



**Università  
degli Studi  
di Palermo**

AREA QUALITÀ, PROGRAMMAZIONE E SUPPORTO STRATEGICO  
SETTORE STRATEGIA PER LA RICERCA  
U. O. DOTTORATI

Civil, Environmental and Materials Engineering  
Dipartimento di Ingegneria  
Scienza e Tecnologia dei Materiali

**SVILUPPO DI SISTEMI CON STRUTTURE COMPLESSE A BASE  
BIOPOLIMERICA REALIZZATI ATTRAVERSO PROCESSI  
COMBINATI IN MULTI- O IN ONE-STEP**

IL DOTTORE  
**ING. EMMANUEL FORTUNATO GULINO**

IL COORDINATORE  
**PROF.SSA ANTONINA PIRROTTA**

IL TUTOR  
**PROF. ROBERTO SCAFFARO**

EVENTUALE CO TUTOR  
**ING. ANDREA MAIO**

CICLO XXXIV  
ANNO CONSEGUIMENTO TITOLO 2022

# Indice

1	Introduzione .....	4
1.1	Generalità sui biopolimeri e green composites .....	5
1.2	Green composites .....	10
1.3	Dispositivi a base biopolimerica con strutture complesse .....	12
1.4	Processi e tecniche di lavorazione dei materiali biopolimerici .....	15
1.5	Principali applicazioni per materiali biopolimerici con strutture complesse .....	30
1.5.1	Ingegneria tissutale .....	30
1.5.2	Rilascio controllato .....	31
1.5.3	Sequestro di inquinanti nelle acque .....	32
1.5.4	Smart packaging .....	33
1.5.5	Sensing .....	34
2	Stato dell'arte e scopo del lavoro .....	35
2.1	Processi combinati per la fabbricazione di sistemi a base biopolimerica .....	35
3	Scopo del lavoro .....	47
4	Materiali e metodi .....	49
4.1	Caratterizzazioni .....	49
4.1.1	Caratterizzazione Morfologica .....	49
4.1.2	Image processing .....	49
4.1.3	Caratterizzazione Meccanica .....	50
4.1.4	Prove di flessione .....	51
4.1.5	Caratterizzazione Reologica .....	51
4.1.6	Test di bagnabilità .....	52
4.1.7	Analisi superficiali FT-IR .....	52
4.1.8	Test di rilascio di farmaci .....	53

4.1.9	Modello Peppas-Korsmeyer.....	53
4.1.10	Test di rilascio di fertilizzanti .....	54
4.1.11	Viscosità intrinseca .....	55
4.1.12	Test di assorbimento olio .....	56
4.1.13	Capacità di assorbimento .....	56
4.1.14	Riutilizzabilità delle membrane .....	57
4.1.15	Modellazione teorica Halpin-Tsai.....	57
4.2	Processi di produzione .....	59
4.2.1	Solvent casting .....	59
4.2.2	Electrospinning .....	60
4.2.3	Melt mixing.....	61
4.2.4	Compression molding .....	62
4.2.5	Estrusione.....	63
4.2.6	Fused deposition modeling (FDM).....	63
5	Risultati e discussione.....	66
5.1	Dispositivi per il trattamento delle ferite cutanee: Metodo di processo two-steps per la realizzazione di un dispositivo drug-release multistrato.....	66
5.2	Dispositivi per il trattamento delle ferite cutanee: Metodo di processo one-step per la realizzazione di un dispositivo drug release con struttura graduata.....	80
5.3	Dispositivo per la rimozione di inquinanti: Elaborazione e confronto di processi one-step e two-steps per il controllo della porosità su nanofibre coassiali .....	98
5.4	Studio preliminare sulla processabilità per FDM dei green composites.....	115
5.5	Dispositivi green: Stampa per FDM di green composites con cariche ottenute da scarti agricoli o marini per la realizzazione di dispositivi con strutture customizzabili a basso impatto ambientale.....	130
5.6	Studio sulla degradazione idrolitica di green composites a base di PLA e farina di Posidonia Oceanica.....	144
5.7	Dispositivi green: Valorizzazione di scarti agricoli autoctoni per l'ottenimento di green	

composites con strutture customizzabili attraverso FDM.....	153
5.8 Dispositivi green: strutture customizzabili attraverso FDM per il rilascio di fertilizzanti 162	
6 Conclusioni .....	180
7 Bibliografia .....	182

## 1 Introduzione

I dispositivi biopolimerici con strutture complesse hanno di recente riscosso un particolare interesse della comunità scientifica. Questi, infatti, sono caratterizzati da funzioni e proprietà molto diverse e consentono di fabbricare dispositivi ad hoc, utilizzabili in svariati campi di applicazione

L'elaborazione di strutture complesse richiede percorsi di produzione con processi o trattamenti eseguiti in più step (trattamenti chimici, fisici, utilizzo di additivi ecc.). Tuttavia, tali percorsi oltre ad essere lenti e laboriosi, spesso richiedono costi elevati. Un'alternativa può essere la possibilità di sfruttare le tecnologie di processo e materiali esistenti creando nuove combinazioni con l'obiettivo di avere una sinergia e, allo stesso tempo, un controllo dell'effetto delle variabili sulle proprietà dei materiali lavorati.

Diversi lavori scientifici, negli ultimi anni, hanno evidenziato che, nonostante i materiali biopolimerici con strutture complesse siano di interesse notevole [1]–[5], le opere che analizzano in profondità i metodi di elaborazione combinata, per ottenere tali strutture, con particolare riferimento alle relazioni tra struttura, proprietà e variabili operative sono molto poche.

I principali campi di applicazione delle strutture complesse sono:

- i) bonifica ambientale (ad esempio trattamento delle acque, rimozione degli inquinanti [6] [7]);
- ii) salute umana (ad esempio somministrazione di farmaci e rilascio controllato, rigenerazione tissutale [8], [9]).
- iii) altri materiali e applicazioni *smart* (ad esempio imballaggi intelligenti [5]) e applicazioni biotecnologiche (ad esempio immobilizzazione di cellule o enzimi per l'intensificazione del bioprocessi [10] [11]).

Naturalmente, combinando tecnologie diverse si processano insieme materiali differenti spesso incompatibili tra loro. Tuttavia, se la compatibilizzazione ha successo, si possono ottenere dispositivi finali con proprietà uniche. Allo stesso modo, l'idea del presente progetto è quello di indagare sistematicamente sulla possibilità di integrare sinergicamente due o anche più tecniche di elaborazione esistenti, creando nuovi percorsi tecnologici che possano consentire di ottenere dispositivi con specifiche proprietà richieste da specifiche applicazioni.

## ***1.1 Generalità sui biopolimeri e green composites***

I biopolimeri appartengono alla categoria dei cosiddetti *bio-based materials*, ossia materiali organici nei quali il carbonio deriva esclusivamente da risorse biologiche rinnovabili. Più specificatamente, per biopolimero si intende un materiale polimerico estratto direttamente o prodotto indirettamente da biomassa. Tali materiali non sono necessariamente commestibili, né obbligatoriamente del tutto biodegradabili, secondo le definizioni ufficiali, ma il loro principale vantaggio consiste nella facilità con cui possono essere eliminati (compostabili) e nel basso impatto ambientale legato al non depauperamento di risorse energetiche non rinnovabili [12].

In questo lavoro di tesi, utilizzeremo la definizione più ampia di biopolimeri, inserendo in questa categoria anche quei polimeri che pur non essendo ottenuti da fonti rinnovabili, possono entrare in contatto con tessuti e organi ed essere riassorbiti senza produrre scarti tossici o pericolosi per il soggetto.

Si è soliti associare ai biopolimeri i concetti di biodegradabilità e di compostabilità. Spesso la solubilità in acqua è erroneamente considerata sinonimo di biodegradabilità e la biodegradabilità sinonimo di compostabilità [13].

La *biodegradabilità* è la decomposizione di una sostanza organica per azione di microrganismi ed enzimi presenti in natura. Si parla di biodegradazione completa o mineralizzazione quando la sostanza organica è degradata fino a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, sali minerali e altri prodotti a basso peso molecolare. L'arco temporale della biodegradazione è connesso a molteplici fattori quali: temperatura, umidità ossigenazione e concentrazione di microrganismi ed enzimi ed è, di conseguenza, difficilmente quantificabile.

La *compostabilità* è la possibilità di controllare artificialmente i parametri che influenzano la biodegradabilità, al fine di aumentare la velocità in regime di condizioni controllate in apposite strutture destinate a tale funzione. I requisiti richiesti dalla normativa vigente in materia di compostabilità consentono, di fatto, di discriminare tra materiali biodegradabili e compostabili. Si può comprendere per quale ragione un materiale biodegradabile può, di fatto, non degradarsi completamente in un tempo breve. È inoltre importante sottolineare che, mentre alcuni biopolimeri possono essere biodegradabili, non tutti i materiali biodegradabili derivano da sostanze naturali.

A seconda dell'origine, i biopolimeri sono classificati in tre principali categorie (Figura1).

1. Polimeri direttamente ottenuti da fonti naturali, vegetali o animali. Per esempio,

polisaccaridi, come amido e cellulosa, o proteine, come caseina e glutine.

2. Polimeri prodotti per via sintetica a partire da monomeri bio-derivati. Per esempio, il polilattato, un bio-poliestere ottenuto da acido lattico di fermentazione.
3. Polimeri ottenuti da microrganismi anche geneticamente modificati. Per esempio, il pullulano e molti poliesteri non aromatici come i poliidrossialcanoati.

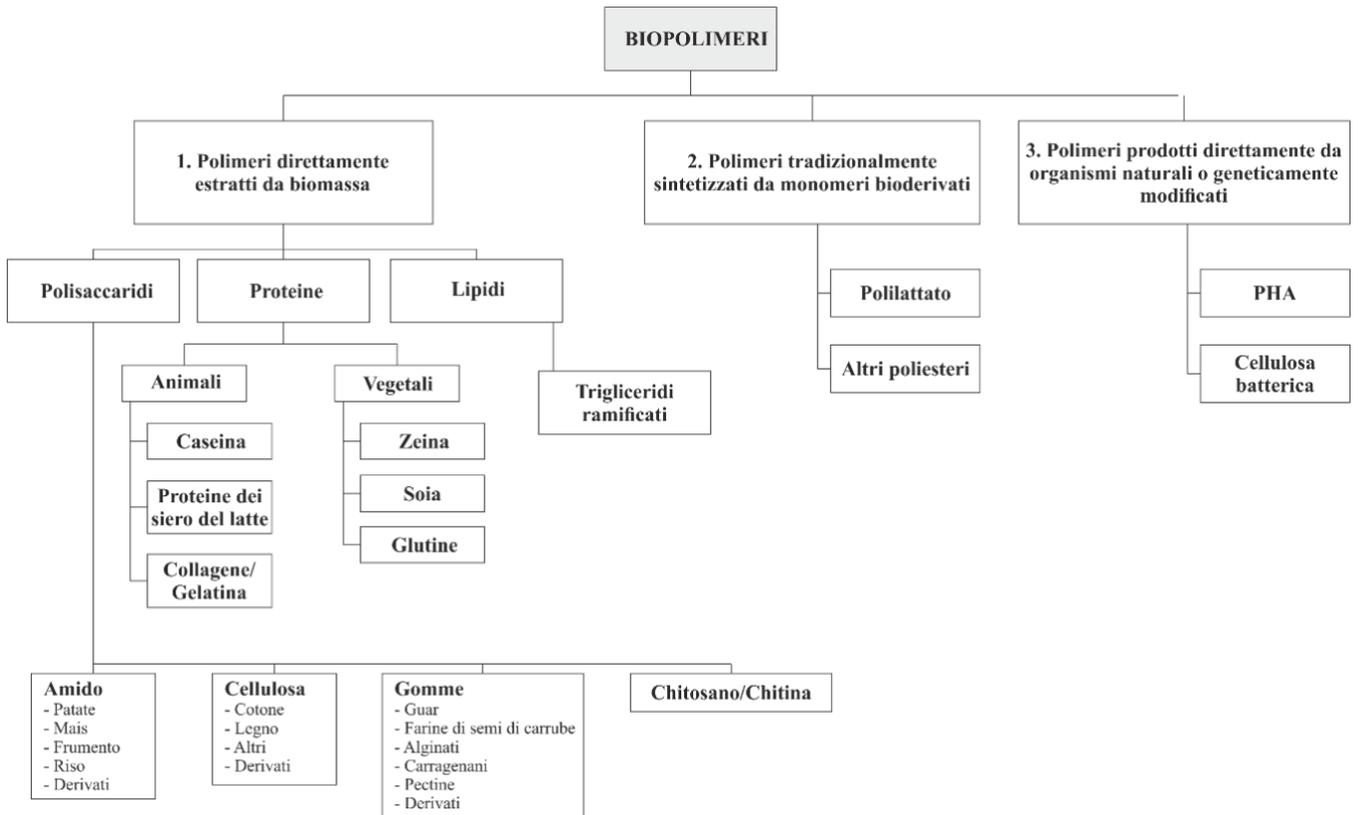


Figura 1 Principali tipologie di biopolimeri.

I biopolimeri più ampiamente investigati sono estratti principalmente da piante o animali. Ne sono esempio polisaccaridi come cellulosa, amido, pectine e chitine e proteine come caseina, proteine del siero, collagene e proteine della soia. Per loro natura, molti di questi polimeri sono sensibili all'umidità e talvolta cristallini, caratteristiche all'origine di problemi di performance e processabilità [14].

L'acido polilattico (PLA) è uno dei più investigati per via delle sue proprietà chimico/fisiche. Il PLA è un poliesteri termoplastico, alifatico, biocompatibile e riassorbibile, di origine naturale, ottenuto sia dalla condensazione diretta dell'acido lattico (acido 2-idrossipropionico) che dalla

polimerizzazione di apertura dell'anello (*Ring Opening Polymerization, ROP*) del dimero ciclico lattide.

Tale materiale ha suscitato grande interesse negli ultimi anni grazie alla sua possibilità di trovare impiego sia come sostituto di tradizionali termoplastiche nell'ambito dell'industria del packaging, sia come materiale biocompatibile/bioassorbibile nel campo medico. La materia prima per la sintesi di acido lattico viene prodotta dalla fermentazione e dalla sintesi chimica da carboidrati. L'acido lattico possiede un atomo di carbonio centrale asimmetrico con due configurazioni otticamente attive, gli isomeri L(+) e D(-). Mediante il processo di fermentazione è possibile produrre esclusivamente un PLA costituito dall'isomero L(+) che permette di ottenere un polimero cristallino, mentre per via chimica si ottiene solo la forma racema che dà origine ad un prodotto praticamente amorfo. Il PLA omopolimero ha una Tg di ~ 55 °C e una Tm di ~ 175 °C e per essere lavorato richiede temperature operative che devono superare i 185-190 °C. A queste temperature si verificano reazioni di idrolisi che favoriscono la perdita di peso molecolare e degradazione termica limitando notevolmente la finestra di processo di tale materiale [15]. In Tabella 1 sono elencate le principali caratteristiche fisiche del PLA.

Tabella 1 Principali proprietà del PLA

<i>Proprietà</i>	<i>Unità di misura</i>	<i>Valore</i>
Densità	g/cm <sup>3</sup>	1.21-1.43
Temperatura di transizione vetrosa	°C	50-80
Temperatura di fusione	°C	130-180
Modulo elastico di Young	MPa	350-2800
Resistenza a trazione	MPa	10-60
Assorbimento di acqua	%	0.5-5

L'alcol polivinilico (PVA) è un polimero sintetico, facilmente ottenibile attraverso la polimerizzazione dell'acetato di vinile seguita dall'idrolisi dei gruppi acetato. È ampiamente utilizzato per diversi campi d'applicazione, dall'alimentazione alla medicina [16]. Negli ultimi tempi, il PVA ha attirato molta attenzione nelle applicazioni biomediche grazie alle sue proprietà uniche come la solubilità in acqua, la promettente biodegradabilità e l'eccellente biocompatibilità (Figura 2) [16]. Tra tutte le potenziali applicazioni in questo campo, il rilascio controllato di farmaci è una delle più studiate [18].

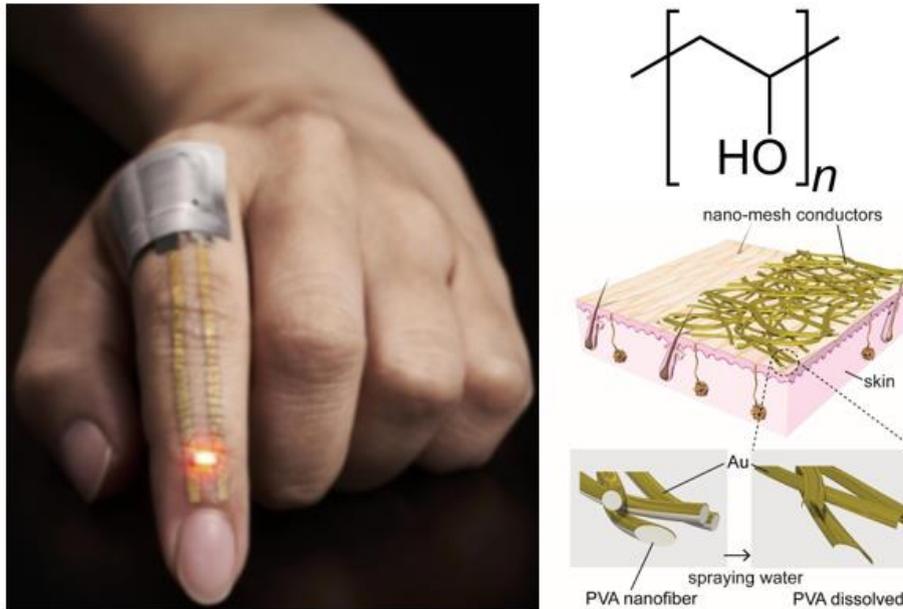


Figura 2 Dispositivo di monitoraggio cutaneo per l'idratazione mediante biosensore in PVA [18]

Il Mater-Bi® è un'innovativa famiglia di bioplastiche biodegradabili e compostabili, prodotte utilizzando materie prime rinnovabili d'origine vegetale e materie prime fossili (nei casi in cui non esista ancora un equivalente d'origine naturale) totalmente biodegradabili. Il Mater-Bi®, venduto sotto forma di granuli, può essere lavorato attraverso i normali impianti produttivi utilizzati per le plastiche tradizionali per portare alla produzione di film, termoformati, espansi, profili estrusi, stampati a iniezione (Figura 3) [19].



Figura 3 sacchetto e posate in Mater-Bi

Il glicole polietilenico (PEG) o ossido di polietilene (PEO) o poliossietilene (POE) è un polimero preparato per polimerizzazione dell'ossido di etilene; è il polietere che riveste la maggiore importanza commerciale per volumi di produzione e applicazioni. È un biopolimero ampiamente studiato in diversi settori scientifici e tecnologici per via delle sue proprietà uniche. Il PEG è composto dalla ripetizione di etilene ossido (Figura 4 a). Una delle sue principali applicazioni è nell'ambito del rilascio controllato di farmaci per via della sua solubilità sia in solventi polari che apolari. A differenza della maggior parte dei biopolimeri sintetici il PEG è idrofilico e viene spesso impiegato per aumentare l'idrofilicità di altri polimeri sia in miscela sia come copolimero. Questa caratteristica viene ampiamente utilizzata per aumentare l'adesione e la proliferazione cellulare in supporti per l'ingegneria tissutale e per prevenire l'adsorbimento di proteine denaturate sulla superficie dei supporti porosi per le applicazioni *in-vivo* [20].

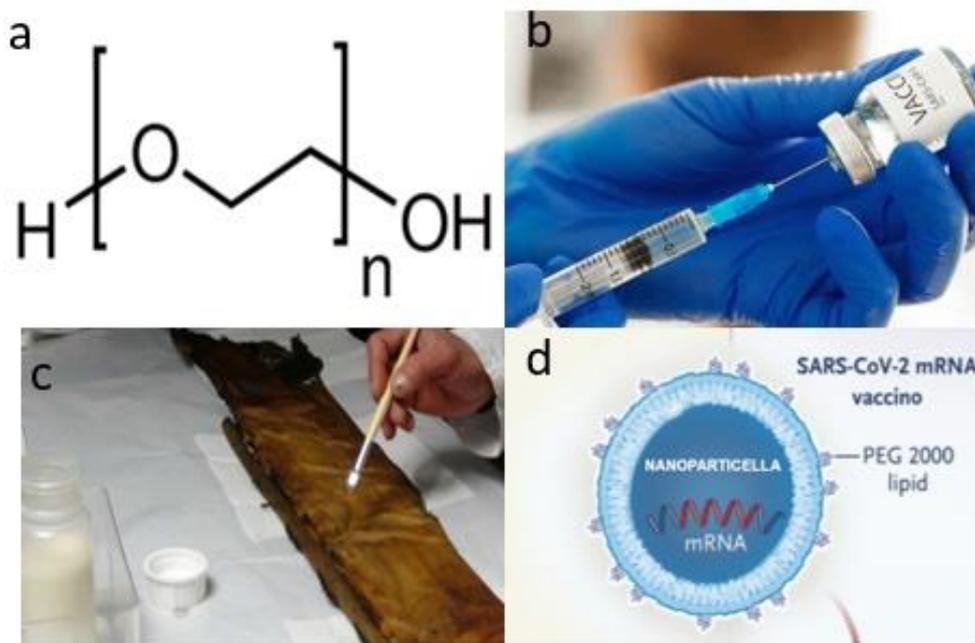


Figura 4 Struttura del PEG a); Vaccino Moderna Inc. con stabilizzante a base di PEG b-d); reperto ligneo trattato con PEG c)

Sebbene le sigle PEG, PEO e POE siano riferite tutte e tre al glicole polietilenico, generalmente tali sigle si utilizzano per riferirsi a miscele polimeriche di glicole polietilenico aventi pesi molecolari medi differenti, in particolare: POE: peso molecolare medio minore di 20.000 g/mol; PEG: peso molecolare medio di 20.000 g/mol; PEO: peso molecolare medio maggiore di 20.000 g/mol. L'assenza di tossicità del PEG ne permette l'uso in campo farmaceutico[21]. Moderna inc. ha utilizzato il polietilenglicole come stabilizzatore delle nanoparticelle lipidiche nel vaccino anti Sars-

CoV-2 mRNA (Figura 4 b, d) [22]. Inoltre, il PEG è stato utilizzato sin dagli anni Sessanta come consolidante per reperti lignei archeologici ritrovati sott'acqua o in ambienti umidi (Figura 4 c) [23].

## ***1.2 Green composites***

A causa dell'inquinamento ambientale e la limitata disponibilità di risorse fossili, negli ultimi anni, sono state ricercate delle valide alternative al carbone fossile, individuate in particolare nello sviluppo di materiali sostenibili ottenuti da risorse rinnovabili.

I green composites sono stati presi in considerazione come possibile soluzione ai problemi ambientali. Nel campo dei biocompositi e delle bioplastiche la sostituzione dei polimeri derivati da fonti fossili con biopolimeri usati come costituente della matrice del composito, ha permesso di diminuire l'impatto ambientale e di promuovere lo sviluppo sostenibile.

I compositi verdi vengono definiti come dei materiali prodotti da matrice e carica di origine organica rinnovabile, e di conseguenza totalmente biodegradabile.

Prima di sviluppare tali compositi, sono state rinforzate, con riempitivi naturali, le matrici polimeriche, riducendo i costi delle materie prime e aggiungendo vantaggi quali la loro biodegradabilità e riciclabilità. Inizialmente le principali matrici polimeriche utilizzate per la produzione di compositi verdi erano di origine fossile [22], caricate con riempitivi naturali. Il polietilene (PE) è stato caricato con molti tipi di riempitivi, come ad esempio le fibre naturali di legno, fibre ricavate dall'amido di mais e dall'amido di riso e fibre naturali di kenaf. Alcune ricerche hanno utilizzato polietilene riciclato (RPE), come ad esempio HDPE da contenitori per alimenti e fibre di legno, o HDPE da bottiglie di latte e fibre di legno.

Generalmente i materiali derivati dal petrolio non sono totalmente biodegradabili [25] e quindi i compositi realizzati a partire da questi non saranno definiti come compositi verdi. L'utilizzo di polimeri derivati dall'industria petrolchimica ha prodotto e rilasciato significative quantità di gas serra nell'atmosfera [26]. La conseguenza di tale impatto ambientale è sicuramente l'aumento della concentrazione di CO<sub>2</sub> in atmosfera, nonché la principale causa del cambiamento climatico atmosferico e del surriscaldamento globale. Nel 2019 è stato infatti registrato il valore record di concentrazione media mondiale di CO<sub>2</sub> presente nell'atmosfera, che ha raggiunto e superato la concentrazione di 410 ppm [27] e tale valore è in continua crescita.

Con l'interesse di ridurre quindi l'impatto ambientale dei polimeri derivati dal petrolio, sono stati recentemente considerati e valutati polimeri interamente ricavati da risorse rinnovabili. In altri campi, le bioplastiche ricavate da risorse rinnovabili negli ultimi anni sono state realizzate, oltre che per uno

sviluppo sostenibile ed eco-friendly, soprattutto per favorire il sequestro e la rimozione di CO<sub>2</sub> dall'atmosfera.

Avendo accesso a materie prime come scarti agricoli e biomasse, si realizzano matrici polimeriche e riempitivi da risorse biologiche rinnovabili e naturali. In tal modo si promuove uno smaltimento di rifiuti ecologico e senza ulteriori inquinamenti ambientali da emissioni in atmosfera. Nel campo delle bioplastiche, compositi realizzati da matrice biopolimerica, rinforzati con riempitivi naturali, sono compositi verdi. Come tali possono essere smaltiti o trasformati in compost alla fine della loro vita e del loro utilizzo [28], [29] senza danneggiare l'ambiente. Ciò detto era impossibile con i compositi tradizionali in fibre sintetiche, che risultano più difficili da smaltire.

Al fine di migliorare le proprietà dei biopolimeri puri, come il PLA, si utilizzano dei riempitivi particellari o fibrosi per la realizzazione di compositi green. Per produrre un composito *green*, sia la matrice che il rinforzo dovranno essere interamente ottenuti a partire da risorse organiche rinnovabili. Da un punto di vista economico e ambientale si traggono dei benefici quali la rivalorizzazione di rifiuti organici agricoli o marini, la produzione di materiali ad elevata sostenibilità, senza i problemi di smaltimento tipici dei compositi prodotti da polimeri di derivazione petrolchimica e fibre sintetiche. La realizzazione di prodotti a base di riempitivi naturali sfrutta il minor costo della materia prima, rispetto all'utilizzo delle fibre sintetiche. Altri vantaggi dei riempitivi naturali sono: il basso consumo energetico, elevata disponibilità e biodegradabilità, elevata rigidità ed un ampio range di proprietà e caratteristiche che variano in relazione alle fibre naturali impiegate [23], [24], [26].



*Figura 5 Esempi di cariche e applicazioni dei green composites, a) raccolta di fibre di Juta b) pannello con matrice polimerica e carica naturale c) strato di Juta utilizzato come filler d) pannelli per automotive in green composites [23], [24], [26]*

### 1.3 Dispositivi a base biopolimerica con strutture complesse

I dispositivi a base biopolimerica con strutture complesse sono una classe emergente di materiali che attualmente trovano applicazione in molti campi, tra cui la medicina rigenerativa, la somministrazione di farmaci, l'intensificazione dei bioprocessi, l'elettrochimica, i tessuti, l'imballaggio intelligente, il rilevamento, la desalinizzazione, i processi di filtrazione [6]–[11]. In letteratura scientifica sono state descritte numerose tipologie di strutture complesse, tuttavia, in questo lavoro, l'attenzione verrà focalizzata sulle strutture a gradiente e sulle strutture gerarchiche.

La versatilità dei dispositivi biopolimerici a struttura complessa è data da due caratteristiche fondamentali che sono:

1. Il controllo della struttura (dimensioni, morfologia, forma, architettura);
2. La capacità di legare (in modo covalente o meno) e / o incorporare oggetti di dimensioni diverse (dalle nanoparticelle alle macromolecole biologiche, fino a cellule intere) e caratteristiche fisico-chimiche (farmaci organici, inorganici, idrofobi, idrofili, anfoteri, biologicamente attivi).

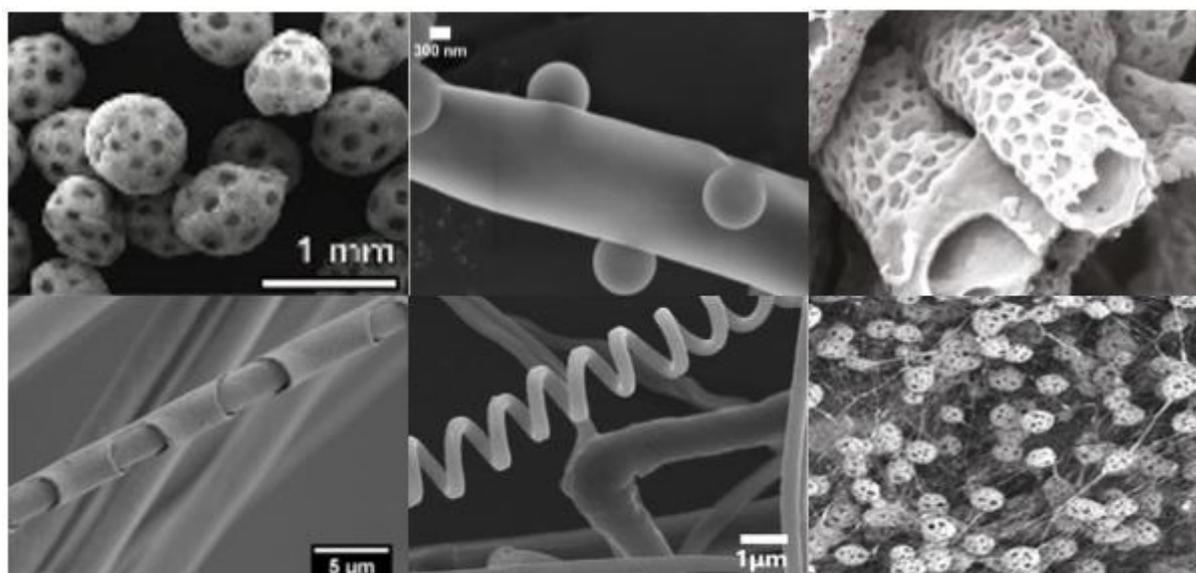


Figura 6 Immagini SEM di nanofibre e nanosfere con strutture complesse

Le strutture complesse sono state perseguite in vari modi per oltre un decennio, combinando capacità e prestazioni al fine di ottenere versatilità, integrazione ed efficienza [30] – [33]. Questi sforzi sono spesso motivati dal desiderio di creare un dispositivo che abbia proprietà non ottenibili da un singolo processo o da un singolo materiale. Tali materiali possono svolgere più di una funzione “primaria”

contemporaneamente o in sequenza nel tempo e cercare di ottenere un miglioramento complessivo delle prestazioni. Ad esempio, i materiali con struttura a gradiente godono di una morfologia ben definita che varia lungo il volume di tutto il dispositivo. Tale morfologia concede al dispositivo variazioni discrete o uniformi di una data proprietà. Tra questi i materiali funzionalizzati a gradiente FGMs, (*Functionally Graded Materials*) [33] sono una classe di materiali ingegnerizzati, caratterizzati da variazioni di proprietà lungo l'intero volume del dispositivo (figura 7). Le proprietà complessive degli FMG sono uniche e molteplici, diversi da ogni singolo materiale che lo forma. Questi materiali possono essere progettati per funzioni e applicazioni specifiche.

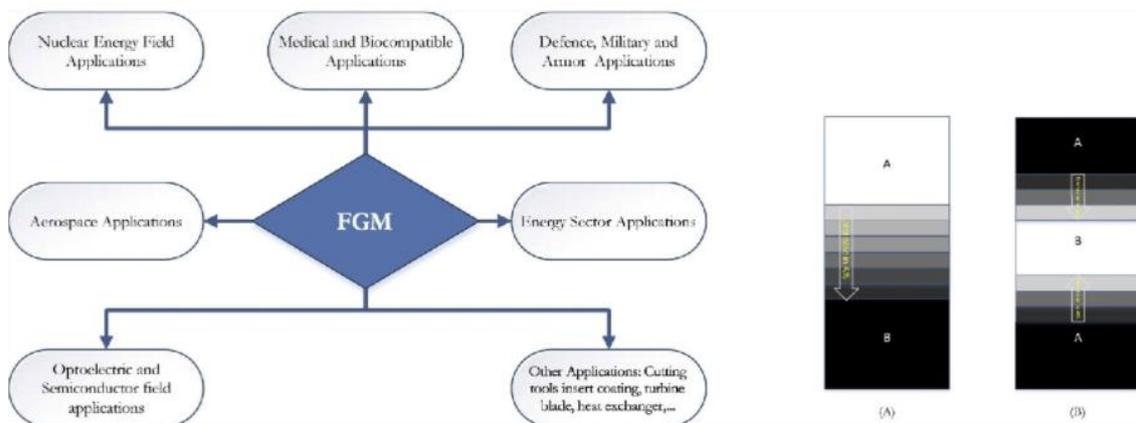
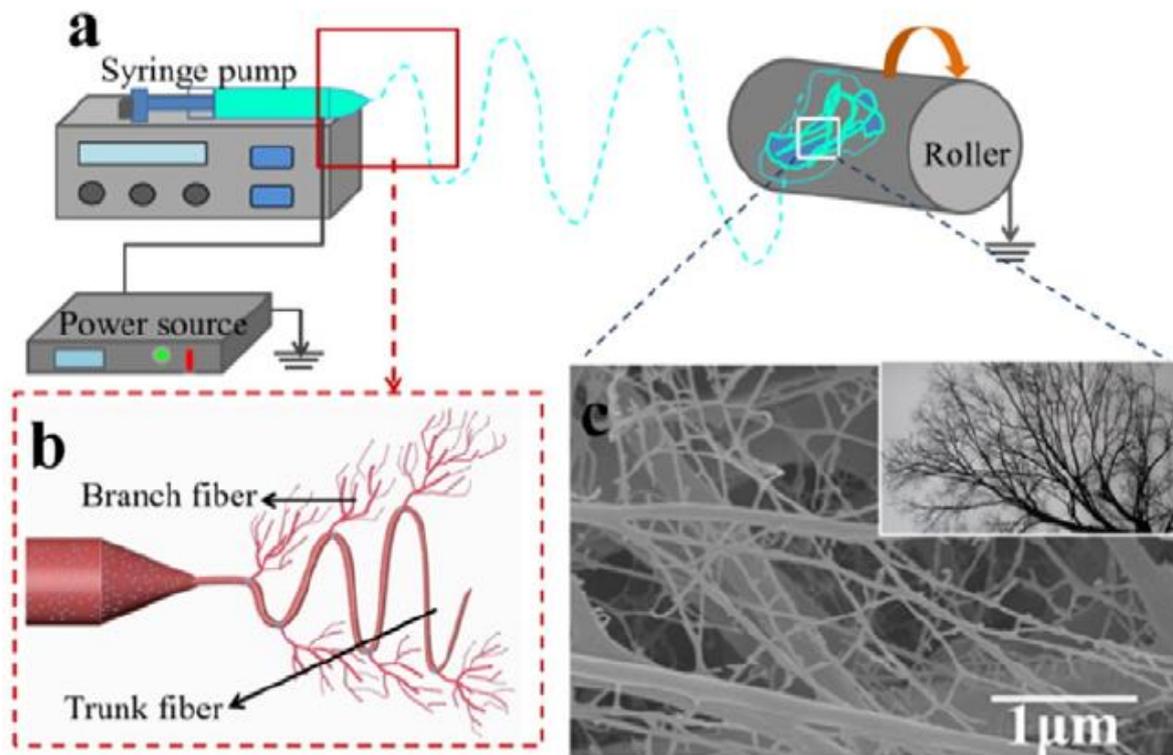


Figura 7 campi d'applicazione e illustrazione di struttura a gradiente [34]

I materiali con struttura gerarchica sono quei materiali i cui elementi costitutivi sono organizzati in strutture multiscala [34]. L'ispirazione per lo studio e l'impiego dei materiali gerarchici nasce dal campo biologico e dalla natura (figura 8) [35], in cui si trovano numerosi esempi di come complessi materiali compositi, strutturati in determinate geometrie e forme, presentino specifiche caratteristiche di multifunzionalità, resistenza meccanica, self-organisation e environmental responsiveness.



*Figura 8 Elettrospinning di nanofibre con struttura gerarchica*

Le proprietà che contraddistinguono questi materiali sono il prodotto di un'efficace interazione tra gli elementi di diversa scala che li compongono, e dell'effettiva geometria e struttura di ciascun livello.

#### ***1.4 Processi e tecniche di lavorazione dei materiali biopolimerici***

In questo capitolo verranno esposti alcuni tra i più comuni metodi di lavorazione e modifica dei materiali biopolimerici. In particolare, verranno descritti i processi più comuni per l'ottenimento di strutture complesse, con particolare riferimento ai trattamenti e le tecniche di elaborazione utilizzati durante il corso del dottorato di ricerca.

##### *Electrospinning*

Il passaggio da fibre macroscopiche a fibre con diametri dell'ordine dei nanometri (nanofibre) gioca un ruolo importante nella possibilità di ottenere strutture ad alte prestazioni: peso ridotto, elevata resistenza meccanica, notevole area interfacciale. Ciò permette a tali fibre di ricoprire un ruolo chiave in diversi campi delle scienze applicate.

La dimensione del diametro finale della nanofibra, la sua orientazione intrinseca, la grande varietà di morfologie ottenibili, così come la possibilità di inglobare molecole di interesse tecnologico all'interno delle fibre, rappresentano caratteristiche fondamentali, governate da specifici parametri e condizioni al contorno. Tali caratteristiche sono difficilmente ottenibili con processi classici come ad esempio: la filatura a secco e a umido e l'evaporazione a secco, le quali sfruttano forze meccaniche o termiche. L'elettrofilatura da questo punto di vista ricopre un ruolo unico per ottenere strutture fibrose con diametri anche nanometrici.

Le apparecchiature di elettrofilature convenzionali prevedono il pompaggio di una soluzione o fuso polimerico attraverso un ago fino a formare una goccia. Applicando un potenziale elettrico fra l'ago e il collettore, solitamente compreso fra i 10 kV e i 30 kV, viene generata una carica sulla superficie della goccia. Le forze elettrostatiche deformano la soluzione/fuso fino a formare un cono (cono di Taylor, (Figura 9) generando un flusso liquido diretto verso il collettore.

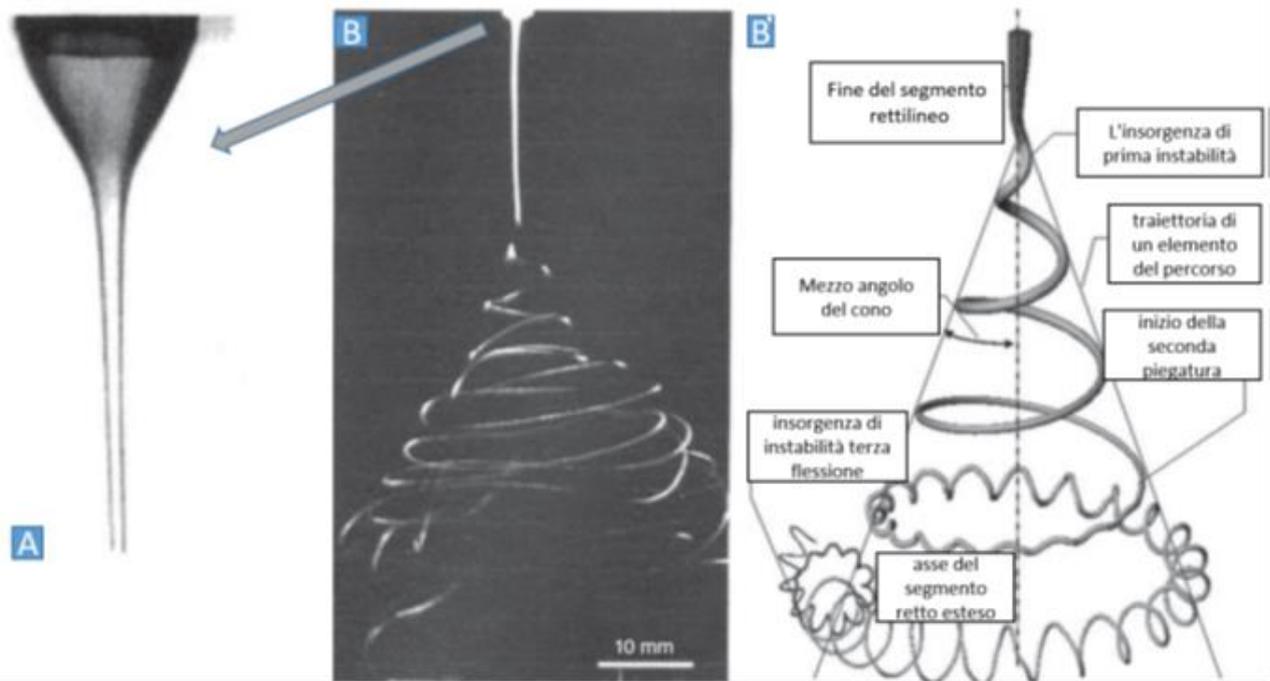
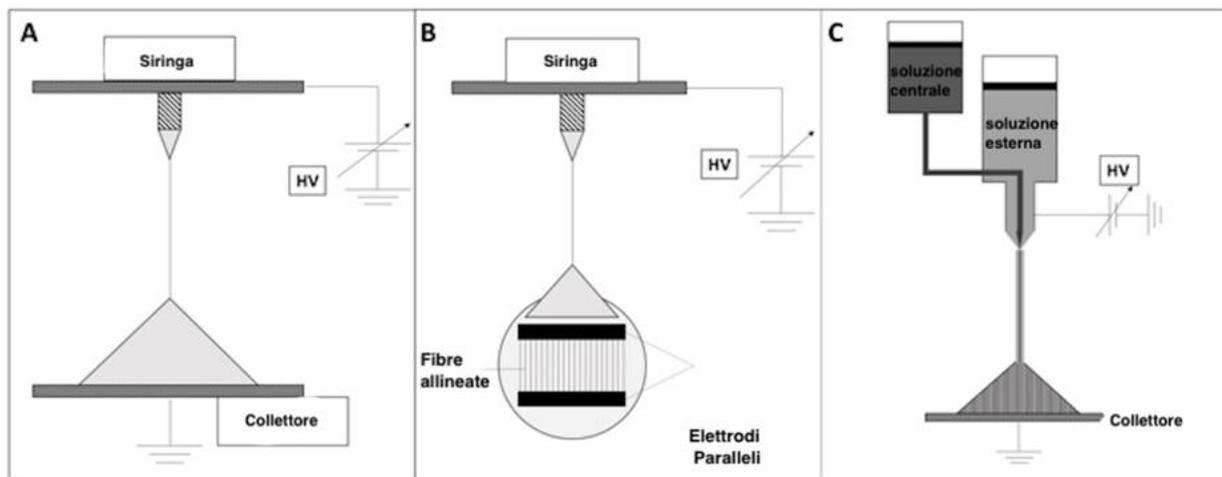


Figura 9 (a) Rappresentazione del cono di Taylor, con segmento rettilineo non interessato da fenomeni di distorsione. (b) disposizione spaziale della fibra durante il processo di filatura e (b') disegno schematico che mostra una sequenza di piegature e instabilità

Durante il percorso in aria, il flusso subisce uno stiramento accompagnato dall'evaporazione del solvente o, nel caso di fusi, dal raffreddamento che porta alla formazione delle micro/nanofibre solide che si vanno stratificando sul collettore formando uno strato di tessuto non tessuto. Le principali variabili legate alla soluzione/fuso sono la sua viscosità, la tensione superficiale e la sua conducibilità. I principali parametri del processo invece sono la tensione applicata, la distanza fra capillare e collettore, la portata in uscita e la temperatura.

Le possibili configurazioni per i collettori variano a seconda delle applicazioni: per le membrane costituite da fibre orientate casualmente si utilizzano collettori statici Figura 10 a; per ottenere fibre allineate si ricorre a collettori rotanti (in questo caso la velocità di rotazione gioca un ruolo fondamentale nel determinare il grado di anisotropia) oppure elettrodi paralleli Figura 10 b.



*Figura 10 Rappresentazione schematica delle più comuni configurazioni del processo di elettrofilatura: a) collettore statico; b) collettore ad elettrodi paralleli; c) configurazione per la formazione di fibre core-shell*

Mediante l'utilizzo di un ago coassiale collegato con due diverse siringhe è possibile ottenere fibre con una configurazione core-shell costituita da due fasi diverse (Figura 10 c).

Le peculiari proprietà delle strutture elettrofilate permettono di trovare applicazioni in diversi settori tecnologici. Una delle principali caratteristiche risiede nell'elevatissima area interfacciale esposta da questo tipo di sistemi, le fibre del diametro di un capello (circa  $50\ \mu\text{m}$ ) mostrano una superficie specifica di circa  $0.1\ \text{m}^2/\text{g}$ , fibre di  $10\ \text{nm}$  di diametro possono mostrare superfici persino superiori ai  $300\ \text{m}^2/\text{g}$ . Inoltre, la resistenza delle fibre cresce in modo inversamente proporzionale al diametro delle fibre seguendo il criterio di Griffith[36]. Questo perché al diminuire del diametro delle fibre, la loro resistenza comincia a dipendere dai difetti superficiali che sono statisticamente meno frequenti, al diminuire della superficie per unità di lunghezza della fibra stessa. Per cui se si confrontano fibre di  $50\ \mu\text{m}$  e di  $10\ \text{nm}$  vedremo che queste hanno una resistenza maggiore di un fattore 1000 [36]. Terzo elemento che rende le membrane elettrofilate adatte ad applicazioni avanzate è l'elevata interconnessione fra i pori le cui dimensioni dipendono fortemente dal diametro delle fibre stesse. La possibilità di modulare la dimensione dei pori è di fondamentale importanza nel settore dei filtri per il particolato, l'aerosol ecc. Queste proprietà modificano anche le dinamiche di transito di gas e liquidi all'interno di queste strutture. Tutti questi sono aspetti che hanno un importante impatto sulle applicazioni finali di questi dispositivi.

Tessuti non tessuti ottenuti per elettrofilatura sono altamente porosi (fino al 99,9 %) e quindi vengono investigati come filtri per la rimozione di particelle solide o liquide da un flusso costituito da gas o liquidi. La filtrazione dell'acqua è un tema centrale per tutto il sistema mondiale. La filtrazione

dell'aria trova applicazioni negli impianti industriali come le centrali elettriche. Per questi sistemi la possibilità di ottenere materiali che mostrino elevate aree interfacciale e di cruciale importanza perché permette di realizzare dispositivi con una efficienza che arriva sino al 99,9% [36], [37].

Sia nella letteratura scientifica sia in settori industriali c'è un crescente interesse nell'uso di membrane elettrofilate per la separazione selettiva di composti organici dall'acqua. Tale interesse è basato principalmente sulle proprietà fisiche e meccaniche uniche delle membrane elettrofilate, l'elevata area superficiale e le dimensioni ridotte dei pori. Queste proprietà consentono alle nanofibre di essere idonee alla creazione di numerose tecnologie per varie applicazioni, in particolare nella rimozione di petrolio dall'acqua [35].

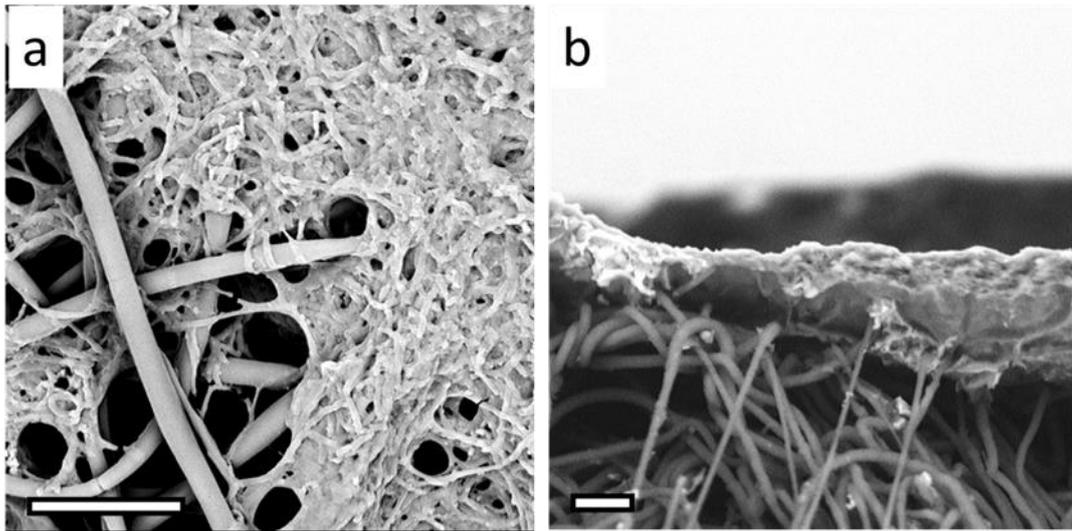
I materiali assorbenti, come le nanofibre, possono immobilizzare l'olio versato creando una rete, impedendo così la dispersione dell'olio. Le nanofibre sono in grado di assorbire il petrolio e di espellere l'acqua a causa delle loro caratteristiche idrofobiche e lipofile [38]. L'olio immobilizzato viene intrappolato all'interno delle nanofibre e crea strutture semisolide. Le nanofibre possono essere compresse per rilasciare l'olio ed essere quindi riutilizzate o smaltite.

