

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

Sviluppo di un modello basato su bilancio di popolazione per la produzione di emulsioni Pickering



Relatori

Prof. Antonio Buffo
Prof.ssa Elena Simone
Prof.ssa Fiora Artusio

Candidata

Arianna Pasqualini

28 Novembre 2023

INDICE

ABSTRACT	4
INTRODUZIONE	5
1 CENNI TEORICI	7
1.1 CARATTERISTICHE DEL FENOMENO DI STABILIZZAZIONE DI PICKERING E PARAMETRI DI INFLUENZA	7
1.2 APPARECCHIATURE PER LA PREPARAZIONE DELLE EMULSIONI	13
1.2.1 ULTRATURRAX	13
1.2.2 OMOGENEIZZATORE AD ALTA PRESSIONE	15
1.2.3 ULTRASUONI.....	15
1.2.4 MEMBRANE	16
1.2.5 MICROFLUIDIC DEVICES	18
1.3 TIPOLOGIE DI PARTICELLE MAGGIORMENTE UTILIZZATE PER EMULSIONI PICKERING	19
1.3.1 CELLULOSA	19
1.3.2 CICLODESTRINE	19
1.3.3 CHITINA E CHITOSANO	20
2 APPLICAZIONE DELLE EMULSIONI DI PICKERING NEL CAMPO FARMACEUTICO E PROPRIETA' DELLA CURCUMINA	21
3 MODELLO MATEMATICO PER LA SIMULAZIONE DI EMULSIONI PICKERING	24
4 TEORIA DELLA CRISTALLIZZAZIONE: TECNICA PER ANTISOLVENTE	32
5 MATERIALI E METODI	34
5.1 DESIGN of EXPERIMENT (DOE).....	34
5.2 SEM: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY.....	35
5.3 ANALISI SPETTROSCOPIA RAMAN	37
5.4 DIFFRATTOMETRIA A RAGGI X.....	39
5.5 PROCEDURA DI CRISTALLIZZAZIONE	39
5.6 MISURA DELL'ANGOLO DI CONTATTO.....	42
5.7 EMULSIONI.....	44
5.7.1 EMULSIONI OLIO IN ACQUA.....	44
5.7.2 EMULSIONI ACQUA IN OLIO.....	46
5.8 SPETTROFOTOMETRO.....	47
6 RISULTATI SPERIMENTALI	49
6.1 CARATTERIZZAZIONE DEI CRISTALLI	49
6.1.1 CAMPIONE 11.1	49
6.1.2 CAMPIONE 11.2	51
6.1.3 CAMPIONE 11.3	53
6.1.4 CAMPIONE 12.1	56
6.1.5 CAMPIONE 12.2	58
6.2 ANGOLO DI CONTATTO	64
6.2.1 OLIO	64
6.2.2 ACQUA MILLIQ pH NEUTRO	65
6.2.3 ACQUA ACIDIFICATA	65
6.3 EMULSIONI ACQUA IN OLIO	68
6.3.1 CAMPIONI 1 E 2.....	68

6.3.2 CAMPIONE 4	69
6.3.3 CAMPIONE 2.1	71
6.3.4 CAMPIONE 4.1	71
6.3.5 CAMPIONE 5	72
6.3.6 CAMPIONE 6	74
6.3.7 CAMPIONE 6.2	76
6.3.9 CONSIDERAZIONI GENERALI	77
6.4 EMULSIONI ACQUA IN OLIO	77
6.4.1 CAMPIONE 3	77
6.4.2 CAMPIONE 3.1	79
6.5 DISTRIBUZIONE DI DIMENSIONI DEI CRISTALLI DI CURCUMINA MISURATI CON SLS	80
6.5.1 AGGIUNTA DI SDS	82
6.5.2 AGGIUNTA DI TWEEN	83
7 METODI NUMERICI	84
7.1 SIMULAZIONI	85
8 RISULTATI NUMERICI	87
8.1 ISTOGRAMMI	87
8.1.1: TEST 1	87
8.1.2: TEST 2	88
8.1.3: TEST 3	89
8.1.4: TEST 4	90
8.1.5: TEST 5	90
8.1.6: TEST 6	91
8.1.7: TEST 7	91
8.1.8: TEST 8	92
8.1.9: TEST 9	93
8.1.10: TEST 10	97
8.1.11: TEST 11	101
7.1 SIMULAZIONI	103
7.1.1 SUMUP_DATA_1	103
7.1.2 SUMUP_DATA_2	106
7.1.3 SUMUP_DATA_3	107
7.1.4 SUMUP_DATA_4	109
7.1.5 SUMUP_DATA_5	112
7.1.6 CONSIDERAZIONE GENERALI	114
7.1.7 KERNEL DI BREAKUP E COALESCENZA	115
8 CONCLUSIONI	118
9 BIBLIOGRAFIA	120
RINGRAZIAMENTI	123

ABSTRACT

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di studiare da un punto di vista sia modellistico che sperimentale la realizzazione di emulsioni di Pickering. Queste hanno ottenuto grande rilevanza negli ultimi anni proprio perché permettono di sostituire ai classici tensioattivi come stabilizzanti delle particelle solide di varia natura. La loro applicabilità è stata ampliata anche al campo farmaceutico, grazie alla loro capacità di aumentare la biodisponibilità orale dei farmaci destinati all'assorbimento gastrointestinale, proteggendo dalla lipolisi il principio attivo presente in formulazioni lipidiche grazie alla presenza delle particelle stesse. L'obiettivo prefissato è stato duplice: da un punto di vista sperimentale si sono realizzati dei cristalli di curcumina con la tecnica per antisolvente e caratterizzati in dimensione attraverso spettroscopia Raman e immagini al SEM. Questi sono stati in seguito utilizzati come particelle solide per la stabilizzazione sia di emulsioni olio in acqua che acqua in olio, ottenute con Ultraturrax o ultrasuoni. Le immagini al microscopio ottico hanno dimostrato che in quasi tutti i casi si è riusciti ad ottenere un ricoprimento delle gocce, più o meno spiccato a causa delle diverse quantità di curcumina utilizzate. Analizzando i campioni successivamente, si è invece visto che la stabilità a distanza di qualche mese, soprattutto delle emulsioni W/O è risultata limitata. Il modello matematico utilizzato nella trattazione è basato su un bilancio di popolazione, il quale permette di simulare un sistema di entità disperse come gocce e particelle e di tracciare l'evoluzione di una o più proprietà. I fenomeni responsabili del cambiamento di queste variabili sono la coalescenza tra gocce, la rottura e le collisioni gocce-particelle. Per risolvere il bilancio di popolazione si è optato per un algoritmo stocastico Monte Carlo event-driven e rejection-free, che sviluppandosi attraverso il campionamento di variabili random risulta efficace per studiare processi la cui evoluzione è condizionata da fattori stocastici come nel caso di un'emulsione. Il tipo di flusso è stato considerato turbolento, isotropo e omogeneo; inoltre, la popolazione è stata caratterizzata utilizzando due variabili, il diametro delle gocce e il loro grado di ricoprimento da parte delle particelle solide, le quali presentano uguale affinità verso la fase acquosa e oleosa, permettendo di considerare il loro assorbimento irreversibile. Dalla frequenza totale degli incontri del sistema si può stimare un intervallo di quiescenza (Δt), ovvero l'intervallo di tempo durante il quale non avviene alcun incontro tra gocce e la loro dimensione non cambia. Al termine di questo, e dopo aver individuato l'evento accaduto, la popolazione è stata aggiornata con la nuova frazione di ricoprimento delle gocce e il numero di particelle libere nel campione. Variando di volta in volta parametri quali la dissipazione dell'energia cinetica turbolenta, la frazione volumica di olio e di particelle si è valutata la loro influenza sull'andamento e il valore finale raggiunto dal diametro di Sauter e dalla frazione di ricoprimento. Da questi risultati si è dimostrato come sia essenziale considerare le condizioni fluidodinamiche durante la fase di produzione dell'emulsione.

INTRODUZIONE

Le emulsioni di Pickering sono sistemi composti da due fluidi immiscibili stabilizzati da particelle solide di dimensioni micro o nanometriche, di natura organica o inorganica. Un'emulsione, in generale, può essere definita come un sistema disperso, ovvero costituito da particelle di piccole dimensioni (tra 10^{-8} e 10^{-3} m) separate tra loro da un mezzo fluido. Altri esempi di sistemi di questo tipo sono gli aerosol, dove le particelle di liquido sono disperse in un gas. La caratterizzazione di un'emulsione dipende dalla dimensione delle gocce che la compongono: con nanoemulsioni si identificano tutti quei sistemi la cui dimensione delle gocce è minore di 200 nm, mentre per valori superiori fino a $100 \mu\text{m}$ si parla di macroemulsioni. La stabilità di queste è molto differente; in generale si può affermare che minore la dimensione delle gocce e maggiore risulta la stabilità del sistema [13].

Un'emulsione è considerata come un sistema instabile poiché le due fasi, di cui se ne identificano una continua e una dispersa, tendono a separarsi se non opportunamente stabilizzate. Il metodo più utilizzato per rendere le emulsioni stabili è l'impiego di agenti emulsificanti o tensioattivi che però possono dare dei problemi di biocompatibilità o tossicità, oltre a presentare stabilità limitata nel tempo.

I meccanismi di destabilizzazione di un'emulsione sono molteplici: tra questi il creaming e la sedimentazione sono dei processi reversibili solo se le interfacce delle gocce non si fondono tra loro (fenomeno della coalescenza). La flocculazione invece si verifica quando particelle stabilizzate presentano interazioni attrattive tra di loro ma le interfacce non si fondono, si ha quindi la formazione di fiocchi di aggregati di fase dispersa che rimangono in sospensione. Infine, la coalescenza consiste nella fusione di più gocce per formarne una di dimensioni maggiori, diminuendo l'area interfacciale totale. Si tratta quindi di un processo termodinamicamente favorito. In questo caso si considerano fenomeni alla scala microscopica, ovvero quando a livello delle gocce si assottiglia il film di liquido della fase continua tra due elementi che collidono. Se il sistema è in agitazione, si aggiungono anche fenomeni mesoscopici, ovvero la variazione spaziale e temporale dei fenomeni di attrito che determinano il moto del liquido [16].

Un ulteriore fenomeno che spesso può accadere è anche la maturazione di Ostwald, ovvero il trasferimento diffusivo di molecole di fase dispersa dalle gocce più piccole a quelle più grandi a causa della differenza di pressione tra l'interno di queste e la fase continua. Questo fenomeno segue la legge di Laplace:

$$\Delta P = \gamma \left(\frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right) \quad (\text{I.1})$$

dove la differenza di pressione è calcolata tra l'interno e l'esterno della goccia, γ rappresenta la tensione interfacciale [N/m] e i raggi di curvatura sono entrambi pari a r per una geometria sferica. Per le emulsioni stabilizzate da tensioattivi, ci sono in genere due parametri chiave che governano il fenomeno: la solubilità della fase dispersa in quella continua e il diametro delle gocce responsabile

della differenza di pressione. Più la fase dispersa è insolubile in quella continua, più il fenomeno di maturazione di Ostwald è sfavorito.

Per ostacolare tutti questi fenomeni di destabilizzazione si è scoperto che al posto dei tensioattivi è possibile utilizzare delle particelle solide che si ancorano in modo irreversibile all'interfaccia fra le fasi immiscibili. Il loro ingombro sterico, se la frazione di ricoprimento è inferiore al massimo ammissibile, impedisce la fusione di gocce sfavorendo quindi tutti i meccanismi di destabilizzazione. In generale, emulsioni in scala nanometrica sono da preferire poiché tutti i fenomeni di destabilizzazione sono più lenti in quanto le forze intermolecolari di Van der Waals o il moto Browniano delle particelle risultano più intensi della forza di Stokes o quella gravitazionale [13].

Sperimentalmente la stabilità delle emulsioni di Pickering può essere investigata in due modi: confrontando i valori di diametro di Sauter tra il momento di preparazione e un certo intervallo di tempo o quantificando la quantità di olio ed emulsione in seguito a centrifugazione. [7]

Il primo a descrivere formalmente questa tecnologia innovativa che consiste nel sostituire ai tensioattivi delle particelle solide fu proprio Percival Spencer Umfreville (Spencer) Pickering nel 1907, anche se questo effetto è stato osservato per la prima volta da Walter Ramsden nel 1903, il quale affermò che la presenza di uno strato di particelle in superficie di bolle di olio o aria ne aumentava la stabilità in acqua. Il termine stabilità si riferisce proprio alla capacità dell'emulsione di resistere a cambiamenti chimico-fisici nel tempo ed è molto importante raggiungerla per diversi scopi. Tra alcuni esperimenti di stabilizzazione effettuati, ha riscosso particolare interesse l'utilizzo di particelle di Janus, ovvero nanoparticelle o microparticelle la cui superficie può avere due o più proprietà chimico-fisiche distinte. Nel caso delle emulsioni si cerca di sfruttare il dualismo idrofobico-idrofilo di queste particelle. [18]

Nel caso di emulsioni contenenti acqua e olio si sfrutta la natura anfifilica delle particelle solide per favorirne il posizionamento all'interfaccia tra le due fasi immiscibile, in maniera analoga ai tensioattivi.

1 CENNI TEORICI

1.1 CARATTERISTICHE DEL FENOMENO DI STABILIZZAZIONE DI PICKERING E PARAMETRI DI INFLUENZA

Per la realizzazione di un'emulsione di Pickering e per valutarne la sua stabilità, ci sono numerosi fattori da tenere in considerazione, come la dimensione, concentrazione, disposizione e bagnabilità delle particelle e il pH della soluzione acquosa.

La bagnabilità di una particella può essere valutata misurando l'angolo di contatto tra questa e l'interfaccia considerata, calcolabile con la legge di Young:

$$\cos\theta = \frac{\gamma_{po} - \gamma_{pw}}{\gamma_{ow}} \quad (1.1)$$

dove le γ rappresentano la tensione interfacciale tra particella-olio, particella-acqua e olio-acqua.

Grazie a questa grandezza è possibile determinare il tipo di emulsione (W/O o O/W) più consona da realizzare, poiché la fase che bagna di più la superficie della particella tenderà ad essere la fase continua. In sintesi, come indicato nelle condizioni di figura 1 [20], le particelle con un angolo di contatto minore di 90° hanno tendenza idrofila e formano preferibilmente emulsioni O/W, mentre un angolo maggiore di 90° è indice di una tendenza idrofobica della particella e quindi formazione di emulsioni W/O.

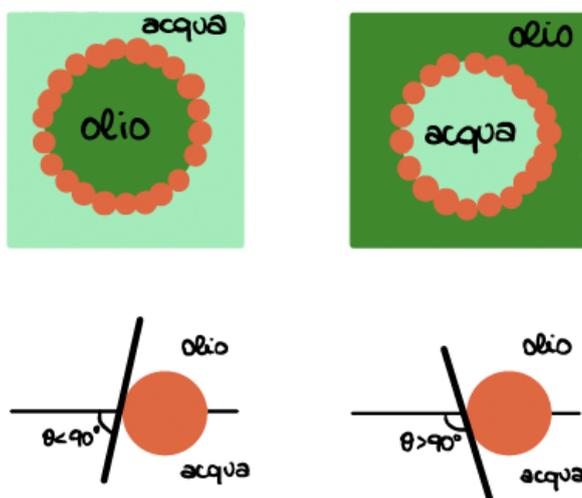


Figura 1: influenza dell'angolo di contatto trifase sul tipo di emulsione

Per fare un parallelismo con il classico metodo per stabilizzare le emulsioni, l'angolo di contatto può considerarsi analogo al valore *hydrophilic-lipophilic balance* (HLB) dei surfattanti. Griffin ha definito un modo per calcolare questo parametro, ovvero rapportando la massa molecolare della porzione idrofila della molecola alla massa molecolare dell'intera molecola. Un valore di HLB corrispondente

a 0 descrive una molecola completamente lipofila, mentre un valore HLB di 20 corrisponde ad una molecola totalmente idrofila.

Il meccanismo di stabilizzazione delle emulsioni di Pickering consiste nell'assorbimento delle particelle all'interfaccia acqua-olio, con conseguente formazione di uno strato singolo o multiplo che si dispone sulla superficie della fase dispersa. In alcuni casi si ha anche un network tridimensionale di particelle in fase continua che riduce i fenomeni di coalescenza e sedimentazione. Nella figura 2 si mettono a confronto i diversi sistemi utilizzati per stabilizzare le emulsioni: i surfattanti si dispongono in un singolo strato all'interfaccia fra le due fasi, con la testa idrofila a contatto con la fase acquosa e la coda idrofobica con quella oleosa. Le particelle colloidali di forma idealmente sferica formano anche in questo caso uno strato singolo compatto e regolare, ma che potrebbe non permettere un ricoprimento totale dell'interfaccia proprio a causa dell'ingombro sterico di ogni particella. Infine, i polimeri, così come alcuni cristalli o particelle di forma allungata, possono formare uno strato meno regolare rispetto ai surfattanti ma con impaccamento più denso

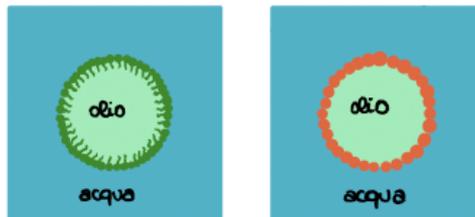


Figura 2: differenze nel metodo di stabilizzazione da parte di tensiattivi e particelle solide sferiche

Per stimare la stabilità termodinamica di queste emulsioni è importante calcolare l'energia di adsorbimento delle particelle solide di raggio r all'interfaccia [18]:

$$\Delta G_d = \pi r^2 \gamma_{ow} (1 - |\cos\theta|)^2 \quad (1.2)$$

ovvero l'energia necessaria a rimuovere una particella sferica da un'interfaccia acqua olio (γ_{ow}) caratterizzata da un determinato angolo di contatto trifasico. Dalla formula è possibile notare che il caso di angolo pari a 90° necessita di energia maggiore. In ogni caso, però, questo valore risulta maggiore rispetto all'energia termica di agitazione delle molecole calcolata a 273K, per cui si può considerare che le particelle siano irreversibilmente ancorate all'interfaccia, poiché il moto di agitazione termica non è sufficiente a contrastare l'energia di adsorbimento. Anche la velocità di adsorbimento all'interfaccia è un parametro chiave, poiché se questo valore risulta minore della velocità di coalescenza delle gocce, questo fenomeno di destabilizzazione può avvenire prima che queste siano effettivamente ricoperte di particelle solide.

Tra i principali parametri da tenere in considerazione nella creazione di un'emulsione c'è la scelta del tipo di olio e il rapporto tra questo e la quantità di acqua da utilizzare, che definisce l'area interfaciale totale. Ogni sostanza ha una propria tensione superficiale, la quale influisce sull'angolo di contatto e quindi sul tipo di emulsione che è possibile preparare e sulla sua stabilità. Anche la

viscosità dell'olio è molto importante nel determinare la dimensione delle gocce, poiché influisce sulla velocità diffusiva di queste e sulla capacità e rapidità velocità di assorbimento delle particelle solide. [21]

A parità di quantità di solido utilizzata, è stato dimostrato che una maggiore frazione di fase dispersa comporta una dimensione delle gocce maggiore, che può risultare problematica se viene superata una certa dimensione, e quindi area superficiale, per cui la quantità di solido disponibile non è in grado di stabilizzare l'emulsione. Se la quantità di fase dispersa e continua è simile, si può incorrere in una inversione di fase emulsificata, ovvero un cambiamento del tipo di emulsione da O/W a W/O o viceversa. Inoltre, è importante scegliere la fase all'interno della quale disperdere le particelle di solido in base alla loro natura idrofila o idrofobica.

In generale è importante studiare la correlazione tra la concentrazione di particelle solide di definite dimensioni e forma e la dimensione delle gocce di fase dispersa. Sono stati identificati tre regimi a basse, intermedie e alte concentrazioni di particelle, poi correlati all'area interfacciale creata durante il processo di emulsione. In generale, le gocce possono coalescere finché non sono sufficientemente ricoperte di particelle: le emulsioni risultanti presentano una distribuzione omogenea delle dimensioni delle gocce, direttamente al grado di copertura delle gocce (C). Tale fenomeno è rappresentato dalla seguente equazione:

$$\frac{1}{D} = \frac{m_p a_p}{6C\rho_p V_d \vartheta_p} \quad (1.2)$$

nella quale compaiono a numeratore massa (m_p) e area proiettata (a_p) all'interfaccia della particella e a denominatore i volumi di fase dispersa (V_d), la densità delle particelle (ρ_p) e la frazione di ricoprimento delle gocce (ϑ_p). [13] Una quantità di particelle troppo piccola può portare ad instabilità poiché avviene coalescenza prima che si raggiunga il ricoprimento necessario alla stabilizzazione. Al contrario, se la quantità di particelle è troppo elevata possono accadere due fenomeni: le particelle stabilizzano gocce di qualsiasi dimensione immediatamente, risultando in un'elevata eterogeneità del campione; oppure, come già accennato, possono crearsi dei ponti di particelle solide tra gocce adiacenti che invece facilitano la stabilizzazione. In alcuni casi è sufficiente una piccola frazione di solido per raggiungere stabilità, ovvero sulla superficie delle gocce possono crearsi zone densamente impaccate e altre meno (o addirittura prive di particelle), mantenendo comunque una stabilità sufficiente.

Il modello per la descrizione del processo di emulsificazione preso in considerazione in questo lavoro utilizza particelle di forma sferica che permettono una modellazione matematica molto più semplice. Sviluppi successivi del modello proposto potrebbero implementare particelle come fibre, cubi, cristalli di forma varia e nanogel deformabili, con i quali è però risulta più complessa la modellazione e il calcolo dell'energia di adsorbimento. Un parametro importante che entra in gioco con geometrie non sferiche è l'aspect ratio delle particelle solide, ovvero il rapporto tra le due dimensioni principali (lunghezza e larghezza). È stato dimostrato che per mantenere una stabilità maggiore sono da preferire particelle con elevati aspect ratio poiché ogni singola particella può ricoprire porzioni d'interfaccia

maggiori rispetto ad una geometria sferica. D'altro canto, considerando che la struttura di queste risulta più rigida, per ottenere un maggiore effetto di ancoraggio sono state studiate particelle deformabili, che meglio seguono la superficie curva della goccia ma che però presentano problemi per il calcolo dell'angolo di contatto proprio a causa della loro mutabilità nel tempo.

La caratterizzazione morfologica di particelle non sferiche risulta spesso complessa e non univoca, soprattutto per particelle non isometriche, ovvero che presentano forme particolarmente allungate e che si discostano molto dall'idealità sferica.

In questo caso è necessario definire un diametro equivalente della particella, che può essere espresso in differenti modi e le cui descrizioni rientrano in una delle tre grandi famiglie: geometrici, fluidodinamici e basati su algoritmi di analisi di immagini.

Nel primo gruppo rientrano il diametro volumico, superficiale e superficiale-volumico, rispettivamente i valori di diametro della sfera equivalente avente stesso volume, superficie e rapporto superficie/volume della particella considerata.

Tra i diametri fluidodinamici rientrano quello aerodinamico e di Stokes: il primo rappresenta il diametro della sfera solida di densità unitaria che ha la stessa velocità di caduta libera della particella immersa in un fluido con stessa densità e viscosità della fase continua; il secondo invece il diametro della sfera solida che ha la stessa velocità di caduta libera e densità della particella immersa nel fluido di stessa densità e viscosità della fase continua. Infine, l'ultima categoria comprende il diametro esterno, di Feret e Martin.

Il diametro esterno (fig. 3) [28] è ottenuto considerando quello del cerchio più piccolo che inscrive totalmente la particella in una sua proiezione 2D (per esempio una immagine del microscopio ottico).

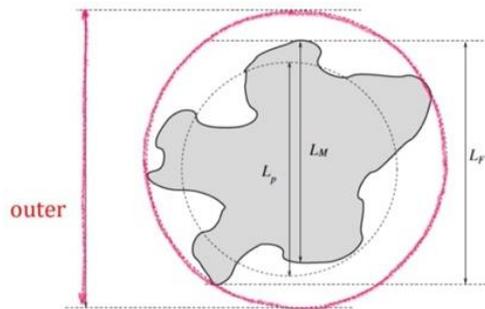


Figura 3 [28]: diametro esterno

Il diametro di Feret (fig. 4) [28] è calcolato considerando la distanza tra due linee parallele tangenti al profilo esterno della particella proiettato in una direzione fissata.

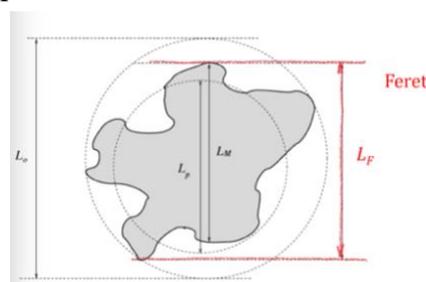


Figura 4 [28]: diametro di Feret

Infine, il diametro di Martin (fig. 5) [28] si ottiene fissando una direzione e costruendo delle corde parallele ad essa che attraversano le particelle; di questi infiniti elementi si sceglie quello che divide l'area proiettata della particella in due parti uguali.

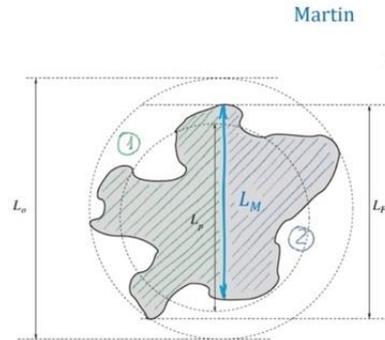


Figura 5 [28]: diametro di Martin

Anche la rugosità superficiale (micro e macro) delle particelle è importante, poiché può far variare il valore di superficie esposta e anche questo può influire sull'angolo di contatto. Nel caso di micro-asperità il valore dell'angolo di contatto viene calcolato allo stesso modo ma deve essere moltiplicato per un fattore correttivo r dato dal rapporto tra l'area della superficie reale ruvida e quella stessa idealmente liscia, risultando quindi in:

$$\cos\theta = r\cos\theta_0 \quad (1.3)$$

Essendo r sempre maggiore di 1, maggiore rugosità aumenta la bagnabilità di una superficie già bagnabile da un liquido e diminuisce la bagnabilità di una superficie già non bagnabile.

Le asperità di dimensioni maggiori possono influire sul valore di angolo di contatto anche per decine di gradi, in base a dove si trova il punto di contatto della goccia rispetto alla rugosità (fig. 6) [28]. Questo fenomeno viene chiamato isteresi e l'angolo di contatto che si considera è definito apparente, nella figura seguente si evidenzia proprio la non univocità di questo valore θ_0 .

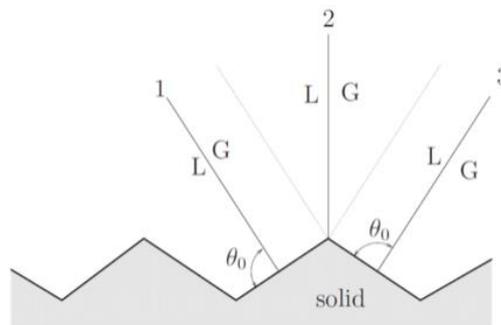


Figura 6 [28]: misura dell'angolo di contatto rispetto alle rugosità superficiali

La carica superficiale delle particelle solide è un ulteriore parametro che influenza la stabilità delle emulsioni di Pickering, in caso di scarso o lento adsorbimento di particelle all'interfaccia, diventa importante il ruolo delle repulsioni elettrostatiche tra queste. In particolare, si è dimostrato un miglioramento della stabilità con la diminuzione della carica superficiale e quindi della forza delle interazioni tra particelle. In generale, si può agire sulla carica superficiale delle particelle diminuendone la densità o aumentando la forza ionica delle fasi liquide. Variando il pH o la concentrazione di sali, infatti, si varia il potenziale zeta delle particelle, che influisce a sua volta sull'angolo di contatto. Inoltre, una variazione del pH influisce anche sul tipo di interazione che si instaura tra due particelle, che può addirittura passare da attrattiva a repulsiva e viceversa. [21]

Tutti questi parametri citati sono interconnessi e possono influenzare natura chimica superficiale delle particelle e, di conseguenza, l'emulsione ottenuta e la sua stabilità.

1.2 APPARECCHIATURE PER LA PREPARAZIONE DELLE EMULSIONI

1.2.1 ULTRATURRAX

Uno degli strumenti più utilizzati per la preparazione di queste emulsioni è il *rotor stator mixer*, ovvero uno strumento costituito da un'asta metallica con delle lame rotanti nella parte inferiore, che può generare rotazione ad elevati rpm (da 5000 fino a 30000). Come mostrato in figura 7, nella parte più esterna è presente una guaina che ha il compito di omogeneizzare il campione grazie agli elevati sforzi di taglio che causano la rottura delle gocce di fase dispersa.

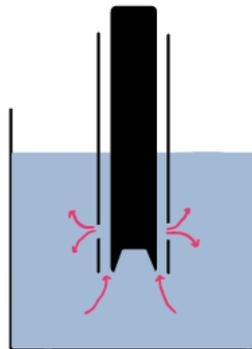


Figura 7 [riprodotta da 19]: struttura omogeneizzatore rotor-stator

Nei sistemi *rotor-stator* viene generato un flusso turbolento con formazione di vortici aventi diverse dimensioni. La funzione del mixer è quella di spostare delle porzioni di fluido dalla periferia del becker verso la zona interna del rotore, grazie alla formazione di una zona di depressione, per poi espellerle ad elevata velocità e quindi alto sforzo di taglio attraverso le fessure presenti sul fondo dello statore. In generale è possibile identificare tre diversi meccanismi rilevanti nella rottura della fase dispersa con Ultraturrax: ricircolazione all'interno dei fori del rotore, l'effetto "ghigliottina" dovuto al passaggio attraverso la regione rotore-statore e infine la ricircolazione del fluido indotta dai getti creati dai fori dello statore.

La combinazione di questi fenomeni permette di ottenere gocce di piccola dimensione proprio grazie agli elevati sforzi fluidodinamici. In generale, maggiore lo sforzo applicato, minore è la dimensione delle gocce, questo comporta un aumento dell'area interfacciale e diminuzione della tensione superficiale, che permettono di aumentare la stabilità dell'emulsione. Questo valore di sforzo non deve essere però troppo elevato poiché potrebbe far prevalere l'effetto della coalescenza [20].

Studiando il campo di moto di un fluido che passa attraverso un sistema di rotore-statore, con metodi di fluidodinamica computazionale, si può osservare l'andamento della dissipazione di energia dovuta ai vortici turbolenti e delle velocità radiali ed assiali del fluido. La dissipazione di energia è massima all'interno del sistema rotore-statore e minima all'esterno dello statore. Ciò è spiegabile attraverso i motivi prima evidenziati; per cui il ricircolo di liquido all'interno del sistema è il maggiore responsabile della formazione delle gocce. La velocità assiale ha un andamento simile al comportamento appena descritto, raggiungendo il valore massimo all'interno del rotore e in tutte le

fessure dello statore. La velocità radiale è invece influenzata dalla depressione precedentemente descritta che si crea all'interno del sistema: inizialmente all'interno del rotore sono presenti zone a velocità radiale massima e minima che permettono la ricircolazione del fluido, poi all'interno di esso si stabilizza una velocità negativa e massima in prossimità dei fori dello *statore*.

Durante il processo di omogeneizzazione, viene generata nuova area interfacciale attraverso la rottura delle gocce di fase dispersa, solo successivamente le particelle solide vengono adsorbite all'interfaccia appena generata. La distribuzione delle dimensioni delle gocce dipende quindi dalla velocità e del tempo di dispersione, che determinano la capacità di generazione di interfaccia e di copertura determinata dalla capacità di adsorbimento delle particelle. [9]

Sono infatti da considerare diversi scenari possibili: quando la frazione di particelle in soluzione è abbastanza elevata da coprire completamente le gocce e considerarle stabili, la distribuzione di dimensione è determinata dalla capacità di formazione di nuova interfaccia; quando invece questa frazione è bassa, avviene una coalescenza limitata delle gocce finché non viene raggiunta la massima capacità di ricoprimento ammessa dal sistema e che dipende dalla concentrazione di particelle solide. [7,22]

Finché le gocce sono parzialmente ricoperte gli eventi di coalescenza e rottura continuano a susseguirsi, fino a raggiungere una condizione di stabilità e ricoprimento massima. A questa condizione si devono considerare due casi: se le gocce sono abbastanza piccole, esiste una soglia oltre la quale la rottura di fase dispersa non può più avvenire ad un dato valore di energia fornita, mentre se le dimensioni sono maggiori, un ulteriore passaggio nella testa di miscelazione può portare ad ulteriore rottura nonostante la stabilità precedentemente raggiunta [22].

I parametri da tenere in considerazione in questo tipo di sistema, per poter fare considerazioni sulla dimensione media delle gocce sono la dimensione della testa di dispersione [8], il volume di campione, la velocità e il tempo di dispersione. Velocità e tempi maggiori permettono di ottenere dimensioni delle gocce minori; in particolare, per una velocità di dispersione costante, esiste un tempo di dispersione critico per raggiungere una dimensione minima media delle gocce. Volumi troppo elevati di soluzione potrebbero invece portare ad una omogeneizzazione non sufficiente, con delle dimensioni delle gocce elevate e distribuzioni disomogenee. A prescindere dal sistema utilizzato, la dimensione media delle gocce ottenuta risulta sicuramente limitata anche dalla concentrazione delle particelle: l'adsorbimento delle particelle all'interfaccia può sia ridurre i tassi di coalescenza che influenzare i fenomeni di rottura nella preparazione dell'emulsione di Pickering, a causa della rigidità delle particelle solide. Le differenze nelle dimensioni delle gocce possono essere infine spiegate dal rapporto olio-acqua, dalle proprietà della fase oleosa e dalle differenze nel tipo e quantità di particelle. Questa tecnologia è di facile installazione e pulizia, si ottiene velocemente una buona emulsione e si può lavorare con elevati volumi e con diversi tipi di liquidi anche abbastanza viscosi [20]. Gli svantaggi dell'Ultraturrax risiedono invece nel fatto che tecnologie in continuo di questa operazione sono molto costose e quindi si lavora spesso con un solo campione alla volta; inoltre, gli elevati sforzi possono causare la rottura degli aggregati solidi e quindi una distribuzione disomogenea delle particelle, oltre ad un aumento locale della temperatura, entrambe svantaggiose.

In generale, lo scopo principale degli studi sulle emulsioni ottenute attraverso Ultraturrax è quello di determinare come la velocità e il tempo di dispersione, così come il volume di liquido utilizzati possano influenzare la distribuzione di dimensioni delle gocce, la stabilità e la reologia dell'emulsione stessa [7].

1.2.2 OMOGENEIZZATORE AD ALTA PRESSIONE

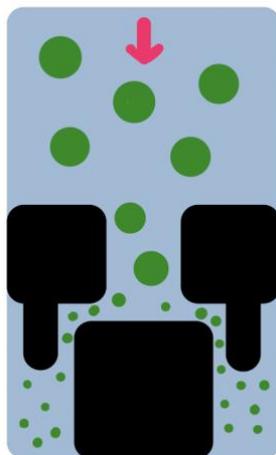


Figura 8 [riprodotta da 19]: struttura schematica dell'omogeneizzatore ad alta pressione

L'omogeneizzatore ad alta pressione è un'altra tecnologia per emulsificazione in continuo [19], ma non molto utilizzata nella preparazione delle emulsioni di Pickering poiché è spesso necessaria la preparazione di una pre-emulsione con il rotor-stator, allungando quindi i tempi totali di preparazione. Il sistema mostrato in figura 8 [19] consiste in una pompa ad alta pressione e un ugello necessario per l'omogeneizzazione, all'interno del quale vengono inserite l'emulsione precedentemente preparata e le particelle solide. Le pressioni raggiunte sono solitamente di 10-100 MPa.

Questo metodo permette di ottenere gocce molto piccole rispetto al caso del rotor-stator, ma maggiore la pressione esercitata, più lungo sarà il tempo necessario per l'omogeneizzazione perché la dimensione delle gocce risulta essere minore. Questo sistema necessita di un grande apporto di energia ed elevati costi di mantenimento; inoltre, si può utilizzare solamente con emulsioni molto diluite e a ridotta viscosità, sono soprattutto da evitare emulsioni contenenti particelle che possono risultare abrasive.

1.2.3 ULTRASUONI

Un altro metodo molto efficace ma poco utilizzato sono gli ultrasuoni, onde di pressione con frequenza tra i 16 e 100 kHz. Le configurazioni possono essere di tipo sonda o bagno termostato, in ogni caso si sfrutta il fenomeno della cavitazione, ovvero la formazione di bolle che crescono fino

alla loro dimensione di risonanza, poi implodendo. Questo evento causa la formazione di *hot-spot* locali di alta temperatura e pressione con rilascio di onde d'urto di pressione [13].

La sonda, spesso in titanio, vibra grazie ad un trasduttore contenente un cristallo piezoelettrico che converte energia elettrica in movimenti meccanici ad alta frequenza. La dimensione delle gocce che si possono ottenere in questo caso è molto ridotta, per questo motivo il metodo si ritiene estremamente efficiente, ma è spesso necessario accoppiarlo ad una miscelazione preventiva alla sola sonicazione, poiché le onde potrebbero non raggiungere tutte le zone del campione allo stesso modo, comportando una disomogeneità nella distribuzione di dimensione delle gocce ottenute. La cavitazione e gli sforzi ottenuti dagli ultrasuoni promuovono l'adsorbimento di particelle solide all'interfaccia bifasica e aumentano quindi la stabilità dell'emulsione.

I principali vantaggi di un'emulsificazione con ultrasuoni sono: la facilità di configurazione e la rapidità del processo, oltre alla possibilità di preparare emulsioni di Pickering con gocce di dimensione nanometrica anche con piccole quantità di liquido.

D'altra parte, gli svantaggi del processo sono il rischio di rottura delle particelle solide coinvolte, l'importante incremento di temperatura che può avvenire se il processo avviene per tempi lunghi ed infine la difficoltà nel portare questa tecnica su scala industriale. [19]

Negli esperimenti qui in seguito riportati, questa apparecchiatura è stata solamente utilizzata per la formazione delle emulsioni. Nel caso della cristallizzazione però potrebbe risultare un buon strumento che permette di avere una nucleazione rapida ed uniforme e di avere rottura di gran parte degli agglomerati formatosi. [27]

1.2.4 MEMBRANE

Per la creazione di emulsioni si possono anche utilizzare delle membrane, attraverso la tecnologia goccia-goccia, dove le configurazioni più utilizzate sono la *direct membrane emulsification* e la *premix membrane emulsification*, rappresentate nella figura 13.

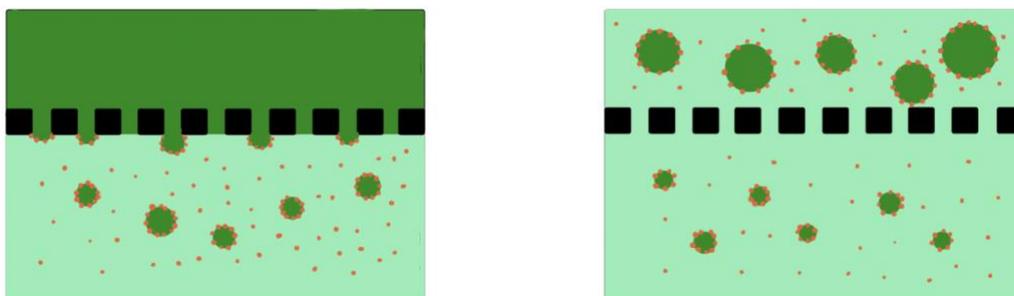


Figura 9 [riprodotta da 19]: *direct membrane emulsification* (a) e *premix membrane emulsification* (b)

Nel primo caso (fig. 9a) si forza a passare la fase dispersa attraverso una membrana microporosa, verso la fase continua nella quale sono disperse le particelle solide. Nel secondo caso invece il passaggio attraverso la membrana avviene già ad emulsione formata (fig. 9b), con lo scopo di diminuire la dimensione delle gocce di fase dispersa.

In seguito, sono state poi ideate delle tecnologie più complesse, ovvero dei sistemi che permettono di separare le gocce dalla superficie della membrana sfruttando ad esempio la vibrazione o rotazione della membrana, come nel caso di *rotational membrane emulsification* e *vibrational membrane emulsification*.

Nel caso della *cross-flow membrane emulsification* [29] di figura 10, la soluzione attraversa la membrana con un flusso tangenziale e non più ortogonale, migliorando le prestazioni e evitando fenomeni di intasamento della membrana.

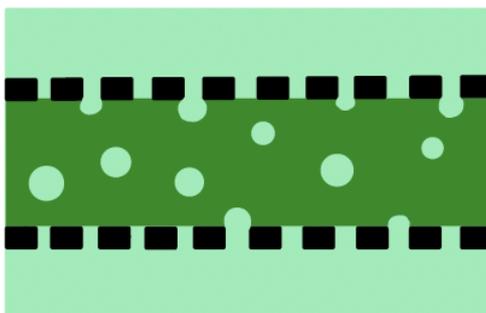


Figura 10 [riprodotta da 29]: principio di funzionamento della cross-flow membrane emulsification

La dimensione delle particelle che si ottengono è determinata dalla porosità della membrana ed è in genere abbastanza controllabile, ottenendo un'emulsione teoricamente monodispersa. Gli sforzi a cui è sottoposto il campione sono modesti e questo permette una ridotta rottura delle particelle solide ed evita la formazione di surriscaldamenti locali. Un parametro fondamentale da tenere sotto controllo in questo caso è la velocità di iniezione, al diminuire di questo parametro la dimensione delle gocce risulta minore e più omogenea. Nei sistemi più complessi, anche la velocità di rotazione che si utilizza per staccare le gocce dalla superficie della membrana ha una notevole importanza. Infatti, aumentandola, si può avere una riduzione della dimensione delle gocce, perché il distacco risulta favorito dalla maggiore forza centripeta. Velocità minori permettono invece a gocce molto vicine di coalescere e quindi di ottenere dimensioni maggiori della fase dispersa.

Rispetto alle tecniche precedentemente presentate l'emulsificazione con membrane presenta questi vantaggi: è una tecnica particolarmente adatta a prodotti termosensibili e sensibili agli sforzi di taglio, riducendo quindi il rischio di degradazione (chimica o termica) o rottura delle particelle. Si può ottenere un'emulsione controllata nelle dimensioni e il consumo di energia è basso, permettendo di ridurre molto i costi di processo. D'altra parte, è una tecnica che comporta alti tempi di processo ed adatta solamente a sistemi poco viscosi. [19]

1.2.5 MICROFLUIDIC DEVICES

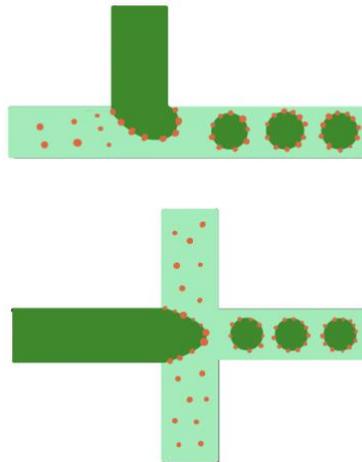


Figura 11 [riprodotta da 19]: confronto tra due diverse configurazioni per la preparazione di emulsioni Pickering: T-junction (a) e flow focusing (b)

Un ulteriore tipo di tecnologia goccia-goccia utilizzata sono i dispositivi microfluidici, costituiti da canali di diametro micrometrico disposti in una particolare geometria che permette ai fluidi di miscelarsi. Le configurazioni più utilizzate sono la *T-junction*, dove la fase continua scorre perpendicolarmente ad un altro tubo nel quale viene forzata a passare la fase dispersa (fig. 11a), e la *flow focusing* (fig. 11b) dove la fase dispersa forma prima un getto, poi delle gocce nella fase continua, la quale scorre parallelamente ad essa insieme alle particelle disperse.

In questo caso è molto importante garantire il tempo necessario alle particelle solide di adsorbirsi sulle gocce di fase dispersa prima che le due fasi entrino in contatto. Questa variabile, e quindi di conseguenza la dimensione delle gocce possono essere regolate variando la portata del fluido o geometria dei canali. In questo caso sono sufficienti piccoli volumi di soluzione per la formazione del prodotto di interesse, sono inoltre presenti tutti i vantaggi già visti nel caso precedente. I tempi di lavoro sono però spesso molto lunghi e i fluidi utilizzati devono avere bassa viscosità per evitare ulteriori rallentamenti delle operazioni. Anche in questo caso si possono ben controllare le dimensioni delle gocce e la polidispersità del campione risulta anche minore del caso delle membrane. [19]

1.3 TIPOLOGIE DI PARTICELLE MAGGIORMENTE UTILIZZATE PER EMULSIONI PICKERING

Per poter studiare la stabilizzazione di queste emulsioni, sono stati fatti numerosi esperimenti con l'utilizzo di particelle di diverse sostanze, di origine naturale o meno. In seguito, si riporta una breve trattazione per completezza e successivi sviluppi.

1.3.1 CELLULOSA

I polisaccaridi sono polimeri naturali ad alto peso molecolare costituiti da catene di monosaccaridi uniti tra loro da legami glicosidici. Non presentando tossicità, sono estremamente biocompatibili ed hanno riscosso successo come stabilizzanti per emulsioni grazie ai tre diversi meccanismi con cui possono agire a questo scopo. In primo luogo, questi offrono un ingombro sterico intorno alle gocce, ma possono fornire un ulteriore effetto stabilizzante con gruppi idrofobici o frazioni di proteine, formando uno strato viscoelastico assorbito all'interfaccia. Inoltre, possono influire sulla viscosità della soluzione, aumentandola e sfavorendo quindi il fenomeno della coalescenza. [20]

La cellulosa rappresenta uno dei biopolimeri più abbondanti presenti in natura, si trova nella parete cellulare di piante e presenta una struttura divisa in domini cristallini e amorfi. Può essere sintetizzata anche da alcuni tipi di batteri come dell'*Acetohacter Xylinum* ed è stato dimostrato che questa forma presenta maggior robustezza e capacità di formare una rete rispetto a quella estratta dalle piante, è quindi da preferire nel caso di utilizzo come stabilizzante. Dal punto di vista farmaceutico viene utilizzata in formulazioni sotto forma di eccipiente per formulazioni orali per uso oftalmico o per preparazioni iniettabili. Risulta una sostanza molto versatile poiché la sua morfologia è modificabile grazie alla presenza di gruppi idrossilici reattivi che influenzano l'area superficiale dei nanocristalli. [18] Inoltre, grazie a reazioni di esterificazione, ossidazione, cationizzazione, si può variare l'idrofobicità delle particelle. Essendo la cellulosa insolubile in acqua, e presentandosi sotto forma di particelle nanometriche con differenti aspect ratio, è stata considerata una buona alternativa per la stabilizzazione delle emulsioni di Pickering. [20]

1.3.2 CICLODESTRINE

Le ciclodestrine sono oligosaccaridi ciclici derivati dall'idrolisi dell'amido operata dall'enzima glicosiltransferasi. Queste si dividono in tre tipi, in base al numero di unità di glucosio collegate da legami glicosidici. L'efficienza delle ciclodestrine per l'incapsulamento di principi attivi senza necessità di legami covalenti sta nella sua struttura molecolare a forma di cono con una cavità idrofoba di dimensioni nanometriche. Queste molecole non presentano attività superficiale in acqua, ma possono formare complessi anfifilici con l'olio grazie all'angolo di contatto trifase di circa 90°. Vengono usate in ambito farmaceutico come eccipienti per aumentare la solubilità acquosa, la stabilità e la biodisponibilità di preparazioni mediche, trovano anche un buon utilizzo per ridurre l'irritazione gastrointestinale. [18]

1.3.3 CHITINA E CHITOSANO

La chitina viene estratta dall'esoscheletro degli artropodi come i crostacei: a partire da questa attraverso una reazione di deacetilazione è possibile ottenere il chitosano. [19] Quest'ultimo viene già utilizzato in ambito farmaceutico soprattutto per somministrazioni orali, nasali, parentali e oftalmiche, grazie alle sue proprietà antibatteriche. La superficie della chitina è molto sensibile al pH e può essere facilmente modificata grazie ai numerosi gruppi idrossili reattivi. Infatti, è solubile in acqua a basso pH, grazie alla protonazione dei gruppi amminici che sono caricati positivamente ed è invece insolubile in acqua a pH superiore a 6,5; poiché i suoi gruppi amminici diventano deprotonati e non carichi.

