco a $q = 1.1 \text{ 1/nm}$ in SE5 si sposta già a 40°C invece quello del SE puro inizia a spostarsi intorno ai 70°C . Questo fenomeno è molto significativo in quanto mette in evidenza il diverso stato di aggregazione delle molecole nei due sistemi; infatti, il SE puro è in fase solida, il SE disperso in EVOO è più simile ad un gel. Quanto emerso risulta perfettamente in linea con i risultati ottenuti dall'analisi al microscopio ottico dei due diversi sistemi, il SE puro si manteneva intatto fino almeno ad una temperatura di 70°C , dopo la quale si aveva fusione (campione 3, campione 5). Il SE5 già a 60°C mostrava degli effetti cromatici, legati alla fusione (campione 9).

A 40°C si hanno altri due picchi, uno a $q_1 = 1.13 \text{ 1/nm}$ e uno a $q_2 = 2.26 \text{ 1/nm}$. Anche in questo caso diagrammando i valori di q in funzione dell'indice di Miller, si evince la presenza di una sola fase cristallina diversa dalla precedente; infatti, graficamente si ottiene una retta.

Tab. 4.6 Valori di q e d-spacing della fase 2.

40.1°C	fase 2
	1.13
q (1/nm)	2.26
	5.54
d (nm)	2.78

A 50.1°C la curva si splitta, ci sono due diversi picchi a $q_1 = 1.16 \text{ 1/nm}$ e $q_2 = 1.22 \text{ 1/nm}$. Dal grafico in cui si diagramma il valore di q in funzione dell'indice di Miller, si notano due diverse fasi che coesistono.

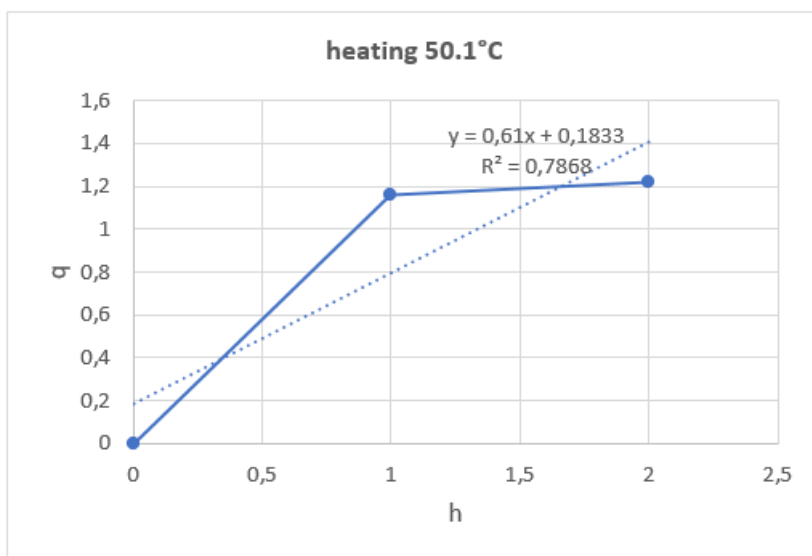


Fig. 4.23 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di due fasi cristalline.

Tab. 4.7 Valori di q e d-spacing della fase 3 e 4.

50.1°C	fase 3	fase 4
q (1/nm)	1.16	1.22
d (nm)	5.42	5.13

Nel caso del SE puro, lo splittaggio della curva si aveva a 84.02°C, temperatura molto più alta e si avevano due diverse fasi i cui valori di d-spacing erano rispettivamente di $d_1 = 4.95$ nm, $d_2 = 4.52$ nm e $d_3 = 2.27$ nm.

A 55.9°C lo splittaggio risulta più evidente rispetto al precedente, i segnali si hanno ad un $q_1 = 1.18$ 1/nm e $q_2 = 1.33$ nm. Anche in questo caso, è stata dimostrata graficamente la coesistenza di due fasi cristalline diverse, fase 5 e fase 6.

Tab. 4.8 Valori di q e d-spacing della fase 5 e 6.

55.9°C	fase 5	fase 6
q (1/nm)	1.18	1.33
d (nm)	5.33	4.71

A 61.07°C la curva si mantiene splittata ma a valori di q più alti, $q_1 = 1.2$ 1/nm e $q_2 = 1.37$ 1/nm, si possono effettuare le stesse considerazioni del caso precedente.

Tab. 4.9 Valori di q e d-spacing della fase 7 e 8.

61.07°C	fase 7	fase 8
q (1/nm)	1.2	1.37
d (nm)	5.24	4.6

A 71.1°C si hanno due picchi rispettivamente a $q_1 = 1.39 \text{ 1/nm}$ e a $q_2 = 2.77 \text{ 1/nm}$. Diagrammando i valori di q in funzione dell'indice di Miller si ottiene una retta; perciò, si è in presenza di una sola fase termotropica di liquido cristallino.

Tab. 4.10 Valori di q e d-spacing della fase 9.

71.1°C	fase 9
$q \text{ (1/nm)}$	1.39 2.77
$d \text{ (nm)}$	4.52 2.27

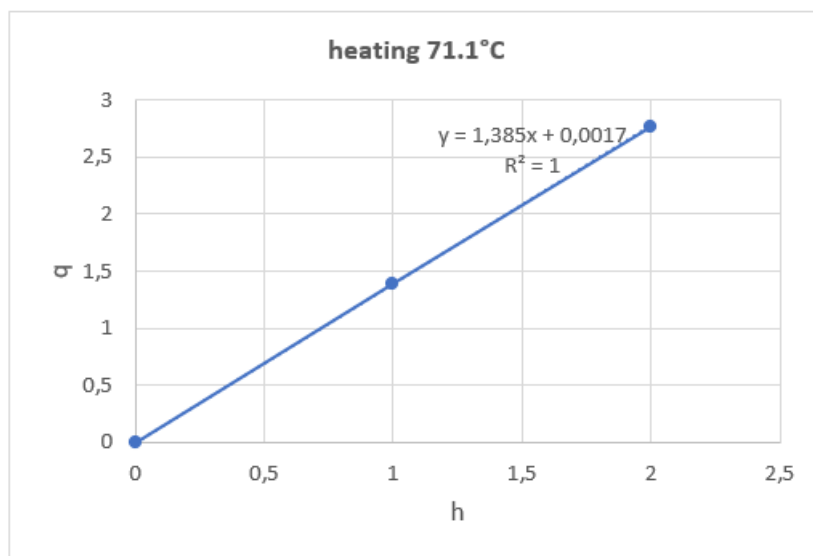


Fig. 4.24 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di una sola fase cristallina.

Confrontando il campione di SE puro e il campione SE-EVOO, in fase di riscaldamento, si nota che a 71.1°C il SE-EVOO è già una fase termotropica di liquido cristallino, il SE puro invece si mantiene in fase di solido cristallino fino a 70°C.