Il meccanismo di assorbimento di olio da adsorbenti è dovuto a diversi meccanismi quali adsorbimento, assorbimento e azione capillare o alle combinazioni di questi processi. Tuttavia, il meccanismo di assorbimento per un assorbente nanofibroso poroso è controllato in modo significativo dall'adsorbimento e dall'azione capillare [39]. Per questi sistemi un'azione di adsorbimento fa sì che l'olio sia fisicamente intrappolato sulla superficie della fibra, quindi, l'olio riempie i vuoti che esistono tra le fibre. Successivamente, per mezzo di un'azione capillare, l'olio tra i vuoti di fibra si diffonde nella struttura interna dei pori delle fibre lungo le estremità delle fibre [37]. Esistono vari fattori che possono influire sull'efficienza della rimozione dell'olio da parte delle nanofibre. Questi fattori possono essere dovuti alle caratteristiche delle nanofibre o del liquido circostante. Le caratteristiche delle nanofibre comprendono la selettività dell'assorbimento tra olio e acqua, la superficie specifica, la ruvidità della superficie, la galleggiabilità, l'angolo di contatto assorbente, la tensione superficiale e la viscosità della soluzione di filatura [38].

Molti dei tessuti naturali mostrano un'orientazione cellulare ben definita come nel caso dei muscoli o dei nervi. In questi casi la possibilità di allineare le fibre dei sistemi elettrofilati offre un vantaggio unico perché la loro struttura nanometrica è in grado di guidare la crescita delle cellule orientandole come un binario. Un altro fattore determinante è l'elevatissima porosità dei sistemi elettrofilati che agevola il passaggio di nutrienti e metaboliti in tutta la struttura. Bisogna inoltre considerare che la

maggior parte dei tessuti naturali mostra un gradiente naturale delle proprietà. Queste possono essere di natura chimica, o fisica o entrambe. In questo caso la possibilità di ottenere strutture porose con un gradiente delle proprietà attraverso l'elettrofilatura strato su strato offre una soluzione semplice e vantaggiosa per affrontare il problema. Altro requisito chiave per le strutture porose nel settore dell'ingegneria tissutale è la resistenza meccanica. La cartilagine richiede strutture con un modulo elastico di circa 120 MPa, la pelle 15-150 MPa. Le membrane elettrofilate mostrano proprietà meccaniche che rientro nei range necessari per questa applicazione. In questo settore le soluzioni polimeriche sono ampiamente studiate per diverse ragioni. Una delle principali è quella di aumentare la biocompatibilità delle membrane mediante l'uso di un biopolimero naturale mantenendo elevate le prestazioni meccaniche con una fase costituita da biopolimeri di origine sintetica [42]–[44]. Per via dell'elevata affinità con cellule viventi, le membrane elettrofilate sono state studiate anche come sistemi per l'intensificazione dei bioprocessi [42], [43].

Per intensificazione di bioprocesso si intende la possibilità di aumentare la resa in termini di attività metabolica da parte di microorganismi sia nel caso in cui essi producano metaboliti utili come ad esempio antibiotici, sia in termini di attività biodegradatrice. Recenti studi hanno dimostrato che sistemi elettrofilati a base di PLA incrementano la resa della produzione di actinorodina, un antibiotico ampiamente utilizzato in campo medico, da parte di ceppi batterici appartenenti alla famiglia degli *Streptomyces coelicolor* (Figura 11). La resa risulta incrementata fino al 500% rispetto il metodo di coltura convenzionale nel caso di utilizzo di membrane di PLA tal quale. L'incremento risulta ulteriormente raddoppiato se le membrane subiscono un trattamento al plasma d'aria. Gli autori del lavoro attribuiscono l'incremento alla natura nanostrutturata delle membrane in grado di svolgere una doppia azione. Da un lato offrire un supporto solido ai batteri evitando fenomeni di anossia dovuta alla formazione di pellet, dall'altro alla capacità delle membrane di adsorbire l'actinorodina prodotta riducendone il contatto con i batteri stessi [43].



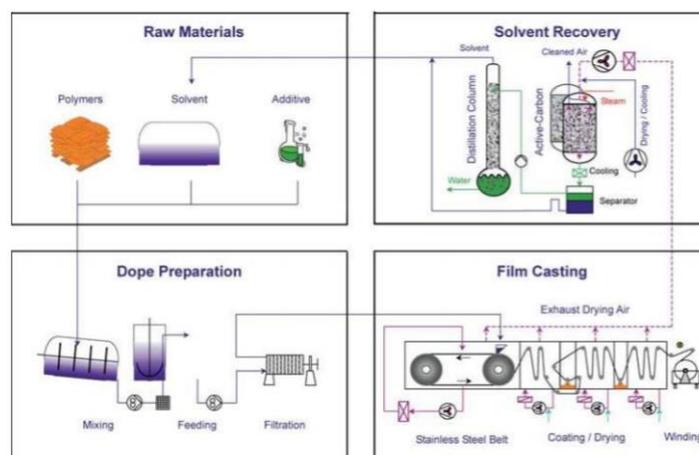
*Figura 11 - Immagini al SEM di a) S. coelicolor che aderiscono e avvolgono le fibre di PLA b) sezione trasversale dello stesso sistema (scale bar 6  $\mu\text{m}$ ) [45]*

È stata dimostrata anche l'efficacia di intensificazione di bioprocesso su diversi ceppi di batteri alcanodegradatori. I risultati mettono in evidenza che i batteri aderiscono alla membrana di PLA elettrofilata e che la loro capacità degradativa risulta incrementata fino al 30% rispetto ai metodi di coltura convenzionale [42]. Per questi sistemi, ancora di frontiera, non si trova uno studio condotto sulle miscele polimeriche sebbene alcuni lavori lo proponano su sistemi porosi tridimensionali ottenuti per lisciviazione selettiva di particelle costituiti da una matrice in PCL e PEG [46,47]. Un'applicazione tipica delle membrane elettrofilate è il trattamento delle ferite cutanee dovute a ustioni o abrasioni. Diverse ricerche mostrano che questo tipo di ferite guariscono più rapidamente e con meno complicazioni se trattate con sottili strati di membrane biopolimeriche nanostrutturate. Una delle ragioni principali risiede nella dimensione dei pori, tali da assicurare lo scambio di liquidi e gas ma tali da prevenire l'ingresso di batteri dall'esterno. Un altro importante è la buona adesione che le membrane elettrofilate hanno sulle ferite. Inoltre, la possibilità di rendere queste membrane bioattive attraverso la semplice miscelazione in soluzione con agenti terapeutici le rendono particolarmente adatte a questo tipo di applicazioni. Infatti, la struttura nanofibrillare di queste membrane promuove la rigenerazione della pelle e agevola il contatto con l'agente medicale, controllandone anche la cinetica di rilascio nel tempo. Come nel caso dell'ingegneria tissutale, anche per questa applicazione i biopolimeri di origine sintetica e naturale vengono ampiamente utilizzati per ottenere membrane con elevata biocompatibilità e alte prestazioni meccaniche [47], [48].

## *Solvent casting*

Questa tecnologia è stata la principale metodologia adottata per la produzione di film a partire da soluzione [49]. Di recente, ha trovato una nuova vita per la produzione di film ad elevato valore aggiunto o con sistemi di additivi che non sono compatibili con processi nel fuso (quando la temperatura di fusione del materiale supera quella di decomposizione). Le applicazioni "speciali" e quindi costose compensano gli elevati costi legati alla gestione e allo smaltimento dei solventi coinvolti nel processo. Il solvent casting permette di lavorare polimeri che per vie tradizionali (da fuso) sarebbero non trattabili. Inoltre, è possibile filmare solo i polimeri che soddisfano alcuni requisiti:

- intervallo di solubilità tale da permettere alla soluzione di avere viscosità adatta a formare una pellicola (le finestre di solubilità molto spesso sono strettissime, basta la variazione di un solo parametro per portare alla separazione di solido vanificando l'intero processo);
- siano solubili in un solvente volatile
- capaci di formare una soluzione stabile
- riescano a consentire la formazione del film e il suo rilascio (distacco) dal supporto preposto allo scopo (se l'interazione solvente-substrato o polimero-substrato è troppo elevata il distacco del film dal sostegno porterà al danneggiamento del prodotto finale).



*Figura 12 schema di processo industriale del film casting [49]*

Nella figura 12 è mostrata l'unità centrale del processo di solvent casting. Il sistema è costituito da un nastro trasportatore collegato a due rulli che girano a una velocità nota e costante. La soluzione da filmare viene spalmata sul nastro attraverso un piccolo battente. Contemporaneamente, in controcorrente, viene insufflata dell'aria in modo da agevolare il più possibile l'eliminazione del solvente grazie all'alta forza spingente. Per la produzione di un film regolare è fondamentale il controllo dell'evaporazione del solvente. Tale controllo prevede uno scambio di materia e di calore con il fluido di rimozione che investe il film in formazione in controcorrente. Il sistema in controcorrente, in generale, è il metodo più efficiente per mantenere costante la forza spingente di scambio [49].

Il trascinamento avviene nella direzione del nastro. L'essiccamento deve essere graduale al fine di evitare la formazione di pellicole solide sulla superficie che fungerebbero da veri e propri sigilli per il solvente sottostante. Questo perché l'essiccamento avviene per diffusione del solvente dal bulk della soluzione verso l'esterno. Per ottenere un film con qualità superficiale adeguata, l'essiccamento va condotto seguendo diverse fasi che consentano al solvente di diffondere efficacemente verso la superficie del film prima di allontanarsi definitivamente.

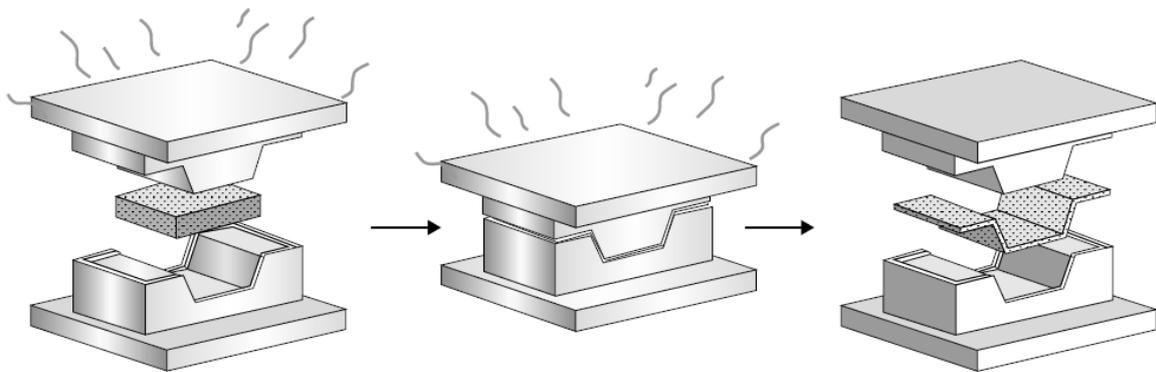
In particolare, il processo prevede due stadi di essiccamento:

1. il primo direttamente dal nastro trasportatore (da un solo lato);
2. un secondo dopo la rimozione del film dal supporto (da entrambi i lati).

Per agevolare il distacco (*detouch, strip-off*) del film dal supporto, si può procedere ad un brusco raffreddamento. Il film così ottenuto può quindi essere avviato agevolmente al secondo stadio di essiccamento a doppia faccia, adottando eventualmente gli stessi accorgimenti utilizzati nella prima fase.

### *Compression molding*

Lo stampaggio a compressione è una delle tecniche di lavorazione più comuni per fabbricare prodotti compositi a base biopolimerica. Tradizionalmente, a partire dall'inizio del XX secolo, il processo di stampaggio a compressione è stato utilizzato per lo stampaggio di polveri termoindurenti (es. fenoliche e alchidiche) e gomme. In particolare, questo processo ha visto una crescita notevole (dai primi anni '50) nelle applicazioni automobilistiche e nella produzione di elettrodomestici [50]. Ad esempio, la prima applicazione di polimero rinforzato con fibra di vetro nell'industria automobilistica è il pannello frontale della GM Corvette che è stata sviluppata nel 1953. Nel processo di stampaggio a compressione, la quantità di materiale desiderata è posta tra gli stampi superiore e inferiore. Il materiale, quindi, viene formato nella sua forma finale premendo lo stampo come illustrato in Figura 13.



*Figura 13 fasi di stampaggio nel compression molding*

Il processo di stampaggio a compressione è composto da quattro fasi fondamentali:

1. Preparazione e posizionamento del materiale polimerico: una pila di materiale di stampaggio viene posizionato nello stampo caldo. Questo materiale è chiamato precarica o, semplicemente, carica. Le dimensioni di precarica sono selezionate per coprire circa il 50% della superficie dello stampo. La posizione della precarica nello stampo è un fattore chiave che influisce sulla qualità del pezzo poiché influenza l'orientamento della fibra, la formazione della linea di maglia e il vuoto contenuto.
2. Chiusura stampo: una volta inserita la precarica nello stampo, lo stampo superiore si sposta rapidamente verso il basso per toccare la superficie superiore del materiale di precarica. Quindi, lo stampo superiore continua a scendere lentamente (di solito a 5-10 mm/s) per comprimere la precarica. Man mano che aumenta la chiusura dello stampo aumenta la pressione di stampaggio e il materiale

di precarica scorre per riempire la cavità dello stampo e fa fuoriuscire l'aria attraverso i bordi di taglio o le prese d'aria. La velocità di chiusura e la temperatura di processo sono fattori chiave che influiscono sulle prestazioni del processo e sulla qualità del prodotto.

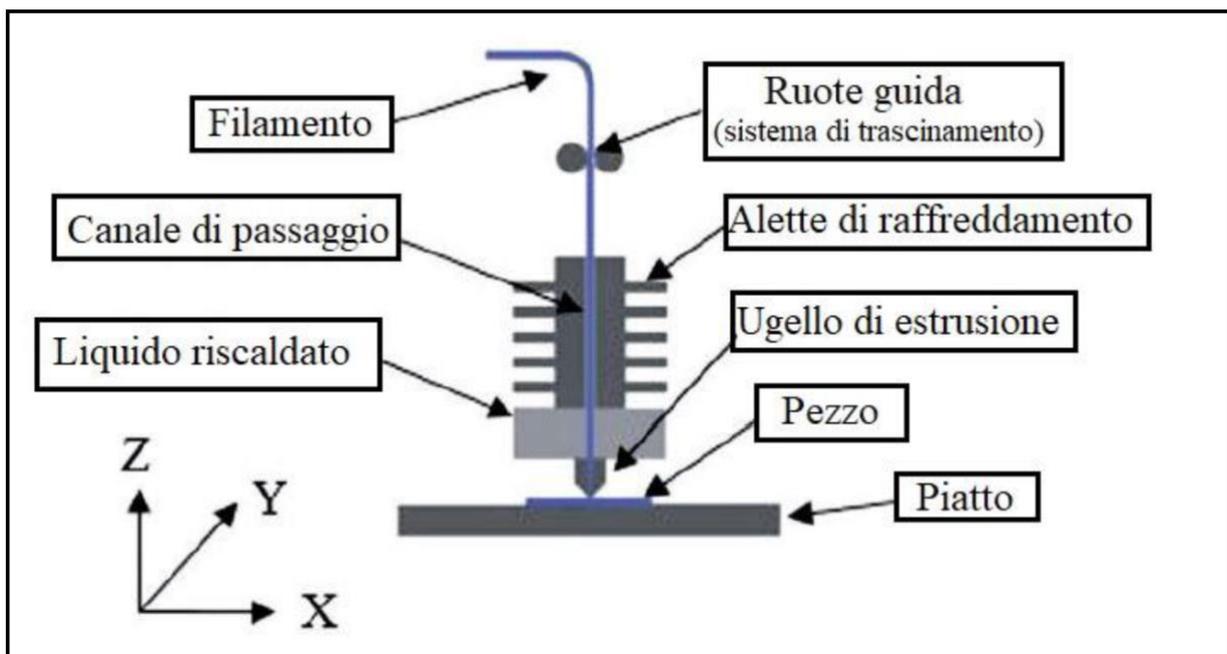
3. Indurimento: lo stampo viene mantenuto chiuso mentre viene mantenuta la pressione di stampaggio per un periodo di tempo prestabilito. Il tempo di indurimento dipende dalla formulazione della miscela di resina, dallo spessore del pezzo e dalla temperatura.

4. Rilascio della parte: una volta il materiale è solidificato è rimosso dallo stampo con l'ausilio di un sistema di espulsione. Quindi, il sistema viene raffreddato all'esterno, successivamente si procede con le operazioni di pulizia per la lavorazione successiva.

Molti prodotti a base biopolimerica utilizzano materiali a basso costo come riempitivi. Idealmente il riempitivo viene aggiunto in una concentrazione che consente al prodotto di mantenere una sufficiente resistenza meccanica, o ancora meglio, di migliorarne le proprietà. Alcuni riempitivi possono la stabilità termica, proprietà meccaniche, ottiche ecc. I riempitivi comuni includono argilla, talco, calcare macinato, nerofumo, polvere di marmo, vetro, carta, farina di legno e metallo e vengono aggiunti in concentrazioni comprese tra il 10% e il 50% (in peso). Per migliorare la biodegradabilità, i riempitivi a base biologica stanno ricevendo una maggiore attenzione. Gli esempi includono il legno farina, zucchero di canna, lignina, lino, erbe aromatiche, bambù, amido, piume di pollo, proteine di soia e cellulosa. Questa tendenza è coerente con le recenti normative che privilegiano l'approvvigionamento dei materiali con contenuto biologico significativo cercando di aumentare il livello di biobased del 50% nel corso dei prossimi decenni.

### *Fused Deposition modeling*

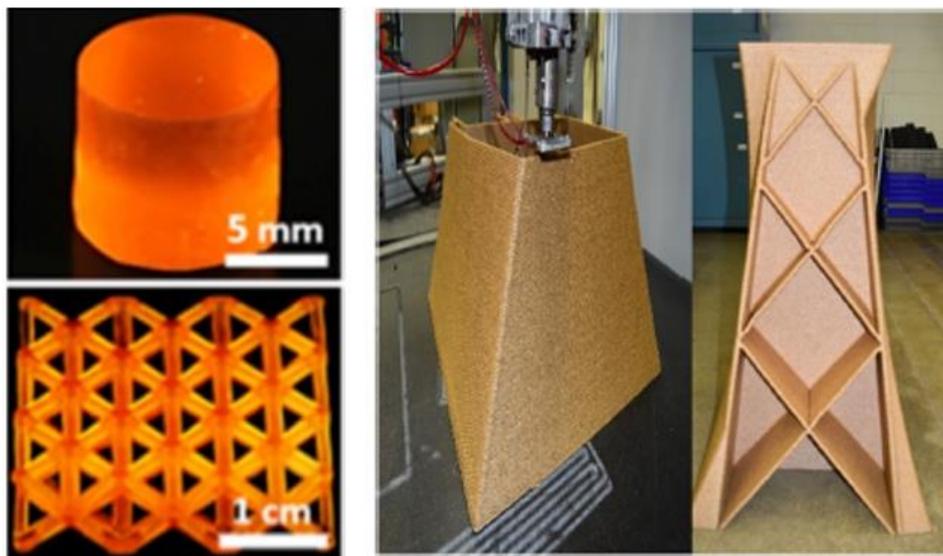
Le tecnologie di stampa tridimensionale sono diventate sempre più elaborate e differenti. Uno dei sistemi di stampa più veloci e più economici è quello della modellazione a deposizione fusa (*Fused Deposition Modeling*, (FDM)). I processi di stampa 3D sono delle tecniche di manifattura, e seguono delle fasi preliminari di prototipazione e modellazione 3D tramite progettazione assistita (*Computer Aided-Design*) (CAD). Successivamente viene realizzato un modello contenente tutte le informazioni geometriche del pezzo, che viene così elaborato e prodotto dalla stampante 3D [51]. Alcuni software aiutano questa fase di produzione dei modelli 3D, permettendo anche la simulazione del processo di stampa. Il metodo della stampa 3D, con la quale si produce il materiale secondo la geometria prevista ed elaborata dai software, è una tecnologia strato dopo strato (*layer-by-layer*). Una tra le più importanti possibilità che la stampa 3D possiede rispetto ad altre tecnologie è quella di progettare e realizzare pezzi con geometrie e forme complesse.



*Figura 14 componenti di un sistema di stampa FDM*

La Figura 14 esplicita un sistema semplice di FDM. Questa tecnologia utilizza filamenti di materiale, tipicamente di diametro pari a 1,75 mm, che vengono estrusi attraverso un ugello. Un sistema di trascinamento muove il filamento di materiale termoplastico, portandolo in una camera dove viene riscaldato ad una temperatura prestabilita. Il trascinamento del filo spinge il materiale presente nella

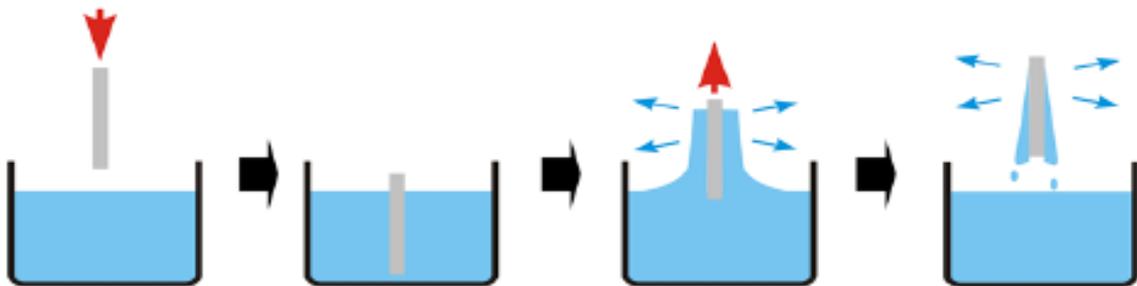
camera riscaldata attraverso l'ugello di estrusione e lo deposita sul piatto secondo la geometria progettata. La deposizione del primo strato avviene sul piatto riscaldata, in modo tale da non fare raffreddare drasticamente il pezzo. Dopo il primo strato, il secondo si depositerà sul primo, il terzo sul secondo e così via. Per geometrie molto complesse è possibile prevedere la creazione di supporti durante la stampa stessa, che verranno successivamente rimossi. Ciò detto si traduce in diversi tipi di pezzi stampati e diverse proprietà finali del manufatto. Nel mercato sono presenti apparecchiature che eseguono stampe 3D con tecnologie più innovative e con diverse possibili configurazioni. Ad esempio, alcune stampanti 3D riscaldano il materiale del filamento portandolo ad una temperatura poco al di sopra della transizione vetrosa. La presenza di ulteriori ugelli può dare la possibilità di stampare contemporaneamente o alternativamente diversi filamenti di materiale, per esempio creando i supporti su cui stampare il pezzo in un materiale diverso da quello con cui voler realizzare il pezzo. Uno dei materiali più usati per produrre i filamenti è sicuramente il PLA. In commercio sono disponibili non solo diverse colorazioni di PLA ma anche dei filamenti di PLA con diversi riempitivi, come ad esempio il wood PLA (Figura 15).



*Figura 15 Strutture stampate per FDM*

### *Altre tecniche*

Oltre alle tecnologie di formatura, ve ne sono altre parimenti importanti per la realizzazione di oggetti o dispositivi con strutture complesse. Particolarmente interessanti sono le tecniche di rivestimento per immersione (dip coating) e di lisciviazione selettiva (selective leaching). Queste tecniche sono spesso utilizzate in accoppiamento con una delle precedenti come stadio finale di preparazione dei dispositivi, ad esempio, rimuovere il secondo materiale (scelto volutamente solubile) utilizzato come supporto.



*Figura 16 fasi del processo di dip coating*

Il dip coating consiste nella immersione di un oggetto in una soluzione (bagno attivo) contenente il principio attivo che si vuole depositare sulla sua superficie. Il processo avviene in condizioni di temperatura, velocità (di immersione ed estrazione) e tempo di mantenimento in soluzione controllate e può essere idealmente suddiviso in tre fasi:

1. Immersione: il campione viene introdotto a velocità costante nella soluzione contenente il principio attivo;
2. Estrazione: rimozione del campione dalla soluzione a velocità costante. Per capillarità, un film di liquido aderisce alla superficie;
3. Evaporazione: a estrazione conclusa, il surplus di fluido drena verso la soluzione e contemporaneamente il solvente evapora dal film.

Ogni step dipende da variabili operative che possono modificare o migliorare il processo di coating. Il tempo di immersione (o estrazione) e mantenimento genera sul pezzo uno spessore che cambia in base ad alcuni parametri.

Lo spessore finale al termine dell'operazione dipende da una serie di parametri racchiusi nella legge di Landau-Levich:

$$h = \frac{0,94 (\eta U)^{2/3}}{\gamma_{LV}^{1/6} (\rho g)^{1/2}}$$

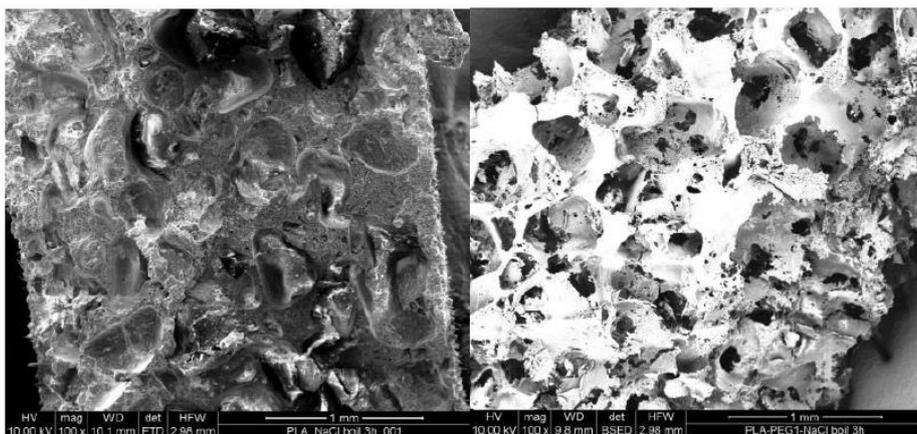
Dove:

- U è la velocità di estrazione;
- $\eta$  la viscosità;
- $\gamma_{LV}$  la tensione superficiale liquido-vapore.

### *Selective leaching*

La lisciviazione (o estrazione solido-liquido) definisce il processo consistente nella separazione di uno o più componenti solubili da una massa solida mediante un solvente. Il solvente eliminerà le fasi solubili lasciando intatta quella insolubile. Se il solido è multifasico, è possibile operare una lisciviazione selettiva soltanto di una fase, utilizzando un solvente della fase da eliminare che non sia solvente delle rimanenti.

È possibile ottenere strutture porose o spugnose con dimensione dei pori controllabile in funzione della concentrazione e delle caratteristiche delle fasi da lisciviare. Le dimensioni dei pori, infatti, saranno correlate con la dimensione della fase eliminata e avranno un livello di interconnessione legato alla quantità di materiale lisciviabile. Generalmente le fasi lisciviabili più comunemente utilizzate sono NaCl (*salt leaching* in Figura 17 [52]) o saccarosio, grazie alla loro biocompatibilità e non tossicità.



*Figura 17 Dispositivo in PLA prima e dopo il processo di lisciviazione*

Nella lisciviazione si distinguono 5 fasi:

1. Trasferimento del solvente dal bulk della soluzione alla superficie del solido;
2. Diffusione all'interno del solido;
3. Dissoluzione della fase solubile;
4. Il soluto solvatato diffonde verso la superficie;
5. Il soluto migra verso il bulk della soluzione.

Devo utilizzare quindi T, viscosità di solvente ecc. opportune per favorire gli scambi di materia.

Questo trasporto di questo sistema soluto-solvente è descritto dalla legge di Fick. Il flusso di soluto è dato da:

$$Nh = k_1 A (C_{i,j} - C_i)$$

Dove:

- $k_1$  coefficiente di trasferimento di massa;
- A è la superficie esposta;
- $C_{i,j}$  concentrazione a saturazione di A;
- $C_i$  la concentrazione effettiva.

La **forza spingente** deve essere mantenuta elevata. Integrando questa espressione, considerando un volume V ( $Nh = V (dC_i/dt)$ ), è possibile ottenere la cinetica necessaria per lisciviare completamente un sistema note le condizioni di partenza:

$$\frac{C_{A,S} - C_A}{C_{A,S} - C_{A,0}} = \exp\left(-\frac{k_1 A}{V} t\right)$$

## 1.5 Principali applicazioni per materiali biopolimerici con strutture complesse

### 1.5.1 Ingegneria tissutale

L'ingegneria tissutale (*tissue engineering*, TE) è un settore che si occupa delle procedure di rigenerazione di tessuti del corpo umano. Tale settore prevede l'utilizzo di cellule, fattori di crescita e supporti porosi per la rigenerazione di tessuti danneggiati [52]. La possibilità di ottenere strutture porose che imitino la matrice extracellulare delle cellule è di importanza cruciale. La matrice extracellulare è una struttura costituita da fibre strutturate in modo tridimensionale a loro volta formata da una struttura gerarchica di filamenti delle dimensioni nanometriche. Il ruolo della matrice extracellulare è quello di sostenere meccanicamente le cellule e organizzarle nello spazio. Lo *scaffold* ideale dovrebbe replicare la struttura e la funzione della matrice extracellulare (ECM) naturale del tessuto che si vuole rigenerare fino a che le cellule seminate non sono in grado di produrre la loro stessa matrice extracellulare [52]–[55].

L'uso di materiali naturali o sintetici a gradiente sottoforma di strutture porose sembra particolarmente promettente per questo genere di applicazioni. Molti dei tessuti naturali mostrano un'orientazione cellulare ben definita come nel caso dei muscoli o dei nervi (Figura 18).

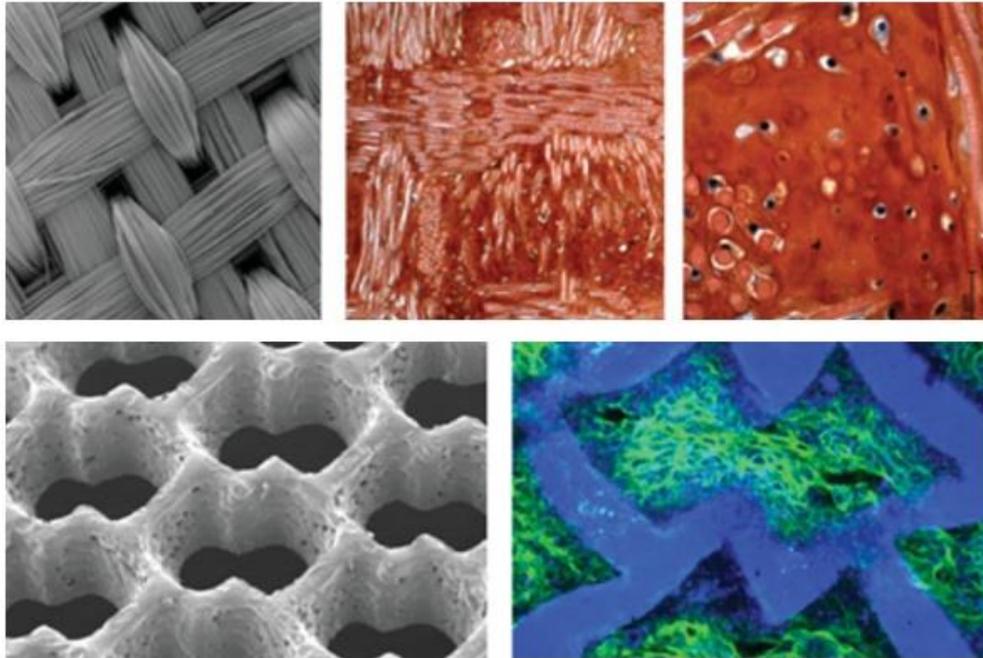


Figura 18 Tessuti nanofibrosi prima e dopo la vascolarizzazione

In questi casi la possibilità gestire il controllo di strutture porose offre un vantaggio unico perché la loro struttura nanometrica è in grado di favorire la crescita cellulare, infatti, l'elevata porosità agevola il passaggio di nutrienti e metaboliti in tutta la struttura. Bisogna inoltre considerare che la maggior parte dei tessuti naturali mostra un gradiente naturale delle proprietà. Queste possono essere di natura chimica, o fisica o entrambe. In questo caso la possibilità di ottenere e gestire strutture porose con un gradiente nelle proprietà offre una soluzione semplice e vantaggiosa per affrontare il problema. La progettazione di un unico biomateriale con struttura ben orchestrata gioca, dunque, un ruolo chiave nel settore dell'ingegneria tissutale.

### 1.5.2 Rilascio controllato

Negli ultimi anni lo sviluppo di sistemi di somministrazione di farmaci ha riscosso un crescente interesse. Tali sistemi infatti, consentono un rilascio prolungato del farmaco a velocità fissa per un intervallo di tempo definito [53], [54]. Un dispositivo di somministrazione in grado di rilasciare parte del farmaco ad una dose terapeutica iniziale, seguito da un rilascio più lento e costante, potrebbe avere molti vantaggi tra cui una maggiore efficacia, concentrazioni di farmaco bilanciate nell'organismo e riduzione della tossicità [56], [57]. Per ottenere questo tipo di dispositivi, l'uso di membrane porose rappresenta una buona strategia [57]. Al fine di ottenere una cinetica di rilascio più versatile, lo sviluppo di strutture multistrato con gradiente di solubilità longitudinale potrebbe essere una strategia efficace. In particolare, gli strati più solubili potrebbero fornire un rilascio rapido del farmaco (ad esempio utili per alleviare il dolore o prevenire la crescita batterica) mentre quelli meno solubili potrebbero essere adatti per garantire la somministrazione di farmaci a lungo termine (Figura 19).

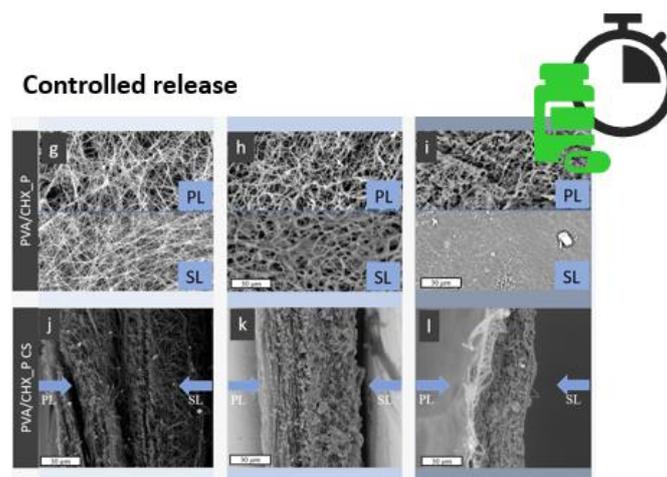


Figura 19 dispositivo con struttura a gradiente per il rilascio di cloxacilina

### 1.5.3 Sequestro di inquinanti nelle acque

Gli inquinanti che provengono dalle attività umane, presenti nell'ambiente acquatico, come ioni di metalli pesanti, contaminanti radioattivi, farmaci, coloranti organici, ecc. causano danni diretti all'uomo e all'ambiente, danneggiando l'equilibrio dell'ecosistema [58]. Quindi, offrire acqua potabile e priva di elementi inquinanti e ripristinare l'ambiente ecologico, diventa una sfida sempre più difficile e urgente. A causa dell'aumento delle attività petrolifere i problemi di inquinamento da petrolio diventano sempre più significativi. L'inquinamento può derivare dal deflusso di petrolio dagli impianti a terra o dalle fuoriuscite di petrolio durante il trasporto. Annualmente, le quantità di petrolio che vengono trasportate attraverso il mare internazionale, sono circa cinque milioni di tonnellate [59]. La combustione è il metodo più economico per eliminare l'olio, ma il tempo necessario per bruciarlo può portare alla sua dispersione o peggio ancora ad aumentare le emissioni di  $\text{CO}_2$  nell'ambiente [59]. Pertanto, al fine di recuperare gli oli riversati nelle acque è preferibile utilizzare le membrane assorbenti grazie alle elevate capacità di assorbimento, ritenzione di olio, durabilità e riutilizzabilità. Negli ultimi anni, sono stati dedicati molti sforzi per lo sviluppo di materiali assorbenti sostenibili ed economici che combinano proprietà attraenti come rinnovabilità, biodegradabilità, elevata resistenza specifica e modulo, bassa densità e compatibilità ambientale. Tali proprietà sono certamente possedute dai materiali biopolimerici con strutture complesse. Inoltre, di recente sono stati realizzati diversi dispositivi assorbenti con strutture complesse contenenti fibre naturali come: cotone [60], kapok (Figura 20) [61], fibre di banana [62] e kenaf [63] considerati degli ottimi candidati per l'assorbimento dell'olio.

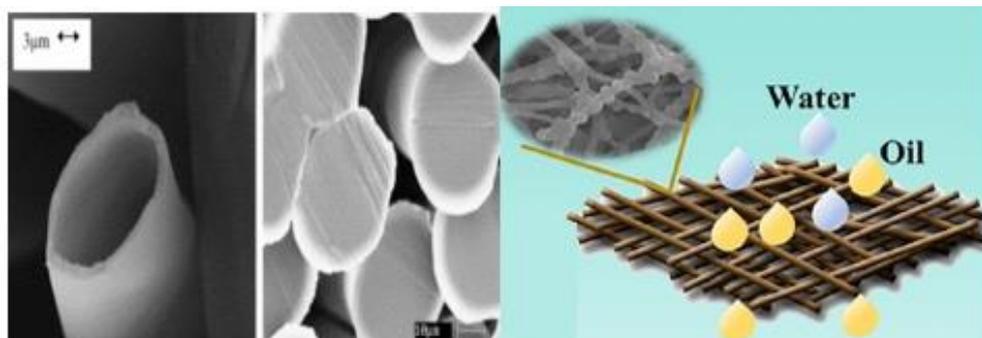


Figura 20 fibre e membrana nanofibrosa di kapok con struttura complessa per la rimozione di oli riversati acque

#### 1.5.4 *Smart packaging*

La crescente consapevolezza dei consumatori ha portato un interesse maggiore nella produzione di imballaggi intelligenti. L'imballaggio attivo, ad esempio, si riferisce all'incorporazione di additivi nella confezione con l'obiettivo di mantenere o estendere la qualità del prodotto e la durata di conservazione. I sistemi intelligenti sono quelli che monitorano lo stato degli alimenti confezionati per fornire informazioni sulla qualità degli alimenti durante il trasporto e lo stoccaggio. Queste tecnologie sono progettate per la crescente domanda di alimenti più sicuri con una migliore durata di conservazione. Si prevede che il mercato dei sistemi di imballaggio attivi e intelligenti avrà un futuro promettente grazie alla loro integrazione nei materiali o nei sistemi di imballaggio. La confezione serve a proteggere il prodotto dagli effetti deterioranti di condizioni ambientali esterne come calore, luce, presenza o assenza di umidità, pressione, microrganismi, emissioni gassose e così via. Fornisce inoltre al consumatore una maggiore facilità d'uso e convenienza per risparmiare tempo e contiene prodotti di varie dimensioni e forme (Figura 21) [64], [65]. Le principali potenziali applicazioni alimentari per agenti antimicrobici includono carne, pollame, pane, formaggio, frutta e verdura [66]. Gli agenti bioattivi, inclusi gli antimicrobici, sono incorporati nei polimeri e vengono utilizzati per la somministrazione di farmaci e pesticidi, tessuti, impianti chirurgici e altri dispositivi biomedici. Alcuni imballaggi antimicrobici [67] utilizzano antibiotici o fungicidi immobilizzati in modo covalente per sopprimere la crescita dei microbi [68]. Alcuni polimeri sono intrinsecamente antimicrobici e vengono utilizzati in film e rivestimenti. Il chitosano ad esempio, è stato utilizzato come rivestimento per proteggere frutta e verdura fresca dall'attacco dei funghi. Agisce anche come barriera tra i nutrienti contenuti nel prodotto e il microrganismo [66]. Al fine di ottenere un imballaggio intelligente, lo sviluppo di strutture multistrato con gradiente longitudinale potrebbe essere una strategia efficace. Ad esempio, uno dei principali fattori che incidono sulla qualità dei prodotti deperibili è rappresentato dalle variazioni di temperatura durante le fasi di stoccaggio e distribuzione. Tali variazioni di temperatura possono essere smorzate da dispositivi ottenuti mediante l'incorporazione di materiali a cambiamento di fase (PCM) in strutture graduate o core-shell. I PCM sono in grado di assorbire o rilasciare una grande quantità di energia durante il loro processo di fusione/cristallizzazione e, quindi, potrebbero fornire protezione termica agli alimenti confezionati [70].

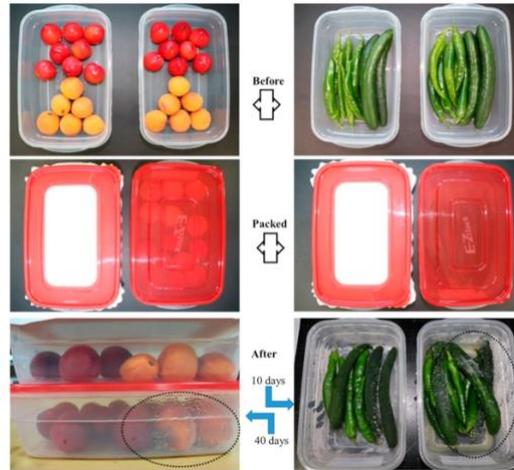


Figura 21 membrana nanofibrosa utilizzata per lo smart packaging [64]

### 1.5.5 Sensing

I dispositivi con struttura complessa a base biopolimerica spesso sono caratterizzati da proprietà sintonizzabili, eccellente biocompatibilità e biodegradabilità, nonché atossicità per l'organismo umano. Tali proprietà forniscono nuove opportunità per lo sviluppo di sensori flessibili e dispositivi energetici. Generalmente, i biopolimeri sono utilizzati come substrati/matrici di supporto, strati intermedi attivi, elettroliti, componenti attive di dispositivi di rilevamento flessibili (sensori, attuatori, transistor [71] (Figura 22) e dispositivi energetici (batterie [72], supercondensatori[73], nanogeneratori triboelettrici [74], [75]).

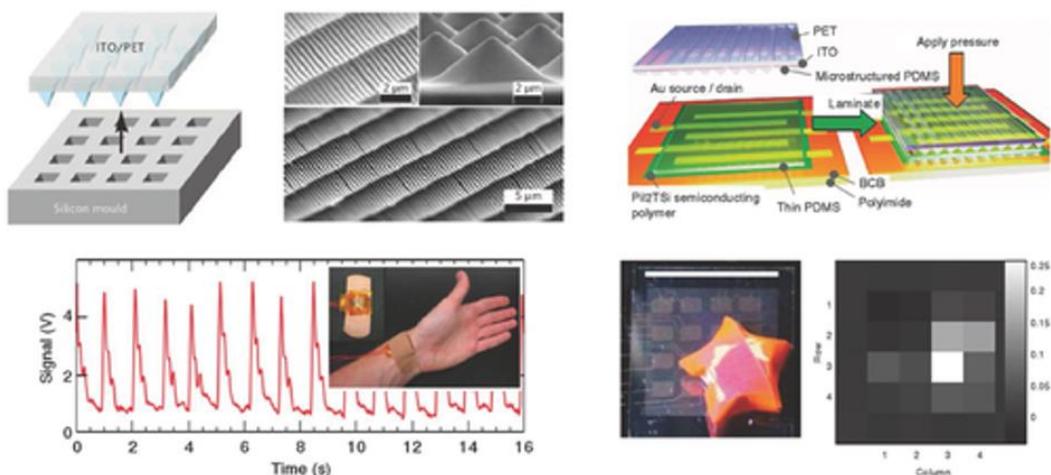


Figura 22 dispositivi polimerici con struttura complessa utilizzati per il sensing [74], [75]

## 2 Stato dell'arte e scopo del lavoro

### 2.1 *Processi combinati per la fabbricazione di sistemi a base biopolimerica*

Attualmente, l'esigenza di avere dispositivi con proprietà e funzioni specifiche per l'applicazione finale sta crescendo rapidamente e pertanto, è necessario sviluppare percorsi di preparazione efficaci e flessibili. La creazione di tecnologie completamente nuove e su misura per un dispositivo o un'applicazione specifica potrebbe essere una strategia vincente, ma richiederebbe anche un dispendio di tempo e costi non indifferente prima di poter essere completamente valutata e consolidata, soprattutto per quanto concerne la scalabilità industriale.

Un'alternativa può essere la possibilità di sfruttare la combinazione di tecnologie e materiali esistenti, cercando di ottenere sinergie e, allo stesso tempo, un certo controllo dell'effetto delle variabili di processo sulle proprietà dei materiali lavorati (Figura 23). In questo senso, sfruttare due o più tecnologie diverse, nella preparazione di un dispositivo, potrebbe essere un modo più sicuro per raggiungere l'obiettivo. Chiaramente, l'utilizzo multiplo di più processi di elaborazione implica un aumento dei tempi di produzione che spesso, in ambito industriale, si traduce in un aumento dei costi. Un altro aspetto da non sottovalutare è l'impatto ambientale che ogni singolo processo produce.

Negli ultimi anni la comunità scientifica sta cercando di superare questi limiti con l'obiettivo di ridurre il numero di processi e sfruttare le capacità/affinità dei materiali al fine di evitare percorsi di produzione multipli, laboriosi, invasivi da un punto di vista di salute umana e ambientale e che siano economicamente vantaggiosi in ottica di produzione industriale. Per soddisfare tali esigenze, la comunità scientifica sta manifestando un interesse notevole verso l'elaborazione di nuovi processi di produzione *one-step* o *two-steps*. Infatti, negli ultimi dieci anni, sono apparsi diversi lavori scientifici che trattano tali metodi di produzione, ovvero, processi in cui è possibile ottenere strutture complesse attraverso l'utilizzo di un singolo o doppio step.

## COMBINED PROCESSES AND TREATMENTS IN ONE STEP

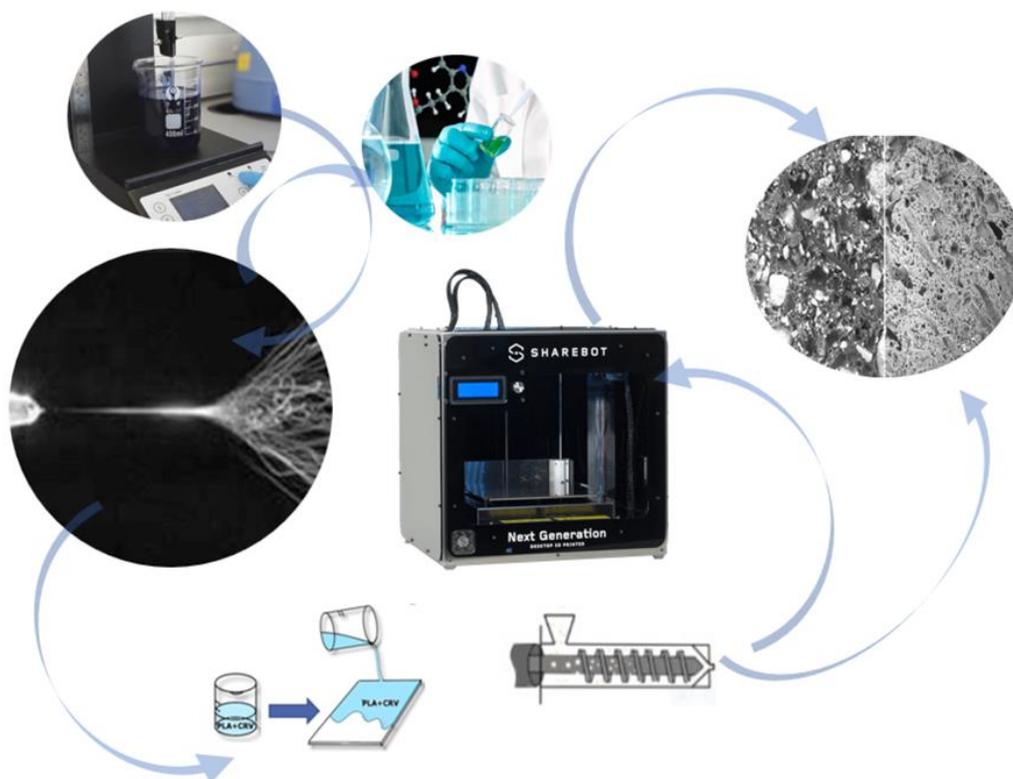


Figura 23 schema illustrativo della combinazione di processi o trattamenti per l'ottenimento di strutture complesse

### Strategie one-step

Negli ultimi anni la strategia di produzione *one-step* è stata adottata con successo in numerose tipologie di dispositivi a base biopolimerica. Una membrana nanofibrosa con struttura gerarchica, di polivinilidene fluoruro (PVDF) e sale, è stata fabbricata tramite processo *one-step* sfruttando l'effetto sinergico tra i due materiali [76]. L'aggiunta di sale in PVDF ha indotto un aumento della conducibilità elettrica della soluzione polimerica. Tale aumento ha avuto una notevole influenza sulla morfologia delle nanofibre durante il processo di elettrofilatura, in particolare, ha contribuito alla formazione di una struttura gerarchica. Inoltre, la morfologia con scala gerarchica ha permesso alla membrana di raggiungere un aumento delle proprietà meccaniche di circa il doppio rispetto al PVDF senza sale. La membrana elettrofilata è ispirata alle strutture gerarchiche di un albero naturale, costituito da molti tronchi, rami e ramoscelli (Figura 24). Questo tipo di nanomateriali, strutturati con organizzazioni multi-scala, hanno dimostrato una maggiore funzionalità e prestazioni più elevate grazie alla loro superficie notevolmente migliorata.