Le emulsioni di Pickering possono essere stabilizzate ad esempio da particelle di chitosano auto aggregate, nanocristalli di chitina o da un composto di chitosano e proteine in forma di gel.

Le nanoparticelle di chitosano possono essere preparate con tecniche come gelificazione ionica o emulsione-diffusione-evaporazione. Per quanto riguarda la dimensione delle particelle, si può ridurre abbassando il peso molecolare attraverso l'idrolisi enzimatica o chimica, altrimenti utilizzando dei pretrattamenti ad ultrasuoni.

I nanocristalli di chitina, che hanno forma di piccole aste, sono di solito preparati distruggendo la regione amorfa grazie a reazioni di idrolisi acida. Tzoumaki et al. hanno dimostrato un potenziale utilizzo delle emulsioni di Pickering stabilizzate con nanocristalli di chitina, notando la sua capacità in vitro di rallentare la digestione lipidica. Questi sistemi potrebbero essere utilizzati in vivo per trattare l'obesità, riducendo l'appetito e promuovendo la sazietà. [18]

2 APPLICAZIONE DELLE EMULSIONI DI PICKERING NEL CAMPO FARMACEUTICO E PROPRIETA' DELLA CURCUMINA

Un problema attuale nella formulazione di nuovi farmaci e nella loro somministrazione per via orale è il miglioramento dell'assorbimento e dissoluzione, spesso poco efficaci a causa della scarsa solubilità e permeabilità dei nuovi principi attivi. Le emulsioni di Pickering hanno trovato applicazione anche in campo farmaceutico, dove sono studiate per l'incapsulamento di principi attivi. Il principio di rilascio è basato sul fatto che queste emulsioni vengono destabilizzate quando ingerite a causa della sensibilità delle particelle al pH del tratto gastro-intestinale o alla temperatura del corpo umano. Quando le emulsioni hanno dimensioni nanometriche, il rapporto tra l'area specifica e il volume di ogni goccia è molto piccolo e di conseguenza queste hanno una maggiore sensibilità all'ambiente in cui si trovano, rilasciando più facilmente i principi attivi incapsulati [13].

Secondo il sistema di classificazione dei biofarmaci, la classe IV di medicinali presenta una serie di caratteristiche critiche sfavorevoli alla somministrazione orale come bassa solubilità in fase acquosa, bassa permeabilità, basso assorbimento nel tratto gastro-intestinale, variabilità nella disponibilità in base al metodo di somministrazione e influenza dell'ingerimento di cibo sulla loro efficacia d'azione. La biodisponibilità di un composto bioattivo dipende dal percorso che questo compie per essere immessi nel sistema circolatorio. Questo valore può essere calcolato attraverso una formula tratta dal *Nutraceutical Bioavailability Classification Scheme*:

$$BA = B^* \times A^* \times T^* \times D^* \times E^* \quad (2.1)$$

dove I termini moltiplicativi rappresentano rispettivamente le classi di appartenenza della sostanza in termini di accessibilità, assorbimento, trasformazione, distribuzione ed escrezione. BA rappresenta quindi la frazione ingerita di un composto biologicamente attivo che raggiunge il sito di azione. [23] Le emulsioni di Pickering hanno riscosso particolare interesse per la loro capacità di aumentare la biodisponibilità orale dei farmaci di questa categoria destinati all'assorbimento gastrointestinale, imitando la digestione e l'assorbimento di formulazioni lipidiche. Queste formulazioni subiscono infatti una lipolisi completa nel tratto gastrointestinale, i prodotti della digestione formano micelle contenenti sali biliari e fosfolipidi endogeni, che solubilizzano i farmaci e ne migliorano l'assorbimento.

Attualmente sono disponibili due set-up sperimentali di lipolisi in vitro per poter capire il comportamento delle emulsioni di Pickering: il modello di lipolisi pH-stat e il modello gastrointestinale (TIM) sviluppato dall'organizzazione di ricerca TNO [10].

Il modello statico utilizza un recipiente contenente un fluido intestinale modello; il processo di lipolisi è monitorato dalla quantità di NaOH necessaria per neutralizzare gli acidi grassi liberi rilasciati e misurata con un misuratore di pH. Al termine della digestione si separano le tre fasi del campione: quella olosa a bassa dispersione, quella micellare a bassa dispersione e il pellet precipitato. La

biodisponibilità si calcola come la percentuale di farmaco che rimane nella fase micellare e rappresenta la frazione di nutrienti disponibile per l'assorbimento.

Il modello dinamico comprende invece quattro compartimenti successivi per simulare i processi fisiologici dinamici che avvengono a livello di stomaco, e intestino tenue, diviso nei suoi tratti duodeno, digiuno e ileo. Durante il processo, il fluido di digestione passa nelle diverse sezioni e viene infine dializzato attraverso membrane capillari cave semipermeabili per eliminare sostanze di scarto. I fluidi uscenti da questa operazione rappresentano le frazioni micellari disponibili per l'assorbimento e vengono raccolti per quantificare la bioaccessibilità [10]. La lipolisi, ovvero la riduzione dei trigliceridi in acidi grassi liberi, è innescata dal legame del complesso lipasi-co-lipasi-sale biliare alla superficie delle gocce lipidiche e rappresenta il fenomeno che influenza maggiormente le prestazioni in vivo delle formulazioni. A differenza dei tradizionali metodi di somministrazione che rilasciano rapidamente il farmaco, un'interfaccia costituita da particelle può formare una barriera energetica difficilmente superabile dagli enzimi e quindi ritardare o sopprimere la lipolisi dell'olio, proteggendo il farmaco contenuto all'interno delle gocce. Le caratteristiche del network di particelle sono il fattore più importante per la stabilizzazione delle emulsioni di Pickering e l'accessibilità delle lipasi.

A questo scopo sono stati studiati principi attivi idrofobici da incapsulare, quindi da sciogliere nella fase oleosa delle emulsioni di Pickering come la curcumina, utilizzata principalmente per il suo effetto antibatterico.

La curcumina è un composto polifenolico idrofobo ottenuto dal rizoma della pianta *Curcuma longa*. La struttura presenta due anelli aromatici ognuno dei quali ha un gruppo ossidrilico e metossile in posizione orto. Esistono due strutture della curcumina, dovute al fenomeno del tautomerismo, ovvero la reazione di trasferimento di un protone tra gruppi di una stessa molecola; chiamate β -dichetone e cheto-enolo [23]. In soluzione c'è un equilibrio tra i due tautomeri della curcumina, ma pH diversi possono favorire una forma rispetto all'altra; infatti, è stato dimostrato che in ambiente acquoso acido prevale la forma dichetone, a pH maggiori di 8 invece la forma enolica. A condizioni ambiente la curcumina ha una struttura cristallina di densità circa 1,3 g/cm³. [23]

È una sostanza GRAS (generally regarded as safe) anche ad alte dosi giornaliere (8-12 g) [15], ma la sua efficacia clinica è limitata dalla bassa solubilità in fase acquosa (7.8 mg/L) e biodisponibilità (generalmente di 30-45 minuti) [15]. La sua insolubilità è fortemente spiccata per soluzioni acide o neutre, più mitigata in soluzioni alcaline dove però risulta decomporsi più velocemente. I motivi che stanno alla base di una scarsa biodisponibilità di qualsiasi sostanza scarso assorbimento, alto tasso di metabolismo, inattività dei prodotti metabolici e rapida eliminazione e dal corpo. [25]

Per questi motivi si sono studiate negli anni delle tecniche per aumentare la biodisponibilità e stabilità della curcumina, come l'aggiunta di coadiuvanti, complessazione con ciclodestrine, somministrazione contemporanea di quercetina o tecniche più avanzate come utilizzo di nanoparticelle, micelle, lisozomi o emulsioni di Pickering.

Tra i suoi principali benefici farmacologici si evidenziano anche l'essere un buon antinfiammatorio, antimicrobico, antitumorale e antiossidante. [25]

I processi ossidativi svolgono un ruolo importante nella patogenesi (ovvero i processi attraverso i quali avvengono le alterazioni dello stato fisiologico che portano allo stabilirsi e allo svilupparsi di una malattia) di varie patologie, tra cui cancro, diabete, malattie cardiovascolari e lesioni al sistema nervoso.

La curcumina viene classificata sia come pro-ossidante che antiossidante, il comportamento varia a seconda di una serie di condizioni come la concentrazione della sostanza chimica e la presenza di ossigeno o metalli di transizione. È un ottimo agente riducente e un inibitore di danni al DNA, soprattutto in presenza di ioni Cu o Fe che è in grado di legare per modulare le sue proprietà antiossidanti.

Essendo una molecola lipofila, è in grado di permeare la membrana cellulare. È stato dimostrato che la curcumina durante questo processo di permeazione colpisce la struttura della membrana imitando il processo di apoptosi, inducendo una parziale e reversibile perdita di integrità della membrana, che viene però recuperata in un tempo più breve. Questa proprietà può essere sfruttata per attaccare cellule di natura cancerogena. È stato inoltre dimostrato che la curcumina può interferire bloccando i processi di angiogenesi, ovvero la formazione di nuovi vasi sanguigni. I tumori sono fortemente dipendenti da questo processo, che permette di fornire continuamente sangue per la crescita delle cellule. [24]

Luo et al. hanno suggerito per primi che cristalli di polifenoli come la curcumina possono assorbirsi a interfacce liquido-liquido [14]. In base al valore di $\log P$, dove P rappresenta il coefficiente di partizione tra n-ottanolo e acqua, si è studiata l'efficacia di diversi polifenoli come stabilizzanti delle emulsioni di Pickering O/W, osservando in alcuni casi elevata stabilità. Il valore di $\log P$, che può essere utilizzato per identificare l'idrofobicità di molecole polifenoliche, risulta essere tra 2,3 e 3,2 nel caso della curcumina, ad indicare una forte idrofobicità a temperatura ambiente e pH neutro [26]. Tuttavia, questo parametro non è sufficiente per una valutazione del potere stabilizzante di una particella, poiché nel caso delle emulsioni di Pickering va considerato il rapporto tra la parte idrofilica e idrofobica delle particelle che si stanno considerando. [14]

Essendo la curcumina allo stato solido vanno inoltre considerate le proprietà cristallografiche, piuttosto che la struttura molecolare; ovvero se ad esempio le facce dei cristalli espongono gruppi idrofilici o idrofobici.

3 MODELLO MATEMATICO PER LA SIMULAZIONE DI EMULSIONI PICKERING

Il modello matematico utilizzato in questo lavoro per descrivere il processo di emulsificazione è basato su un bilancio di popolazione. Questo tipo di modello risulta efficiente per tracciare, su una popolazione di entità disperse, l'evoluzione di una o più proprietà di interesse, modellando tutti i fenomeni fisici che potrebbero essere responsabili del loro cambiamento. La preparazione delle emulsioni di Pickering risulta fortemente influenzata dalla polidispersità della popolazione di fase dispersa, poiché coalescenza, rottura ed i fenomeni di adsorbimento delle particelle sulla superficie sono processi che dipendono dalle dimensioni delle gocce, ed in generale dalle condizioni operative nel quale le emulsioni di Pickering vengono prodotte.

La crescita è un processo continuo, caratterizzato da una velocità data dal rapporto tra la variazione infinitesimale di dimensione della particella dL e l'intervallo di tempo dt . Mentre altri processi come la nucleazione, che rappresenta la nascita di nuove particelle, l'aggregazione e il breakup sono processi discontinui, che solitamente vengono descritti come una combinazione di nascita e morte delle particelle. Un evento di aggregazione dal punto di vista della popolazione corrisponde alla morte delle due particelle originarie e alla nascita della nuova particella (aggregato) di dimensioni diverse dalle due originarie. Analogamente, nella rottura una particella viene frazionata dando origine ad altre particelle, e questo dal punto di vista della popolazione è visto come la morte dell'elemento originario e la nascita di nuovi frammenti. Per poter descrivere il sistema si ricorre all'utilizzo di una distribuzione $n(L)dL$ che indica la concentrazione numerica di particelle con dimensione compresa nell'intervallo $[L, L+dL]$.

Per risolvere il bilancio di popolazione si è optato per un algoritmo stocastico Monte Carlo [4]. Spesso le proprietà di un modello non possono essere sviluppate solamente attraverso una teoria statistica/deterministica, per questo si può fare utilizzo di un metodo empirico/casuale. Questo metodo è proprio uno degli strumenti numerici di risoluzione più utilizzati; si sviluppa attraverso il campionamento casuale di variabili random, ed è utilizzato per studiare processi la cui evoluzione è condizionata da fattori stocastici.

Generalmente questo tipo di algoritmo è costituito da due fasi iniziali: è necessario per prima cosa definire un dominio di possibili input e generarli casualmente da una distribuzione di probabilità sul dominio. Per poter essere veramente efficiente però il metodo ha bisogno di un campionamento e una distribuzione di numeri pseudo-casuali, ovvero che rispetti comunque dei canoni di uniformità sul campione. Per poter ottenere questa distribuzione si fa riferimento ad un algoritmo per cui i numeri generati in modo pseudo-casuale dovrebbero avere tutte le stesse proprietà statistiche rilevanti nell'intervallo $[0,1]$. Questo algoritmo deve soddisfare due proprietà: i numeri generati devono essere distribuiti uniformemente nell'intervallo e i numeri estratti X_1, \dots, X_n non dovrebbero contenere alcuna informazione sul valore successivo X_{n+1} . Questa proprietà viene definita mancanza di prevedibilità poiché appunto non deve esserci alcuna correlazione tra i numeri già estratti e quelli successivamente generati. Quindi, invece di stimare un parametro ignoto, un intervallo di sicurezza fornisce un range dimensionale che è probabile contenga il valore che si vuole campionare. In particolare, il metodo

stima il valore di una quantità ignota seguendo i principi di inferenza statistica: è possibile studiare il comportamento di un campione ristretto di elementi e generalizzare gli eventi su una popolazione più grande. Il punto chiave da considerare in questo approccio è che un campione random di una popolazione tende a mostrare le stesse proprietà e lo stesso comportamento della popolazione del quale fa parte. In questa trattazione è anche importante considerare la legge dei grandi numeri: in un numero ripetuto di test indipendenti con la stessa probabilità di accadimento p , la possibilità che il risultato differisca da p tende a 0 quando il numero di prove tende a infinito. Quindi, maggiore il numero di prove, più affidabile sarà la probabilità di accadimento di un certo evento.

Nel caso in esame si è studiata la produzione di emulsioni Pickering come determinata dall'azione di un campo di flusso turbolento imposto dall'esterno; inoltre, la popolazione è stata caratterizzata utilizzando due variabili, la dimensione delle gocce (diametro) e il loro grado di ricoprimento da parte delle particelle solide. Con grado di ricoprimento si intende la percentuale di area ricoperta dalle particelle in riferimento alla superficie totale della goccia. Per questo motivo il bilancio di popolazione può definirsi bivariato, ovvero dipendente da due grandezze differenti. I fenomeni responsabili del cambiamento di queste variabili sono la coalescenza tra gocce, la rottura e le collisioni gocce-particelle.

Il sistema iniziale in esame prevede un'emulsione preformata composta da gocce di olio micrometriche che coesistono in acqua insieme a particelle solide nanometriche. Come già accennato, la popolazione di gocce è stata descritta da due variabili: il raggio della goccia R e la frazione di ricoprimento superficiale da parte di particelle solide φ . La popolazione di particelle è stata considerata monodispersa all'istante iniziale, ovvero con tutti gli elementi della stessa dimensione. Il flusso turbolento è stato ipotizzato isotropo ed omogeneo per semplicità, ovvero un caso ideale di flusso in cui la dinamica del moto del fluido non è influenzata dall'interazione di questo con pareti solide o con zone a bassa intensità di turbolenza. Idealmente le condizioni di turbolenza omogenea e isotropa si possono verificare solo nello spazio libero, cioè per un fluido non confinato da alcuna parete e sul quale viene imposto un campo medio di velocità uniforme. Sono proprio l'assenza di condizioni al contorno e di flussi imposti esternamente che permettono di considerare invarianza per traslazione (omogeneità) e rotazione (isotropia) del sistema di riferimento rispetto al quale si sta descrivendo il moto del fluido. Le condizioni di turbolenza omogenea ed isotropa sono pertanto delle condizioni ideali che si verificano in determinate condizioni nella realtà; tuttavia, questa semplificazione permette di avere a disposizione uno strumento utile per la descrizione del regime turbolento.

Un'ulteriore semplificazione importante fatta per poter applicare facilmente il modello è quella di sospensioni diluite: in questa condizione è possibile considerare gli incontri come eventi binari, che coinvolgono solo due gocce contemporaneamente. Inoltre, per non rendere la simulazione troppo costosa a livello computazionale, solo una porzione del volume del sistema è stata simulata, supponendo che la sospensione reale nel suo complesso sia confrontabile con quanto accade in essa. Il moto browniano delle particelle è stato trascurato, poiché il processo si verifica ad alti numeri di

Péclet, ($Pe = \frac{\rho c_p L(v)}{k} = RePr$) ovvero la convezione è predominante sul moto termico delle particelle.

Le particelle solide si considerano avere uguale affinità verso la fase acquosa e oleosa, in modo tale che in seguito ad una collisione l'assorbimento sia irreversibile. È stato ipotizzato che le particelle si adsorbano sulla superficie della goccia secondo uno schema di impaccamento esagonale, che permette di avere efficienza di ricoprimento massima pari a 0,907. Ciò si può dimostrare considerando l'esagono rappresentato in figura 12 [4]: ipotizzando un raggio delle sfere r pari a 1, si ricava facilmente che il lato e l'apotema dell'esagono hanno rispettivamente lunghezza 2 e $\sqrt{3}$. L'area di questo, calcolata come $2p \frac{a}{2}$ risulta pari a $6\sqrt{3}$. All'interno di questo esagono si trovano un intero cerchio più 6 settori circolari che corrispondono a $1/3$ di cerchio ciascuno. L'area totale coperta da tali elementi all'interno dell'esagono è tre volte l'area di un disco di raggio 1, ovvero 3π . La densità dei dischi dentro l'esagono è quindi data da $d = \frac{3\pi}{6\sqrt{3}} = \frac{\pi}{2\sqrt{3}} \approx 0,907$.

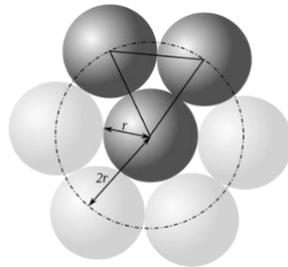


Figura 12 [4]: impaccamento esagonale delle particelle sulla superficie della gocce

Inoltre, è stato anche ipotizzato che le particelle formassero al massimo un monostrato sulla superficie delle gocce e che non formassero aggregati. A seconda della frazione di ricoprimento delle gocce, l'esito di una collisione fra due gocce ricoperte di solido varia: quando la copertura superficiale delle gocce è piccola, si verifica una coalescenza completa che porta alla formazione di una nuova goccia sferica; quando invece la copertura della superficie delle gocce è grande, la coalescenza viene impedita, poiché la presenza delle particelle sulla superficie delle gocce ne ostacola il movimento. Nelle simulazioni sono stati considerati solo questi due casi estremi, nonostante ci possano esserci casi intermedi.

MODELLO DI COALESCENZA

$$\text{Se } 0.907 \cdot (4\pi R_{\text{new}}^2) > 4\pi(\phi_i R_i^2 + \phi_j R_j^2)$$

$$R_{\text{new}} = (R_i^3 + R_j^3)^{1/3}$$

$$\phi_{\text{new}} = (\phi_i R_i^2 + \phi_j R_j^2) / (R_i^3 + R_j^3)^{2/3}$$

Altrimenti: la coalescenza non avviene

MODELLO DI ROTTURA

$$\text{Se } \phi < 0.65$$

$$V_i = V/2$$

$$V_j = V/2$$

$$R_i = (3V_i/(4\pi))^{1/3}$$

$$R_j = (3V_j/(4\pi))^{1/3}$$

$$\phi_i = \phi(R/R_i)^2(R_i/R)^3$$

$$\phi_j = \phi(R/R_j)^2(R_j/R)^3$$

Altrimenti: la rottura non avviene

Figura 13 [adattata da 4]: modello di coalescenza e rottura

La figura 13 [4] riporta i due modelli di coalescenza e rottura utilizzati: nel primo caso si considerano due particelle i e j con i rispettivi raggi e frazioni di ricoprimento. Affinché si verifichi coalescenza fra due gocce, la somma delle frazioni di superficie ricoperta dalle particelle deve essere minore del massimo ricoprimento ammissibile che si otterrebbe con la nuova goccia formata dopo coalescenza. Se questa condizione viene rispettata, si calcolano il nuovo raggio e frazione di ricoprimento. La coalescenza completa si verifica quando due gocce in collisione danno luogo a una goccia la cui copertura superficiale è inferiore a quella massima ammissibile.

Nel caso in cui si verifichi invece un fenomeno di rottura di una goccia di raggio R, se il grado di ricoprimento è al di sotto di un certo valore può verificarsi rottura e si assume che il volume della goccia iniziale venga equamente ripartito tra le due nuove gocce i e j. A partire dal nuovo volume di ogni goccia si possono calcolare raggio e frazione di ricoprimento. La rottura avviene se le gocce subiscono uno stress meccanico che supera la loro resistenza interna, ovvero se la dimensione delle gocce cresce oltre una soglia critica o se attraversano regioni di grande stress idrodinamico. In ogni caso, le gocce risultanti da un evento di rottura sono sempre della stessa dimensione.

Nella figura 14 [4] viene descritto l'algoritmo Monte Carlo basato sulla tecnica *event-driven*, *rejection-free* e sul concetto di intervallo di quiescenza utilizzato per risolvere la dinamica della popolazione.

Il concetto di *rejection-free* consiste nel campionare ripetutamente i valori delle variabili di interesse da una distribuzione uniforme e correggere i valori scelti respingendo un numero adeguato di eventi.

Si può attuare su un numero qualsiasi di schemi per generare numeri casuali uniformemente distribuiti ma diventa poco efficiente con un numero elevato di dati poiché il costo necessario a generare numeri casuali extra è elevato.

Definendo con N il numero totale di eventi del sistema, questo può risultare spesso molto grande come nel caso in esame di un'emulsione. Per poter restringere il numero di casistiche si considera una sequenza di stati tratti da una distribuzione omogenea su uno spazio a diversi tempi di transizione. Il sistema, formato da tanti elementi come gocce, può evolvere tra due stati arbitrari, da X_i ad X_j ; ognuna di queste possibili coppie è caratterizzata da una differente velocità che viene rappresentata come elemento q_{ij} di una matrice sparsa, poiché non tutti gli stati X_j sono accessibili dato uno stato X_i . Tutte le possibili combinazioni sono assunte dipendenti tra di loro, la sommatoria degli elementi della matrice viene espressa con Q e rappresenta la velocità di tutto il processo al time step corrente [12]. Gli algoritmi *rejection-free*, adottano una strategia opposta: campionando uniformemente dall'intervallo $[0, Q]$ piuttosto che $[0, N]$ e determinando a quale sottointervallo $[q_n, q_{n+1})$ il numero appartiene, si evita di scartare dei valori come nel caso precedente.

Dopo aver impostato le popolazioni iniziale di gocce e particelle (monodisperse), si calcolano la frequenza di tutti i possibili incontri fra fasi disperse e viene campionato in modo casuale l'intervallo di quiescenza.

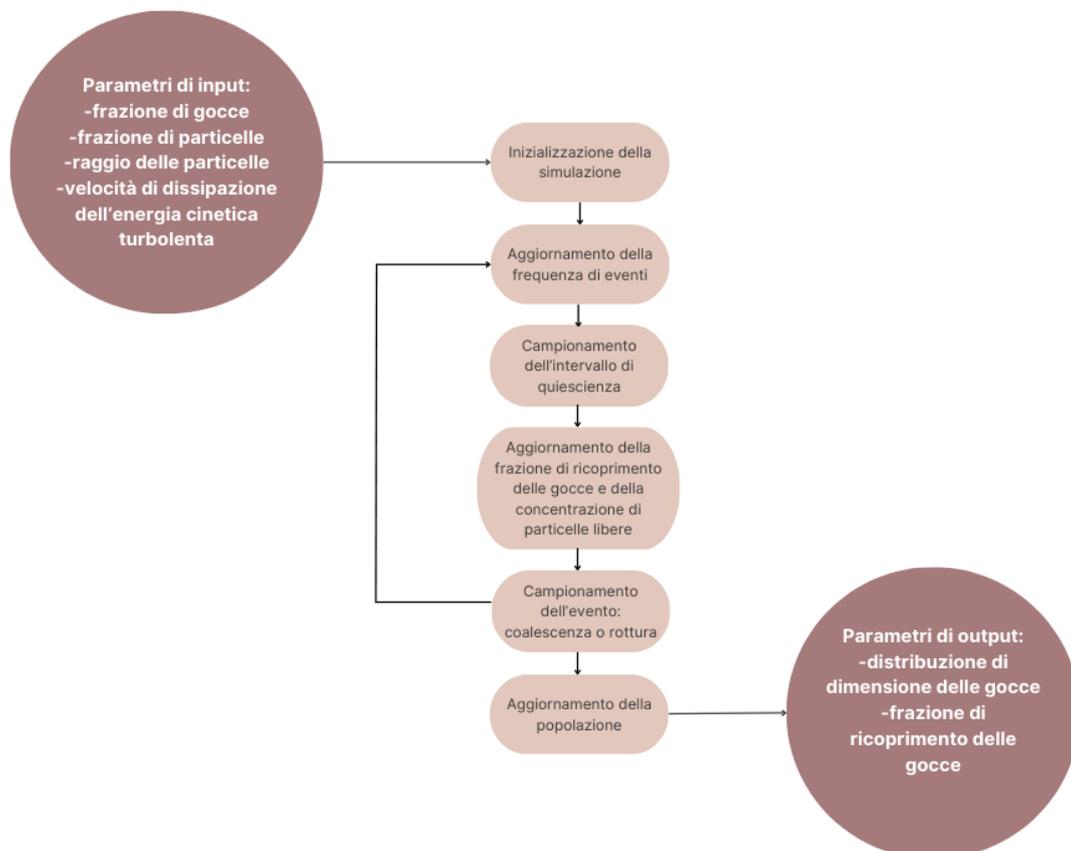


Figura 14 [riprodotta da 4]: algoritmo di risoluzione del bilancio di popolazione

In figura 14 [4] viene mostrato l'algoritmo Monte Carlo di risoluzione del bilancio di popolazione. Per prima cosa è necessario inizializzare la simulazione, fornendo i parametri di input quali la frazione di gocce e particelle, la distribuzione di dimensioni delle particelle iniziali, il raggio delle particelle e lo sforzo di taglio o la dissipazione dell'energia cinetica turbolenta. Una volta avviata, la simulazione comincia a campionare degli eventi e tiene traccia della loro frequenza. Dalla frequenza totale degli incontri del sistema si può stimare un intervallo di quiescenza (Δt), ovvero l'intervallo di tempo durante il quale non avviene alcun incontro tra gocce, la loro dimensione non cambia e la popolazione subisce solo una copertura superficiale da parte delle particelle solide. Per il campionamento stocastico è stata adottata la seguente funzione di distribuzione cumulativa:

$$F(\Delta t) = 1 - \exp(-f_{enc,tot} \cdot \Delta t) \quad (3.1)$$

dove compare la frequenza totale di incontro del campione. Il metodo prevede anche il campionamento delle gocce coinvolte in un singolo incontro: dopo aver calcolato le frequenze relative a tutti i possibili incontri binari, scegliendo un numero casuale ξ da una distribuzione uniforme compresa tra 0 e 1, l'evento campionato è quello con indice q che soddisfa la seguente relazione:

$$\sum_{k=1}^{q-1} f_{ij|k} < f_{tot} \cdot \xi < \sum_{k=1}^q f_{ij|k} \quad (3.2)$$

q può assumere qualsiasi valore compreso tra 1 e $n_D(n_D - 1)/2$, essendo n_D il numero di gocce nel campione. Al termine di questo intervallo di quiescenza, la popolazione viene aggiornata con la nuova frazione di ricoprimento delle particelle e il numero di particelle libere nel campione che quindi non sono state ancorate alla superficie delle gocce. Questo tipo di procedura con campionamento a determinati Δt e successivo aggiornamento della popolazione viene definita *event-driven*. In base a questi dati si riesce a comprendere se l'evento campionato è di tipo coalescenza o rottura: la prima fa riferimento ad una coppia di gocce, mentre la seconda ad una sola. Avviene quindi un aggiornamento generale della popolazione in termine di numero di gocce totali presenti nel campione, ricominciando il ciclo finché non si identifica un nuovo intervallo di quiescenza. I dati risultanti alla fine della simulazione sono la distribuzione di dimensione delle particelle nel campione, la loro frazione di ricoprimento e il numero di particelle ancora libere. In un flusso turbolento la coalescenza e la rottura delle gocce avvengono simultaneamente, mentre la prima è determinata dalla velocità di collisione tra gocce, il secondo dalla velocità delle gocce entranti nei vortici turbolenti ad alta energia.

Assumendo che la dimensione delle gocce rientri nel sottointervallo inerziale si descrive la frequenza di incontro tra due gocce come:

$$f_{enc}(D_i, D_j) = c_0 \frac{\varepsilon^{\frac{1}{3}}}{V} (D_i + D_j)^2 (D_i^{2/3} + D_j^{2/3})^{1/2} \quad (3.3)$$

dove compaiono i diametri delle due particelle i e j coinvolte nell'incontro D_i e D_j , la dissipazione dell'energia cinetica ε , il volume del campione V e il parametro del kernel di coalescenza c_0 pari a 1.

La frequenza totale degli incontri è fornita dall'equazione:

$$f_{enc,tot} = \sum_i \sum_{j=i+1} f_{enc}(i,j) \quad (3.4)$$

Essendo la turbolenza responsabile anche della rottura delle gocce, si calcola la frequenza di rottura come:

$$f_{brk}(D_i) = C_1 \varepsilon^{1/3} \operatorname{erfc} \left(\sqrt{\frac{C_2 \sigma}{\rho_w \varepsilon^{2/3} D_i^{2/3}} + \frac{C_3 \mu_o}{\sqrt{\rho_o \rho_w \varepsilon^{1/3} D_i^{4/3}}}} \right) \quad (3.5)$$

dove compaiono il diametro della particella i coinvolta nell'evento di rottura, la dissipazione dell'energia cinetica ε , i parametri di kernel di breakup c_0, C_1, C_2, C_3 pari rispettivamente a 1, 10, 7,75E-04 e 0,2. In questo caso sono anche necessari dei parametri propri delle sostanze coinvolte, ovvero le densità di olio ρ_o e acqua ρ_w pari a 920 kg/m³ e 1000 kg/m³ e la tensione interfacciale σ olio-acqua.

In questo caso la frequenza totale di rottura del sistema è espressa da:

$$f_{brk,tot} = \sum_i^{n_D} f_{i,brk} \quad (3.6)$$

L'algoritmo si occupa di campionare anche il tipo di evento atteso, effettuato in base alla probabilità relativa di accadimento di ciascun evento. Nel caso in cui venga campionato un evento di rottura, la goccia coinvolta si sceglie prelevando un numero casuale ξ da una distribuzione uniforme compresa tra 0 e 1, e l'evento scelto è quello con indice q che soddisfa la seguente relazione

$$\sum_{k=1}^{q-1} f_{i,brk|k} < f_{brk,tot} \cdot \xi < \sum_{k=1}^q f_{i,brk|k} \quad (3.7)$$

Il tasso di copertura superficiale delle gocce è calcolato come:

$$\dot{\phi}(R_i) = c_0 \varepsilon^{1/3} (D_i + 2a)^2 (D_i^{2/3} + (2a)^{2/3})^{1/2} \left(\frac{a}{D_i}\right)^2 c_{pcte} \Gamma_i \quad (3.8)$$

Nella formula 3.8 compaiono alcuni parametri già definiti in precedenza, mentre a rappresenta il raggio delle gocce, c_{pcte} la concentrazione di particelle e Γ_i l'efficienza di adsorbimento delle particelle sulla superficie della goccia.

Poiché in una emulsione si verificano eventi di coalescenza e rottura, il numero di gocce simulate cambierà nel tempo. Quando prevale la coalescenza, il numero di elementi diminuisce; per garantire la robustezza statistica, la dimensione del volume simulato è adeguata durante la simulazione.

Ovvero, se il numero di gocce simulate scende al di sotto di un valore soglia (fissato pari a $3/4$ del suo valore iniziale), il volume del campione viene raddoppiato e ogni goccia viene clonata, preservando la frazione volumetrica e la distribuzione dimensionale delle gocce, nonché la concentrazione delle particelle solide. Quando invece prevale la rottura, il numero di gocce simulate può aumentare fino al punto di rendere i calcoli estremamente lenti. Per affrontare questo problema, se il numero di goccioline simulate aumenta di oltre 1,5 volte il suo valore iniziale, la popolazione è stata dimezzata casualmente. Questo fenomeno però, a differenza del primo, potrebbe introdurre un disturbo nella statistica della distribuzione non trascurabile.

4 TEORIA DELLA CRISTALLIZZAZIONE: TECNICA PER ANTISOLVENTE

La cristallizzazione in soluzione è una transizione di fase da liquido a solido nella quale i composti disciolti in un solvente vanno incontro a solidificazione disponendosi secondo strutture cristalline ordinate con conseguente diminuzione di entropia. Un processo di precipitazione per la formazione di cristalli prevede la presenza di una soluzione composta da un solvente ed un soluto in esso disperso. Quando si raggiunge la quantità massima di soluto disciolta nel solvente la soluzione viene definita satura. Per poter indurre nucleazione, e quindi successivamente precipitazione è necessario creare un certo livello di sovrassaturazione.

Dal diagramma di equilibrio della figura 15 è possibile vedere la linea di saturazione, al di sotto della quale si parla di zona stabile, mentre la porzione compresa tra questa linea e quella di saturazione si definisce metastabile, al di sopra di questa si trova la zona di instabilità. Solo al di sopra di questa può avvenire la crescita dei nuclei di cristalli.

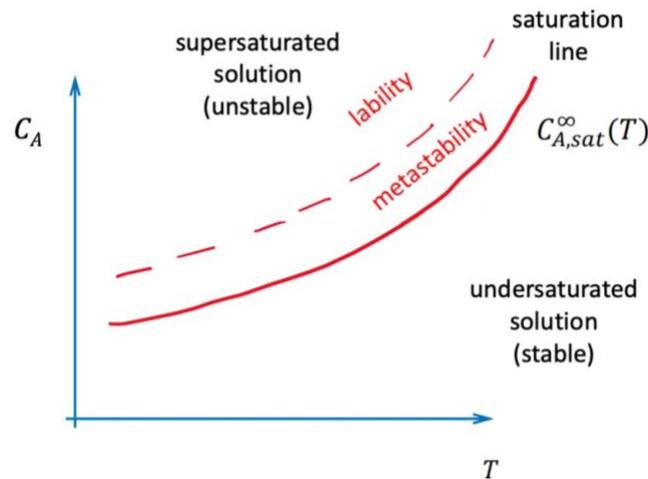


Figura 15 [28]: diagramma di equilibrio

Il metodo di precipitazione per anti-solvente prevede che la sostanza da cristallizzare (curcumina nel caso in esame) sia disciolta in un solvente (ad esempio etanolo), successivamente la soluzione ottenuta viene rapidamente miscelata con un volume molto grande di acqua (antisolvente). La solubilità della curcumina nel nuovo solvente si abbassa rispetto al valore che aveva in etanolo e questo permette di creare una forza spingente per la precipitazione (sovrassaturazione).

Dal punto di vista termodinamico, affinché la nucleazione avvenga, è necessario che venga superata una barriera energetica, ovvero la variazione di energia libera di Gibbs calcolabile come [11]:

$$\Delta G = \frac{16\pi\gamma^3V_S^3}{3k^2T^2(\ln S)^2} \quad (4.1)$$

dove compaiono la tensione superficiale γ , il volume molecolare V_s , la costante di Boltzmann k , la temperatura assoluta T e la sovrasaturazione S . Dell'espressione si può evincere come per avere una barriera energetica minore siano necessarie o una sovrasaturazione elevata o una tensione superficiale bassa. Una volta iniziata la nucleazione, la concentrazione della specie diminuisce fino ad un valore critico al di sotto del quale non si riescono più a formare nuovi nuclei. La crescita di questi invece continuerà finché la concentrazione del soluto non raggiunge il valore di solubilità alla temperatura e pressione di lavoro (condizione di equilibrio).

Oltre alla sovrasaturazione altri parametri hanno un effetto sulle proprietà dei cristalli precipitati per aggiunta di antisolvente [6], come il grado di agitazione e la concentrazione di curcumina. Generalmente un aumento della velocità di agitazione comporta una riduzione del diametro e talvolta anche della lunghezza delle particelle, dovuta all'intensificazione del micromixing che permette una riduzione della resistenza al trasporto di massa. Si ottiene quindi un miscelamento omogeneo in poco tempo, producendo particelle di curcumina più piccole.

Anche la velocità con cui viene versata la soluzione di curcumina in acqua, così come la sua portata hanno un'influenza sulla forma dei cristalli ottenuti. Negli esperimenti effettuati in laboratorio, non è possibile calcolare una vera e propria portata visto che il miscelamento fra soluzione di curcumina e anti-solvente è stato fatto manualmente, ma è comunque possibile fare delle considerazioni di carattere generale. A basse portate, l'efficienza di mixing solvente/antisolvente è minore, risultando in pochi siti di nucleazione e favorendo il processo di crescita (cristalli di dimensioni maggiori).

Per quanto riguarda il rapporto tra solvente e antisolvente, maggiore la quantità di quest'ultimo e minore risulta la dimensione dei cristalli ottenuti. Una volta formati i nuclei, anche la crescita dei cristalli è influenzata dalla quantità di antisolvente poiché la diffusione della specie può diventare lo step limitante. La concentrazione di curcumina può influenzare la dimensione delle particelle precipitate in due modi: una maggiore concentrazione implica avere un valore di sovrasaturazione maggiore; quindi, un maggior numero di cristalli e velocità di crescita maggiori. Allo stesso modo però è molto più probabile che si verifichino eventi di agglomerazione a causa dell'aumento della probabilità di collisione tra la grande quantità di cristalli precipitati. Infine, è possibile fare delle considerazioni anche circa l'influenza della temperatura sulla dimensione dei cristalli di curcumina. Temperature più basse possono diminuire la solubilità della curcumina e quindi aumentare la sovrasaturazione. Anche la velocità di diffusione diminuisce con il decremento di temperatura, mentre aumenta la viscosità dell'acqua; quindi, si può avere un effetto anche sui fenomeni di aggregazione.

La precipitazione per antisolvente è un metodo semplice è molto efficiente quando si utilizzano particelle idrofobiche (se l'anti-solvente è acqua).

5 MATERIALI E METODI

5.1 DESIGN of EXPERIMENT (DOE)

Il Design of Experiments (DoE) è un metodo statistico utilizzato per pianificare e condurre test/esperimenti seguendo dei criteri ipotizzati che permettano di valutare i fattori che influenzano i parametri di output di interesse. In generale, il metodo consiste nell'individuare delle variabili indipendenti (o di input) la cui variazione risulta in un cambiamento nei parametri dipendenti (o di output). Spesso si individuano anche parametri di controllo che si decide di mantenere costanti per evitare fluttuazioni dei risultati. Una volta individuati questi fattori, si deve decidere come condurre la campagna sperimentale, ovvero come modificare le variabili seguendo delle condizioni statistiche consone, in base anche alle disponibilità delle apparecchiature e condizioni raggiungibili. L'idea generale può essere spiegata considerando uno spazio di n dimensioni, tante quante sono le variabili di input che si vogliono modificare. Per ognuna di queste si ha un punto di partenza al centro del nostro spazio, muovendosi di tante unità nell'intorno di questo valore si avranno delle combinazioni univoche di esperimenti da effettuare.

Nel nostro caso si è scelto di manipolare 4 variabili che potevano assumere 5 valori differenti scelti con il criterio descritto in precedenza: così facendo si avrebbe avuto un numero di combinazioni di condizioni pari a 4^5 . Per semplicità tra tutti questi esperimenti ne sono stati identificati alcuni con condizioni che risultavano più significativamente differenti tra loro, in modo da ridurre il numero a 25 ed avere comunque dei risultati significativi.

	CONCENTRATION	ETOH/WATER RATIO	WATER VOLUME	STIRRING SPEED
Exp 1	7,25 mg/g (a 35°C)	01:12,5	445 ml	14900 rpm
Exp 2	7,25 mg/g (a 35°C)	01:12,5	445 ml	18300 rpm
Exp 3	7,25 mg/g (a 35°C)	01:12,5	615 ml	14900 rpm
Exp 4	7,25 mg/g (a 35°C)	01:12,5	615 ml	18300 rpm
Exp 5	7,25 mg/g (a 35°C)	01:17,5	445 ml	14900 rpm
Exp 6	7,25 mg/g (a 35°C)	01:17,5	445 ml	18300 rpm
Exp 7	7,25 mg/g (a 35°C)	01:17,5	615 ml	14900 rpm
Exp 8	7,25 mg/g (a 35°C)	01:17,5	615 ml	18300 rpm
Exp 9	11,07 mg/g (a 45°)	01:12,5	445 ml	14900 rpm
Exp 10	11,07 mg/g(a45°C)	01:12,5	445 ml	18300 rpm
Exp 11	11,07 mg/g (a 45°C)	01:12,5	615 ml	14900 rpm
Exp 12	11,07 mg/g (a 45°C)	01:12,5	615 ml	18300 rpm
Exp 13	11,07 mg/g (a 45°C)	01:17,5	445 ml	14900 rpm
Exp 14	11,07 mg/g (a 45°C)	01:17,5	445 ml	18300 rpm
Exp 15	11,07 mg/g (a 45°C)	01:17,5	615 ml	14900 rpm
Exp 16	11,07 mg/g (a 45°C)	01:17,5	615 ml	18300 rpm
Exp 17	5,85 mg/g (a 30°C)	01:15	530 ml	16600 rpm
Exp 18	13,58 mg/g (a 50°C)	01:15	530 ml	16600 rpm
Exp 19	9,04 mg/g (a 40°C)	01:10	530 ml	16600 rpm
Exp 20	9,04 mg/g (a 40°C)	01:20	530 ml	16600 rpm
Exp 21	9,04 mg/g (a 40°C)	01:15	360 ml	16600 rpm
Exp 22	9,04 mg/g (a 40°C)	01:15	700 ml	16600 rpm
Exp 23	9,04 mg/g (a 40°C)	01:15	530 ml	13200 rpm
Exp 24	9,04 mg/g (a 40°C)	01:15	530 ml	20000 rpm
Exp 25	9,04 mg/g (a 40°C)	01:15	530 ml	16600 rpm

Tabella 1: DoE per la realizzazione dei cristalli

I parametri di input considerati sono stati la concentrazione di curcumina, il rapporto tra etanolo ed acqua, il volume di acqua e la velocità di rotazione in rpm dell'Ultraturrax. La temperatura non è stata considerata un parametro di input ma è stata variata a discrezione tra i 30 e 45 °C. I parametri di output che si sono studiati sono l'aspect ratio e il diametro (come valore medio e mediano) dei cristalli ottenuti per ogni campione.

5.2 SEM: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

I microscopi elettronici sfruttano una radiazione di elettroni anziché la luce visibile utilizzata nel tradizionale microscopio ottico. A questa categoria appartiene il microscopio elettronico a scansione, SEM. Quando il fascio di elettroni colpisce un materiale, si generano due radiazioni dovute a diverse tipologie di elettroni: quelli secondari emessi dal campione e quelli retrodiffusi, ovvero la quota di elettroni incidenti primari che non sono assorbiti dal campione e vengono rinviati alla sorgente. Due diversi campionatori permettono la rivelazione e isolamento di entrambi i contributi, i quali forniscono informazioni diverse sul campione. Le mappe ottenute con elettroni secondari sono nitide e rivelano la topografia del campione, ovvero la distribuzione sul piano delle parti costitutive; al contrario quelle ottenute dagli elettroni retrodiffusi sono meno nitide ma hanno maggiore profondità di fuoco e quindi permettono di mettere in evidenza le forme tridimensionali del campione.

Un problema da evitare durante queste misurazioni è l'assorbimento da parte della superficie del campione di elettroni, che devono essere quindi scaricati in qualche modo. L'accumulo di elettroni sulla superficie viene definita *charging* e si verifica quando i campioni sono cattivi conduttori elettrici, ovvero non permettono agli elettroni di seguire il percorso di conduzione dalla superficie del campione verso il supporto sottostante. Questo fenomeno comporta l'ottenimento di immagini poco contrastate o sfuocate. Applicando uno strato molto sottile (*coating*) di un metallo conduttivo come il platino sulla superficie del campione, gli elettroni possono fluire verso il portacampione, eliminando l'effetto *charging*. Altri effetti positivi della metallizzazione di un campione sono una maggiore protezione dei campioni sensibili agli elettroni e una minore interferenza con la fluorescenza della sostanza esaminata. Per poter preparare il campione all'analisi al SEM, si è depositata la polvere di curcumina sul carbon tape, un nastro adesivo conduttivo da entrambi i lati e con elevata forza adesiva.

Lo strumento è costituito da una colonna sottovuoto con un emettitore di elettroni (solitamente un catodo di tungsteno) ad una estremità, che li accelera verso quella opposta. Il fascio viene collimato da una serie di lenti magnetiche del condensatore che permettono di restringere il diametro del fascio fino a 0,5 nm, seguite da altre lenti magnetiche di scansione che deflettono il fascio per fargli intercettare il campione su una piccola area rettangolare, muovendolo in senso orizzontale e verticale fino a completa scansione della superficie da esaminare. Sommando tutte le scansioni delle aree di suddivisione si ottiene un'immagine completa.