In fase di raffreddamento, invece, è possibile notare che il sistema si mantiene in fase di liquido cristallino fino a 60°C, questo è confermato dal fatto che la curva a quel valore di temperatura ha un

solo picco a $q_1 = 1.33 \text{ 1/nm}$. Al di sotto dei 60°C ha inizio la cristallizzazione; infatti, a 50°C la curva si splitta e ci sono due picchi rispettivamente a $q_1 = 1.16 \text{ 1/nm}$ e a $q_2 = 1.22 \text{ 1/nm}$. Diagrammando tali valori di q in funzione dell'indice di Miller, non si ottiene una retta; infatti, si ha la coesistenza di due fasi cristalline diverse. Ciò è in linea con quanto ottenuto dall'analisi del campione 8 al microscopio ottico, da cui si vedeva che intorno ai 60°C il sistema era in procinto di iniziare la cristallizzazione.

Tab. 4.11 Valori di q e d-spacing della fase 1 e 2.

50°C	fase 1	fase 2
q (1/nm)	1.16	1.22
d (nm)	5.4	5.15

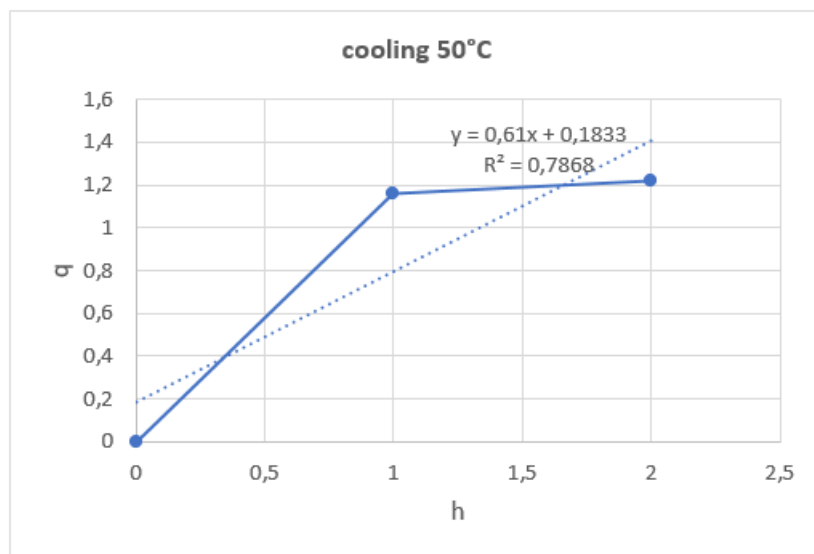


Fig. 4.25 Grafico a dispersione da cui si evince la presenza di due fasi cristalline.

A 40.1°C la curva si splitta ma il secondo picco risulta molto meno definito rispetto al caso precedente. Si hanno due segnali a $q_1 = 1.14 \text{ 1/nm}$ e a $q_2 = 1.19 \text{ 1/nm}$, coesistono due diverse forme cristalline e ciò è stato dimostrato graficamente; infatti, diagrammando i valori di q in funzione dell'indice di Miller non si ottiene una retta.

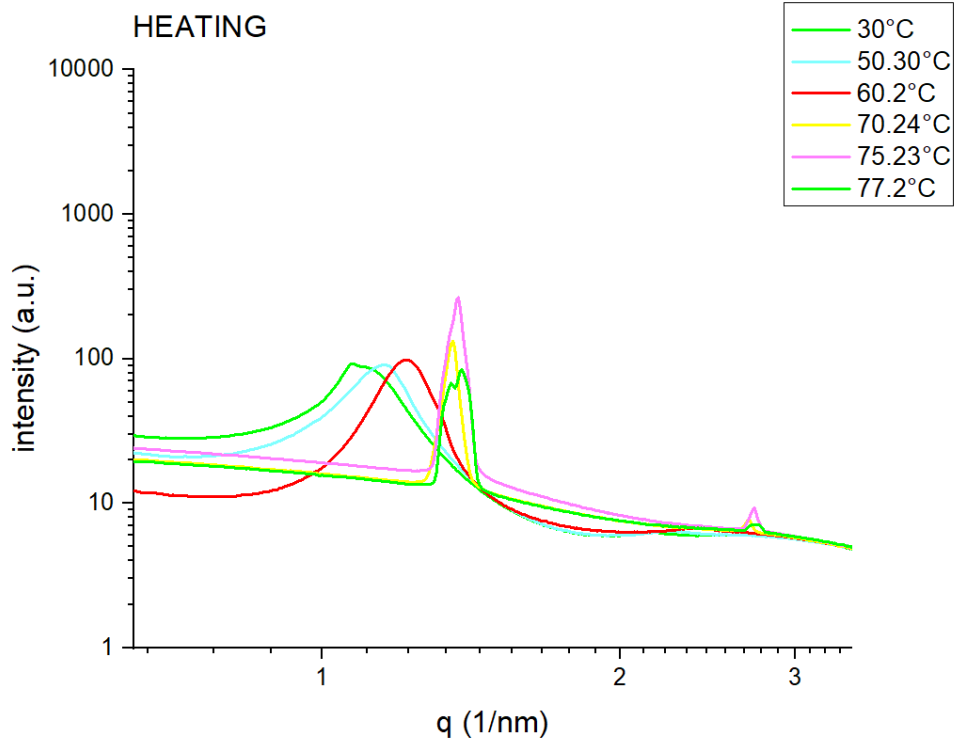
A 20°C si ha un solo picco a $q_1 = 1.13 \text{ 1/nm}$ a cui corrisponde una sola fase di solido cristallino. A questo valore di temperatura il SE5 ha ricristallizzato, ciò è perfettamente in linea con i risultati ottenuti dall'analisi del campione 8 al microscopio ottico da cui si vedeva la formazione di un oleogel con piccoli cristalli polidispersi in modo omogeneo e compatto.

Tab. 4.12 Valori di q e d-spacing della fase 3.

20°C	fase 3
q (1/nm)	1.13
d (nm)	5.56

Un'ulteriore analisi è stata condotta sul SE10, è possibile notare che la fase di solido cristallino (fase 1) si mantiene fino ad una temperatura di circa 60°C. A 70°C si ha la formazione della fase termotropica di cristallo liquido (fase 2) che a temperatura più alta sarà ovviamente spostata verso valori di d-spacing più bassi.

In fase di raffreddamento, è possibile notare che il composto è in grado di ricristallizzare formando direttamente la fase di solido cristallino. Inoltre, confrontando i due campioni a diversa concentrazione (SE5 e SE10) è possibile notare che all'aumentare della concentrazione di SE, si ha una diminuzione dell'intensità di emissione.