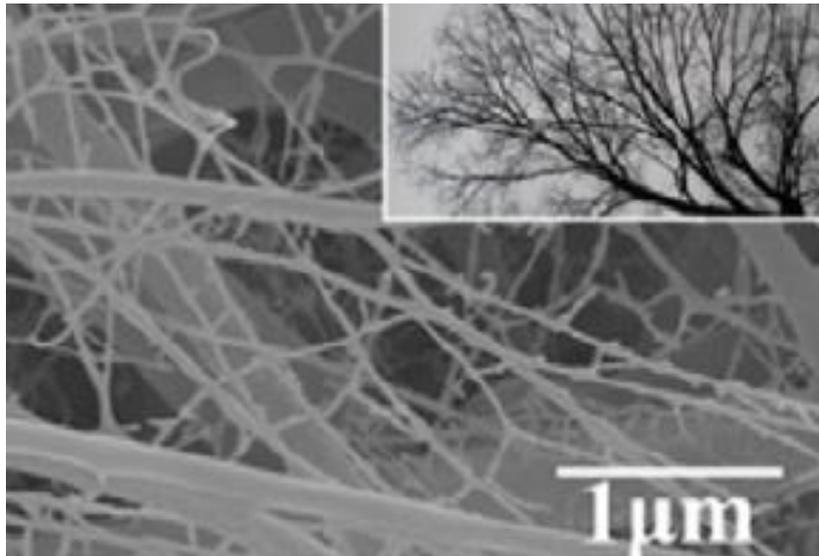


Figura 24 formazione di struttura multiscala (gerarchica) delle nanofibre di PVDF

Lo sviluppo di materiali microfibrati e porosi, con eccellenti proprietà di reattività e assorbimento, ha attirato una notevole attenzione in ambito scientifico. Tuttavia, per ottenere microfibre con elevata porosità, spesso si ricorre all'uso di un sistema ternario di solventi o l'utilizzo di più trattamenti post processing. Mediante metodo *one-step*, sono state fabbricate con successo, delle microfibre di PLA con nanopori uniformi tramite processo di filatura centrifuga utilizzando un unico sistema di solvente, ovvero, una soluzione di PLA/cloroformio [77]. Le microfibre nanoporose di PLA fabbricate in questo studio, avevano un elevato assorbimento di olio con una capacità di 26,78 g/g.

Un altro metodo di processo *one-step* è stato adottato per elettrofilare nanofibre porose di PEC (Polyelectrolyte complex fibers) [78]. In particolare, il processo di elettrofilatura coassiale in wet ha permesso la complessazione interfacciale *in situ* dei due polimeri, rispettivamente chitosano (CHI) e polistirene sulfonato (PSS). L'aggiunta di PEO alle soluzioni di filatura si è rivelata un metodo efficace per migliorare il modulo di Young delle fibre PEC dell'80%.

Come descritto in precedenza, gli scaffold nanofibrati sono molto promettenti nell'ingegneria dei tessuti grazie alle loro architetture che imitano la matrice extracellulare (ECM). L'elevata area superficiale posseduta dai dispositivi ottenuti mediante elettrofilatura conferisce a tali sistemi le caratteristiche idonee per essere ottimi candidati nelle applicazioni di ingegneria tissutale. Tuttavia, uno dei limiti più rilevanti degli scaffold nanofibrati, è la difficoltà di riuscire ad ottenere una corretta e uniforme distribuzione cellulare tridimensionale (3D). Tale limite, è spesso dovuto alla scarsa presenza di pori interconnessi e alla classica morfologia, bidimensionale, ottenuta da un

convenzionale processo di elettrofilatura. È stato elaborato un metodo per posizionare direttamente le cellule endoteliali viventi all'interno di scaffold nanofibrosi bioattivi in 3D attraverso l'elettrofilatura combinata con l'elettrospray coassiale [79]. Utilizzando questo metodo di produzione *one-step*, le cellule endoteliali vengono incapsulate in microsfele di idrogel e depositate insieme alle nanofibre contenenti il fattore di crescita dell'endotelio vascolare, permettendo l'ottenimento di uno scaffold 3D con una corretta distribuzione cellulare lungo l'intero volume del dispositivo. È stato dimostrato che la vitalità cellulare è ben preservata (> 98%) durante il processo di produzione simultaneo e che è stata ottenuta una distribuzione cellulare profonda (~ 100  $\mu\text{m}$ ) attraverso lo spessore dello scaffold, in tal modo le cellule endoteliali possono allungarsi e connettersi liberamente, mostrare connessioni intercellulari migliorate e mantenere il fenotipo negli scaffold nanofibrosi bioattivi.

È stata sviluppata una spugna nanofibrosa in 3D (Figura 25) sfruttando la combinazione di un processo e un trattamento in *one-step*, in particolare l'elettrofilatura di PSU/PU in ambiente umido ha permesso di ottenere una struttura altamente porosa in 3D con ottime proprietà meccaniche e funzioni ignifughe non ottenibili attraverso un singolo passaggio[80].

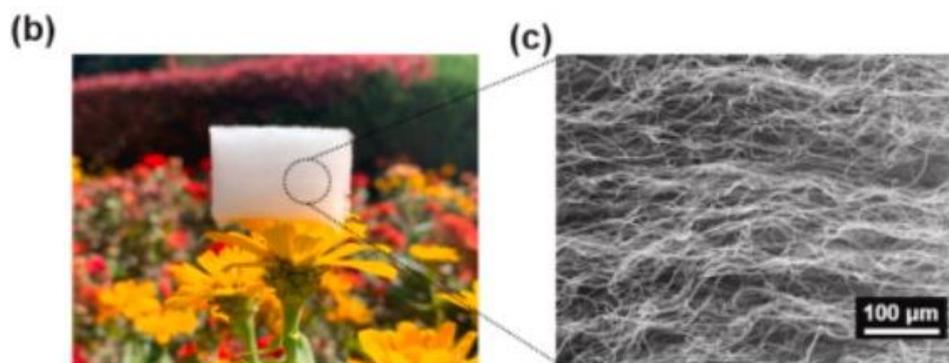


Figura 25 b) foto e c) immagine SEM della spugna nanofibrosa 3D

I biomateriali nanostrutturati sono ottimi candidati nelle applicazioni di rilascio dei farmaci. Infatti, la loro elevata area superficiale permette di inglobare e rilasciare grandi quantità di farmaco. Tuttavia, tale caratteristica ha dei limiti, in particolare, alcuni dispositivi biomedicali devono essere in grado di rilasciare farmaci in modo sostenuto nel tempo. Una sfida interessante è quella di ottenere un dispositivo che riesca a possedere proprietà di rilascio modulabili al fine controllare la quantità di farmaco rilasciato nelle prime ore di somministrazione. È stata elaborata una struttura nanofibrosa di idrogel di poliacrilato, in particolare di poli N-isopropilacrilammide (PNIPAAm), ovvero una delle

classi di idrogel *thermo-responsive* più interessanti per applicazioni biomediche [82]. Tali materiali sono capaci di gonfiarsi e contenere un'enorme quantità di acqua al loro interno. Attraverso l'utilizzo di electrospinning assistito da irradiazione UV (Figura 26) e sfruttando le proprietà di reattività alla temperatura degli idrogel, è stato possibile ottenere una membrana costituita da nanofibre reticolate, in grado di gestire il *drug-release* e soprattutto rallentare significativamente il rilascio del farmaco nelle prime ore di utilizzo.

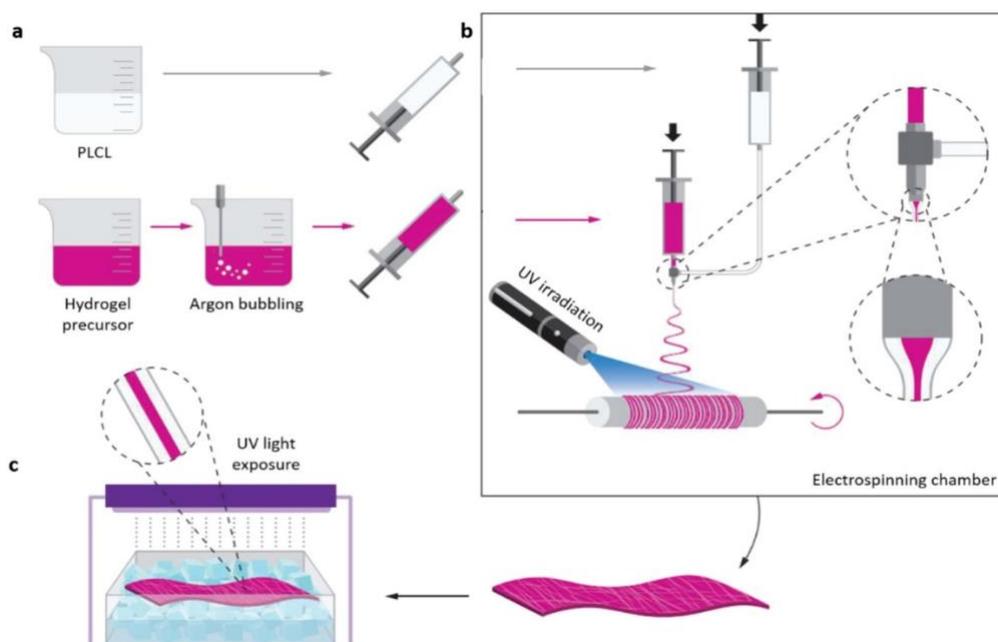


Figura 26 Electrospinning assisto da irradiazione UV per l'ottenimento, in one-step, di membrane PNIPAAm

Oltre alla gestione delle cinetiche di rilascio dei farmaci è interessante ottenere un dispositivo finale dotato meccanismo di rilascio reattivo di tipo *on-off*. È stato sviluppato un nuovo meccanismo di *triggering uncorking* (attivazione per stappatura, Figura 27) grazie alla combinazione in *one-step* di coaxial electrospinning e electrospinning [82]. In particolare, le nanofibre core-shell sono state utilizzate come sistemi di incapsulamento di farmaco, mentre le nanoparticelle (di silice) come “tappi” sigillanti per i pori delle superfici nanofibrose. Le nanoparticelle possono essere “stappate” mediante sonicazione, innescando un rilascio di farmaco di ordine zero dal *core* delle nanofibre.

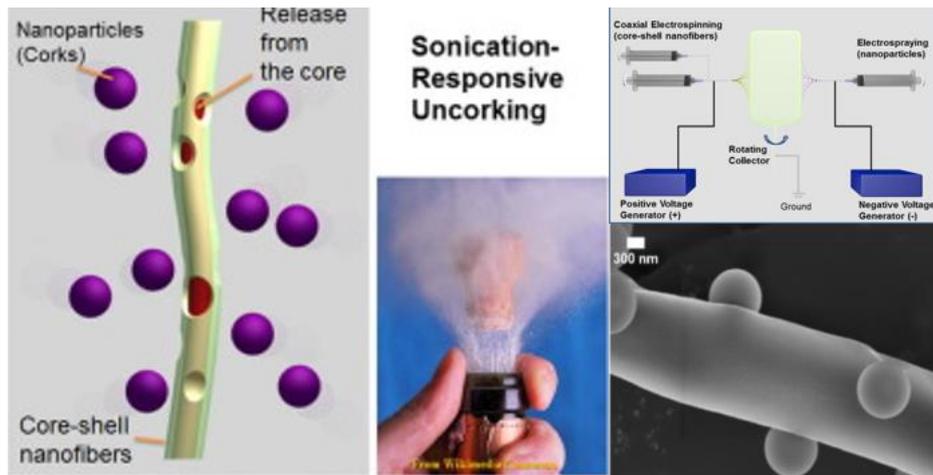


Figura 27 elaborazione di nanofibre core-shell porose sigillate da nanosfere per dispositivi di rilascio on-off

Le tecniche di produzione additiva (AM) e di stampa 3D si sono dimostrate particolarmente promettenti per i processi di lavorazione dei materiali biopolimerici perché permettono di gestire in modo preciso la forma finale del dispositivo e inoltre permettono di ottenere porosità su scala diversa, a seconda del tipo di riempimento impostato in fase di stampa. Sono stati prodotti scaffold polimerici porosi grazie all'utilizzo di queste tecniche che possono fornire eccellenti funzioni biologiche non solo in vitro ma anche in vivo, con ottime proprietà meccaniche. Le tecniche come il FDM depositano in sequenza filamenti termoplastici, estrusi attraverso un ugello, secondo percorsi di stampa predefiniti consentendo la costruzione di reti porose interconnesse tridimensionalmente. Inoltre, sono stati proposti diversi approcci per creare micropori nei filamenti polimerici al fine di imitare le architetture gerarchiche macro/microporose dei tessuti naturali (ad esempio tessuto osseo). L'uso di materie prime contenenti porogeni può creare micropori, poiché i porogeni presenti nei filamenti estrusi possono essere successivamente rimossi mediante lisciviazione con solvente. È stato elaborato un sistema di stampa 3D, per produrre scaffold di PCL con struttura gerarchica, assistito dalla separazione di fase in situ per creare filamenti polimerici microporosi estrudendo soluzioni polimeriche in un bagno di coagulazione a temperatura ambiente. Tale metodo di elaborazione *one-step* ha permesso di ottenere una struttura a porosità gerarchica attraverso la separazione di fase indotta dallo scambio di solvente e non solvente [83].

Un numero crescente di ricercatori ha fatto notevoli sforzi per produrre nanofibre mediante elettrofilatura fusa senza solventi, poiché tali solventi sono tossici per l'ambiente e per l'uomo. D'altra parte, le limitazioni più significative dell'elettrofilatura fusa sono: l'inevitabile degradazione

termica e le dimensioni elevate dei diametri delle fibre rispetto a quelle ottenute da una elettrofilatura da soluzione. L'origine del degrado termico è attribuita al lungo tempo di permanenza del polimero fuso ad alte temperature, che permette di ottenere abbassare notevolmente la viscosità del polimero e di conseguenza ottenere fibre con diametri minori.

Per superare queste limitazioni, è stato elaborato un nuovo metodo di elettrofilatura laser (LES), ovvero, elettrofilatura a fusione assistita da irradiazione laser CO<sub>2</sub> per il riscaldamento rapido dei polimeri, in *one-step*, con l'obiettivo di elettrofilare un composito di PLLA e Carbone di Bamboo (BC) [84]. Grazie a questo metodo, ovvero una combinazione di elettrofilatura e irradiazione laser in *one-step* (Figura 28a), è stato possibile sopprimere le limitazioni del degrado termico, dovuto agli elevati tempi di permanenza del polimero ad alte temperature, durante una convenzionale elettrofilatura da fuso. Le immagini al microscopio a scansione elettronica hanno rilevato fibre ultrasottili con diametri uniformi (Figura 28b), inoltre la carica naturale ha conferito una maggiore resistenza di schermatura UV.

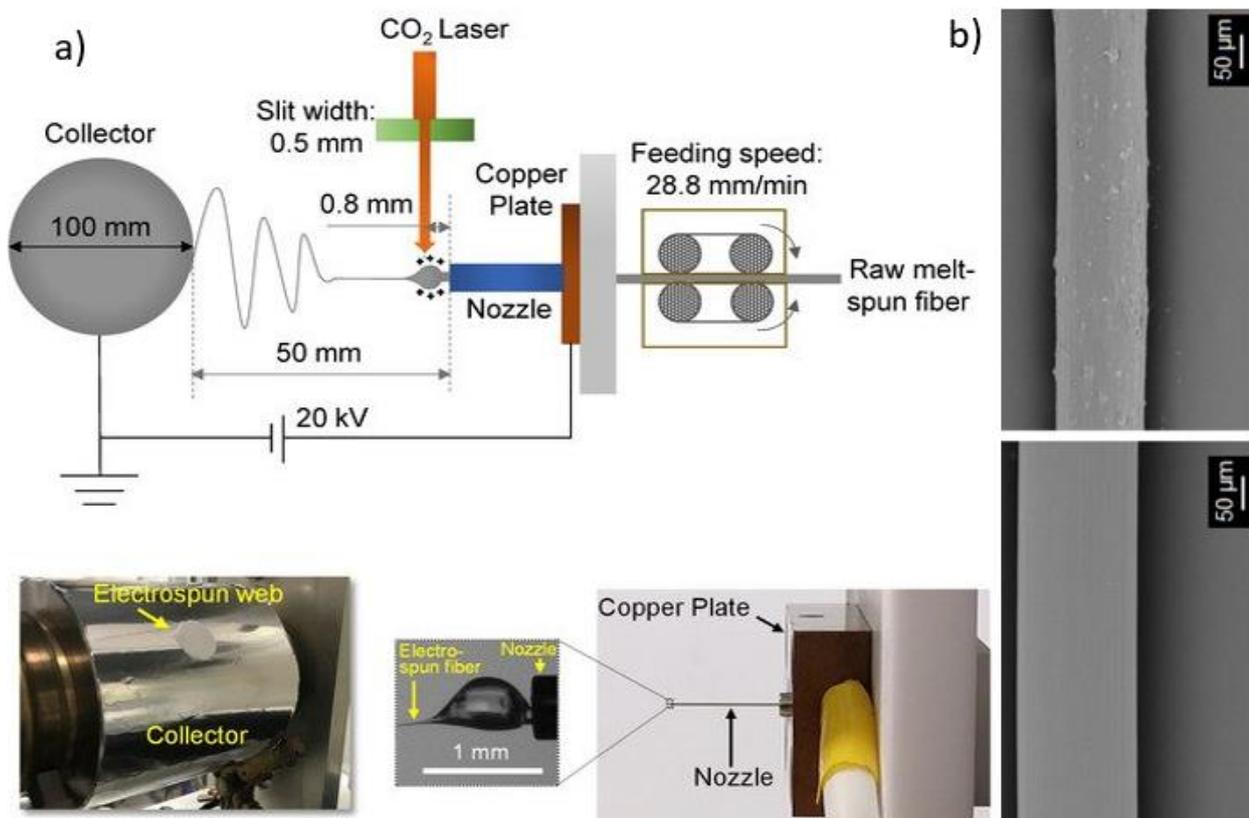


Figura 28 a) schema di processo *one-step* dell'elettrofilatura assistita con irradiazione laser CO<sub>2</sub>, b) immagini SEM delle fibre ottenute

### Strategie two-steps

L'elaborazione di strutture gerarchiche a gradiente o di membrane multistrato richiede spesso la combinazione di diversi metodi di preparazione in *two-steps*. Nel campo dell'ingegneria tissutale, l'allineamento cellulare gioca un ruolo essenziale nella riorganizzazione del citoscheletro, della matrice extracellulare e nella regolazione delle proprietà biomeccaniche di tessuti come quelli vascolari, cardiaci, muscolari e tendinei. Esistono varie soluzioni per la preparazione di scaffold nanofibrosi con fibre ben disposte in modo da favorire l'allineamento cellulare. Tuttavia, è ancora una sfida fabbricare scaffold con proprietà meccaniche adeguate e una buona capacità di promuovere l'allineamento cellulare. È stato proposto un nuovo sistema di elaborazione per ottenere filamenti meso, micro e nano-fibrosi, tramite la combinazione in *two-steps* di FDM ed elettrofilatura [85]. I risultati biologici ottenuti convalidano la capacità degli scaffold gerarchici multi-scala di migliorare l'adesione e la proliferazione cellulare tramite l'elevata area superficiale delle nanofibre e allo stesso tempo di mantenere ottime proprietà meccaniche grazie agli strati prodotti mediante FDM (Figura 29).

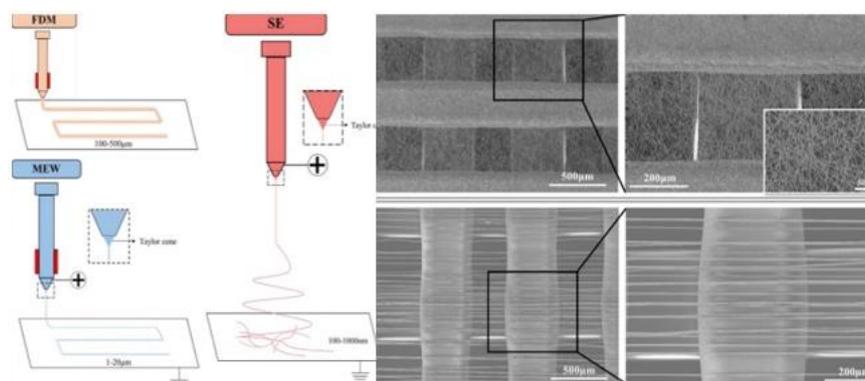


Figura 29 schema di processo *two-steps* per la realizzazione di uno scaffold. Il processo di elettrofilatura viene eseguito successivamente al processo FDM

Electrospraying e 3D printing sono stati accoppiati in *two-steps* al fine di ottenere un dispositivo finalizzato al rilascio sostenuto di fattori di crescita [86]. È stata investigata la possibilità di incapsulare i fattori di crescita BMP-2 all'interno di microparticelle PLGA/PLGA-PEG-PLGA. In particolare, i fattori di crescita sono un gruppo di molecole bioattive attualmente oggetto di grande attenzione da parte della ricerca nel campo della rigenerazione tissutale e possono essere utilizzate per simulare processi di riparazione naturali con grande specificità ed efficacia, ma gli svantaggi

includono la loro bassa stabilità, alto costo e il requisito di alte concentrazioni per riuscire a contrastare il rilascio *burst* nelle prime ore di utilizzo. Questi problemi sono stati ridotti utilizzando un approccio di consegna sostenuto che sia in grado di controllare la velocità e la posizione del fattore di crescita (Figura 30). Le microparticelle PLGA caricate con BMP-2 hanno dimostrato la capacità di rilasciare BMP-2 bioattivo che stimola il differenziamento osteogenico entro 10 giorno, superando le cellule coltivate con mezzi integrati osteogenicamente che mostravano deposizione minerale solo al giorno 24. Grazie al metodo *two-steps*, è stato ottenuto un dispositivo meccanicamente performante dotato di un sistema di consegna BMP-2 sostenuto nel tempo.

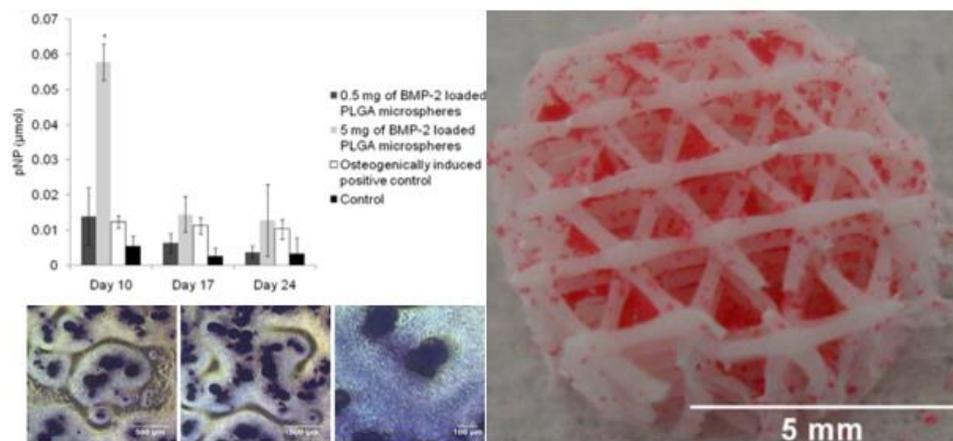


Figura 30 dispositivo scaffold con fattori di crescita ottenuto in *two-steps* tramite FDM e successivo *electrospraying*

Strutture porose ottenute combinando la miscelazione allo stato fuso e lisciviazione successiva del dispositivo ottenuto, possono anche essere progettate per scopi di intensificazione del bioprocesso. Infatti, oltre a indurre l'aggregazione delle cellule, le strutture porose aumentano la superficie potenzialmente disponibile per l'adesione cellulare, facilitando così gli scambi con il mezzo di coltivazione [9]. È stato prodotto uno scaffold 3D con porosità gerarchica combinando deposizione fusa multi-ugello e stampaggio a freddo, ottenendo così il controllo ingegneristico del microambiente e dell'impalcatura per supportare la vitalità cellulare [87]. Il FDM è stato utilizzato anche in combinazione con la schiumatura a gas per la preparazione di scaffold porosi (macro) di PLA per applicazioni di ingegneria del tessuto osseo (Figura 31). Questa strategia ha permesso l'ottenimento di una struttura costituita da macropori che hanno dimensioni da 100 a 800 µm e micropori da 1 a 10 µm [88].

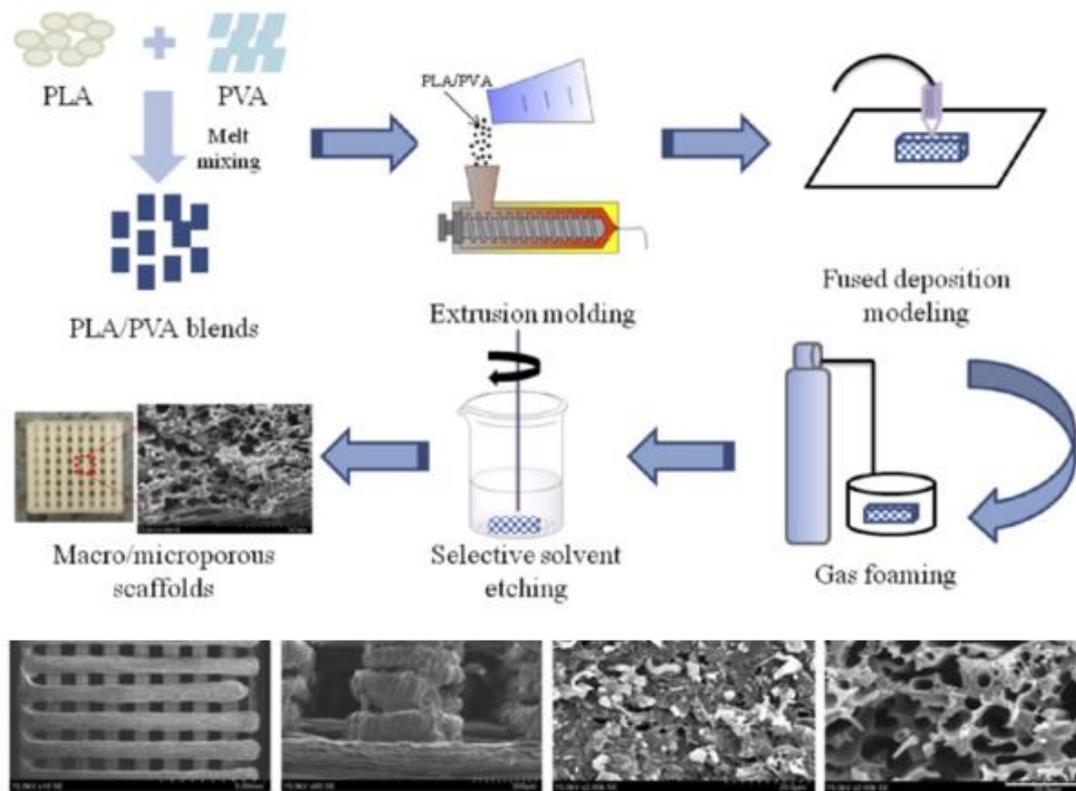


Figura 31 schema di processo two-steps per la realizzazione di scaffold macro e microporosi

È riportato un altro approccio *two-steps* per l'ingegnerizzazione di microparticelle iniettabili e biomimetiche con dimensioni regolabili, tramite due processi combinati, in particolare elettrospraying coassiale con bolle di gas e freeze drying [89]. Le dimensioni e le strutture delle microsfero sono state controllate regolando i parametri di elaborazione, in particolare, la portata d'aria, la tensione applicata, la distanza e la configurazione dell'ago coassiale. È importante sottolineare che, a differenza del metodo di autoassemblaggio, questa tecnica in *two-steps* può essere utilizzata per fabbricare microsfero da qualsiasi materiale elettrofilabile. Per dimostrare la versatilità del metodo, le microsfero aperte e porose sono state fabbricate con successo con PCL e PLA. Inoltre, le microsfero supportano maggiormente la crescita di cellule neurali umane in 3D rispetto alle a quelle non porose (Figura 32 sinistra).

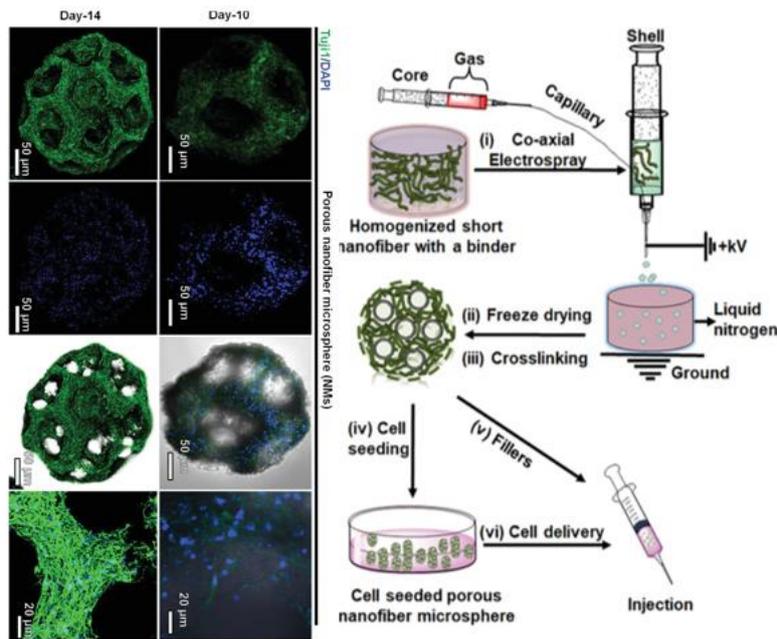
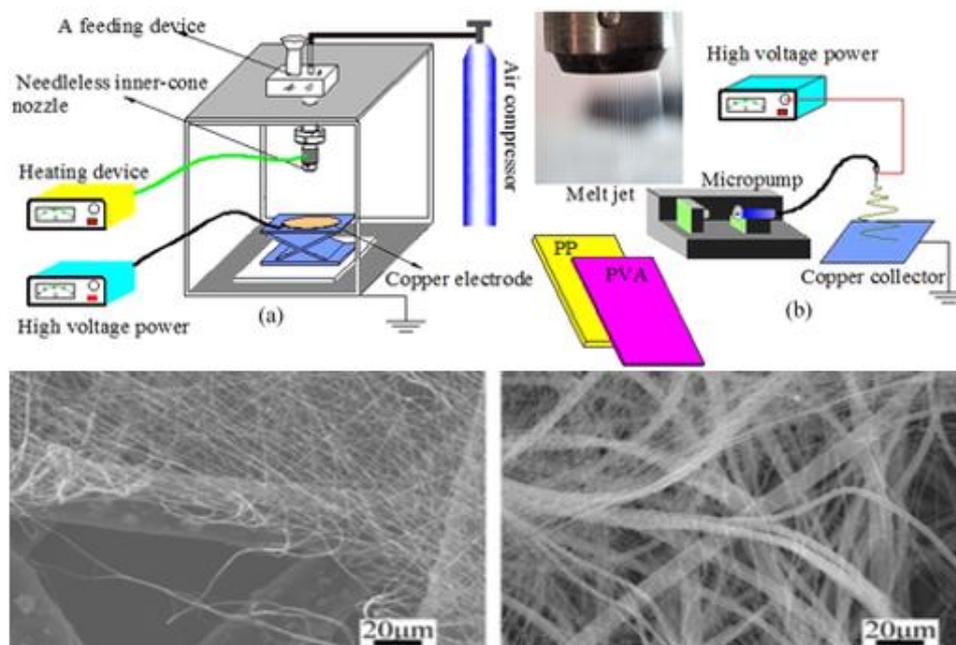


Figura 32 a sinistra) crescita di cellule neuronali umane sulle microsfele core-shell porose, a destra) schema di processo two-steps

Sono state preparate nuove membrane composite in PVA/ polipropilene (PP)[90]. Tali membrane sono state fabbricate combinando in *two-steps* due tecniche di elettrofilatura, in particolare melt e solvent electrospinning (Figura 33), per sfruttare le migliori proprietà delle nanofibre e delle microfibre ovvero, l'efficienza di filtrazione delle nanofibre e la capacità delle microfibre a resistere ad alte pressioni durante il processo di filtrazione. In particolare, la membrana composta PVA/PP con spessore di 0,2 mm è capace di respingere più del 96% delle particelle inquinanti. Tale risultato è superiore sia alla sola membrana di PVA che aveva una resa del 90%, sia alla membrana in PP che aveva una resa dell'80%. Questo studio ha dimostrato che la combinazione dell'elettrofilatura da solvente e l'elettrofilatura da fuso ha permesso di creare un dispositivo gerarchico con proprietà non ottenibili dai singoli materiali o processi.



*Figura 33 schema di processo two-steps per la realizzazione di membrane con struttura gerarchica tramite la combinazione di elettrofilatura da soluzione e successiva elettrofilatura da fuso*

### 3 Scopo del lavoro

L'analisi dello stato dell'arte suggerisce che la combinazione di processi di produzione, solitamente impiegati per l'elaborazione di strutture differenti, comporta la produzione di dispositivi a base biopolimerica con strutture complesse e proprietà rilevanti. L'obiettivo di questo lavoro di ricerca è stato quello di esplorare i diversi vantaggi dei metodi di elaborazione combinati sia in *one-step* che in *two-steps*. In particolare, sono state testate diverse combinazioni di processing al fine di ottenere dispositivi a base biopolimerica con strutture e proprietà non ottenibili da singoli processi, trattamenti o materiali. Ogni dispositivo è stato caratterizzato al fine di comprendere le relazioni tra processo-proprietà e struttura. La preparazione di vari dispositivi per applicazioni diverse ha dunque dato prova di come questa strategia risulti vincente al fine di creare strutture complesse.

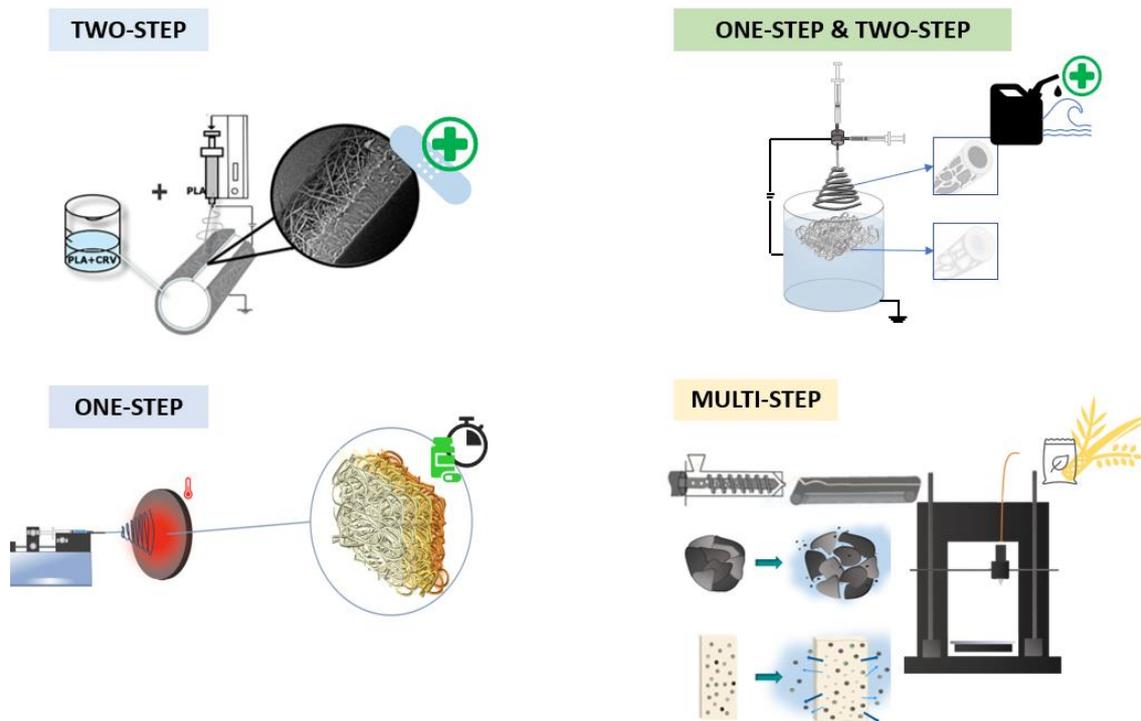


Figura 34 elaborazione di diversi metodi one- e two-steps per l'ottenimento di dispositivi per il trattamento di ferite cutanee, sequestro di olio nelle acque, rilascio controllato di farmaci o di fertilizzanti

È stato possibile, dunque, acquisire conoscenze in merito alla combinazione di diversi processi di produzione, trattamenti e materiali e come tale combinazione possa portare alla fabbricazione di

dispositivi con strutture complesse dalle proprietà ottimizzate per la specifica applicazione. In particolare, sono stati realizzati dispositivi per il trattamento delle ferite cutanee, per il sequestro di olio nelle acque, per il rilascio controllato di farmaci o fertilizzanti (Figura 34). Sono stati realizzati, inoltre, dei filamenti compatibili con il processo di stampa FDM a base di cariche naturali ottenute da scarti agricoli o marini. La produzione di tali filamenti ha permesso la processabilità per FDM di materiali green e ha consentito di ottenere strutture finali complesse, dimostrando la possibilità di poter sostituire fino al 20% di bioplastica, senza alterare significativamente la lavorabilità e le proprietà meccaniche del polimero. La valorizzazione degli scarti naturali per la produzione di materiali ecocompatibili, con proprietà meccaniche soddisfacenti, consentirebbe la realizzazione di strutture complesse e green nel pieno rispetto delle linee guida dell'economia circolare.

## 4 Materiali e metodi

### 4.1 Caratterizzazioni

#### 4.1.1 Caratterizzazione Morfologica

La morfologia delle membrane elettrofilate e la struttura dei green compositi ottenuti sono state analizzate attraverso la tecnica della microscopia elettronica a scansione (SEM) utilizzando il microscopio Phenom ProX, Phenoworld (Figura 35). Per eseguire l'analisi SEM il campione viene fatto aderire ad un supporto di materiale conduttore (alluminio) mediante un adesivo ricoperto di grafite e successivamente ricoperto da un sottile strato d'oro (metallizzazione).



*Figura 35 Phenom ProX desktop scanning electron microscope, Phenom-World*

#### 4.1.2 Image processing

Le immagini ottenute dall'analisi SEM sono state elaborate attraverso il software ImageJ. Grazie all'elaborazione delle immagini SEM tramite plugin (DiameterJ [91]) è stato possibile calcolare i diametri medi delle fibre delle membrane elettrofilate e ottenere informazioni circa la porosità dei campioni ottenuti [92].

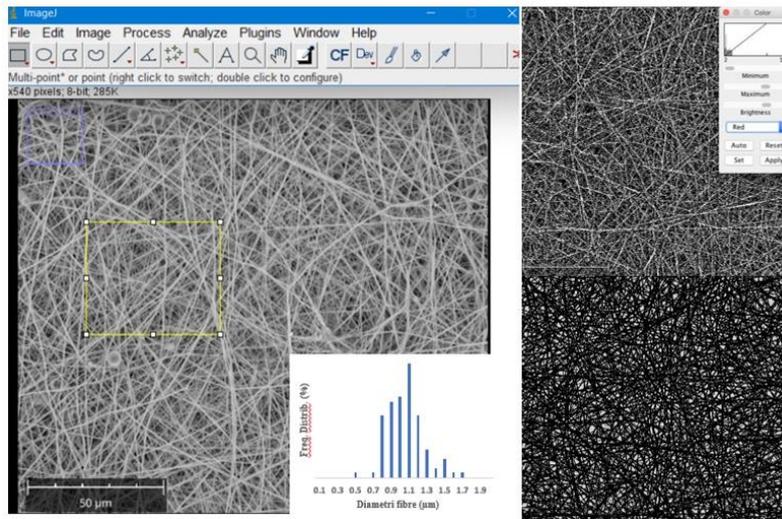


Figura 36 ImageJ processing and analysis in java, software utilizzato per l'analisi di immagine

#### 4.1.3 Caratterizzazione Meccanica

I materiali sono stati testati meccanicamente attraverso prove a trazione utilizzando un dinamometro INSTRON 3365 (Figura 37). Per ogni sistema prodotto sono state eseguite prove su 7 provini fustellati in sezioni rettangolari (60 x 10 mm). La prova è stata condotta con una distanza fra i morsetti di 30 mm e una doppia velocità della traversa:  $1 \text{ mm min}^{-1}$  per 2 mm e  $50 \text{ mm min}^{-1}$  fino a rottura del provino. Dal diagramma sforzo deformazione sono stati ricavati il modulo elastico (E) valutato come la pendenza del tratto elastico-lineare della curva a basse deformazioni, la tensione a rottura (TS) e la deformazione a rottura (EB).



Figura 37 INSTRON 3365

#### 4.1.4 Prove di flessione

Le proprietà meccaniche flessionali dei green composites realizzati sono state testate attraverso la prova di flessione a tre punti equipaggiando il dinamometro INSTRON 3365 (Figura 38) con delle apposite celle e seguendo la normativa ASTM D790i. È stata utilizzata una velocità di spostamento della traversa pari a 1,4 mm/min.



*Figura 38 dinamometro INSTRON 3365 set-up per prova di flessione a tre punti*

#### 4.1.5 Caratterizzazione Reologica

Al fine di valutare la viscosità delle soluzioni polimeriche è stato utilizzato un reometro rotazionale a piatti piani e paralleli Ares G2 (Figura 39). Le prove sono state condotte in modalità di controllo della frequenza nell'intervallo 1-100 rad/s utilizzando uno stress costante di 1 Pa.



*Figura 39 Reometro rotazionale Ares G2.*

#### 4.1.6 Test di bagnabilità

La bagnabilità dei campioni è stata valutata attraverso delle prove di angolo di contatto utilizzando il “metodo della goccia sessile”. Tali misure sono state effettuate mediante apparecchiatura FTA 1000 First Ten Ångströms (Figura 40), utilizzando l’acqua come liquido. La prova consiste nel depositare una goccia di acqua distillata, di quantità pari a 4µl, a temperatura ambiente sulla superficie del campione. Le immagini della goccia sulla superficie del campione vengono quindi acquisite ed elaborate dal software che restituisce la misura dell’angolo di contatto.



Figura 40 FTA 1000 apparecchiatura per test di bagnabilità (WCA) FTA 1000 First Ten Ångströms

#### 4.1.7 Analisi superficiali FT-IR

Le proprietà chimiche di superficie dei campioni sono state valutate mediante analisi FT-IR/ATR effettuata utilizzando uno spettrofotometro Perkin-Elmer FT-IR/NIR Spectrum 400 (Figura 41). Gli spettri sono stati registrati nell'intervallo 4000–400 cm<sup>-1</sup>.



Figura 41 Perkin-Elmer FT-IR/NIR Spectrum 400

#### 4.1.8 Test di rilascio di farmaci

I test di rilascio delle molecole modello sono stati condotti utilizzando lo spettrofotometro UV/vis UVPC 2401, Shimadzu (Figura 42). Per le varie molecole, inizialmente, è stata realizzata la curva di calibrazione per correlare l'intensità della banda di assorbanza della molecola con la sua concentrazione in acqua. Il rilascio del farmaco dalle membrane è stato valutato immergendo i campioni precedentemente pesati in acqua distillata a 37 °C. L'intensità della banda di assorbanza delle soluzioni è stata misurata a intervalli di tempo specifici e convertita in quantità di farmaco rilasciato attraverso la linea di calibrazione.



Figura 42 spettrofotometro UV/vis UVPC 2401, Shimadzu

#### 4.1.9 Modello Peppas-Korsmeyer

I dati di rilascio ottenuti sono stati adattati secondo l'equazione Peppas-Korsmeyer:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n \quad (2)$$

Dove  $M_t$  è la quantità di molecola modello rilasciata all'istante  $t$  e  $M_\infty$  è la quantità teorica di molecola modello incorporata nei compositi. Le costanti di trasporto del farmaco  $K$  e gli esponenti di trasporto  $n$  delle diverse formulazioni sono stati determinati adattando i dati di rilascio delle molecole modello all'equazione (2) utilizzando il software Microsoft Office Excel (Microsoft Corporation, Redmond,

USA). Il  $K$  e  $n$  sono stati determinati nell'intervallo di  $M_t/M_\infty$  0–60% [93].

#### 4.1.10 Test di rilascio di fertilizzanti

Il rilascio del fertilizzante dai compositi è stato valutato a intervalli di tempo specifici immergendo i campioni precedentemente pesati in acqua distillata a 25 °C. La resistenza elettrolitica della soluzione ottenuta è stata valutata mediante spettroscopia di impedenza elettrochimica (EIS) utilizzando un potenziostato AMETEK PARSTAT 2273 (Figura 43). I test sono stati eseguiti impiegando una cella a tre elettrodi utilizzando un elettrodo di lavoro in oro, una retina di platino come contro-elettrodo e un elettrodo di riferimento in Ag/AgCl saturo. I dati ottenuti sono stati elaborati grazie al software Power Suite. Le misurazioni EIS sono state eseguite a una gamma di frequenza da 100 kHz a 100 MHz e un'ampiezza potenziale di  $\pm 10$  mV rispetto al potenziale a circuito aperto (OCP). La resistenza elettrolitica delle soluzioni ( $R$ ) è stata quindi convertita in conducibilità ( $C$ ) secondo l'equazione:

$$C = \frac{1}{\rho} = \frac{R \cdot S}{l}$$

Dove  $\rho$  è la resistività,  $l$  è la lunghezza e  $S$  l'area della sezione trasversale dell'elettrodo di lavoro.

Il valore di conducibilità finale del fertilizzante in grani è stato considerato come rilascio del 100% e utilizzato come standard per ottenere la quantità di fertilizzante rilasciata dai dispositivi.



Figura 43 potenziostato AMETEK PARSTAT 2273

#### 4.1.11 Viscosità intrinseca

Con l'obiettivo di studiare gli effetti della lavorazione e della degradazione idrolitica la viscosità intrinseca, ( $\eta$ ), è stata misurata utilizzando un apparato Lauda (Germania, Figura 44) Proline PV 15 dotato di un viscosimetro capillare Ubbelohde ( $K = 0,009676$ ) immerso in un bagno d'olio a  $T = 30$  °C. I campioni sono stati prima disciolti in solvente per 3 h a temperatura ambiente sotto agitazione magnetica, e successivamente filtrati attraverso una pompa a vuoto. Successivamente, il polimero recuperato è stato essiccato e quindi sciolto nuovamente in solvente sotto agitazione per 1 h. La soluzione ottenuta alla concentrazione dello 0,13% (peso/peso) è stata quindi utilizzata per le misurazioni dei tempi di flusso nel capillare. I valori di viscosità intrinseca sono stati quindi calcolati utilizzando l'equazione Solomon-Ciuta [94]:

$$[\eta] = \frac{\sqrt{2}(\eta_s - \ln \eta_r)}{C}$$

Dove  $C$  è la concentrazione della soluzione polimerica,  $\eta_s$  e  $\eta_r$  sono rispettivamente la viscosità specifica e relativa.

La viscosità di ciascuna soluzione campione è stata ottenuta dalla media di tre misurazioni di flusso.

Il peso molecolare viscosimetrico medio,  $M$ , è stato calcolato utilizzando l'equazione di Mark-Houwink:

$$[\eta] = KM^\alpha$$

dove  $K$  e  $\alpha$  dipendono dallo specifico sistema polimero-solvente [95] .



*Figura 44 Lauda Proline PV 15*

#### *4.1.12 Test di assorbimento olio*

Le membrane elettrofilate sono state tagliate in pezzi quadrati ( $10 \times 10$  mm) e pesati. I campioni sono stati quindi immersi in 5 g di olio motore e lasciate scolare, su una griglia, in modo da eliminare l'eccesso di olio e successivamente pesati per valutare la quantità massima di olio assorbibile dalla membrana.

#### *4.1.13 Capacità di assorbimento*

La capacità di assorbimento delle membrane nanofibrose è stata valutata immergendo un campione di membrana elettrofilata (0,10 g) in una miscela acqua-olio contenuta in una capsula di Petri. Tutti gli esperimenti sono stati condotti a  $25^{\circ}\text{C}$ .

La capacità di assorbimento ( $Q$ ) può essere calcolata dall'equazione:

$$Q = \frac{W_{ab}}{W_i} \cdot 100$$

dove  $W_i$  è il peso iniziale della miscela di olio in acqua e  $W_{ab}$  è il peso dell'olio assorbito.

#### 4.1.14 Riutilizzabilità delle membrane

La capacità di assorbimento di olio delle membrane elettrofilate è stata monitorata per 4 cicli al fine di valutarne la riutilizzabilità. Dopo ogni ciclo di assorbimento le membrane sono state strizzate con carta assorbente e lavate con etanolo allo scopo di rimuovere l'olio assorbito. La variazione della capacità di assorbimento è stata considerata al fine di valutare la riutilizzabilità delle membrane.

#### 4.1.15 Modellazione teorica Halpin-Tsai

Il modello Halpin-Tsai è stato utilizzato per prevedere il comportamento meccanico dei materiali. Secondo questo modello, il modulo composito  $E_{C,HT}$  è determinato dalla seguente equazione:

$$E_{C,HT} = \frac{3}{8} E_L + \frac{5}{8} E_T$$

Dove  $E_L$  e  $E_T$  sono rispettivamente il modulo longitudinale e trasversale del composito.

In questo caso,  $E_L$  e  $E_T$  sono dati da:

$$E_L = E_m \left[ \frac{1 + \left(\frac{2l}{d}\right) \eta_L v_f}{1 - \eta_L v_f} \right]$$

$$E_T = E_m \left[ \frac{1 + 2\eta_T v_f}{1 - \eta_T v_f} \right]$$

Dove  $v_f$  e  $v_m$  sono le frazioni in volume di riempitivo e polimero,  $l/d$  è il rapporto di aspetto del riempitivo mentre  $\eta_L$  e  $\eta_T$  sono costanti date da:

$$\eta_L = \frac{(E_f/E_m) - 1}{(E_f/E_m) + \left(\frac{2l}{d}\right)}$$

$$\eta_T = \frac{(E_f/E_m) - 1}{(E_f/E_m) + 2}$$

Dove  $E_f$  ed  $E_m$  sono i moduli di young dei filler e del polimero.

Le frazioni in volume sono determinate dalle frazioni in peso e dalle densità di ciascun componente misurate sperimentalmente mediante picnometro ad elio.