Dopo aver analizzato le immagini al microscopio SEM, queste sono state processate creando con Imagej un layer al di sopra di ogni foto, nel quale si sono individuati i contorni dei cristalli. L'immagine è stata poi binarizzata andando a riempire i vuoti di nero e ad ogni elemento riconosciuto dal software è stato assegnato un numero. Per poter avere dei dati significativi è stata ripetuta la procedura su diverse immagini, così da avere una statistica su almeno 300/400 cristalli per campione. Ogni particella è stata approssimata come forma ad un'ellisse, del quale sono stati calcolati asse maggiore ed asse minore e il rapporto tra i due, ovvero l'aspect ratio. Sulla base di questo è stato anche calcolato il diametro di Feret, definito come la distanza tra le due parallele tangenti al perimetro dell'area proiettata dalla particella. Dal momento che per una singola particella possono essere determinati idealmente infiniti valori, si utilizza solitamente un valore medio. Nel nostro caso però tra i due assi si è considerato come più significativo quello maggiore, in quanto i valori del minore sono risultati compresi in un range abbastanza ristretto ed omogeneo, mentre l'elongazione del cristallo varia di molto da caso a caso. Il diametro calcolato è quindi risultato molto simile all'asse maggiore del cristallo.

La figura 16 [15] riporta delle informazioni di letteratura riguardo il meccanismo di cristallizzazione della curcumina e la forma dei cristalli ottenuti in base alla procedura utilizzata. È già noto che questi cristalli hanno una forma che devia da quella sferica e tendono ad avere elevati aspect ratio, ma la morfologia appare diversa in base alla tecnica utilizzata, in particolare all'utilizzo o meno degli ultrasuoni durante la procedura di cristallizzazione. In assenza di ultrasuoni, la crescita dei cristalli avviene in due stadi, con formazione di un corpo centrale iniziale al quale successivamente si aggregano dei nuovi nuclei, inducendo quindi una cristallizzazione secondaria. Questi nuclei accrescono a loro volta con una forma elongata, andando a creare una specie di raggiera. In presenza di ultrasuoni invece sembra essere favorita l'aggregazione di cristalli primari a formare strutture lamellate definite *superparticles*.

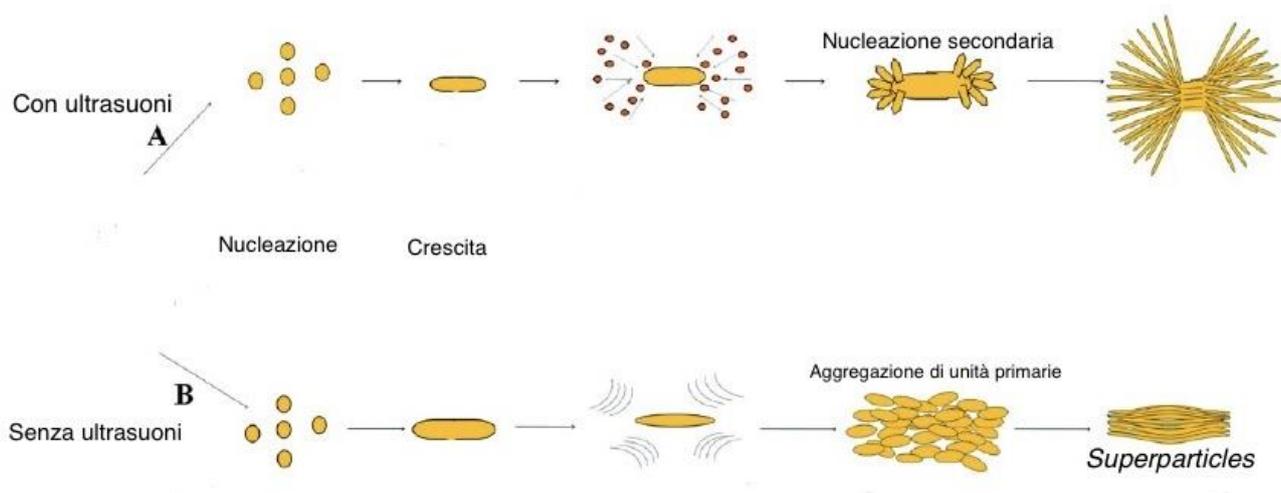


Figura 16 [adattata da 15]: Meccanismi di cristallizzazione della curcumina

5.3 ANALISI SPETTROSCOPIA RAMAN

I materiali cristallini possono essere distinti in base alla struttura della cella unitaria che ne caratterizza la struttura. Il fenomeno per cui un'unica specie chimica assume più di una possibile configurazione della cella unitaria è detto polimorfismo. Le differenze nelle lunghezze e negli angoli di legame delle strutture generano un'"impronta digitale" diversa, consentendo di comprendere con quale forma polimorfica si sta lavorando e soprattutto di monitorare il polimorfismo nel corso del tempo. Questo fenomeno avviene perché in base alle condizioni termodinamiche alle quali si trova un cristallo, questo tende a ridurre al minimo la propria energia reticolare. Mentre la natura della sostanza chimica rimane la stessa, le sue proprietà fisiche (solubilità, cinetica di crescita, dissoluzione e nucleazione, morfologia) possono variare da un polimorfo all'altro. Questo fenomeno è particolarmente critico in ambito farmaceutico, poiché forme polimorfiche più stabili hanno solubilità minore, comportando quindi una riduzione di biodisponibilità, prestazioni in vivo e quindi peggioramento dell'efficacia del farmaco.

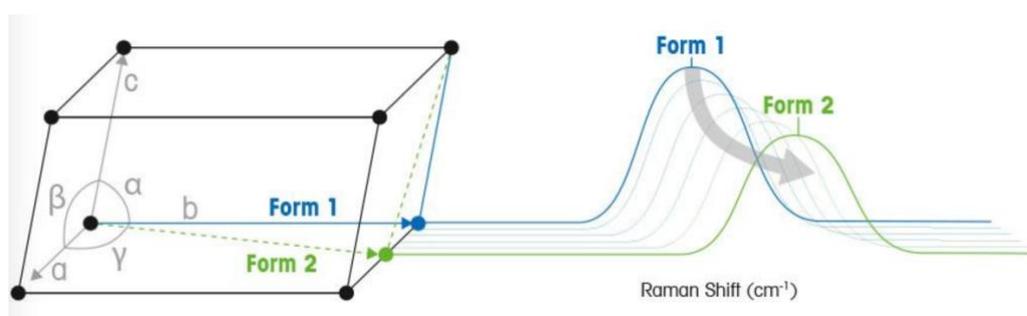


Figura 17 [Mettler toledo]: output di una spettroscopia Raman in relazione alla struttura cristallina

La spettroscopia Raman è una tecnica che consente di distinguere i polimorfi osservandone le differenze a livello strutturale. Questa sfrutta la variazione della polarizzabilità ovvero della deformazione della nuvola elettronica di un legame molecolare. Ogni molecola è caratterizzata da vibrazioni che seguono determinati schemi, identificandola univocamente; lo spettrofotometro è in grado di identificare polimorfi diversi sulla base di questi diversi spettri, confrontandoli con degli standard noti in letteratura. In generale la spettroscopia Raman è una tecnica di spettroscopia vibrazionale che sfrutta l'interazione della luce con la materia (diffusione o *scattering*) per ottenere informazioni sulla struttura o sulle caratteristiche di un materiale. Quando la luce interagisce con le molecole di un solido, la maggior parte dei fotoni viene dispersa o diffusa mantenendo la stessa energia dei fotoni incidenti; questo fenomeno è denominato diffusione elastica o di Rayleigh. Una porzione molto ridotta di questi, dopo la diffusione, ha una frequenza diversa da quella del fotone incidente. Questo processo è denominato diffusione anelastica, o effetto Raman, consente di esaminare le caratteristiche vibrazionali specifiche di una molecola e fornisce quindi informazioni sulla sua struttura e su come essa interagisce con le molecole circostanti. L'output dello strumento è

uno spettro caratteristico delle specifiche vibrazioni di una molecola che sono quindi univoche e fondamentali per identificare e distinguere le differenti forme (fig. 17)

Le analisi effettuate sui campioni cristallini di curcumina hanno tutti evidenziato una forma polimorfa III. La struttura cristallina della curcumina è stata resa nota solo nel 1982, come reticolo cristallino monoclinico. Attualmente sono note tre diverse forme polimorfe: la I rappresenta quella stabile e commercializzata, mentre le forme metastabili II e III sono state ottenute attraverso diverse tecniche di cristallizzazione e presentano un reticolo ortorombico. Dalla figura 18 [15] è possibile fare delle considerazioni sulla variabilità delle diverse forme dal punto di vista della struttura chimica.

La forma I presenta un centro di non simmetria che conferisce alla molecola una forma curva e parzialmente attorcigliata. Inoltre, gli anelli fenolici alle estremità sono parzialmente curvati l'uno rispetto all'altro. La forma II invece presenta maggiore regolarità grazie alla presenza di legami a idrogeno che formano una maglia a zig-zag. Infine, la forma III appare molto simile alla II per linearità e similarità nell'impaccamento ma differiscono per il numero e posizione dei legami a idrogeno e alcune orientazioni delle molecole.

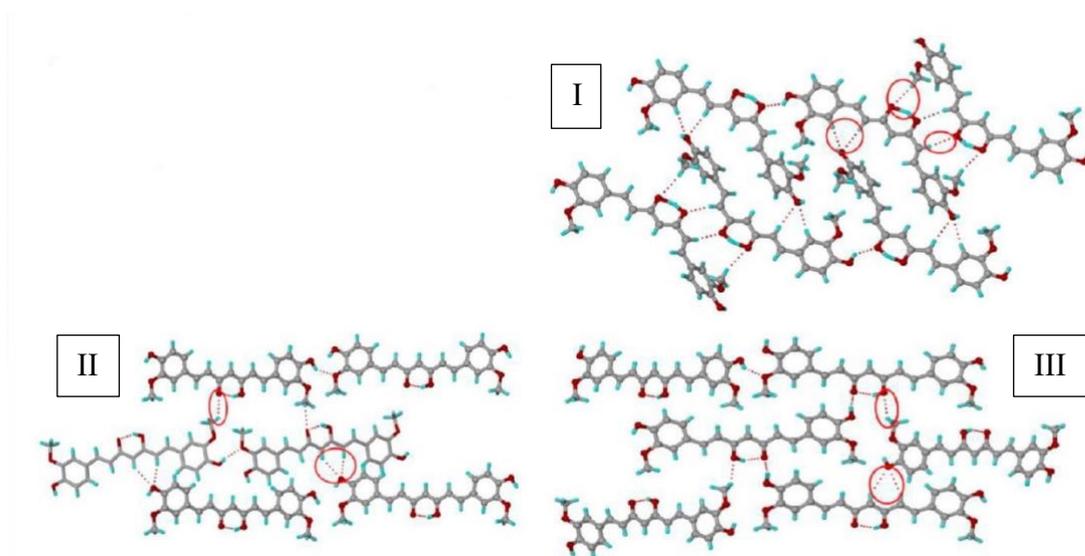


Figura 18 [adattata da 15]: differenze nella struttura e nei legami ad idrogeno dei tre polimorfi di curcumina

5.4 DIFFRATTOMETRIA A RAGGI X

Un'altra tecnica di caratterizzazione di solidi particolarmente utilizzata per le polveri è la diffrazione a raggi X. La diffrazione è un fenomeno che avviene quando una radiazione incontra un ostacolo o un'apertura di dimensioni paragonabili alla sua lunghezza d'onda. I raggi X sono in grado di essere assorbiti dal materiale da analizzare e di cedergli la propria energia determinando la transizione energetica degli elettroni, con possibilità di espellere elettroni da questi. Per poter analizzare il comportamento degli atomi è necessario utilizzare una radiazione con una lunghezza d'onda dell'ordine degli Ångström, i raggi X hanno proprio un range di valori confrontabili con le lunghezze di legame delle molecole. Da questa analisi è possibile ottenere diverse informazioni sul campione, quali le caratteristiche dell'unità di ripetizione del reticolo cristallino di una sostanza, gli elementi di simmetria puntuali e traslazionali del cristallo, connettività chimica dell'unità asimmetrica e il moto termico degli atomi o ioni.

Questa tecnica ha permesso di analizzare il reticolo cristallino delle polveri di curcumina e determinare le forme polimorfiche in esse presenti, l'analisi Raman effettuata è risultata complementare.

5.5 PROCEDURA DI CRISTALLIZZAZIONE

Come già accennato nella parte introduttiva, si è deciso di operare una cristallizzazione per antisolvente.

Dopo aver pesato la curcumina con una bilancia analitica da laboratorio, questa è stata inserita in un contenitore in vetro insieme all'etanolo precedentemente riscaldato; attraverso una piastra magnetica riscaldata ed un agitatore inserito nel contenitore si mantiene il sistema in rotazione fino a completa dissoluzione. Per poter monitorare la temperatura del liquido è stata impiegata una sonda, facendo attenzione di mantenerla ad una profondità nel liquido significativa per la misurazione ma che non interferisse con l'agitazione.

Contemporaneamente, come mostrato in figura 19, viene inserita l'asta dell'omogeneizzatore Ultraturrax nel becker contenente il volume di acqua MilliQ, purificata e deionizzata, necessaria per l'esperimento.



Figura 19: setup della procedura di cristallizzazione

Si è impostata la velocità di rotazione in rpm e una volta posta in rotazione l'acqua, è stata versata velocemente la soluzione di curcumina in etanolo nel becker, facendo attenzione di non toccare le pareti di contenitore e strumento. Il sistema rappresentato in figura 20 è stato lasciato in agitazione per cinque minuti, favorendo la cristallizzazione.



Figura 20: soluzione in agitazione con Ultraturrax

Il composto così ottenuto è stato poi filtrato, collegando il sistema ad una pompa da vuoto per velocizzare l'operazione (fig. 21). I cristalli filtrati sono quindi rimasti depositati su carta filtro con cut-off di $0,22 \mu\text{m}$. (fig. 22) Dopo successiva essiccazione all'aria sono stati prelevati con delle pinze e inseriti nelle vial. I tempi di filtrazione sono risultati abbastanza variabili: in ogni caso si è vista la

formazione di un cake compatto (fig. 23), probabilmente la presenza di cristalli più piccoli in alcuni campioni ha determinato un intasamento repentino della carta di filtro, allungando il tempo di filtrazione totale.



Figura 21: filtrazione con pompa da vuoto



Figura 22: deposizione dei cristalli su carta filtro



Figura 23: essiccamento dei cristalli

5.6 MISURA DELL'ANGOLO DI CONTATTO

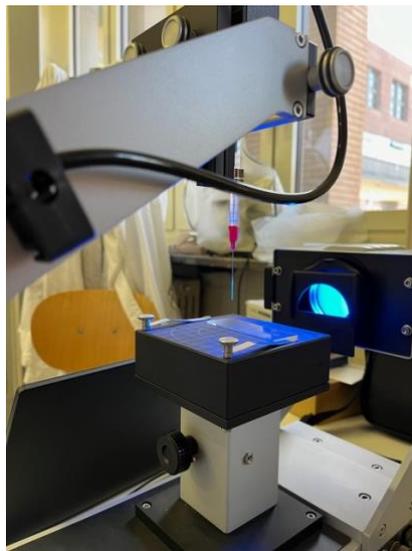


Figura 24: componenti dello strumento per la misura di angolo di contatto

La misura dell'angolo di contatto, effettuata con il metodo della goccia sessile, è una tecnica ottica utilizzata per determinare le caratteristiche di bagnabilità della superficie di un solido ad opera di un liquido. L'angolo di contatto è un parametro che indica la forza relativa delle interazioni del sistema liquido/solido/aria (fig. 25) [30].

Lo strumento per la misura dell'angolo di contatto è composto da una sorgente luminosa, un supporto per il campione, una siringa per la deposizione delle gocce di liquido e un sistema di acquisizione dell'immagine (fig. 24).

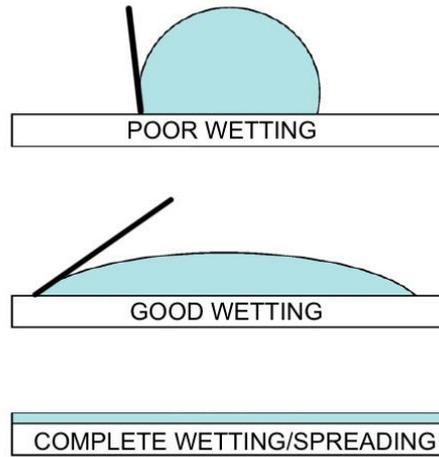


Figura 25 [riprodotta da 30]: relazione tra wetting e angolo di contatto

Il campione, per poter essere analizzato, deve essere compattato in un pellet di diametro di circa 1,2 cm e spessore qualche mm. Nel nostro caso è stato necessario compattare la polvere di cristalli di curcumina in questo pellet utilizzando una pressa (fig. 26), raggiungendo una pressione di 250-350 bar. A causa delle difficoltà riscontrate nel maneggiare i cristalli di curcumina a causa della loro elettrostaticità, alcuni pellet hanno subito una rottura in prossimità di piccole crepe dovute alla scarsa compattezza della zona, che però ha permesso di condurre comunque la misura.

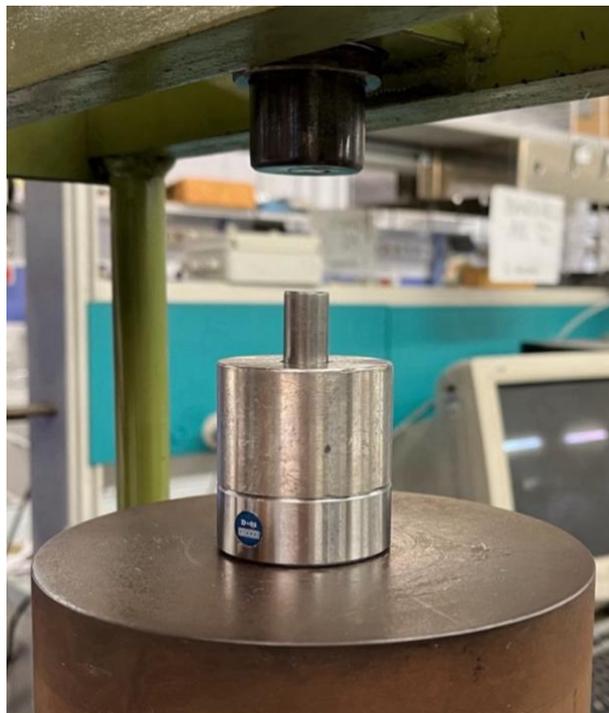


Figura 26: pressa utilizzata per la realizzazione del pellet

La superficie non risultava del tutto liscia, con asperità visibili quando il campione veniva attraversato dalla sorgente luminosa, motivo per il quale la misura dell'angolo di contatto è risultata difficoltosa e la prova è stata ripetuta più volte. Il volume della goccia depositata ogni volta è di 2 μ l. Sono da sconsigliare prove successive sulla stessa porzione di disco poichè i valori di angolo di contatto possono essere non del tutto veritieri a causa dell'impregnazione del campione con il liquido da analizzare. Una goccia pendente, ovvero che si trova sulla punta dell'ago, viene dosata su un campione solido (goccia sessile). Un'immagine della goccia viene registrata con l'aiuto di una fotocamera e trasferita al software di analisi, il quale riconosce i contorni dell'immagine sulla base di un'analisi in scala di grigi di essa.

L'angolo di contatto viene misurato utilizzando l'immagine di questa nei punti di intersezione tra il contorno della goccia e la proiezione della superficie (linea di base).

5.7 EMULSIONI

5.7.1 EMULSIONI OLIO IN ACQUA

CAMPIONE	ACQUA (g)	OLIO (g)	CURCUMINA (mg)
1	25	0,175	4,75
2	11,75	0,63	12,5
2,1	14,24	0,75	15
4	11,75	0,63	6,25
4,1	11,75	0,63	6,25
5	14,2	0,75	45
6	12,75	1,5	15
6,2	12,75	1,5	15

Tabella 2: emulsioni olio in acqua

Per poter procedere con la creazione delle emulsioni si è deciso di consultare per prima cosa dei dati di letteratura. L'effettiva stabilizzazione da parte delle particelle avviene quando la dimensione media di queste è almeno di un ordine di grandezza minore rispetto a quello delle gocce. In generale, la stabilità è inversamente proporzionale alla dimensione delle particelle; dimensioni minori permettono di avere un impaccamento più efficiente e quindi uno strato più omogeneo che evita la coalescenza.

Se l'angolo di contatto, misurato in fase acquosa, è minore di 90°, una maggiore frazione di area superficiale delle particelle si trova in fase acquosa rispetto a quella non polare; la particella è più idrofila e tenderà a stabilizzare emulsioni O/W. Se invece l'angolo è maggiore di 90° la particella tende a risiedere più nella fase oleosa, la particella è più idrofobica e stabilizzerà emulsioni W/O.

Dalle considerazioni fatte in precedenza sull'angolo di contatto, le emulsioni che risulterebbero maggiormente stabilizzate dai cristalli di curcumina sono quelle acqua in olio. Si è proceduto facendo due esperimenti di questo tipo, ma essendoci già molti esempi in letteratura e per investigare la

possibilità dei cristalli di formare dei ponti (crosslinking) tra di loro e quindi di aumentare la capacità di stabilizzazione, si sono fatti degli esperimenti anche per emulsioni olio in acqua. Si è infatti pensato che la maggiore affinità delle particelle di curcumina con la fase olio e la forte idrofobicità potessero favorire la disposizione di queste all'interfaccia.

Il riassunto delle quantità utilizzate in entrambi i casi sono riportati nelle tabelle 2 e 3.

Come procedura si è iniziato passando delicatamente il mortaio sopra la curcumina disposta su un disco di vetro, per cercare di rompere il più possibile gli aggregati ma facendo attenzione a non rompere anche i cristalli. Particelle troppo grandi potrebbero infatti risultare poco efficienti nello stabilizzare gocce di piccole dimensioni o addirittura precipitare appunto come aggregati.

Successivamente si è dispersa la curcumina nella fase continua (fig. 27), ovvero l'acqua.



Figura 27: dispersione della curcumina in acqua

Questa parte è stata effettuata in diversi modi in base ai risultati osservati nelle precedenti prove. Essendo appunto la curcumina poco affine all'acqua la sua dispersione ha richiesto molto tempo, soprattutto durante le prime prove, nelle quali si è scelto di utilizzare un agitatore magnetico, poi integrato o sostituito dall'utilizzo degli ultrasuoni.

Infine, è stata inserita con un contagocce la quantità di olio di girasole nella fiala contenente la dispersione per poi passare ad agitazione sempre con metodi differenti per la creazione dell'emulsione vera e propria.

I campioni sono stati osservati al microscopio ottico per capire come si disponessero i cristalli, e monitorati per diversi giorni per verificarne la stabilità.

5.7.2 EMULSIONI ACQUA IN OLIO

CAMPIONE	ACQUA (g)	OLIO (g)	CURCUMINA (mg)
3	1,25	23,5	25
3,1	0,75	14,5	15

Tabella 3: emulsioni acqua in olio

5.7.8 EMULSIONI CON TENSIOATTIVO

CAMPIONE	ACQUA(g)	SDS(mg)	ESADECANO (g)
3	20	40	0,16
4	20	40	0,14
5	20	40	0,12
6	20	40	0,1

Tabella 4: emulsioni con SDS

Sono state fatte infine delle prove formando emulsioni di esadecano in acqua (tab. 4, fig. 28) stabilizzate mediante il tensioattivo laurilsolfato di sodio (SDS).



Figura 28: campioni di emulsioni con SDS

5.8 SPETTROFOTOMETRO

Lo spettrofotometro UV-Visibile è uno strumento utilizzato per misurare l'assorbimento della luce emessa da una sorgente da parte di un campione; con esso è possibile spaziare dal range UV (indicativamente da 200 a 400 nm) al range visibile (da 400 a 800 nm). L'assorbanza viene spesso utilizzata per determinare la concentrazione di una sostanza presente in una soluzione. Il principio di funzionamento di tutti gli spettrofotometri è lo stesso: una fonte luminosa emette un raggio di luce che incide su un collimatore, ovvero una lente in grado di raddrizzare un fascio di raggi provenienti da una sorgente sotto forma di onda sferica in un fascio di raggi paralleli. Questi raggi incidono poi su un prisma che rifrange la luce per separare le diverse lunghezze d'onda incidenti su di esso. La rotazione del prisma modifica le lunghezze d'onda che cadono sulla fessura, consentendo di selezionare una lunghezza d'onda da utilizzare. Insieme, i componenti del collimatore, del prisma e della fessura formano un'unità chiamata monocromatore.

La soluzione viene posta in una cuvetta, si indicano rispettivamente I_0 e I l'intensità della luce incidente sul campione e quella in uscita da esso. È quindi possibile calcolare la trasmittanza, ovvero il rapporto tra la radiazione in uscita misurata attraverso una fotocellula e quella incidente. Attraverso una semplice relazione è possibile correlare la trasmittanza (T) all'assorbanza (A), valore che viene misurato dallo strumento:

$$A = \log\left(\frac{1}{T}\right) \quad (5.1)$$

L'assorbanza è poi correlabile alla concentrazione (C) della soluzione attraverso la legge di Lambert-Beer:

$$A = \epsilon l C \quad (5.2)$$

In questa compaiono anche il cammino ottico (l), ovvero lo spessore della soluzione contenuta nella cuvetta e il coefficiente di assorbimento molare (ϵ) che dipende dal tipo di solvente, dalla lunghezza d'onda utilizzata e dalla specie chimica da analizzare, è invece indipendente dalla temperatura.

5.9 LIGHT SCATTERING

La tecnica del *laser light scattering* consiste nel re-direzionamento della luce che avviene quando un'onda elettromagnetica incontra un ostacolo o inomogeneità, nel caso in esame cristalli di curcumina in soluzione acquosa. Quando l'onda interagisce con una particella, le orbite degli elettroni all'interno delle molecole costituenti la particella sono perturbate periodicamente con la stessa frequenza del campo elettrico dell'onda incidente. La perturbazione della nuvola elettronica risulta in una separazione di carica periodica nella molecola, chiamato momento di dipolo indotto, che rappresenta la sorgente della nuova radiazione. Quando questa presenta la stessa frequenza della radiazione incidente, il processo è chiamato scattering elastico. Questo viene principalmente

utilizzato per la determinazione della distribuzione granulometrica di un campione disperso in una fase continua e si basa sull'analisi della diffrazione prodotta dalle particelle esposte a un fascio di luce monocromatica.

La tecnica non può però distinguere lo scattering delle singole particelle da quello di agglomerati o aggregati. La procedura di dispersione deve essere adattata allo scopo della misurazione; per questo motivo i cluster vengono solitamente dispersi in particelle primarie prima della misurazione, così da avere una panoramica corretta della distribuzione dimensionale delle particelle primarie. Allo stesso tempo è importante che le particelle non vengano rotte o sminuzzate eccessivamente, per non fornire misurazioni falsate. Anche per le particelle che deviano dalla forma sferica, come nel caso dei cristalli di curcumina in esame, è possibile ottenere attraverso delle assunzioni una distribuzione delle dimensioni. Un campione di solido da analizzare viene disperso ad una concentrazione adeguata in un liquido e viene poi fatto passare attraverso un fascio di luce monocromatica, di solito un laser. La luce viene diffusa dalle particelle a vari angoli e misurata da un multi-rivelatore. Utilizzando modelli matematici è possibile ricavare dai dati di scattering una distribuzione di dimensione delle particelle. È anche importante analizzare le caratteristiche del liquido utilizzato per la dispersione: questo deve essere trasparente alla lunghezza d'onda del laser e privo di bolle d'aria o particelle che potrebbero interferire con la misura. Rispetto al materiale di prova il liquido deve avere un indice di rifrazione diverso e non deve solubilizzare il campione solido, o favorire ricristallizzazione che altererebbero le dimensioni del materiale da analizzare. Inoltre, deve presentare una viscosità adeguata a favorire il ricircolo, l'agitazione e la filtrazione.

Dopo il corretto allineamento della parte ottica dello strumento è necessario effettuare una prova con il solo mezzo di dispersione che si utilizzerà poi per l'analisi del campione, per verificare che il segnale di fondo sia al di sotto di una soglia adeguata. Per ogni elemento rilevato viene calcolato un segnale medio e la sua deviazione standard; le coordinate (dimensioni e posizione) degli elementi rivelatori insieme alla distanza focale dell'obiettivo determinano la gamma degli angoli di dispersione. Il rapporto tra l'intensità di un campione disperso e quella in sua assenza (misurazione del bianco) indica la proporzione di luce diffusa e quindi la concentrazione di particelle.

Per produrre un rapporto segnale-rumore accettabile nel rivelatore, il campione deve presentare una diluizione corretta, la concentrazione di particelle nella dispersione deve superare un livello minimo ma non essere eccessiva, al fine di evitare scattering multipli. Questo fenomeno avviene se la concentrazione di particelle nel campione è talmente elevata da ridirezionare più volte il fascio di luce tra queste piuttosto che direttamente al rivelatore. Inoltre, questi potrebbero ricevere più segnali contemporaneamente e dare quindi una misura poco accurata.

L'intervallo di concentrazione ammissibile è influenzato dalla larghezza del raggio laser, dalla lunghezza del percorso della zona di misura, dalle proprietà ottiche delle particelle e dalla sensibilità degli elementi rivelatori. In relazione a questo, le misurazioni devono essere effettuate a diverse concentrazioni di particelle per determinare l'intervallo di concentrazione appropriato per il campione in esame.

6 RISULTATI SPERIMENTALI

6.1 CARATTERIZZAZIONE DEI CRISTALLI

I parametri di output che si sono studiati sono l'aspect ratio e il diametro (come valore medio e mediano) dei cristalli ottenuti per ogni esperimento di antisolvente condotto. Per ottenere questi valori sono state effettuate e opportunamente processate delle immagini al SEM di ogni campione (quelli utilizzati poi in laboratorio per la creazione delle emulsioni sono l'11 e il 12, per cui verranno riportati dati e immagini solamente di questi).

6.1.1 CAMPIONE 11.1

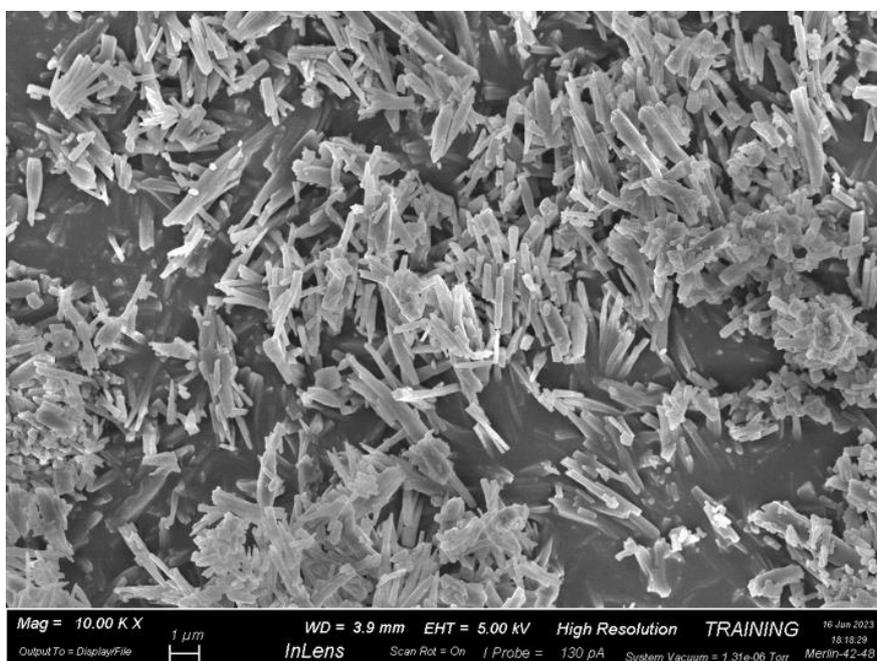


Figura 29a: campione 11.1 al SEM

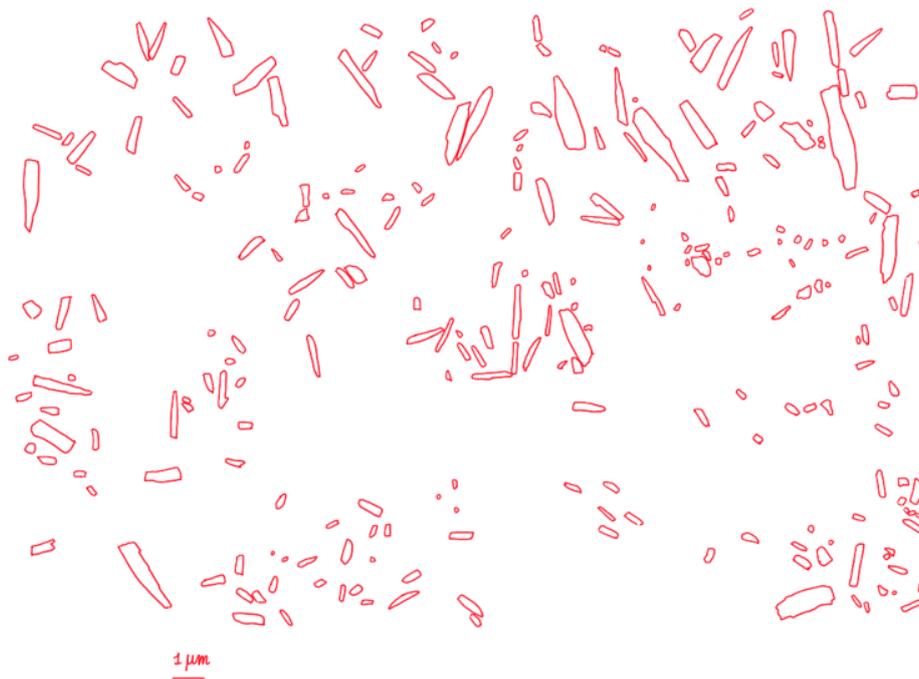


Figura 29b: campione 11.1 selezione cristalli

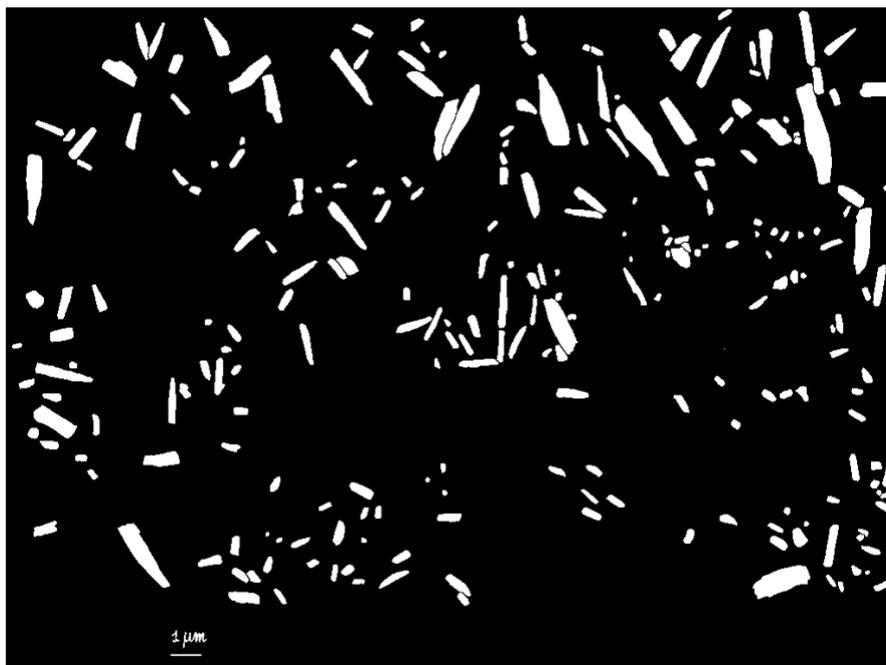


Figura 29c: campione 11.1 immagine binarizzata



Figura 29d: campione 11.1 conteggio cristalli

6.1.2 CAMPIONE 11.2

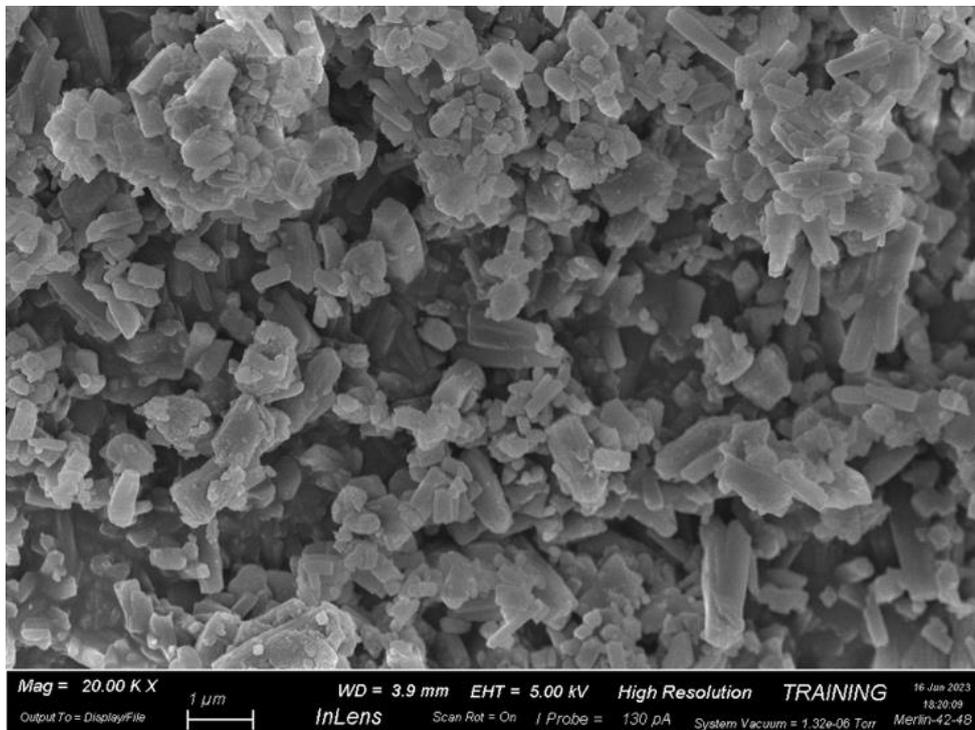


Figura 30a: campione 11.2 al SEM



Figura 30b: campione 11.2 selezione cristalli

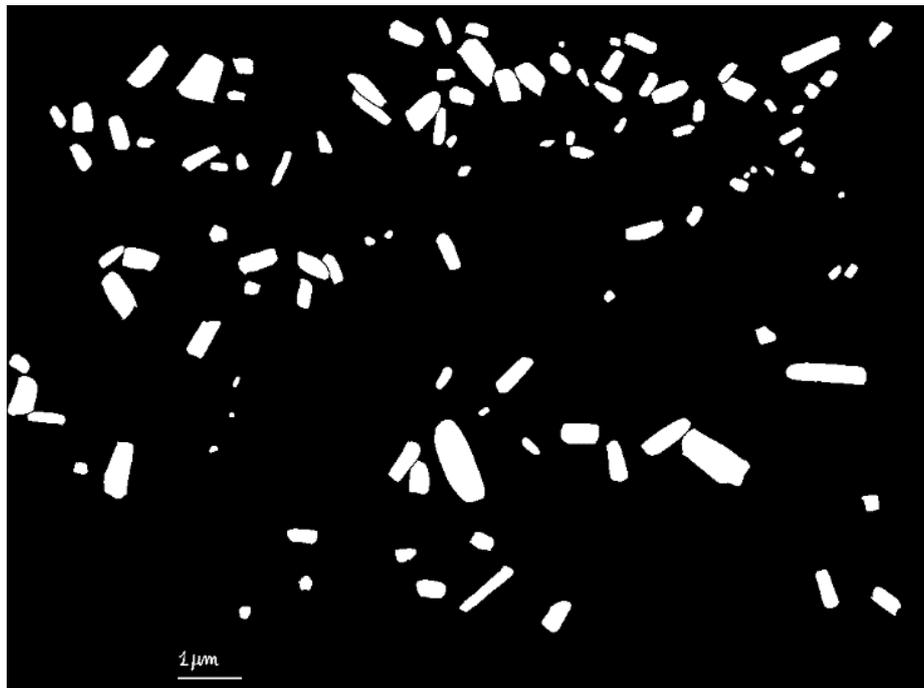


Figura 30c: campione 11.2 immagine binarizzata

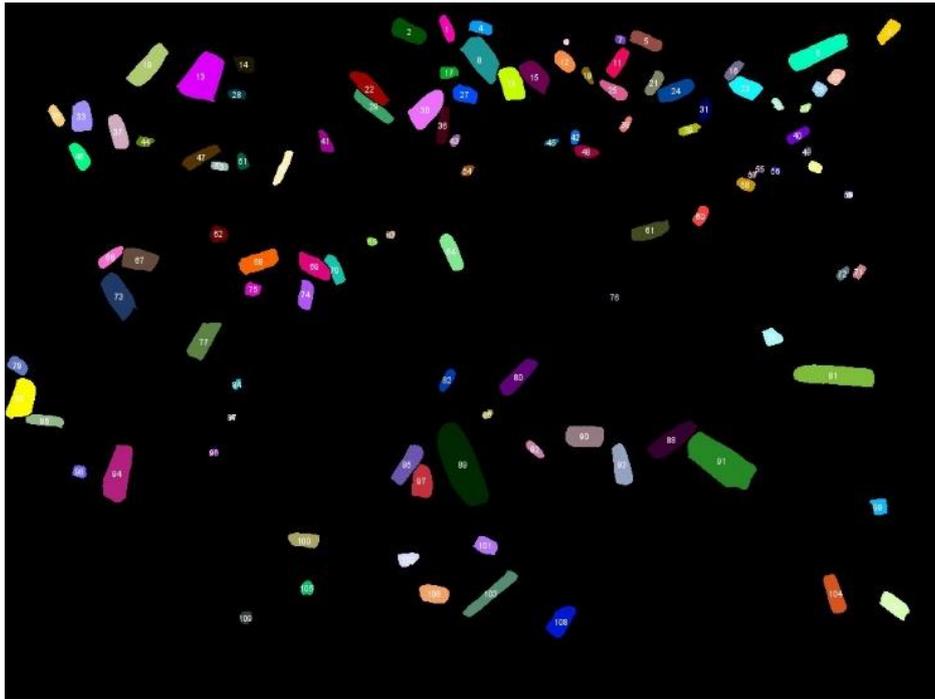


Figura 30d: campione 11.2 conteggio cristalli

6.1.3 CAMPIONE 11.3

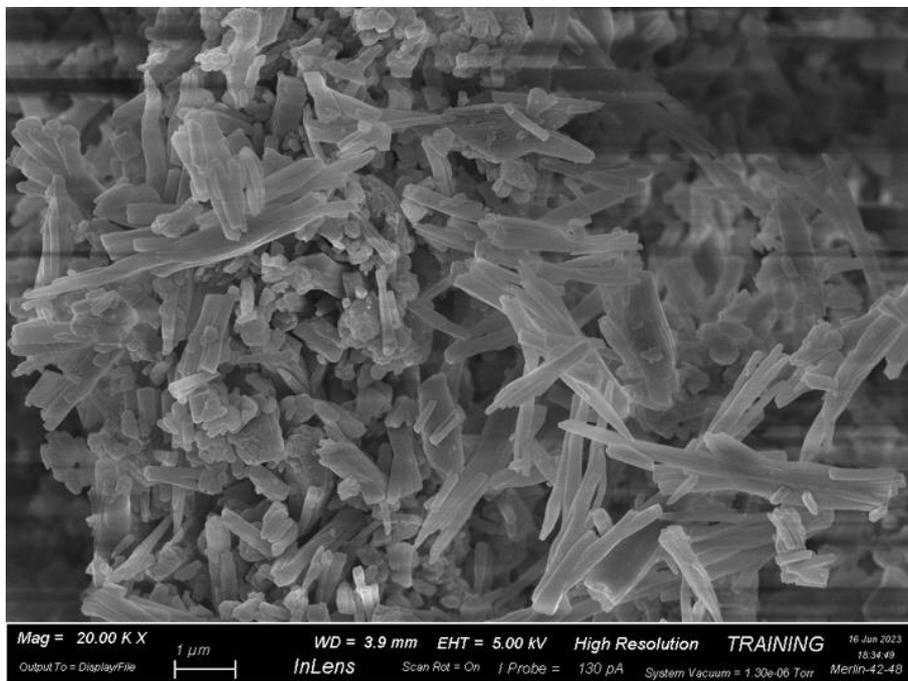


Figura 31a: campione 11.3 al SEM

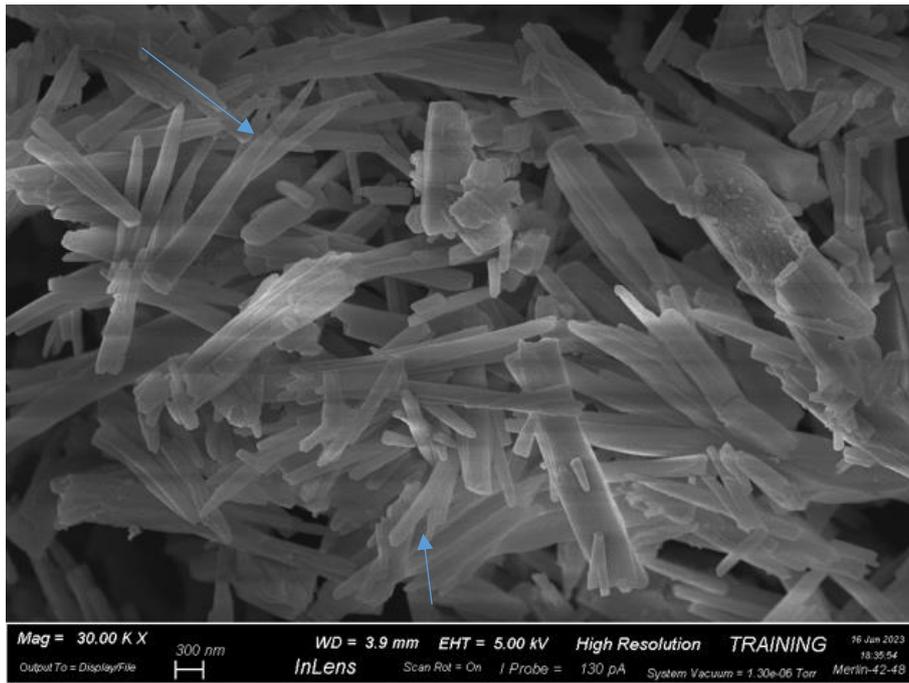


Figura 31b: campione 11.3 al SEM, diverso ingrandimento



Figura 31c: campione 11.3 selezione cristalli



Figura 31d: campione 11.3 immagine binarizzata



Figura 31e: campione 11.3 conteggio cristalli

Le immagini di questo campione (figure 29-31) risultano abbastanza varie: la scala di riferimento è di $1 \mu\text{m}$, tranne nella figura 40b, che è di 300 nm. Si notano principalmente strutture riconducibili alle *superparticles* viste nella figura 23, anche se la procedura utilizzata non prevede l'utilizzo di ultrasuoni; in alcuni punti indicati dalle frecce, è possibile vedere anche un accenno di fenomeno di nucleazione secondaria e accrescimento a partire da un corpo centrale. La distribuzione di dimensione

è abbastanza varia: i cristalli presentano in generale una forma molto allungata fino a raggiungere circa $7/8 \mu\text{m}$ di lunghezza e con elevati aspect ratio, ma dalla foto 11.2 è possibile osservare anche cristalli di più piccola dimensione (circa $1 \mu\text{m}$) e che soprattutto presentano forma più compatta, non riconducibile idealmente ad una sfera ma a dei prismi allungati.