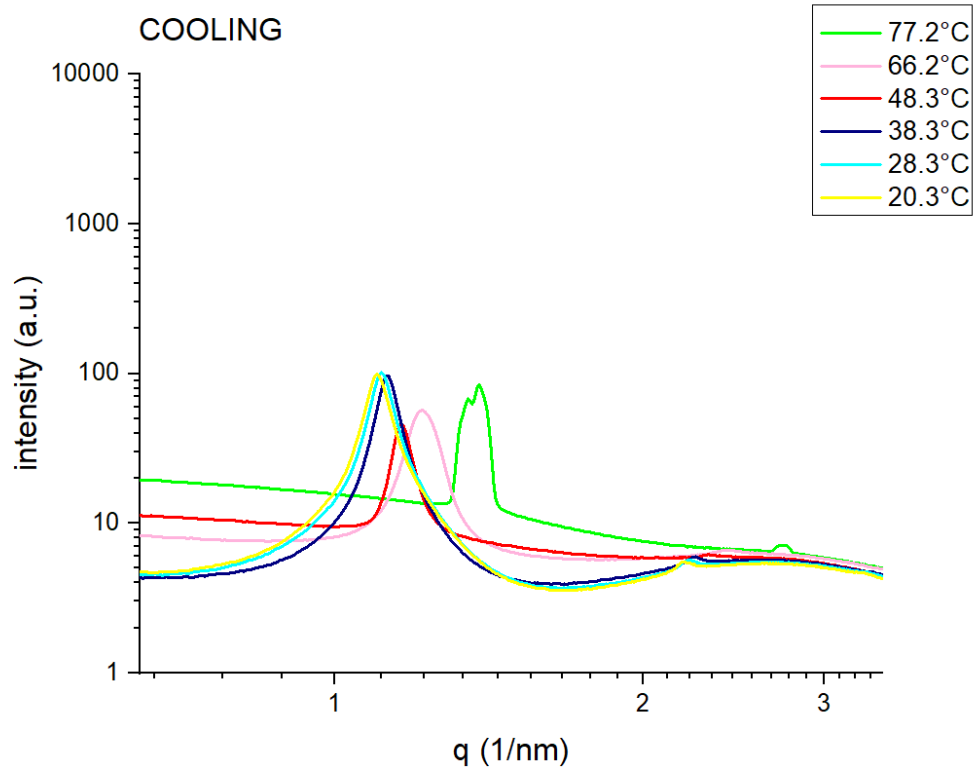


Fig. 4.26 Modelli di raggi X del SE10 a diverse temperature, in fase di riscaldamento e raffreddamento; regione SAXS.

È stato analizzato un ulteriore campione in cui il SE5 è stato inserito all'interno di un reometro piuttosto che nel capillare, per cui il volume di campione trattato è maggiore e pari a 2 mL. Questo campione è stato fatto scaldare e poi raffreddare con una velocità di 1°C/min. Dall'analisi SAXS è possibile notare che in fase di raffreddamento si ha la formazione di una sola fase di solido cristallino. Anche in questo caso, ovviamente, al diminuire della temperatura si ottengono segnali a valori di q più bassi a cui corrispondono valori di d-spacing più alti.

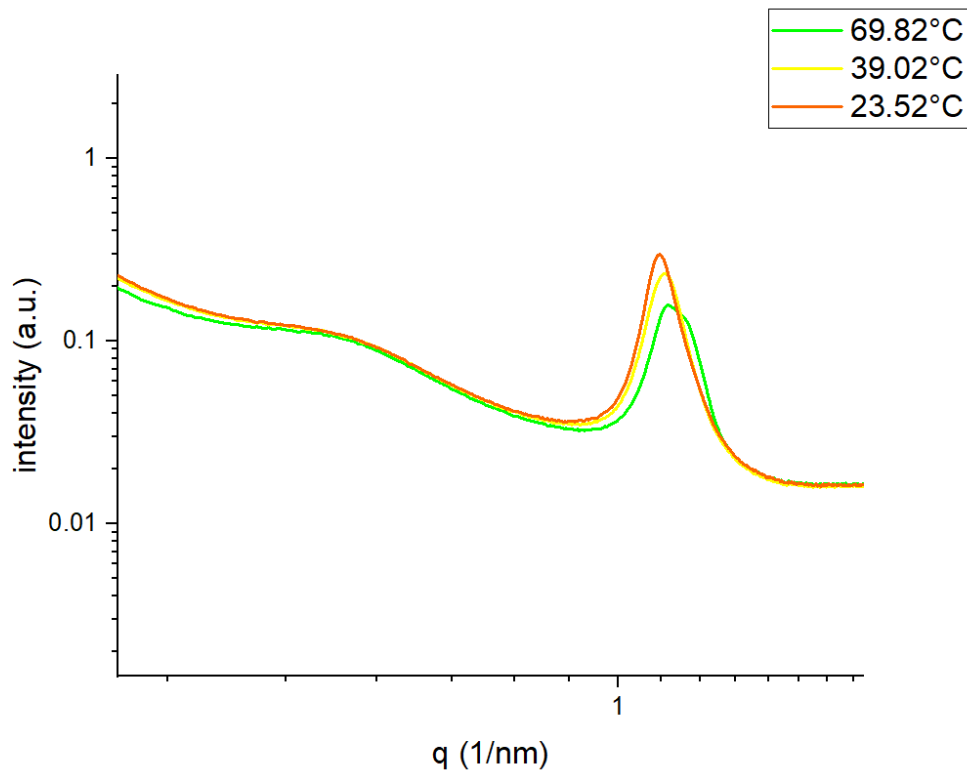


Fig. 4.27 Modelli di raggi X del SE disperso in EVOO a diverse temperature, in fase di raffreddamento; regione SAXS.

4.4 Analisi calorimetria a scansione differenziale (DSC)

L'analisi termica dei campioni è stata effettuata mediante calorimetria a scansione differenziale (DSC). Per valutare i risultati sono stati utilizzati i seguenti parametri: temperatura di inizio fusione (T_M), massima temperatura di fusione di picco (T_P) e l'entalpia di fusione (ΔH_M).