La frazione di particelle riempite dal polimero (cioè la percentuale di intrafase) è stata stimata secondo l'Eq. (2):

$$\text{Intrafase \%} = \frac{\rho_{real} - \rho_{unfilled}}{\rho_{filled} - \rho_{unfilled}} * 100$$

Dove  $\rho_{real}$  è la densità dei compositi,  $\rho_{filled}$  è la densità teorica dei compositi considerando che tutte le particelle sono riempite dal polimero e  $\rho_{unfilled}$  è la densità teorica dei compositi considerando che nessuna delle particelle è riempita dal polimero. Questi due parametri sono stati valutati secondo le seguenti Eq. (9), (10):

$$\begin{aligned}\rho_{filled} &= \rho_{f-pyc} \phi_{f-pyc} + \rho_P \phi_P \\ \rho_{unfilled} &= \rho_{f-app} \phi_{f-app} + \rho_P \phi_P\end{aligned}$$

Dove  $\rho_{f-pyc}$  è la densità reale della carica (valutata al picnometro)  $\phi_{f-pyc}$  è la frazione volumetrica di riempitivo nei compositi, tenendo conto di quest'ultimo valore di densità;  $\rho_{f-app}$  è la densità apparente della carica;  $\phi_{f-app}$  è la frazione volumetrica della carica nei compositi, tenendo conto di quest'ultimo valore di densità.

#### Test di degradazione

Le prove di degradazione sono state effettuate immergendo dieci repliche di ogni campione a forma di disco con diametro di 10 mm e spessore di ~2 mm, in due diverse soluzioni tampone (pH = 7,4 e pH = 10) a 37 °C fino a 50 giorni. A intervalli di tempo predeterminati, i materiali sono stati pesati, sciacquati accuratamente con acqua distillata a temperatura ambiente, e successivamente essiccati

sottovuoto in forno per 24 h a  $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$ . Dopo l'essiccazione, i campioni sono stati pesati e il grado di massa residua ( $M_t$ ) calcolato come:

$$M_r = \frac{M_{t,dry}}{M_0}$$

Dove  $M_{t,dry}$  è il peso del campione secco in un dato momento e  $M_0$  il peso iniziale.

Naturalmente, il grado di perdita di massa può essere facilmente calcolato come il complementare di  $M_r$ .

L'assorbimento della soluzione è stato valutato con la seguente equazione:

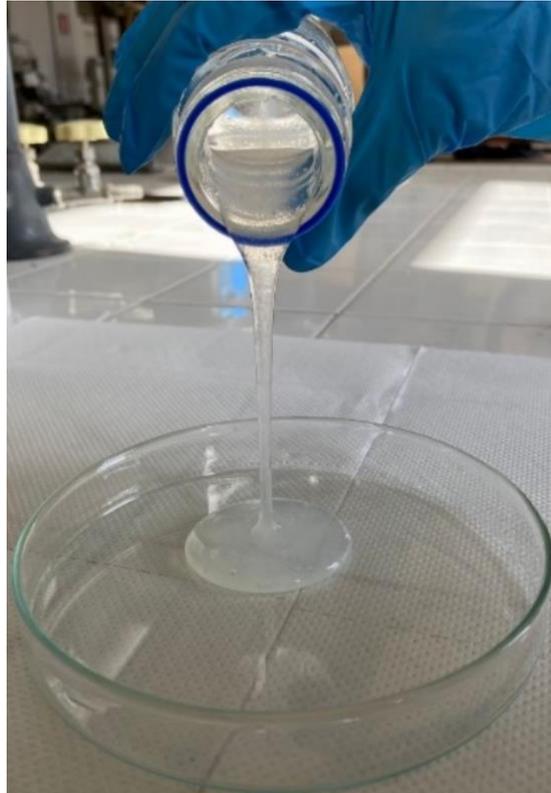
$$\text{Solution uptake} = \frac{M_{t,wet} - M_{t,dry}}{M_{t,dry}} * 100$$

in cui i termini  $M_{t,wet}$  e  $M_{t,dry}$  indicano rispettivamente il peso di ogni campione prima e dopo l'essiccazione.

## **4.2 Processi di produzione**

### **4.2.1 Solvent casting**

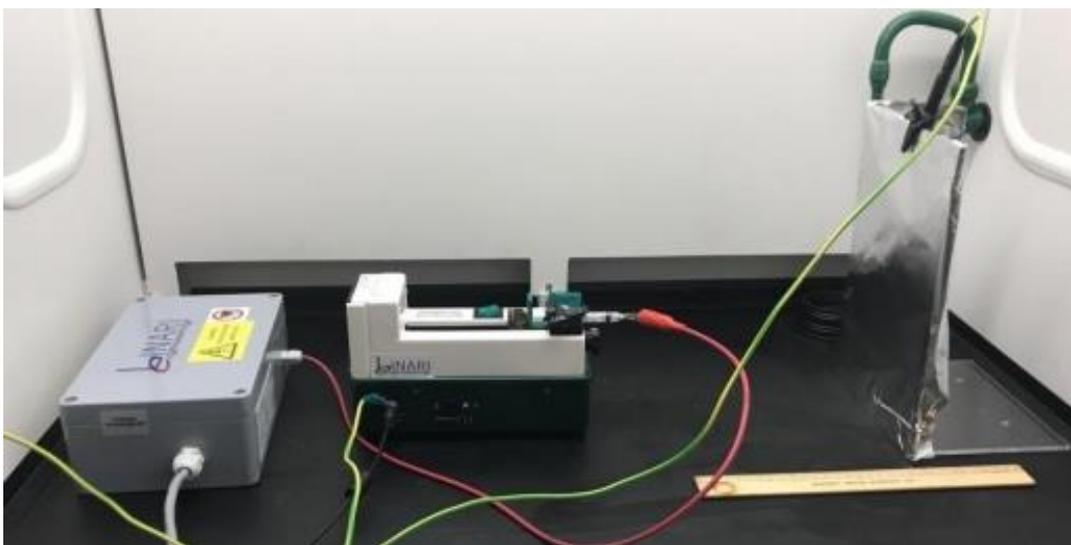
I film sono stati ottenuti versando le soluzioni polimeriche su Piastre di Petri di vetro con superficie ultra-liscia (Figura 45) e lasciando evaporare il solvente sotto cappa per una notte. Questo protocollo consente di fabbricare film con uno spessore estremamente uniforme ( $30 \pm 1 \text{ } \mu\text{m}$ ) senza irregolarità o pori.



*Figura 45 foto durante il processo di solvent casting per la produzione di un film di PLA*

#### 4.2.2 Electrospinning

La preparazione delle membrane elettrofilate è stata realizzata attraverso un'apparecchiatura di elettrofilatura convenzionale (Linari Engineering, Divisione Biomedica, Italia, Figura 46).



*Figura 46 electrospinning convenzionale Linari Engineering*

Le soluzioni polimeriche sono state versate in una siringa di vetro da 10 ml, dotata di un ago in acciaio inossidabile 19G e collegata ad una pompa a portata costante. Il processo di elettrofilatura è stato eseguito regolando i seguenti parametri: portata, alta tensione fornita, distanza tra punta dell'ago e collettore, temperatura e umidità relativa.

*L'elettrofilatura in wet* è stata realizzata mediante l'utilizzo di un ugello coassiale concentrico (Linari engineering) 19G e un collettore di tipo wet che consiste in un contenitore cilindrico riempito con acqua distillata a  $T=25^{\circ}\text{C}$  come in Figura 47 A.

*L'elettrofilatura con reticolazione in situ* è stata realizzata utilizzando un collettore *hot-plate* che consiste in una piastra riscaldata a  $T=180^{\circ}\text{C}$  come in Figura 47 B.

*L'elettrofilatura con solvent casting* è stata realizzata utilizzando un collettore cilindrico rotante rivestito da uno strato di film in PLA come in Figura 47 C.



Figura 47 A) ugello coassiale concentrico e collettore wet contenente acqua distillata a  $25^{\circ}\text{C}$ ; B) collettore hot-plate riscaldato alla temperatura di  $180^{\circ}\text{C}$ ; C) collettore rivestito da un film di PLA ottenuto mediante solvent casting

#### 4.2.3 Melt mixing

I biocompositi sono stati preparati mediante miscelazione allo stato fuso utilizzando un miscelatore interno Plasticorder, Brabender (Figura 48). Il materiale raccolto dopo la lavorazione è stato macinato ed essiccato in stufa prima di ogni successiva lavorazione.



*Figura 48 miscelatore interno Plasticorder, Brabender*

#### *4.2.4 Compression molding*

I campioni stampati a compressione sono stati ottenuti utilizzando una pressa da laboratorio Carver (Wabash, IN, USA, Figura 49) regolando opportunamente temperatura e pressione. Successivamente i campioni sono stati tagliati tramite l'utilizzo di una fustella, con geometria appropriata per le successive caratterizzazioni.



*Figura 49 pressa da laboratorio Carver*

#### 4.2.5 Estrusione

I processi di estrusione sono stati eseguiti tramite l'estrusore monovite HAAKE™ Poly Lab™ QC della Thermo Scientific (Figura 50).

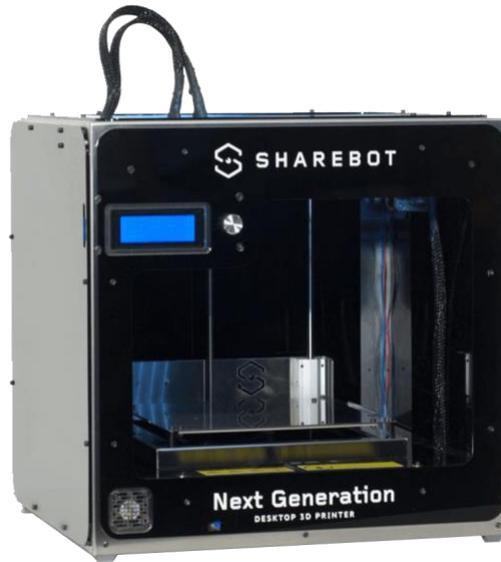
Per la produzione di filamenti destinati al processo di stampa 3D, l'estruso è stato stirato attraverso un lettino mobile (Figura 50). Regolando la velocità del lettino mobile è stato possibile ottenere filamenti di diametro circa pari a 1,75 mm (dimensione e richiesta dalla stampante 3D).



*Figura 50 a sinistra) estrusore monovite HAAKE™ Poly Lab™ QC della Thermo Scientific; a destra) tappeto rotante per regolare il diametro dei filamenti estrusi*

#### 4.2.6 Fused deposition modeling (FDM)

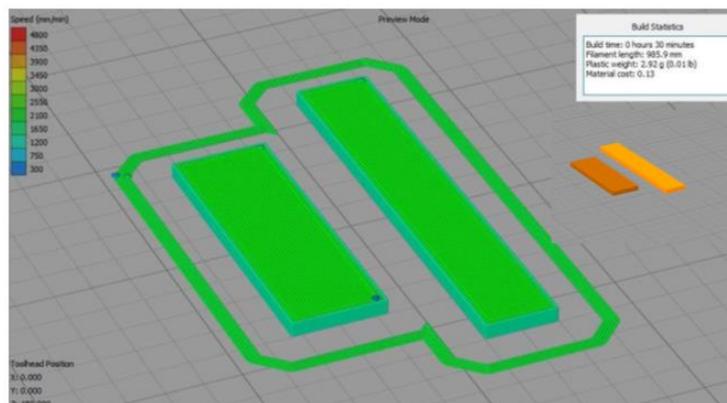
Il processo di FDM è stato realizzato tramite la stampante 3D Sharebot NG (Next Generation Sharebot Srl, Figura 51). Il file del modello da stampare digitalizzato in formato stl è stato elaborato tramite il software di simulazione di stampa Simplify3D®. I parametri operativi sono stati selezionati opportunamente al fine di ottimizzare la stampa dei vari compositi prodotti.



*Figura 51 stampante 3D, FDM, Sharebot, NG (Next Generation)*

In fase di prototipazione è stato realizzato un modello digitalizzato dei campioni da realizzare tramite FDM. I CAD sono stati creati con Solid Edge® 2019, software realizzato da Siemens PLM Software (Figura 52). Sono stati modellati campioni per le prove di caratterizzazione meccanica di trazione e di flessione e digitalizzati nel formato stl. Le dimensioni dei campioni di sono:

- 60mm x 10mm x 2mm, per i test di trazione
- 40mm x 13mm x 2mm per i test di flessione



*Figura 52 Simplify3D, software di gestione di stampa*

Il file del modello digitalizzato in formato stl è stato successivamente elaborato tramite software di simulazione di stampa. È stato utilizzato Simplify3D® come software per gestire gli stl dei campioni. In Figura 52 viene mostrata l'interfaccia del software e dei campioni realizzati per FDM.

## 5 Risultati e discussione

### 5.1 Dispositivi per il trattamento delle ferite cutanee: Metodo di processo two-steps per la realizzazione di un dispositivo drug-release multistrato

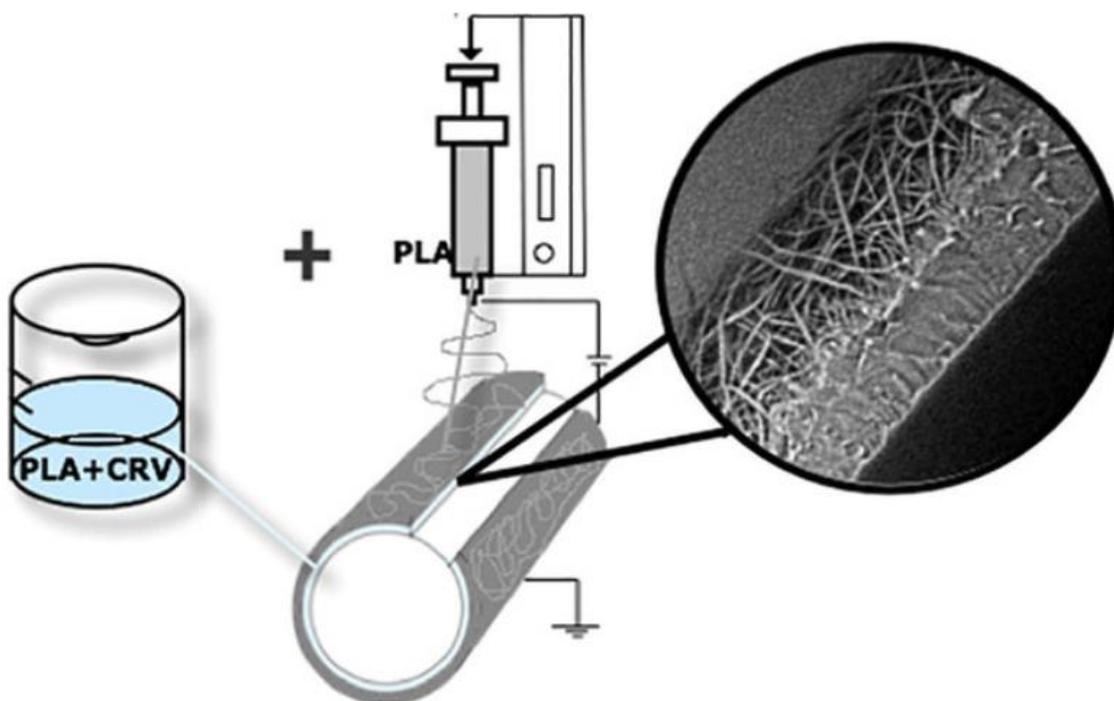


Figura 53 elaborazione di un dispositivo multistrato a base di PLA e carvacolo tramite processi combinati, in particolare, electrospinning e solvent casting

I dispositivi biopolimerici con strutture complesse, caratterizzate da variazioni discrete o uniformi di una data proprietà, sono ottenuti da processi dispendiosi in termini di tempo la cui ottimizzazione e controllo complessivi sono difficili da gestire.

La combinazione di diversi processi può consentire la possibilità di ottimizzare separatamente più variabili per ottenere proprietà modulari e raccogliere i punti di forza di ciascuna tecnica di elaborazione nella prospettiva di espandere il dispositivo finale in più campi di applicazione.

In questo studio viene riportata una strategia per la preparazione di un dispositivo laminare a base biopolimerica con morfologia e funzionalità customizzabili, utilizzando due materiali abbastanza comuni e relativamente economici, come il PLA, estremamente diffuso nella letteratura scientifica in virtù della la sua biocompatibilità, rinnovabilità e biodegradabilità, e un olio essenziale, il carvacolo (CRV), che ha recentemente stimolato un crescente interesse come agente antimicrobico naturale, antiossidante e antitumorale [83]–[89].

L'obiettivo di questo lavoro è dimostrare la possibilità di realizzare un dispositivo composto da due diversi tipi di strutture. In particolare, un film di PLA contenente carvacrolo (CRV) (utilizzato come molecola modello) e uno o due strati nanofibrosi costituiti da solo PLA, tramite l'accoppiamento di solvent casting ed elettrofilatura (Figura 53). Verrà discusso l'effetto della combinazione dei due tipi di processing sulle proprietà meccaniche e di rilascio e la possibilità di regolare tali proprietà target modulando le variabili operative. Il dispositivo realizzato potrà avere un enorme potenziale nel trattamento topico a lungo termine delle infezioni localizzate nei tessuti interstiziali/di contatto, tra cui la mucosa buccale, i disturbi vulvovaginali e gengivali [103], [104].

### *Materiali*

In questo lavoro sono stati utilizzati i seguenti materiali: PLA 2002D (Mw 215 kDa; contenuto di D-lattide 4%), acquistato da NatureWorks, olio di carvacrolo CRV (2-metil-5-(1-metiletil) -fenolo, densità = 0,977 g/L, purezza  $\geq 97\%$ ), cloroformio (CF), acetone (Ac) e tampone fosfato-salino (PBS), acquistato da Sigma Aldrich. Tutti i reagenti sono stati utilizzati come ricevuti.

### *Metodo di preparazione*

Film contenenti 86 wt% di PLA e 14 wt% di CRV sono stati ottenuti mediante solvent casting. In dettaglio, il CRV (976,7 mg) è stato aggiunto goccia a goccia a 60 mL di CF:Ac (2:1 in volume), successivamente 6 g di PLA sono stati aggiunti alla soluzione e completamente disciolti sotto agitazione durante la notte.

I film sottili sono stati ottenuti versando la soluzione su cilindri di vetro con superficie ultra-liscia. Questo protocollo permette di fabbricare film con spessore estremamente uniforme ( $30 \pm 1 \mu\text{m}$ ) senza irregolarità né pori. I film sono stati ritagliati in pezzi da 120 mm  $\times$  78,5 mm, pesati e arrotolati su un collettore rotante rivestito in alluminio e avente diametro pari a 25 mm (mostrato nella sezione dei processi). Successivamente, il collettore è stato utilizzato per la successiva operazione di elettrofilatura.

Per quanto riguarda il processo di elettrofilatura, la soluzione polimerica di partenza è stata ottenuta sciogliendo il PLA in miscela di CF/Ac (2:1 in volume). La soluzione è stata omogeneizzata con le stesse condizioni utilizzate per le soluzioni dei film in solvent casting. Successivamente tale soluzione è stata alimentata ad una siringa di vetro ed elettrofilata, venendo così depositata su un lato o su entrambi i lati dei film. Il processo è stato condotto a  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$  e 40% di umidità relativa utilizzando l'elettrospinning, già descritto nella sezione dei metodi di processo, equipaggiato di una filiera

multiago con 12 aghi paralleli e distanziati 50mm tra loro, in acciaio inox (G19). I parametri utilizzati per il processo di elettrofilatura sono i seguenti:

- portata = 2 mL/h;
- distanza collettore/ago= 15 cm;
- alta tensione fornita = 15 kV;
- velocità del mandrino rotante = 5 giri/min.

Inoltre, modificando il tempo di elettrofilatura da 5 a 10 min è stato possibile ottenere campioni a tre strati con differenti strutture morfologiche. In particolare, sono stati preparati quattro sistemi, codificati come segue:

ML: un film monostrato preparato mediante solvent casting contenente PLA + 14% CRV.

BL: una struttura a doppio strato, costituita da un film di PLA + 14% CRV preparato mediante solvent casting e una membrana fibrosa PLA preparata mediante 5 minuti di elettrofilatura.

TL-5: una struttura a tre strati, costituita da un film di PLA + 14% CRV e due membrane fibrose esterne a base di PLA elettrofilate per 5 minuti.

TL-10: un film a tre strati costituito da un film interno di PLA + 14% CRV e due membrane fibrose di PLA esterne elettrofilate per 10 minuti. La rappresentazione delle diverse strutture realizzate può essere osservata in Figura 54.

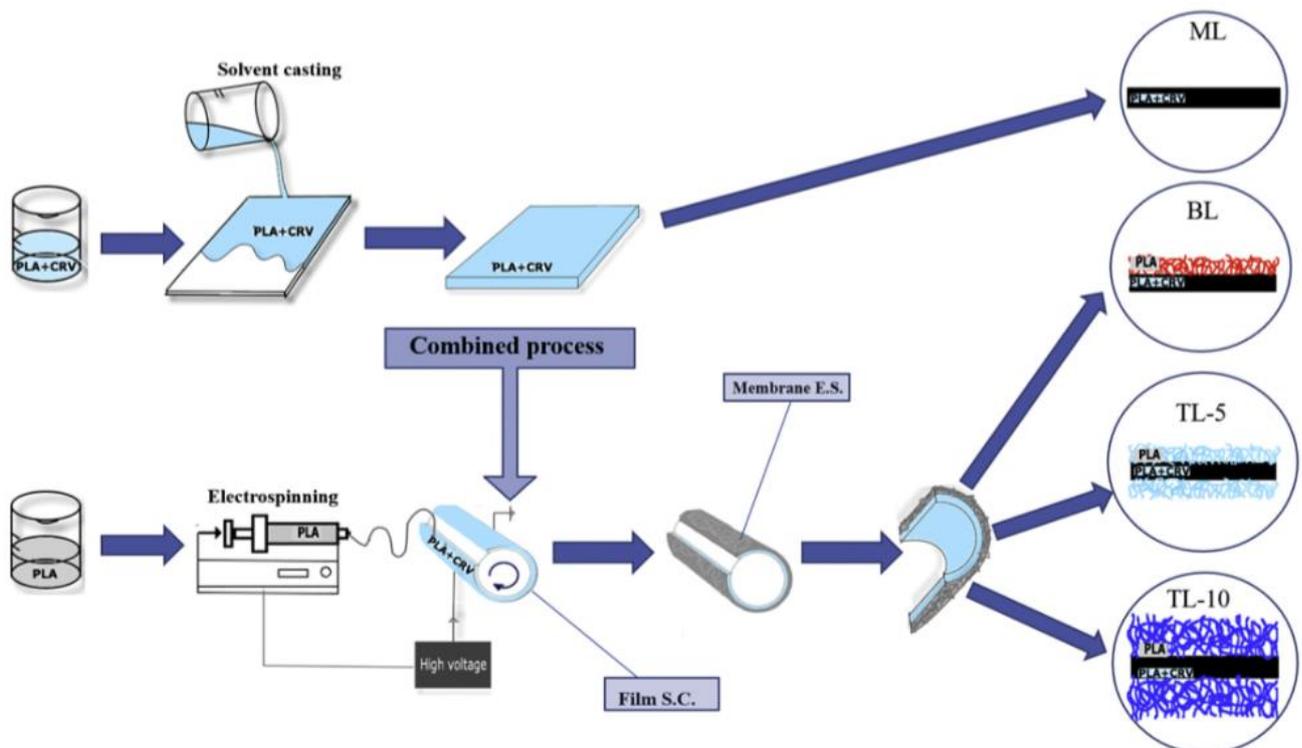


Figura 54 schema di processo dei dispositivi realizzati

Accoppiando l'elettrofilatura e solvent casting, è stato possibile ottenere dispositivi *skin-core* a doppio o a triplo strato, costituiti da un *core* di film in PLA (realizzato mediante solvent casting) e *skin* di nanofibre in PLA (realizzate mediante elettrofilatura).

### Risultati e discussione

La Figura 55 mostra le immagini SEM delle sezioni trasversali dei campioni. La sezione trasversale di ML ( riquadro A) mostra uno spessore uniforme di circa 30  $\mu\text{m}$ , confermando l'ottima affinità reciproca tra PLA e CRV.

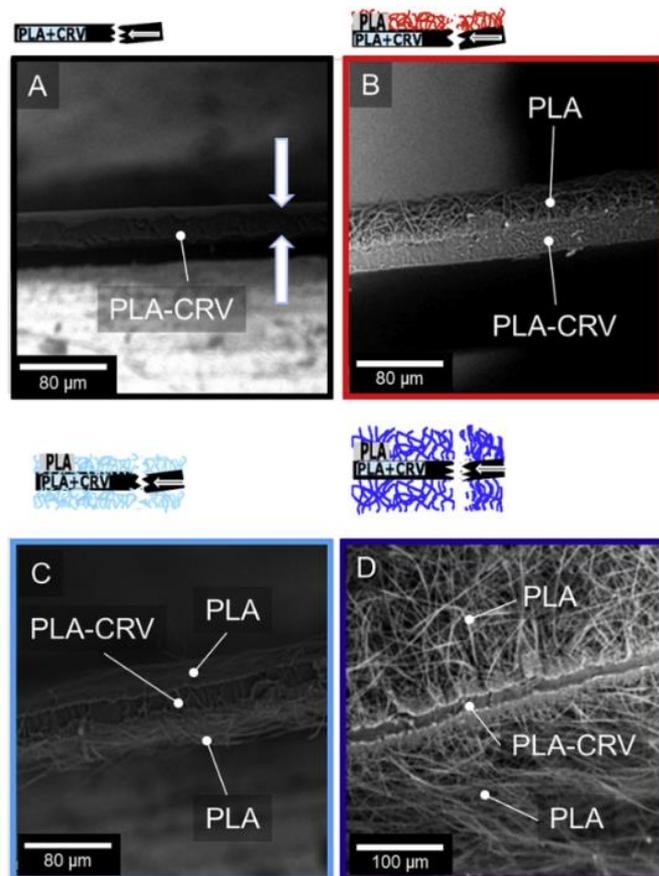


Figura 55 immagini al SEM delle superfici delle sezioni trasversali di a) ML, b) BL, c) TL-5, d) TL-10

La morfologia del campione BL, riportata nel pannello B, dimostra l'efficacia della lavorazione combinata. Infatti, è chiaramente visibile l'adesione di uno strato nanofibroso sul film di PLA. Inoltre,

il campione mostra un'interfaccia uniforme. La sezione trasversale di TL-5, fornita in Figura 55 C, mostra una struttura *core-skin*, con *core* di PLA racchiuso tra due strati nanofibrosi del medesimo. TL-10 (Figura 55 D) mostra la stessa struttura di TL-5, ma in quest'ultimo caso lo spessore degli strati fibrosi esterni è aumentato drasticamente in modo tale da superare 100  $\mu\text{m}$ . Anche in questo caso si osserva una buona adesione tra l'interfaccia film-nanofibre, con entrambi gli strati nanofibrosi perfettamente aderenti al film di PLA-CRV.

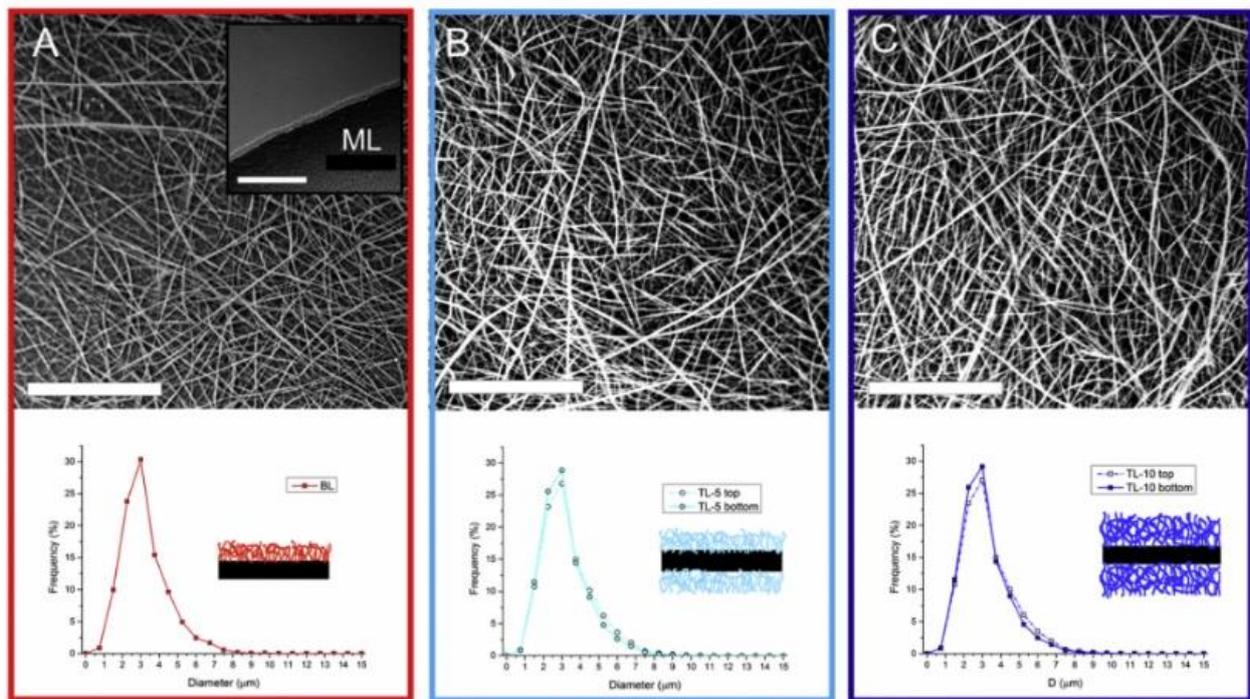


Figura 56 immagini al SEM delle superfici di A) BL, B) TL-5 e C) TL-10 e le rispettive distribuzioni dei diametri

L'analisi di immagine è stata eseguita sulle superfici di ciascuno campione. In figura 56 A–C sono riportate le immagini delle superfici di BL, TL-5 e TL-10, insieme alla distribuzione dei diametri (DSD). Inoltre, in alto a destra del pannello A è stata inserita un'immagine del ML per confronto. Per i tre strati, la DSD è stata valutata su entrambi i lati, per assicurarsi che non ci fossero discrepanze tra il lato superiore e inferiore del dispositivo, infatti, PLA/CRV e PLA si comportano come isolanti elettrici pertanto potrebbero verificarsi cambiamenti morfologici dello spessore del campione durante l'elettrofilatura. In particolare, l'architettura delle membrane nanofibrose è risultata essere estremamente simile per tutti i campioni, con un rivestimento di fibre uniforme e omogeneo. Un altro aspetto rilevante è l'omogeneità delle fibre, in particolare, tutti i campioni presentano distribuzioni

unimodali, con massimi di 3  $\mu\text{m}$ , e quindi valori medi simili. Anche i campioni a tre strati hanno mostrato le stesse caratteristiche su entrambi i lati. Lo spessore elevato degli strati nanofibrosi isola maggiormente il collettore dalla siringa, questo comporta un aumento di diametro medio delle fibre dei dispositivi a due e tre strati rispetto a quelle di ES-PLA.

Al fine di rilevare possibili variazioni della bagnabilità superficiale, le misurazioni di WCA sono state eseguite e mostrate in Figura 57.

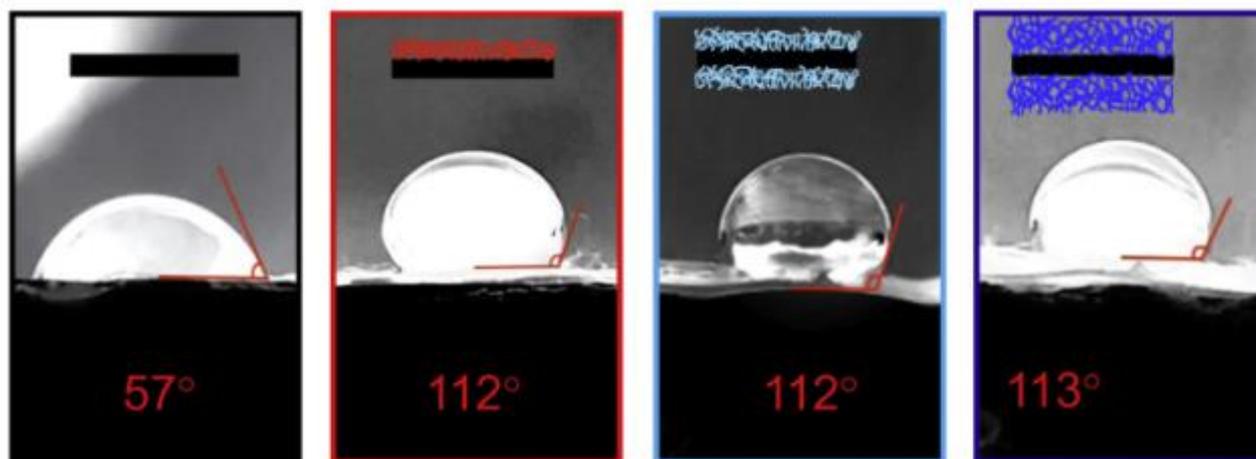


Figura 57 immagini dei test WCA di ML, BL, TL-5, TL-10

ML mostra un carattere idrofilo ( $\text{WCA} = 57^\circ$ ) dovuto alla presenza di CRV. Infatti, il WCA del PLA puro lavorato allo stesso modo (sc-PLA) è pari a  $74^\circ$ . Il rivestimento fibroso ha portato a valori WCA più elevati, nel range di  $112\text{--}113^\circ$ . Questa caratteristica era comunque prevedibile, poiché, al di là dell'assenza di CRV nelle membrane elettrofilate, è noto che la rugosità delle strutture nanofibrose migliora l'idrofobicità [92].

Le curve sforzo-deformazione registrate durante le prove di trazione di ML, BL, TL-5 e TL-10 sono riportati in Figura 58. Inoltre, per confronto è stata inserita la curva sforzo deformazione di una membrana di PLA elettrofilata (ES-PLA). Tutti i campioni mostrano un comportamento duttile con fenomeni di *strain-hardening* [106], [107]. Analizzando le curve, è possibile osservare che l'elasticità tende a diminuire all'aumentare del rapporto fibre/film e all'aumentare del numero degli strati fibrosi e del loro spessore. In genere i valori di resistenza a trazione delle membrane nanofibrose sono molto inferiori a quelli dei film, a causa delle differenti densità. Uno sguardo più in dettaglio della regione a bassa deformazione è fornito nel riquadro della Figura 58, in particolare ES-PLA mostra rigidità più alta, mentre ML è il campione meno rigido, a causa dell'effetto plastificante del CRV. BL, TL-5 e TL-10 presenta moduli elastici intermedi tra quelli di ML ed ES-PLA.

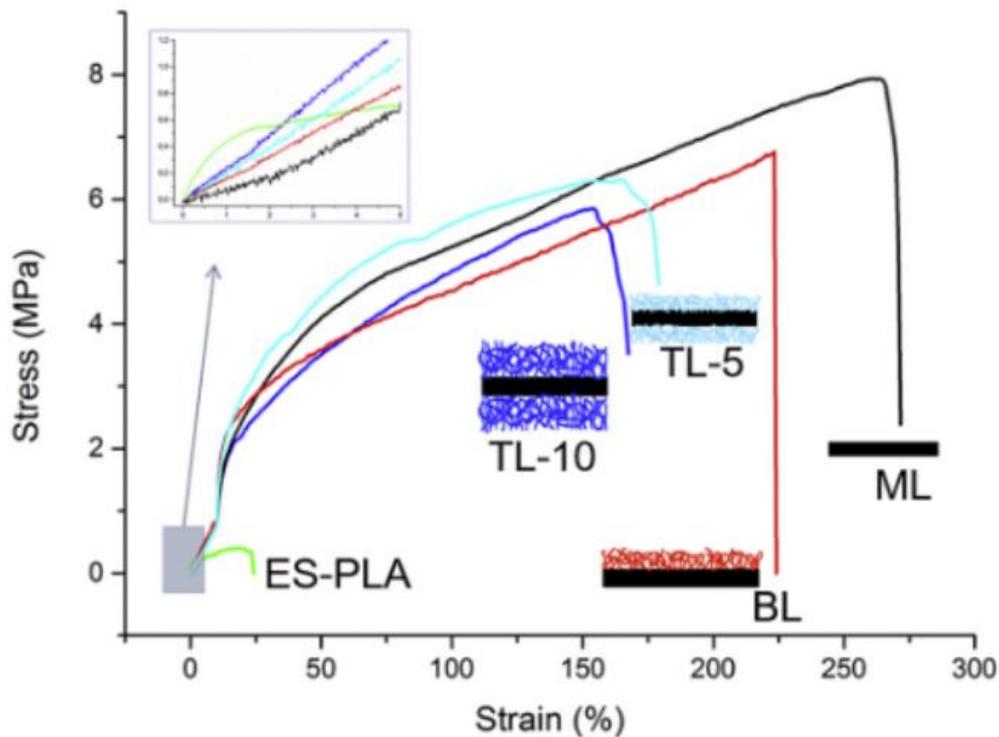


Figura 58 curve sforzo deformazione dei sistemi ES-PLA, ML, BL, TL-5, TL-10

Per valutare quantitativamente l'effetto della lavorazione combinata sulle prestazioni meccaniche di tali strutture, i valori di  $E$ ,  $TS$  e  $EB$  derivati da prove di trazione sono stati riportati nella Tabella 2. Anche in questo caso, è stato riscontrato che la rigidità aumenta con l'aumento del contributo del PLA fibroso e con la conseguente diminuzione della concentrazione complessiva di CRV. Al di là delle differenze osservate, è interessante notare che le proprietà di rottura dei laminati BL, TL-5 e TL-10 sono sostanzialmente governati dallo strato di film di PLA. Quindi un aspetto rilevante è quello di accoppiare la superficie specifica estremamente elevata delle superfici nanofibrose con le prestazioni meccaniche più elevate dei film realizzati tramite solvent casting.

Tabella 2 valori delle performance meccaniche dei sistemi ML, BL, TL-5, TL-10, ES-PLA

Sample	E (MPa)	TS (MPa)	EB (%)
ML	19.1 ± 3.0	7.54 ± 1.1	260 ± 35
BL	23.7 ± 3.2	5.95 ± 0.5	225 ± 40
TL-5	27.2 ± 4.1	5.84 ± 1.2	185 ± 20
TL-10	34.8 ± 4.8	6.01 ± 1.2	172 ± 25
ES-PLA	49.3 ± 4.7	0.8 ± 0.2	24 ± 4

L'analisi FTIR/ATR è stata effettuata allo scopo di rilevare la presenza di CRV. Spettri FTIR raccolti nell'intervallo da 4000–400  $\text{cm}^{-1}$  sono mostrati in Figura 59A. Sebbene tutti i campioni mostrino le bande caratteristiche del PLA, come quelle centrate a 1750  $\text{cm}^{-1}$  e 1150–1000  $\text{cm}^{-1}$ , riferiti rispettivamente allo stretching C=O e C–O, è possibile riconoscere l'eventuale presenza di CRV monitorando la banda centrata a 814  $\text{cm}^{-1}$ , che è descritta dall'anello aromatico del CRV [108]. L'ingrandimento di questa regione spettrale è fornito in Figura 59 B. In particolare, l'assorbanza di tale banda è risultata più intensa in ML, mentre decrescente per BL e TL-5, che mostravano lo stesso valore di intensità (si noti che per BL l'analisi è stata eseguita su strato fibroso, come indicato dalle frecce nella rappresentazione (in Figura 59 B)). In TL-10, non è stato possibile rilevare alcun picco caratteristico di CRV.

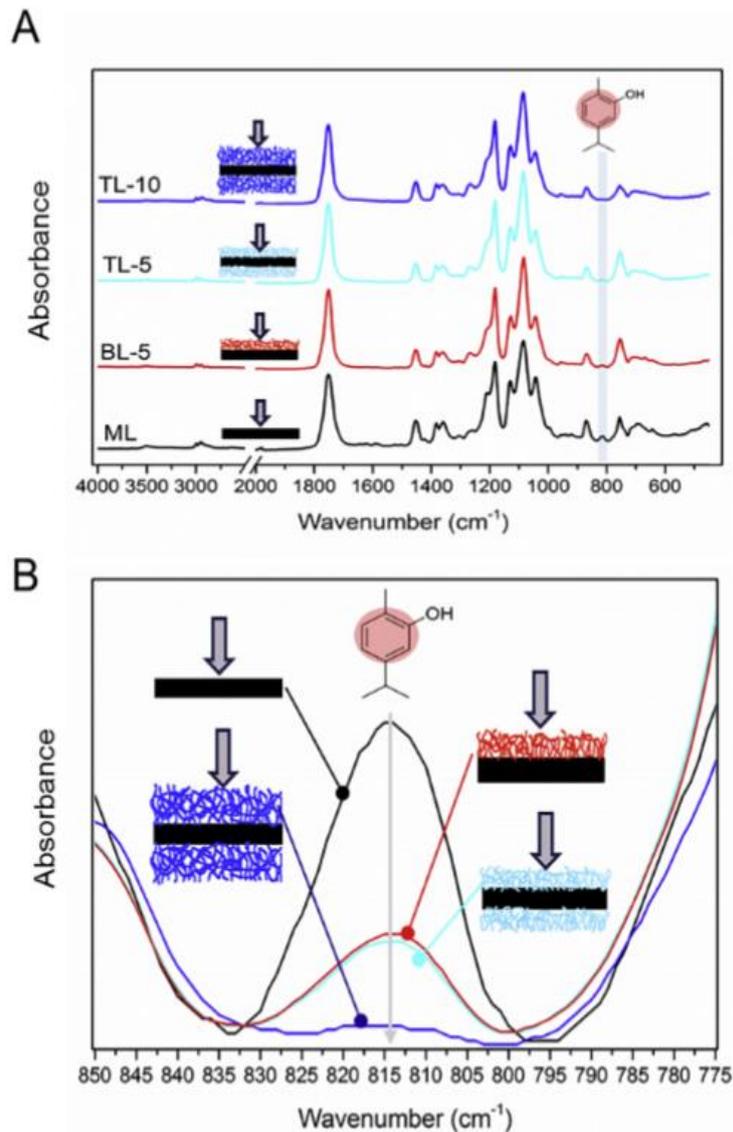


Figura 59 A) spettri FTIR dei sistemi ML, BL-5, TL-5, TL-10 B) ingrandimento della regione spettrale relativo al picco di carvacolo

Questi dati possono essere spiegati considerando due fattori: in primo luogo, l'analisi ATR è una caratterizzazione di superficie, la cui capacità di penetrazione in profondità è ragionevolmente inferiore allo spessore dello strato fibroso di TL-10 [109]; in secondo luogo, sebbene tutti i campioni contengano la stessa quantità di CRV per unità di superficie, essendo uguale allo strato intermedio, è ovvio che, aumentando il volume del rivestimento fibroso costituito da solo PLA, la concentrazione di CRV tende a decrescere, passando progressivamente da 14 wt% (ML) a circa il 4 wt% (TL-10). La capacità di rilascio controllato di CRV dei dispositivi è stata studiata monitorando la lunghezza d'onda di assorbimento UV a 273 nm di CRV a vari intervalli di tempo [108]. La Figura 60 fornisce il rilascio cumulativo di CRV espresso come il rapporto  $M_t/M_{loaded}$  al tempo di immersione, con  $M_t$  e

$M_{loaded}$  che indicano rispettivamente la quantità di CRV rilasciata in un dato momento  $t$ , e la quantità di CRV teoricamente inglobata nel dispositivo.

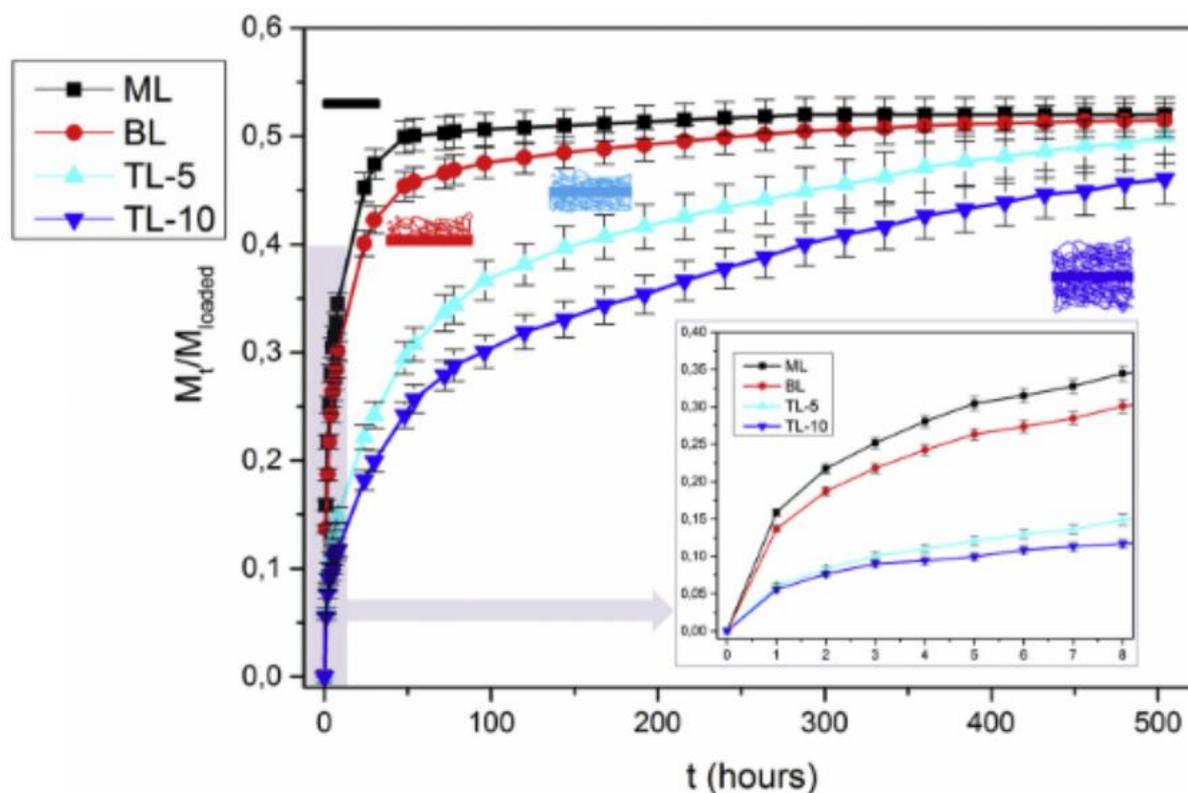


Figura 60 il rilascio cumulativo di CRV espresso come il rapporto  $M_t/M_{loaded}$  al tempo di immersione dei sistemi ML, BL, TL-5, TL-10

ML mostra il tipico comportamento di rilascio dei film sottili, caratterizzato da un rilascio di tipo *burst* nella prima parte delle curve, quando la forza spingente è superiore, e un successivo plateau, associato al progressivo esaurimento della molecola modello dopo un certo intervallo di tempo. Vale la pena notare che dopo 300 h non si osservava più alcuna attività di rilascio.

Pertanto, l'importo massimo di CRV rilasciato era di circa il 50% dell'importo teorico inglobato, ovvero il CRV inizialmente aggiunto nella soluzione polimerica utilizzata per il solvent casting.

Rispetto a ML, BL mostra un comportamento di rilascio sostanzialmente simile, essendo però caratterizzato da un *burst release* leggermente inferiore ed uno inferiore plateau a intervalli di tempo più elevati.

TL-5 e TL-10 mostrano una progressiva riduzione di rilascio *burst* con maggiori capacità di mantenere un rilascio prolungato per tutto il tempo di indagine.

Mirando ad un'analisi più dettagliata del meccanismo di rilascio, i dati sperimentali sono stati adattati secondo il modello Peppas-Korsmeyer [110]–[113]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n$$

dove  $t$  il tempo di rilascio,  $k$  è una costante cinetica correlata alle proprietà del sistema di somministrazione del farmaco, e  $n$  è l'esponente di diffusione che è un indicatore sul meccanismo di rilascio.

$M_\infty$  è la massa erogata al momento dell'esaurimento, solitamente calcolata come il valore della massa cumulativa rilasciata a saturazione [113]. All'interno del tempo sperimentale studiato, ML e BL sono stati gli unici campioni che mostravano un plateau, con  $M_\infty$  pari a circa il 50% rispetto alla quantità caricata di CRV, mentre il tempo totale di rilascio di TL-5 e TL-10 supera ragionevolmente le 550 ore. Per tutti i campioni il rilascio è stato espresso come  $M_t/M_\infty$  calcolato a saturazione. La Figura 61 fornisce il  $\log M_t/M_\infty$  tracciati in funzione di  $\log t$  per ciascuno campione. I dati di rilascio sono stati adattati utilizzando l'Eq. (1).

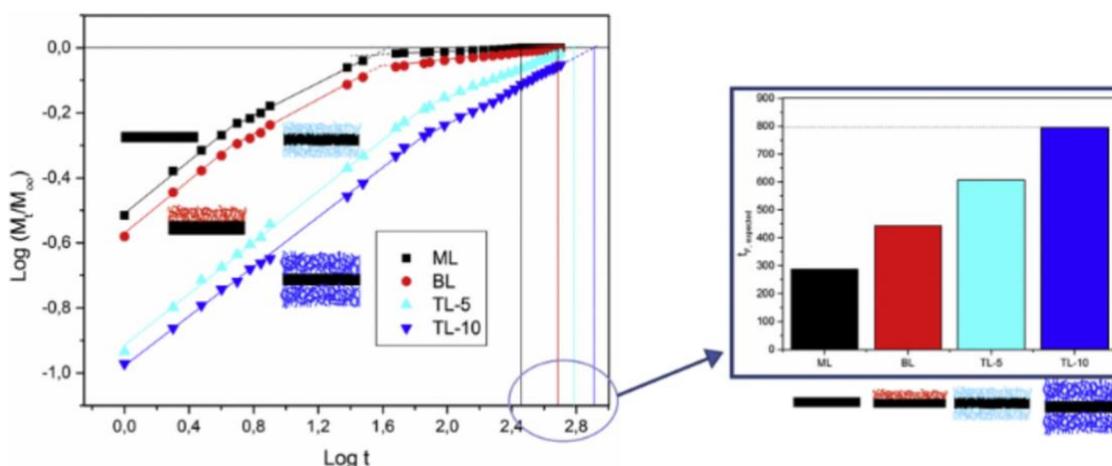


Figura 61 Cinetica di rilascio adattata secondo il modello Peppas-Korsmeyer, insieme al tempo di esaurimento previsto.