6.1.4 CAMPIONE 12.1

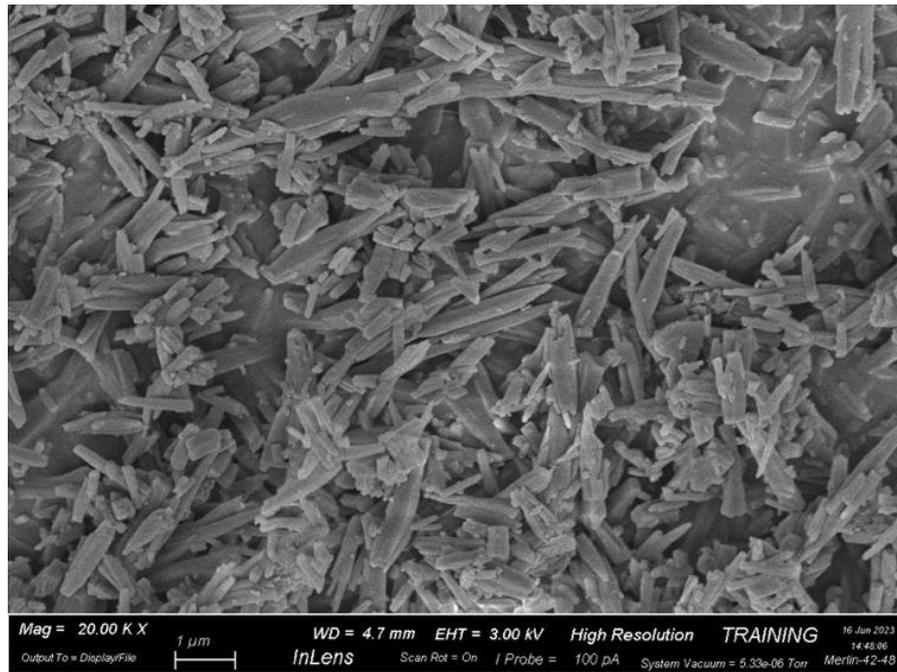


Figura 32a: campione 12.1 al SEM

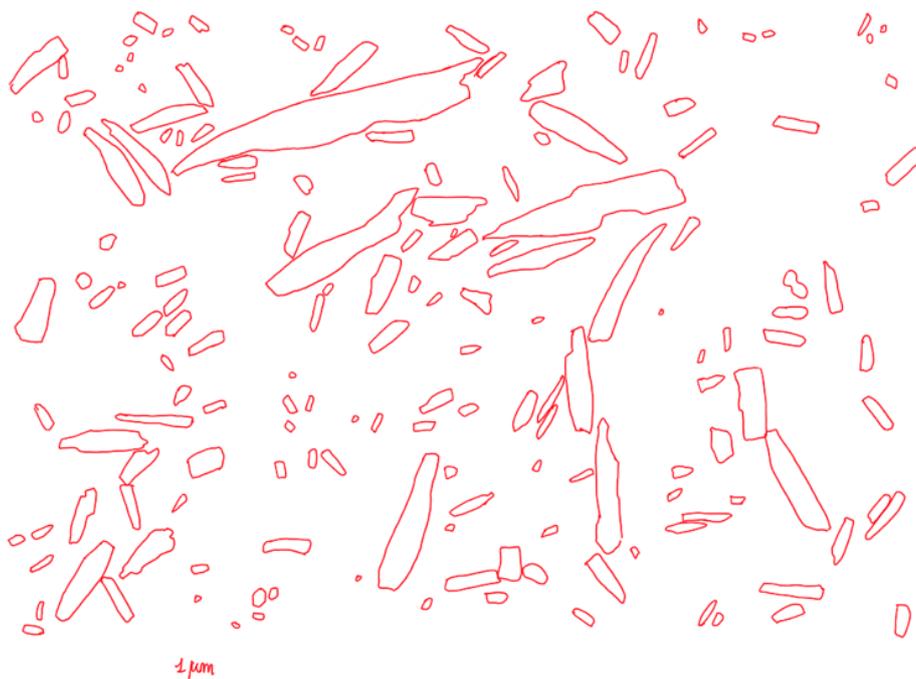


Figura 32b: campione 12.1 selezione cristalli



Figura 32d: campione 12.1 immagine binarizzata

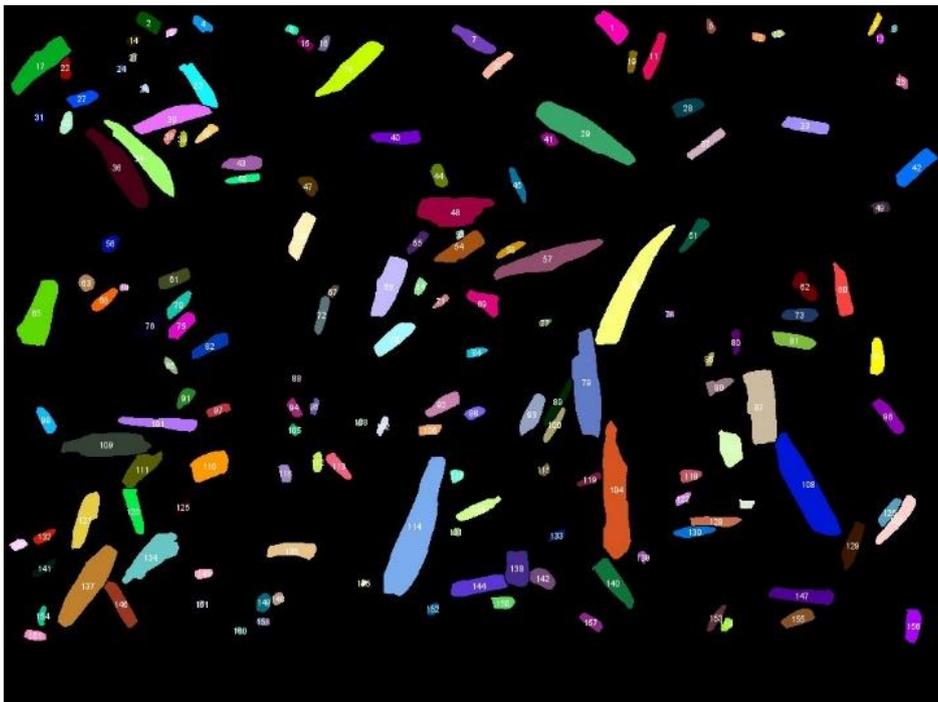


Figura 32c: campione 12.1 conteggio cristalli

6.1.5 CAMPIONE 12.2

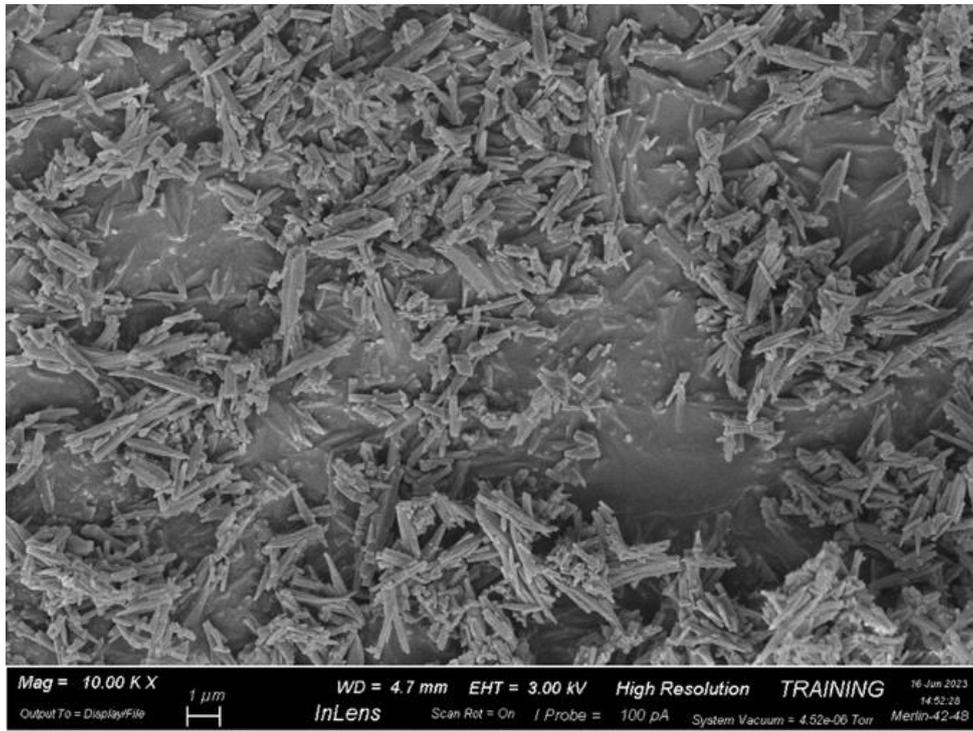


Figura 33a: campione 12.2 al SEM

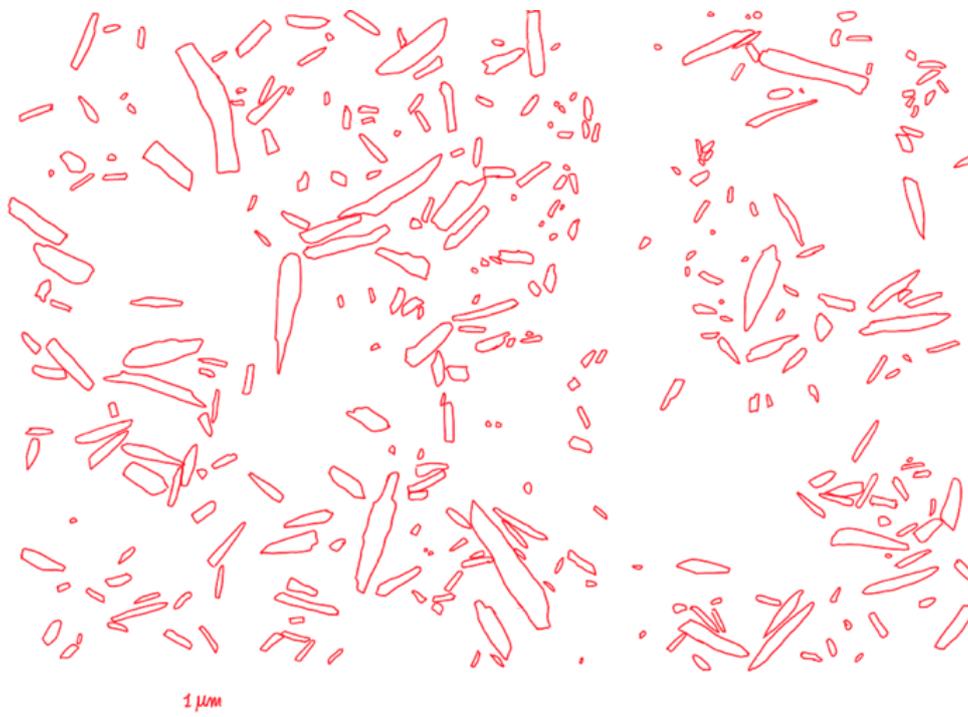


Figura 33b: campione 12.2 selezione cristalli

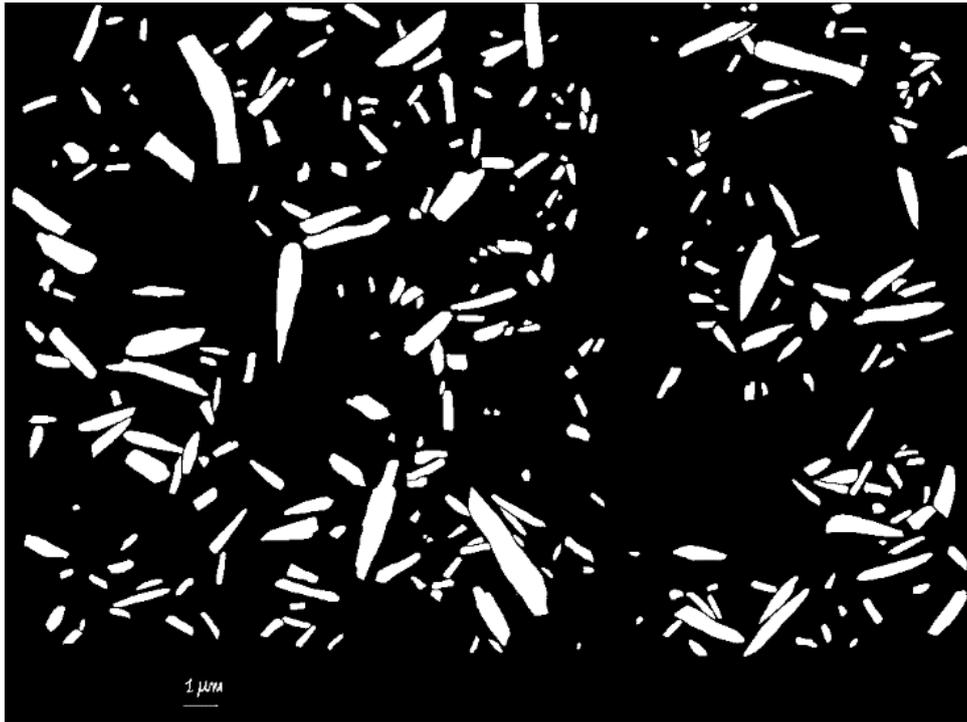


Figura 33c: campione 12.2 immagine binarizzata

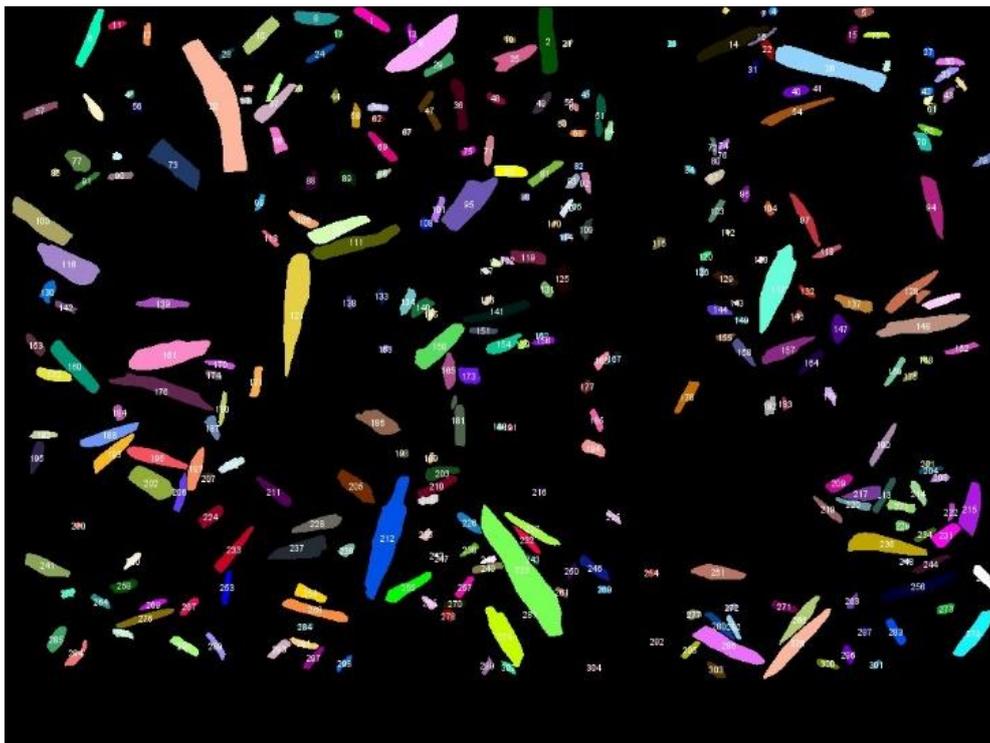


Figura 33d: campione 12.2 conteggio cristalli

I cristalli del campione 12 (figure 32-33) presentano una distribuzione di dimensione più omogenea rispetto al caso precedente: sono presenti sia cristalli di forma elongata e dimensioni maggiori, sia cristalli di più piccole dimensioni ma distribuite uniformemente. La scala di riferimento è qui posta sempre a $1 \mu m$, ma nel campione 12.2 i cristalli sembrano avere uno spessore minore rispetto agli

altri casi. Si sono formate comunque strutture lamellate ma più sottili e sembra essere più presente il fenomeno di crescita secondaria alle estremità dei singoli cristalli.

Grazie ai risultati ottenuti dall'analisi delle immagini al SEM, è stato possibile numerare i cristalli e calcolare secondo le approssimazioni precedentemente descritte l'area e il perimetro di ognuno di essi. Dopo aver individuato la dimensione dei due assi delle ellissi approssimanti ogni cristallo, si è calcolato il loro rapporto e il diametro di Feret. Da questi dati è stato possibile costruire degli istogrammi rappresentanti il numero di particelle che rientrano all'interno di un certo range di valori. (figure 34-35 per il campione 11 e figure 38-39 per il campione 12)

Successivamente è stato fatto lo stesso ma considerando una frequenza relativa. (figure 36-37 per il campione 11 e figure 40-41 per il campione 12).

I risultati ottenuti sono coerenti tra i due campioni e riassunti dalle tabelle di seguito 5 e 6: in generale si può affermare che i cristalli hanno in media un diametro di Feret di $0,67 \mu\text{m}$ e un aspect ratio di 2,68.

Si è deciso di calcolare sia media che mediana dei valori per avere una visione statistica più completa. Nel calcolo della media, infatti, dato che si devono sommare tutti i valori di una serie e dividere poi per il numero di elementi totale, valori che si discostano abbastanza dal range potrebbero influire molto sul risultato finale. Per la mediana invece si prende un valore centrale disponendo tutti i valori in ordine crescente, per cui il valore risultante dovrebbe essere più accurato, dato che in una serie numerosa valori che si discostano si trovano agli estremi.

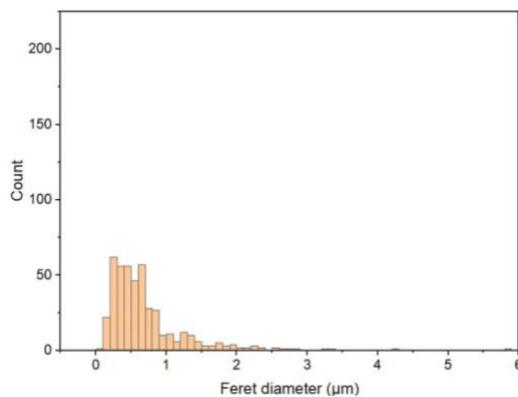


Figura 34: Diametro Feret campione 11

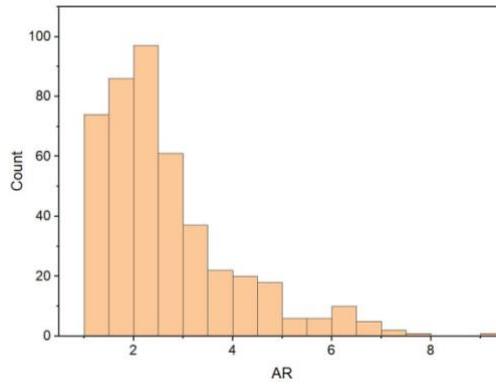


Figura 35: Aspect Ratio campione 11

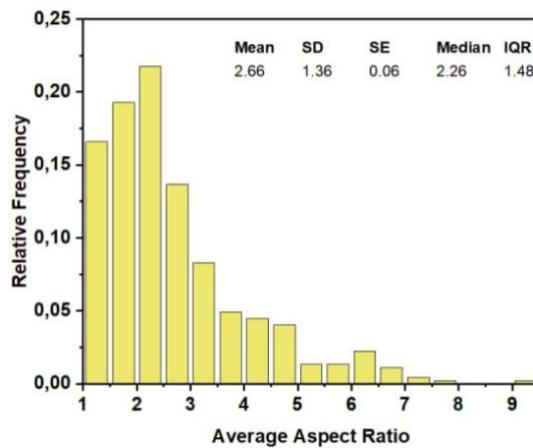


Figura 36: Aspect Ratio medio campione 11

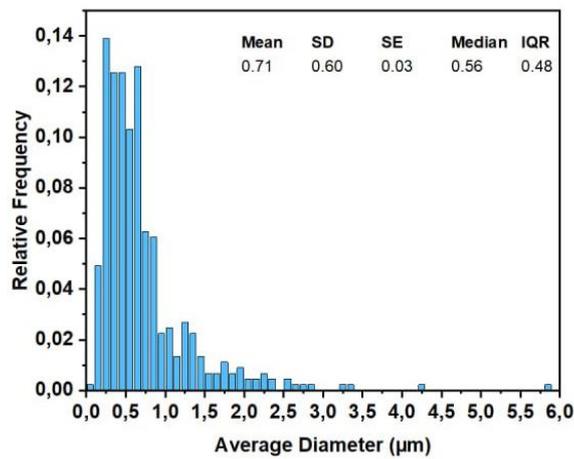


Figura 37: Diametro medio [μm] campione 11

CAMPIONE 11	FERET [μm]	AR
MEDIA	0,71	2,66
MEDIANA	0,56	2,26

Tabella 5: risultati numerici campione 11

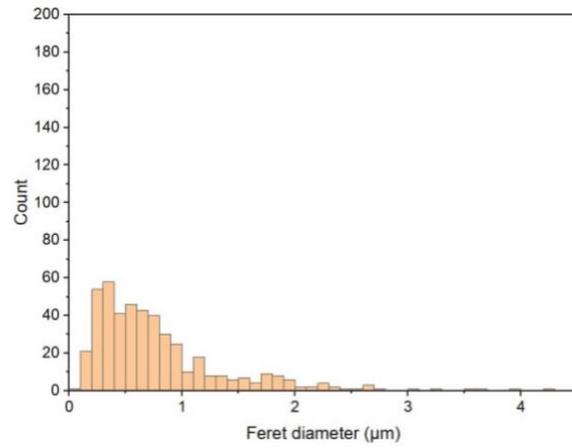


Figura 38: Diametro Feret campione 12

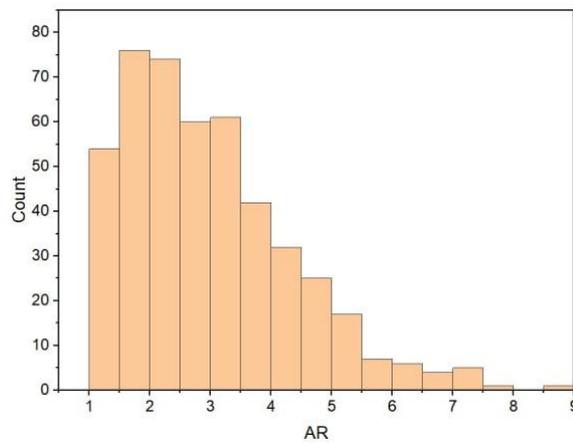


Figura 39: Aspect ratio campione 12

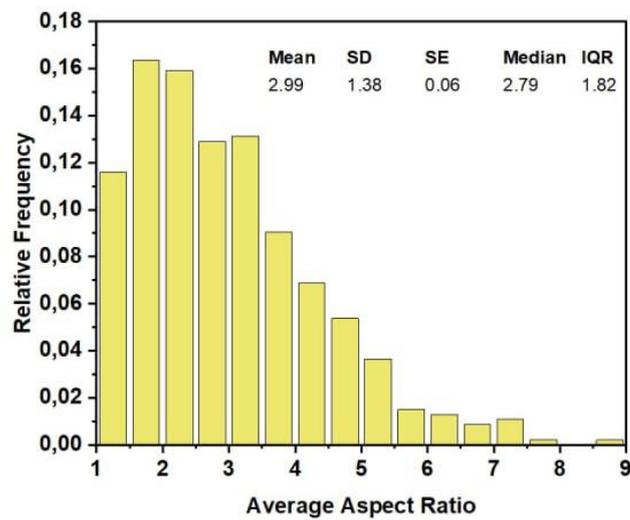


Figura 40: Aspect Ratio medio campione 12

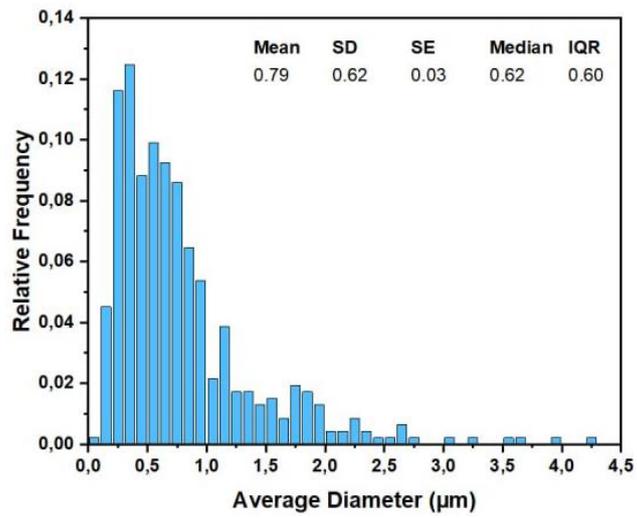


Figura 41: Diametro medio [μm] campione 12

CAMPIONE 12	FERET [μm]	AR
MEDIA	0,79	2,99
MEDIANA	0,62	2,79

Tabella 6: risultati numerici campione 12

6.2 ANGOLO DI CONTATTO

6.2.1 OLIO

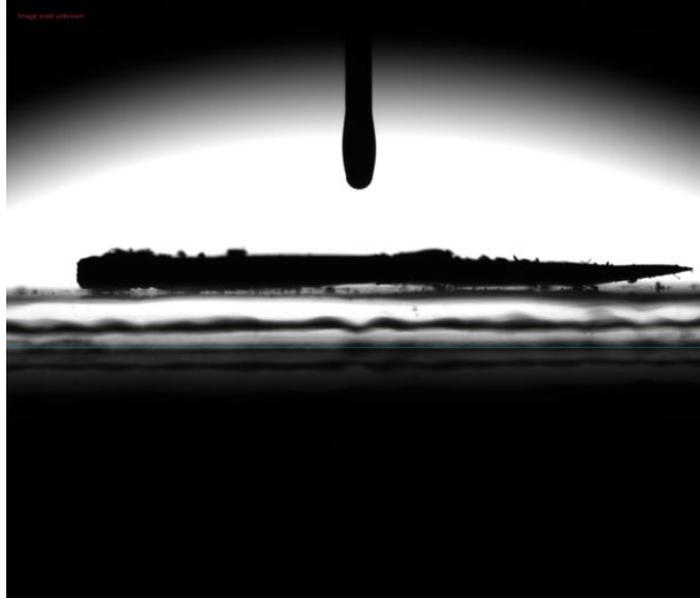


Figura 42: angolo di contatto nullo

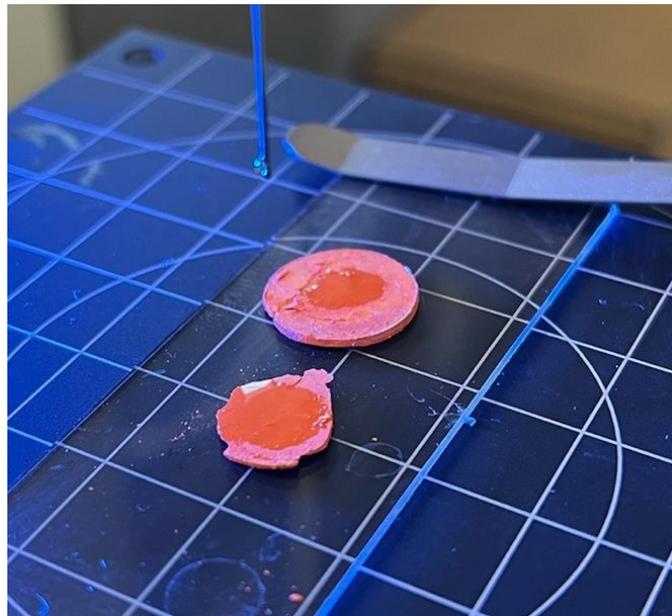


Figura 43: fenomeno dello spreading dell'olio su pellet di curcumina

6.2.2 ACQUA MILLIQ pH NEUTRO

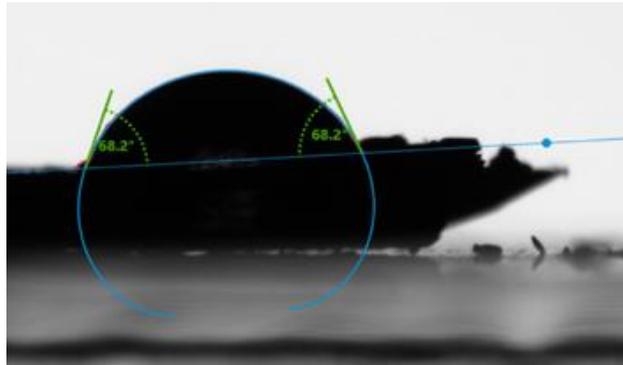


Figura 44: prima prova angolo di contatto acqua pH 7

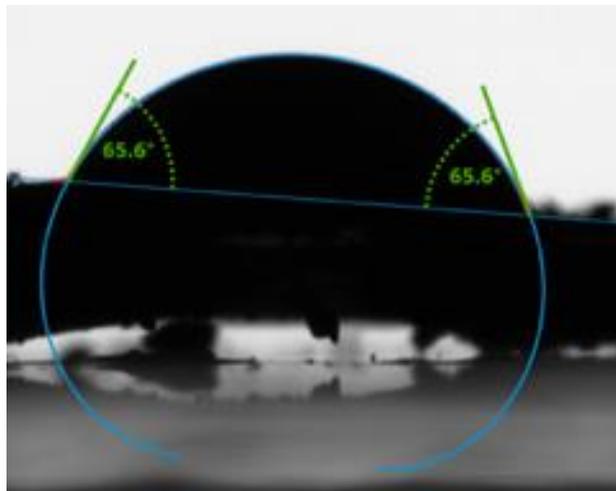


Figura 45: seconda prova angolo di contatto acqua pH 7

6.2.3 ACQUA ACIDIFICATA

(all'acqua Milliq è stato aggiunto goccia a goccia acido cloridrico finchè il phmetro non segnava un valore di 3)

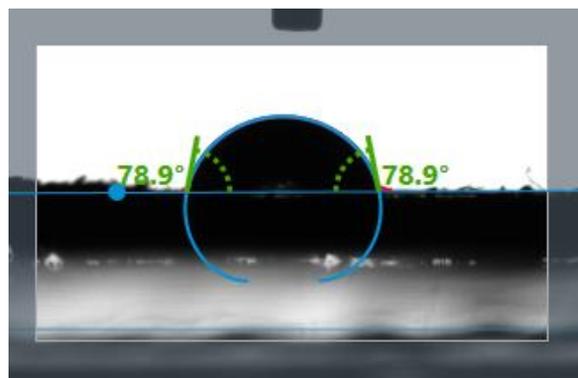


Figura 46: angolo di contatto con acqua pH 3

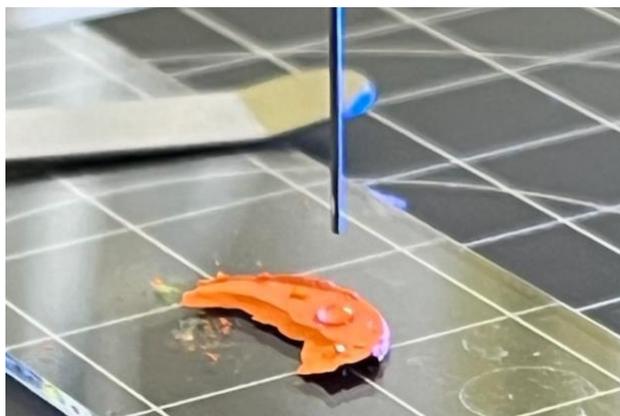


Figura 47: pellet di curcumina dopo deposizione di goccia d'acqua a pH 3



Figura 48: pellet di curcumina dopo deposizione di due gocce d'acqua a pH 3 (alle estremità) ed una centrale di acqua a pH neutro

Sia dalle immagini dello strumento (figure 42, 44, 45, 46) che da quelle dei campioni (figure 43, 47, 48) è possibile notare un comportamento molto diverso tra olio e acqua con la curcumina. In base alle definizioni viste in precedenza, l'olio di semi di girasole è in grado di bagnare completamente la curcumina, tanto che il software non è in grado di rilevare alcuna goccia depositata sul campione, confermando il fenomeno dello *spreading* (fig. 52). Per quanto riguarda l'acqua invece, nonostante un leggero assorbimento nel campione ed evaporazione, la goccia persiste sul disco anche dopo alcuni minuti dalla fine della prova. Un angolo di circa $66/68^\circ$ indica una scarsa bagnabilità da parte dell'acqua. Per l'acqua acidificata questo valore risulta ancora meno favorevole per la bagnabilità, di circa 79° . Questo indica che la curcumina presenta una repulsione ancora maggiore nei confronti di questa sostanza. Secondo queste considerazioni quindi, la curcumina dovrebbe essere in grado di stabilizzare maggiormente emulsioni W/O piuttosto che O/W.

6.3 MISURA DI SOLUBILITA' DELLA CURCUMINA

Nel caso di laboratorio, si è voluta calcolare attraverso l'assorbanza la concentrazione di curcumina in etanolo; quindi, la sua solubilità. A questo scopo si è proceduto costruendo una retta di taratura: si è misurata l'assorbanza di cinque campioni a concentrazione di curcumina crescente dispersa in 5 ml di etanolo come indicato dalla tabella 7. I risultati ottenuti sono stati riportati nel grafico di figura 50. La solubilità finale è risultata di circa 7.5 mg/L.

Concentrazione [$\mu\text{g/mL}$]	Assorbanza a 425 nm
2	0,289
4	0,579
5	0,716
6	0,843
8	1,117

Tabella 7: valori di assorbanza misurati a diverse concentrazioni di curcumina

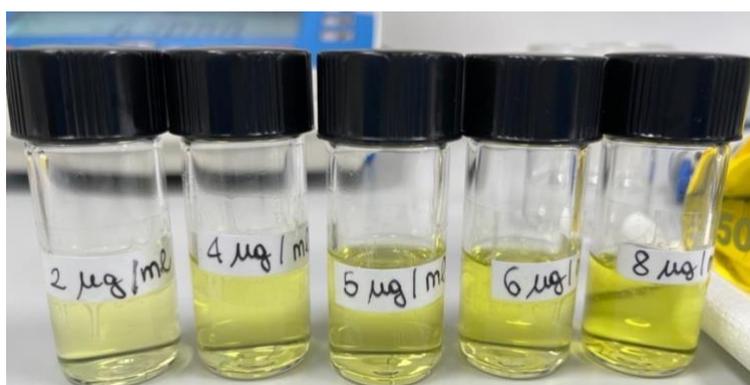


Figura 49: diluizioni di curcumina in etanolo

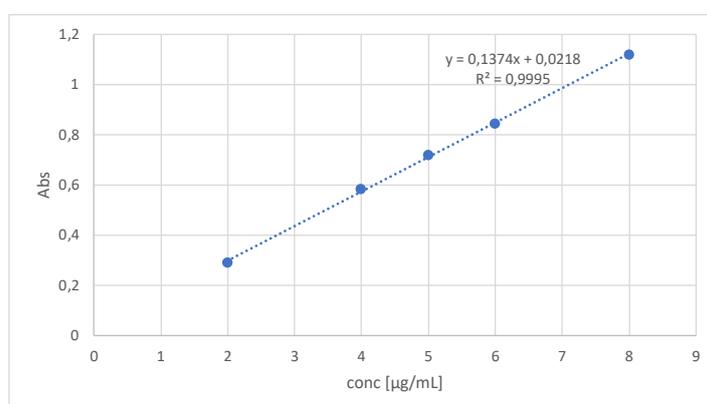


Figura 50: retta di assorbanza

6.3 EMULSIONI ACQUA IN OLIO

6.3.1 CAMPIONI 1 E 2

Per questi due esperimenti (fig. 51) si è deciso di mantenere la stessa procedura ma di utilizzare diverse quantità di acqua, olio e curcumina. Sia la dispersione della curcumina che la preparazione dell'emulsione sono avvenute con l'utilizzo dell'Ultraturrax. Già dai primi secondi di agitazione si è verificata separazione netta tra la fase acquosa e oleosa carica di curcumina. Nel secondo caso si è deciso di dimezzare la quantità di acqua ma di aumentare considerevolmente i valori di olio e curcumina, pensando che il rapporto acqua/olio e curcumina non fosse sufficiente per un buon ricoprimento. Osservando la figura 52 è ancora più visibile e netta la separazione tra fasi, fino all'ottenimento di una fase molto limpida nella parte sottostante e con perdita di una grande quantità di prodotto che rimane attaccato alla testa di miscelazione dell'omogeneizzatore. Questo fenomeno è stato confermato anche dall'analisi al microscopio dell'emulsione, dove non si sono osservate particelle all'interfaccia delle bolle. Probabilmente un'agitazione energetica come in questo caso ha portato all'incorporazione di aria, formando una schiuma a causa della maggiore affinità della curcumina all'aria rispetto all'olio, disponendosi quindi all'interfaccia acqua-aria invece che a quella acqua-olio.

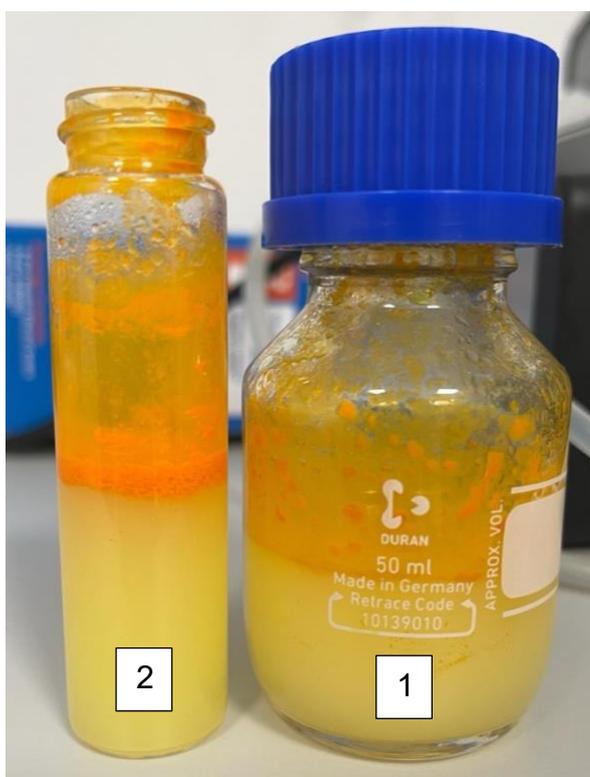


Figura 51: confronto tra campioni 1 e 2

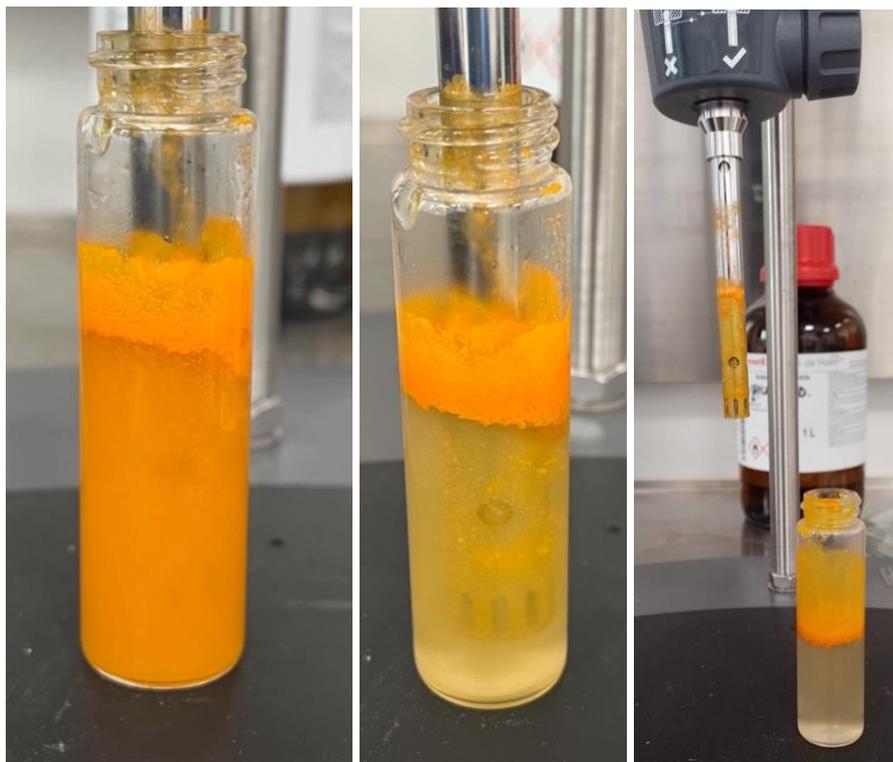


Figura 52: evoluzione stratificazione superficiale del campione 2



Figura 53: campione 2 al microscopio ottico

L'immagine al microscopio 53 evidenzia come si siano formate delle piccole gocce di olio in acqua, ma la loro superficie è praticamente priva di particelle, confermando quanto ci si aspettava.

6.3.2 CAMPIONE 4

Per questo esperimento si è scelto di mantenere le stesse quantità di acqua e olio rispetto al 2, ma di dimezzare la quantità di curcumina. La procedura è invece stata svolta interamente con l'agitatore

magnetico, sia per la dispersione che formazione dell'emulsione (fig. 54). I tempi sono risultati molto più lunghi (circa 30 minuti per ciascuna operazione al fine di raggiungere un sistema soddisfacente).



Figura 54: campione 4 in agitazione su piastra magnetica

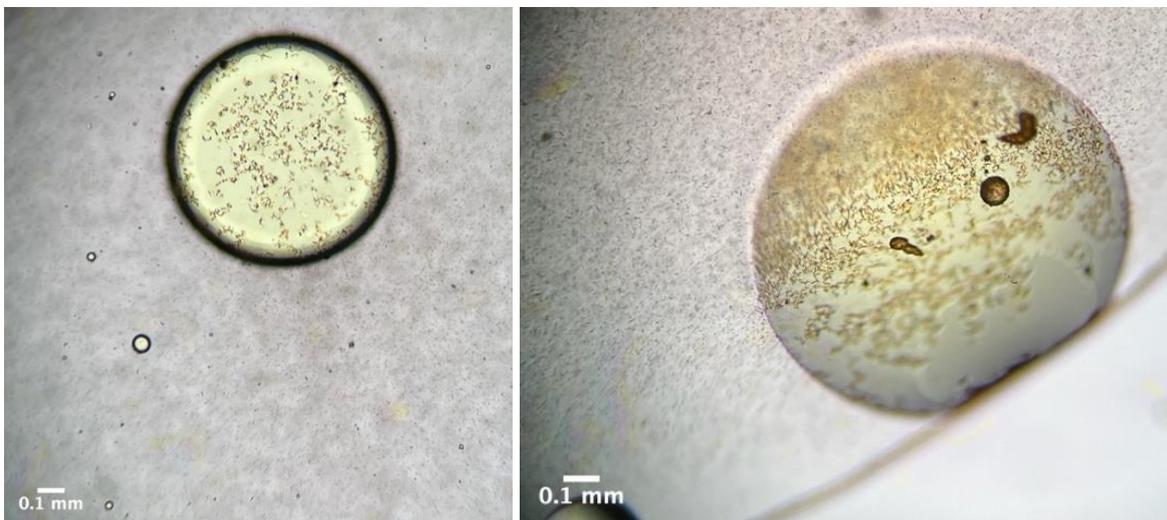


Figura 55: campione 4 al microscopio ottico

Le immagini al microscopio (figura 55), ottenute con uno zoom 40x, riportano due gocce di olio rappresentative su tutto il campione in cui si possono osservare come alcune particelle di curcumina siano attaccate alla superficie interfacciale, in alcune zone con un impaccamento abbastanza elevato e lasciandone libere altre. Rimangono però molte particelle ancora nella fase continua. Nell'immagine 55b sono ben visibili anche due cristalli o aggregati di dimensioni maggiori, oltre ad una piccola goccia di forma sferica all'interno della goccia stessa di olio. In questo caso potrebbe essersi verificato il fenomeno di inversione dell'emulsione.

6.3.3 CAMPIONE 2.1

Dopo aver scartato la possibilità di utilizzare l'Ultraturrax per emulsificare si è scelto di provare con gli ultrasuoni, un metodo molto efficiente e che non comporta l'incorporazione di aria nell'emulsione; la frequenza è stata impostata in questo caso a 59 Hz. È stato comunque ritenuto necessario mantenere il sistema in agitazione con la piastra magnetica per un tempo di 10 minuti, sia per dispersione delle particelle solide che per l'emulsificazione, prima di passare agli ultrasuoni. In particolare, per la prima fase sono stati sufficienti 2 minuti, mentre per la seconda se ne sono impiegati 6 in totale ma con una pausa di 1 minuto.

Il campione è stato inserito nel bagno termostato. La dimensione delle gocce che si possono ottenere in questo caso è molto ridotta, per questo motivo il metodo si ritiene estremamente efficiente, ma è stato necessario accoppiare una miscelazione alla sola sonicazione, poiché le onde potrebbero non raggiungere tutte le zone del campione allo stesso modo e quindi comportare una disomogeneità nella distribuzione di dimensione delle gocce ottenute.