4.4.1 Comportamento termico del SE puro

Il termogramma mostra che durante il primo riscaldamento a $10^\circ\text{C}/\text{min}$, il SE inizia a mostrare un cambiamento nello stato di aggregazione delle molecole già intorno a 35°C , temperatura dopo la quale si notano due picchi endotermici rispettivamente intorno ai 54°C e ai 62°C . I due picchi nel termogramma sono indice del fatto che il composto è in fase solida. Nel successivo raffreddamento a $10^\circ\text{C}/\text{min}$ si vede un picco esotermico intorno ai 52°C , valore in cui il SE puro ricristallizza. Dal secondo ciclo di riscaldamento a $10^\circ\text{C}/\text{min}$ si nota che il campione inizia a mostrare un cambiamento nello stato di aggregazione delle molecole intorno ai 60°C , temperatura superiore rispetto al ciclo precedente. Si vede inoltre soltanto un picco endotermico e la massima temperatura di fusione di picco è di circa 65°C , temperatura che si mantiene per tutti gli altri cicli di riscaldamento. Il passaggio ad un solo picco è relativo alla presenza del cristallo liquido e conferma l'influenza del monoestere nel profilo di fusione. [23] Inoltre, Szuts et al. (2007) ha rivelato che i punti di fusione e gli intervalli di fusione dei SE con bassi valori di HLB, sono più alti probabilmente perché includono mono-, di-, tri-, tetra- e pentaesteri. Anche i successivi cicli di raffreddamento presentano un andamento del tutto analogo al primo. Nel quarto ciclo di riscaldamento a $10^\circ\text{C}/\text{min}$ sono stati raggiunti valori di temperatura più alti. Si ha una curva con la presenza di un picco esotermico a temperature superiori di 200°C il che è dovuto al fenomeno della caramellizzazione. Ciò trova riscontro con l'ultimo profilo di raffreddamento, in cui la ricristallizzazione avviene ad una temperatura decisamente più bassa rispetto ai casi precedenti dal momento che è avvenuta la cristallizzazione dei prodotti di caramellizzazione. I risultati ottenuti dall'analisi DSC confermano i risultati dell'analisi del comportamento polimorfico del composto.

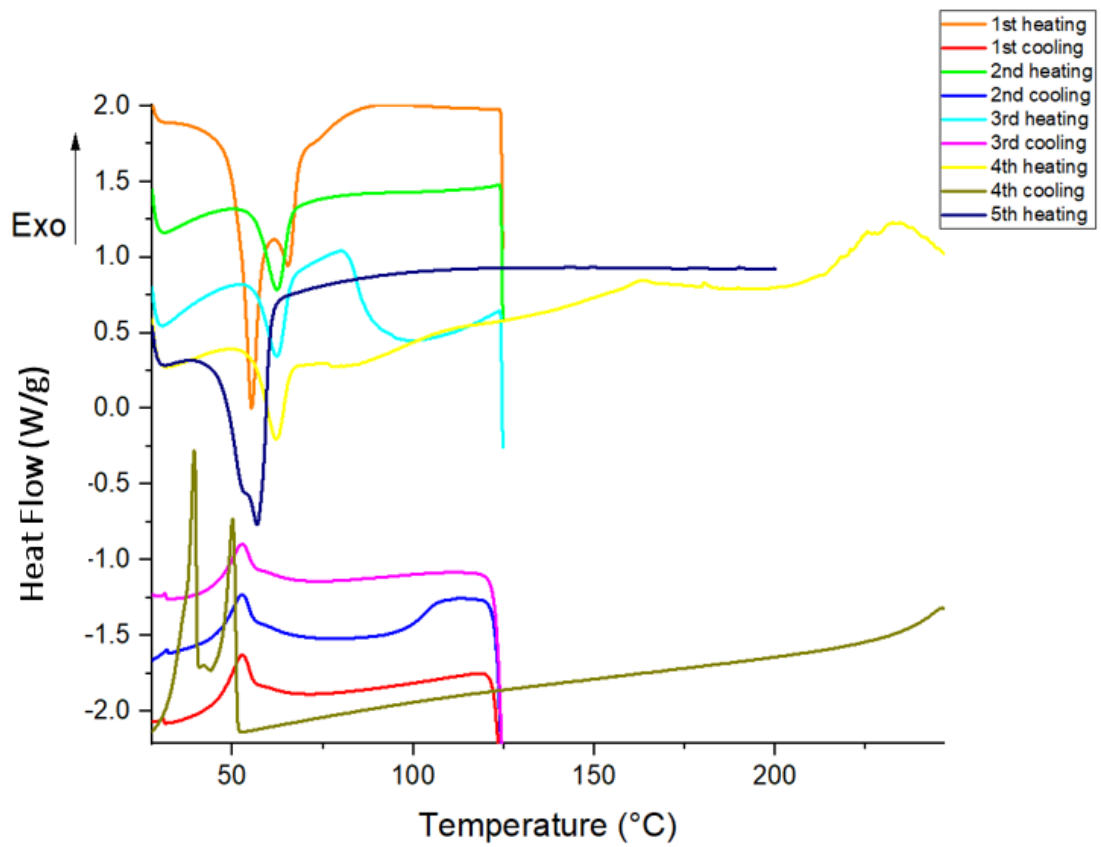


Fig. 4.28 Scansione DSC durante i processi di raffreddamento (cristallizzazione, esotermica) e riscaldamento (fusione, endotermica) di SE puro.

4.4.2 Comportamento termico del sistema SE-EVOO

La DSC è stata eseguita anche sul SE5. Durante il primo riscaldamento a 10°C/min è possibile notare un picco endotermico, in particolare la fusione inizia ad una temperatura di circa 45°C e raggiunge il picco massimo poco prima di 50°C per poi concludersi intorno ai 53°C. Questo risultato è perfettamente in linea con l'analisi SAXS effettuata sul SE5 dalla quale si notava che il picco della curva a 20°C si spostava già a 40°C, temperatura immediatamente dopo la quale si aveva la formazione di una fase intermedia, legata proprio all'inizio della fusione. A 71°C, dall'analisi SAXS il SE5 risultava in fase termotropica di liquido cristallino, il che trova riscontro nei risultati ottenuti dalla DSC, dal momento che a quel valore di temperatura il SE5 è completamente sciolto. Dopo il primo riscaldamento il sistema è stato mantenuto a 90°C per 10 minuti, graficamente infatti si ha una prima isoterma. Il raffreddamento a 3°C/min è molto più controllato e non si apprezza alcun picco esotermico, il sistema viene mantenuto a bassa temperatura per 5 minuti e graficamente si ha una seconda isoterma.