Vale la pena notare che il modello Peppas-Korsmeyer si riferisce all'ideale condizione delle molecole di farmaco omogeneamente disperse in tutta la matrice polimerica, ed è applicabile solo nella parte iniziale di ciascuna curva, cioè per  $M_t/M_\infty < 0,6$  [101].

Tabella 3 Significato fisico dell'esponente n

Release exponent (n) *	Drug transport mechanism
$n \leq 0.5$	Fickian diffusion (Case I)
$0.5 < n < 1.0$	Anomalous transport
$n = 1.0$ (**)	Case II transport
$n > 1.0$	Super case II transport

\* for thin films, \*\* zero order release.

Tuttavia, analizzando la pendenza e l'intercettazione delle rette nel primo intervallo, è possibile calcolare n e k. Il significato fisico di n fornisce informazioni sul meccanismo di rilascio, come elencato nella Tabella 3.

Tabella 4 Informazioni principali fornite dalla legge del modello di potenza che si inserisce nell'intervallo di *burst*.

Sample	Burst interval (Peppas-Korsmeyer)		
	n	k	R <sup>2</sup>
ML	0.403	0.309	0.999
BL	0.405	0.271	0.999
TL-5	0.394	0.128	0.999
TL-10	0.380	0.118	0.999

Per quanto riguarda l'intervallo di *burst*, tutti i campioni mostrano un meccanismo di rilascio con valori n simili, mentre differiscono tra loro per valori di k, che dipende dalla geometria dei campioni[98], [100]. Tutti i campioni possiedono lo stesso diametro e sostanzialmente lo stesso strato di film, ma lo spessore totale è diverso. L'analisi della variazione di k evidenzia che è possibile controllare facilmente il comportamento di rilascio regolando lo spessore della superficie fibrosa (Tabella 4). Inoltre, è possibile stimare la durata del rilascio di ogni dispositivo, per tempi superiori

a quelli di analisi, attraverso l'intersezione dell'ascissa tra la retta di fitting e l'ordinata  $\log \frac{M_t}{M_\infty} = 0$ .

I tempi di fine rilascio dei dispositivi sono riportati nel pannello di destra della Fig.62. La durata del rilascio di ML è risultata essere 288 h, mentre il tempo di rilascio di BL, TL-5 e TL-10 era rispettivamente di 444, 607 e 795 h. Questo implica che 10 min (5 min per lato) o 20 min (10 min per lato) di elettrofilatura sono sufficienti per raddoppiare o quasi triplicare la durata del rilascio del dispositivo.

Una possibile spiegazione di questo interessante comportamento potrebbe essere giustificata da due fenomeni, in particolare:

- (i) la bagnabilità della superficie è stata profondamente influenzata dal rivestimento nanofibroso, che ne aumenta l'idrofobicità, ostacolando così la penetrazione del solvente;
- (ii) le nanofibre di PLA hanno aderito al film fungendo così da rivestimento protettivo, costringendo le molecole di CRV a dover seguire un percorso più lungo e tortuoso per essere rilasciate

Con l'obiettivo di valutare la morfologia e l'adesione degli strati post rilascio è stata effettuata un'analisi SEM. Le immagini dei campioni sottoposti a immersione in PBS per 550h sono mostrate in Figura 62. È possibile notare che l'adesione tra gli strati viene mantenuta inalterata dopo 550 h di immersione.

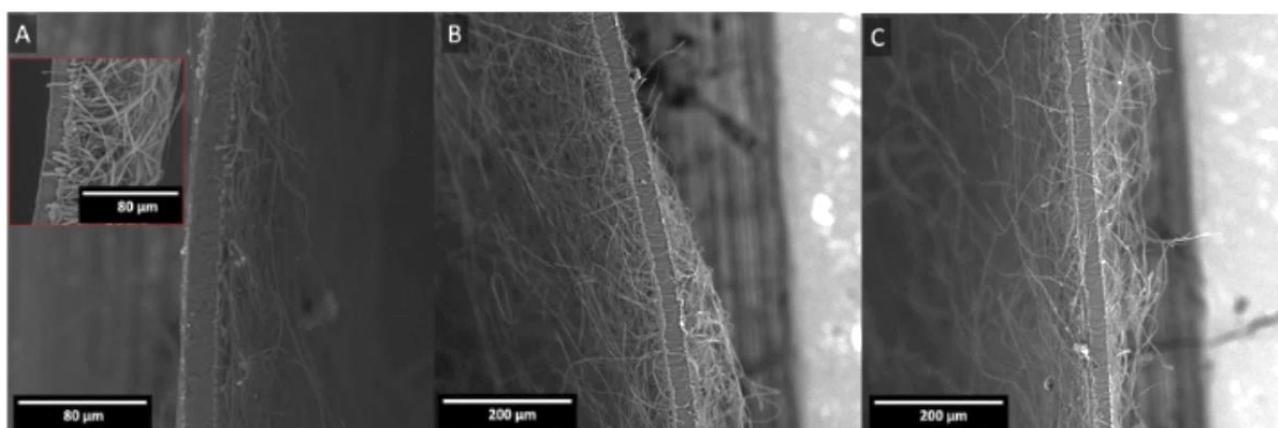


Figura 62 immagini SEM dei campioni sottoposti a immersione in PBS per 550h

Ciò potrebbe significare che gli strati esterni sono in grado di dotare il dispositivo di uno strato idrofobico durevole che funge anche da agente di *capping*, costringendo così le molecole CRV a

seguire un percorso più lungo prima di essere diffuso dagli strati esterni. Inoltre, la diffusione di CRV diventa progressivamente più uniforme all'aumentare dello spessore degli strati elettrofilati. Gli strati fibrosi che fungono da *capping*, infatti, sono in grado di ostacolare il *burst* nella fase iniziale del rilascio. La tecnica *two-steps* proposta in questo lavoro rappresenta un buon compromesso tra costo-efficacia-rapidità potenzialmente utile per la produzione di dispositivi a rilascio prolungato per il trattamento topico di infezioni fungine e batteriche in ambienti esterni o tessuti interstiziali.

### *Conclusioni*

In questo lavoro sono stati realizzati dei dispositivi multilayer a base biopolimerica mediante l'utilizzo del metodo *two-steps*. La presenza di strati nanofibrosi, soprattutto nelle strutture TL-10, ha dimostrato di riuscire a ridurre progressivamente il rilascio di tipo *burst* nella fase iniziale. Inoltre, è stata trovata una correlazione tra lo spessore degli strati fibrosi e la cinetica di rilascio, suggerendo così che la regolazione di variabili semplici, come il tempo di elettrofilatura, consente un controllo avanzato sulle proprietà e sulla cinetica di rilascio dei dispositivi. Tali dispositivi, potrebbero essere particolarmente promettenti per il trattamento topico di malattie e infezioni. Inoltre, questa tecnica di produzione *two-steps* permette di combinare le ottime proprietà meccaniche di un film con l'elevata area superficiale dei materiali nanofibrosi.

## 5.2 Dispositivi per il trattamento delle ferite cutanee: Metodo di processo one-step per la realizzazione di un dispositivo drug release con struttura graduata.



Figura 63 dispositivo a base di PVA ottenuto da processo one-step tramite elettrofilatura e reticolazione progressiva in situ

Negli ultimi tempi, il PVA ha attirato molta attenzione nelle applicazioni biomediche grazie alle sue proprietà uniche come la solubilità in acqua, la promettente biodegradabilità e l'eccellente biocompatibilità [36]. Tra tutte le potenziali applicazioni in questo campo, il rilascio controllato di farmaci è una delle più studiate [115]–[121]. Inoltre, poiché il PVA ha molti gruppi ossidrilici, le sue proprietà meccaniche e l'antisolubilità in acqua possono essere migliorate mediante reticolazione termica o chimica. La reticolazione, infatti, può modificare drasticamente l'idrofilia delle membrane e, di conseguenza, la loro solubilità. Pertanto, le membrane PVA possono essere modificate al fine di ottenere profili di rilascio di farmaci desiderabili variando il grado di reticolazione. Nonostante la reticolazione chimica consenta di raggiungere facilmente un'eccellente stabilità della membrana, spesso comporta un aumento dei costi di produzione e potenziali effetti tossici [122]–[124]. Pertanto, lo sviluppo e l'ottimizzazione di un percorso semplice, *one-step*, a basso costo, non tossico ed ecologico per la reticolazione del PVA è una sfida importante. Inoltre, l'incorporazione di rinforzi di dimensioni nanometriche in una matrice è una delle strategie di maggior successo per migliorare le prestazioni dei biopolimeri. È stato dimostrato che la presenza di nanoparticelle nella matrice potrebbe regolare il rilascio di farmaci di tali dispositivi. Tra questi, i *nanoplatelets* di grafene (GNP) [125]–[128], appartenenti alla famiglia dei *nanocarbons*, sono comunemente utilizzati come riempitivi nei nanocompositi a base di polimeri, con l'obiettivo di migliorare le prestazioni meccaniche e di dotare i materiali di conducibilità elettrica, proprietà elettromagnetiche e conducibilità termica [129]–[131]. Pertanto, la presenza di GNP potrebbe potenziare l'effetto della

reticolazione termica sulle membrane nanofibrose, modificando così la cinetica di rilascio del farmaco.

Al fine di ottenere una cinetica di rilascio del farmaco più versatile, lo sviluppo di strutture multistrato con gradiente di solubilità longitudinale potrebbe essere una strategia efficace. In particolare, gli strati più solubili potrebbero fornire un rilascio rapido del farmaco (ad esempio utili per alleviare il dolore o prevenire la crescita batterica) mentre quelli meno solubili potrebbero essere adatti per garantire la somministrazione di farmaci a lungo termine.

La clorexidina (CHX) è un agente antibatterico attivo nei confronti di molti ceppi batterici, inoltre, la temperatura di disattivazione è sufficientemente elevata da essere fusa insieme al PVA ed essere compatibile con i trattamenti di reticolazione termica.

In questo lavoro viene riportato un percorso *one-step*, semplice e green per migliorare la stabilità delle membrane multistrato PVA in ambiente acquoso, al fine di ottenere un efficiente sistema di rilascio controllato. In dettaglio, una piastra riscaldata è stata utilizzata come collettore dell'apparato di elettrofilatura con l'obiettivo di ottenere una reticolazione progressiva *in situ* delle fibre di PVA (Figura 63). Per motivi di confronto, le membrane sono state anche preparate a 25 ° C e, infine, sottoposte a trattamento termico in stufa, *post-processing*, per ottenere la reticolazione di massa.

È stata investigata la possibilità di regolare il rilascio di CHX, scelto come molecola modello, da membrane PVA e PVA/GNP modificandone le caratteristiche morfo-chimiche attraverso diverse tecniche di trattamento termico.

#### *Materiali e metodi di preparazione*

Alcool polivinilico (PVA, Mw 89000–98000 Da, 99+% idrolizzato) e clorexidina (CHX) sotto forma di sale diacetato (formula chimica:  $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot (C_2H_4O_2)_2$ ,  $T_m = 155 \text{ °C}$ , solubilità in acqua = 19 g/L a 20°C) sono stati acquistati da Sigma-Aldrich. I *nanoplatelets* (GNP), nome commerciale xGnP®, Grado C, sono state fornite da XG Sciences Inc., Lansing, MI, USA. Ciascuna particella è costituita da diversi fogli di grafene con uno spessore medio di circa 10–20 nm, una larghezza media compresa tra 1 e 2 μm e una superficie specifica di circa 750 m<sup>2</sup>/g. Tutti i componenti sono stati utilizzati come ricevuti. Sono stati adottati quattro diversi tipi di formulazione e tre diversi percorsi per preparare dodici campioni, il cui codice campione, composizione e tecnica di preparazione sono elencati nella Tabella 5.

Tabella 5 codice campione, composizione e tecnica di preparazione dei sistemi ottenuti

Codename	Formulation			Preparation route	
	PVA (wt.%)	CHX (wt.%)	GNP (wt.%)	Processing	Time (hours)
<b>PVA_N</b>	100	-	-		
<b>PVA/CHX_N</b>	98	2	-	Electrospinning	2
<b>PVA/GNP_N</b>	99	-	1	at 25°C	
<b>PVA/CHX-GNP_N</b>	97	2	1		
<b>PVA_O</b>	100	-	-	Electrospinning	
<b>PVA/CHX_O</b>	98	2	-	at 25 °C plus	
<b>PVA/GNP_O</b>	99	-	1	post-processing	2+2
<b>PVA/CHX-GNP_O</b>	97	2	1	treatment in oven at 180 °C	
<b>PVA_P</b>	100	-	-	In situ thermal	
<b>PVA/CHX_P</b>	98	2	-	treatment	
<b>PVA/GNP_P</b>	99	-	1	(180 °C)	2
<b>PVA/CHX-GNP_P</b>	97	2	1	during electrospinning	

Per tutti i sistemi, il PVA (12 wt%) è stato sciolto in acqua deionizzata a 95 °C sotto vigorosa agitazione per 4 h. Per la preparazione delle nanomembrane composite sono stati aggiunti, alla soluzione polimerica, rispettivamente CHX e/o GNP al 2 wt% e 1 wt% (rispetto al PVA).

Ciascuna soluzione polimerica è stata quindi versata in una siringa di plastica da 10 ml dotata di un ago metallico 16-G ed elettrofilata su un collettore collegato a terra avvolto in un foglio di alluminio, utilizzando l'apparecchiatura di elettrofilatura descritta nel capitolo precedente. Le seguenti condizioni operative sono state mantenute costanti per tutti i campioni:

- velocità di alimentazione = 3 ml/h
- tensione applicata = 20 kV
- distanza ago-collettore = 15 cm
- tempo di elettrofilatura = 2 h

Le membrane delle serie N, O e P differiscono tra loro per alcuni parametri cruciali, come mostrato nella Tabella 5. Più in dettaglio; I campioni della serie N, presi come riferimento, sono stati ottenuti mediante elettrofilatura a  $T = 25 \pm 3$  °C; I campioni della serie O sono stati ottenuti da quelli della serie N tramite un trattamento termico di post-elaborazione, effettuato in stufa a 180 °C per 2 h, con

lo scopo di ottenere la totale reticolazione delle membrane nanofibrose; I campioni della serie P, invece, sono stati preparati mediante elettrofilatura delle soluzioni su un collettore con messa a terra riscaldato a 180 ° C, con l'obiettivo di eseguire un trattamento termico *one-step*. La Figura 64 fornisce uno schema dei processi elaborati in questo studio

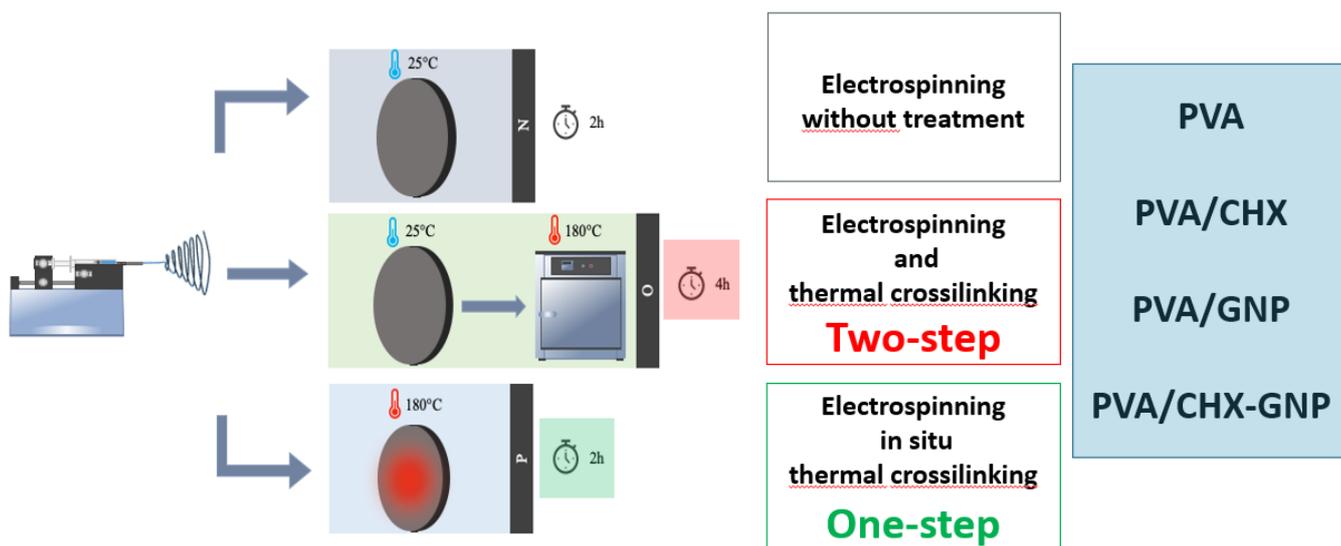


Figura 64 schema di processo dei sistemi PVA, PVA/CHX, PVA/GNP, PVA/CHX-GNP

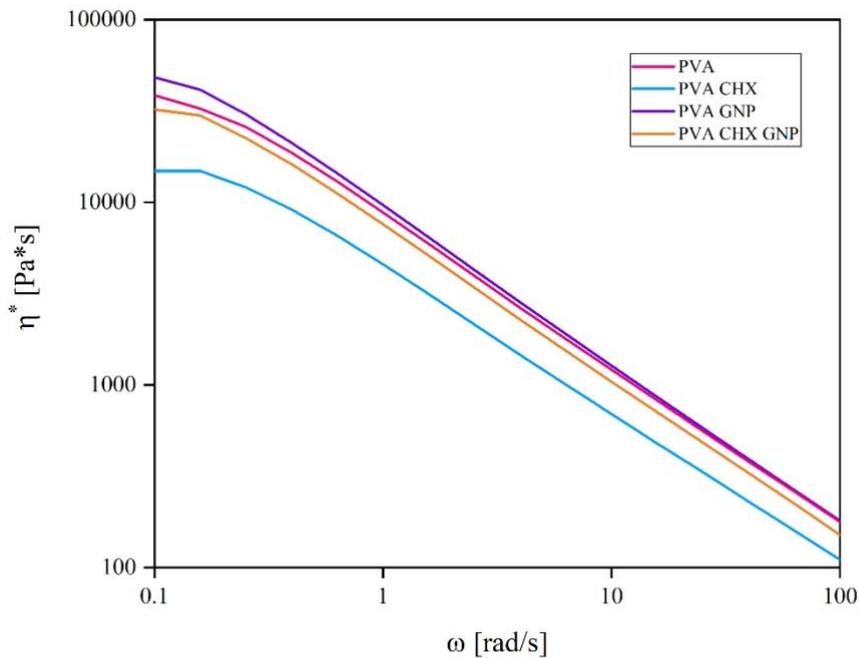
### Risultati e discussione

L'incorporazione di farmaci e/o nanocariche può portare ad un'alterazione della viscosità della soluzione polimerica [132]. Questa caratteristica è stata studiata eseguendo l'analisi reologica delle soluzioni preparate. La Figura 65 mostra le curve reologiche delle soluzioni polimeriche di PVA, PVACHX, PVAGNP e PVACHXGNP, utilizzate per il processo dell'elettrofilatura. Il PVA presenta il tipico comportamento di un materiale termoplastico caratterizzato da un tratto non-newtoniano ad elevati gradienti di deformazione e una minore caratteristica non-newtoniana a gradienti più bassi.

In presenza di CHX si osserva una riduzione della viscosità in tutto il campo di gradiente di taglio osservato. In particolare, si osserva che a più bassi gradienti si ha un comportamento sostanzialmente newtoniano. Questo può essere ragionevolmente attribuito all'effetto plasticizzante impartito dalla clorexidina [132]. In presenza del GNP, invece, si ottiene l'effetto opposto: si assiste ad un aumento della viscosità in tutto il campo delle frequenze e una diminuzione complessiva del tratto newtoniano. Il sistema PVA CHX GNP presenta un comportamento intermedio tra PVA CHX e PVA GNP, infatti, l'aggiunta delle nanoparticelle di grafene induce un aumento della viscosità [133], [134].

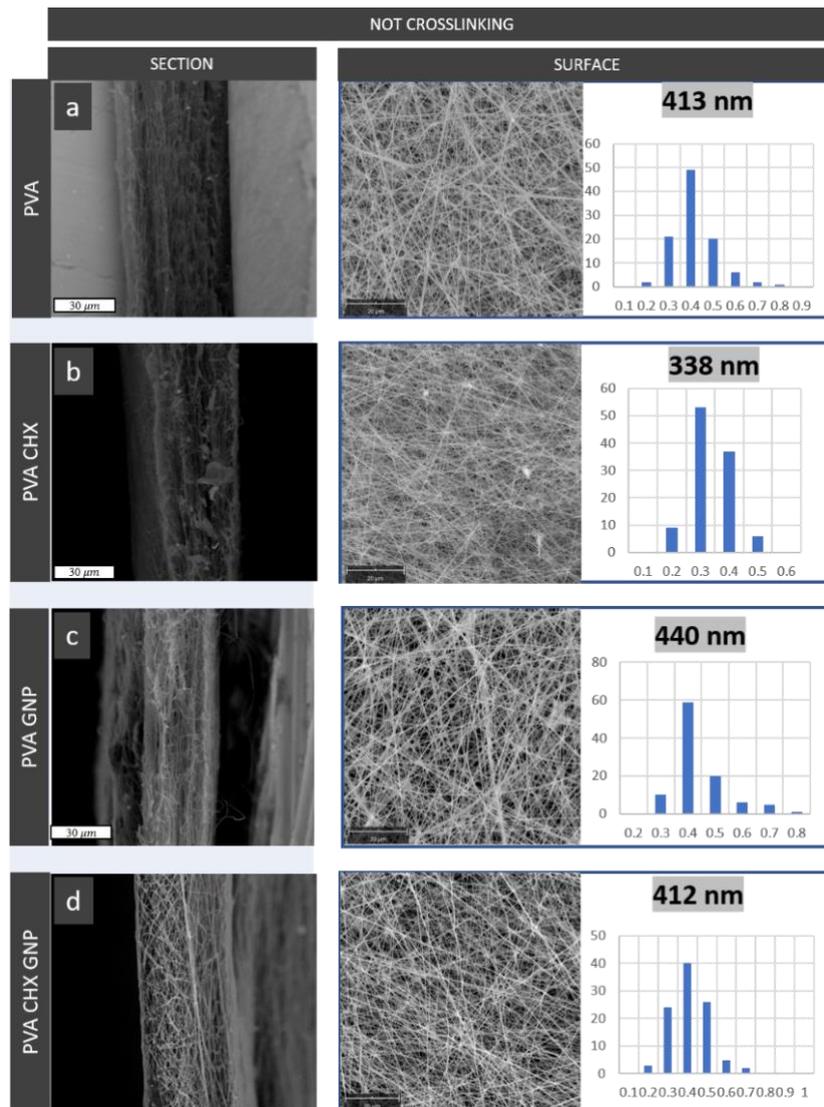
Generalmente le membrane elettrofilate sono costituite da fibre con un diametro variabile in funzione della soluzione polimerica di partenza. In particolare, all'aumentare della viscosità della soluzione si

ottengono fibre con un diametro di maggiore dimensione, in senso opposto, se si abbassa la viscosità della soluzione si ottengono fibre con un diametro inferiore [135].



*Figura 65 Viscosità complessa delle soluzioni polimeriche in funzione del gradiente di deformazione*

In Figura 66 è possibile osservare le immagini SEM delle superfici delle sezioni dei sistemi nanofibrosi con le rispettive distribuzioni dei diametri di PVA, PVA/CHX, PVA/GNP e PVA/CHX/GNP realizzate attraverso il processo di elettrofilatura convenzionale (NC). Come previsto e in accordo con la caratterizzazione reologica delle soluzioni polimeriche utilizzate per l'elettrofilatura, l'aumento o la diminuzione della viscosità della soluzione induce rispettivamente un incremento o decremento del diametro medio delle fibre.



*Figura 66 immagini SEM delle superfici delle sezioni dei sistemi nanofibrosi con le rispettive distribuzioni dei diametri di PVA, PVA/CHX, PVA/GNP e PVA/CHX/GNP senza trattamento di reticolazione NC (Not Crosslinked)*

In particolare, dall'analisi delle distribuzioni dei diametri è possibile osservare la variazione del diametro medio del PVA\_N in presenza di CHX, GNP o di entrambe le cariche. Nello specifico, le fibre del sistema PVA\_N hanno mostrato un diametro medio di 410 nm. Con l'aggiunta di CHX in PVA/CHX\_N il valore del diametro medio delle fibre si riduce di circa 70 nm. La presenza di GNP in PVA/GNP\_N favorisce l'aumento del diametro delle fibre (440 nm). Le fibre di PVA/CHX/GNP\_N hanno una distribuzione simile al PVA-NC poiché, in accordo con la caratterizzazione reologica, la presenza di entrambe le cariche induce valori di viscosità paragonabili. Le membrane reticolate in stufa (OVEN), mostrate in Figura 67, subiscono un leggero aumento di spessore, tale effetto è dovuto ragionevolmente alla deformazione delle fibre durante il processo di reticolazione in stufa a 200°C [136].

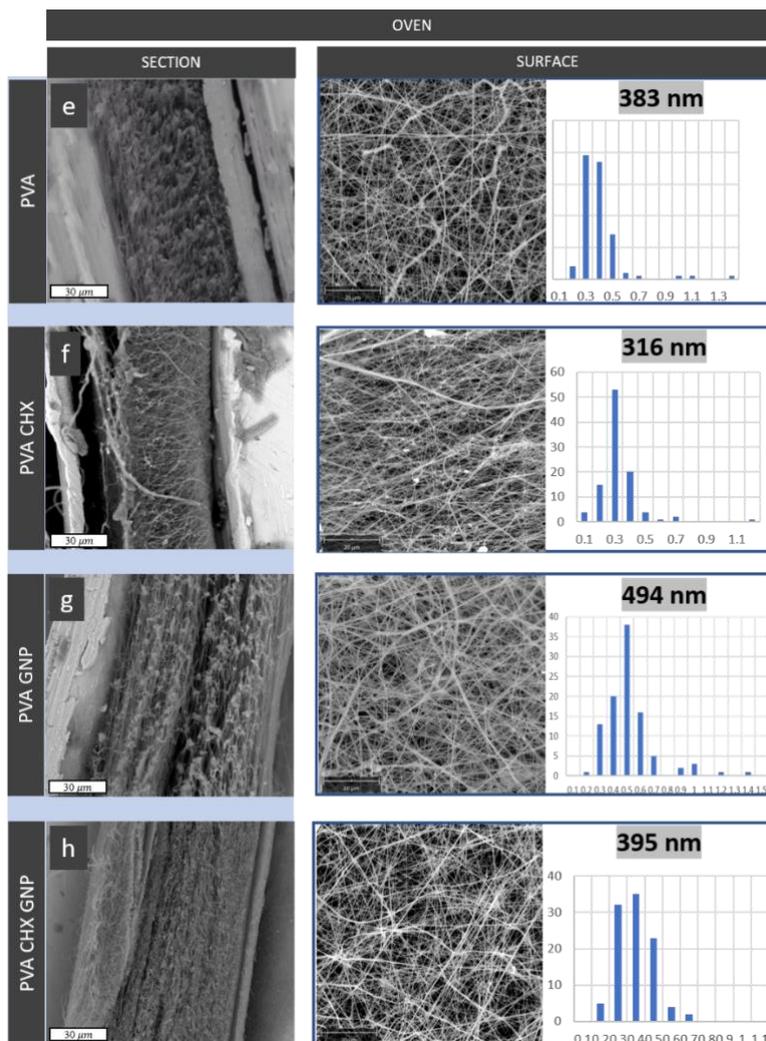


Figura 67 immagini SEM delle superfici delle sezioni dei sistemi nanofibrosi con le rispettive distribuzioni dei diametri di PVA, PVA/CHX, PVA/GNP e PVA/CHX/GNP reticolate in stufa (processo two-steps)

Come mostrato nell'analisi delle distribuzioni dei diametri (Figura 67), dopo la reticolazione in stufa, il diametro medio delle fibre di PVA\_O e PVA/CHX\_O si riduce rispettivamente di 30 e 20 nm. Tale riduzione comporta l'alterazione della linearità delle fibre, in particolare, le fibre delle membrane reticolate in stufa appaiono tendenzialmente ondulate rispetto a quelle non reticolate. La reticolazione potrebbe favorire, se pur sporadicamente, la coesione di più fibre [136]. Quest'ultimo effetto si ripete in modo più marcato nel sistema PVA/GNP\_O, in cui, in particolare, in presenza del GNP si assiste più frequentemente alla coesione di due o più fibre adiacenti inducendo un aumento del valore del diametro medio. Tale effetto potrebbe essere ragionevolmente attribuito ad un aumento della reticolazione agevolato dalla conducibilità termica delle nanoparticelle di grafene. Infatti, in PVA/CHX/GNP\_O è possibile notare una maggiore presenza di fibre coese rispetto al sistema

PVA/CHX\_O, pertanto, con la presenza di GNP la riduzione del valore del diametro medio è più contenuta.

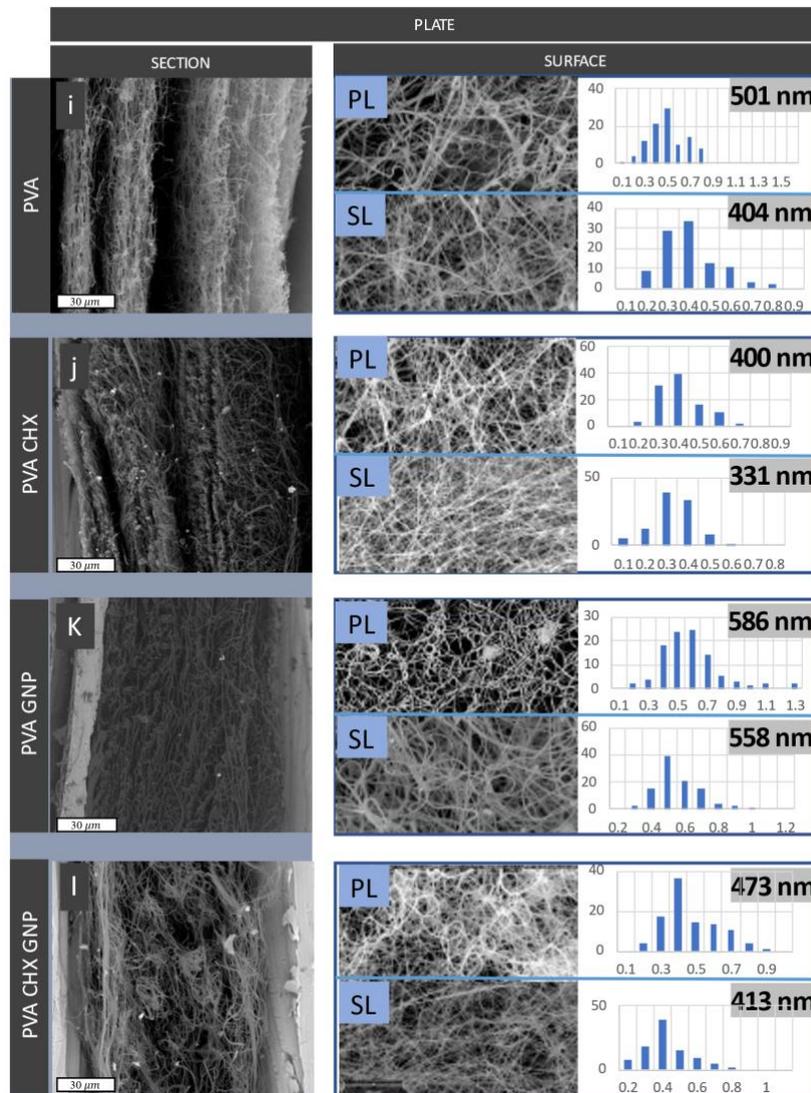


Figura 68 immagini SEM delle superfici delle sezioni dei sistemi nanofibrosi con le rispettive distribuzioni dei diametri di PVA, PVA/CHX, PVA/GNP e PVA/CHX/GNP reticolate in piastra riscaldata (processo one-step)

Le membrane reticolate in piastra (PLATE), mostrate in Figura 68, subiscono un notevole incremento dello spessore. Inoltre, si osserva che tali membrane presentano una struttura gerarchica stratificata in cui il grado di reticolazione delle fibre varia in funzione della distanza dalla piastra calda. In particolare, i layer più vicini alla piastra (PL) risultano più reticolati di quelli più vicini alla siringa (SL). Tale gerarchia è ragionevolmente imputabile alle differenti proprietà superficiali dei vari layer. È noto in letteratura, infatti, che la reticolazione termica delle fibre di PVA induce una riduzione della

bagnabilità delle membrane nanofibrose [137]. Le fibre che durante il processo di elettrofilatura si depositano in prossimità della piastra calda hanno una diversa bagnabilità rispetto alle fibre che si depositano successivamente. Tale differenza di bagnabilità causa un distaccamento tra le fibre, inducendo la formazione di una struttura stratificata in funzione del tempo e della temperatura, come nel caso di PVA\_P e PVA/CHX\_P.

Per comprendere meglio questo fenomeno, è opportuno osservare in Figura 68, le distribuzioni dei diametri delle fibre, sia nel PL, sia nel SL. Nello specifico, per tutti i sistemi il PL è caratterizzato dall'aumento del valore del diametro medio. In particolare, in PVA\_P si assiste ad una deformazione maggiore delle fibre rispetto a PVA\_O ed inoltre, è possibile osservare la coalescenza di più fibre. Tale fenomeno dimostra che la reticolazione in piastra è più accentuata rispetto a quella in stufa. Per quanto riguarda la superficie esposta alla siringa, invece, non si assiste a variazioni significative del diametro medio rispetto ai sistemi non reticolati. Questo testimonia la formazione di una struttura gerarchica su larga scala ovvero una struttura costituita da layer di fibre più o meno reticolate in funzione della distanza dalla superficie della piastra calda.

PVA/CHX\_P mostra una deformazione delle fibre più accentuata rispetto al sistema senza carica. Si assiste, inoltre, alla coalescenza delle fibre con conseguente aumento del valore del diametro medio che si mantiene più basso rispetto a PVA\_P. Ciò potrebbe essere ragionevolmente attribuito alla bassa viscosità della soluzione polimerica utilizzata per l'elettrofilatura. PVA/GNP\_P, invece, mostra alti valori di diametro medio (580 nm) che potrebbero essere giustificati dall'elevata viscosità della soluzione polimerica di partenza. Inoltre, la conducibilità termica delle nanoparticelle di grafene agevola il trasporto di calore tra PL e le fibre che si depositano durante l'elettrofilatura, conseguentemente, si ottiene una membrana priva di delaminazione.

La struttura stratificata risulta meno marcata nella superficie di sezione di PVA/CHX/GNP\_P, tale fenomeno potrebbe essere ragionevolmente giustificato, ancora una volta, dalla presenza del GNP che, come già anticipato, aumenta la viscosità della soluzione polimerica utilizzata per l'elettrofilatura e al tempo stesso facilita la reticolazione delle fibre durante il processo limitando fortemente la variazione di bagnabilità nelle fibre e quindi la formazione di strati.

Tabella 6. valori di modulo elastico (E), carico di rottura (TS) e allungamento a rottura (EB) dei sistemi studiati

Sample	E (MPa)	TS (MPa)	EB (%)
PVA_N	84 ± 1.2	5.17 ± 1.6	102 ± 4.4
PVA_O	140 ± 1.9	6.03 ± 0.7	43 ± 3.6
PVA_P	65 ± 1.2	5.05 ± 1.2	64 ± 8.5
PVA/CHX_N	78 ± 4.4	3.36 ± 0.9	153 ± 15.2
PVA/CHX_O	114 ± 1.9	5.67 ± 1.6	53 ± 7.2
PVA/CHX_P	57 ± 1.3	3.04 ± 1.5	64 ± 2.1
PVA/GNP_N	150 ± 6.1	5.17 ± 0.1	41 ± 1.7
PVA/GNP_O	170 ± 2.9	2.31 ± 0.2	29 ± 5.7
PVA/GNP_P	151 ± 3.7	3.77 ± 0.6	56 ± 6.9
PVA/CHX-GNP_N	142 ± 1.5	2.76 ± 0.4	58 ± 1.6
PVA/CHX-GNP_O	160 ± 1.9	2.03 ± 0.1	24 ± 4.3
PVA/CHX-GNP_P	138 ± 0.2	2.64 ± 0.4	45 ± 0.4

Il comportamento meccanico dei materiali è stato investigato mediante prove di trazione e in Tabella 6 sono riportati i valori di modulo elastico (E), carico di rottura (TS) e allungamento a rottura (EB) dei sistemi studiati. È stato osservato che l'aggiunta di CHX ha aumentato la duttilità delle membrane, con evidenti effetti dannosi su E e TS. Tale aspetto, infatti, potrebbe essere facilmente ascritto all'effetto plastificante del farmaco già previsto dai test reologici. PVA/GNP\_N ha mostrato una tendenza opposta, con le nanoparticelle GNP che conferiscono una maggiore rigidità a scapito della duttilità. L'aggiunta di GNP e CHX ha portato all'infragilimento dei materiali, danneggiando così le proprietà di rottura.

Per quanto riguarda le membrane trattate termicamente, si osserva un comportamento opposto tra i campioni in stufa e quelli in piastra calda. I primi, basandosi sulla propagazione in massa delle reazioni di reticolazione, hanno mostrato un aumento previsto di E e TS a scapito di EB [138], [139]. Tale comportamento si osserva maggiormente con le membrane contenenti GNP, questo comportamento potrebbe essere ragionevolmente ascritto alla robustezza meccanica del grafene, insieme all'aumento del grado di reticolazione dovuto all'elevata conducibilità termica delle nanoparticelle di grafene. Le membrane della serie P, invece, mostrano valori E e TS inferiori rispetto a quelle N e O. Questa diminuzione apparentemente sorprendente potrebbe essere probabilmente

attribuita alla loro morfologia. Infatti, come evidenziato dall'analisi SEM, la reticolazione in piastra favorisce la formazione di strutture delaminate. È importante evidenziare, ancora una volta, che la presenza di nanoparticelle di grafene migliora la propagazione della reticolazione dei campioni durante il trattamento termico, riducendo così i fenomeni di delaminazione. Pertanto, le membrane contenenti GNP reticolato *in situ* (PVA/GNP\_P e PVA/CHX-GNP\_P) hanno mostrato prestazioni meccaniche superiori rispetto ad altri materiali della serie *plate*. Oltre a ciò, si può facilmente notare che in presenza di grafene, il trattamento con piastra calda conferisce alle membrane proprietà di rottura quasi raddoppiate, rispetto al trattamento in stufa.

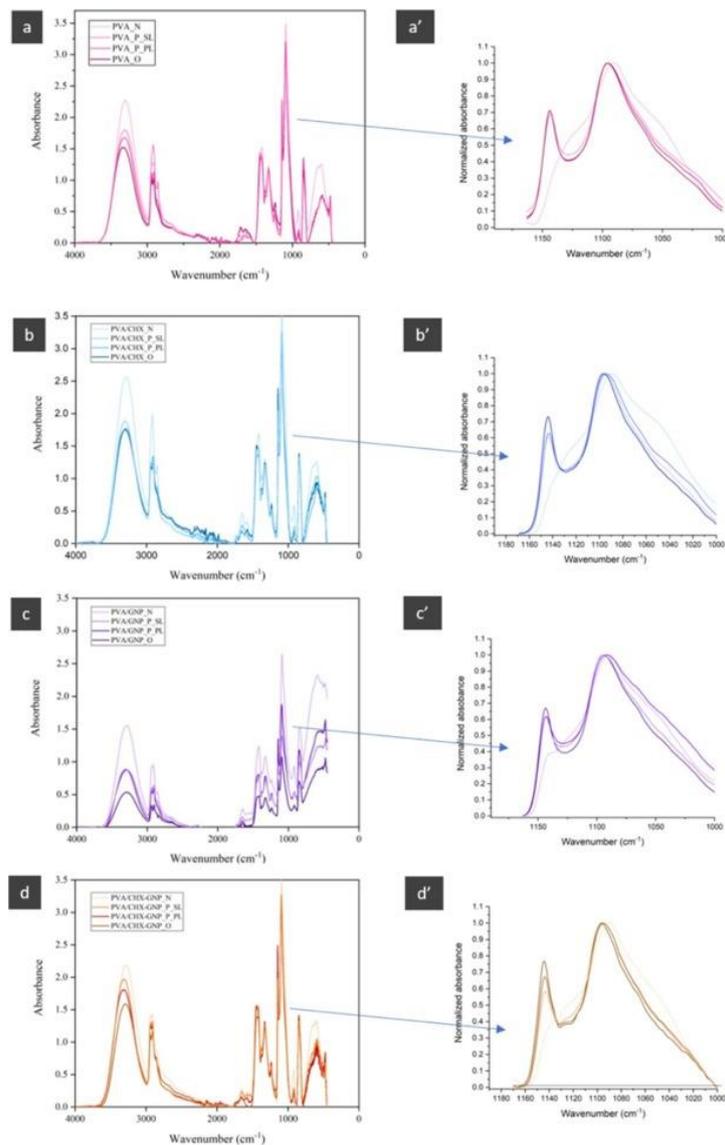


Figura 69 spettri ATR-FTIR delle serie PVA (a-a'), PVA/CHX (b-b'), PVA/GNP (c-c') e PVA/CHX-GNP (d-d')

L'analisi superficiale dei campioni è stata valutata mediante spettroscopia ATR-FTIR, come mostrato in Figura 69. In dettaglio, tale analisi è stata eseguita con l'obiettivo di confermare il successo della reticolazione del PVA e l'effettiva integrazione di CHX e GNP. In PVA-N (Figura 69 a-a'), le modalità centrate a  $1000\text{--}1180\text{ cm}^{-1}$ ,  $2930\text{ cm}^{-1}$  e  $3000\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$  sono state assegnate rispettivamente ai gruppi C–O, –CH<sub>2</sub> e OH [140]. La formazione di etere tramite condensazione di frazioni –OH può quindi essere facilmente valutata monitorando eventuali cambiamenti nelle regioni spettrali  $3000\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$  e  $1000\text{--}1180\text{ cm}^{-1}$ . Rispetto agli N campioni, tutte le membrane trattate termicamente, hanno mostrato l'esaurimento dell'intensità del segnale –OH, a causa delle reazioni di deidrossilazione e ossidazione tra i gruppi ossidrilici PVA durante il processo di stabilizzazione, a testimonianza dell'efficace reticolazione delle fibre [139]. I campioni trattati in forno hanno mostrato una forte riduzione dell'intensità di –OH, seguiti da quelli trattati in situ (serie P), le cui intensità si sono rivelate intermedie tra quelle reticolate in stufa e quelle non reticolate. Nel frattempo, l'analisi della regione C–O ( $1800\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ ) ha messo in evidenza che il contributo del picco centrato a  $1150\text{ cm}^{-1}$ , attribuito al legame etereo COC, diventa dominante all'aumentare del grado di reticolazione. Quindi, questa regione spettrale è stata normalizzata all'intensità del picco di CO a  $1098\text{ cm}^{-1}$  (vedi pannelli a destra) e il rapporto di intensità tra i segnali a  $1150\text{ cm}^{-1}$  e  $1098\text{ cm}^{-1}$  potrebbe fornire un'ulteriore prova degli eventi di reticolazione. È interessante notare che i campioni PVA/GNP\_N (Figura 69 c-c') e PVA/CHX-GNP\_N (Figura 69 d-d') hanno mostrato un picco debole rilevabile a  $1150\text{ cm}^{-1}$ , a differenza degli altri campioni non trattati, suggerendo così che la presenza del grafene avrebbe potuto favorire fenomeni di reticolazione anche in assenza di trattamenti termici.

Tabella 7 grado di reticolazione dei campioni

Sample	Crosslinking degree (%)
PVA_N	$0 \pm 0$
PVA_O	$100 \pm 0$
PVA_P	$65 \pm 3$
PVA/CHX_N	$0 \pm 0$
PVA/CHX_O	$100 \pm 0$
PVA/CHX_P	$46 \pm 4$
PVA/GNP_N	$30 \pm 2$
PVA/GNP_O	$100 \pm 0$
PVA/GNP_P	$80 \pm 5$
PVA/CHX-GNP_N	$25 \pm 2$
PVA/CHX-GNP_O	$100 \pm 0$
PVA/CHX-GNP_P	$68 \pm 3$

Con l'obiettivo di eseguire un'analisi quantitativa, il grado di reticolazione dei campioni è stato calcolato come frazione residua dopo i test di dissoluzione eseguiti in acqua deionizzata a 37 °C per 5 ore. I risultati, elencati in Tabella 7, mettono in evidenza alcuni aspetti rilevanti. In primo luogo, tra i campioni della serie N, quelli contenenti GNP hanno mostrato un grado di reticolazione inaspettato, fino al 25-30%, suggerendo probabilmente che tali nanoparticelle in qualche modo agissero come reticolanti anche in assenza di trattamenti termici, in pieno accordo con quanto previsto dall'analisi spettroscopica. In secondo luogo, il trattamento in forno porta efficacemente a strutture completamente reticolate. L'ultima considerazione riguarda il trattamento in piastra calda, la cui efficacia è risultata aumentare in presenza di GNP, ragionevolmente a causa della loro già citata elevata conducibilità termica. Se confrontati con PVA\_P e PVA/CHX\_P, infatti, i materiali contenenti una quantità di GNP inferiore all'1% hanno determinato gradi di reticolazione superiori del 23% e del 48%. È evidente che vi sia solida relazione processo-struttura-proprietà dei sistemi studiati in cui il GNP gioca un ruolo chiave nel promuovere la propagazione dei percorsi di reticolazione.

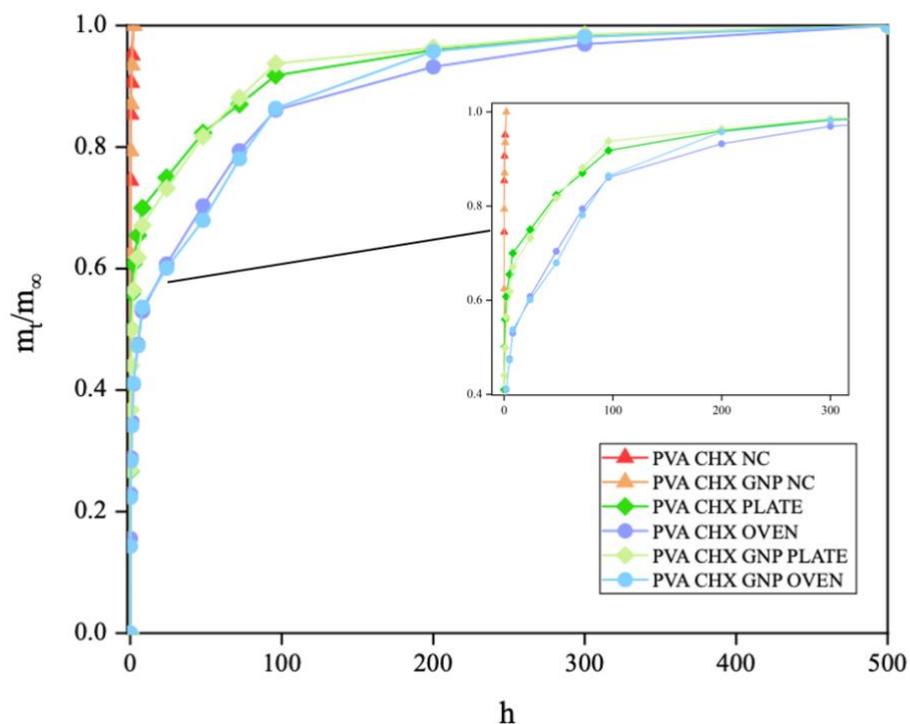


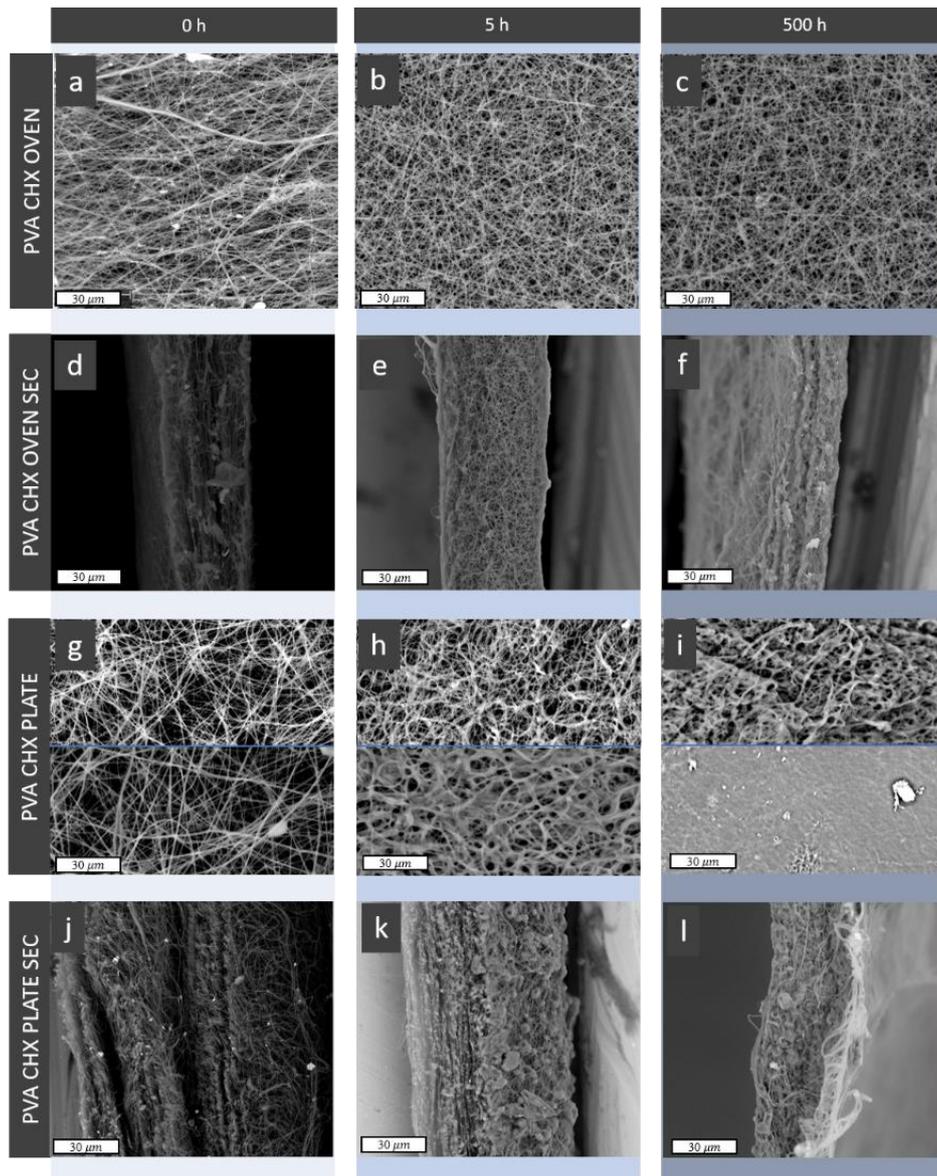
Figura 70 Cinetica di rilascio delle membrane di CHX in acqua deionizzata a 37 °C espressa come il rapporto di  $M_t/M_\infty$ .