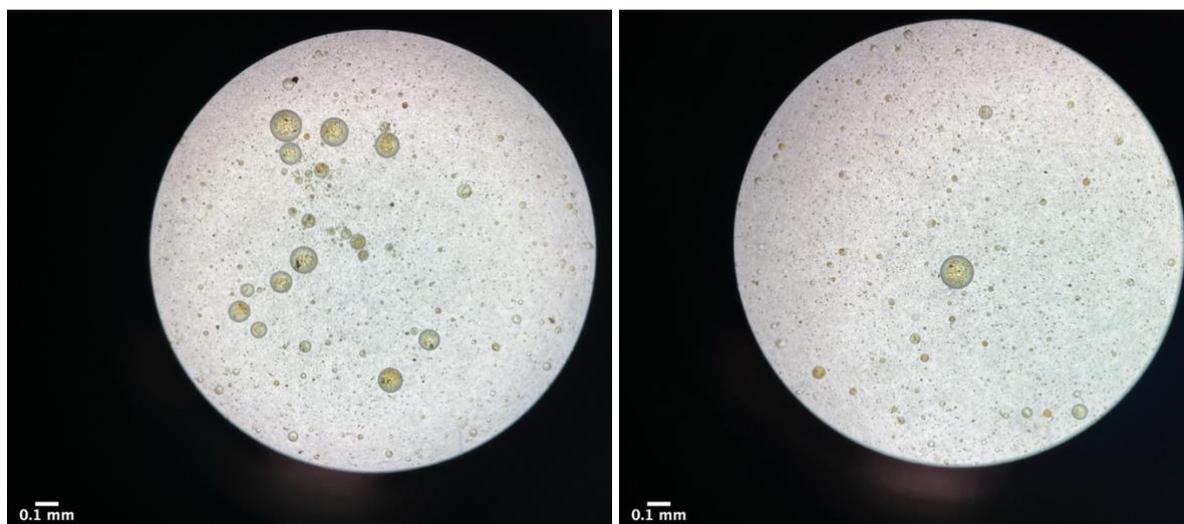


Figura 56: campione 2.1 al microscopio ottico

Come mostrato in figura 56, la distribuzione di dimensione delle gocce di olio in questo caso è abbastanza varia, sono presenti gocce più grandi ma in numero ridotto, la maggior parte hanno dimensioni contenute, circa di 0,05 mm. Da queste è però possibile osservare che anche in questo caso si è raggiunto un buon grado di ricoprimento, ancora non totale e con particelle nella fase continua.

6.3.4 CAMPIONE 4.1

Mantenendo le stesse quantità di acqua, olio e curcumina del campione 4 si è però optato per una procedura diversa, ovvero dispersione con solo agitatore magnetico e creazione dell'emulsione con bagno a ultrasuoni per 3 minuti ad una frequenza di 40 kHz.

Alla vista non si riesce a disperdere bene l'olio, rimane uno strato in superficie.

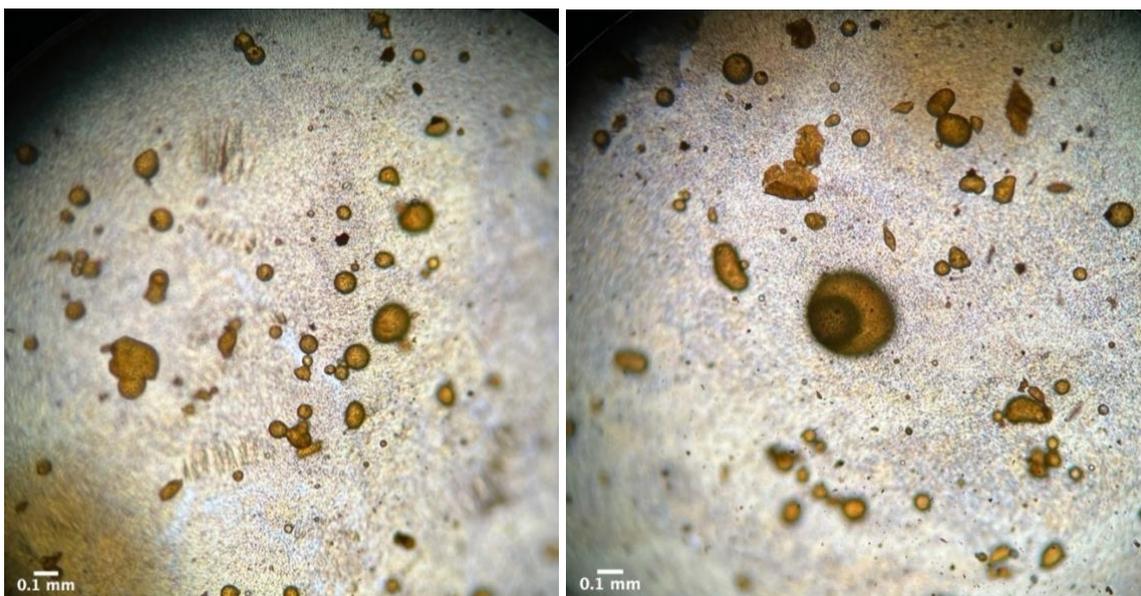


Figura 57: campione 4.1 al microscopio ottico

In questo caso, nonostante si notino molte particelle nella fase continua da figura 57, il grado di ricoprimento raggiunto sulle gocce sembra maggiore rispetto agli altri casi. Di fianco a gocce più piccole si possono anche distinguere dei cristalli di maggiori dimensioni rispetto a quelli che sono disposti all'interfaccia. Dalla figura 58 sono invece visibili gocce di dimensioni maggiori pari a circa 0,1 mm e in alcuni casi con bordi irregolari rispetto ai casi visti in precedenza.

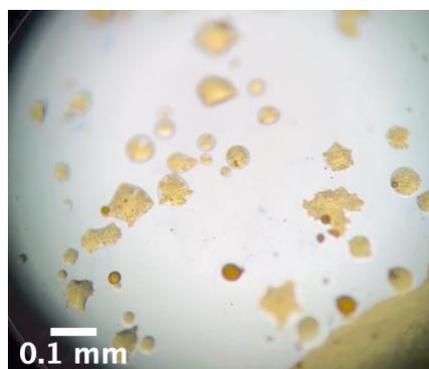


Figura 58: campione 4.1 al microscopio ottico

6.3.5 CAMPIONE 5

Si sono mantenute le stesse quantità di acqua e olio del campione 2 ma triplicato il contenuto di curcumina, per cercare di ottenere un buon ricoprimento.

Il risultato è migliore rispetto agli altri casi ma si osservavano ancora particelle disperse in soluzione (figura 59), il rapporto olio/cristalli non è ottimale e risulta ancora troppo piccolo. La dimensione delle gocce ottenute è disomogenea, infatti confrontando le prime due immagini al microscopio di figura 60 si possono osservare ordini di grandezza differenti, da 0,1 mm fino a circa 1 mm. Nella terza immagine invece è possibile osservare un cristallo molto grande, o più probabilmente un aggregato, che è comunque riuscito ad ancorarsi alla superficie di una goccia.



Figura 59: campione 5

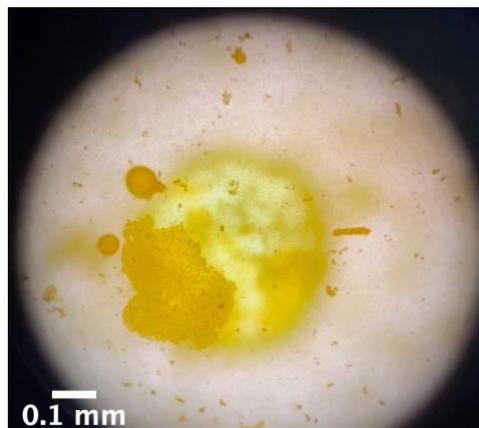


Figura 60: campione 5 al microscopio ottico

6.3.6 CAMPIONE 6

Rispetto al caso precedente si è aumentata la frazione di olio e diminuita la quantità di curcumina (0,1% rispetto a 0,3% del campione 5), per cercare di ottimizzare il rapporto olio/cristalli. Si è deciso di riprovare con un doppio step sia per dispersione che emulsione, miscelazione magnetica per 10 minuti seguita rispettivamente da 2 e 6 minuti di ultrasuoni a 59 kHz.



Figura 61: campione 6

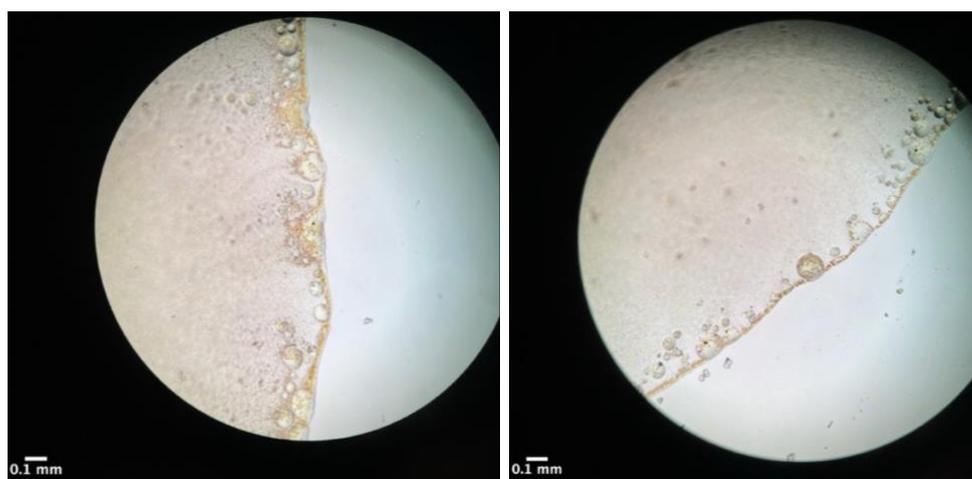


Figura 62: campione 6 al microscopio ottico

Nella figura 62 è possibile osservare una particolarità non vista in casi precedenti, ovvero le gocce di olio, anche in questo caso di varie dimensioni anche molto piccole, tendono a disporsi all'interfaccia del campione con l'aria. Durante l'osservazione al microscopio è stato possibile apprezzare il "moto" di queste gocce dal bulk della fase continua verso la periferia. Il grado di ricoprimento è in alcuni casi molto scarso, soprattutto per gocce più grandi.

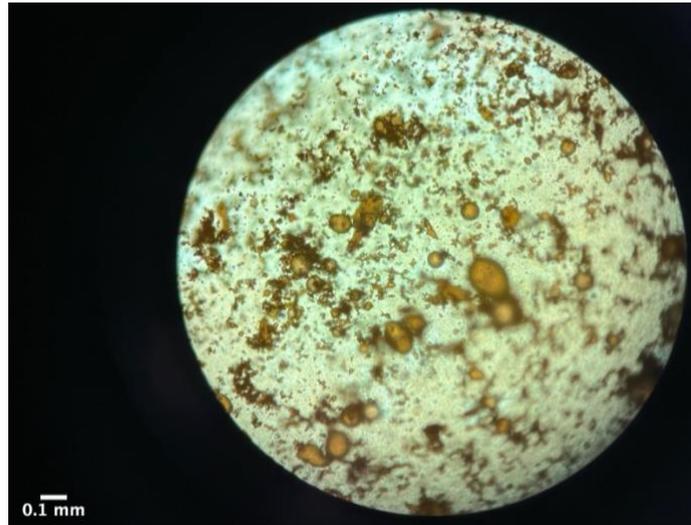


Figura 63: strato superficiale del campione 6 al microscopio ottico

Dalla figura 61 del campione è possibile osservare una piccola separazione in superficie dalla fase olio che risulta di un arancione più scuro rispetto al resto, con una pipetta si è provato ad estrarre qualche goccia di questo strato superficiale per visualizzare anch'essa al microscopio. Da questa è stato possibile osservare che probabilmente è avvenuto il fenomeno dell'inversione di emulsione, ovvero l'olio è diventato fase continua e l'acqua quella dispersa. Dalla figura 63 i cristalli sembrano ricoprire bene le gocce presenti, ma si nota ancora di più l'aggregazione e il cross-linking tra questi.

La figura 64 riporta infine questi ultimi 4 campioni descritti nelle provette a distanza di qualche giorno dalla loro preparazione. Il sistema sembra in tutti e quattro i casi abbastanza stabile, il colore arancione, indice della presenza della curcumina in soluzione è abbastanza omogeneo e ben distribuito. Nonostante ciò, la parte di provetta libera presenta sulla parete dei residui di cristalli più o meno compatti, ad indicare una certa affinità tra questi e il vetro all'interno del quale sono contenuti. Il campione 6 risulta quello meno stabile di tutti, è infatti apprezzabile una separazione ancora più marcata della fase oleosa che per densità si è stratificata in superficie. Anche nel campione 5 sembra esserci una stratificazione di cristalli maggiore nella parte superiore, ma in questo caso più simile alla formazione di una schiuma.



Figura 64: confronto tra alcuni campioni O/W

6.3.7 CAMPIONE 6.2

In questo caso si sono mantenute le stesse quantità e condizioni operative del campione 6 ma con acqua acidificata fino a pH 3, mediante l'aggiunta di acido cloridrico, l'affinità della curcumina con questa è ancora minore rispetto all'acqua a pH neutro. Le particelle si aggregano molto velocemente appena si interrompe la miscelazione, quindi la dispersione avviene molto difficilmente. Si formano gocce di olio molto grandi ben visibili anche a occhio nudo. (fig. 65)



Figura 65: campione 6.2 in quiete e dopo una leggera agitazione manuale

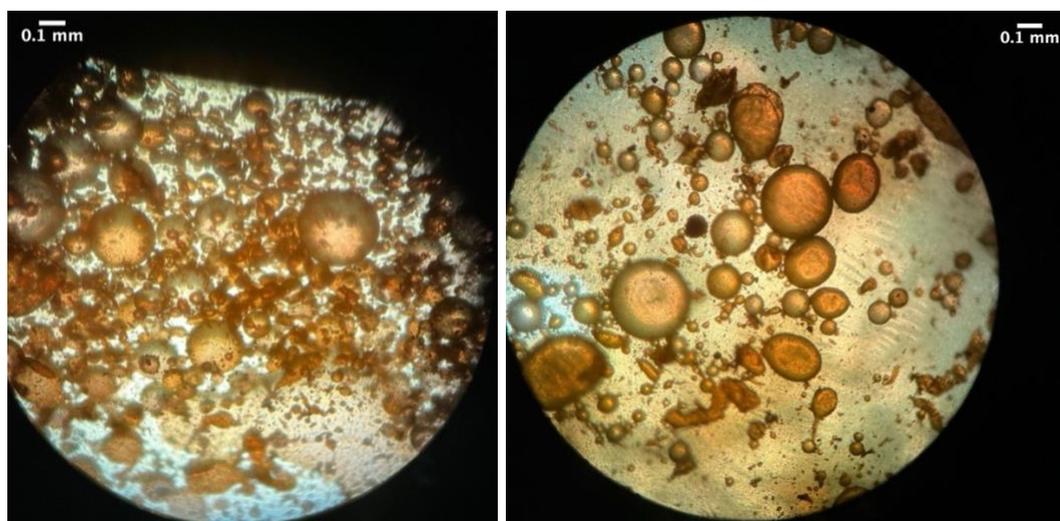


Figura 66: campione 6.2 al microscopio elettronico

Dall'analisi delle immagini (fig. 66) di tutte le prove effettuate questa sembrerebbe la migliore: le gocce sono abbastanza polidisperse in termini di dimensioni (fattore non sempre apprezzabile per disomogeneità del campione) ma il grado di ricoprimento è molto buono, probabilmente grazie all'utilizzo di acqua acidificata alla quale la curcumina è ancora meno affine rispetto all'acqua a pH

neutro, per cui la tendenza ad ancorarsi alla fase oleosa è stata aumentata. Questo è apprezzabile anche dall'immagine 74b, dove si è effettuata una foto dopo aver agitato leggermente la provetta: le gocce visibili ad occhio nudo sono di colore arancione intenso, mentre la soluzione sottostante risulta abbastanza chiara.

Sono ancora presenti dei cristalli in soluzione ma in misura molto minore rispetto ai casi precedenti.

6.3.9 CONSIDERAZIONI GENERALI

La figura 67 riporta infine 4 campioni tra le prove precedentemente elencate a distanza di 3 mesi dalla loro preparazione. In tutti i casi è possibile vedere separazione in superficie di una fase meno densa costituita da olio, e carica di cristalli. Anche il colore più o meno intenso della fase al di sotto di questo strato può fornire indicazioni sulla quantità di curcumina che è rimasta effettivamente dispersa. Tra gli esperimenti sicuramente il campione 2 risulta il meno stabile, è osservabile infatti una fase acquosa molto limpida e di un giallo molto tenue; mentre il campione 6.1 sembrerebbe invece quello in cui la curcumina è rimasta maggiormente dispersa. Il campione 5 presenta oltre ad uno spesso strato iniziale anche una quantità non indifferente di cristalli disposti all'interfaccia aria-vetro. In generale è possibile concludere che tutti i sistemi hanno avuto una stabilità limitata nel tempo.



Figura 67: emulsioni olio in acqua dopo tre mesi dalla realizzazione

6.4 EMULSIONI ACQUA IN OLIO

6.4.1 CAMPIONE 3

Questo campione, fatto in concomitanza dell'1 e 2 ha mantenuto la completa procedura di dispersione ed emulsificazione con Ultraurax. In questo caso però, essendo la quantità di acqua in misura molto minore rispetto all'olio, non si è verificato il fenomeno della separazione e la tendenza ad incorporare aria (fig. 68); la curcumina sembrava ad occhio nudo adeguatamente dispersa in tutto il campione. La

figura 69 al microscopio dello stesso ha evidenziato la formazione di gocce abbastanza grandi e con ricoprimento basso, mentre alcuni cristalli sono rimasti in soluzione.



Figura 68: campione 3

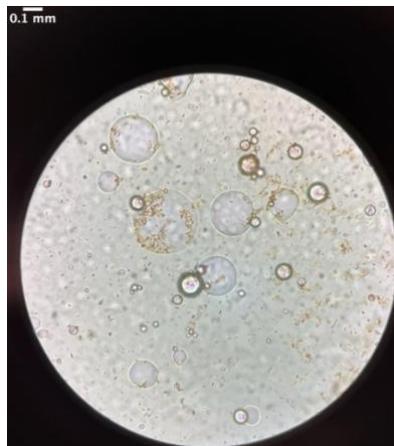


Figura 69: campione 3 al microscopio ottico

La figura 68b rappresenta il campione dopo 3 mesi dalla sua realizzazione. Nella parte inferiore sembra essersi depositato un piccolo strato di acqua, più densa della fase oleosa continua e segno di una destabilizzazione dell'emulsione. In questo caso però la curcumina rimane ben dispersa nell'olio, non si nota infatti la formazione di uno strato compatto di cristalli proprio grazie alla maggiore affinità tra le due sostanze.

6.4.2 CAMPIONE 3.1

Per poter avere un confronto con una metodologia diversa, si è deciso di operare interamente con gli ultrasuoni. A differenza delle emulsioni O/W che risultavano più promettenti con questa tecnica, si può osservare dalla figura 70 che il campione dopo formazione dell'emulsione presentava delle grandi macchie di un giallo più chiaro in varie parti, rappresentati la formazione di aggregati. L'immagine 70b rappresenta invece il campione dopo un po' di tempo, dove è possibile notare una stratificazione sulla parte bassa. Di questo è stata fatta un'analisi al microscopio (fig. 71): il campione sembra essere abbastanza polidisperso, ovvero sono distinguibili gocce di diverse dimensioni anche molto diverse tra di loro. Le gocce più piccole hanno raggiunto un buon grado di ricoprimento, mentre quelle più grandi sembrano essere solo parzialmente ricoperte. È possibile anche distinguere dei cristalli liberi in soluzione, indice del fatto che non si è raggiunto ancora la formulazione ottimale. Alcuni di questi cristalli presentano anche dimensioni più elevate fino a 0,1 mm, probabilmente non sono riusciti ad attaccarsi all'interfaccia per questioni steriche.



Figura 70: campione 3.1 appena realizzato (a) e a distanza di tre mesi (b)

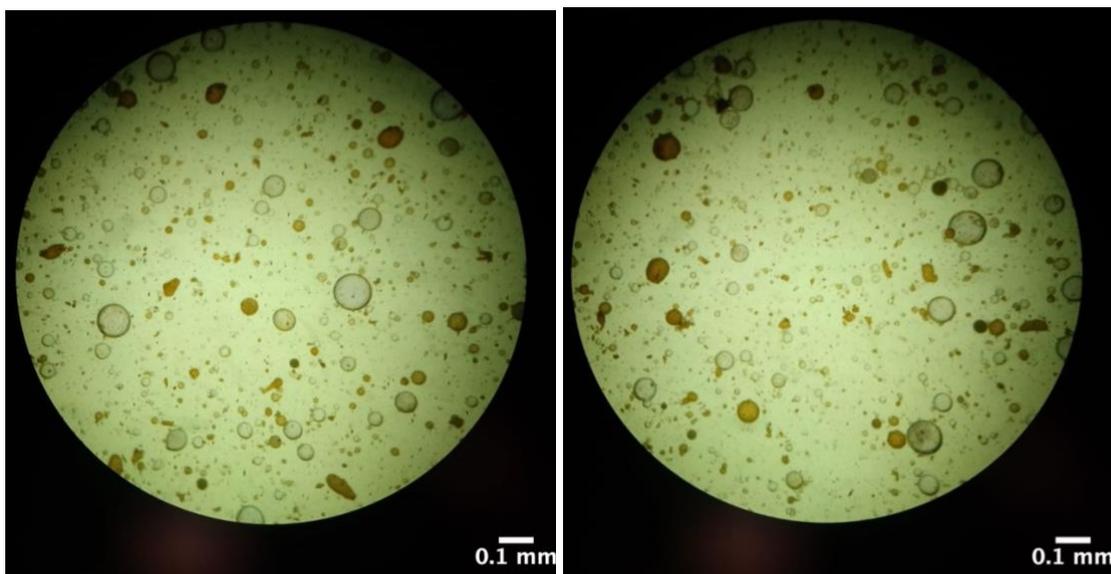


Figura 71: campione 3.1 al microscopio ottico

CONSIDERAZIONI

In generale, sia nel caso dell'Ultraturrax che del sonicatore si può suddividere l'energia dissipata dall'agitatore in tre porzioni. Una parte viene utilizzata per ridurre le dimensioni delle gocce, un'altra per la rottura degli aggregati di cristalli e infine l'ultima parte promuove il trasferimento delle particelle dalla fase continua all'interfaccia. [17] Nel caso degli ultrasuoni, l'energia fornita è sufficiente per sopperire a tutti e tre i contributi, risultando in dimensioni delle gocce minori rispetto al caso dell'Ultraturrax.

Anche la struttura, l'organizzazione e la dimensione degli aggregati di curcumina nella fase continua e alle interfacce sono influenzati dal processo di agitazione utilizzato: la dimensione degli aggregati nella fase continua è diversa quando l'emulsione è preparata con uno a *rotor-stator* o un sonicatore, rispettivamente si hanno aggregati più grandi nel primo caso e minori nel secondo. L'alta energia erogata con la sonicazione permette la rottura degli aggregati di curcumina in presenza di olio perché viene favorito il contatto con la fase oleosa. La bagnatura di queste particelle idrofobe favorisce quindi la loro disaggregazione.

Si può concludere che la disaggregazione delle particelle idrofile dipende dalle caratteristiche fisico-chimiche delle particelle e dall'energia erogata. Ovvero, le particelle devono essere totalmente o parzialmente bagnate da un liquido compatibile e l'energia fornita dal processo di emulsione deve essere sufficiente a promuovere la loro diffusione alle interfacce.

6.5 DISTRIBUZIONE DI DIMENSIONI DEI CRISTALLI DI CURCUMINA MISURATI CON SLS

A causa della sua forte idrofobicità, la curcumina ha presentato un comportamento abbastanza aggregante, infatti da alcuni grafici (fig. 72) si può notare come con il passare del tempo della prova il picco della distribuzione di dimensioni si sposti verso valori maggiori. La differenza temporale tra il primo e ultimo grafico è di 16 minuti: già dal quarto (corrispondente a 10 minuti dall'inizio della prova) è possibile notare come da un picco abbastanza spanciato in corrispondenza di $2 \mu\text{m}$, si passa ad uno molto marcato a circa $15 \mu\text{m}$. Nell'ultimo grafico si può notare anche un picco più piccolo in corrispondenza di circa $60 \mu\text{m}$, segno ancora più evidente dell'aggregazione tra cristalli che si verifica nel campione durante la misura. La distribuzione diventa anche meno omogenea, con il passare del tempo, visibile anche questo da quanto sono pronunciati i picchi.

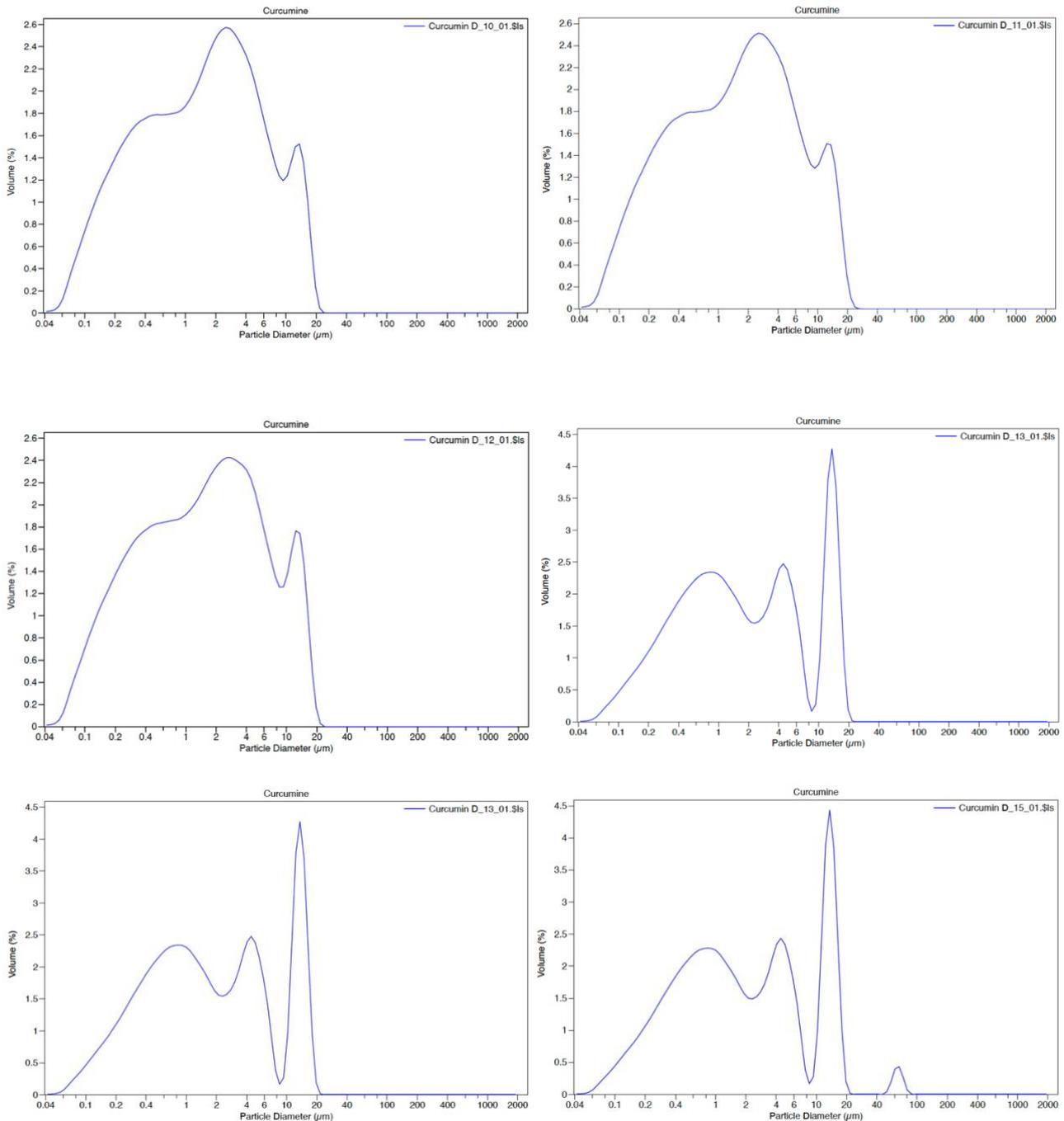


Figura 72: evoluzione delle dimensioni dei cristalli di curcumina valutate a diversi tempi da inizio (a) a fine prova (e)

Per evitare che le polveri aggregino si possono aggiungere surfattanti in quantità minore della concentrazione micellare critica, ovvero in cui si è sicuri che le particelle vengano bagnate e ricoperte da tensioattivo ma senza che questo formi degli aggregati detti micelle.

Per questo motivo si sono fatte delle prove anche con l'utilizzo di tensioattivi come laurilsolfato di sodio (SDS) o tween. Il primo è un tensioattivo anionico che a temperatura ambiente si presenta come una polvere cristallina bianca, abbastanza solubile in acqua. Il secondo invece è un tensioattivo non ionico a pH neutro appartenente alla famiglia dei polisorbati e che in condizioni standard appare come un liquido giallo viscoso. In entrambi i casi si è aggiunto lo 0,5% in volume di surfattante in acqua

MilliQ, miscelato con l'agitatore magnetico e poi aggiunto i cristalli di curcumina. Nel caso dell'SDS l'operazione di dispersione è stata effettuata sempre con l'agitatore magnetico, mentre nel caso del tween si è scelto di utilizzare il bagno ad ultrasuoni.

6.5.1 AGGIUNTA DI SDS

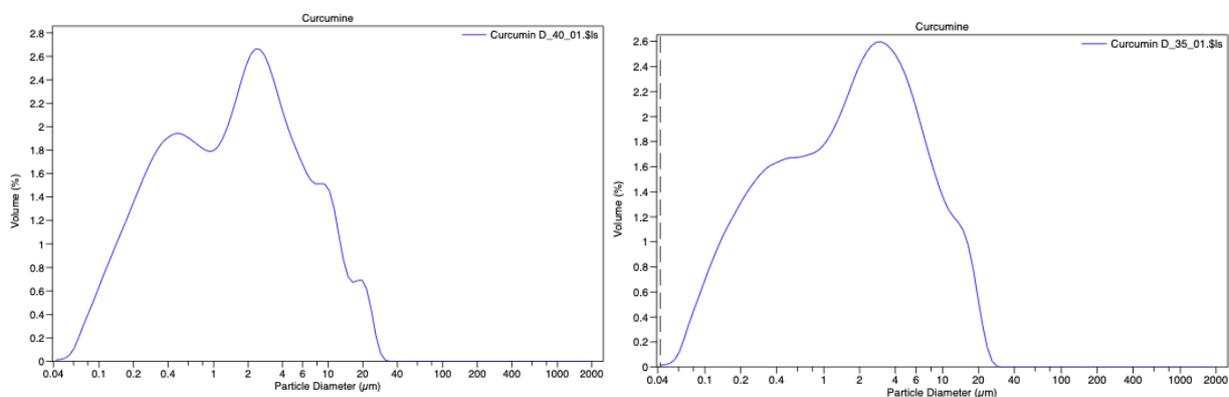


Figura 73: distribuzione di dimensione con aggiunta di SDS

Le figure 73 fanno riferimento a due prove in cui si sono stati utilizzati differenti campioni di curcumina ma con la stessa tecnica di miscelazione e dispersione. Rispetto al caso della sola curcumina è possibile notare come la distribuzione sia più omogenea e spostata verso valori più piccoli di diametro, in entrambi i casi con il picco maggiore sui $4 \mu m$. La curva si estende fino a circa $30 \mu m$ ma il picco corrispondente ai $20 \mu m$, confrontabile con i casi precedenti, è molto meno marcato. Probabilmente anche in questo caso possono formarsi piccoli aggregati ma il fenomeno è sicuramente meno significativo. Il secondo grafico è più apprezzabile rispetto al primo perché la distribuzione sembra essere trimodale. L'ideale sarebbe avere un grafico unimodale che indichi omogeneità del campione che risulta però di difficile realizzazione a causa della natura delle particelle analizzate.

6.5.2 AGGIUNTA DI TWEEN

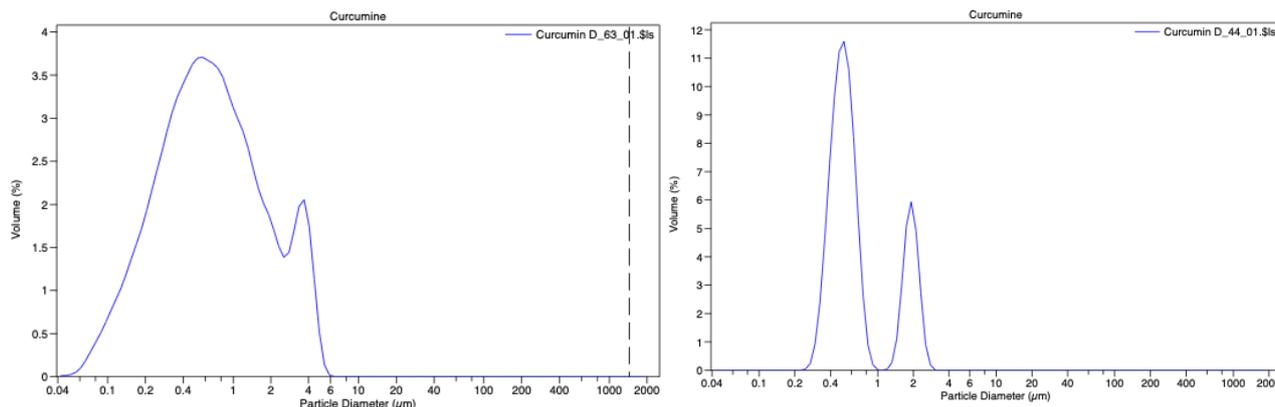


Figura 74: distribuzione di dimensione con aggiunta di tween

In questo caso (fig. 74), oltre all'effetto di un diverso tensioattivo si è potuto vedere anche come l'effetto degli ultrasuoni ha favorito la disaggregazione tra i cristalli. I grafici fanno riferimento a due diversi campioni di curcumina la cui dispersione è avvenuta per tempi di sonicazione diversi: 10 minuti nel primo caso e 30 nel secondo. In entrambi i casi rappresentati in figura 83 è possibile osservare una distribuzione bimodale, ma mentre nel primo caso i picchi sono spancati e parzialmente sovrapposti, nel secondo sono ben distinguibili. Il caso con tempo di sonicazione minore presenta un picco maggiore per $0,4 \mu m$ e un altro più piccolo per $4 \mu m$. Il secondo caso presenta dei picchi più stretti, infatti il minimo valore raggiunto dalla distribuzione è di $0,2 \mu m$ con un picco maggiore per $0,4 \mu m$ e un altro con massimo a $2 \mu m$.

Lo spostamento della distribuzione a dimensioni minori e la nitidezza dei picchi hanno dimostrato che la distribuzione migliore si ha grazie alla combinazione dell'uso del tween e per tempi di sonicazione del campione più lunghi.

7 METODI NUMERICI

Per poter investigare il comportamento della popolazione di gocce e particelle in esame durante il processo di emulsificazione, si è deciso di svolgere undici simulazioni in cui sono stati variati di volta in volta, secondo diverse combinazioni, alcuni dei parametri caratteristici. Il metodo utilizzato per risolvere il bilancio di popolazione è il Monte Carlo, come menzionato in precedenza.

Ogni simulazione, oltre ad un file eseguibile, è stata associata a due file di testo contenenti al loro interno tutte le informazioni utili per il setup della stessa. In particolare, `dsd_in.dat` contiene al suo interno quattro colonne, riportanti il numero progressivo delle gocce, il loro raggio, grado di ricoprimento e numero di unità elementari che le compongono. Il file `inpcfg.dat` riporta nuovamente il numero totale di particelle ma senza le specifiche, un massimo e un minimo numero di particelle che possono coesistere all'interno del volume di controllo durante il processo, la dissipazione dell'energia cinetica turbolenta e la frazione volumica di particelle e gocce rispetto al volume totale. Il sistema genera poi due tipi di file output con i risultati della popolazione avvenuta alla fine di tutti gli step temporali. In particolare, i file di tipo `outfil` vengono generati con una certa frequenza dall'inizio alla fine, così da poter tener traccia di vari fattori e della loro evoluzione nel tempo. Infatti, come nel caso dei file in input, alla fine della simulazione si ha una panoramica della popolazione finale di gocce all'interno del volume: ognuna di essa è caratterizzata da una dimensione (raggio) e dal numero di unità che la compongono. Viene poi riportato anche il volume finale, variabile di caso in caso poiché dipendente e adattabile durante il corso del tempo all'evoluzione della popolazione e il numero totale di eventi simulati. In `summary.dat` viene riportata una descrizione dettagliata della popolazione al tempo finale, dove ad ogni step temporale si riporta il diametro delle gocce, la frazione di ricoprimento, il rapporto tra la superficie di tutte le gocce su volume, il numero totale di particelle e il rapporto tra la superficie totale di queste e il volume. Per il diametro delle particelle si è considerato il valore di `r_32`, ovvero il diametro di Sauter: definito come $L_{sv} = \frac{L_v^3}{L_s^2}$, rapporto del diametro associato al volume rispetto a quello associato alla superficie di una particella. Questi sono espressi rispettivamente come $L_s = \sqrt{\frac{S}{\pi}}$ e $L_v = \sqrt[3]{6\frac{V}{\pi}}$. Alla luce di queste definizioni, il diametro di Sauter può essere espresso anche come $L_{sv} = 6\frac{V}{S}$.

Questo calcolo viene spesso fatto e risulta utile per le particelle isometriche, ovvero la cui dimensione è circa la stessa nelle tre direzioni spaziali e che possono essere descritte con sfere equivalenti. Quanto più una particella diverge da una forma sferica, tanto più l'approssimazione effettuata risulta errata. Nel nostro caso, gocce e particelle sono state assunte tutte di forma sferica, ma si è deciso comunque di calcolare questo diametro e confrontarlo con il valore direttamente calcolato dalla simulazione.

7.1 SIMULAZIONI

La tabella 8 riporta un riassunto delle simulazioni effettuate e dei suoi parametri caratteristici di input. A partire da dati di riferimento contenuti in [5], si è scelto prima di tutto di investigare condizioni di fluidodinamica più o meno spinta attraverso la variazione della dissipazione dell'energia cinetica turbolenta. Successivamente, per poter fare delle considerazioni anche sull'influenza delle quantità di fasi e particelle sui risultati finali, si è scelto di variare la frazione di solido e fase dispersa.

TEST	INITIAL N DROPLETS	PARTICLE VOLUME FRACTION	DROPLET VOLUME FRACTION	TURBOLENT DISSIPATION RATE [m ² /s ³]
1	2000	5,0E-07	1,00E-03	40
2	2500	5,0E-07	1,00E-03	10
3	2500	5,0E-07	1,00E-03	1
4	2500	0	1,00E-03	40
5	2500	0	1,00E-03	10
6	2500	0	1,00E-03	1
7	2500	2,50E-07	1,00E-03	10
8	2500	1,00E-06	1,00E-03	10
9	2500	5,0E-07	1,00E-02	10
10	2500	5,0E-07	1,00E-01	10
11	2500	1,00E-06	1,00E-01	10

Tabella 8: parametri di input delle simulazioni

Per poter confrontare le simulazioni effettuate e fare delle considerazioni di carattere generale, si è proceduto diagrammando con diversi grafici diametri e frazioni di ricoprimento. In particolare, si è deciso di creare degli istogrammi per poter commentare la distribuzione di particelle. Per semplicità, ma tenendo comunque traccia degli andamenti, questi istogrammi sono stati plottati per il primo e ultimo file outfil che la simulazione forniva. Solo in due casi si è scelto di effettuare più grafici poiché l'obiettivo era quello di mostrare l'evoluzione della distribuzione di gocce nel tempo.

Inoltre, si sono diagrammati anche gli andamenti di diametro di Sauter e frazione di ricoprimento, suddivise per semplicità in cinque gruppi. Questo ha permesso di investigare, a parità di uno dei parametri sopra descritti, come la variazione di altri parametri presi in esame potesse influenzare l'evoluzione nel tempo della distribuzione di gocce.

Questi gruppi di grafici possono essere così riassunti:

- `sumup_data_1`: simulazioni 1,2,3 a parità di frazione volumetrica di particelle solide (5E-07) e di frazione volumetrica di gocce (1E-03), in cui si è variata la dissipazione dell'energia cinetica turbolenta (40,10,1 m²/s³)
- `sumup_data_2`: simulazioni 4,5,6 a parità di frazione volumetrica di particelle solide (0) e frazione volumetrica di gocce (1E-03), si è variata la dissipazione dell'energia cinetica turbolenta (40,10,1 m²/s³)

- sumup_data_3: simulazioni 2,7,8 a parità di frazione volumetrica di gocce ($1E-03$) e dissipazione dell'energia cinetica turbolenta ($10 \text{ m}^2/\text{s}^3$) si è variata la particle volume fraction ($5E-07, 2,5E-07, 1E-06$)
- sumup_data_4: simulazioni 2,9,10 a parità di frazione volumetrica di particelle solide ($5E-07$) e dissipazione dell'energia cinetica turbolenta ($10 \text{ m}^2/\text{s}^3$) si è variata la droplet volume fraction ($1E-03, 1E-02, 1E-01$)
- sumup_data_5: simulazioni 10,11 a parità di frazione volumetrica di gocce ($1E-01$) e dissipazione dell'energia cinetica turbolenta ($10 \text{ m}^2/\text{s}^3$) si è variata la particle volume fraction ($5E-07, 1E-06$)

8 RISULTATI NUMERICI

8.1 ISTOGRAMMI

8.1.1: TEST 1

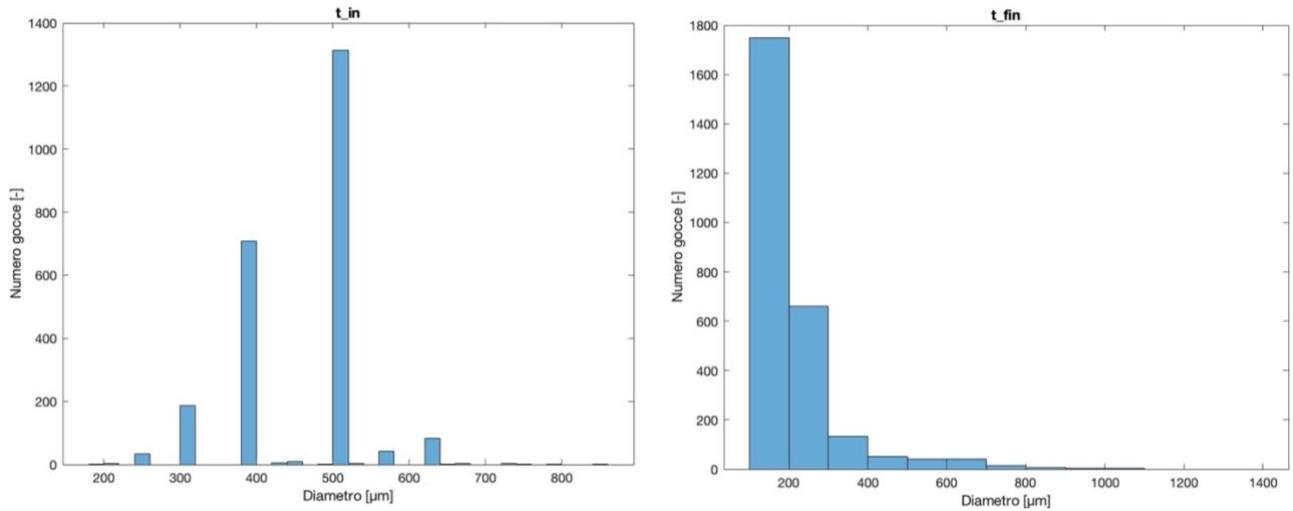


Figura 75: distribuzione di dimensione del diametro al tempo iniziale (a) e finale (b) test 1

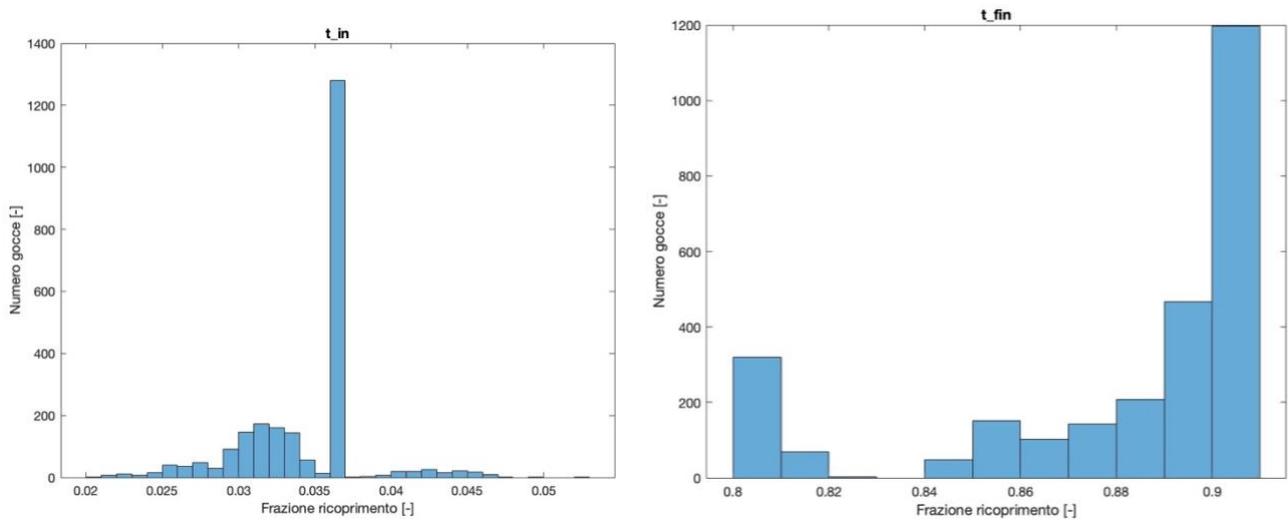


Figura 76: distribuzione della frazione di ricoprimento al tempo iniziale (a) e finale (b) test 1

La frazione di ricoprimento è al momento iniziale abbastanza bassa, con un picco al di sotto di 0,04, mentre a fine simulazione è possibile notare come la maggioranza delle gocce abbia raggiunto una frazione maggiore di 0,9, fino al ricoprimento massimo ammissibile. Sono comunque ancora presenti gocce non totalmente ricoperte ma con un valore di ϕ elevato. (fig. 76)

8.1.2: TEST 2

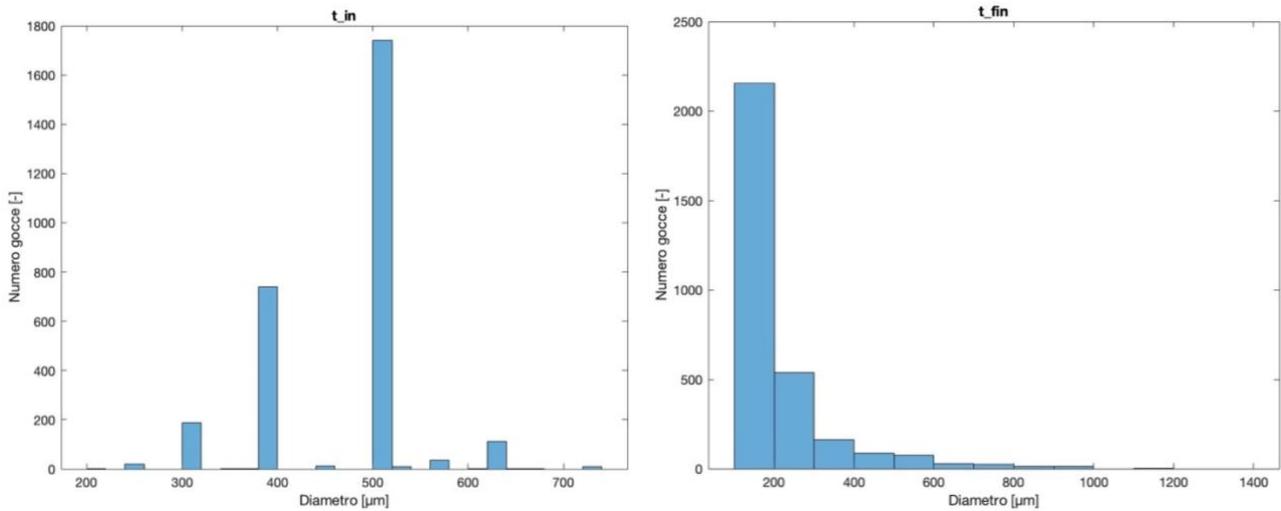


Figura 77: distribuzione di dimensione del diametro al tempo iniziale (a) e finale (b) test 2

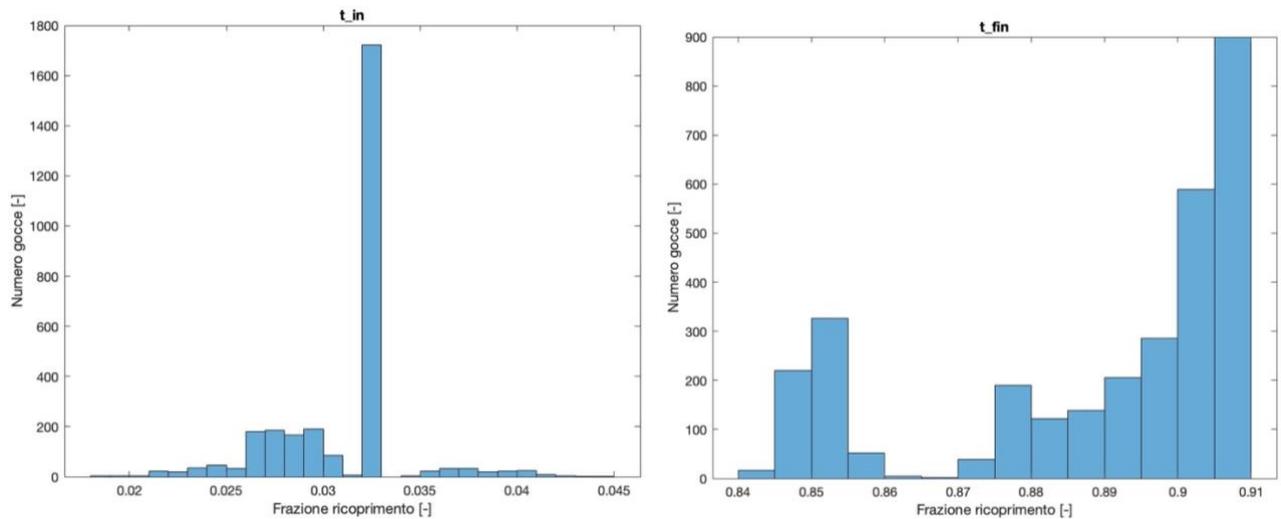


Figura 78: distribuzione della frazione di ricoprimento al tempo iniziale (a) e finale (b) test 2

L'andamento della frazione di ricoprimento (fig. 78) è molto simile al caso precedente: al momento iniziale risulta abbastanza bassa, con un picco in questo caso al di sotto di 0,035, mentre a fine simulazione è possibile notare come la maggioranza delle gocce abbia raggiunto una frazione maggiore di 0,9, con valori compresi tra 0,84 e il massimo ammissibile.