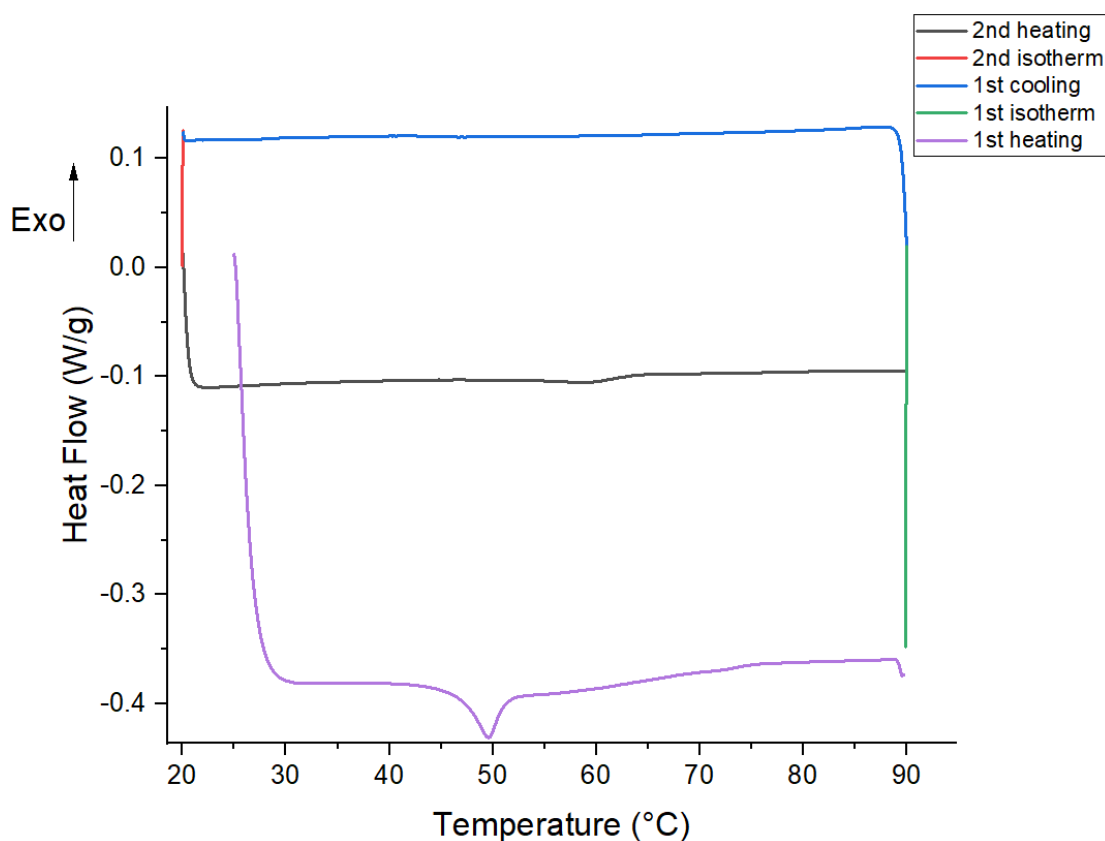


Fig. 4.29 Scansione DSC durante i processi di raffreddamento (cristallizzazione, esotermica) e riscaldamento (fusione, endotermica) del 5% di SE disperso in EVOO.

Durante il secondo riscaldamento a 3°C/min non si apprezza alcun picco endotermico. Questo fenomeno, secondo Yu Liu, Bernard P. Binks è dovuto al fatto che, quando si raffredda gradualmente dalla regione isotropica monofase, le frazioni di saccarosio mono-, di- e triestere possono favorire la formazione di micelle inverse di SE in EVOO, durante le quali non è coinvolto alcun cambiamento di entalpia. Questa ipotesi può essere correlata con i risultati della microscrittura osservati in **Fig. 4.30** Dopo un ulteriore raffreddamento, la cristallizzazione si sviluppa gradualmente.

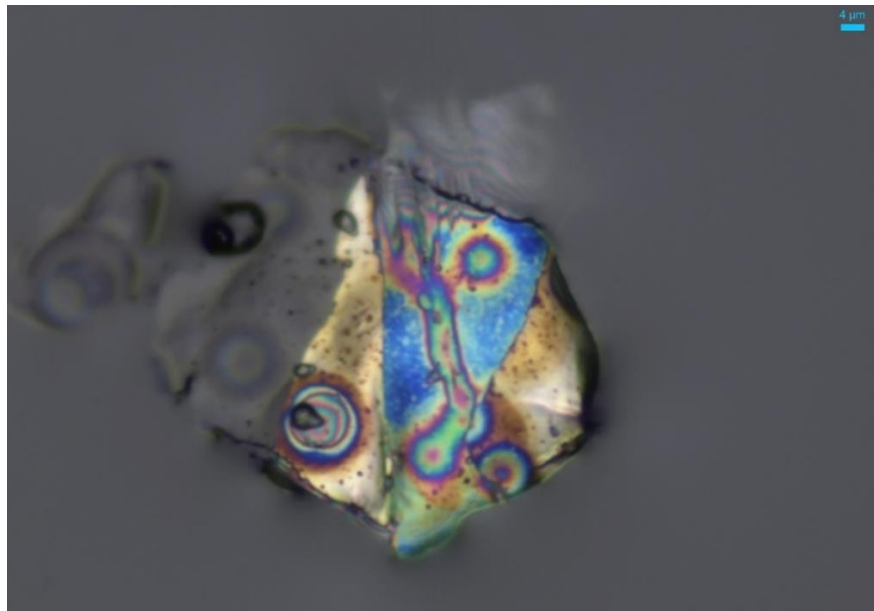
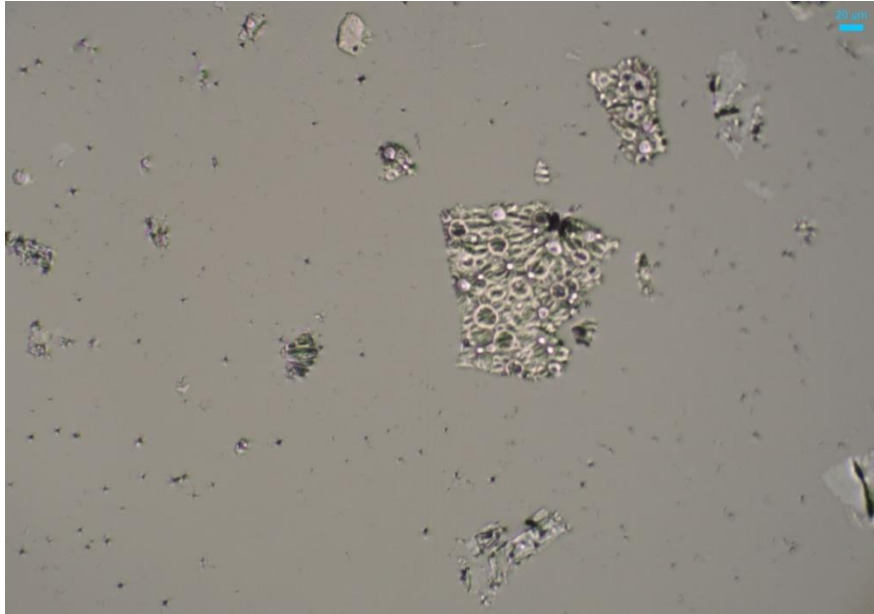


Fig. 4.30 Micrografia a luce non polarizzata del SE5, micelle inverse.