Il rilascio di CHX dei sistemi mostrato in Figura 70 è espresso come il rapporto di  $M_t/M_\infty$  dove  $M_t$  è la quantità di CHX rilasciata nel tempo ed  $M_\infty$  è la quantità teorica di CHX incorporata nelle membrane nanofibrose. Per i sistemi non reticolati PVA/CHX\_N e PVA/CHX/GNP\_N, il rilascio di CHX è caratterizzato da un'unica fase in cui viene rilasciato il 100% della molecola modello incorporata nelle nanofibre.

Per tutti i sistemi reticolati il rilascio di CHX è caratterizzato da tre fasi. In particolare, una fase di burst che si manifesta nelle prime ore, una seconda fase caratterizzata da una velocità di rilascio più lenta ed infine la terza fase in cui si raggiunge il plateau finale.

In dettaglio, i risultati mostrano che i sistemi reticolati in stufa hanno rilasciato circa il 50% di CHX nelle prime 5h, raggiungendo la regione di plateau dopo circa 500h, ciò dimostra che le membrane reticolate riescono a rallentare significativamente il rilascio di CHX rispetto ai sistemi non reticolati. La presenza del GNP in PVA/CHX/GNP\_O rallenta sensibilmente il rilascio nella fase di *burst* rispetto a PVA/CHX\_O, tale effetto è ancora una volta attribuito alla maggiore reticolazione che le nanoparticelle di grafene riescono a indurre attraverso il trattamento termico.

Per i sistemi reticolati in piastra, invece, si assiste ad una fase di burst più accentuata in quanto viene rilasciato circa il 70% di CHX nelle prime 5h. Tale fenomeno può essere ragionevolmente attribuito alla presenza di fibre meno reticolate nel SL. Infatti, PVA/CHX/GNP\_P costituito da fibre più reticolate nel SL, mostra un rilascio nella fase di burst più contenuto nel tempo rispetto a PVA/CHX\_P. La comprensione di questi risultati è semplificata dallo studio delle immagini SEM dei sistemi post rilascio.



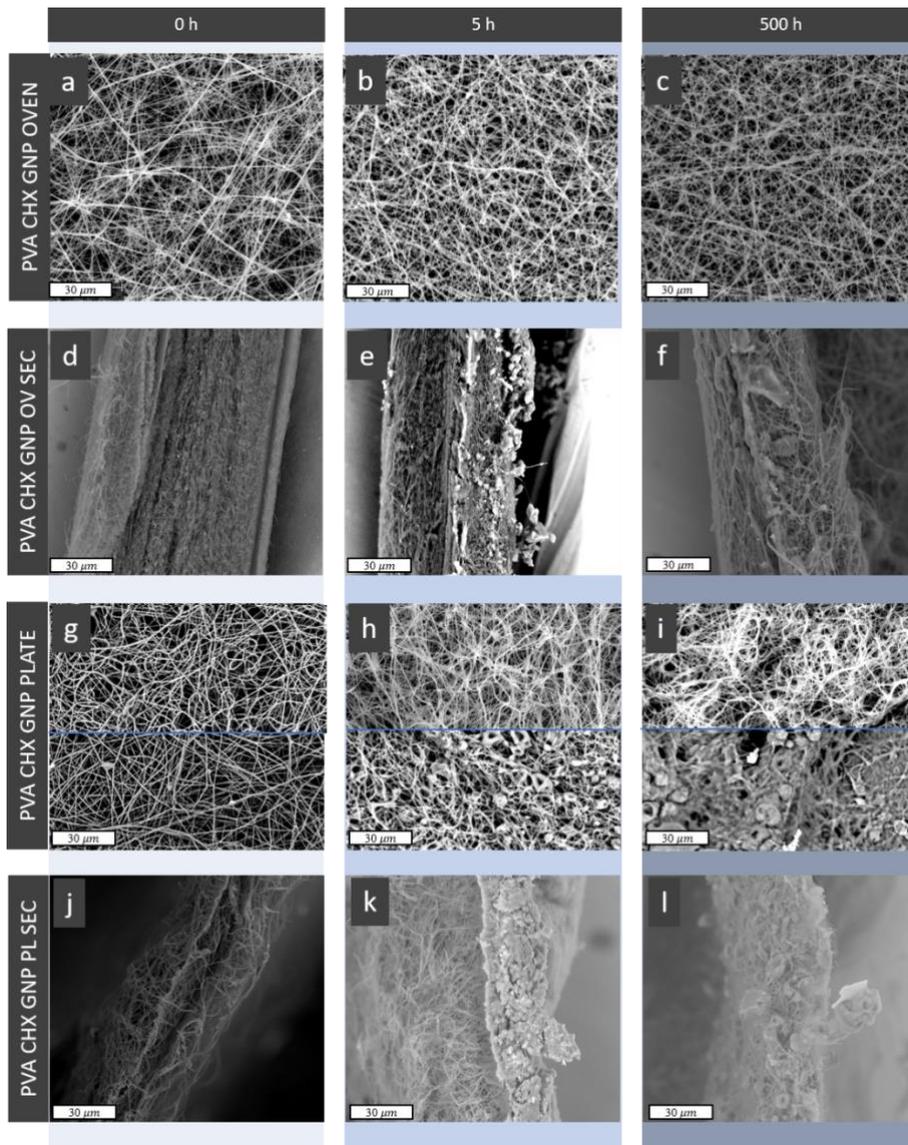
*Figura 71 immagini SEM delle superfici e le rispettive sezioni dei sistemi PVA/CHX\_O e PVA/CHX\_P post immersione in acqua distillata a 0, 5 e 500h*

La Figura 71 mostra le immagini SEM delle superfici e le rispettive sezioni dei sistemi PVA/CHX\_O e PVA/CHX\_P post immersione in acqua distillata a 0, 5 e 500h. Le immagini a 0h, già mostrate in precedenza, vengono riproposte per aiutare a comprendere l'eventuale variazione morfologica delle membrane post rilascio.

In figura 71A-F è possibile osservare le immagini SEM delle superfici e delle sezioni di PVA/CHX\_O post immersione. Com'è noto in letteratura, i sistemi reticolati con trattamento termico in stufa mantengono una struttura stabile nella prima fase di burst [140]. Infatti, PVA/CHX\_O presenta una

struttura morfologica inalterata dopo 5h di rilascio in acqua distillata. Si nota una leggera alterazione delle fibre dopo le 500h della fase finale.

In figura 71 G-L è possibile osservare le immagini post rilascio di PVA/CHX\_P, in particolare, vengono mostrate le superfici SL e PL e le rispettive sezioni. Durante la fase di burst, nelle prime 5h, il SL è caratterizzato da una parziale formazione di gel che, ragionevolmente, è indotta dalla presenza di fibre non reticolate. Nella superficie di contatto con la piastra calda, invece, è possibile notare fibre reticolate con morfologia inalterata. Trascorse le 500h, in SL si può apprezzare la completa formazione di gel e la scomparsa delle fibre, mentre nella PL è possibile notare la parziale formazione di gel sulle fibre reticolate. Tale morfologia è in accordo con la sezione di PVA/CHX\_P, mostrata in figura 71 L, in quanto la riduzione dello spessore della membrana testimonia la completa dissoluzione di SL. Inoltre, sopra le fibre reticolate del PL è presente uno strato di gel residuo depositato.



*Figura 72 immagini SEM delle superfici e le rispettive sezioni dei sistemi contenenti CHX e GNP reticolati in piastra o in stufa post rilascio a 0, 5 e 500h*

La Figura 72 mostra le immagini SEM delle superfici e le rispettive sezioni dei sistemi contenenti CHX e GNP reticolati in piastra o in stufa post rilascio a 0, 5 e 500h.

In particolare, in Figura 72 A-F è possibile osservare le immagini SEM delle superfici e delle sezioni di PVA/CHX/GNP\_O post immersione. Il sistema reticolato con trattamento termico in stufa mantiene una struttura stabile nella prima fase di burst. Tale sistema, a differenza di PVA/CHX\_O mantiene una struttura morfologica quasi inalterata anche dopo le 500h di rilascio in acqua distillata. La totale assenza di modifiche superficiali è attribuita alla presenza del GNP che, come descritto in precedenza, durante il trattamento termico aumenta la reticolazione delle fibre, ritardando, di conseguenza, il rilascio di CHX nel tempo.

In Figura 72 G-L è possibile osservare le immagini post rilascio di PVA/CHX/GNP\_P, in particolare, vengono mostrate le superfici SL e PL e le rispettive sezioni. Durante la fase di *burst*, nelle prime 5h, si può distinguere il SL caratterizzato da una minima formazione di gel, a differenza del sistema contenente solo CHX in cui si osserva una formazione di gel più intensa. Nella superficie di contatto con la piastra calda, è possibile notare fibre reticolate con morfologia inalterata. Infatti, lo spessore della sezione rimane inalterato e inoltre è possibile osservare la porzione di sezione SL caratterizzata dalla presenza di fibre con scarsa formazione di gel. Trascorse le 500h, in SL la formazione di gel è più evidente anche se non si assiste alla completa scomparsa delle fibre come in PVA/CHX\_P, mentre nel PL è possibile notare una lieve formazione di gel sulle fibre reticolate. Tale morfologia è in accordo con la sezione di PVA/CHX/GNP\_P, mostrata in Figura 72 L in quanto si assiste ad una leggera riduzione dello spessore che conferma la maggiore reticolazione in entrambe le superfici.

### *Conclusioni*

È stato presentato e applicato con successo un nuovo metodo *one-step* versatile, green e veloce per ottenere un dispositivo di *drug release* con struttura graduata a base di PVA/GNP per il rilascio di clorexidina (CHX). L'elettrofilatura di soluzioni polimeriche con reticolazione assistita in *one-step* ha permesso di elaborare membrane nanofibrose il cui grado di reticolazione diminuisce lungo le loro sezioni trasversali. È stato chiarito il ruolo cruciale del GNP, in grado di promuovere la propagazione della reticolazione in virtù della sua elevata conducibilità termica, prevenendo così problemi di delaminazione nelle membrane e aumentando il grado di reticolazione, oltre al miglioramento delle prestazioni meccaniche. Le membrane hanno mostrato una somministrazione multimodale di farmaco, con gli strati scarsamente reticolati che forniscono il rilascio *burst* di CHX nelle prime fasi di immersione e strati altamente reticolati che garantiscono un rilascio prolungato a velocità costanti per lunghi tempi di immersione (fino a 500 h).

### 5.3 *Dispositivo per la rimozione di inquinanti: Elaborazione e confronto di processi one-step e two-steps per il controllo della porosità su nanofibre coassiali*

In questo lavoro sono state realizzate delle membrane di PLA/PEO nano-fibrose porose, ottenute mediante due metodi di elaborazione differenti, in particolare, elettrofilatura coassiale convenzionale e successivo trattamento di lisciviazione (*Two-steps*) ed elettrofilatura coassiale in wet con trattamento di lisciviazione simultaneo (*One-step*). L'ossido di polietilene (PEO) è caratterizzato da un'elevata solubilità in acqua, è atossico e facilmente riproducibile. Spesso viene utilizzato per aumentare l'idrofilia in miscela con altri polimeri o come polimero sacrificale per ottenere strutture altamente porose [141], [142]. Diverse miscele di PLA/PEO in rapporti differenti sono state elettrofilate e liscivate sia in *One-step* che in *Two-steps*. È stata eseguita un'indagine preliminare al fine di ottimizzare e controllare la struttura nano-fibrosa in termini di quantità e dimensione dei pori. Sono state analizzate le relazioni tra processo, proprietà e struttura dei dispositivi ottenuti. Inoltre, è stata valutata la capacità di assorbimento di olio motore delle membrane, confrontando i due metodi di produzione *one-step* e *two-steps*.

#### *Materiali e metodi di preparazione*

L'acido polilattico 2003D Mw 98 kDa (PLA), l'ossido di polietilene Mw 100 kDa (PEO-A), l'ossido di polietilene Mw 600 kDa (PEO-B), sono stati acquistati da Nature Works. Acetone (Ac), cloroformio (CF) e acqua distillata sono stati acquistati da Sigma Aldrich. Tutti i reagenti erano di grado ACS (purezza > 99%) e sono stati usati come ricevuti. L'olio motore 10W-40 (densità = 0,87 g/cm<sup>3</sup> viscosità cinematica = 97,7 mm<sup>2</sup>/s a 40 °C) è stato fornito da Total SA.

#### *Preparazione delle membrane*

PLA/PEO-A e PLA/PEO-B in rapporti relativi diversi sono stati aggiunti a 20 ml di CF:Ac (2:1 vol) e completamente sciolti tramite agitatore magnetico per tutta la notte al fine di ottenere una soluzione omogenea. Le relative composizioni delle miscele qui prodotte sono elencate nella Tabella 8.

Tabella 8 composizione delle soluzioni e delle miscele PLA/PEO-A, PLA/PEO-B.

Sample code	PLA (wt %)	PEOA (wt %)	PEOB (wt %)
PEO-A25	75	25	0
PEO-A50	50	50	0
PEO-A75	25	75	0
PEO-B25	75	0	25
PEO-B50	50	0	50
PEO-B75	25	0	75

La preparazione delle membrane è stata eseguita utilizzando l'elettrospinning descritto nella sezione dei processi. Le soluzioni polimeriche sono state inserite all'interno di due siringhe di vetro da 10 ml dotate di un sistema ad aghi coassiali concentrici per la realizzazione di fibre concentriche *core-shell*. Tale sistema di aghi è realizzato in acciaio inox AISI 316. In particolare, lo *shell* contiene le miscele PLA/PEO-A o PLA/PEO-B, il *core* contiene le soluzioni di PEO-A o PEO-B. Entrambe le siringhe sono state collegate ad un sistema di pompe e il processo è stato eseguito utilizzando i seguenti parametri:

- Alta tensione fornita 15 kV;
- portata, 1,5 ml/h;
- distanza tra la punta degli aghi coassiali e il collettore, 12 cm;
- temperatura, 25 °C;
- umidità relativa, 40%

Sono state adottate due strategie di elaborazione, tali strategie sono riassunte nella Figura 73. In particolare, durante l'elaborazione in *two-steps* (Figura 73 a) le nanofibre sono state elettrofilate su un collettore collegato a terra avvolto in un foglio di alluminio per 1 ora. Per rimuovere il polimero sacrificale (PEO-A, PEO-B) dalle membrane (~20 mm di diametro, circa 100 µm di spessore), sono state immerse in 20 ml di acqua distillata a 25 ° C per 15 minuti. Dopo l'immersione, le membrane sono state lasciate asciugare in un forno sottovuoto per una notte.

Nell'elaborazione in *one-step* (Figura 73 b) le nanofibre sono state elettrofilate su un collettore *wet* e quindi immerse in una soluzione acquosa per rimuovere il polimero sacrificale *in situ*. Il processo è stato eseguito per 1 ora. Dopo la lavorazione le membrane sono state essiccate sottovuoto in un forno per una notte.

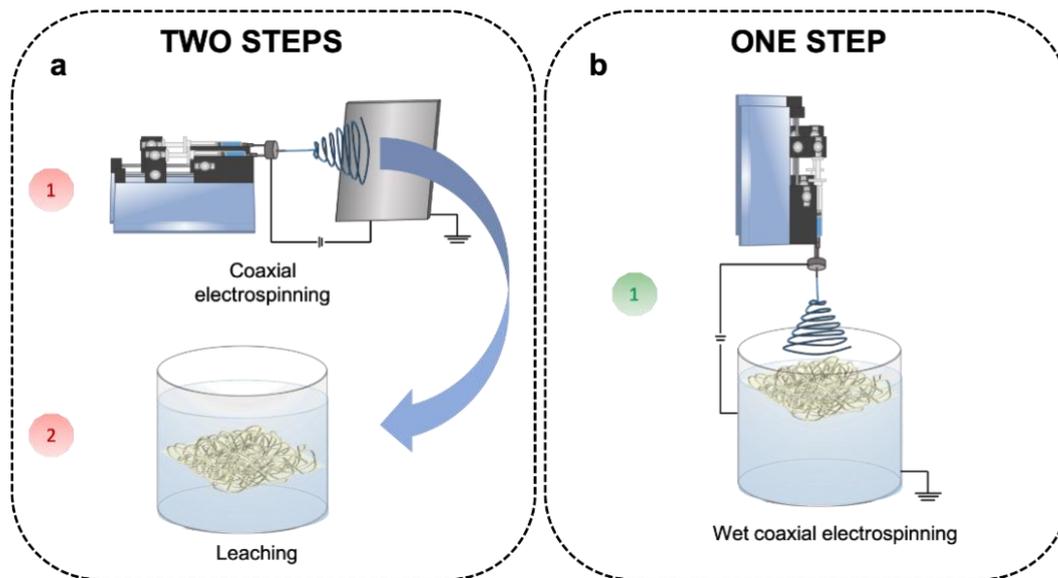


Figura 73 schema dei processi one- e two-steps

*Risultati e discussione*

È noto che le proprietà reologiche delle soluzioni polimeriche hanno una forte influenza sulla processabilità e sulla morfologia delle membrane elettrofilate. Per questo motivo sono state condotte indagini sulla reologia delle soluzioni di partenza e delle miscele. La figura 74 mostra le curve reologiche delle soluzioni di PLA, PEO-A, PEO-B al 10 wt% in cloroformio:acetone.

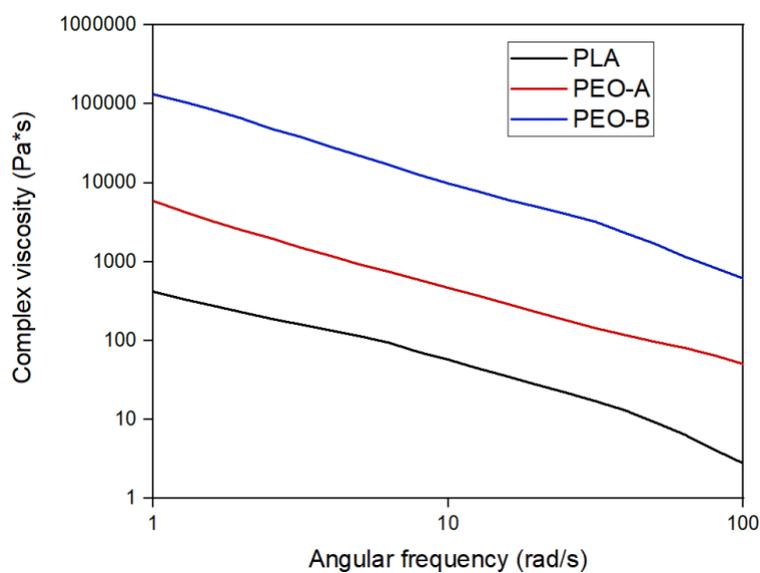


Figura 74 curve di viscosità complessa in funzione del gradiente di deformazione

Tutto il sistema ha mostrato un comportamento non newtoniano in tutta la regione delle frequenze indagata.

In dettaglio, PEO-B ha mostrato il valore di viscosità più alto se confrontato con PEO-A e PLA, che mostra il valore più basso. Durante il processo dell'elettrofilatura, la viscosità della soluzione polimerica gioca un ruolo chiave nella processabilità e nella morfologia delle fibre. Infatti, come ben noto nella letteratura scientifica, valori di viscosità elevati potrebbero compromettere l'elettrofilatura in quanto il flusso può essere instabile e di conseguenza potrebbe indurre un peggioramento della qualità delle membrane [135]. Tutte le soluzioni sono state elettrofilate adottando gli stessi parametri per verificarne la processabilità. In particolare, PLA e PEO-A hanno mostrato una buona processabilità a differenza di PEO-B che non è risultato filabile.

Di conseguenza, con l'obiettivo di abbassare la viscosità e ottenere fibre elettrofilate omogenee, sono state preparate soluzioni di PEO-B al 2,5 e 5 wt% e 10 wt% ed è stata eseguita la caratterizzazione reologica i cui i risultati sono mostrati in Figura 75.

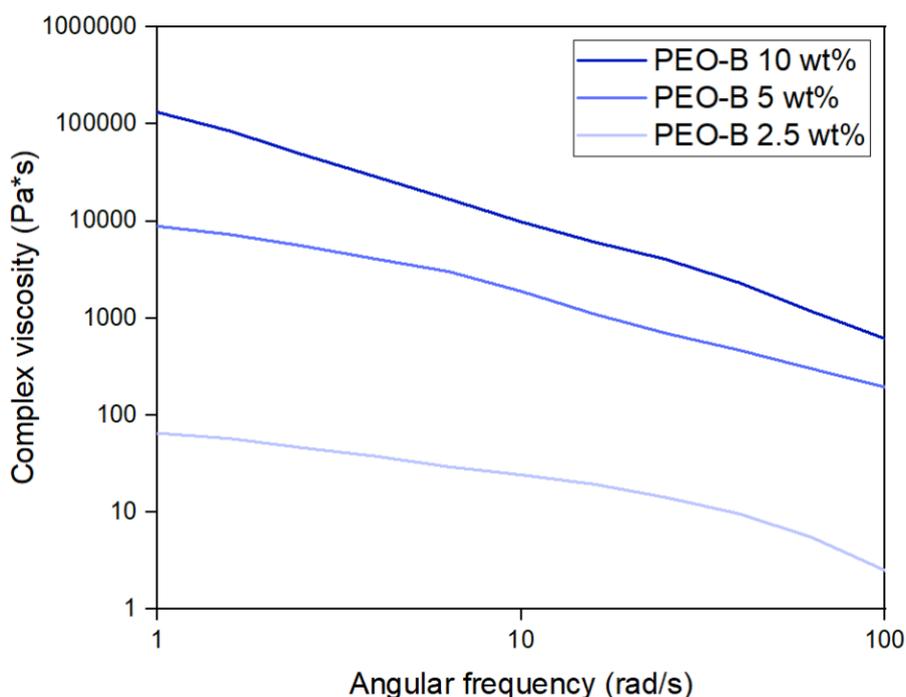


Figura 75 curve di viscosità in funzione del gradiente di deformazione delle soluzioni di PEO-B a 2.5, 5 e 10 wt%

PEO-B 2,5 wt% ha mostrato i valori di viscosità più bassi mentre PEO-B 5 wt% mostra un comportamento intermedio tra PEO-B 10 wt% e PEO-B 2,5 wt %.

In particolare, PEO-B 5 wt% mostra valori di viscosità complessa pari a  $10^4$  Pa\*s. Anche in questo caso è stato eseguito un test di processabilità. Le soluzioni a diverse concentrazioni di PEO-B sono state elettrofilate. In dettaglio, i valori di viscosità di PEO-B 5 wt% indicano una buona lavorabilità, infatti, tale soluzione è stata scelta come la concentrazione più idonea per l'ottenimento di fibre omogenee e regolari poiché PEO-B 2,5% presentava *beads* e fibre irregolari e PEOB 10% non è risultato filabile.

Una volta identificata la concentrazione ottimale, da questo momento in poi, verranno utilizzati PLA e PEOA con riferimento alle soluzioni al 10 wt%, mentre PEOB alla soluzione al 5 wt%.

Potrebbe essere rilevante valutare se la diversa concentrazione di PEO-A e PEO-B nella miscela di PLA può svolgere un ruolo chiave nell'ottenimento della struttura porosa desiderata.

Al fine di investigare sulle relazioni di processo-struttura-proprietà, sono state preparate miscele delle soluzioni e ne sono state studiate le proprietà reologiche. Le relative curve reologiche sono riportate nella Figura 76.

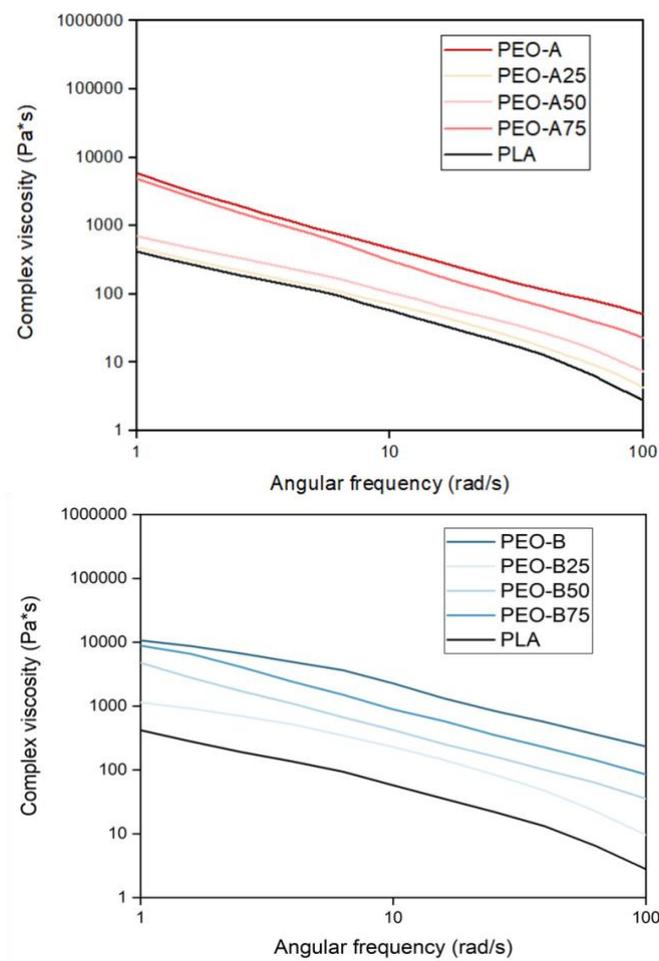


Figura 76 curve di viscosità complessa in funzione del gradiente di deformazione delle miscele di PEO-A e PEO-B

La Figura 76 a si riferisce alle miscele PLA/PEO-A. I sistemi mostrano valori di viscosità che aumentano progressivamente con il contenuto di PEO-A. In particolare, il sistema contenente il 75% di PEO-A, mostra un non-newtonianesimo più notevole con conseguente *shear thinning* più pronunciato alle frequenze più alte.

Per quanto riguarda la viscosità complessa delle miscele PLA/PEO-B, le relative curve reologiche sono riportate in Figura 76 b. Il comportamento è lo stesso delle miscele PLA/PEO-A ma con valori di viscosità più elevati. Le curve reologiche di entrambe le miscele PEO-A e PEO-B hanno mostrato valori all'interno dei due sistemi puri e nel range appropriato di elettrofilatura.

Tutti i sistemi hanno mostrato un comportamento non newtoniano pronunciato nell'intera gamma di frequenze. Le soluzioni PLA/PEO-A e PLA/PEO-B mostrano una viscosità maggiore rispetto alla soluzione PLA pura e all'aumentare del contenuto di PEO, aumentano anche i valori di viscosità.

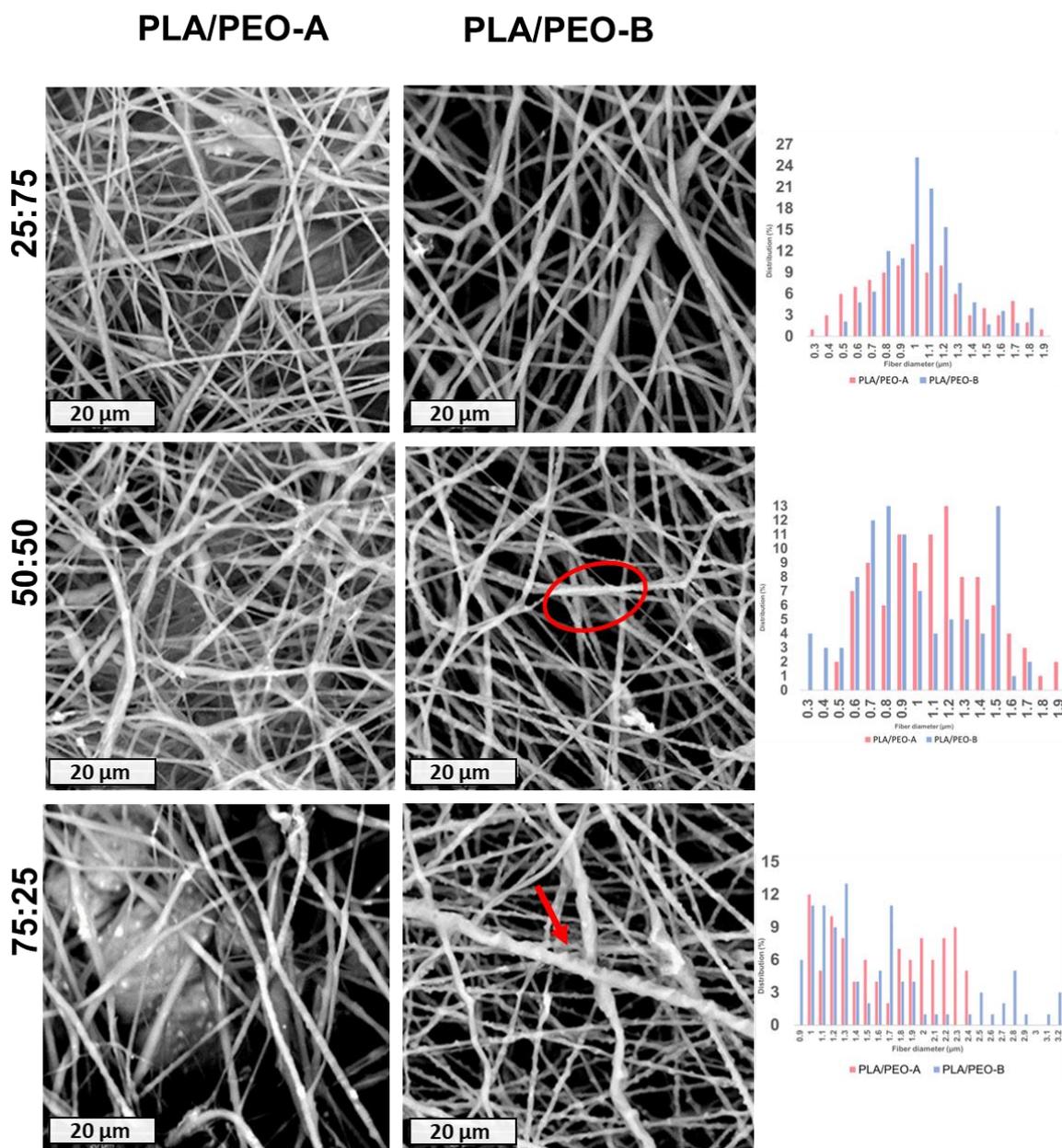


Figura 77 immagini SEM superficiali delle membrane di PLA, PLA/PEOA e PLA/PEOB

Le soluzioni sono state elettrofilate e la caratterizzazione morfologica superficiale delle membrane di PLA, PLA/PEOA e PLA/PEOB ottenute mediante elettrofilatura coassiale a diverse concentrazioni di PEO è mostrata in Figura 77.

Le soluzioni di PEO-A25 e PEO-B25 hanno prodotto nanofibre continue orientate in modo casuale, con superficie ruvida e omogenea in assenza di *beads*. Inoltre, entrambi i sistemi mostravano distribuzioni dimensionali unimodali, di cui valori massimi e medi rispettivamente di 1 e 1,2 μm. Un aumento del diametro e della rugosità può essere rilevato in PEO-A50 e PEO-B50 con valori massimi

e medi rispettivamente di 1,2 e 1,23  $\mu\text{m}$ . In questo caso si può notare una distribuzione dimensionale multimodale, inoltre è possibile distinguere le due fasi (PEO-A o PEO-B) e la presenza di agglomerazioni di fase PEO lungo la superficie delle fibre (vedi cerchio rosso in Figura 77). PEO-A75 e PEO-B75 hanno mostrato una distribuzione dimensionale multimodale con valori massimi e medi rispettivamente di 2 e 1,9  $\mu\text{m}$ . In quest'ultimo caso, aumenta la presenza di agglomerati di PEO lungo le fibre. Tale fenomeno è ancora più evidente nei sistemi contenenti PEO-B.

Generalmente, l'aggiunta di PEO induce un aumento della viscosità delle soluzioni [143]. L'elettrofilatura di soluzioni ad alta viscosità permette di ottenere fibre con diametri grandi e irregolari [135]. Poiché PEO-A e PEO-B hanno peso molecolare diverso, PEO-A (100 kDa) è probabilmente caratterizzato da una maggiore miscibilità in PLA rispetto a PEO-B (600 kDa) [143]. Per questo motivo, la fase PEO è organizzata in aggregati più grandi, evidenti sulla superficie delle fibre (vedi freccia verde in Figura 77 f).

Le concentrazioni di fase PEO-A o PEO-B, entrambe totalmente miscibili in acqua, svolgono un ruolo chiave nell'ottenimento di strutture porose.

L'obiettivo finale è ottenere una maggiore porosità rimuovendo la fase PEO. Poiché la fase PEO è stata scelta come fase sacrificale, le membrane sono state liscivate al fine di verificare quale sistema sia più idoneo per l'ottenimento di strutture nanofibrose porose. Le membrane sono state immerse in acqua distillata, successivamente essiccate e caratterizzate morfologicamente.

La figura 78 mostra le immagini SEM delle membrane liscivate. Dopo la lisciviazione, PLA/PEO-A25 ha mostrato una struttura abbastanza stabile con una buona ritenzione della morfologia delle fibre, e la presenza di nano pori lungo la superficie di esse. Al contrario, la membrana PLA/PEO-B25 mostrava fibre porose e non omogenee. Quando si aggiunge il 50% di PEO, si possono osservare differenze più marcate tra le membrane liscivate e quelle non liscivate. In particolare, PLA/PEO-A50% ha mostrato un'alterazione della struttura fibrosa con coalescenza tra le fibre. Al contrario, PLA/PEO-B50% ha mostrato una significativa alterazione dell'architettura delle fibre che appaiono appiattite e non omogenee. La formazione di questa struttura potrebbe essere ragionevolmente attribuita alla scarsa miscibilità di PEO-B in fase PLA. Infatti, quando viene aggiunto il 50% in peso di PEO-B le fibre collassano, poiché, la percentuale di fase insolubile (50 wt% di PLA) non è sufficiente al fine di poter garantire la formazione di una struttura stabile [143]. Questo comportamento non si verifica in presenza di PEO-A. Rispetto al PEO-B, infatti, la sua migliore miscibilità, preserva la struttura della fibra durante la lisciviazione. Inoltre, la presenza del 75% in peso di PEO-A in PLA/PEO-A75 porta al parziale collasso delle fibre.

PLA/PEO-B75 invece, ha mostrato una struttura fibrosa totalmente collassata e priva di fibre. Infatti, PEO-B ad alto peso molecolare induce maggiormente la separazione di fase comportando il parziale collasso delle fibre.

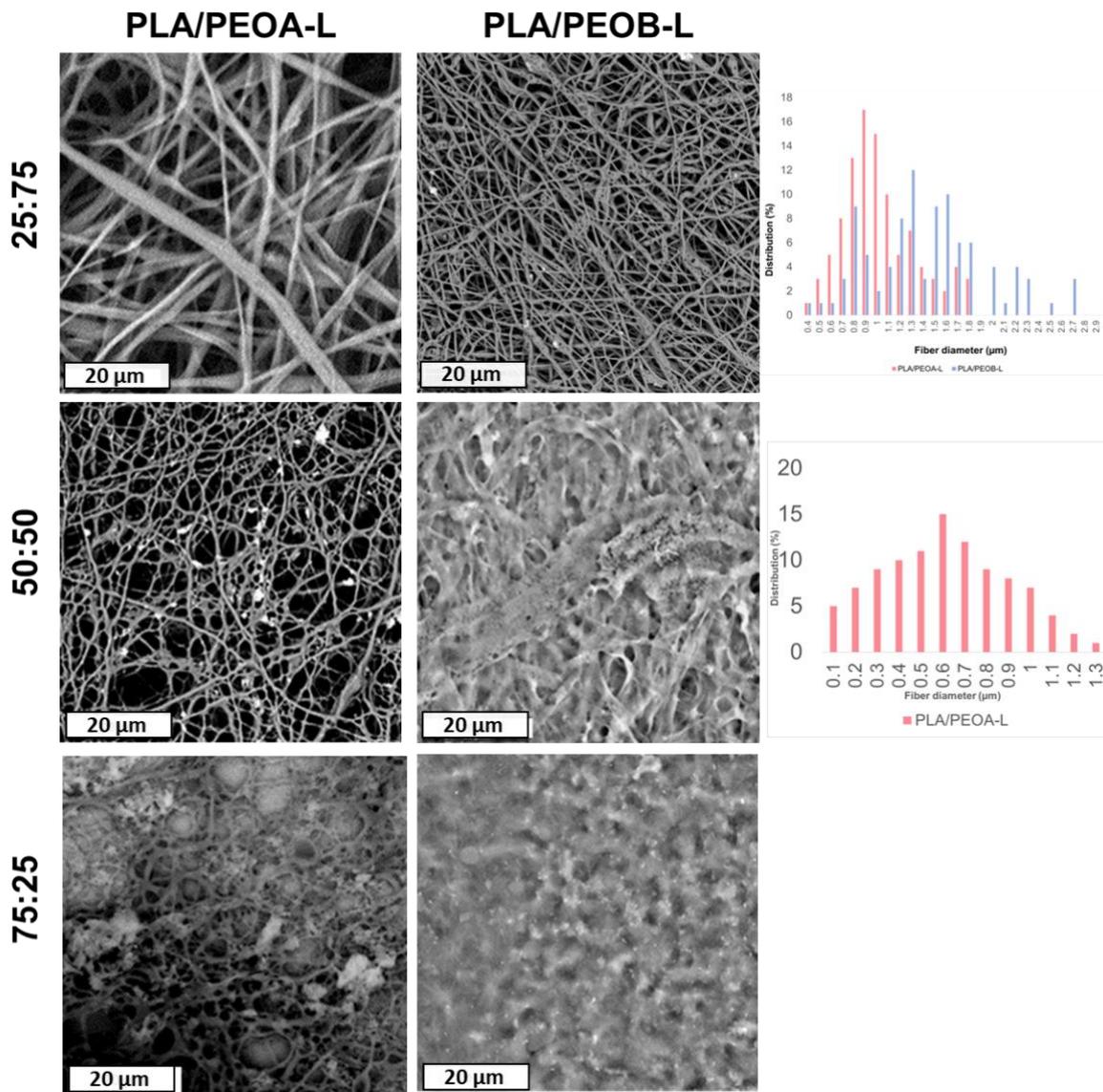


Figura 78 immagini SEM delle membrane liscivate

PEO-A25 e PEO-B25 sono stati selezionati per la loro capacità di mantenere una struttura fibrosa dopo la lisciviazione. La Figura 78 a, b mostra PEO-A25wet e PEO-B25wet ottenuti mediante processo *one-step*. La membrana PEO-A25wet mostra una struttura abbastanza stabile con una buona ritenzione della morfologia delle fibre, inoltre, si osservano fibre nano-porose e cave. La membrana PEO-B25wet invece, presenta fibre microporose e cave ma con struttura meno stabile. Infatti, dalle

micrografie SEM, è possibile osservare l'apertura di alcune fibre (vedi freccia rossa in Figura 79 b). In particolare, l'utilizzo del processo *one-step* consente la lisciviazione del *core*, come descritto graficamente negli schemi di Figura 79 a'', b''.

In dettaglio, la dissoluzione della fase PEO del *core* è stata favorita dall'immersione delle fibre nel collettore *wet* durante il processo di elettrofilatura. Per quanto riguarda PEO-A25wet, secondo quanto discusso in precedenza, la buona affinità tra la fase PLA e PEO-A consente di ottenere, post lisciviazione *in situ*, una struttura fibrosa, nanoporosa e regolare. Al contrario, una maggiore immiscibilità di PEO-B nel PLA contribuisce alla formazione di una struttura fibrosa meno omogenea con fibre microporose. Inoltre, un'ulteriore prova di scarsa miscibilità di PEO-B è fornita dall'apertura delle fibre nella fase di PLA (figura 80 b''). Tale apertura, potrebbe essere ragionevolmente attribuibile alle grandi zone di agglomerazione di PEO-B nella superficie dello *shell*. In particolare, quando le fibre sono state immerse nel collettore liquido, durante l'elettrofilatura, si verifica la dissoluzione del PEO-B con contestuale apertura di alcune fibre.

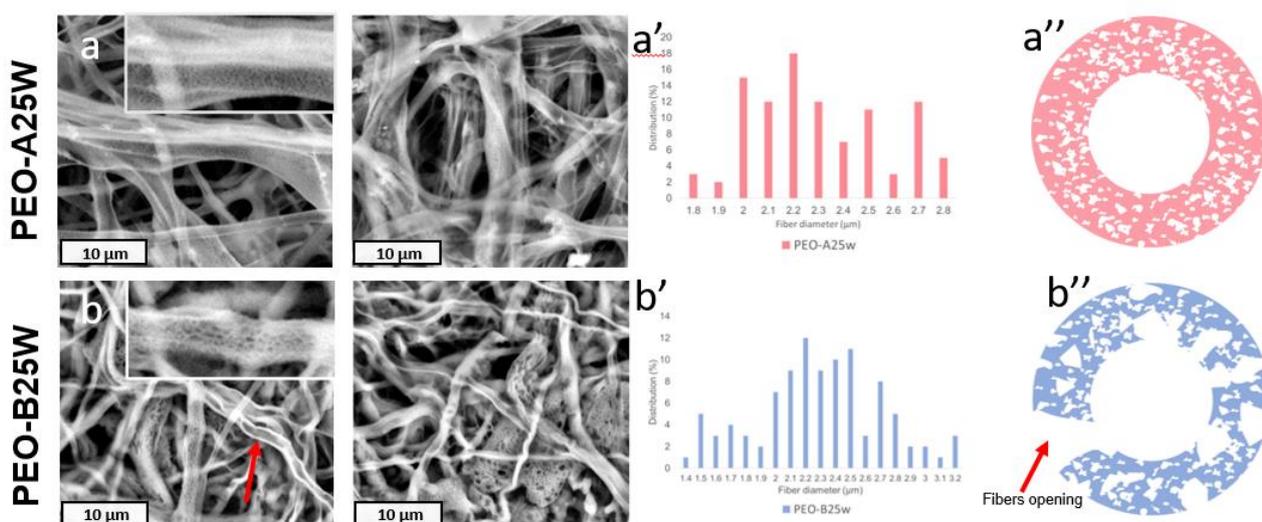


Figura 79 a) immagini SEM dei sistemi PEO-A25W e PEOB25W b') distribuzioni e b'') schema illustrativo di lisciviazione

Il meccanismo di lisciviazione dei processi *one-step* e *two-steps* è riassunto nello schema di Figura 80. In dettaglio, nel processo *two-steps*, la lisciviazione della fase PEO si ottiene immergendo le membrane nanofibrose in acqua distillata post processing. In questo caso si ottiene solo una lisciviazione superficiale (lisciviazione *shell*, Figura 80 a). Nel processo *One-step*, il trattamento di lisciviazione in acqua distillata è stato effettuato contemporaneamente al processo di elettrofilatura consentendo di ottenere la lisciviazione di bulk (lisciviazione *core-shell* Figura 80 b).

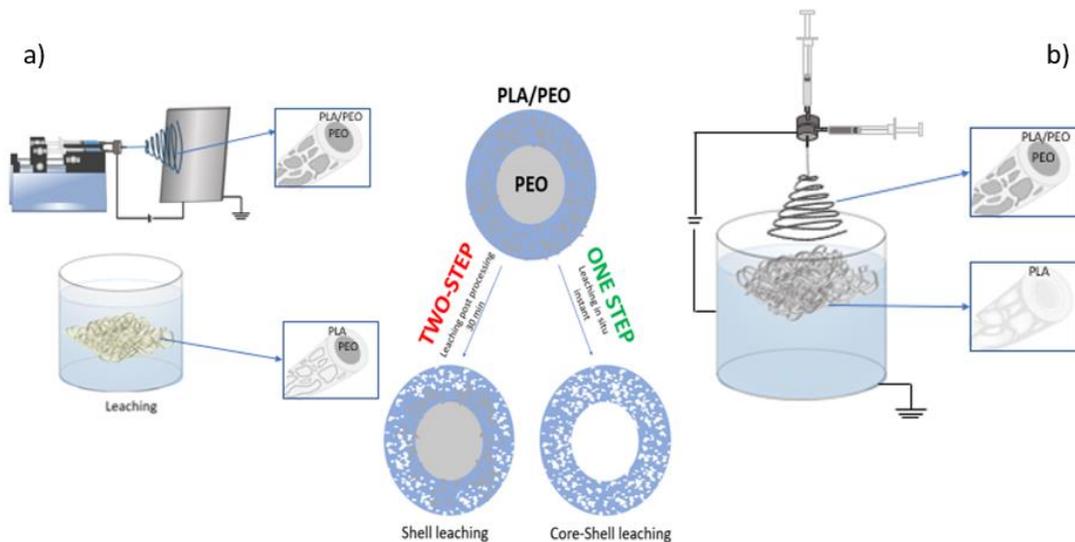


Figura 80 schemi dei processi one-step e two-steps

Nel processo *two-steps* invece, il trattamento di lisciviazione post-processing, sulle membrane elettrofilate, avviene in fibre con struttura stabilizzata e senza solvente residuo (Figura 81 a). Per questo motivo, 30 minuti di lisciviazione non sono sufficienti per garantire la lisciviazione completa del *core*.

Nel processo *one-step* il trattamento di lisciviazione e il processo di elettrofilatura avvengono contemporaneamente. Durante il processo di filatura, prima che le fibre si depositano sul collettore liquido, parte del solvente potrebbe rimanere all'interno delle fibre. Pertanto, la presenza di fibre non stabilizzate, contenenti solvente residuo, ha favorito la penetrazione dell'agente lisciviante nel core (Figura 81 b).

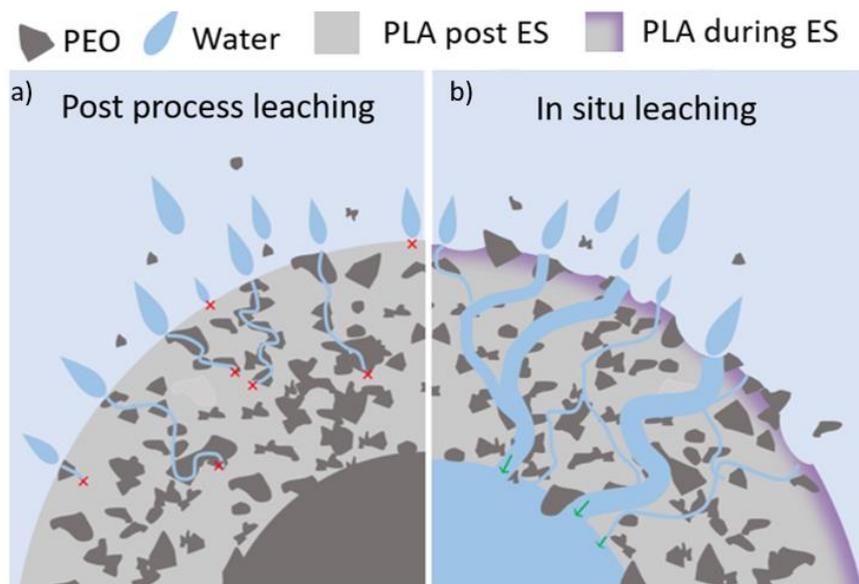


Figura 81 immagine illustrativa dei processi di lisciviazione

La struttura e la dimensione dei pori sono influenzate sia dal tipo di lisciviazione (*one-step* o *two-steps*) sia dalla concentrazione delle due fasi PEO (PEO-A e PEO-B) disperse nella matrice PLA.