8.1.3: TEST 3

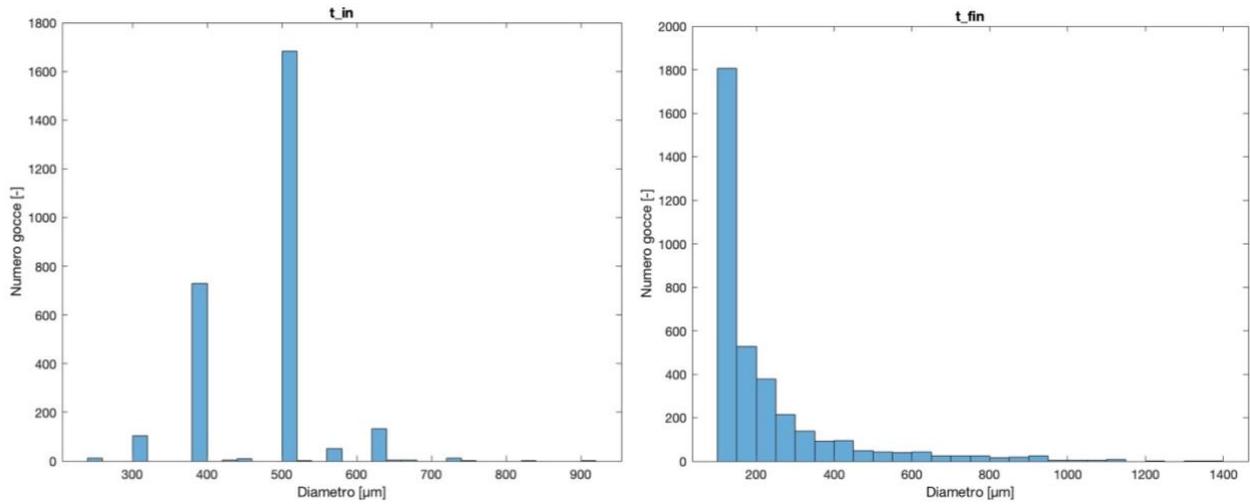


Figura 79: distribuzione di dimensione del diametro al tempo iniziale (a) e finale (b) test 3

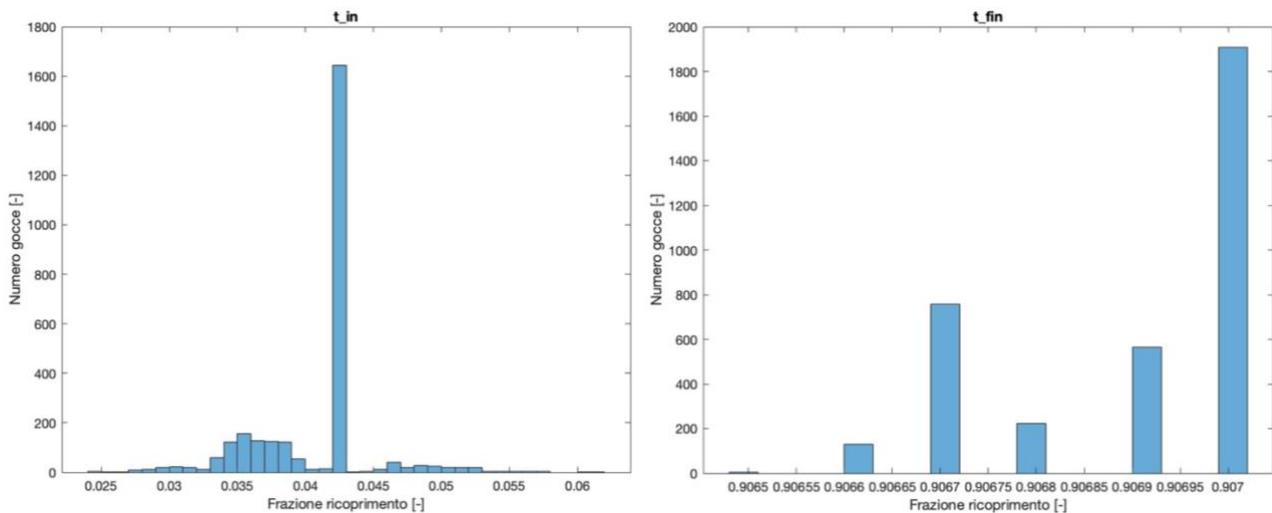


Figura 80: distribuzione della frazione di ricoprimento al tempo iniziale (a) e finale (b) test 3

Anche in questo caso la frazione di ricoprimento al momento iniziale è abbastanza bassa con un picco spostato tra 0,04 e 0,045, alla fine della simulazione invece si può affermare che tutte le particelle abbiano raggiunto il ricoprimento massimo, infatti i valori in ordinata rientrano in un range molto ristretto tra 0,9066 e il massimo 0,907. (fig. 80)

8.1.4: TEST 4

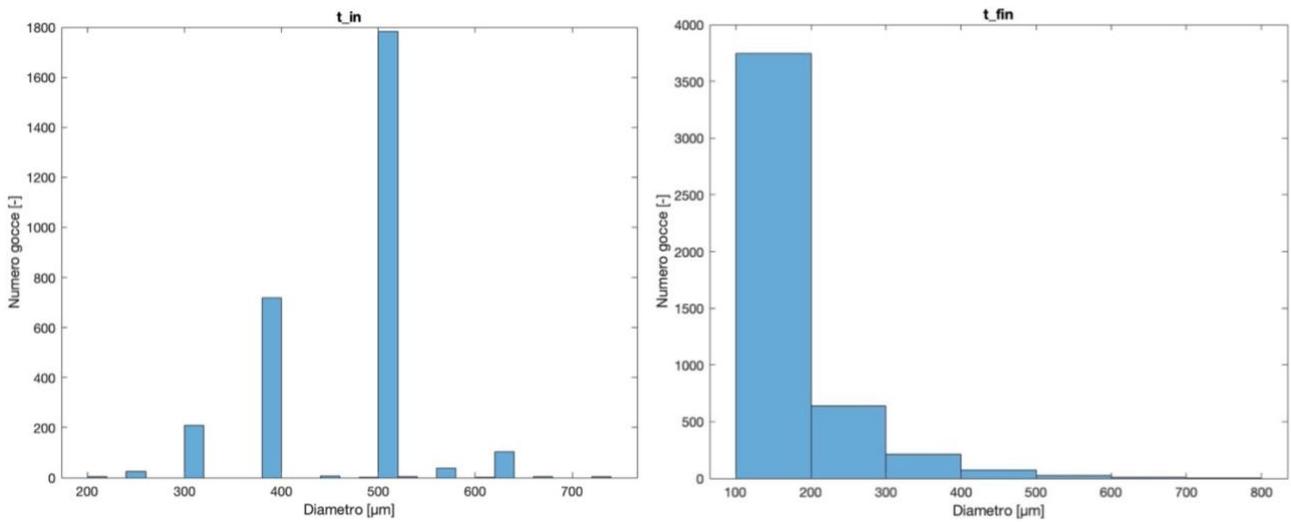


Figura 81: distribuzione di dimensione del diametro al tempo iniziale (a) e finale (b) test 4

8.1.5: TEST 5

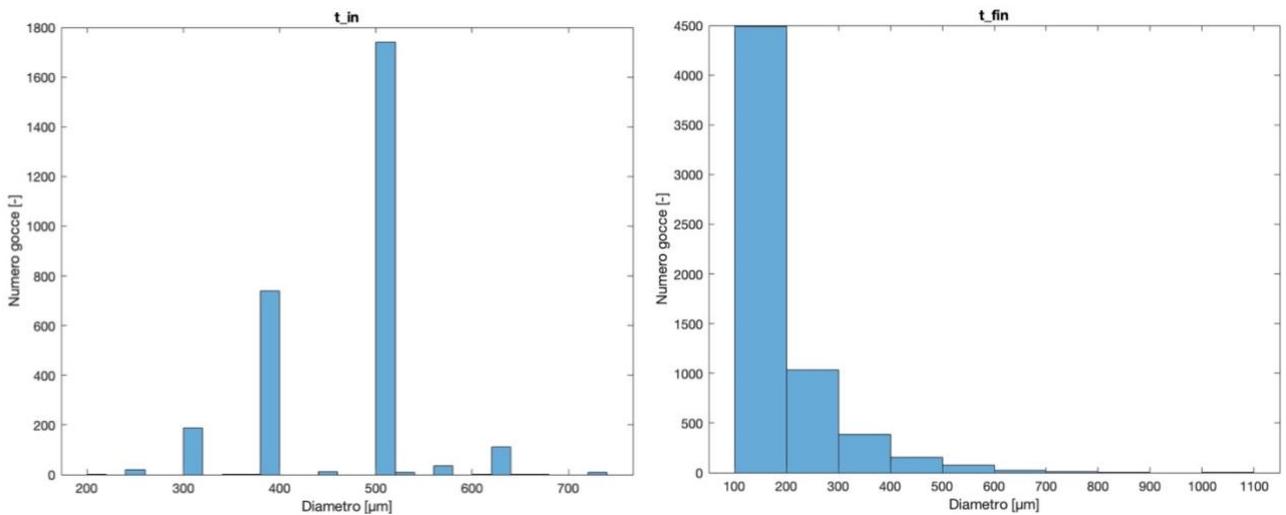


Figura 82: distribuzione di dimensione del diametro al tempo iniziale (a) e finale (b) test 5

8.1.6: TEST 6

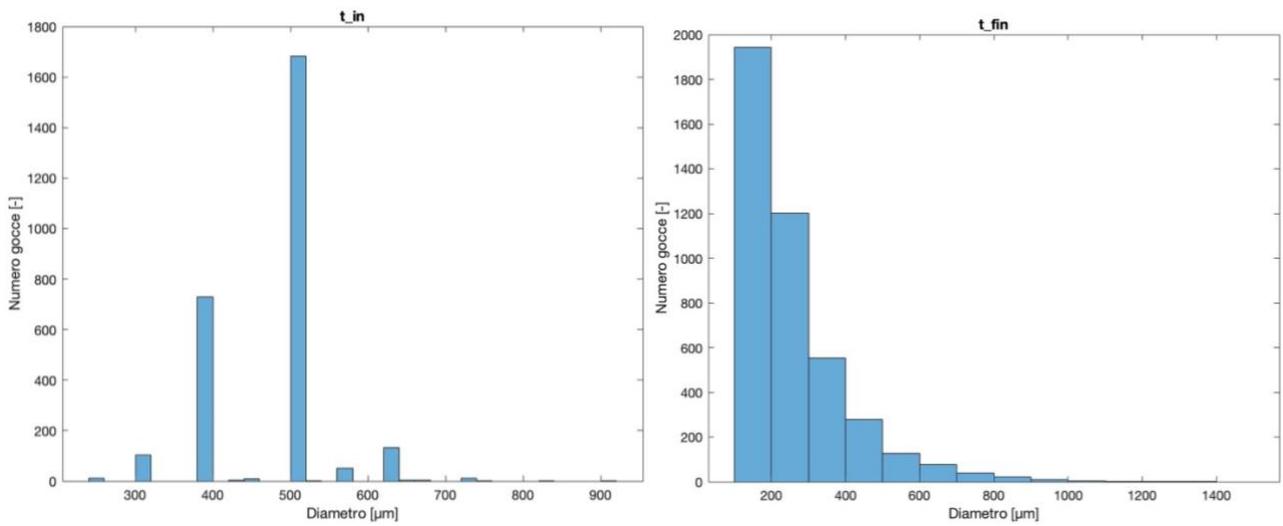


Figura 83: distribuzione di dimensione del diametro al tempo iniziale (a) e finale (b) test 6

8.1.7: TEST 7

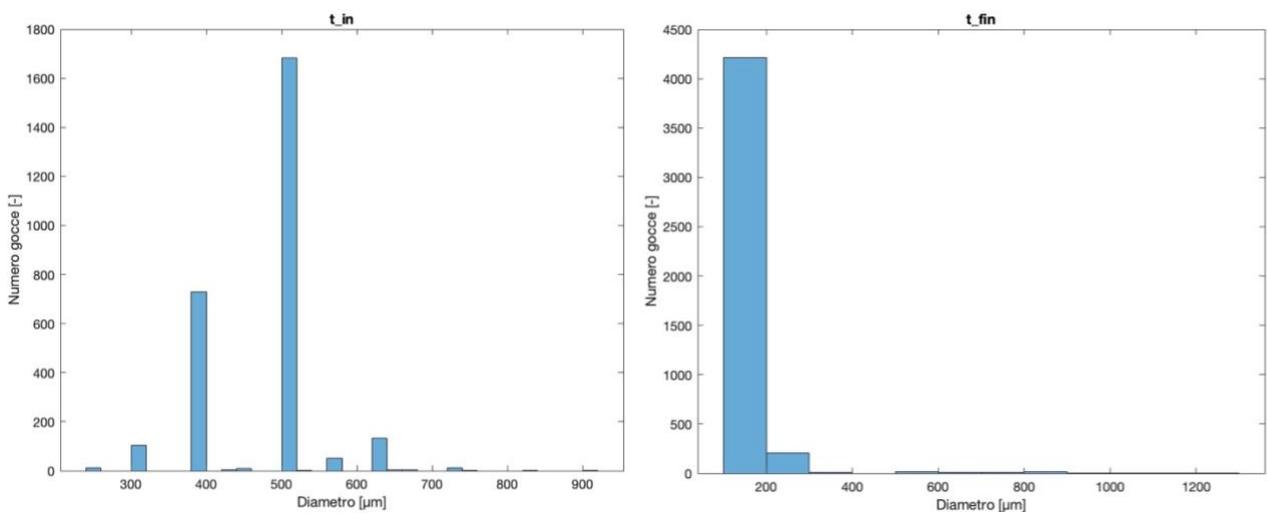


Figura 84: distribuzione di dimensione del diametro al tempo iniziale (a) e finale (b) test 7

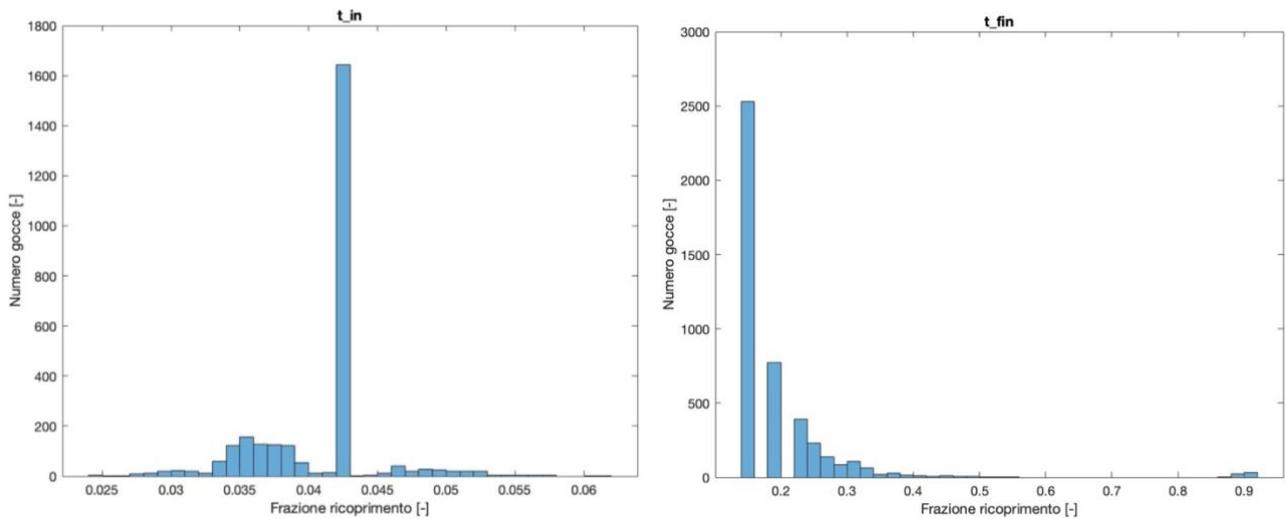


Figura 85: distribuzione della frazione di ricoprimento al tempo iniziale (a) e finale (b) test 7

Il grafico della frazione di ricoprimento al momento iniziale (fig. 85a) è spostato anche in questo caso a valori bassi inferiori a 0,045, ma al momento finale la ϕ rimane in generale bassa; infatti, solo pochissime particelle sembrano aver raggiunto il ricoprimento massimo. La maggior parte di queste rientrano nel range dimensionale di circa 0,1, mentre è presente un gap per valori tra 0,6 e 0,8 ad indicare che nessuna goccia ha un grado di ricoprimento intermedio. Questo andamento è spiegabile dalle condizioni operative della simulazione, in particolare dalla bassa frazione volumetrica di particelle presente al momento iniziale.

8.1.8: TEST 8

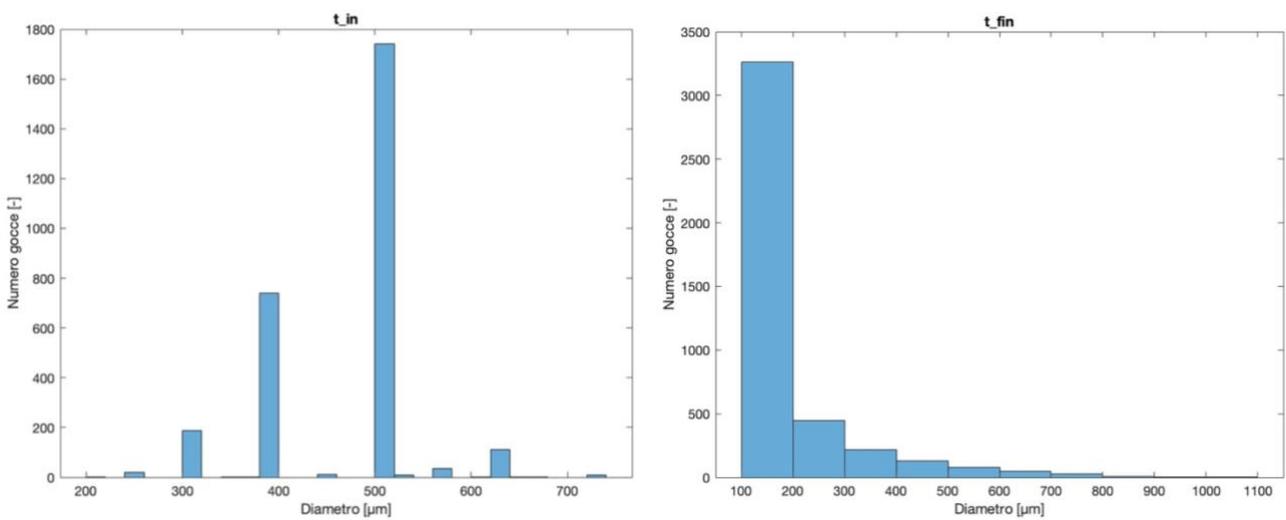


Figura 86: distribuzione di dimensione del diametro al tempo iniziale (a) e finale (b) test 8

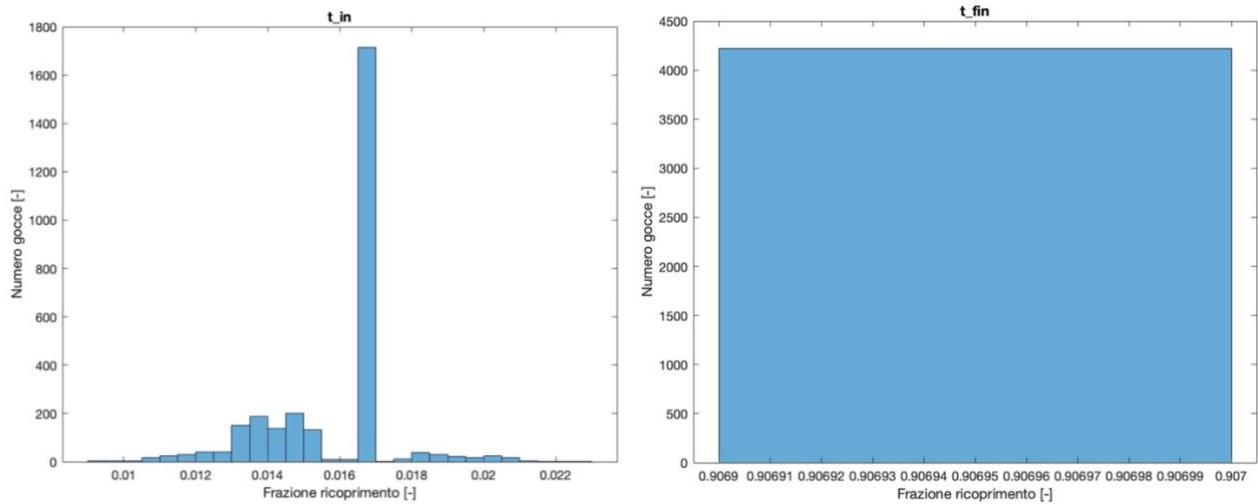
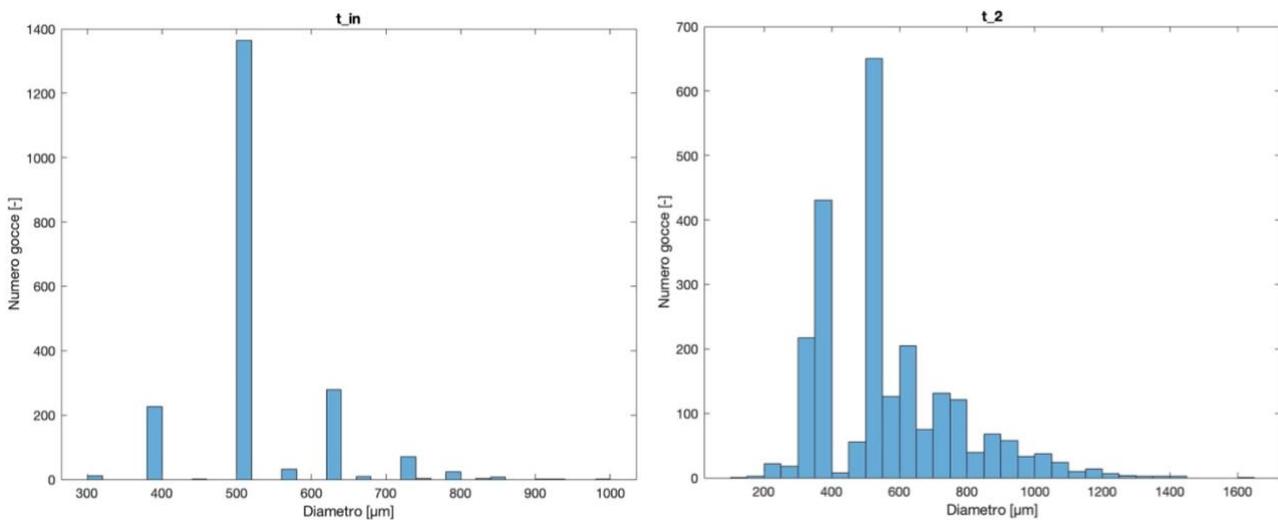
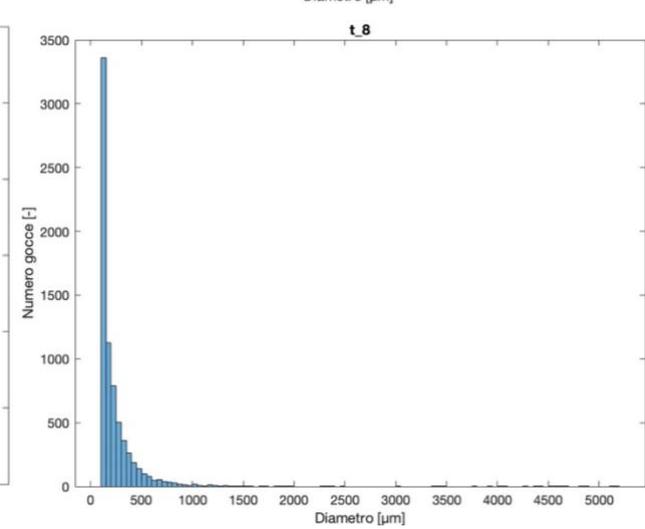
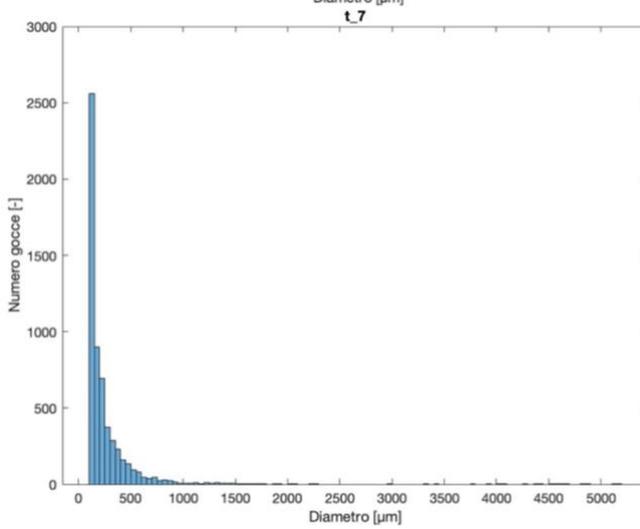
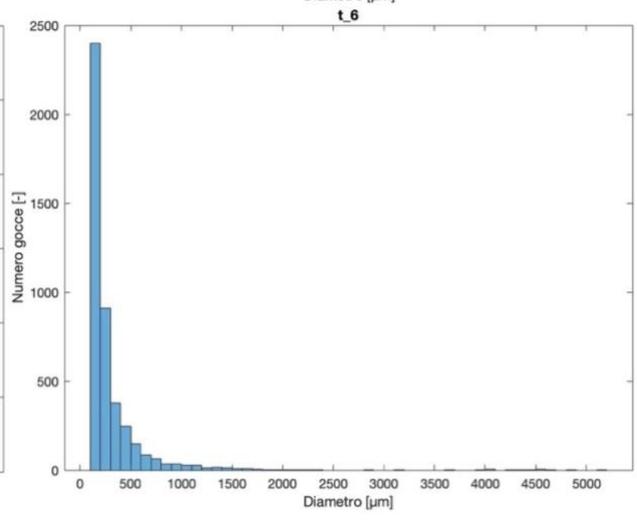
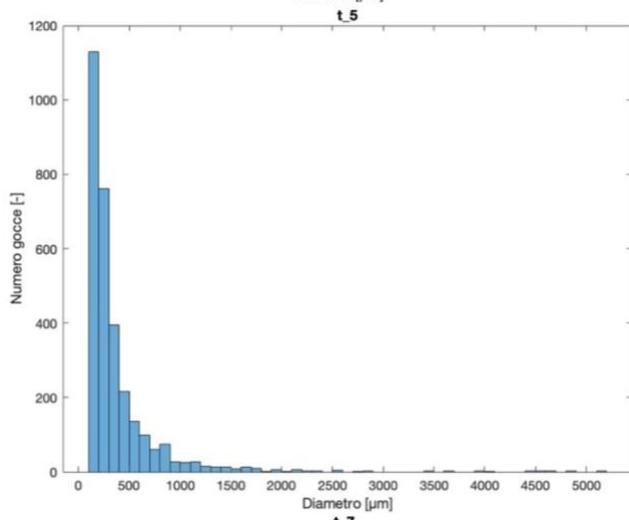
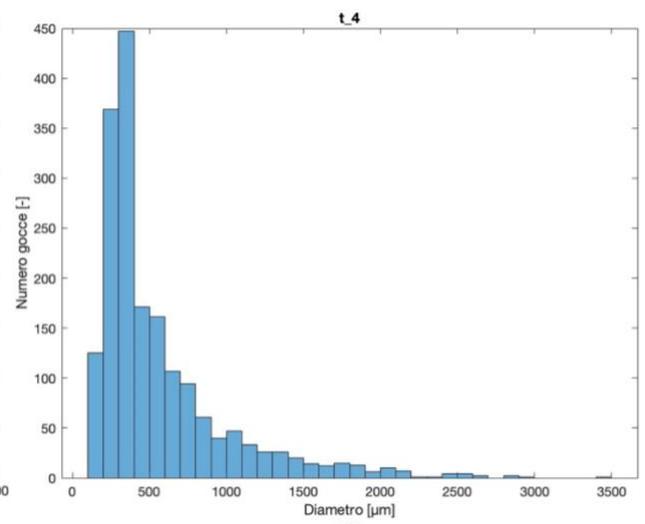
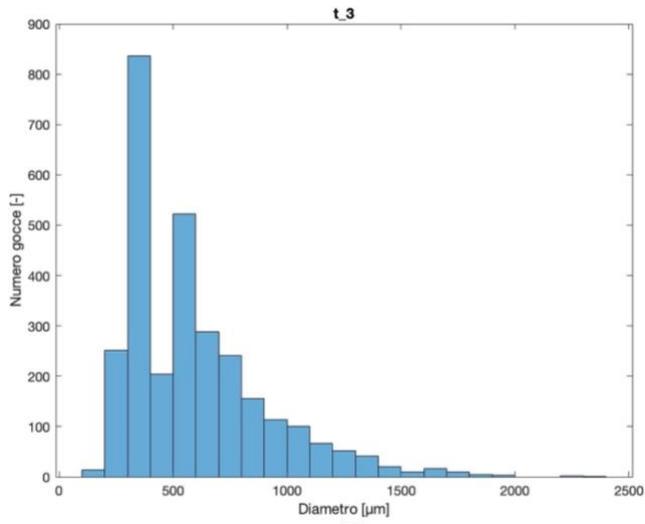


Figura 87: distribuzione della frazione di ricoprimento al tempo iniziale (a) e finale (b) test 8

In questa simulazione, al momento finale tutte le particelle presentano frazione di ricoprimento massima compresa tra 0,9069 e 0,907 (fig. 87b). Il grafico che invece fa riferimento ai primi istanti di evoluzione della ϕ riporta un picco marcato in corrispondenza di circa 0,017.

8.1.9: TEST 9





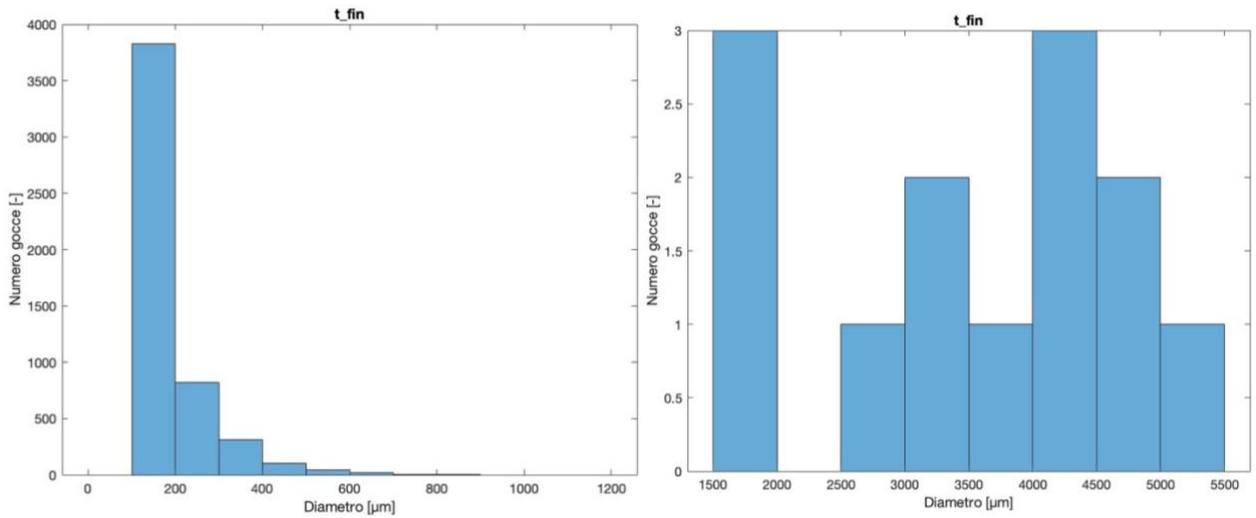
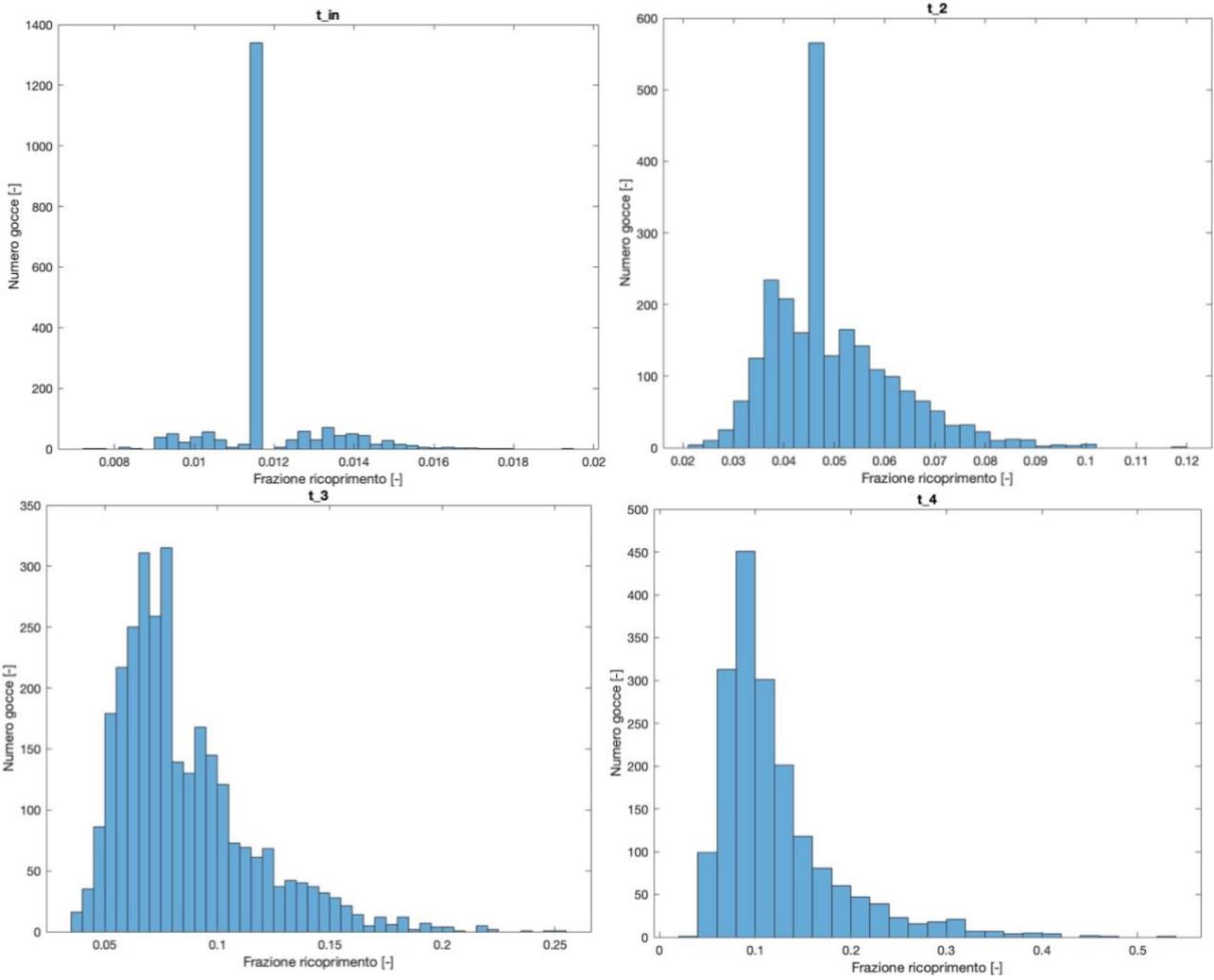


Figura 88: evoluzione della distribuzione di dimensione del diametro tra tempo iniziale (a) e finale (l) in otto intervalli temporali test 9



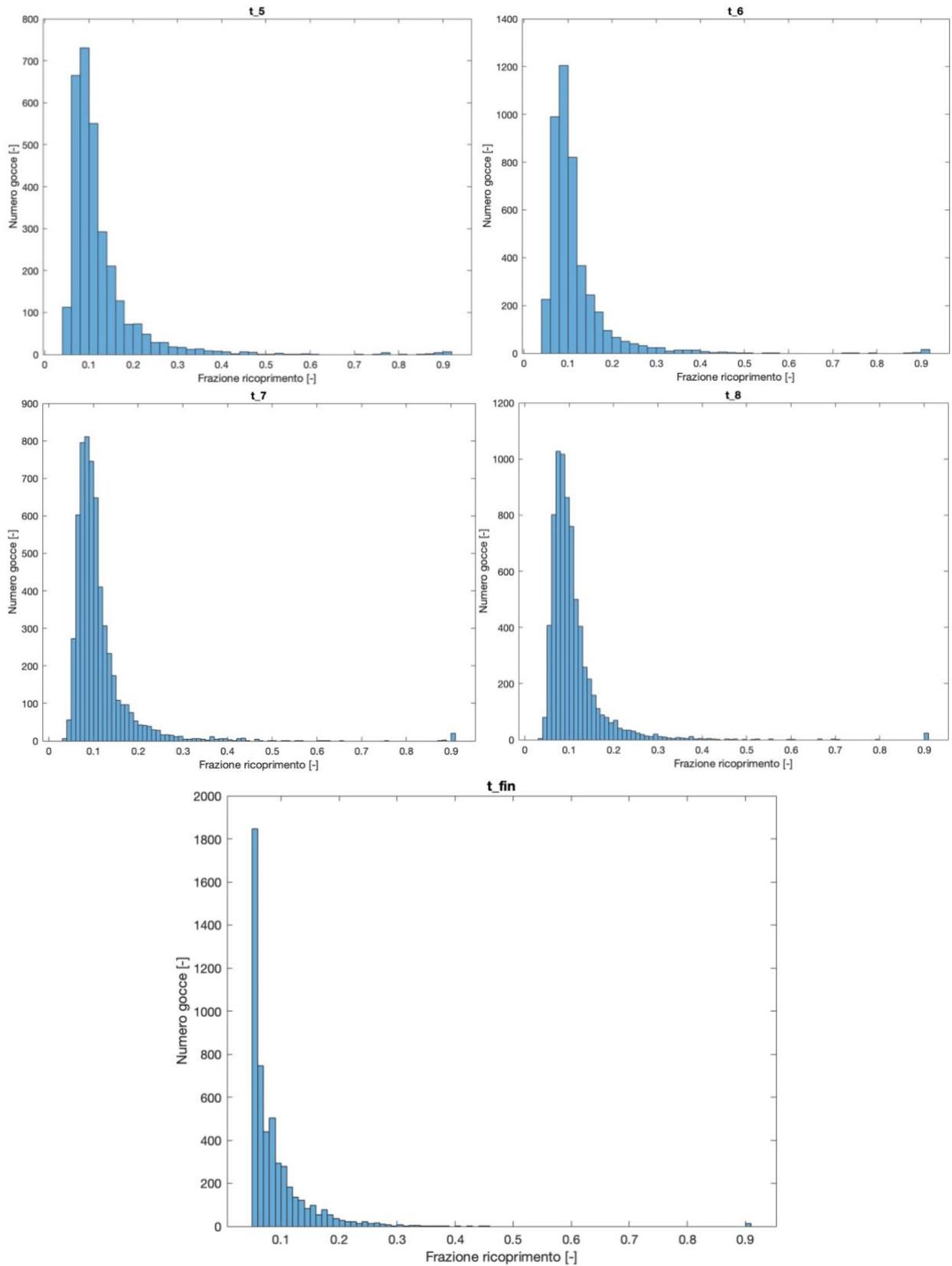
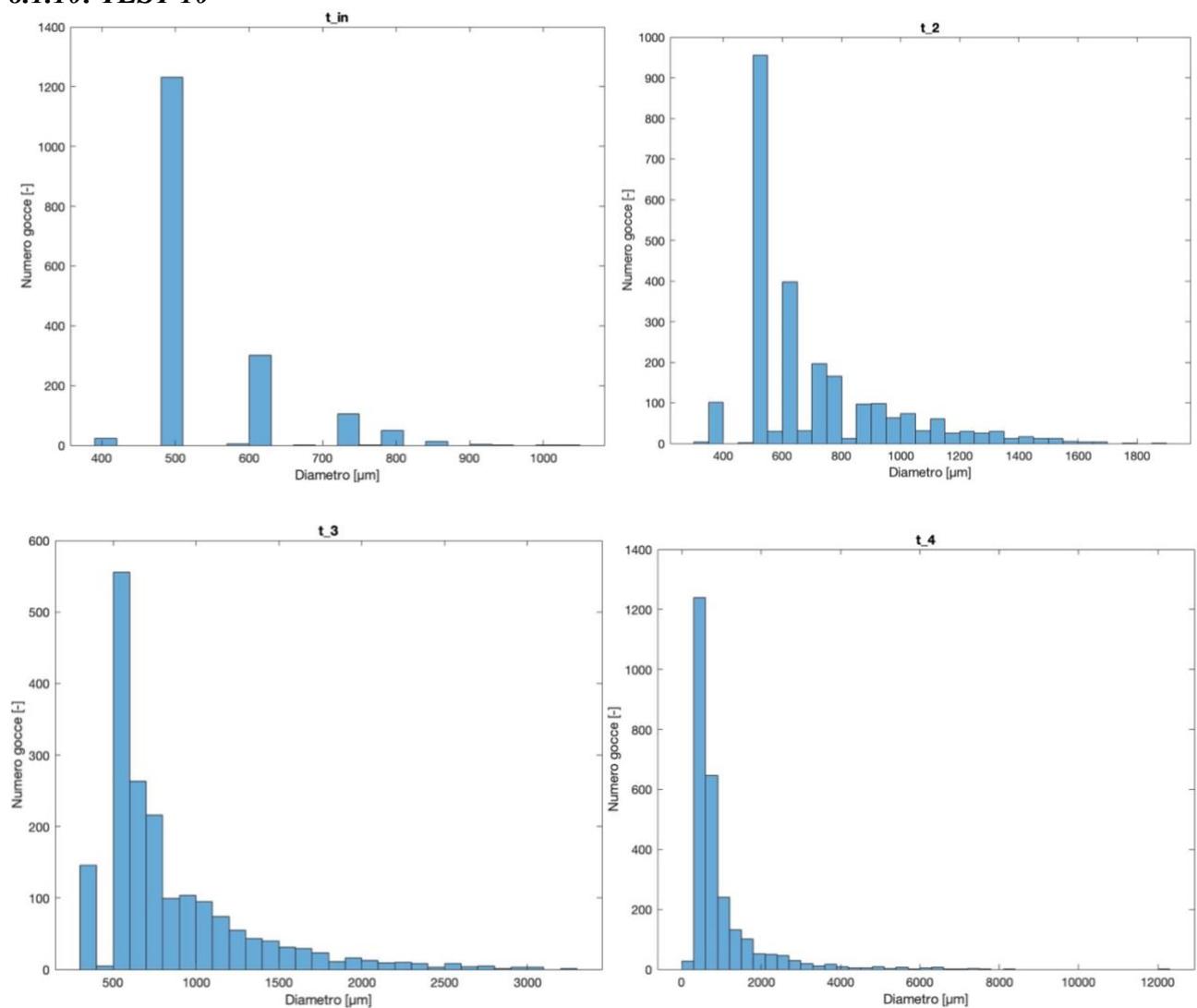
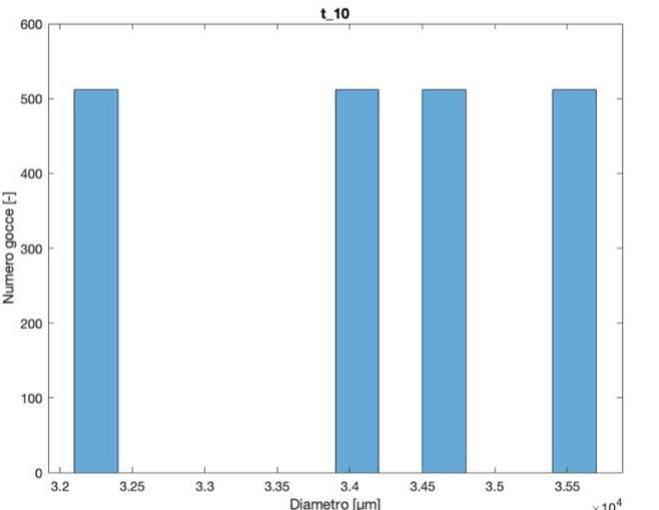
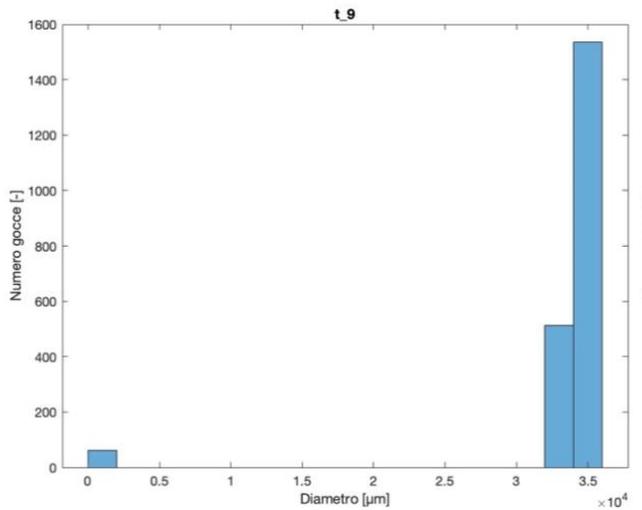
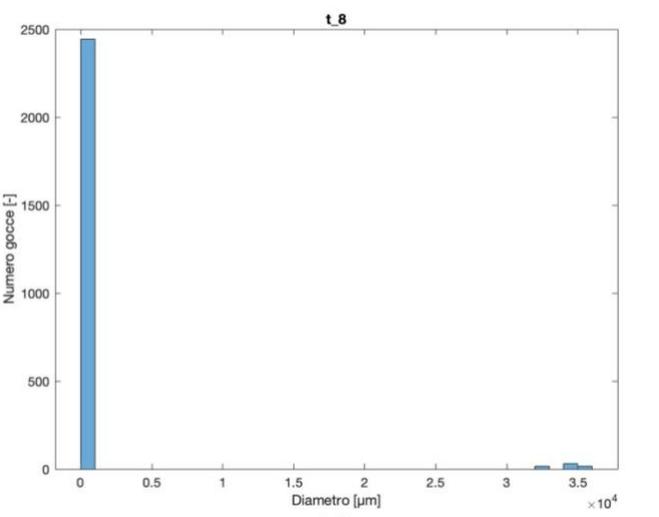
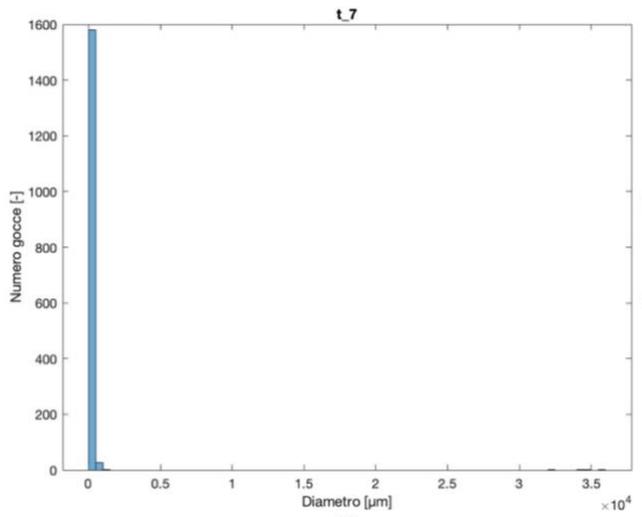
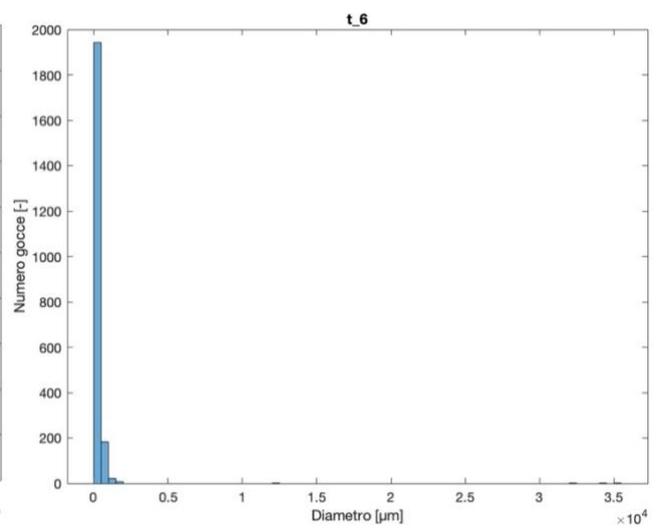
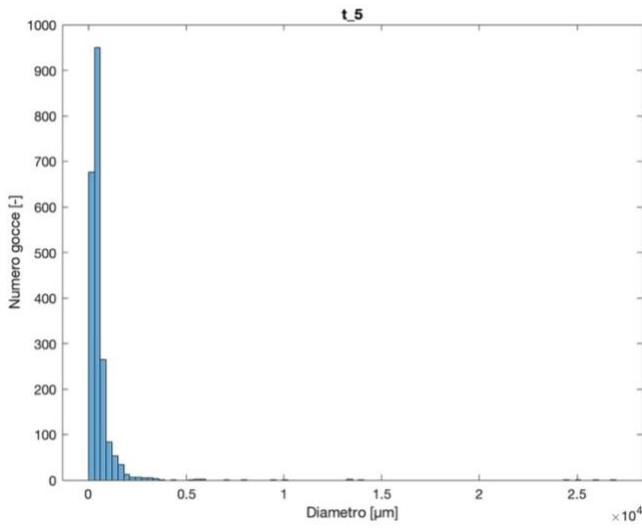


Figura 89: evoluzione della frazione di ricoprimento tra tempo iniziale (a) e finale (h) in otto intervalli temporali test 9

In questo caso si è deciso di diagrammare l'andamento degli istogrammi in più momenti, per poter analizzare al meglio l'evoluzione temporale dei valori. La figura 98 riporta l'evoluzione della distribuzione di frazione di ricoprimento: al momento iniziale quasi la totalità delle particelle ha ricoprimento minore di 0,012, successivamente questo picco si sposta a valori maggiori, prima verso 0,05 e poi tra 0,1 e 0,15. La distribuzione diventa sempre più ristretta rispetto ai grafici iniziali in cui la curva è abbastanza spanciata e il numero di particelle che hanno frazione intorno a 0,1 aumenta rappresentando la quasi totalità del campione. A partire dal sesto grafico è poi possibile notare anche una barra crescente in corrispondenza della frazione di ricoprimento massima a circa 0,9, ma che risulta comunque una minoranza rispetto al resto del campione.