4.5 Analisi spettroscopia Raman

Il primo campione analizzato è quello di SE puro e dall'analisi dei risultati ottenuti con la spettroscopia Raman, è possibile notare segnali a Raman shift diversi; in particolare, tra gli 800 cm^{-1} e i 1600 cm^{-1} e tra i 2800 cm^{-1} e i 3000 cm^{-1} . Fino a 55°C i picchi rimangono quasi invariati, la fusione inizia intorno ai 65°C il che è del tutto in linea con quanto ottenuto dall'analisi DSC. Fino ai 105°C non si rileva alcun cambiamento nei vari profili. Raffreddando, invece, i profili rimangono invariati fino alla temperatura di circa 60°C , dopo la quale si iniziano vedere delle variazioni nei profili, indice del fatto che ha inizio la cristallizzazione. Anche questo è perfettamente in linea con i risultati ottenuti dall'analisi DSC.

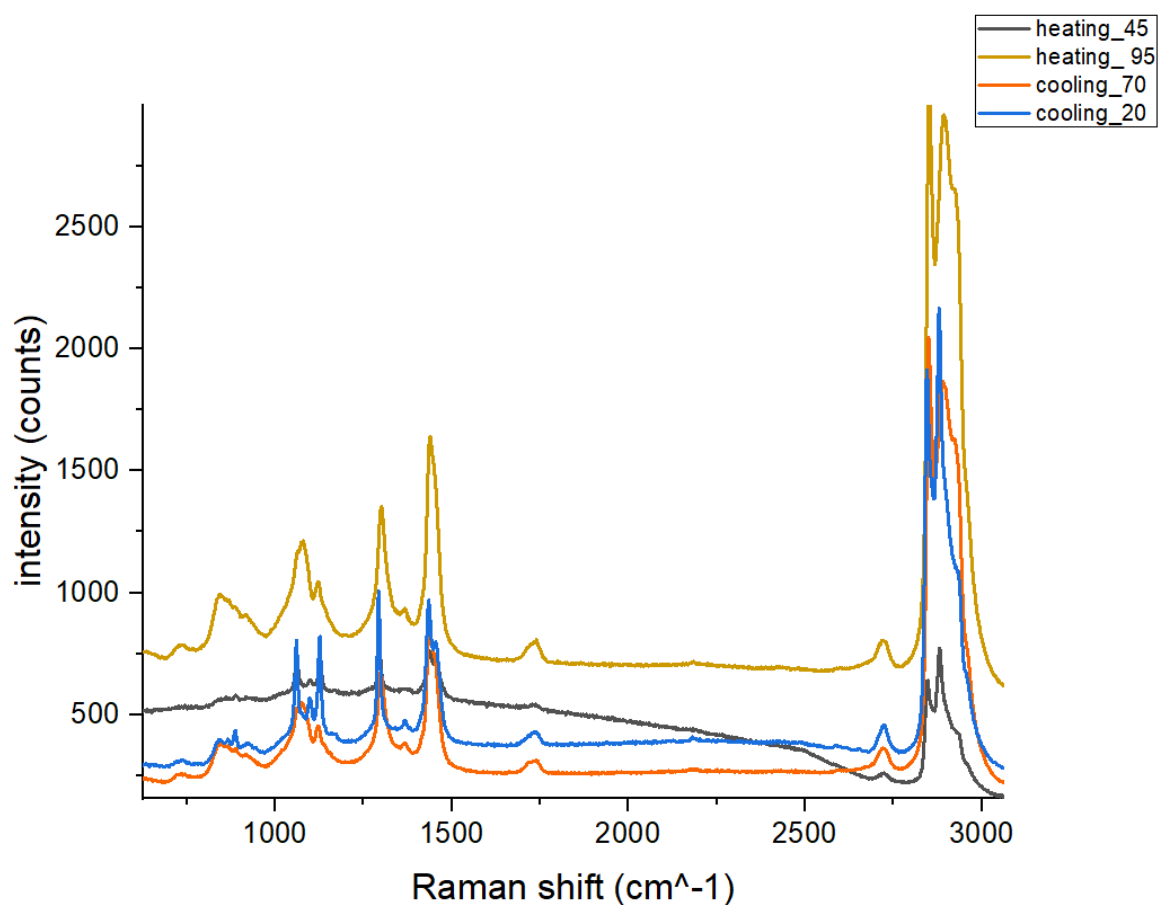
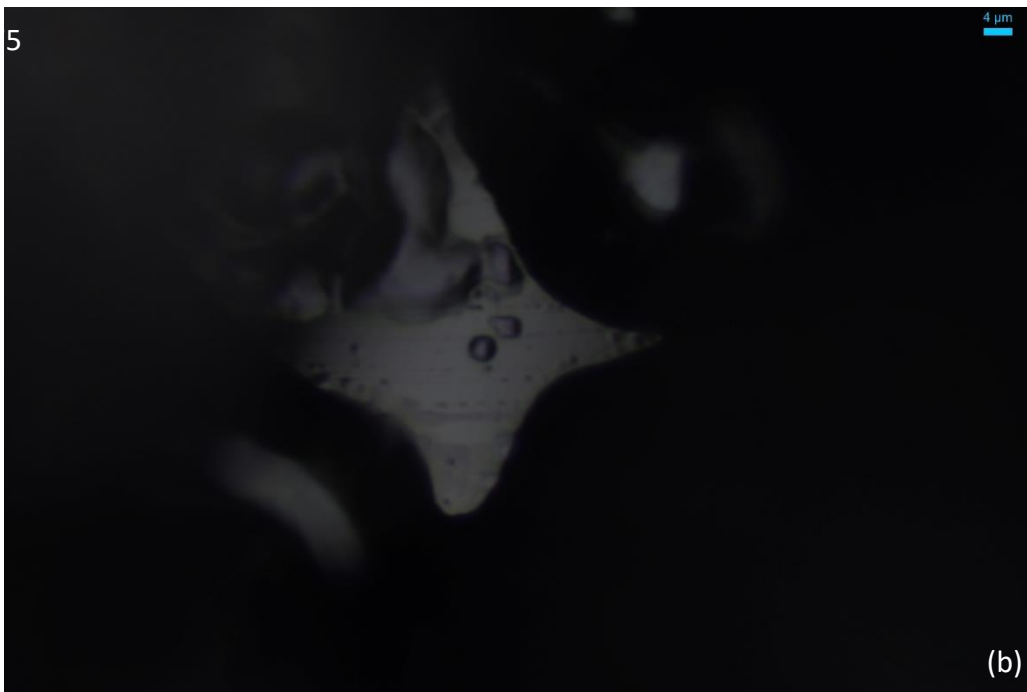
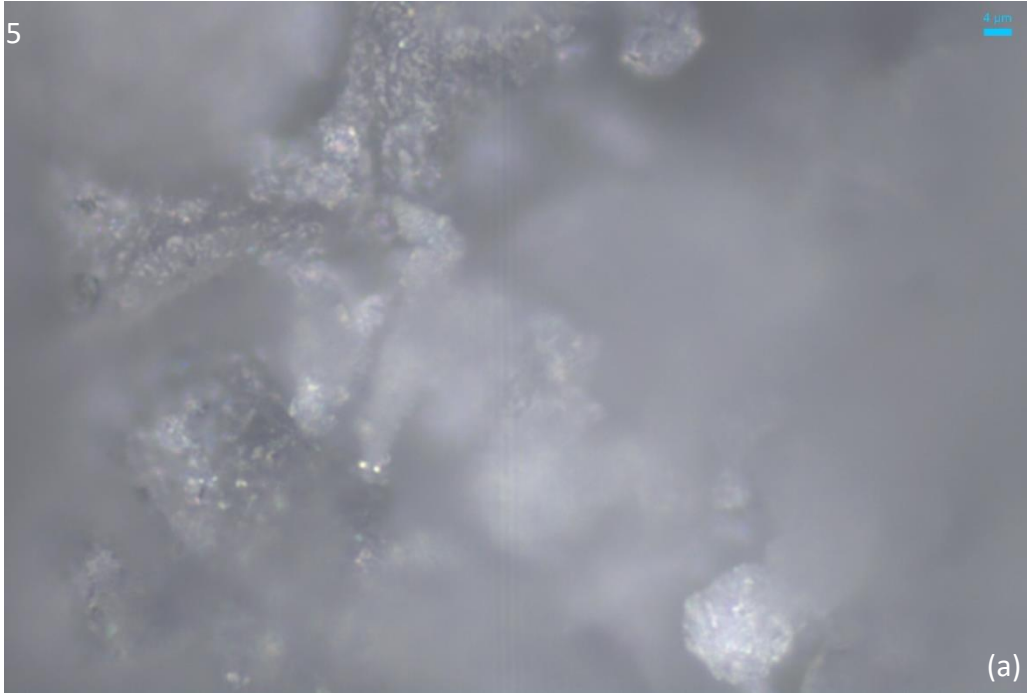