Tabella 9 test di bagnabilità WCA

Sample	WCA (°)
PLA	103
PEOA25	75
PEOA50	31
PEOA75	11
PEOB25	67
PEOB50	18
PEOB75	8
PEOB25wet	58
PEOB50wet	50

Porosità differenti inducono variazioni della bagnabilità delle membrane. La tabella 9 mostra i risultati dei test dell'angolo di contatto con l'acqua (WCA) delle superfici dei sistemi ottenuti. Secondo la letteratura scientifica, il PLA ha mostrato un comportamento idrofobico, WCA di 103°. Come previsto, la presenza di PEO induce un aumento dell'idrofilia di tutti i sistemi. In particolare, i valori di WCA diminuiscono all'aumentare del contenuto di PEO. Inoltre, i sistemi contenenti PEO-A mostrano valori di WCA più elevati rispetto ai sistemi PEO-B. Generalmente l'aggiunta di PEO modifica la bagnabilità del PLA [143], inoltre, secondo la caratterizzazione morfologica, la differenza di peso molecolare tra PEOA e PEOB induce rispettivamente la formazione di fibre nano e microporose. PEO-A25wet e PEO-B25wet hanno mostrato un aumento della bagnabilità rispetto al 25% dei sistemi a contenuto di PEO. Questo aumento è ragionevolmente attribuito alla maggiore porosità e alla struttura cava delle fibre [131] – [133].

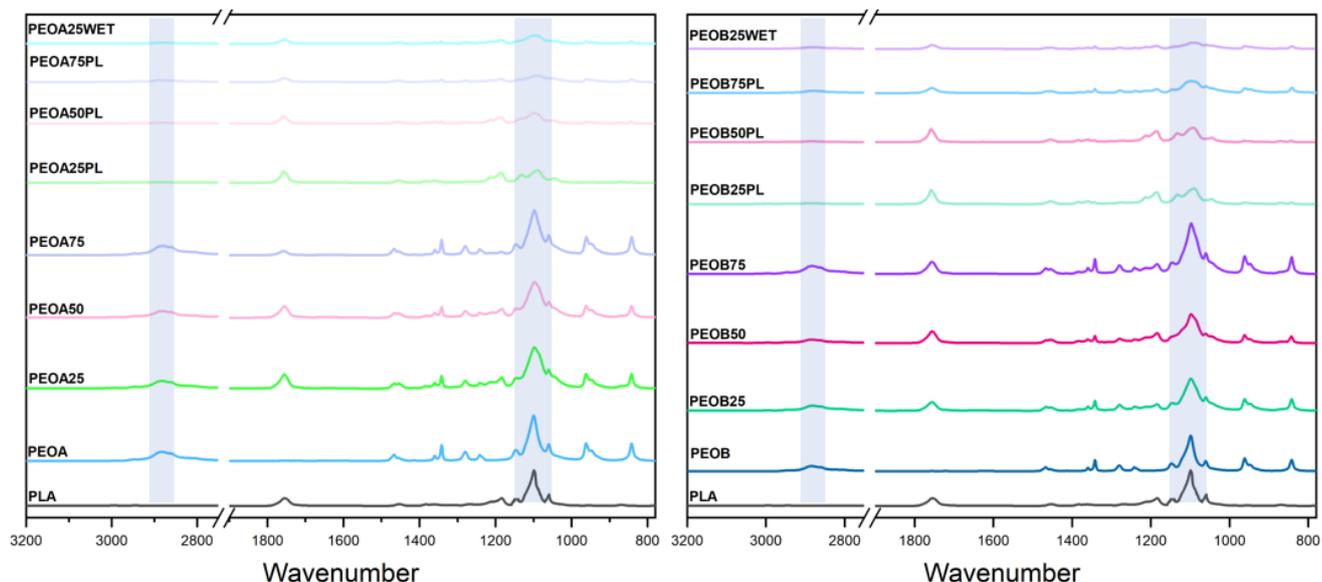


Figura 82 spettri ATR-FTIR eseguiti sulle superfici delle membrane di PLA, PLA/PEO-A, PLA/PEO-B prima e dopo la lisciviazione e PEO-A25wet, PEO-B25wet

La Figura 82 mostra le misurazioni ATR-FTIR eseguite sulle superfici delle membrane di PLA, PLA/PEO-A, PLA/PEO-B prima e dopo la lisciviazione e PEO-A25wet, PEO-B25wet.

Il PLA ha rivelato una banda chiara a  $1211\text{ cm}^{-1}$  (C=O) mentre è evidente una banda debole intorno a  $1265\text{ cm}^{-1}$  (-CO-stretch) che è tipica del PLA e ha un picco a  $1759\text{ cm}^{-1}$  che appartiene al gruppo carbonile. Come previsto, le miscele PLA/PEO-A e PLA/PEO-B mostrano bande tipiche di PLA e PEO-A o PEO-B. In particolare, è possibile osservare una banda con intensità crescente all'aumentare della quantità di PEO-A o PEO-B nelle miscele:  $1344\text{ cm}^{-1}$  (CH<sub>2</sub>) della banda PEO-A e PEO-B e  $2891\text{ cm}^{-1}$  (stretching CH).

Al contrario, è possibile osservare una banda di intensità decrescente ( $1759\text{ cm}^{-1}$ , gruppo carbonilico PLA) all'aumentare della quantità di PEO-A o PEO-B nelle miscele.

I risultati delle prestazioni meccaniche sono riportati in tabella 10. In particolare, il modulo elastico (E), la resistenza alla trazione (TS) e l'allungamento a rottura (e) sono riportati in funzione della quantità di PEO-A o PEO-B. Il PLA mostra modulo elastico, resistenza alla trazione e allungamento a rottura rispettivamente di 60 MPa, 1,2 MPa e 45%.

Rispetto al PLA, tutti i sistemi caricati con PEO-A non mostrano differenze sostanziali nelle proprietà meccaniche. Al contrario, la membrana contenente PEO-B mostra un comportamento diverso. Questi risultati potrebbero essere ragionevolmente attribuiti alla buona miscibilità di PLA e PEO [143]. All'aumentare del contenuto di PEO-B, le proprietà meccaniche dei campioni diminuiscono. In

dettaglio, l'aggiunta del 25%, 50% e 75% di PEO-B ha indotto una notevole diminuzione del modulo elastico rispettivamente di ~25%, ~50% e ~75%. PEO-A25wet e PEO-A25L presentano proprietà meccaniche paragonabili al corrispondente sistema non lisciviato. Al contrario, PEO-B25wet e PEO-B25L mostrano una netta diminuzione delle proprietà meccaniche. La contemporanea diminuzione del modulo e dell'allungamento a rottura all'aumentare del contenuto di PEO-B conferma il comportamento tipico delle coppie immiscibili.

Tabella 10 risultati delle prestazioni meccaniche dei sistemi

Sample	E (MPa)	TS (MPa)	$\varepsilon$ (%)
PLA	60 ± 2,3	1,2 ± 0,5	45 ± 4,6
PEOA25	58 ± 3,7	2 ± 0,4	56 ± 7,2
PEOA50	62 ± 12,8	0,9 ± 0,3	48 ± 9,5
PEOA75	57 ± 7,7	0,8 ± 0,3	43 ± 5,6
PEOB25	44 ± 0,2	1,4 ± 0,1	54 ± 13,9
PEOB50	26 ± 11,2	0,1 ± 0,1	42 ± 9,2
PEOB75	12 ± 3,5	0,4 ± 0,2	26 ± 13,1
PEOA25wet	52 ± 8,5	0,8 ± 0,2	45 ± 6,5
PEOB25wet	10 ± 2,1	0,5 ± 0,4	18 ± 3,1
PEOA25-L	55 ± 5	1,8 ± 0,6	38 ± 11
PEOB25-L	12 ± 2	0,5 ± 0,9	15 ± 6

Infatti, secondo l'analisi morfologica, è possibile identificare la presenza delle due fasi lungo le fibre con la formazione di agglomerati in fase PEO-B. Quest'ultimo ha indotto discontinuità lungo le fibre portando alla formazione di punti di debolezza attraverso le membrane. Inoltre, la scarsa miscibilità della fase PEO-B porta alla formazione di una struttura fibrosa irregolare ed eterogenea con conseguente apertura di alcune fibre. A causa di questa morfologia si verifica una diminuzione delle proprietà meccaniche. Invece, la buona miscibilità di PEO-A permette di ottenere una struttura omogenea con fibre regolari, portando a proprietà meccaniche paragonabili alle membrane ottenute mediante elettrofilatura convenzionale.

Al fine di comprendere se i sistemi ottenuti possono essere utilizzati come dispositivi efficaci per la pulizia delle acque, a seguito delle fuoriuscite di petrolio, sono state valutate le capacità di assorbimento dell'olio (Q) dei sistemi PLA, PEOA25-L, PEOB25-L, PEOA25wet e PEOB25wet.

Tabella 11 capacità di assorbimento dell'olio (Q) dei sistemi PLA, PEOA25-L, PEOB25-L, PEOA25wet e PEOB25wet.

Sample	Weight dry (g)	Oil (g)	Uptaken oil (g)	Absorption capacity Q (g/g)
PLA	0.10	5	0.25	2.5
PEOA25wet	0.10	5	1.22	12.2
PEOB25wet	0.10	5	1.56	15.6
PEOA25-L	0.10	5	1.09	10.9
PEOB25-L	0.10	5	1.12	11.2

Come previsto, la membrana PLA ha mostrato il valore Q più basso di 2,5 g / g. I sistemi lisciviati in *two-steps* hanno mostrato un aumento della capacità di assorbimento, infatti, PEOA25-L e PEOB-25L mostrano valori di Q rispettivamente di 10,9 g/g e 11,2 g/g. La massima capacità di assorbimento dell'olio motore è stata raggiunta da sistemi di lisciviazione in *one-step*. In particolare, PEOA25wet e PEOB25wet hanno mostrato valori di adsorbimento dell'olio rispettivamente di 12,6 g/g e 15,6 g/g. Secondo la letteratura, la presenza di elevata porosità, elevata area superficiale o canali vuoti, aumentano le capacità di assorbimento dell'olio delle membrane [147], [148]. Il basso valore di Q della membrana in PLA, infatti, è imputabile alle sue fibre lisce ed omogenee. L'aumento dei valori di capacità di assorbimento, dei sistemi di lisciviazione in *two-steps*, potrebbe essere ragionevolmente attribuibile alla presenza di fibre con superfici porose. I migliori valori di Q mostrati da PEO-A25wet e PEO-B25wet sono imputabili alla presenza di fibre con superfici porose e pervie. Tale struttura delle fibre, infatti, induceva un aumento dell'elevata area superficiale e la formazione di canali preferenziali per la penetrazione dell'olio motore.

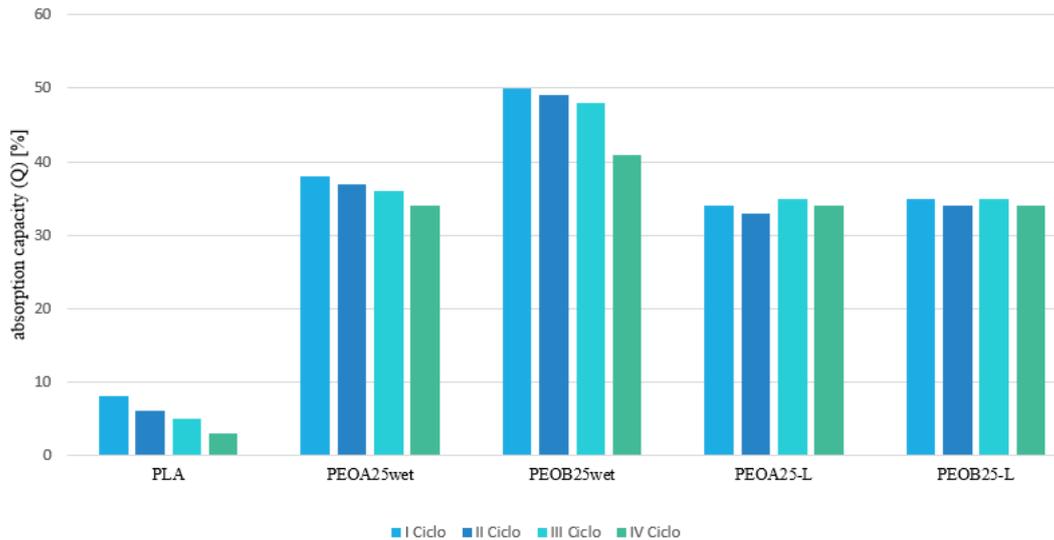


Figura 83 riutilizzabilità delle membrane dopo 4 cicli di sequestro/risciacquo

Inoltre, è stata valutata la riutilizzabilità delle membrane eseguendo 4 cicli di sequestro e successivo risciacquo dei campioni tra un ciclo e l'altro (Figura 83). Oltre a mostrare bassi valori di  $Q$  il sistema in PLA ha perso il 50% di capacità di assorbimento al quarto ciclo. I sistemi in one e *two-steps* invece, hanno mostrato una buona ritenzione della capacità di assorbimento per tutti e quattro i cicli di sequestro. La struttura liscia e priva di fibre porose dei sistemi in PLA ha permesso di sequestrare una quantità d'olio minima durante il primo ciclo. Tale capacità di sequestro è dovuta alla porosità della membrana ottenuta mediante la sovrapposizione casuale delle fibre durante il processo dell'elettrofilatura. Infatti, dopo il primo risciacquo, la capacità di assorbimento decresce notevolmente all'aumentare del numero di cicli. Questo decremento di  $Q$  è probabilmente attribuito alla non completa rimozione dell'olio dovuta alla difficoltà di penetrazione del solvente durante le fasi di risciacquo. Per quanto riguarda i sistemi costituiti da nanofibre porose e cave, realizzati mediante processi one e *two-steps*, la capacità di assorbimento rimane stabile fino a 4 cicli. Tale comportamento è probabilmente attribuibile alla struttura delle nanofibre. Durante i cicli di risciacquo, infatti, la penetrazione del solvente è agevolata dalla struttura porosa e cava delle fibre [147], in tal modo, la rimozione dell'olio viene facilitata. Di conseguenza, i sistemi risultano riutilizzabili dopo diversi numeri di cicli.

## Conclusioni

In questo lavoro è stato elaborato un confronto tra metodologie di processo, *two-steps* e *one-step*, per la realizzazione di membrane, costituite da nanofibre *core-shell* porose, a base di miscele biopolimeriche. Sono state studiate le relazioni tra processo-proprietà-struttura dei sistemi ottenuti dai due diversi metodi di elaborazione, combinando due tipologie di miscele a differenti concentrazioni.

Dai risultati ottenuti è emerso che la lisciviazione delle membrane, eseguita in *one-step* o in *two-steps*, ha portato alla formazione di strutture diverse. In particolare, con il metodo di processo *two-steps* è stato possibile ottenere un'elevata porosità superficiale grazie alla lisciviazione della fase polimerica sacrificale a base di PEO. Il metodo *one-step*, invece, ha permesso la formazione di nanofibre pervie e porose. Infatti, la stabilità delle fibre durante lo spinning, e quindi, la presenza o meno del solvente residuo all'interno della fibra, ha giocato un ruolo chiave per favorire l'ingresso dell'agente lisciviante all'interno del core delle fibre.

Inoltre, il trattamento con acqua distillata, per 30 minuti post processing, sulle fibre stabilizzate, ha limitato la lisciviazione soltanto sulla superficie delle fibre (*shell leaching*). Invece, il trattamento di lisciviazione in situ, sulle fibre non stabilizzate, e quindi, contenenti solvente residuo, ha favorito l'ingresso dell'agente lisciviante all'interno del core (*core-leaching*).

Inoltre, è stato osservato che la scelta della fase sacrificale PEO-A o PEO-B a diverse concentrazioni in miscela con il PLA, è stata cruciale al fine di ottenere un controllo della struttura e della porosità. In particolare, la miscibilità delle due fasi, ottima per il PEO-A a basso peso molecolare e scarsa per il PEO-B ad alto peso molecolare, ha permesso l'ottenimento di strutture e porosità differenti. Infatti, l'elevato peso molecolare di PEO-B ha reso la fase PEO parzialmente immiscibile con il PLA, inducendo quindi, la formazione di grosse agglomerazioni di PEO-B lungo la superficie della fibra. Tali agglomerazioni, una volta liscivate, hanno permesso la formazione di pori con diametri elevati rispetto a quelli ottenuti mediante lisciviazione di PEO-A, che risulta più miscibile in PLA. I sistemi ottenuti mediante i due metodi di processo (*one-step* e *two-steps*) hanno mostrato elevate capacità di assorbimento di olio rispetto alle membrane di PLA, inoltre, la formazione di pori e la struttura pervia delle nanofibre ha agevolato la pulizia delle membrane in fase di risciacquo, rendendo quest'ultime, riutilizzabili in più cicli di sequestro.

#### 5.4 Studio preliminare sulla processabilità per FDM dei green composites

Lo sviluppo di materiali sostenibili per la stampa 3D può favorire la riduzione dell'impatto ambientale e rendere tale tecnologia un metodo di produzione sostenibile. L'aggiunta di filler lignocellulosici derivanti da rifiuti agricoli potrebbe essere una strategia promettente al fine di ridurre al minimo i costi di produzione e/o ottimizzare alcune proprietà [148] – [151].

Tuttavia, l'utilizzo dei green composites in AM è ancora un campo relativamente inesplorato in ambito scientifico. La produzione di filamenti con cariche naturali diventa una sfida interessante per l'ottenimento di diversi vantaggi, quali basso costo, bassa densità, disponibilità, biodegradabilità [152] – [154].

Inoltre, se i green composites possono essere utilizzati in FDM in modo affidabile, il processo di prototipazione può accelerare notevolmente e allo stesso tempo abbassare i costi di produzione.

Questo lavoro riguarda la caratterizzazione preliminare di un biocomposito costituito da matrice di PLA e farina di *Opuntia Ficus Indica* come carica naturale.

In dettaglio, il biocomposito è stato caratterizzato al fine di testare la lavorabilità da fuso, infatti l'obiettivo finale è quello di utilizzarlo come materiale processabile attraverso la stampa 3D (FDM) in tal modo da ottenere dei dispositivi biopolimerici con carica naturale strutturalmente modellabili.

##### *Materiali e metodi*

I cladodi di OFI utilizzati in questo studio sono stati forniti da Bio Ecopuntia (Italia) successivamente lavati, macinati ed essiccati sottovuoto in forno per una notte a 90°C.

Dopo questa fase, le particelle OFI sono state setacciate utilizzando due diverse dimensioni di maglia, ovvero, da 75 µm a 150 µm (A) e da 150 µm a 300 µm (B). Le particelle sono caratterizzate da una densità apparente prossima a 0,5 g/cm<sup>3</sup> e una densità reale, misurata da picnometro ad elio, pari a  $1,54 \pm 0,002$  g/cm<sup>3</sup>, sostanzialmente simile alla maggior parte dei filler lignocellulosici [149]–[152]. Il PLA (PLA 2002D, fornito da NatureWorks) è un grado di estrusione avente un contenuto di monomero dell'acido D-lattico pari a ~4%,  $\rho=1,24$  g/cm<sup>3</sup>, MFI=6 g/10 min, T<sub>m</sub>=151 °C, M<sub>n</sub>=113300, M<sub>w</sub>=181600. THF (grado reagente ACS, purezza>99%) è stato acquistato da Sigma Aldrich e usato come ricevuto.

Per evitare reazioni idrolitiche durante la lavorazione, tutti i materiali sono stati essiccati sottovuoto per una notte a T = 90 ° C. I biocompositi sono stati preparati mediante miscelazione allo stato fuso nel miscelatore descritto nella sezione delle apparecchiature, i parametri sono i seguenti:

- T=190 °C
- velocità rotore=64 giri/min

- t=4 min.

Le formulazioni adottate sono riportati in Tabella 12. Per ogni lotto, il materiale raccolto dopo il processo di fusione è stato macinato in pellet e stampato a compressione tramite la pressa descritta nella sezione precedente con i seguenti parametri:

- T=190 °C
- P=180 bar
- Tempo: 2 min

Tabella 12 formulazioni e codici campioni

Sample code	Matrix	OFI content (wt%)	OFI Mesh size (µm)
PLA	PLA 2002D	-	-
PLA10A	PLA 2002D	10	75-150
PLA20A	PLA 2002D	20	75-150
PLA10B	PLA 2002D	10	150-300
PLA20B	PLA 2002D	20	150-300

La dispersione del filler è stata valutata calcolando l'indice di miscelazione (MI) secondo la procedura riportata nella letteratura scientifica [156], [157]. In breve, l'effettivo grado di dispersione del riempitivo attraverso la matrice polimerica è stato valutato tenendo conto della concentrazione effettiva del riempitivo in un numero di campioni scelti casualmente e confrontato con la concentrazione media. Il parametro MI è dato dall'eq. (1):

$$MI = (1 - S/S_0)$$

Dove S è la radice quadrata della varianza S<sup>2</sup>, definita dall'Eq. (2) come:

$$S = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2$$

Dove N è il numero di campioni analizzati, Ci indica la concentrazione dell'i-esimo campione ed è la concentrazione media degli N campioni. S è normalizzato a S0, che è la radice quadrata della varianza massima, data dall'Eqn (2):

$$S_0^2 = \bar{C}(1 - \bar{C})$$

Quest'ultimo, infatti, è rappresentativo del caso limite di un composito in cui tutte le componenti sono completamente segregate [158].

La concentrazione è stata misurata su dieci campioni prelevati casualmente da provini stampati a compressione (come quelli usati per le prove di trazione). In particolare, la concentrazione effettiva di riempitivo di ciascun campione è stata misurata come rapporto tra il peso del riempitivo estratto dal campione composito e il peso totale del campione.

#### *Modellazione teorica*

Il modello Halpin-Tsai è stato utilizzato per adattare i dati sperimentali. Secondo questo modello, il modulo composito EC,HT è determinato dalla seguente equazione:

$$E_{C,HT} = \frac{3}{8} E_L + \frac{5}{8} E_T$$

Dove  $E_L$  e  $E_T$  sono rispettivamente il modulo longitudinale e trasversale del composito.

In questo caso,  $E_L$  e  $E_T$  sono dati da:

$$E_L = E_m \left[ \frac{1 + \left(\frac{2l}{d}\right) \eta_L v_f}{1 - \eta_L v_f} \right]$$

$$E_T = E_m \left[ \frac{1 + 2\eta_T v_f}{1 - \eta_T v_f} \right]$$

Dove  $v_f$  e  $v_m$  sono le frazioni in volume di riempitivo e PLA,  $l/d$  è il rapporto di aspetto del riempitivo mentre  $\eta_L$  e  $\eta_T$  sono costanti date da:

$$\eta_L = \frac{(E_f/E_m) - 1}{(E_f/E_m) + \left(\frac{2l}{d}\right)}$$

$$\eta_T = \frac{(E_f/E_m) - 1}{(E_f/E_m) + 2}$$

Dove  $E_f$  ed  $E_m$ ) sono i moduli di young dei filler e del PLA

Le frazioni in volume sono determinate dalle frazioni in peso e dalle densità di ciascun componente (cioè PLA, OFI-A e OFI-B) misurate sperimentalmente mediante picnometro ad elio.

La frazione di particelle riempite da PLA (cioè la percentuale di intrafase) è stata stimata secondo l'Eq. (2):

$$Intrafase \% = \frac{\rho_{real} - \rho_{unfilled}}{\rho_{filled} - \rho_{unfilled}} * 100$$

Dove  $\rho_{real}$  è la densità dei compositi,  $\rho_{filled}$  è la densità teorica dei compositi considerando che tutte le particelle sono riempite da PLA e  $\rho_{unfilled}$  è la densità teorica dei compositi considerando che nessuna delle particelle è riempita da PLA. Questi due parametri sono stati valutati secondo le seguenti Eq. (9), (10):

$$\begin{aligned}\rho_{filled} &= \rho_{f-pyc} \phi_{f-pyc} + \rho_{PLA} \phi_{PLA} \\ \rho_{unfilled} &= \rho_{f-app} \phi_{f-app} + \rho_{PLA} \phi_{PLA}\end{aligned}$$

Dove  $\rho_{f-pyc}$  è la densità reale di OFI (valutata al picnometro)  $\phi_{f-pyc}$  è la frazione volumetrica di riempitivo nei compositi, tenendo conto di quest'ultimo valore di densità;  $\rho_{f-app}$  è la densità apparente di OFI;  $\phi_{f-app}$  è la frazione volumetrica di OFI nei compositi, tenendo conto di questo valore di densità.

## Risultati e discussione

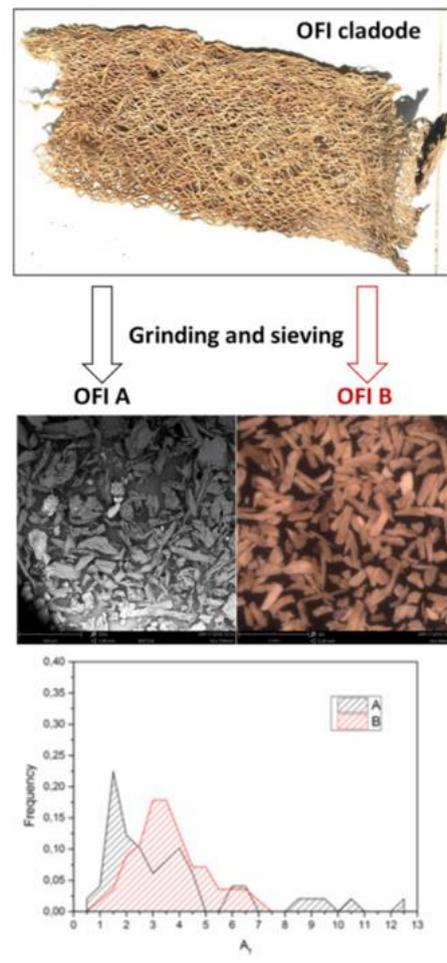


Figura 84 immagini (SEM e ottica) e distribuzioni delle dimensioni (Af) delle microparticelle grezze

La Figura 84 mostra le immagini delle microparticelle grezze insieme alle distribuzioni delle dimensioni (Af). Le cariche grezze presentano un'elevata disomogeneità in termini di forma, porosità e dimensioni, anche se esibiscono una distribuzione Af relativamente stretta, specialmente per le particelle OFI-B. In particolare, entrambe le particelle mostrano una distribuzione unimodale, con massimi centrato a 1,5 e 3,5 rispettivamente per OFI-A e OFI-B.

In ogni caso, i valori medi di peso di Af sono risultati simili, ovvero a 3,8 e 3,7. La vera densità delle fibre grezze OFI, misurata dal picnometro ad He era pari a 1,54 g/cm<sup>3</sup>, mentre la densità apparente misurata su 50 fibre, prima della macinazione era pari a 0,6 ± 0,06 g/cm<sup>3</sup>, con una porosità di circa il 60% (±4%). L'incorporazione di riempitivi rigidi può portare ad un aumento della viscosità con

effetti dannosi sulla processabilità dei composti [159]. Pertanto, è stato misurato il momento torcente durante la miscelazione.

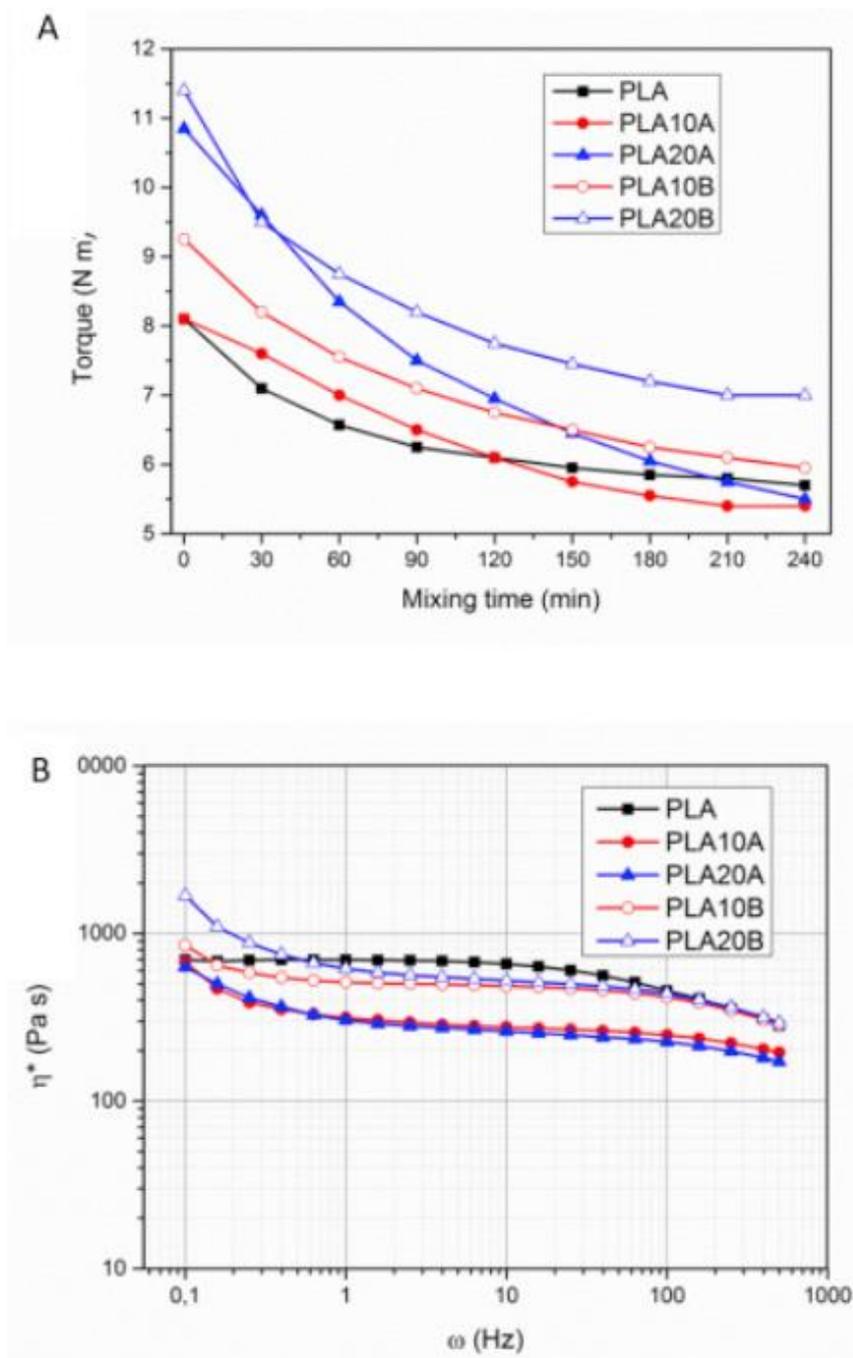


Figura 85 A) momento torcente in funzione del tempo di miscelazione B) viscosità complessa in funzione del gradiente di deformazione

In Figura 85 A viene riportato il momento torcente in funzione del tempo di miscelazione. È stato riscontrato che nella fase iniziale, all'aumentare del contenuto di carica, aumenta il valore del

momento torcente. Dopo una rapida diminuzione, durante i primi 2 minuti di miscelazione, le curve tendono a stabilizzarsi intorno 180–240s. Successivamente, il PLA puro raggiunge il plateau in meno di 3 minuti, a differenza dei compositi che lo raggiungevano con un minuto di ritardo. Analizzando i valori di torque finali, si può notare che, aggiungendo OFI-B, soprattutto al 20% in peso, aumenta la viscosità del fuso del PLA. Viceversa, l'aggiunta di OFI-A ha causato una leggera diminuzione del valore di torque, suggerendo così il verificarsi di alcuni fenomeni di degradazione del polimero.

In generale, si assiste a due fenomeni che incidono sulla viscosità durante il processo di fusione:

- (i) La presenza di un riempimento rigido può limitare la mobilità della catena del polimero, portando così ad una maggiore viscosità;
- (ii) La viscosità del fuso polimerico si riduce durante la lavorazione, questo per vari fattori tra cui, concentrazione di sforzi di taglio, degradazione polimerica, ritenzione di umidità all'interno della carica.

Quindi, durante il processo di lavorazione, la viscosità potrebbe subire variazioni significative. Le curve reologiche dei sistemi sono mostrate in Figura 86B, che riporta la viscosità complessa tracciata in funzione del gradiente di deformazione.

Il PLA mostra un comportamento newtoniano al minimo delle frequenze e un leggero *shear thinning* alle frequenze più alte. È interessante notare che i biocompositi a base di PLA mostrano sollecitazioni di snervamento a basse frequenze di deformazione, tale fenomeno testimonia la percolazione reologica della matrice all'interno del filler [160]–[162]. Tuttavia, a 0,1 Hz la viscosità dei compositi contenenti OFI-A è praticamente coincidente con quella del polimero puro. Di contro, si è rilevato un aumento della viscosità all'aumentare del contenuto di OFI-B. Alle frequenze più alte, le viscosità di PLA, PLA10B e PLA20B si sono dimostrate praticamente coincidenti, mentre quelle di PLA10A e PLA20A sono risultate inferiori a quella del polimero puro. Infatti, questo fenomeno è stato osservato anche nel caso di altri riempitivi lignocellulosici, come le foglie di *Posidonia Oceanica*, e può essere attribuito alla presenza di minerali e impurità nelle fibre grezze che inducono degradazione polimerica [163].

Sono state eseguite prove di trazione al fine di valutare l'effetto delle dimensioni e del contenuto dei riempitivi sulle prestazioni meccaniche del PLA.

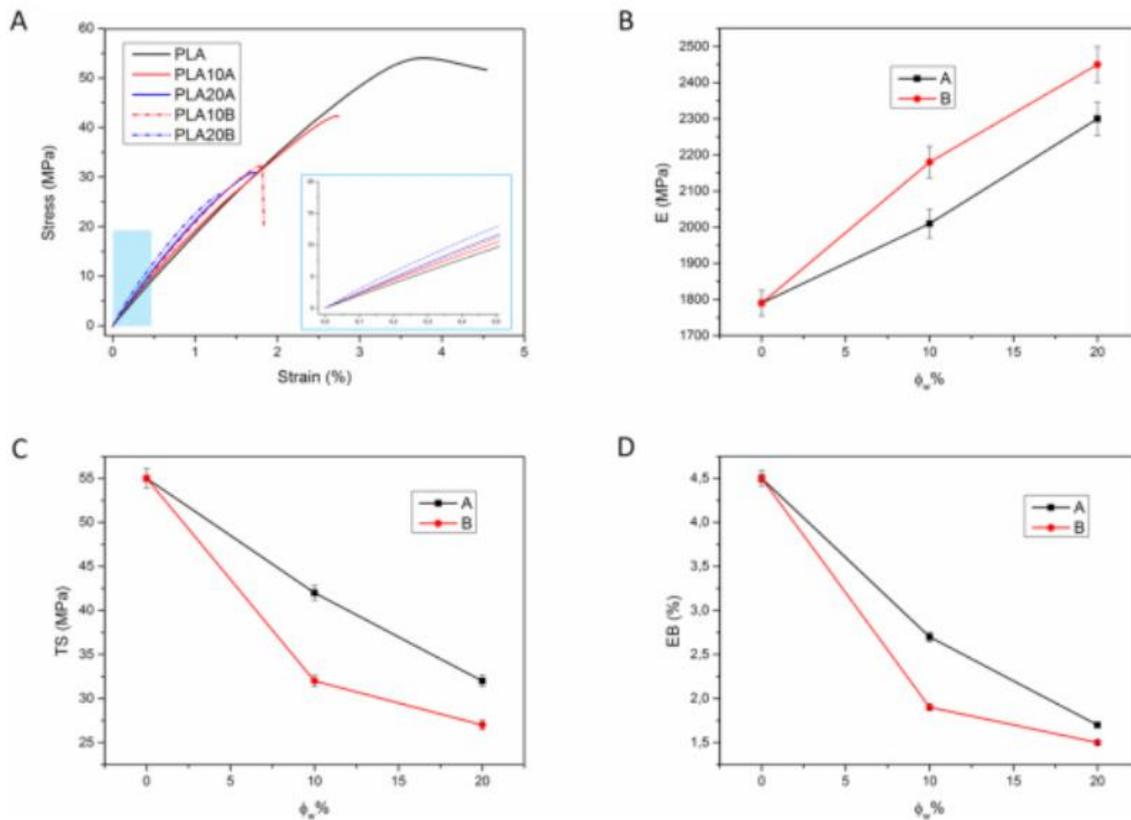
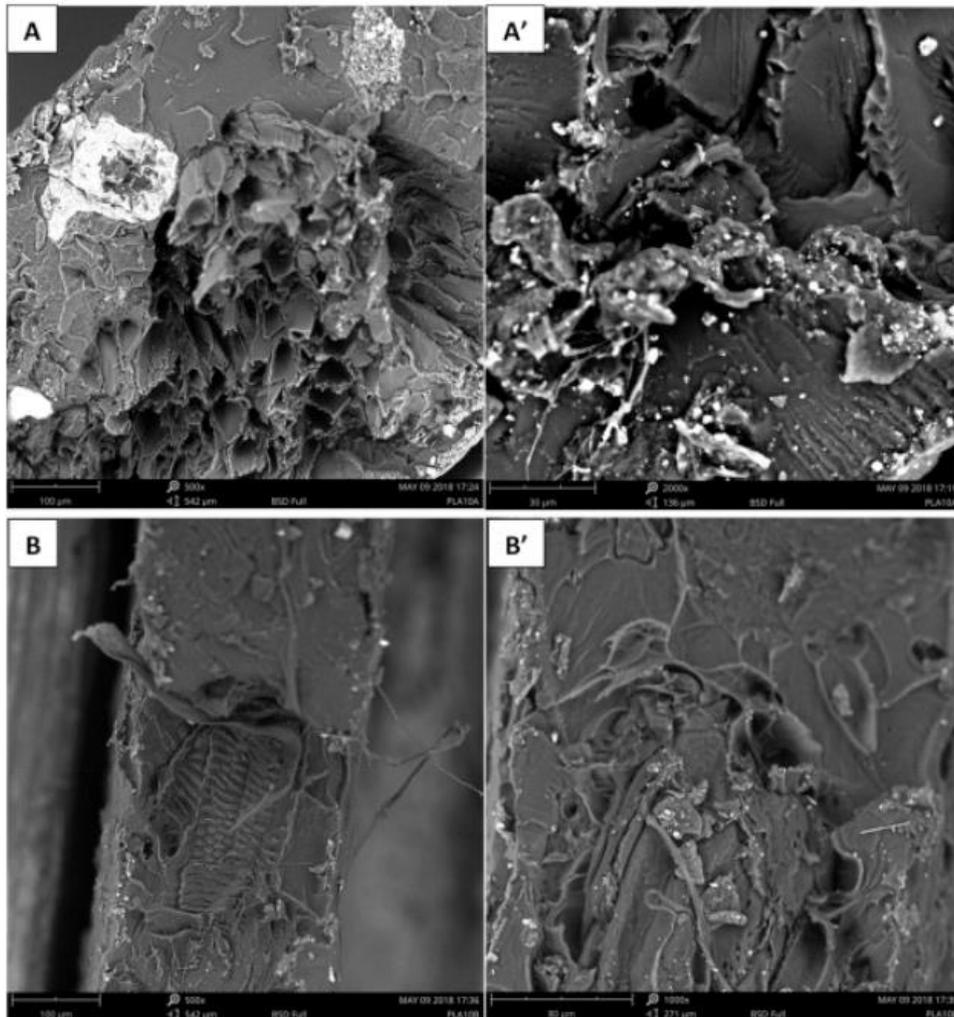


Figura 86 proprietà meccaniche dei campioni A) grafico sforzo-deformazione, B) grafico di E-modulo di Young (Mpa), C) Tensione a rottura TS (Mpa) D) allungamento a rottura EB (%)

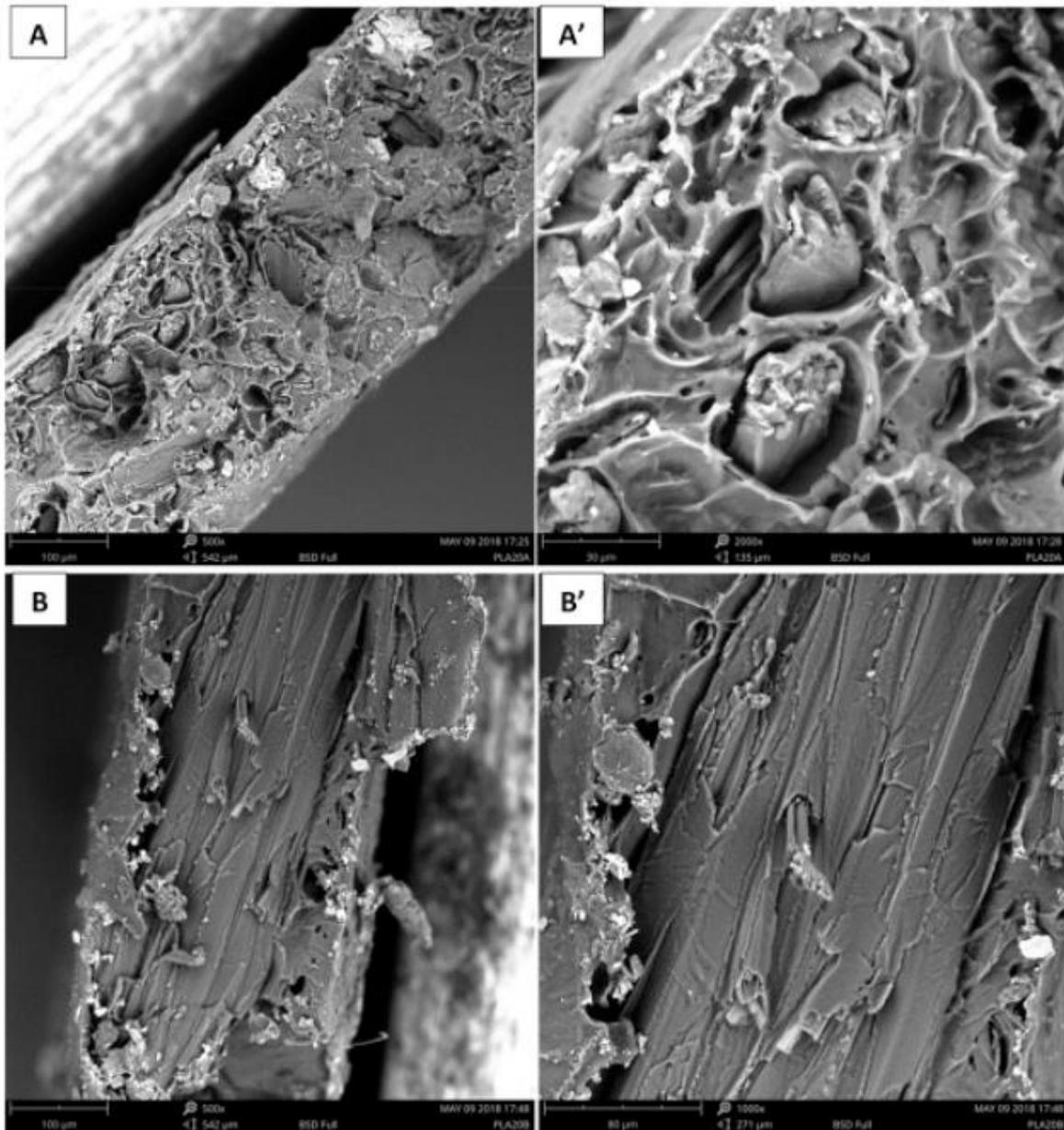
La Figura 86 riporta le proprietà meccaniche dei campioni: le curve rappresentative sforzo-deformazione, insieme al *close-up* della regione di bassa deformazione, mostrato nel pannello 87A, inoltre, nei pannelli B–D, sono mostrati i grafici di E, TS ed EB, in funzione del contenuto di riempitivo. L'analisi delle curve sforzo-deformazione mostra un comportamento diverso tra PLA puro e i suoi compositi. In effetti, sebbene tutti i materiali presentano bassi valori di allungamento a rottura, PLA mostra una deformazione più elevata, mentre questo fenomeno era praticamente trascurabile o non osservato nei campioni riempiti. Quindi, un comportamento duttile per il PLA, a differenza dei compositi contenenti OFI che hanno mostrato un tipico comportamento fragile. Aggiungendo OFI A e OFI B, i compositi hanno subito un effetto di irrigidimento, Figura 86 B, poiché il modulo elastico di tutti i compositi è risultato superiore a quello della matrice pura. Oltre, l'effetto positivo, dato dall'aumento del modulo elastico, è stata riscontrata una certa influenza della percentuale del contenuto di filler, in particolare, i riempitivi OFI-B hanno indotto un maggiore irrigidimento. L'inferiore allungamento a rottura dei biocompositi ha causato un peggioramento della resistenza a trazione, Figura 86 C, e dell'allungamento a rottura, Figura 86 D [164]. Anche in questo caso il decremento di tali proprietà si è rivelato maggiore alla massima concentrazione di riempitivo. Inoltre, se confrontato con il filler OFI-B, si può osservare che OFI-A ha un effetto meno dannoso sulle

proprietà di rottura, probabilmente a causa della maggiore quantità di intrafase, garantita dalla minore dimensione del filler. È stata eseguita l'analisi SEM sulle superfici fratturate a trazione dei compositi.



*Figura 87 micrografie SEM delle sezioni di PLA10A e PLA10B.*

La Figura 87 mostra le micrografie SEM a diversi ingrandimenti delle sezioni di PLA10A e PLA10B. La distribuzione dei riempitivi non è apprezzabile su questa scala, poiché le particelle hanno dimensioni quasi paragonabili allo spessore dei campioni. Tuttavia, l'adesione matrice-riempitivo è risultata sorprendentemente buona e nel caso di OFI-B, Figura 87 B-B', il PLA è riuscito a riempire i dotti linfatici tipici dei filler lignocellulosici, mentre quando è stato utilizzato OFI-A, Figura 87 A-A', i canali dei pori non sono riusciti a riempirsi. Analoga considerazione può essere fatta per i compositi caricati con 20% di farina lignocellulosica, mostrata in Figura 88.



*Figura 88 micrografie SEM delle sezioni di PLA20A e PLA20B*

Infatti, la struttura di PLA20A, Figura 88 A-A', mostra un livello di vuoti maggiore, mentre quella di PLA20B, Figura 88 B-B', è più compatta. Questa caratteristica, come già visto in altri sistemi simili, avrebbe potuto ragionevolmente svolgere un ruolo significativo nel miglioramento delle prestazioni dei compositi contenenti OFI-B [150], [151]. Un altro parametro cruciale che influenza la rigidità in un composito è la dispersione del riempitivo[160]. Per avere una misura quantitativa di questa proprietà, è stato calcolato l'indice di miscelazione (MI) alle eq. (1)–(3) e i risultati sono riportati in Figura 89.

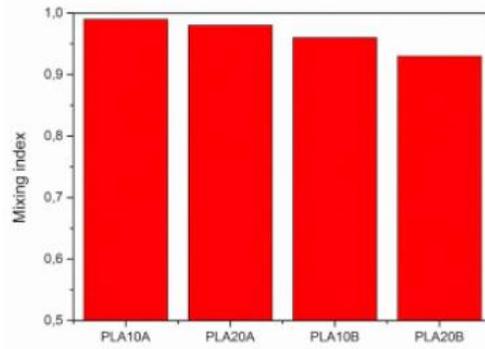


Figura 89 Indice di miscelazione (MI)

Dall'analisi dei dati risulta che la tecnica di lavorazione utilizzata consentiva in tutti i casi alti gradi di dispersione, con MI vicino a 1. Tuttavia, qualche piccola differenza è stata osservata nei compositi caricati al 20%, (PLA20A) mostrando un MI leggermente superiore a quello del PLA20B, probabilmente a causa della viscosità del fuso inferiore.

Un fattore chiave che influenza le proprietà meccaniche è il fattore di forma del riempitivo [165]. In effetti, è noto che durante il processo di miscelazione si assiste alla riduzione o all'accorciamento delle fibre e/o particelle. A tal proposito, i riempitivi sono stati estratti dai compositi ed è stato analizzato il loro fattore di forma.

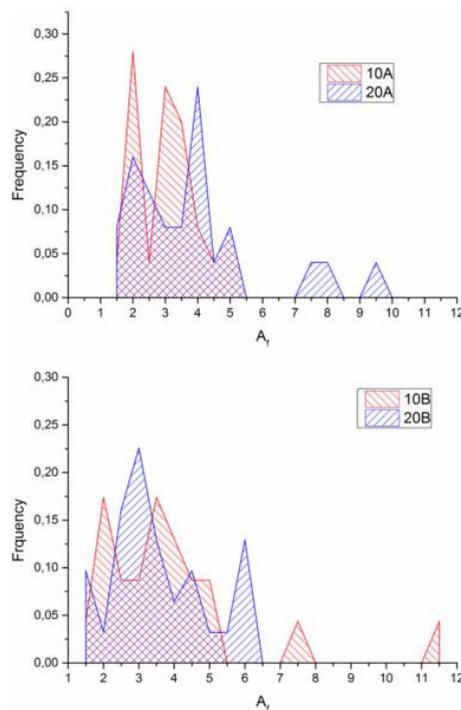


Figura 90, analisi del fattore di forma dei fillers

La distribuzione  $A_f$  dei 4 campioni è fornita in Figura 90, mentre la tabella 13 riporta i valori medi e le deviazioni standard del fattore di forma dei riempitivi prima e dopo la lavorazione. Per quanto riguarda OFI-A, le cui proporzioni erano pari a 3,8 prima della lavorazione, dopo la lavorazione allo stato fuso e l'estrazione, presentano una distribuzione bimodale con due massimi, centrati rispettivamente in 2 e 3 per 10A (cioè le cariche estratte da PLA10A) e 2 e 4 per 20A. Inoltre, la distribuzione di 10A si è rivelata più stretta, con tutte le particelle comprese tra 1,5 e 5. Al contrario, i filler estratti da 20A hanno mostrato una distribuzione  $A_f$  più ampia, con il 15% delle particelle con proporzioni comprese tra 7 e 10. Questa funzione può essere presumibilmente attribuibile alla ridotta viscosità di PLA20A che potrebbe aver reso il polimero incapace di restringere alcune particelle. Per quanto riguarda OFI-B, invece, la distribuzione bimodale di 10B presenta due massimi a 2 e 3,5. Il 95% delle particelle ha  $A_f$  nell'intervallo 1,5–5, con un 5% che ha un rapporto  $l/d$  superiore (pari a 7,5 e 11,5). Inoltre, una distribuzione unimodale e stretta è attribuita alle particelle 20B, il cui massimo è stato di 3 e tutte le particelle mostravano  $l/d$  meno di 6,5. Anche in questo caso si può spiegare la maggiore viscosità del fuso mostrata da PLA20B.