8.1.10: TEST 10





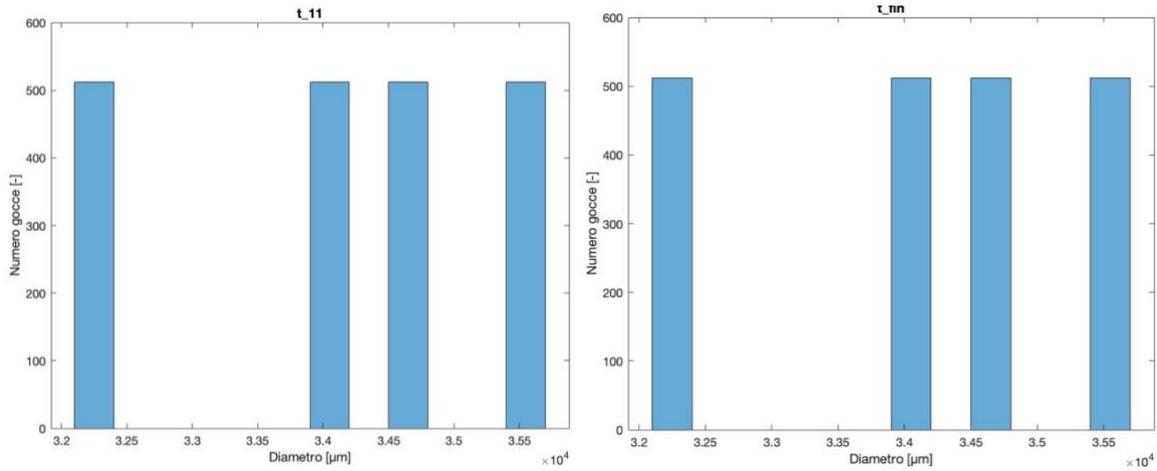
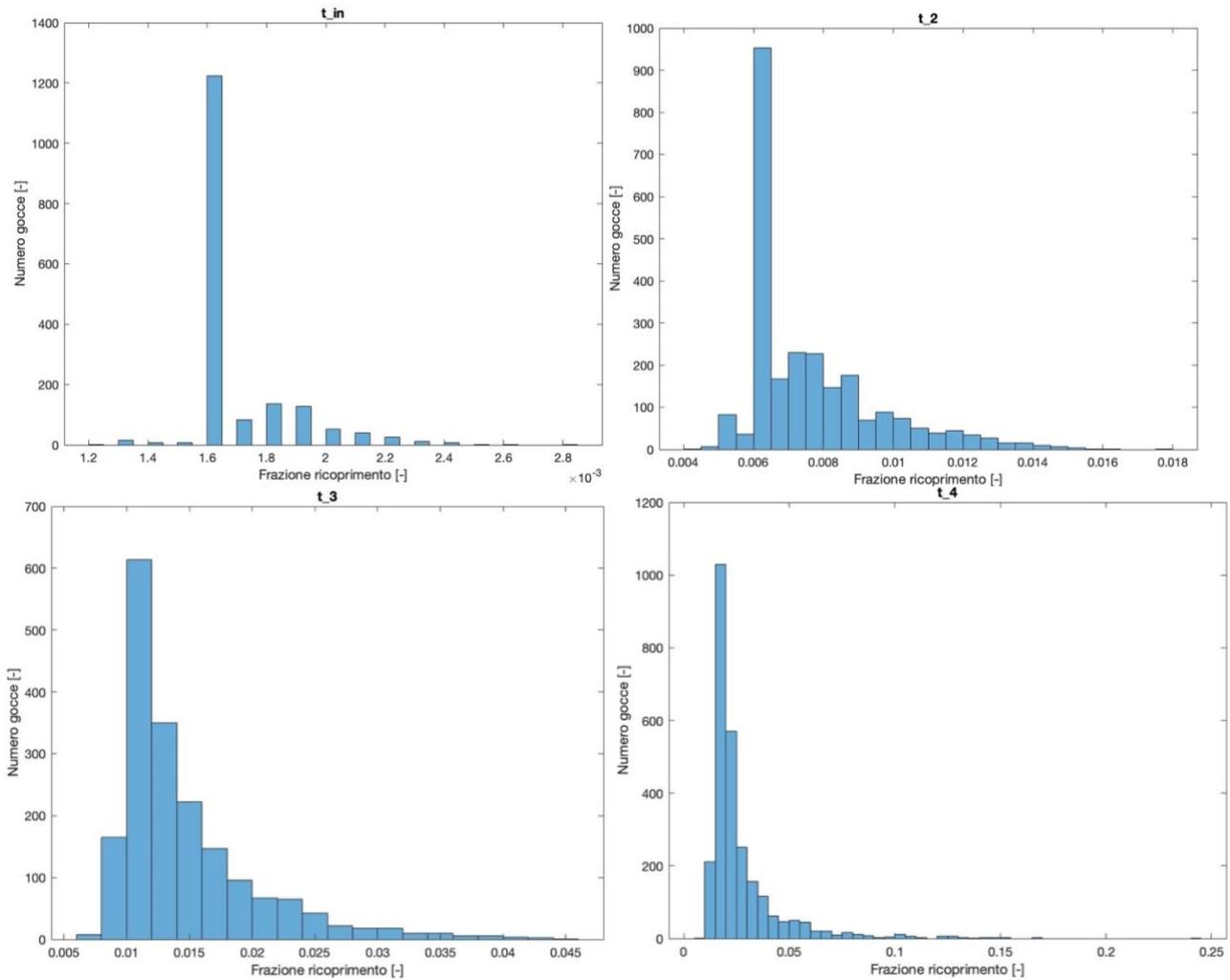
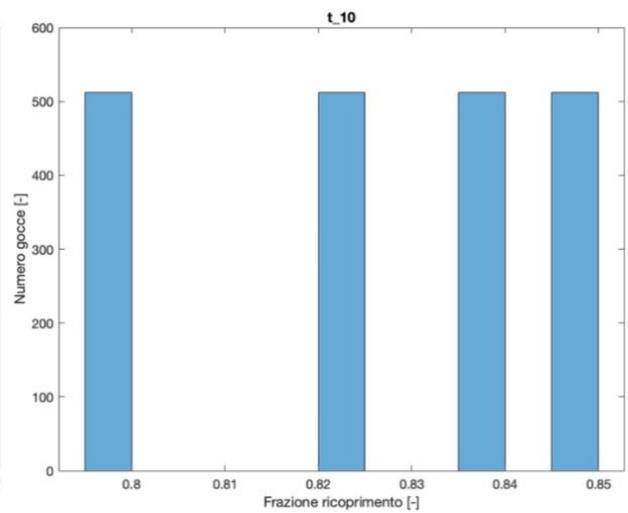
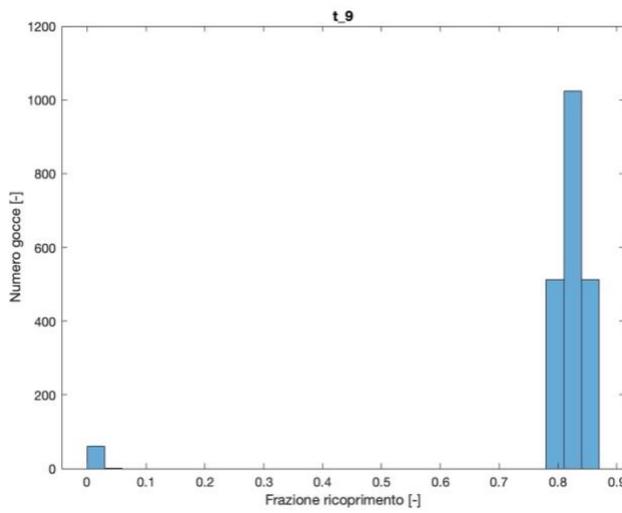
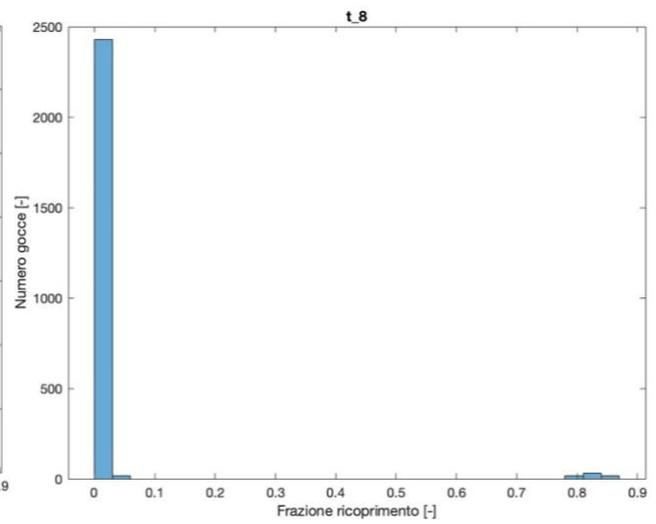
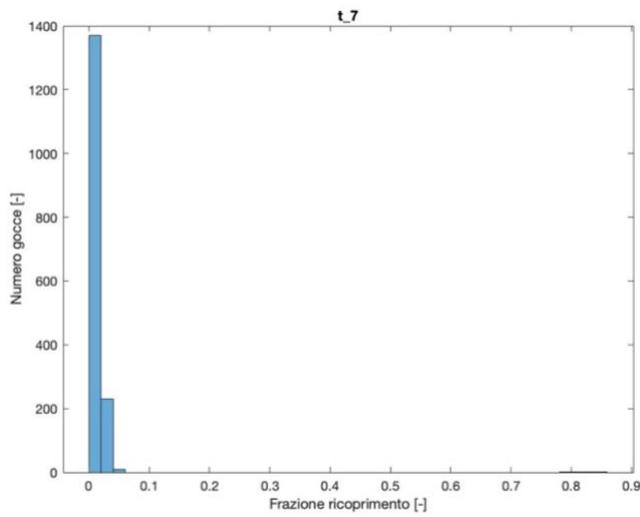
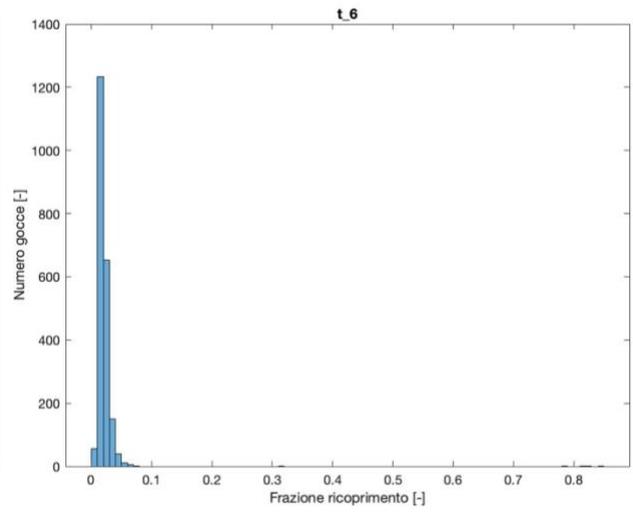
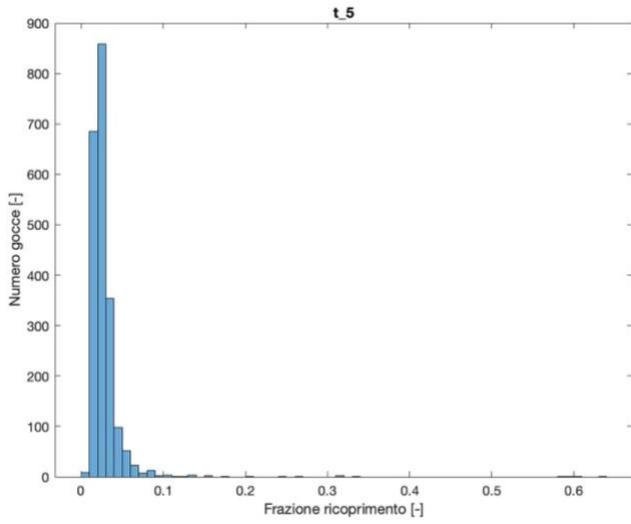


Figura 90: evoluzione della distribuzione di dimensione del diametro tra tempo iniziale (a) e finale (n) in dodici intervalli temporali test 10





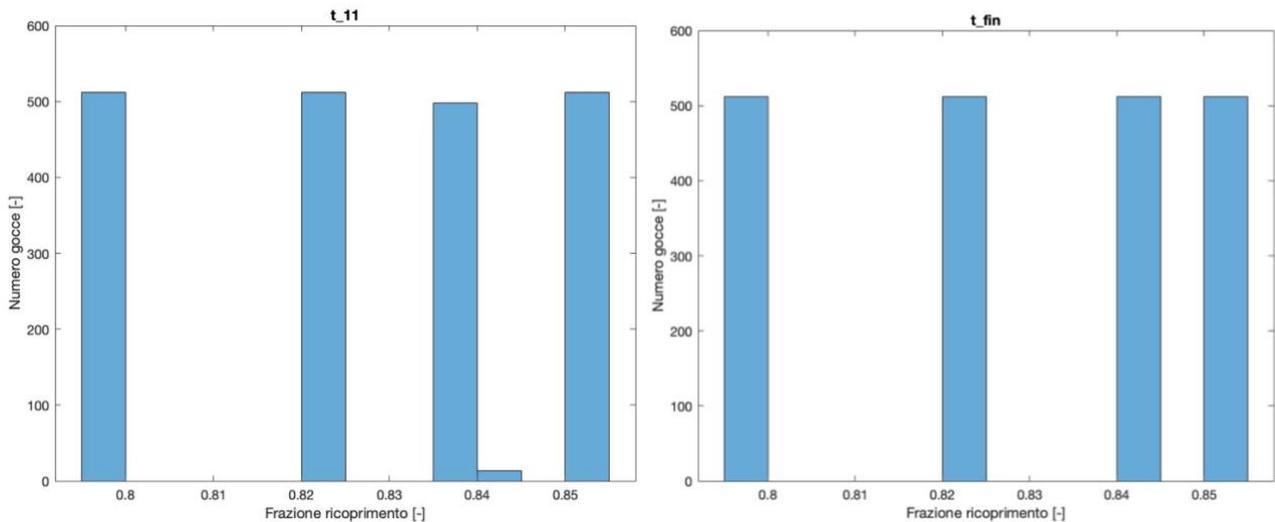
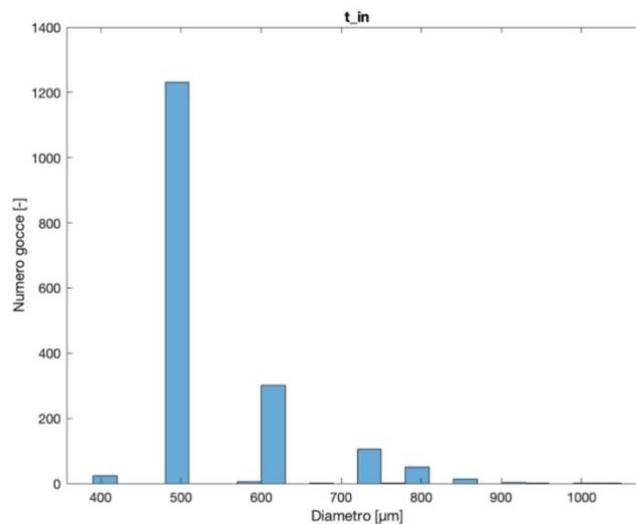


Figura 91: evoluzione della frazione di ricoprimento tra tempo iniziale (a) e finale (n) in dodici intervalli temporali test 10

Anche in questo caso si è tenuta traccia di più istogrammi per spiegare gli andamenti ottenuti. La frazione di ricoprimento iniziale è bassa come visto già in altri casi, con andamento crescente fino al grafico t_8 di figura 91, dove raggiunge un picco molto marcato intorno a 0,05 comprendente la quasi totalità delle particelle. A partire da questo si vede un principio di barra tra i valori di 0,8 e 0,9. Dal grafico t_9 è possibile notare come questi picchi crescano improvvisamente, fino ad avere una frazione di particelle al di sotto di questo range nulla. I grafici successivi mostrano infatti una distribuzione abbastanza omogenea delle particelle tra 0,8 e 0,85, infatti al momento finale queste barre hanno tutte la stessa altezza.

8.1.11: TEST 11



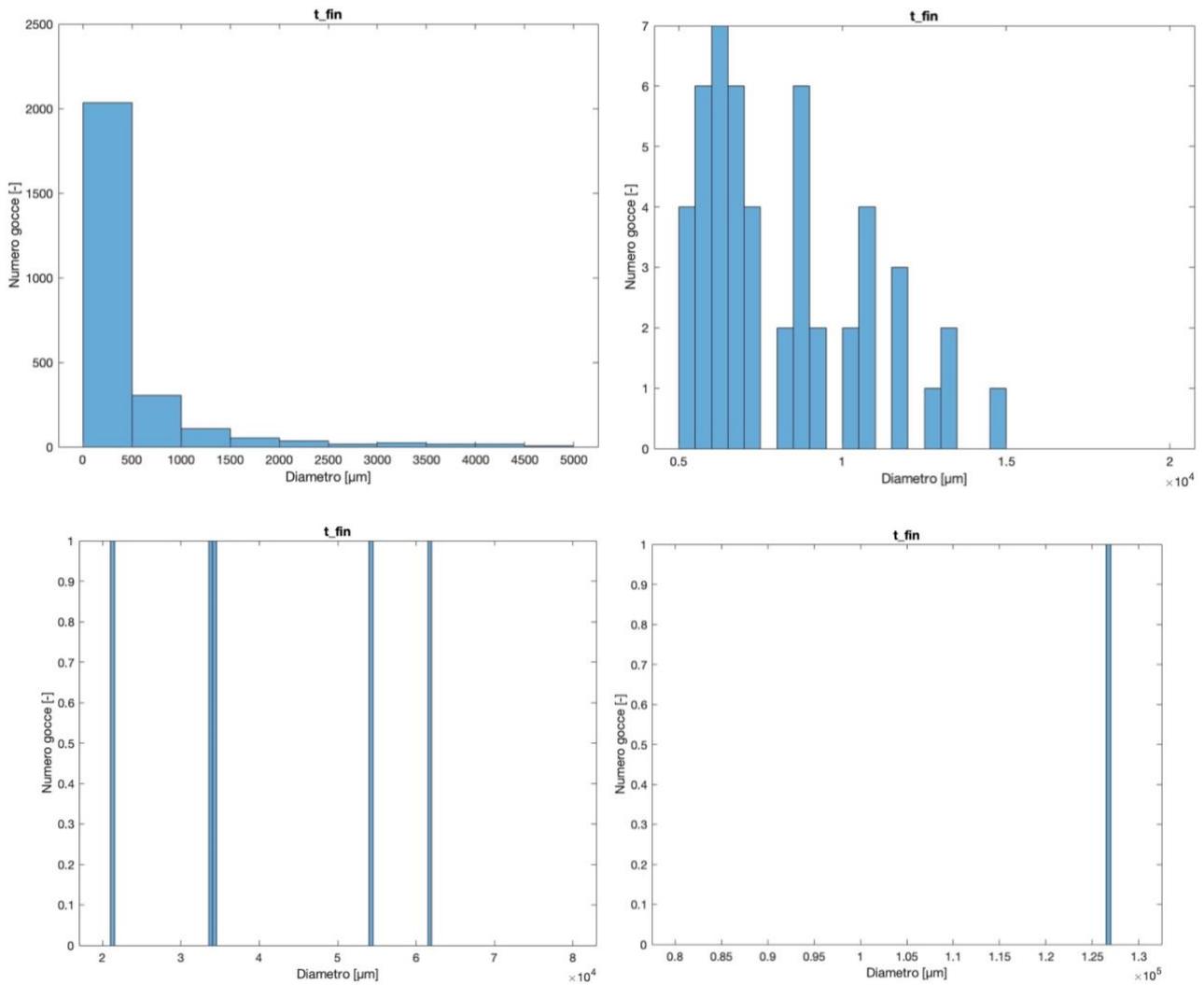


Figura 92: distribuzione di dimensione del diametro al tempo iniziale (a) e finale (b) test test 11

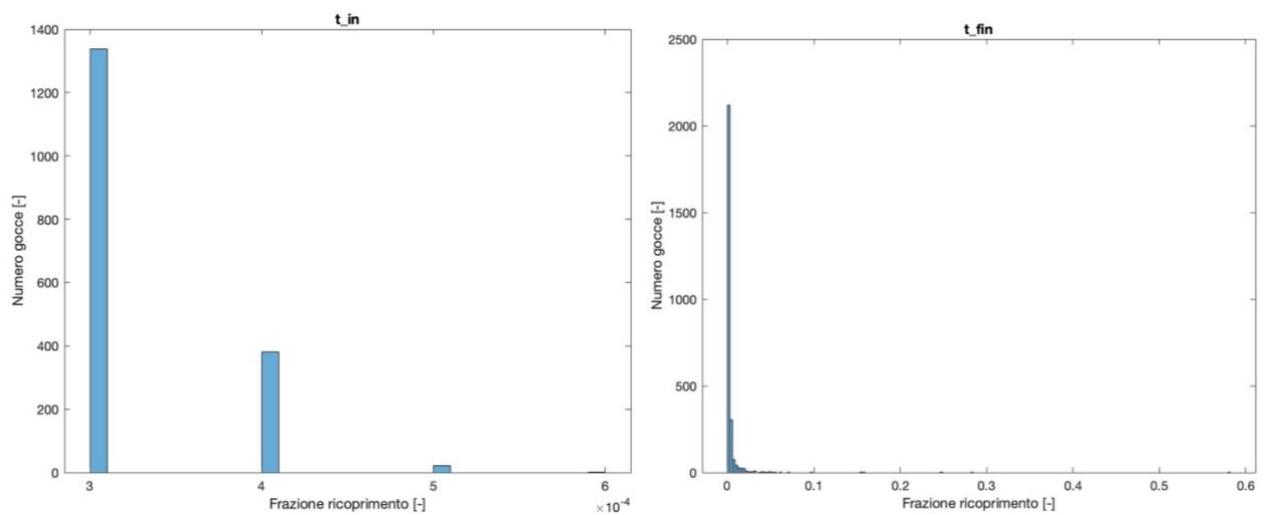


Figura 93: distribuzione della frazione di ricoprimento del diametro al tempo iniziale (a) e finale (b) test 11

Tra tutte le simulazioni effettuate questa presenta i valori di frazione di ricoprimento più bassi. Dalla figura 93 è apprezzabile come già dal momento iniziale il picco massimo si ha per 0,0003, con

l'avanzare della simulazione questo rimane comunque in prossimità dello zero, con una frazione irrisoria di particelle che presenta ricoprimento intorno a 0,2-0,3.

7.1 SIMULAZIONI

7.1.1 SUMUP_DATA_1

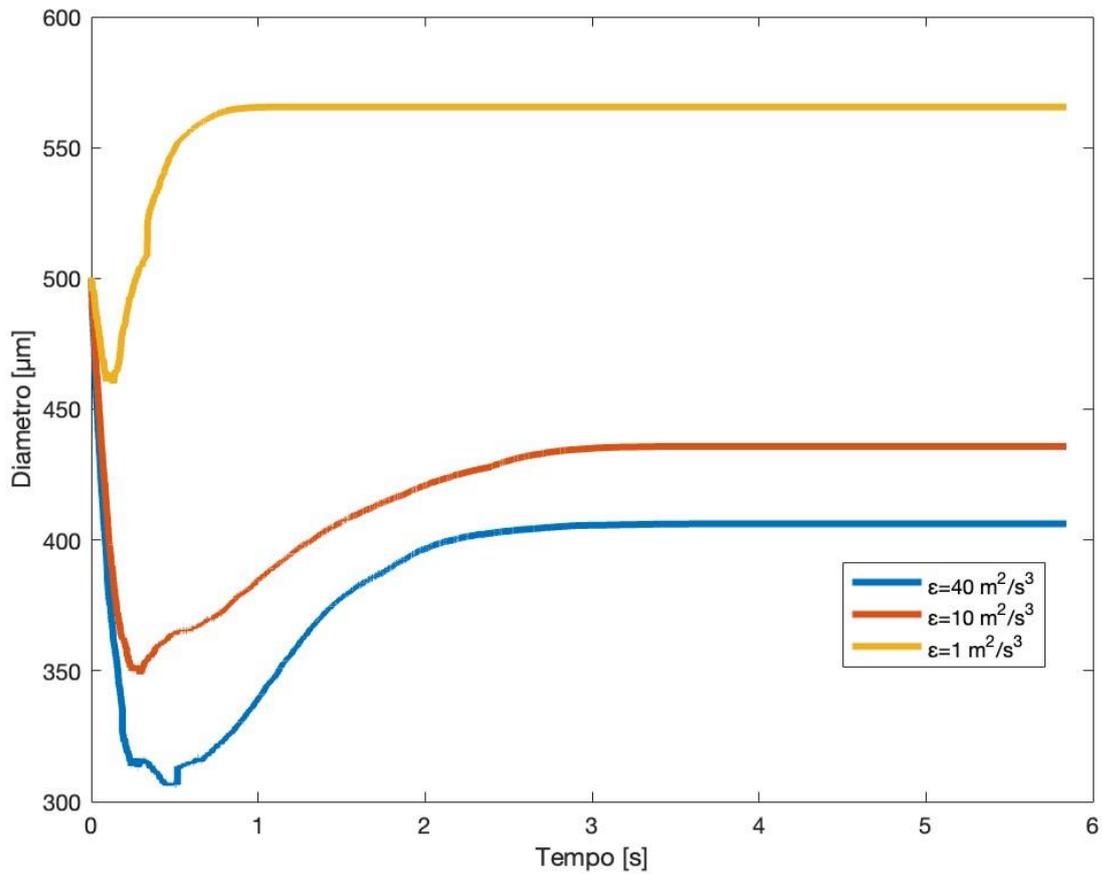


Figura 94: andamento diametri di Sauter prove 1,2,3

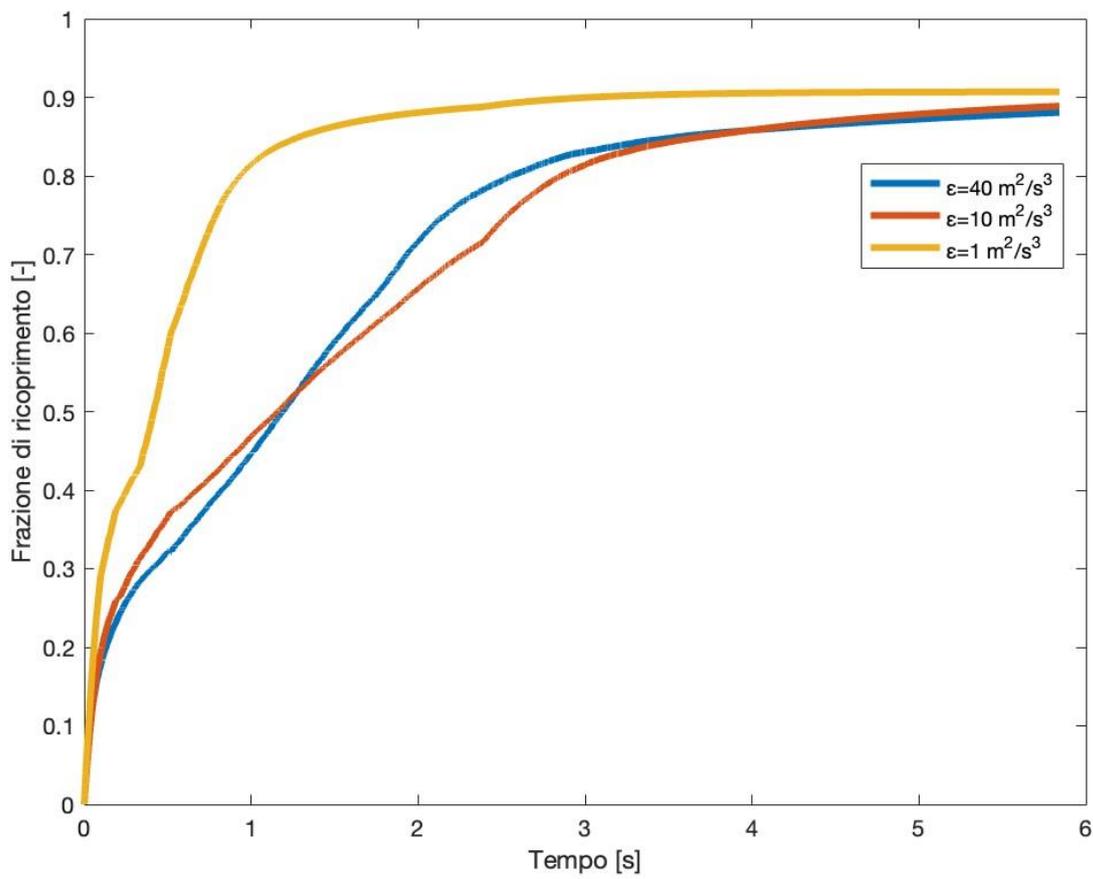


Figura 95: andamento frazioni di ricoprimento prove 1,2,3

Dal primo grafico in figura 94 è possibile notare che tutte e tre le curve presentano un andamento decrescente fino a raggiungere un minimo, in seguito al quale la curva cresce per poi stabilizzarsi ad un certo valore. In due casi il valore del diametro di stabilizza a valori minori rispetto a quello di partenza, tanto minore quanto più aumenta il valore della velocità di dissipazione della energia cinetica turbolenta, ε . Dato che questo parametro rappresenta un indice di quanto è spinta la turbolenza del nostro sistema, al variare di essa si ha un'idea di quanto le gocce tendono ad incontrarsi o meno nell'arco della simulazione, poiché valori bassi di ε indicano un regime meno turbolento.

Il diametro medio di Sauter viene calcolato come rapporto fra il momento di ordine 3 e il momento di ordine 2 riferiti alla taglia delle gocce. Come si può vedere dal grafico il valore iniziale del diametro medio di Sauter è univoco e pari a $500 \mu m$, ma a causa dei fenomeni di coalescenza e di rottura delle gocce che vengono valutati dal modello si ottengono evoluzioni diverse a seconda del differente valore di dissipazione dell'energia cinetica turbolenta. Nello specifico si può notare come per valori di $\varepsilon=1 \text{ m}^2/\text{s}^3$ prevale la coalescenza a discapito della rottura, e si hanno gocce più grandi di quelle iniziali quando viene raggiunto lo stato stazionario, mentre ai valori di $\varepsilon=10$ e $40 \text{ m}^2/\text{s}^3$ a prevalere è la rottura. Questo particolare andamento è dovuto al fatto che nella simulazione Monte Carlo utilizzata gli eventi di coalescenza e breakup avvengono in modo consecutivo e casuale. All'inizio prevalgono i fenomeni di breakup delle gocce perché il loro diametro è grande, successivamente si

raggiunge un valore per cui prevale la coalescenza poiché gocce più piccole si ricoprono più velocemente, fino al valore massimo. Infine; i due fenomeni raggiungono un equilibrio e il diametro si stabilizza. In particolare, si può osservare che al valore di ε minore avviene la stabilizzazione del valore di diametro per tempi più brevi (circa 1 secondo) rispetto agli altri due casi.

Quando si raggiunge un valore di costante nel tempo per i diametri medi, si comprende che la frazione di massa delle particelle utilizzata non era sufficiente a stabilizzare un'area interfacciale maggiore. La frazione di ricoprimento (fig. 95) è inizialmente nulla, con andamento crescente poiché le particelle iniziano ad attaccarsi alla superficie nel caso di entrambi gli eventi, ma fino ad un valore di 0,65 prevalgono gli eventi di rottura. Nel caso di velocità di dissipazione dell'energia cinetica turbolenta minore il valore finale di ϕ ha raggiunto il valore massimo di 0,907, mentre negli altri casi risulta leggermente più basso, intorno a 0,85. Questo capita perché una distribuzione con gocce più grandi ha un'area interfacciale minore rispetto ad una distribuzione con gocce più piccole, a parità di frazione volumetrica iniziale di gocce e particelle. Tutte e tre le curve presentano un punto di flesso poco prima di un secondo: confrontando questo valore con il grafico dei diametri si può osservare che si verifica in corrispondenza del minimo di queste curve.

7.1.2 SUMUP_DATA_2

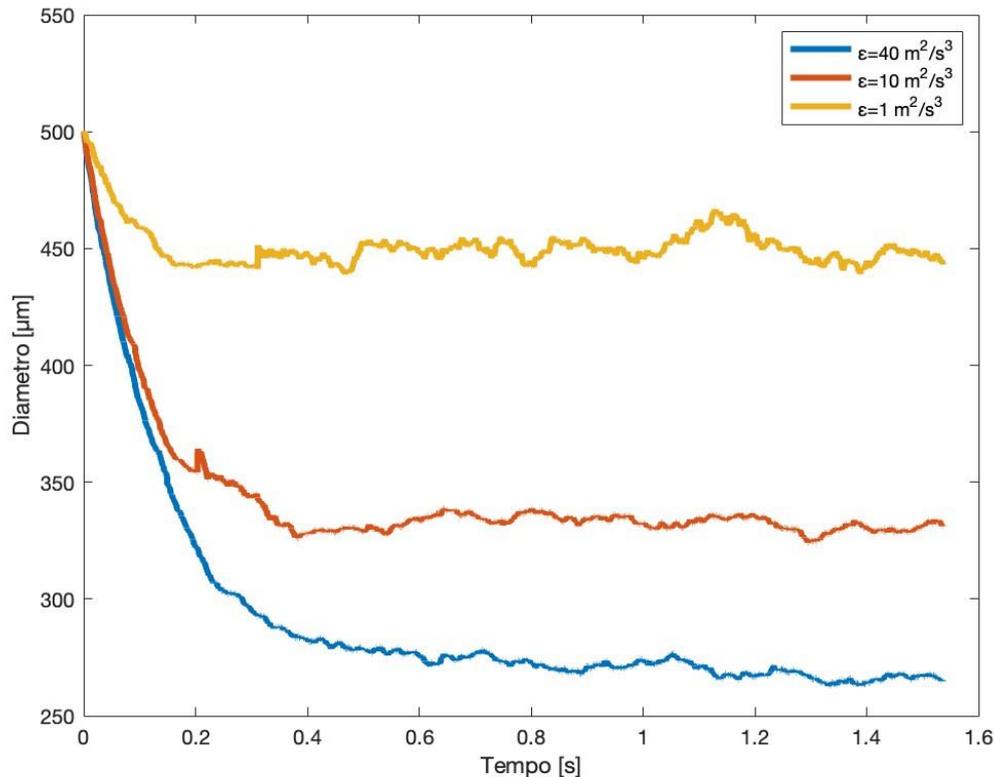


Figura 96: andamento diametri di Sauter prove 4,5,6

Nel grafico di figura 96 si può osservare l'andamento delle curve a differenti ϵ , ma con una frazione di particelle nulla. Il diametro iniziale di $500 \mu\text{m}$ viene in tutti i casi ridotto con un andamento decrescente fino alla fine della simulazione, che si è protratta per un tempo molto più breve rispetto al caso precedente. Anche in questo caso a valori di dissipazione di energia cinetica turbolenta maggiori è corrisposta una diminuzione più importante del diametro, che però si è stabilizzato per tutte e tre le prove a tempi brevi compresi tra 0,3 e 0,4 secondi. Si può concludere che una frazione di ricoprimento nulla ha favorito di eventi di rottura: questo vuol dire che se non si inseriscono particelle solide, le emulsioni risultanti dal processo di agitazione sono composte da distribuzioni dimensionali di gocce generalmente più piccole; il diametro risulta tanto più piccolo quanto è elevato il valore di dissipazione dell'energia cinetica turbolenta.

Dal modello precedentemente descritto (fig. 13) infatti, si può notare come per frazioni più piccole di 0,65 questo evento prevale, con divisione della goccia di partenza in due di ugual volume. La prova con ϵ pari a $10 \text{ m}^2/\text{s}^3$ è stata quella che ha permesso di ottenere il numero finali di gocce maggiore e pari a 6180.

7.1.3 SUMUP_DATA_3

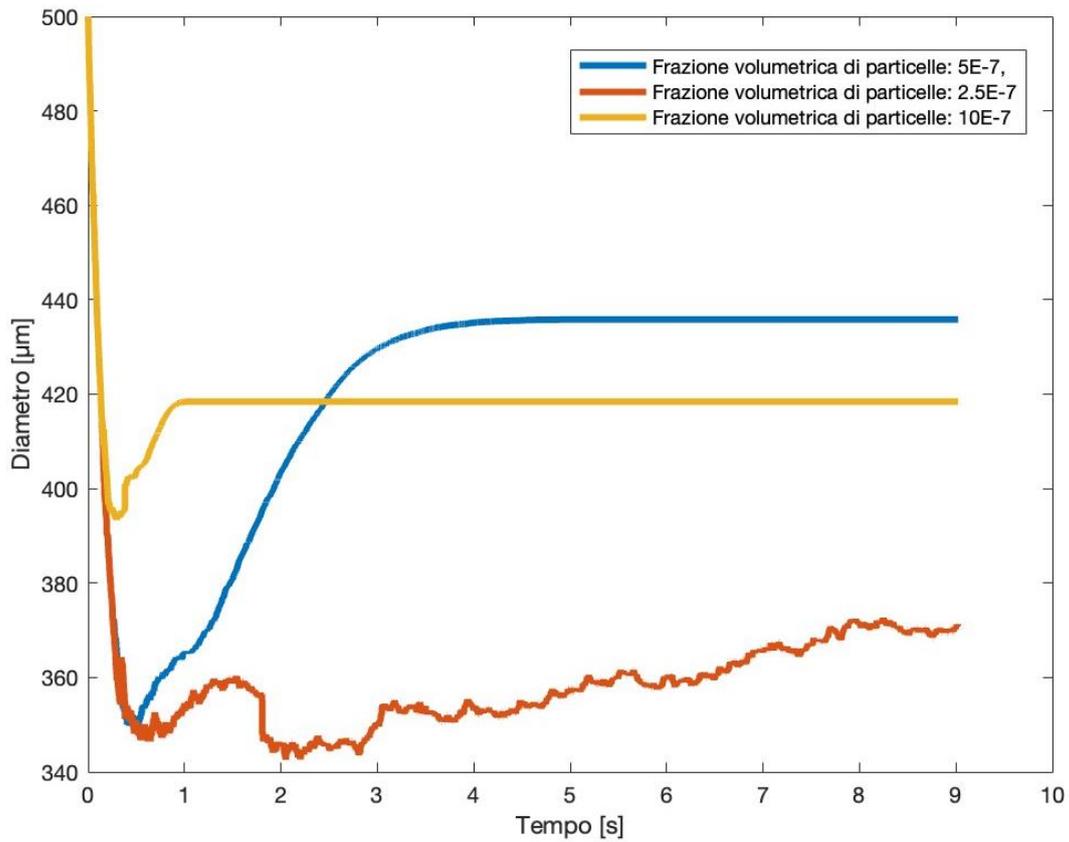


Figura 97: andamento diametri di Sauter prove 2,7,8

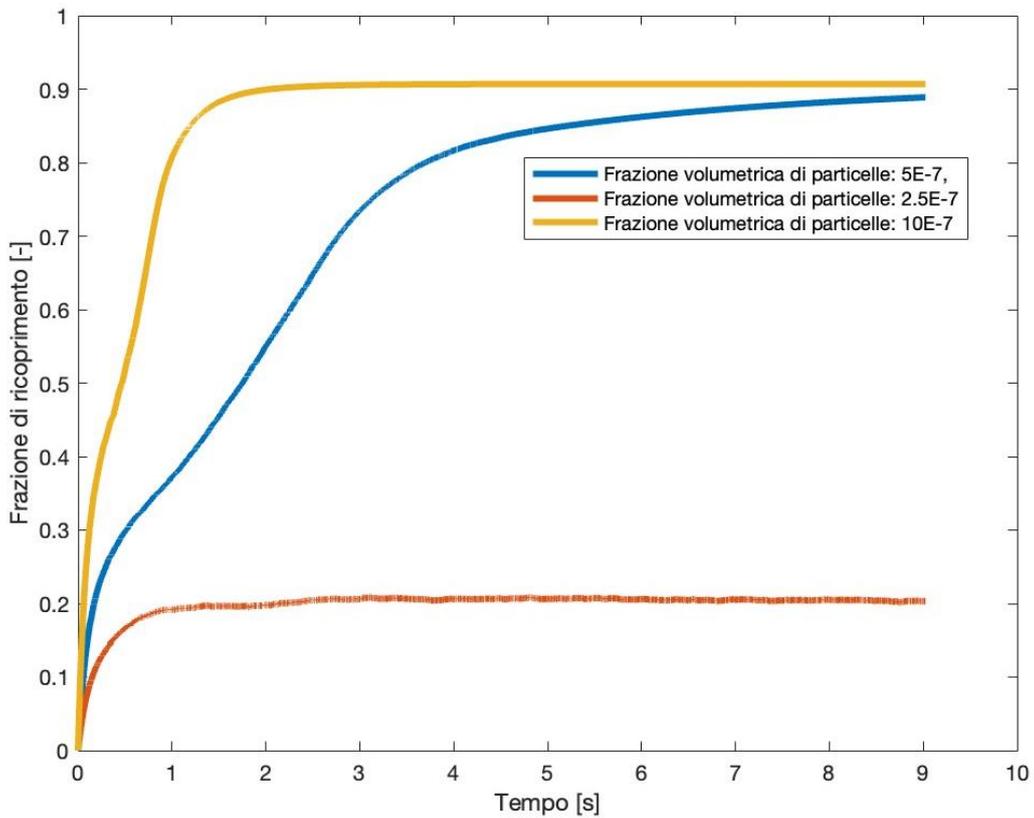


Figura 98: andamento frazioni di ricoprimento prove 2,7,8

In questo caso si è deciso di confrontare a parità di ε impostato ad un valore di $10 \text{ m}^2/\text{s}^3$, quale sia l'effetto della frazione volumica di particelle sull'evoluzione del campione. Il valore più piccolo è stato impostato pari a $2,5\text{E}-07$: l'andamento della curva rossa (fig. 97) è abbastanza irregolare e instabile; infatti, non si vede il tipico plateau osservato nei casi precedenti. Questo può essere spiegato dalla bassa frazione di ricoprimento che si è mantenuta per tutta la prova e pari a circa 0,2, come osservabile da figura 98. La curva rappresentante il caso di frazione volumica maggiore (curva gialla) presenta la stabilizzazione più rapida e per un valore pari a circa $420 \mu\text{m}$. Anche in questo caso l'andamento è decrescente all'inizio poiché la frazione di ricoprimento media delle gocce si trova al di sotto di 0,65 e prevalgono quindi eventi di rottura; una volta raggiunto il minimo e un aumento della frazione di ricoprimento, gli eventi di coalescenza prevalgono. Il diametro aumenta fino alla frazione di ricoprimento massima per il caso della curva gialla a maggiore frazione di ricoprimento, che viene raggiunto in circa un secondo. Il caso intermedio invece raggiunge un minimo a tempi più lunghi, per poi stabilizzarsi verso i 5 secondi a valori di diametro di circa $430 \mu\text{m}$. In questo caso il prevalere dei fenomeni di coalescenza avviene dopo rispetto al caso della curva gialla, osservabile dal fatto che la frazione di ricoprimento aumenta in modo più marcato intorno a 2-3 secondi, raggiungendo comunque valori elevati ma non il massimo ammissibile.