Fig. 4.31 Spettri Raman del SE puro in fase di riscaldamento e raffreddamento.

Dall'analisi al microscopio a luce non polarizzata risulta evidente quanto emerso dalla DSC, prima dei 65°C il composto rimane in fase di solido cristallino, che come emerso dall'analisi del comportamento polimorfico è una fase. Dopo i 65°C ha inizio la fusione, si ha un cambiamento nello stato di aggregazione delle molecole e in particolare dai 95°C ai 110°C , risulta sempre più visibile un fenomeno di leggera iridescenza, il che risulta in linea con l'analisi strutturale nella quale si apprezzava la formazione di una fase liquido cristallina termotropica. In fase di raffreddamento il fenomeno di leggera iridescenza si mantiene fino a circa 70°C temperatura dopo la quale, raffreddando, ha inizio la ricristallizzazione del composto.



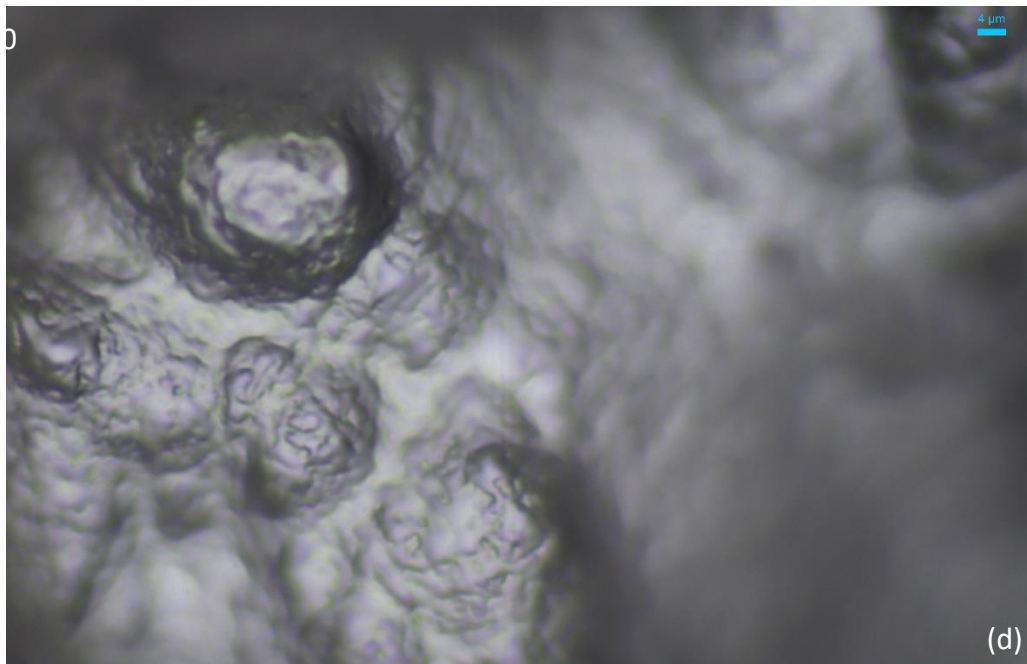


Fig. 4.32 Micrografia a luce non polarizzata del SE puro a diverse temperature, in fase di riscaldamento (a), (b), (c) e in fase di raffreddamento (d).

5 CONCLUSIONI

Gli esteri di saccarosio sono ampiamente utilizzati nell'industria alimentare e cosmetica e recentemente sono stati di grande interesse per la loro applicabilità in diverse formulazioni farmaceutiche.

In particolare, lo studio condotto in questo lavoro di tesi si è incentrato sulla caratterizzazione del C-1805 ottenuto a partire dall'esterificazione dell'acido stearico con una molecola di saccarosio. Quest'ultimo è stato analizzato in forma pura (SE), utilizzato in polvere per come fornito, e disperso in olio extra-vergine d'oliva (SE5/SE10) prima e dopo fusione (oleogel); quindi, è stato possibile determinare il diverso comportamento del composto in diverse condizioni operative.

Il SE è un composto molto altobollente, infatti riscaldando il campione puro è stato possibile notare che rimaneva un residuo di solido fino ad un valore di temperatura molto alto, di circa 120°C. Lo stesso comportamento è stato rilevato nel SE5; infatti, riscaldando con il Crystal16 fino a 120°C rimanevano piccoli aloni sul fondo. Da questa analisi è stato possibile dedurre che il campione analizzato è risultato disomogeneo e costituito da più fasi con temperature di fusione diverse.

Ciò risulta perfettamente in linea con quanto emerso dallo studio del comportamento polimorfico del SE; infatti, dalle analisi XRD è stato possibile identificare fasi cristalline diverse a temperatura ambiente. Il SE, essendo molto altobollente, si mantiene in fase di cristallo solido fino a circa 70°C, temperatura dopo la quale si ha la formazione di una fase intermedia che può essere associata a delle variazioni strutturali del solido legate alla temperatura. Durante il riscaldamento si ha la coesistenza di tale fase cristallina solida e di un cristallo liquido. Al di sopra degli 80°C rimane solo un'unica fase termotropica di liquido cristallino, la cui struttura varia linearmente con la temperatura. Quando il SE è disperso in olio (SE5) in forma di oleogel, è stato ragionevole supporre un'incorporazione dei TAGs all'interno dei cristalli formati dopo fusione del SE puro. Si evince una sostanziale differenza dovuta al diverso stato di aggregazione delle molecole; infatti, la fase di solido cristallino in questo caso si mantiene fino a valori di temperatura più bassi rispetto al caso precedente, cioè fino a circa 40°C, questo delinea che si tratta di una struttura diversa dal SE puro. Intorno ai 50°C si ha anche qui la formazione della fase intermedia e già a partire dai 70°C si ha la formazione della fase termotropica di liquido cristallino. In fase di raffreddamento, in entrambi i casi, si è ottenuta la ricristallizzazione del campione. L'analisi è stata ripetuta con l'oleogel SE10, si è notato che aumentando la concentrazione di SE si ha un aumento di intensità nei picchi rilevati dalla XRD.

Inoltre, è stato determinato il comportamento termico dei due campioni mediante DSC, identificando rispettivamente la T_M e la T_c , che hanno confermato i risultati ottenuti nelle analisi precedenti.

Il SE è un eccipiente naturale e biodegradabile con noto comportamento stabilizzante, tuttavia, la presenza di un residuo che permane ad alti valori di temperatura, è indice del fatto che il composto abbia bassa purezza. Per renderlo un buon stabilizzante, dunque, una volta avvenuta la preparazione dell'oleogel con la giusta percentuale di SE si potrebbe procedere con la separazione a caldo del residuo solido.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI /SITOGRAFIA

- [1] Davey, R.J., Garside, J., 2000, From molecules to crystallizers: an introduction to crystallization, Oxford university press.
- [2] Di Bari, V. 2015. Large deformation and crystallisation properties of process optimised cocoa butter emulsions. Ph. D. Thesis, University of Birmingham.
- [3] Himawan, C., Starov, V. M., Stapley, A. G. F. 2006. Thermodynamic and kinetic aspects of fat crystallization. *Advances in Colloid and Interface Science*, 122, 3-33.
- [4] McClements, D. J. 2005. Food emulsions: principles, practices, and techniques. 2th Edition. CRC Press, Boca Raton.
- [5] McClements, D. J. 2012. Crystals and crystallization in oil-in-water emulsions: Implications for emulsion-based delivery systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, 174, 1-30.
- [6] Cook, K. L. K., Hartel, R. W. 2010. Mechanisms of ice crystallization in ice cream production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 213-222.
- [7] Mullin, J. W., 2001, Crystallization, Fourth edition edn, Butterworth Heinemann.
- [8] M. J. Stephen and J. P. Straley: Physics of liquid crystals.
- [9] <http://www.chim.it/sites/default/files/cns/pdf/2010-3.pdf>.
- [10] W. G. Gray, J. W. Goodby, Smectic Liquid Crystals. Leonard Hill, Heyden & Sons, London: 1984.
- [11] J. W. Goodby, I. Nishiyama, A. J. Slaney, C. J. Booth, K. J. Toyne, *Liq. Cryst.*, 1993, 14, 37.
- [12] C. N. G. Scotter, *Trends Food Sci. Technol.*, 1997, 8, 285–292.
- [13] Boyaci, I. H., Temiz, H. T., Geniş, H. E., Soykut, E. A., Yazgan, N. N., Güven, B., Uysal, R. S., Bozkurt, A. G., Ilaslan, K., Torun, O., & Şeker, F. C. D. (2015). Dispersive and FT-Raman spectroscopic methods in food analysis. *RSC Advances*, 5(70), 56606–56624.
- [14] A. Rohman and Y. B. C. Man, *Food Rev. Int.*, 2012, 28, 97– 112.
- [15] R. J. Dijkstra, F. Ariese, C. Gooijer and U. A. T. Brinkman, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2005, 24, 304–323.
- [16] Stagnaro, P., Luciano, G., & Utzeri, R. (n.d.). *La calorimetria differenziale a scansione e l'analisi termogravimetrica nella caratterizzazione termica dei materiali polimerici*. 73–98.
- [17] Schnablegger, H., & Singh, Y. (2013). SAXS Analysis. *The SAXS Guide*, 50–90.
- [18] Szuts, A., & Szabó-Révész, P. (2012). Sucrose esters as natural surfactants in drug delivery systems - A mini-review. *International Journal of Pharmaceutics*, 433(1–2), 1–9.

- [19] Liu, Y., & Binks, B. P. (2021). A novel strategy to fabricate stable oil foams with sucrose ester surfactant. *Journal of Colloid and Interface Science*, 594, 204–216.
- [20] <https://www.crystallizationsystems.com/products/crystal16/>.
- [21] <https://www.horiba.com/details/labram-hr-evolution-17309/>.
- [22] Scuola, N., Mirone, P., Iussi, V. C., Lazzaro, S., Cardellini, L., Ciardi, M., Domenici, V., Fetto, P., Fuso, S., Mirone, P., Olmi, F., Riani, P., Ripoli, S., Villani, G., Borsese, A., Cerruti, L., Cervellati, R., Costa, G., & Floriano, M. A. (n.d.).
- [23] da Silva, T. L. T., Baeten, V., & Danthine, S. (2023). Modifying sucrose esters oleogels properties using different structuration routes. *Food Chemistry*, 405(PB), 134927.
- [24] Domingues, M. A. F., da Silva, T. L. T., Chiu, M. C., Ribeiro, A. P. B., & Gonçalves, L. A. G. (2022). Tailoring crystallization and physical properties of palm mid-fraction with sorbitan tristearate and sucrose stearate. *Food Chemistry*, 369(August 2021), 130943.
- [25] Los, U. M. D. E. C. D. E. (n.d.). No **主観的健康感を中心とした在宅高齢者における健康関連指標に関する共分散構造分析**Title.
- [26] Huck-Iriart, C., Candal, R. J., & Herrera, M. L. (2009). Effects of addition of a palmitic sucrose ester on low-trans-fat blends crystallization in bulk and in oil-in-water emulsions. *Food Biophysics*, 4(3), 158–166.