7.1.4 SUMUP_DATA_4

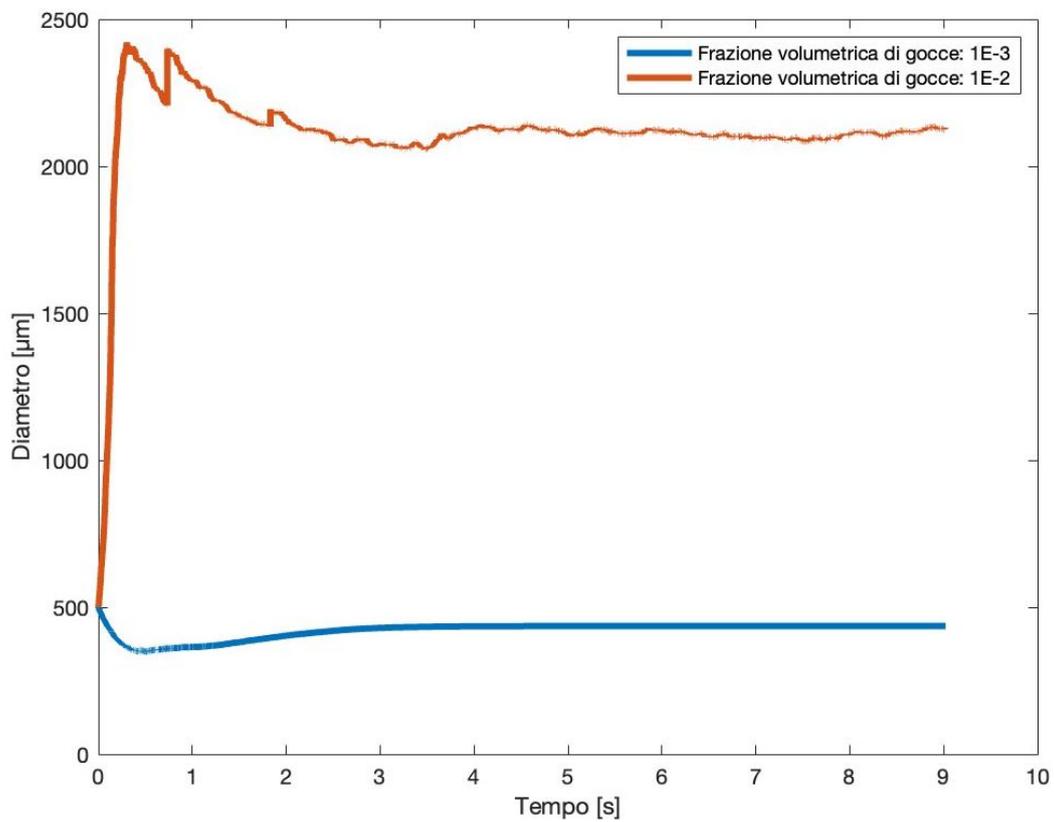
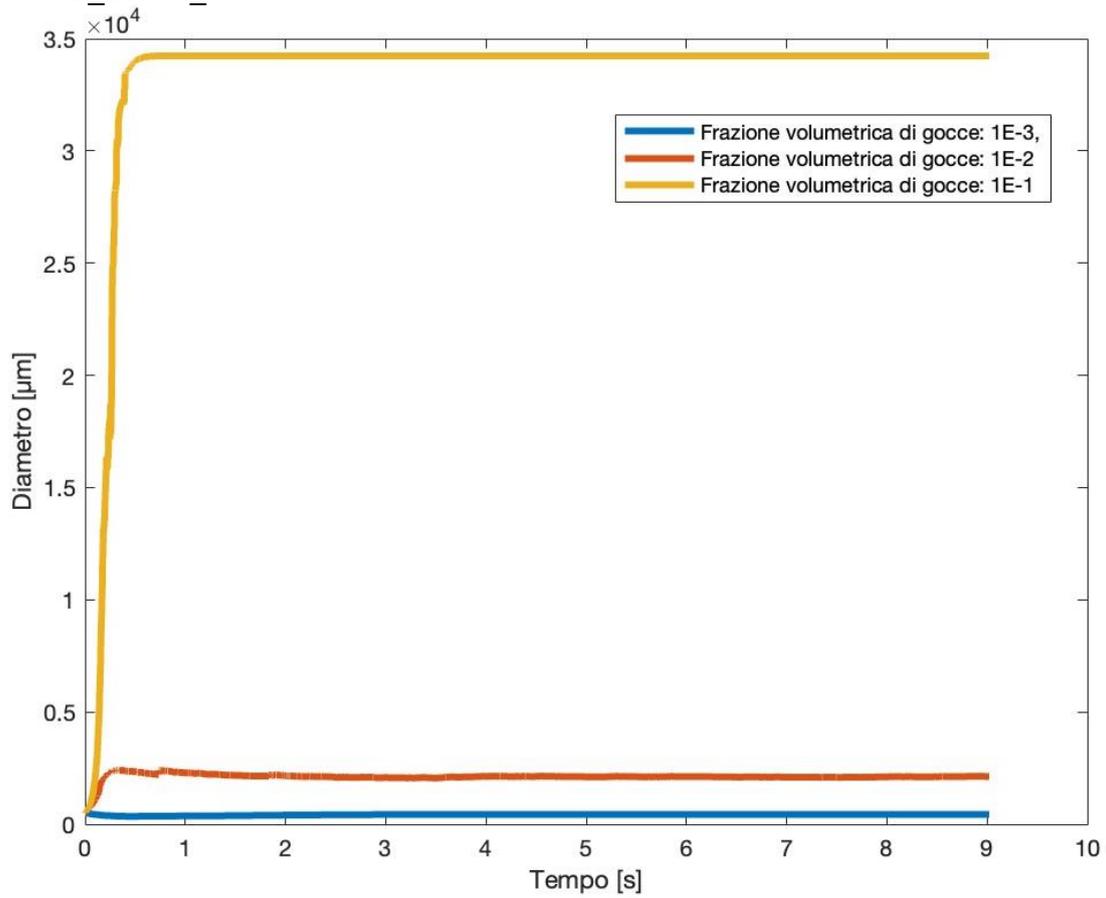


Figura 99: andamento diametri di Sauter prove 2,9,10

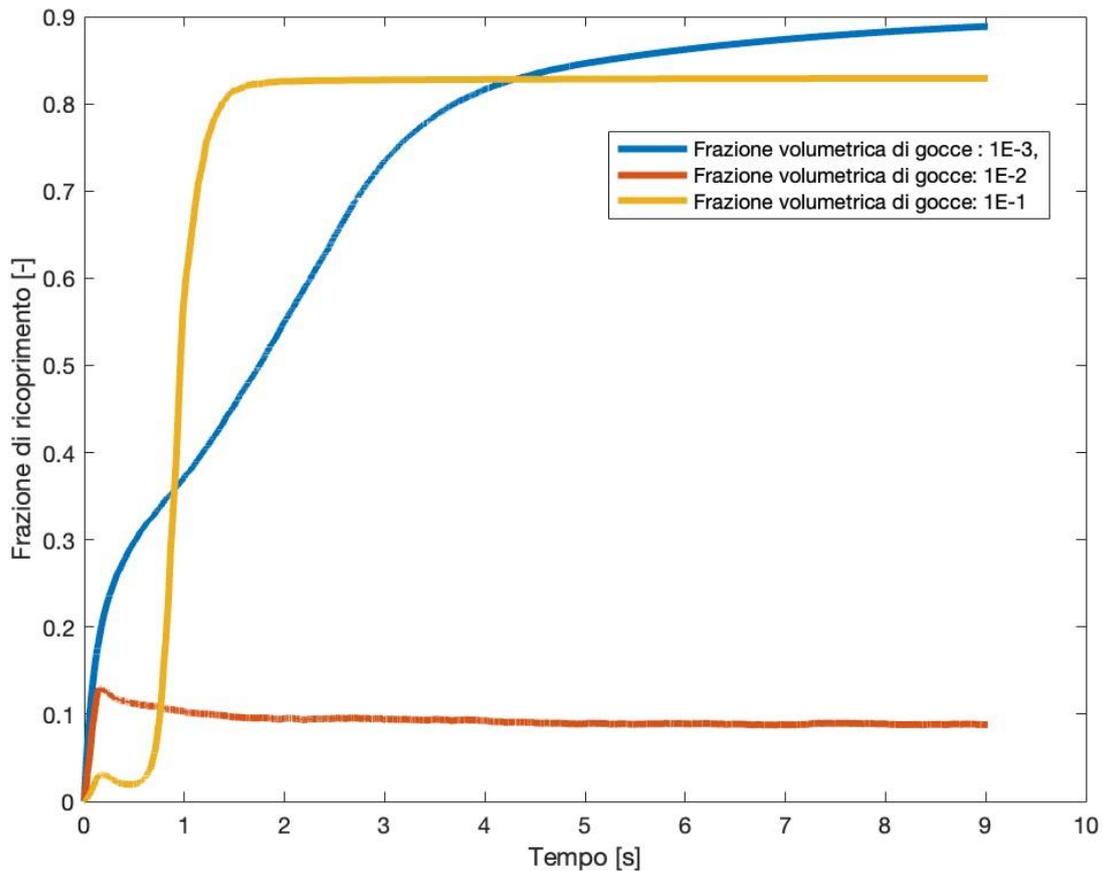


Figura 100: andamento frazioni di ricoprimento prove 2,9,10

In questo caso si è deciso di confrontare a parità di ε impostato ad un valore di $10 \text{ m}^2/\text{s}^3$, quale fosse l'effetto della frazione volumica di gocce rispetto al volume totale sull'evoluzione del campione. Come è ben visibile dai grafici di figure 99 e 100, in questo caso il parametro ha una forte influenza sull'andamento delle curve, più degli altri visti in precedenza. Si è deciso di confrontare il caso standard di frazione $1\text{E}-03$ già analizzato con valori minori. Il caso con frazione $1\text{E}-02$ presenta un andamento di diametro mai visto in altre simulazioni: dal valore iniziale di $500 \text{ }\mu\text{m}$ il valore aumenta fino a quintuplicare, per poi diminuire e infine stabilizzarsi ad un valore di circa $2000 \text{ }\mu\text{m}$. La frazione di ricoprimento massima raggiunta nel campione è la più bassa di tutte le simulazioni e fissa dopo un aumento iniziale ad un valore di circa 0,1. Al massimo di questa curva corrisponde anche il massimo della curva del diametro: a causa della bassissima ϕ , all'inizio della simulazione si dovrebbe avere una prevalenza di fenomeni di breakup, ma questo risulta in contrasto con i risultati ottenuti poiché il diametro medio delle gocce aumenta di molto, invece che diminuire. Questo però può essere spiegato dal fatto che la formazione di una nuova goccia, in termini di frazione di ricoprimento, non eccede il valore massimo ammissibile di 0,907, per cui le gocce continuano a coalescere finché il fenomeno non viene poi bilanciato da altri eventi di rottura, permettendo una stabilizzazione del diametro. Il numero di gocce finali di questa simulazione è risultato pari a 5150, più del doppio rispetto al valore iniziale. Dall'analisi degli istogrammi di questa simulazione si può notare come nel tempo la frazione

di ricoprimento si mantenga sempre molto bassa, e che con l'avanzare della simulazione si stabilizza intorno al valore finale di 0,1 poiché una grande frazione di particelle si trova in questo intervallo. Nell'ultimo istogramma si può notare come una piccola frazione di gocce abbia raggiunto il ricoprimento massimo, ma risulta in netta minoranza rispetto a tutto il campione. Si analizza infine la curva corrispondente alla frazione volumica di gocce maggiore, ovvero 1E-01. In questo caso è facilmente notabile come il diametro finale medio delle gocce si stabilizzi a valori molto elevati rispetto a quello di partenza e abbastanza rapidamente, bastano infatti circa due secondi. L'andamento è fortemente crescente con un punto di flesso prima di un secondo. Nello stesso punto si può analizzare il grafico della frazione di ricoprimento e notare come in questa sia presente un minimo. Oltre questo anche la ϕ cresce rapidamente e si stabilizza però per valori leggermente superiori a 0,8, non raggiungendo quindi in media la frazione di ricoprimento massima. Dall'analisi degli istogrammi relativi alla prova 10 (fig. 90) si può notare come inizialmente il diametro delle gocce si mantenga a valori abbastanza bassi, di circa 500-600, per poi aumentare improvvisamente. Questo è dovuto probabilmente alla bassa frazione particelle in simulazione, che non ha permesso un alto grado di ricoprimento e favorendo quindi i fenomeni di incontro; con conseguente aumento del diametro medio delle gocce poiché la formazione di queste nuove non ha mai eguagliato o ecceduto il ricoprimento massimo ammissibile. Dall'analisi degli istogrammi si può infatti notare che la frazione di ricoprimento si mantiene molto bassa per i primi momenti, per poi aumentare rapidamente verso la fine poiché questi eventi di incontro portano ad avere gocce più grandi e ricoprimenti spinti. Inoltre, di tutte le simulazioni effettuate questa è risultata l'unica a presentare un numero finali di gocce minore rispetto a quello iniziale, evidenziando come gli eventi di incontro e aggregazione siano stati preponderanti. A fine simulazione, infatti, la ϕ delle particelle è distribuita in modo omogeneo tra 0,8 e 0,84 circa.

7.1.5 SUMUP_DATA_5

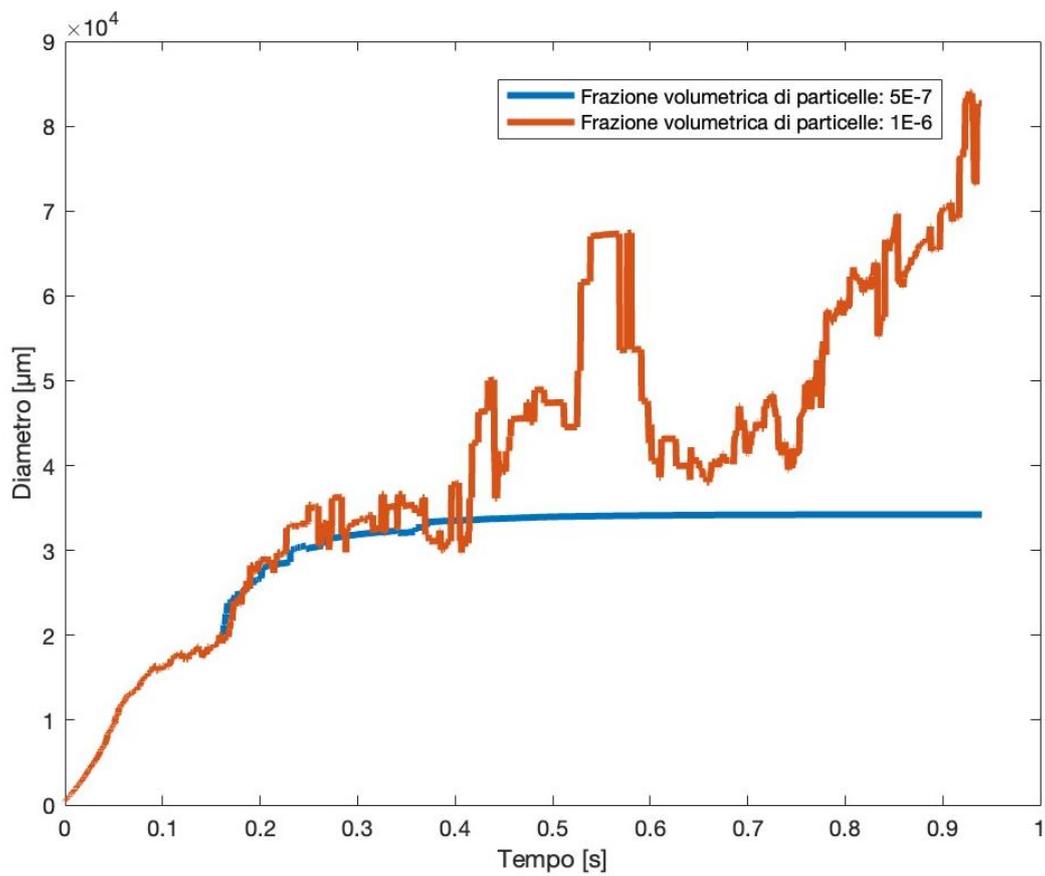


Figura 101: andamento diametri di Sauter prove 10,11

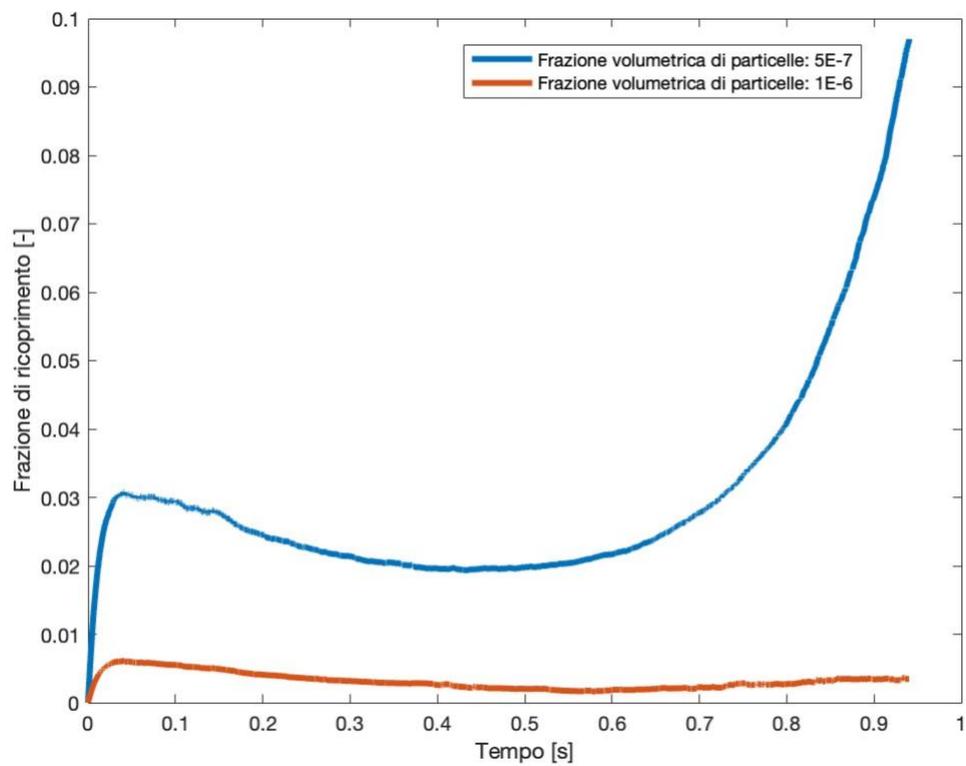


Figura 102: andamento frazioni di ricoprimento prove 10,11

L'ultima analisi effettuata ha permesso di confrontare a parità di frazione volumetrica di gocce e dissipazione dell'energia cinetica turbolenta impostate rispettivamente a $1E-01$ e $10 \text{ m}^2/\text{s}^3$ l'influenza della frazione volumetrica di particelle solide. Come osservabile dai grafici di figure 101 e 102, la simulazione 11 si è fermata autonomamente dopo un tempo più breve rispetto alle altre effettuate, per questo motivo si è fatto il confronto considerando anche per la simulazione 10 un tempo finale di circa 1 secondo avendo già descritto l'andamento completo nei grafici della prova precedente. Gli andamenti dei diametri risultano equivalenti fino ad un tempo di circa 0,2 secondi, dove l'andamento è crescente quindi inizialmente sembrano prevalere eventi di coalescenza e che quindi permettono al diametro medio di aumentare. Successivamente tra 0,2 e 0,4 secondi i valori sembrano stabilizzarsi a causa di un equilibrio tra i due tipi di eventi, seguito poi da una rapida crescita che risulta però più marcata e irregolare nel caso di frazione di particelle maggiore. Osservando gli andamenti delle frazioni di ricoprimento, questi risultano coerenti anche con gli istogrammi precedentemente descritti: in entrambi i casi i valori si mantengono molto bassi ma mentre nel caso di frazione di particelle pari a $5E-07$, la frazione di ricoprimento raggiunge anche il valore di 0,1, nell'altro caso sembra aumentare inizialmente per poi stabilizzarsi a valori minori del massimo, inferiori a 0,01.

Una quantità di particelle troppo piccola può portare ad instabilità poiché avviene coalescenza prima che si raggiunga il ricoprimento necessario alla stabilizzazione. Al contrario, se la quantità di particelle è troppo elevata possono accadere due fenomeni: le particelle stabilizzano gocce di qualsiasi dimensione immediatamente, risultando in un'elevata eterogeneità del campione; oppure, come già accennato, possono crearsi dei ponti tra diverse gocce che invece aiutano nel processo di stabilizzazione. In alcuni casi è sufficiente una piccola frazione di solido per raggiungere stabilità, ovvero nella superficie delle gocce possono crearsi zone densamente impaccate e altre meno o addirittura prive di particelle, mantenendo comunque una stabilità sufficiente.

7.1.6 CONSIDERAZIONE GENERALI

In tabella 9 vengono riportati i valori finali ottenuti per ogni simulazione di numero di gocce, diametro medio di Sauter e frazione di ricoprimento.

TEST	FINAL N DROPLETS	FINAL SAUTER DIAMETER [μm]	FINAL COVER FRACTION
1	2707	397,3	0,8807
2	3094	423,24	0,8888
3	3587	551,72	0,9069
4	4708	287,99	0
5	6184	317,59	0
6	4259	455,09	0
7	4490	330,88	0,8888
8	4220	392,39	0,2033
9	5150	2014,8	0,907
10	2048	34419,8	0,097
11	2669	68100,4	0,0035

Tabella 9: risultati numerici delle simulazioni

Per poter commentare i dati dei diametri medi in relazione agli istogrammi ottenuti (figure 75, 77, 79, 81, 82, 83, 84, 86, 88, 90, 92), è necessario fare alcune considerazioni. Il diametro diagrammato dalla simulazione è un valore medio: come già accennato vengono calcolati vari diametri equivalenti come quello di Sauter. All'inizio di ogni simulazione il valore è pari a $500 \mu\text{m}$ ma con il passare del tempo le diverse condizioni operative portano a valori finali del diametro di Sauter diversi, come si può vedere in Tabella 9. Le ultime due simulazioni presentano diametri di due ordini di grandezza maggiori rispetto alla media delle altre prove, a causa della bassa frazione volumica di olio che ha fatto prevalere gli eventi di incontro e coalescenza tra gocce.

Il numero finale di gocce ottenute permette di valutare quale dei due fenomeni, rottura o coalescenza, hanno prevalso a fine simulazione. Tutti i casi tranne la prova 10 hanno evidenziato un numero finale di gocce maggiore di quello iniziale, indice del fatto che gli eventi di rottura hanno prevalso. Tra le diverse prove, la 3 e la 9 hanno raggiunto una frazione di ricoprimento finale ottenuta è elevata, pari proprio al valore massimo raggiungibile: questa condizione è da preferire perché permette di ottenere la stabilità migliore dell'emulsione.

7.1.7 KERNEL DI BREAKUP E COALESCENZA

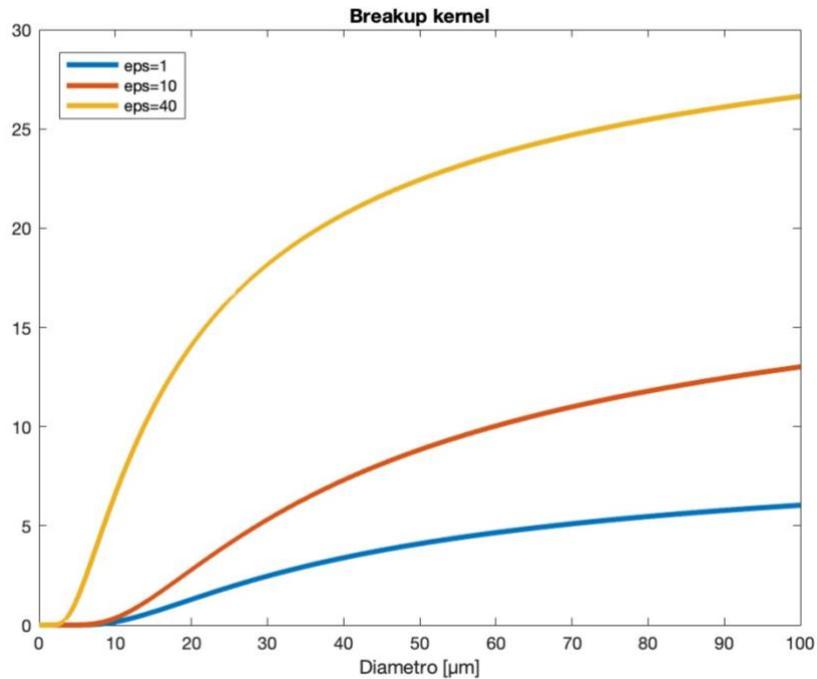


Figura 103: andamento del kernel di breakup in funzione di ε

Si è riportato in figura 103 l'andamento del kernel di breakup in funzione di valori differenti di epsilon, parametro indice della frequenza di rottura delle gocce. Nella figura si è diagrammato l'andamento di questo in funzione del diametro che è stato impostato ad un massimo di $100 \mu m$. È possibile notare come questo assuma valori maggiori all'aumentare della dissipazione dell'energia cinetica turbolenta e del diametro delle gocce, ad indicare che questa combinazione di parametri comporta una maggiore frequenza di rottura.

Nella tabella 10 sono riportati i valori dei parametri utilizzati nella formula 7.1 per il calcolo.

$$f_{brk}(D_i) = C_1 \varepsilon^{1/3} \operatorname{erfc} \left(\sqrt{\frac{C_2 \sigma}{\rho_w \varepsilon^{2/3} D_i^{2/3}} + \frac{C_3 \mu_0}{\sqrt{\rho_w \rho_o \varepsilon^{1/3} D_i^{4/3}}}} \right) \quad (7.1)$$

PARAMETRI		
Turbolent dissipation rate [m ² /s ³]	ε	1,10,40
Droplet diameter [μm]	D	100
Oil density [Kg/m ³]	ρ_o	920
Water density [Kg/m ³]	ρ_w	1000
Coalescence kernel parameter	C_0	1
Breakup kernel parameter	C_1	10
Breakup kernel parameter	C_2	7,75E-04
Breakup kernel parameter	C_3	0,2
O/W interfacial tension [mN/m]	σ	30

Tabella 10: parametri e valori numerici per il calcolo della frequenza di rottura

Per ogni simulazione si è infine calcolato il valore di frequenza totale di coalescenza e rottura per i file appena dopo l'inizio della simulazione e per il momento finale.

Mentre per il caso di rottura è stata calcolata la sommatoria sui diametri di tutte le gocce con la formula 7.1, la frequenza totale di coalescenza ha richiesto un calcolo un po' più complesso. Dalla formula:

$$f_{enc}(D_i, D_j) = c_0 \frac{1}{V} \varepsilon^{\frac{1}{3}} (D_i + D_j)^2 (D_i^{2/3} + D_j^{2/3})^{1/2} \quad (7.2)$$

si è infatti calcolata una doppia sommatoria: gli eventi di incontro implicano il coinvolgimento di due gocce, quindi, è stato necessario calcolare tutte le frequenze dei possibili incontri binari, evitando di contare due volte lo stesso incontro. Dato che in questa formula compare anche il volume del campione, sono stati ottenuti questi valori dai file di outfil e riportati nella tabella 11.

Le tabelle 12 e 13 riportano invece le frequenze totali di incontro e rottura all'inizio e alla fine della simulazione. In generale la frequenza di incontro è risultata maggiore dell'altra in tutti i casi considerati.

VOLUME	Inizio	Fine
1	1,0472E-06	2,618E-07
2	1,309E-06	3,2725E-07
3	1,309E-06	6,545E-07
4	1,309E-06	1,6363E-07
5	1,309E-06	3,2725E-07
6	1,309E-06	6,545E-07
7	1,309E-06	1,6363E-07
8	1,309E-06	3,2725E-07
9	1,309E-07	2,618E-07
10	1,309E-08	3,43E-03
11	1,309E-08	1,07E-04

Tabella 11: volumi iniziali e finali delle prove

Inizio	somma encounter	somma breakup
1	5,53E+19	5,18E+04
2	6,60E+19	6,20E+04
3	6,26E+19	5,92E+04
4	1,34E+20	6,26E+04
5	6,60E+19	6,20E+04
6	6,26E+19	5,92E+04
7	6,60E+19	6,20E+04
8	6,60E+19	6,20E+04
9	4,29E+20	4,38E+04
10	3,54E+20	3,75E+04
11	3,54E+20	3,75E+04

Tabella 12: risultati della frequenza di coalescenza e rottura all'inizio delle prove

Fine	somma encounter	somma breakup
1	5,22E+19	5,83E+04
2	5,55E+19	6,67E+04
3	5,31E+19	7,73E+04
4	3,27E+19	1,01E+05
5	1,56E+20	1,33E+05
6	8,52E+19	9,17E+04
7	8,83E+19	9,67E+04
8	8,09E+19	9,09E+04
9	2,58E+20	1,11E+05
10	2,82E+20	4,41E+04
11	7,06E+19	5,75E+04

Tabella 13: risultati della frequenza di coalescenza e rottura alla fine delle prove

8 CONCLUSIONI

Il punto di partenza del presente lavoro è stato lo studio di nuove condizioni operative numeriche e sperimentali per la realizzazione di emulsioni Pickering, le quali stanno riscuotendo sempre più successo per la formulazione di prodotti farmaceutici. In letteratura sono già stati presentati degli studi che suggeriscono l'utilizzo di curcumina come stabilizzante, grazie alla forma dei cristalli che si ottengono e soprattutto alle numerose proprietà benefiche che essa presenta. Tra i suoi principali benefici farmacologici si evidenziano l'essere un buon anti-infiammatorio e antiossidante. Studi futuri potrebbero ampliare il suo utilizzo non solo alla stabilizzazione di emulsioni, ma anche al suo inserimento in fase oleosa come principio attivo, poiché il lavoro di laboratorio ha permesso di avere una panoramica generale sull'utilizzo di questa sostanza e la sua interazione sia con fasi oleose che acquose. Per i risultati di laboratorio, è possibile affermare che gli esperimenti effettuati abbiano esaminato differenti casistiche che risultano soddisfacenti per fare delle considerazioni di carattere generale. La variazione di quantità di olio, acqua e curcumina ha permesso di ottenere emulsioni di diverso tipo e con stabilità più o meno spiccata. In generale è possibile dire che quasi tutte le emulsioni sono risultate stabili nell'immediato ma a distanza di tempo, soprattutto quelle olio in acqua, hanno presentato una netta separazione di fase in superficie. Questo è accaduto a causa della maggiore affinità della curcumina con la fase oleosa, meno densa dell'acqua e probabilmente anche con l'aria.

Sviluppi ed esperimenti successivi potrebbero investigare nuove condizioni operative e tecniche di realizzazione delle emulsioni come quelle citate nella parte introduttiva. Inoltre, sarebbe possibile investigare il fenomeno del bridging tra particelle come mostrato in figura 104, aggiungendo eventualmente in soluzione anche delle sostanze che lo favoriscano, come biopolimeri o microgels.

[3]

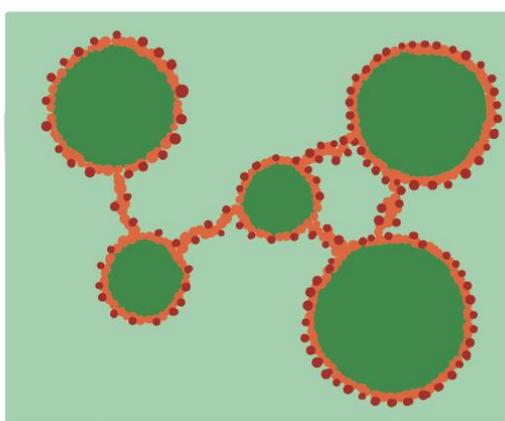


Figura 104 [riprodotta da 3]: fenomeno del bridging tra particelle favorito da sostanze come biopolimeri

I polifenoli possono interagire con le proteine attraverso legami a idrogeno e interazioni idrofobiche e ioniche. È stato infatti dimostrato che il complesso polifenoli-proteine è stabilizzato principalmente

da interazioni elettrostatiche all'interfaccia tra particelle di carica opposta, mentre meno frequenti sono i casi di stabilizzazione dovuti ai legami ad idrogeno. [2]

Da un punto di vista industriale, nessun prodotto a base di emulsioni di Pickering è ancora stato commercializzato, ma sono presenti molti brevetti. In particolare, lo scale up sia della produzione di particelle, come nel caso di cristalli, sia la tecnologia vera e propria di formazione dell'emulsione rappresentano un punto di criticità (scale up necessario). Nel caso di utilizzo di queste emulsioni per scopi farmaceutici, quindi con incapsulamento di principi attivi, sarà necessario studiare il metodo migliore per mantenere stabilità ed evitare la biodegradazione delle sostanze bioattive durante lo stoccaggio. Inoltre, le formulazioni devono essere precedentemente sterilizzate ma tecniche come filtrazione con membrane dal cut-off di $0,2 \mu\text{m}$ o mediante riscaldamento non risultano compatibili per dimensioni e natura delle particelle utilizzate. [19]

Anche le simulazioni effettuate hanno permesso di investigare un range di condizioni operative significative e di valutare andamenti che sono risultati a priori più o meno prevedibili e di facile interpretazione, permettendo quindi di raggiungere gli obiettivi prefissati. Dal punto di vista modellistico il codice potrebbe essere modificato sotto vari aspetti. Il sistema iniziale da noi considerato è una popolazione di gocce di uguale dimensione e particelle. In un sistema reale questa rappresenta una semplificazione molto approssimativa; come si è infatti visto dalle immagini al microscopio ottico le gocce ottenute sono polidisperse e differiscono in dimensioni anche di molti micrometri. Anche i cristalli ottenuti presentano distribuzioni di dimensioni abbastanza ampie, inoltre l'aggregazione spontanea di questi potrebbe formare degli agglomerati di difficile gestione se studiati come stabilizzanti di gocce di piccole dimensioni. Sempre per quanto riguarda i cristalli, dalle immagini al SEM si è visto che la loro geometria devia molto da quella sferica ideale; per questo si potrebbe pensare di ampliare il codice modellando le particelle con differenti morfologie. Il modello preso in considerazione in questo lavoro utilizza particelle di forma sferica che permettono una modellazione matematica molto più semplice, sviluppi successivi potrebbero implementare particelle come fibre, cubi, cristalli di forma varia e nanogel deformabili, con i quali è però risulta più complessa la modellazione e il calcolo dell'energia di adsorbimento. Un parametro importante che entra in gioco con geometrie non sferiche è come già accennato l'aspect ratio, ovvero il rapporto tra le due dimensioni principali (lunghezza e larghezza) delle particelle. È stato dimostrato che per mantenere una stabilità maggiore sono da preferire particelle con elevati aspect ratio, questo perché ogni singola particella può ricoprire porzioni d'interfaccia maggiori rispetto ad una geometria sferica. D'altro canto, considerando che la struttura di queste risulta più rigida, per ottenere un maggiore effetto di ancoraggio sono state studiate particelle deformabili, che meglio seguono la superficie curva della goccia ma che però presentano problemi per il calcolo dell'angolo di contatto proprio a causa della loro mutabilità nel tempo. Infine, nel nostro caso è stata considerata la formazione di un monostrato sulla superficie delle gocce, soprattutto per geometrie più allungate sarebbe ragionevole ampliare il modello considerando un meccanismo di stabilizzazione che utilizzi più strati di particelle sovrapponibili tra loro.

9 BIBLIOGRAFIA

- [1] Janssen J. and Mayer R.; *Computational Fluid Dynamics (CFD)-Based Droplet Size Estimates in Emulsification Equipment*; 2016; *Processes* 2016, 4, 50; MDPI doi:10.3390/pr4040050
- [2] Zembyla M.; Murray B.S.; Sarkar A.; *Water-in-oil pickering emulsions stabilized by an interfacial complex of water-Insoluble polyphenol crystals and protein*; 2019; <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.04.010>
- [3] Zembyla M.; Aris Lazidis A.; Brent S.; Murray B.S. and Sarkar A.; *Water-in-Oil Pickering Emulsions Stabilized by Synergistic Particle-Particle Interactions*; 2019; DOI: 10.1021/acs.langmuir.9b02026; *Langmuir* 2019, 35, 13078–13089
- [4] Frungieri G.; Briesen H.; *A population balance model for the flow-induced preparation of Pickering emulsions*; 2022; <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2022.11.037>
- [5] Vanni M.; Frungieri G.; *Aggregation and breakup of colloidal particle aggregates in shear flow: A combined Monte Carlo - Stokesian dynamics approach*; 2020; <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2021.04.076>
- [6] Abhijit A. Lonare and Sanjaykumar R. Patel; *Antisolvent Crystallization of Poorly Water Soluble Drugs*; 2013; *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, Vol. 4, No. 5, October 2013; DOI: 10.7763/IJCEA.2013.V4.321
- [7] Kempin M.V.; Matthias Kraume M.; Anja Drews A.; *W/O Pickering emulsion preparation using a batch rotor-stator mixer. Influence on rheology, drop size distribution and filtration behavior*; 2020; <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.03.103>
- [8] Tsabet È. and Louis Fradette L.; *Effect of Processing Parameters on the Production of Pickering Emulsions*; *Ind .Eng. Chem. Res.* 2015, 54,2227-2236; DOI: 10.1021/IE504338d
- [9] Gallassi M.; Gonçalves G.F.N; Botti T.C., Moura M.J.B.; Carneiro J.N.E.; Carvalho M.S.; *Numerical and experimental evaluation of droplet breakage of O/W emulsions in rotor-stator mixers*; 2019; <https://doi.org/10.1016/j.ces.2019.04.011>
- [10] Zongguang T.; Yanping H.; Quangang Z.; Wei W.; Tao Y.; Zhongjian C.; Yi L.; *Utility of Pickering emulsions in improved oral drug delivery*; ; *Drug Discovery Today* _ Volume 25, Number 11 _ November 2020; <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.09.012>

- [11] Kakran M.; Sahoo N.G.; Tan I-L.; Lin Li L.; *Preparation of nanoparticles of poorly water-soluble antioxidant curcumin by antisolvent precipitation methods*; 2012; DOI 10.1007/s11051-012-0757-0
- [12] T. P. Schulze; *Efficient kinetic Monte Carlo simulation*; 2007; doi: 10.1016/j.jcp.2007.10.021
- [13] Gauthier G., Capron I.; *Pickering nanoemulsions: An overview of manufacturing processes, formulations, and applications*; 2021; <https://doi.org/10.1016/j.jciso.2021.100036>
- [14] Zembyla M.; Murray B.S.; Sarkar A.; *Water-In-Oil Pickering Emulsions Stabilized by Water-Insoluble Polyphenol Crystals*; 2018; *Langmuir* 2018, 34, 34, 10001–10011; DOI:10.1021/acs.langmuir.8b01438
- [15] Sanphui P. and Bolla G.; *Curcumin, a Biological Wonder Molecule: A Crystal Engineering Point of View*; *Cryst. Growth Des.* 2018, 18, 5690–5711; DOI: 10.1021/acs.cgd.8b00646
- [16] Mazumdar M.; Jammoria A.S.; Shantanu R.; *Effective rates in oil-water dispersions under constant shear*; 2017; *Chemical Engineering Science, Volume 157, 2017, Pages 255-263*; <https://doi.org/10.1016/j.ces.2015.11.037>.
- [17] Ramos D.M.; Sadtler V.; Marchal P.; Lemaitre C.; Benyahia L.; Roques-Carmes T.; *Properties of non-conventional direct O/W Pickering emulsions stabilized by partially hydrophobic silica particles controlled by rotor-stator or ultrasonic emulsification*; *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2023, p. 131782; <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2023.131782> ·
- [18] Yang Y.; Fang Z.; Chen X.; Zhannng W.; Xie Y.; Chen Y.; Liu Z.; Yuan W.; *An overview of Pickering Emulsions: Solid-Particles Materials, Classification, Morphology and Applications*; 2017; *Frontiers in Pharmacology, Volume 8, Article 287*; doi: 10.3389/fphar.2017.00287
- [19] Albert C.; Beladjine M.; Tsapis N.; Fattal E.; Agnely F.; Huang N.; *Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications*; 2019; *Journal of Controlled Release*, 2019, 309, pp.302-332.; <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.07.003>
- [20] de Carvalho-Guimaraes F.; Leal Correa K.; Pereira de Souza T.; Amado J.R.R.; Ribeiro-Costa R.; Carréra Silva-Júnior J.O.; *A review of Pickering Emulsions: Perspectives and Applications* 2022; MDPI; doi: 10.3390/ph15111413

- [21] Gonzales Ortiz D.; Pochat-Bohatier C.; Cambedouzou J.; Bechalany M.; Miele P.; *Current Trends in Pickering Emulsions: Particle Morphology and Applications*; 2019; <https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.08.017>
- [22] Tsabet È and Fradette L.; *Effects of Processing Parameters on the Production of Pickering Emulsions*; 2015; *Ind. Eng. Chem. Res.* 2015, 54, 2227–2236; DOI: 10.1021/ie504338d
- [23] Sabet S.; Rashidinejad A.; Melton L.D.; McGillivray D.J.; Recent advances to improve curcumin oral bioavailability; 2021; <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.006>
- [24] Noorafshan A. and Soheil Ashkani-Esfahani S.; *A Review of Therapeutic Effects of Curcumin; Current Pharmaceutical Design*, 2013, 19, 2032-2046
- [25] Anand P.; Kunnumakkara, B.A.; Newman R.A.; Aggarwal B.B.; *Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises*; 2007; *MOLECULAR PHARMACEUTICS VOL. 4, NO. 6*
- [26] Nelson K.M.; Dahlin J.L.; Bisson J.; Graham J.; Pauli G.F.; Walters M.A.; The Essential Medicinal Chemistry of Curcumin. *J Med Chem.* 2017 Mar 9;60(5):1620-1637. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00975. Epub 2017 Jan 11. PMID: 28074653; PMCID: PMC5346970.
- [27] Prasad R. and Dalvi S. V.; Sonocrystallization: Monitoring and controlling crystallization using ultrasound, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.ces.2020.115911>
- [28] Vanni Marco; *Corso di Applied physical chemistry*
- [29] Patel, Vimal. (2016). "Numerical and Experimental Study of Droplet Generation and Coalescence using Microcapillaries in an Emulsification Process". 10.13140/RG.2.2.26624.23047
- [30] Sefiane K., Skilling J.; MacGillivray J.; *Contact line motion and dynamic wetting of nanofluid solutions*; 2007; doi:10.1016/j.cis.2007.12.003

RINGRAZIAMENTI

Per la realizzazione di questa tesi vorrei prima di tutto ringraziare i professori Elena Simone, Antonio Buffo e Fiara Artusio per la loro disponibilità e aiuto che mi hanno fornito in tutti questi mesi di lavoro. Un ringraziamento va anche alla dottoranda Giulia Del Duca, per avermi guidato in tutta la parte sperimentale.

Vorrei ringraziare la mia famiglia per aver sempre creduto in me e per avermi supportata in tutte le mie scelte per quanto lontane da casa o difficili fossero. Sarò sempre grata di tutto quello che avete fatto per me e per avermi permesso di diventare la persona che sono oggi.

Ringrazio per il costante supporto le mie amiche di Ancona Letizia, Matilde, Viola, Simona, Valentina ed Elena. Nonostante gli anni e le diverse scelte che ci hanno tenute distanti so di poter sempre contare su di voi, siete i miei punti di riferimento da più di dieci anni e per sempre lo sarete.

Ringrazio la mia prima amica torinese Vittoria, per essermi stata vicina in questi cinque anni e per avermi sempre spronata a crescere sotto tanti aspetti. Grazie a Denise per la gioia e spensieratezza che sei sempre stata in grado di trasmettermi.

Un ultimo grazie speciale a tutti gli amici e le amiche che ho incontrato in questo percorso al Politecnico per i tanti momenti felici che abbiamo passato insieme, mi lasceranno per sempre un bel ricordo di questi anni.