Tabella 13 valori medi e le deviazioni standard del fattore di forma dei riempitivi prima e dopo la lavorazione

Sample	$A_f$ mean	SD
A before processing	3.82	2.64
Extracted from PLA10A	2.81	0.96
Extracted from PLA20A	3.52	1.95
B before processing	3.74	1.23
Extracted from PLA10B	3.63	2.16
Extracted from PLA20B	3.34	1.31

Tuttavia, come visibile nella tabella 13, sia le particelle grezze che quelle estratte dai compositi non differiscono tra loro in termini di valori medi di  $A_f$ , con questi ultimi che variano da 2,8 a 3,6. Sono stati confrontati i dati sperimentali effettuati con prove di trazione con quelli previsti dal modello Halpin-Tsai. Questo modello consente di valutare il modulo del composito ( $E_c$ ), una volta noti i seguenti parametri: modulo elastico della matrice ( $E_m$ ) e del riempitivo ( $E_f$ ), le frazioni in volume e le proporzioni del riempitivo ( $A_f$ ) [165]. Come sopra indicato,  $E_m$  è stato determinato sperimentalmente mediante prove di trazione e risultata pari a  $1,8 \pm 0,1$  GPa.  $E_f$  è stato determinato eseguendo prove di trazione su 50 fibre lunghe essiccate derivate da cladodi ed è risultato pari a 3,5

$\pm 0,6$  GPa. La dispersione dei dati è tipica dei filler lignocellulosici e dipende dall'eterogeneità intrinseca in termini di porosità e composizione chimica.

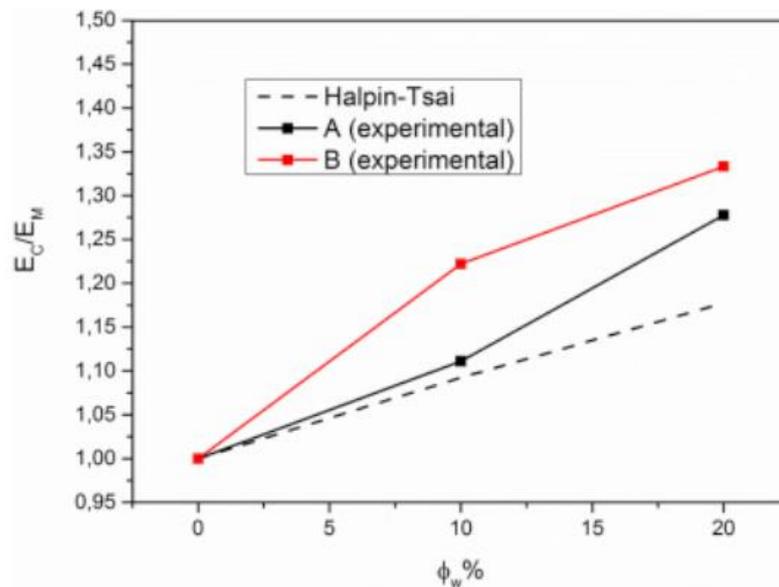


Figura 91 confronto tra il modello teorico di Halpin-Tsai e i dati sperimentali

La Figura 91 fornisce un confronto tra i moduli sperimentalmente misurati e quelli previsti dal modello Halpin-Tsai (Eq. (4)). Si può evidenziare che questo modello è potenzialmente in grado di descrivere il comportamento di PLA10A, mentre gli altri moduli sono sottostimati. Una possibile spiegazione potrebbe riguardare la capacità del PLA di entrare nei canali vuoti delle particelle OFI-B, come previsto dalle analisi SEM. Questa caratteristica migliora la rigidità meccanica. Infatti, il modulo delle fibre OFI sperimentalmente misurato e utilizzato per la previsione Halpin-Tsai, si riferisce ad una struttura estremamente porosa, mentre nel caso di pori riempiti il modulo tende ad approssimare il modulo di *bulk* OFI. È stata misurata la densità reale dei compositi e i dati sono elencati nella tabella 14. La quantità di interfase è stata calcolata per ciascun campione ed è riportata in Figura 92.

Tabella 14 densità reale dei compositi

Sample	Real density ( $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ )	Standard deviation
PLA	1.27	0.00
OFI	1.54	0.00
PLA10A	1.27	0.02
PLA20A	1.29	0.00
PLA10B	1.28	0.00
PLA20B	1.31	0.00

È interessante notare che è stata trovata una forte correlazione tra rigidità e quantità di intrafase. Presumibilmente, la capacità del PLA di entrare nei canali vuoti di OFI-B induce una maggiore superficie di contatto tra riempitivo e matrice e la presenza di un minor numero di vuoti. Tali caratteristiche hanno ripercussioni positive sul modulo elastico dei biocompositi, giustificando così la deviazione positiva rispetto al modello Halpin-Tsai

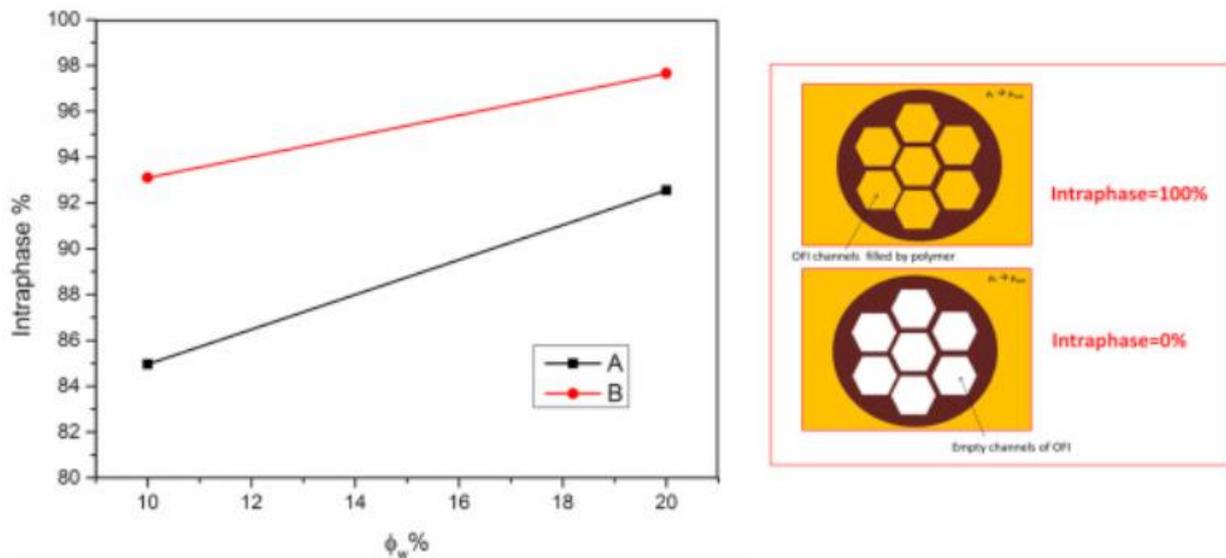


Figura 92 Intrafase in funzione alla quantità di riempitivo

### *Conclusioni*

Nell'ambito di questo lavoro è stata ottenuta una farina lignocellulosica macinando i cladodi *Opuntia Ficus Indica* (OFI) e aggiungendoli al PLA per preparare green composites tramite melt mixing. È stata valutata l'influenza del contenuto e della dimensione del riempitivo sulla morfologia, sulle proprietà reologiche e sulle prestazioni meccaniche dei compositi. È stato riscontrato che l'aggiunta di OFI a una matrice di PLA determina un notevole aumento della rigidità, mentre diminuisce la resistenza alla trazione, allungamento a rottura e tenacità. Per quanto riguarda la tipologia di OFI, si è riscontrato che maggiore è la dimensione del riempitivo, maggiore è l'incremento di rigidità e più notevole è il comportamento fragile. Un esame più attento del grado di dispersione e il rapporto d'aspetto finale mette in evidenza differenze trascurabili tra i campioni. Tuttavia, la capacità del polimero di penetrare nei canali vuoti del filler (intrafase) si è rilevata diversa a seconda della dimensione e della concentrazione di riempitivo. L'eccellente miglioramento meccanico di tali compositi green, la cui rigidità aumentata fino al 135%, rappresenta un promettente potenziale per lo sviluppo di dispositivi realizzati tramite FDM.

Considerati gli ottimi risultati ottenuti in questa fase preliminare, in cui è stata verificata la possibilità di processare da fuso tali green composites, nei lavori successivi verrà mostrata la realizzazione di diversi dispositivi a matrice biopolimerica con carica naturale ottenuta da scarti agricoli o marini attraverso la tecnologia FDM.

**5.5 Dispositivi green: Stampa per FDM di green composites con cariche ottenute da scarti agricoli o marini per la realizzazione di dispositivi con strutture customizzabili a basso impatto ambientale.**



*Figura 93 oggetti di PLA e cariche naturali di Posidonia oceanica (riquadro blu) o Opuntia ficus indica (riquadro verde) stampati in 3D attraverso FDM*

Dall'analisi preliminare delle relazioni di processo-struttura-proprietà di PLA-OFI è emerso che la carica naturale, oltre ad essere facilmente processabile, ha indotto eccellenti miglioramenti meccanici al biocomposito [166]. La processabilità dei green composites nel FDM è ancora un campo relativamente inesplorato in ambito scientifico. Inoltre, l'aggiunta di filler lignocellulosici derivanti da rifiuti agricoli o marini potrebbe essere una strategia promettente al fine di ridurre al minimo i costi di produzione e/o ottimizzare alcune proprietà, quali meccaniche, bassa densità, biodegradabilità [25], [26], [153].

In questo lavoro, sono stati prodotti dei filamenti per FDM a base di PLA caricato con filler naturali provenienti da scarti agricoli e marini, rispettivamente *Opuntia Ficus Indica* (OFI) e foglie di *Posidonia Oceanica* (POL) (Figura 93). In dettaglio, sono state individuate ed ottimizzate le variabili di processo FDM. Sono state investigate le proprietà (meccaniche, reologico/strutturali, morfologiche e di bagnabilità), dei campioni stampati prima e dopo processo FDM.

### Materiali e metodi

Il PLA utilizzato in questo lavoro è il 2002D, prodotto da Natureworks (USA)  $r = 1,24 \text{ g/cm}^3$ , MFI= 6 g/10min,  $M_n = 113.300$  e  $M_w = 181.600$ , lavorabile a temperatura superiore a  $155 \text{ }^\circ\text{C}$ . Per quanto riguarda i filler organici naturali, i cladodi di *Opuntia ficus indica* (OFI) sono stati forniti da Bio Ecopuntia (Italia), mentre gli scarti di foglie di *Posidonia oceanica* (POL) sono stati raccolti sulla costa di Palermo, in Italia. Le materie prime ottenute (Figure 94 1a e 2a) sono state lavate accuratamente (Figure 94 1b e 2b) e tritate (Figure 94 1c e 2c) prima di ogni lavorazione. Secondo le indagini preliminari, entrambi i riempitivi mostrano una struttura porosa, a causa della presenza di canali vascolari vuoti di forma esagonale, detti *lumens* [150]. I *lumens* di POL hanno dimensioni più regolari, rispetto a quelli di OFI, con ciascun poro che mostra un'area approssimativamente uguale a  $50\text{--}60 \text{ m}^2$ . Nel caso di OFI invece, la struttura è molto irregolare con monopori che presentano aree variabili da poche decine di mq fino a  $2000 \text{ mq}$ .



Figura 94 Cladodi di *Opuntia ficus indica* e foglie di *Posidonia oceanica* dopo pulizia essiccamento e macinazione

Il primo passo è stato focalizzato sull'ottenimento delle farine di OFI e POL adatte alla stampante FDM. Pertanto, OFI e POL sono stati macinati per 2-3 minuti e quindi setacciati in un setaccio, cercando di selezionare riempitivi di dimensioni inferiori a  $75 \mu\text{m}$  (dimensioni compatibili con l'ugello della stampante). Prima di ogni lavorazione le farine OFI e POL ottenute sono state essiccate

in stufa sottovuoto a 90°C durante la notte. I biocompositi a base di PLA, contenenti il 10 e il 20% in peso di OFI, (rispettivamente OFI10 e OFI20) e POL (rispettivamente POL10 e POL20), sono stati preparati attraverso l'estrusore monovite descritto nella sezione delle apparecchiature, con i seguenti parametri di processo:

- velocità della vite = 40 giri/min
- profilo di temperatura = 160–180–200–210 °C.

Al fine di ottenere un diametro omogeneo e compatibile con l'ugello della stampante, di 1,75 mm di diametro, gli estrusi sono stati stirati attraverso un sistema a nastro rotante alla velocità di avvolgimento di 5,5 m/min. L'intero processo è riassunto nella Figura 95.

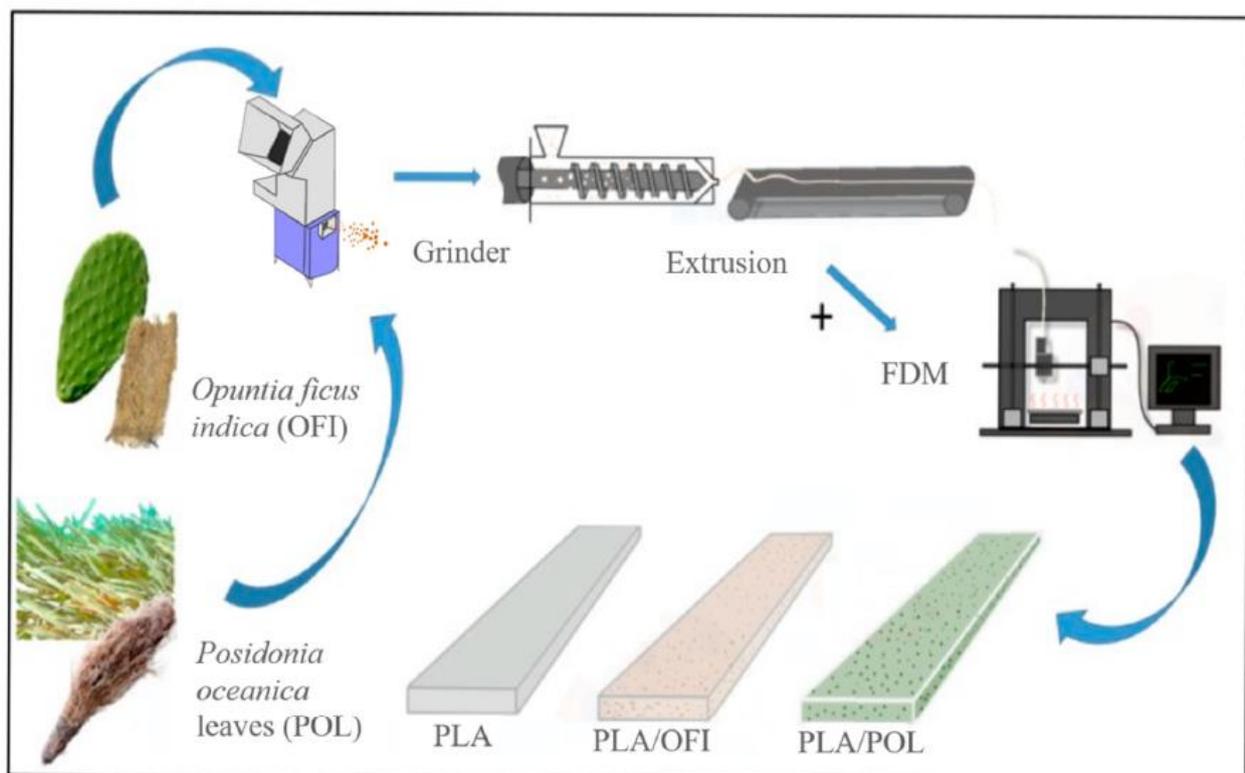


Figura 95 schema di processo per l'elaborazione e la stampa dei biocompositi

La progettazione dei campioni da stampare tramite FDM è stata eseguita con l'ausilio del Software CAD Solid Edge 2019®. I file STL prodotti sono stati elaborati sul software Simplify3D® in modo da ottenere i file gcode. Per tutti i sistemi biocompositi, sono stati selezionati i seguenti parametri dimensionali: 60 mm x 10 mm x 2 mm per i test di trazione, 40 mm x 13 mm x 2 mm per i test di flessione e 80 mm x 10 mm x 2 mm per i test di impatto. Il processo FDM è stato eseguito utilizzando

la stampante 3D Sharebot descritta nella sezione delle apparecchiature. I parametri FDM sono riportati in Tabella 15.

Tabella 15 parametri di processo FDM

FDM Operating Parameter	Value
Nozzle temperature	220 °C
Bed temperature	60 °C
Infill rate	80%
Infill pattern	Rectilinear
Raster angle	0°
Layer thickness	0.1 mm
Extrusion width	0.45 mm
Printing speed	45 mm/s
Perimeter shells	3
Sample Orientation	flat

I codici dei campioni ottenuti sono riassunti nella Tabella 16, mentre alcuni campioni rappresentativi sono mostrati in Figura 96.

Tabella 16 formulazioni e codici campioni

Sample Code	PLA, wt %	Filler, wt %
PLA	100	0
OFI10	90	10
OFI20	80	20
POL10	90	10
POL20	80	20

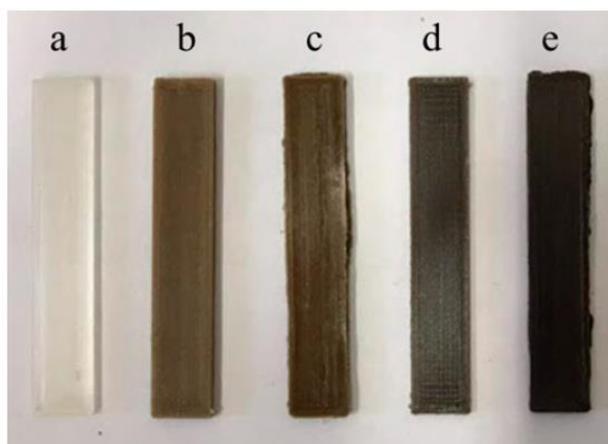
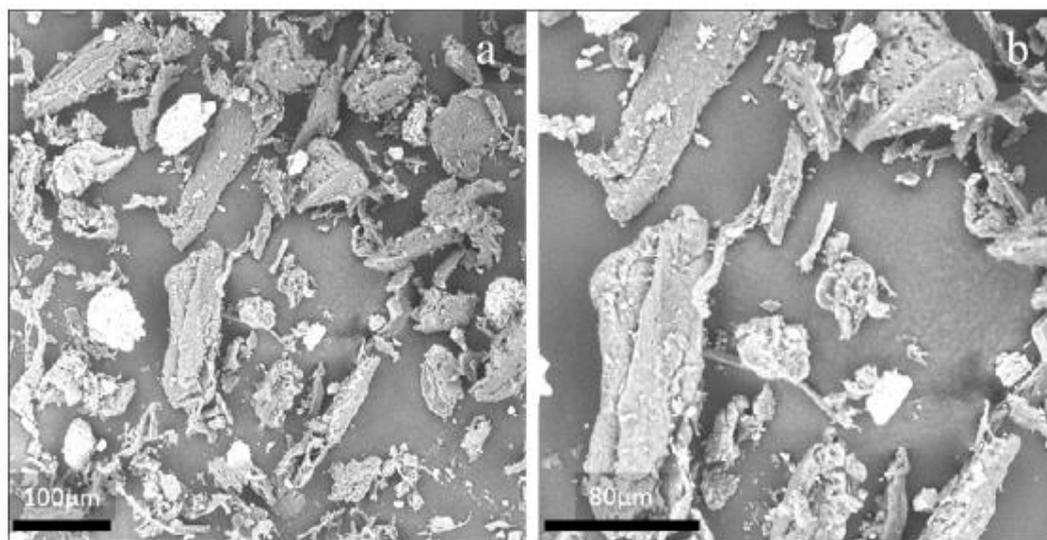


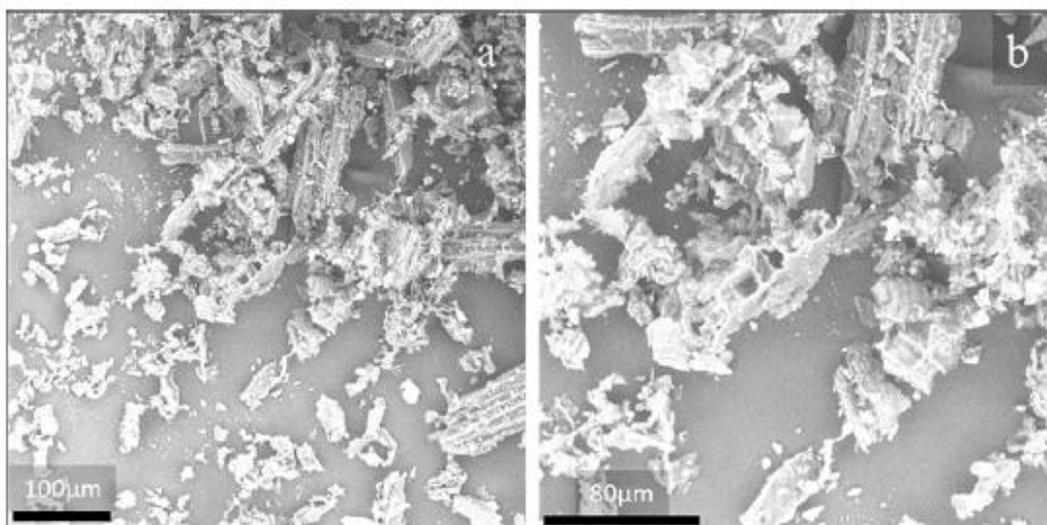
Figura 96 campioni rappresentativi di PLA, PLA/OFI, PLA/POL 10 e 20 wt%

### *Risultati e discussione*

È stata analizzata la distribuzione dimensionale dei riempitivi naturali post setacciatura, le immagini SEM sono mostrate nella Figura 97 a, b e nella Figura 98 a, b rispettivamente per OFI e POL



*Figura 97 immagini SEM delle farine di OFI*



*Figura 98 immagini SEM delle farine di POL*

In entrambi i casi è facilmente riconoscibile la forma allungata delle particelle, che viene mantenuta dopo la setacciatura. La distribuzione delle proporzioni è mostrata in Figura 99.

Si può facilmente notare che la dimensione delle particelle per entrambi i riempitivi è compresa tra 2 e 4 di Ar.

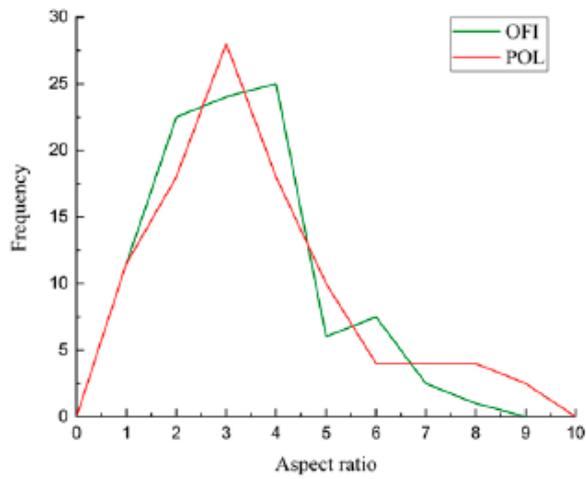


Figura 99 distribuzione delle proporzioni dei riempitivi (Ar)

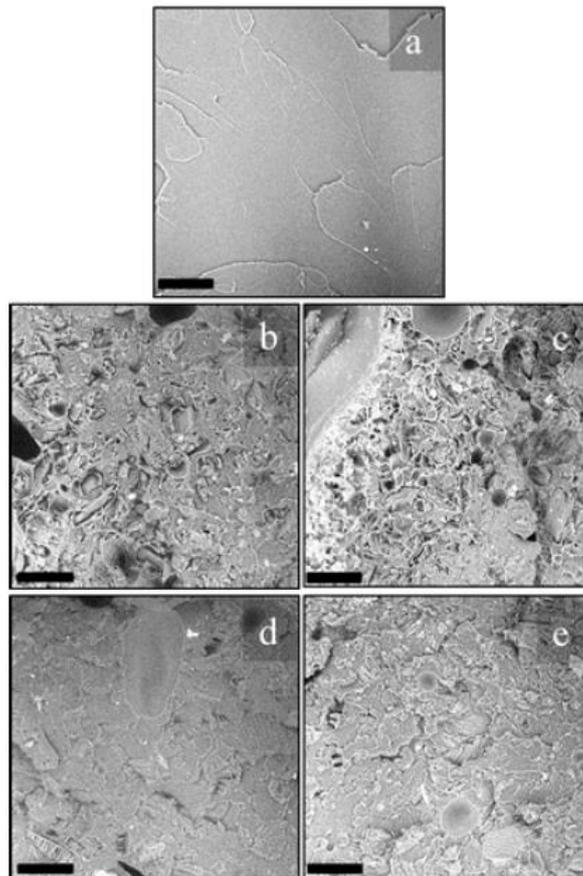


Figura 100 immagini SEM delle superfici di frattura dei filamenti di PLA, OFI10, OFI20, POL10 e POL20

L'analisi morfologica è stata eseguita anche sulle superfici di frattura trasversali dei filamenti ottenuti dopo l'estrusione, al fine di valutare la dispersione e/o l'eventuale agglomerazione di particelle. La Figura 100 mostra le superfici di frattura dei filamenti di PLA, OFI10, OFI20, POL10 e POL20.

Nel sistema PLA-OFI, il riempitivo è soggetto a scarsi fenomeni di agglomerazione e presenta elevati livelli di vuoti, individuabili dalla scarsa presenza di polimero all'interno dei lumens; questi fenomeni aumentano all'aumentare del contenuto di filler.

Nel lavoro preliminare, si è constatato che la capacità del PLA, di entrare nei canali vuoti di OFI, diminuisce al diminuire del contenuto di filler. Alti gradi intrafase determinano una maggiore area di contatto tra riempitivo e matrice e, ovviamente, un minor livello di vuoti con ripercussioni positive sulle prestazioni meccaniche finali dei biocompositi. Nel caso dei biocompositi PLA-POL, la dispersione del filler si è rivelata più uniforme e soprattutto, è stato riscontrato un livello di vuoti estremamente inferiore, con la maggior parte dei lumen penetrati da catene polimeriche.

Una valutazione quantitativa dell'intrafase per tali campioni è stata fatta tramite picnometria.

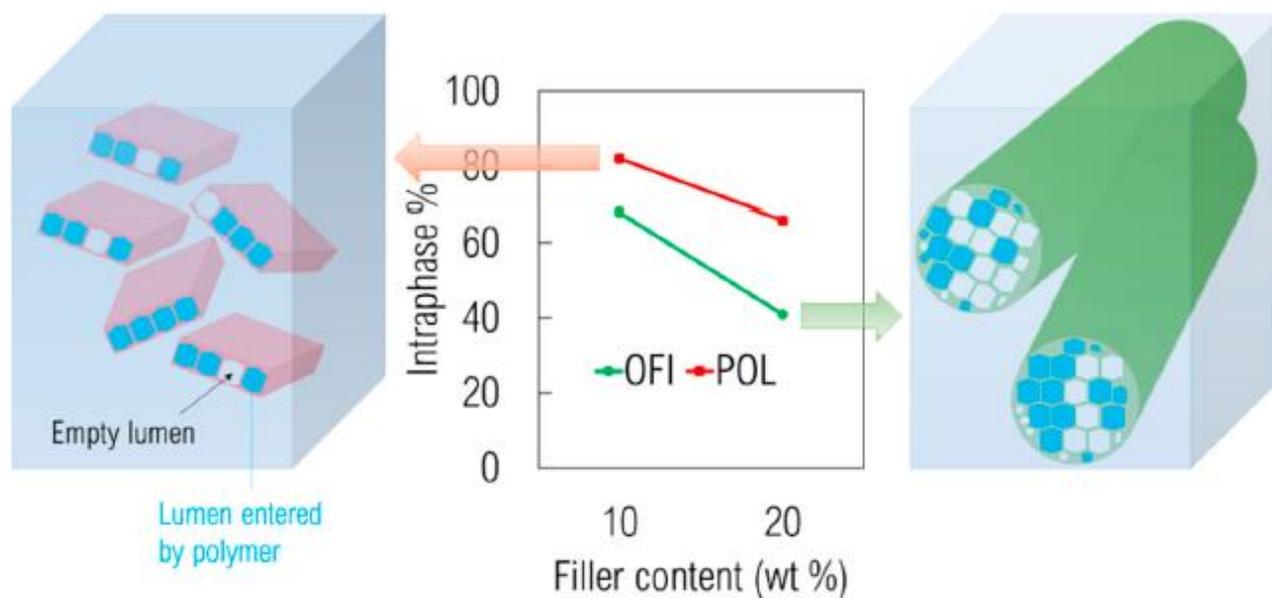


Figura 101 valori di intrafase riportati in funzione del contenuto di filler per i sistemi contenenti OFI e POL e rappresentazione grafica dei lumens vuoti e pieni in POL10(sinistra) e OFI20(destra)

Come si può notare in Figura 101, le misure quantitative riportate confermano quanto previsto dall'analisi morfologica. In particolare, la capacità del PLA di penetrare i canali vuoti si è rilevata diversa, a seconda del tipo di riempitivo lignocellulosico. In entrambi i casi il livello dei vuoti tende

ad aumentare con un carico di riempimento maggiore, tuttavia, i canali di POL hanno mostrato un maggior contenuto di filler rispetto ad OFI.

Dopo il processo di FDM e la produzione dei sistemi stampati in 3D, al fine di valutare la qualità dei campioni ottenuti, sono state misurate diverse proprietà meccaniche. In particolare, le proprietà di trazione, flessione e impatto (in modalità Charpy) di tutti campioni sono riportate rispettivamente nelle Tabelle 17–19.

Tabella 17 proprietà di trazione

Sample	Elastic Modulus (MPa)	Tensile Strength (MPa)	Elongation at Break (%)
PLA	2810 ± 40	60 ± 2	3.7 ± 0.6
OFI10	2760 ± 80	54 ± 2	2.4 ± 0.5
OFI20	2610 ± 120	32 ± 5	1.8 ± 0.4
POL10	2780 ± 53	52 ± 2	3.4 ± 0.2
POL20	2560 ± 72	38 ± 7	2.3 ± 0.5

Tabella 18 proprietà di flessione

Sample	Flexural Modulus (MPa)	Flexural Strength (MPa)
PLA	550 ± 11	98 ± 6
OFI10	450 ± 17	58 ± 4
OFI20	353 ± 22	46 ± 2
POL10	485 ± 14	76 ± 8
POL20	350 ± 10	60 ± 4

Tabella 19 Proprietà di impatto

Sample	Impact Strength (kJ/m <sup>2</sup> )
PLA	21.2 ± 0.5
OFI10	25.4 ± 0.7
OFI20	11.3 ± 0.4
POL10	23.9 ± 1
POL20	15.9 ± 0.8

Ad alte concentrazioni di riempitivo si assiste ad una notevole riduzione delle proprietà di rottura (TS ed EB, con decrementi del 50% nel caso di OFI20, mentre, l'utilizzo del 10% di filler, ha mostrato perdite trascurabili. Il modulo elastico si mantiene sostanzialmente stabile. Considerazioni simili possono essere fatte per le proprietà di flessione, sebbene i decrementi osservati in termini di moduli

siano più significativi, passando dall'11% (POL10) al 36% (OFI20).

Per quanto riguarda le proprietà di impatto, invece, si assiste ad un notevole incremento con il 10% di riempitivo di POL10 e OFI10 rispettivamente del 14% e del 20%; mentre un forte cambiamento di questa tendenza si verifica a quantità di carica maggiori.

Una panoramica delle variazioni relative e delle principali proprietà meccaniche osservate nei biocompositi è riassunta in tabella 20.

Tabella 20 variazioni delle proprietà meccaniche

Sample	E	TS	EB	FM	FS	IS
OFI10	-1.8%	-10%	-35%	-18%	-41%	+20%
OFI20	-7%	-47%	-51%	-36%	-53%	-47%
POL10	-1%	-10%	-8%	-11%	-22%	+14%
POL20	-9%	-37%	-37%	-36%	-38%	-28%

Questi risultati indicano che il miglior sistema in termini di prestazioni meccaniche è POL10, mentre OFI20 ha mostrato le peggiori prestazioni. In particolare, questi risultati erano in accordo con l'andamento osservato per la percentuale intrafase, suggerendo quindi, che la diversa capacità del PLA di penetrare i vuoti dei filler avrebbe potuto giocare un ruolo chiave nel determinare le prestazioni finali di tali materiali.

Per spiegare meglio questi risultati, sono state riportate, nella Figura 102, le micrografie SEM delle superfici di frattura (dopo le prove di trazione) dei provini stampati in 3D.

Dalle superfici di frattura è possibile affermare che l'aumentare del contenuto di riempitivo induce superfici di frattura più ruvide, con presenza di pochi agglomerati, vuoti (legati alla porosità dei riempitivi) e crepe (dovute alla concentrazione delle sollecitazioni) [167]. I due filler condividono questa tendenza, anche se in POL20 è stato possibile osservare una discreta quantità di lumens totalmente riempiti dal polimero, mentre OFI20 esibiva la massima concentrazione di vuoti. Anche in questo caso POL10 ha mostrato la massima compattezza, in pieno accordo con i risultati dello studio dell'intrafase. I decrementi osservati nelle proprietà meccaniche sono attribuibili alla rottura delle microfibre durante la lavorazione, come evidenziato dall'analisi di immagine delle superfici di frattura, che permettono di calcolare la distribuzione delle dimensioni dei riempitivi (Figura 103).

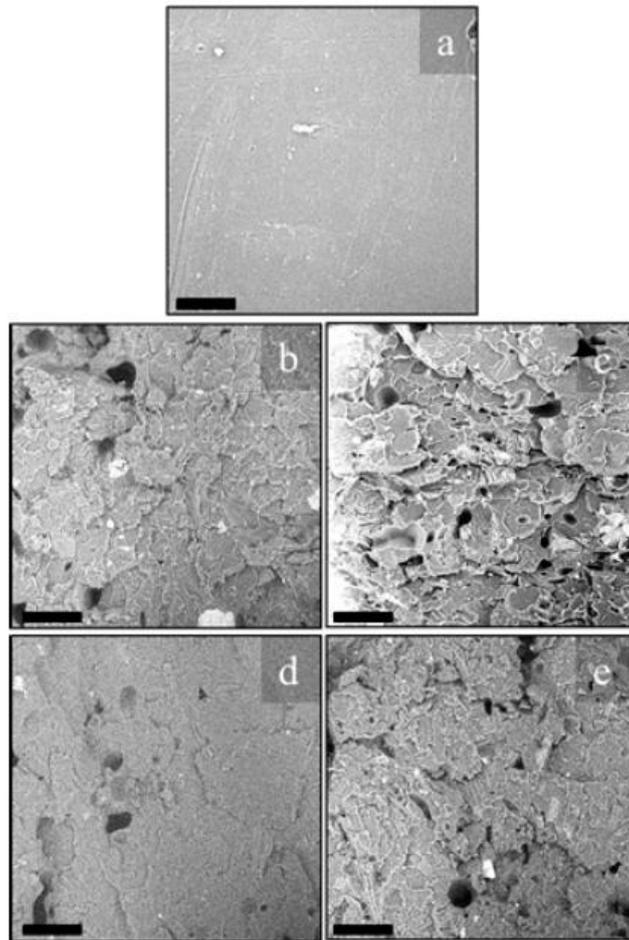


Figura 102 immagini SEM delle superfici di frattura

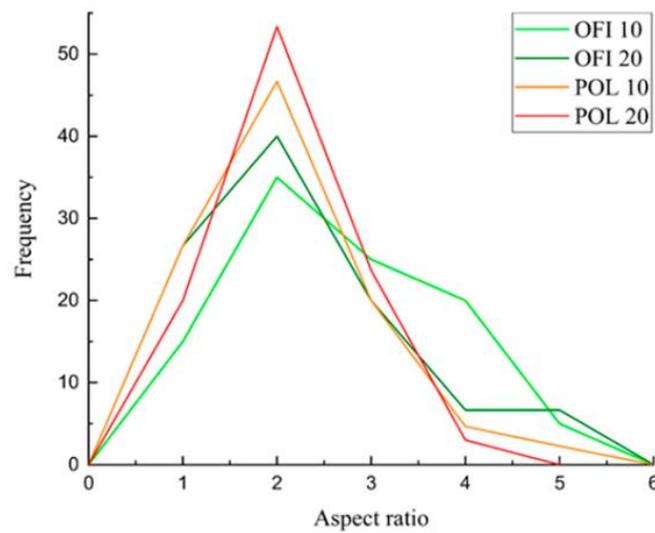


Figura 103 distribuzioni delle dimensioni dei riempitivi dei campioni

È stato calcolato che, mentre l'Ar delle microfibre OFI prima della lavorazione era circa 3, e quello delle microfibre POL era di circa 2,6, le loro riduzioni dopo la lavorazione (FDM) erano di circa il 34% e il 44% rispettivamente per OFI10 e OFI20, e circa il 27% e il 36% rispettivamente per POL10 e POL20. Pertanto, la rottura delle fibre è leggermente inferiore nei compositi POL rispetto a quelli OFI. Le differenze nelle risposte meccaniche possono essere ulteriormente osservate dalle curve sforzo-deformazione in trazione (Figura 104) e flessione (Figura 104).

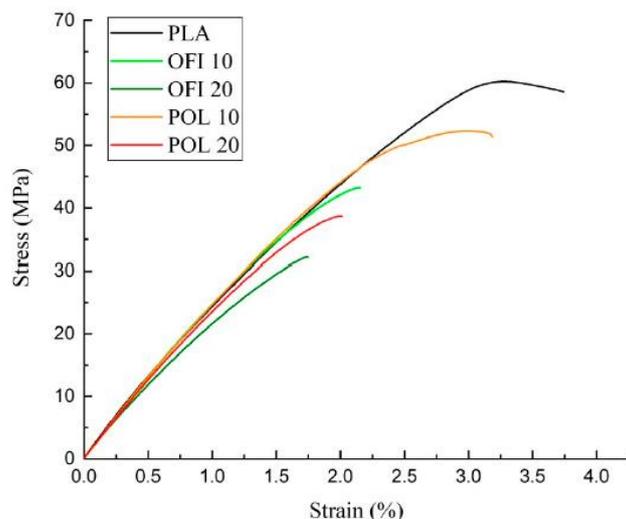


Figura 104 curve sforzo-deformazione in trazione in trazione

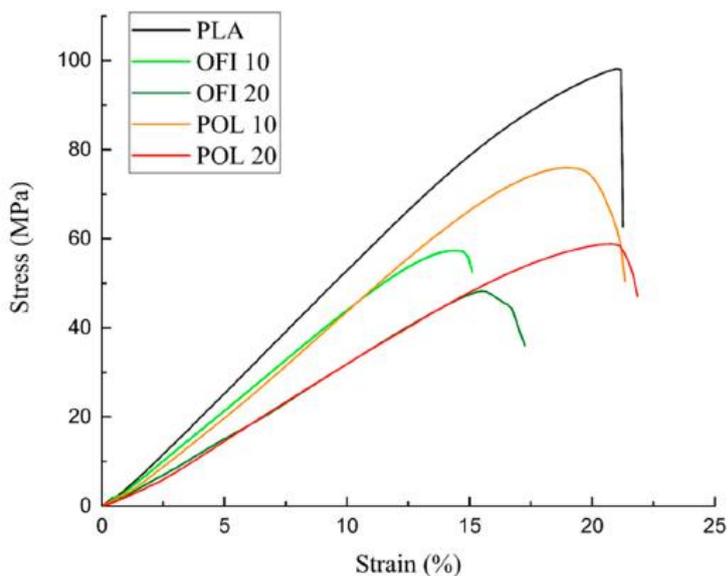


Figura 105 curve sforzo-deformazione in flessione

È stato rilevante investigare eventuali cambiamenti della matrice polimerica durante le lavorazioni. Attraverso misure di viscosità intrinseca è stata valutata la variazione di peso molecolare. I risultati sono mostrati nella tabella 21.

Tabella 21 valori di viscosità intrinseca dei compositi green prima e dopo FDM

Sample	Extruded	FDM
PLA	101.5	80.4
OFI10	99.7	76.0
OFI20	81.8	74.1
POL10	98.1	78.8
POL20	80.9	76.1

È possibile notare che a causa della doppia lavorazione (estrusione monovite + stampa 3D), i campioni FDM avevano valori di peso molecolare significativamente più bassi, con una perdita di circa il 20% nel PLA e il 22–25% nei compositi. Inoltre, in entrambe le serie dei campioni, la riduzione aumenta all'aumentare del contenuto di riempitivo. Questo può essere attribuito all'aumento della viscosità, dovuto all'elevata carica di filler, che induce maggiori sforzi di taglio. Tali sforzi, a loro volta, inducono un maggiore degrado termomeccanico. Tuttavia, le differenze tra i sistemi riempiti al 10% e al 20% sono relativamente trascurabili nei sistemi FDM, indicando che il processo di stampa 3D non comporta sforzi di taglio particolarmente elevati.

Infine, vengono mostrati gli angoli di contatto con l'acqua (WCA) rappresentativi dei campioni FDM nella Figura 106, mentre i valori medi e le deviazioni standard sono elencati nella Tabella 22.

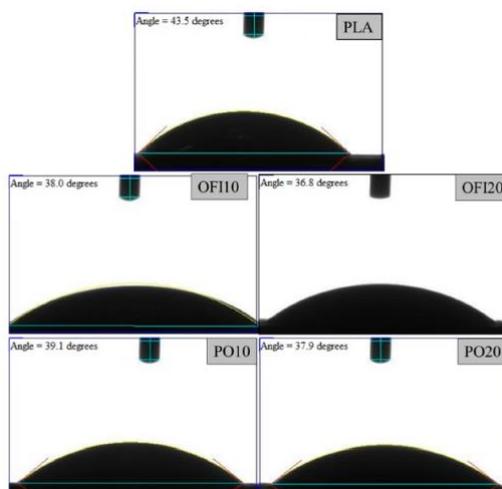


Figura 106 angoli di contatto (WCA) rappresentativi dei campioni FDM

Tabella 22 valori dei test di WCA

Sample	WCA (°)
PLA	43.4 ± 0.2
OFI10	38.1 ± 0.1
OFI20	36.9 ± 0.2
POL10	39 ± 0.1
POL20	37.9 ± 0.1

All'aumentare del contenuto di riempitivo aumenta il carattere idrofilo dei sistemi, con WCA che vanno da da 43,4 a 36,9 gradi. Nel caso di PLA puro, il WCA è di 43,4, tale risultato potrebbe essere in qualche modo inaspettato, data la tipica idrofobicità di questo poliestere. Tuttavia, può essere facilmente spiegato considerando la significativa riduzione del peso molecolare avvenuta a causa della doppia lavorazione, con conseguente aumento dei terminali -COOH e -OH [168]. Un'ulteriore riduzione dei valori di WCA si osserva in tutti i biocompositi. I valori di WCA decrescono all'aumentare del contenuto di carica. Ciò significa che i sistemi studiati diventano sempre più idrofili, tale comportamento potrebbe essere attribuito principalmente alla natura idrofila dei riempitivi, pur essendo incorporati nella matrice PLA. Questo risultato potrebbe portare a effetti benefici, poiché si potrebbe favorire l'interazione con acqua e batteri e quindi aumentare la degradabilità complessiva del materiale, sia dal punto di vista chimico che biologico. In effetti, è noto che alcuni poliesteri, pur essendo completamente degradabili, spesso subiscono una cinetica di degradazione lenta a causa della loro idrofobicità, che ostacola la diffusione dell'acqua [168], [169].

### Conclusioni

In questo lavoro è stata valutata la processabilità di stampa per FDM nella produzione di green composites. Sono stati ottenuti due diversi riempitivi naturali, a partire da rifiuti marini e agricoli, ovvero, foglie di *Posidonia oceanica* (POL) e *Opuntia ficus indica* (OFI), macinati in farine e integrati in una matrice PLA a due differenti concentrazioni. L'esito di questa ricerca evidenzia che è possibile sostituire fino al 20% di bioplastica, senza alterare significativamente la lavorabilità e le proprietà meccaniche del polimero puro. Nonostante le iniziali differenze in termini di forma, proporzioni e rigidità, i due riempitivi si sono comportati in modo sostanzialmente simile. Le caratteristiche meccaniche sono principalmente regolate dal contenuto di carica e dall'adesione tra gli strati durante il FDM.

Inoltre, i biocompositi si sono rivelati più idrofili dei polimeri puri, e questo potrebbe favorire la biodegradabilità/compostabilità dei dispositivi a fine vita. La valorizzazione degli scarti naturali per la produzione di materiali ecocompatibili, con proprietà meccaniche soddisfacenti, potrebbe aprire la strada al green per la realizzazione di strutture complesse nel pieno rispetto delle linee guida dell'economia circolare.

## 5.6 *Studio sulla degradazione idrolitica di green composites a base di PLA e farina di Posidonia Oceanica*

Sebbene sia noto che le bioplastiche siano rinnovabili e compostabili, la loro lenta degradabilità in acqua e in altri scenari che coinvolgono l'ambiente, in cui gli enzimi appropriati per la degradazione non sono presenti, potrebbe essere un serio problema [170]. Infatti, nel caso di smaltimento marino, oggetti a base di PLA potrebbero richiedere mesi o anni prima di essere degradati. Nella letteratura scientifica è stato evidenziato come lo spessore dei campioni influisca sulla degradazione, poiché è relativamente più facile ottenere degradazione idrolitica nei film sottili, mentre nei campioni più spessi, si può dare luogo a tempi di degrado estremamente diversi [170]–[173]. Inoltre, la porosità dei materiali idrolizzabili gioca un ruolo chiave sulla penetrazione delle soluzioni e sull'area esposta a reazioni di degradazione [157]–[162].

Alcuni filler lignocellulosici presentano caratteristiche peculiari che potrebbero essere ideali per migliorare la degradabilità di tali bioplastiche, ovvero la loro idrofilia unita alla loro porosità intrinseca, dovuta alla presenza di canali [176]. I compositi verdi contenenti riempitivi lignocellulosici dovrebbero essere considerati come materiali porosi, poiché come visto negli studi precedenti, le macromolecole polimeriche sono in grado di penetrare e riempire i canali vuoti di tali particelle. Questa proprietà, che è stata definita come “intrafase”, ha dimostrato di incidere in modo significativo sulle proprietà meccaniche dei compositi. In questo studio, è stato esaminato l'effetto dell'intrafase e della formulazione sul comportamento idrolitico alla degradazione dei compositi verdi a base di PLA contenenti farina di *Posidonia oceanica* (PF). Più in dettaglio, sono state testate due diverse concentrazioni di carica e la granulometria di tali riempitivi lignocellulosici. I sistemi sono stati sottoposti a degradazione idrolitica in due differenti soluzioni tampone (pH = 7.4 e pH = 10) e sono stati monitorate le evoluzioni in termini di proprietà fisico-chimiche e perdite di massa.

### *Materiali e metodi*

La posidonia utilizzata in questo studio è stata ottenuta dalle foglie morte di *Posidonia Oceanica* raccolte sul litorale di Mondello a Palermo (Sicilia). Il protocollo adottato prevede il lavaggio, la macinazione, la setacciatura e l'essiccazione del lavoro precedente.

Sono state utilizzate diverse dimensioni di maglia di setacciatura, nominate come PF-A (75–150  $\mu\text{m}$ , Ar = 6,2) e PF-B (150–300  $\mu\text{m}$ , Ar = 12,4), con densità apparente pari a 0,42  $\text{g}/\text{cm}^3$  e densità reale pari a 1,54  $\text{g}/\text{cm}^3$ . Come matrice, è stato utilizzato il PLA (2002D). Per evitare reazioni idrolitiche

durante la lavorazione, il polimero e i riempitivi cellulósici sono stati essiccati sottovuoto per una notte, rispettivamente a  $T = 90\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T = 110\text{ }^{\circ}\text{C}$ . I compositi sono stati preparati attraverso il miscelatore descritto nella sezione delle apparecchiature. I parametri di processo sono:

- $T = 190\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,
- velocità del rotore = 64 giri/min
- $t = 6\text{ min}$ .

Per ogni lotto, il materiale raccolto dopo la lavorazione allo stato fuso è stato raffreddato con azoto liquido, macinato in pellet e stampato a compressione a  $190\text{ }^{\circ}\text{C}$  e 180 bar per 2 min e infine tagliato a forma di disco (diametro = 1 cm, spessore = 300  $\mu\text{m}$ ). La Tabella 23 mostra i nomi in codice e le formulazioni dei campioni.

Tabella 23 nomi in codice e formulazione dei campioni elaborati per lo studio sulla degradazione idrolitica

Sample	Filler content (wt.%)	Filler aspect ratio	Intraphase	$M_v$ (kg/mol)
PLA	–	–	1	82.9
10A	10	6.2	0.685	63.0
20A	20	6.2	0.545	51.4
10B	10	12.4	0.612	43.0
20B	20	12.4	0.5	40.6

### *Risultati e discussione*

La Figura 107 fornisce il grado di massa residua del bicomposito di PLA in funzione del tempo di immersione, rispettivamente in ambiente neutro (in basso) e ambiente alcalino (in alto). Si può notare che al  $\text{pH} = 7,4$  i materiali hanno generalmente mostrato una resistenza maggiore rispetto a quella osservata a  $\text{pH} = 10$ . Tuttavia, il tipo di formulazione ha una notevole influenza sulle proprietà degradative in entrambi gli ambienti. A  $\text{pH} = 7,4$ , la massa di PLA puro rimane praticamente inalterata fino a 480 h, successivamente si è osservata una leggera diminuzione di massa (dopo 1000 h di immersione) e una massa residua finale pari al 95%. In generale, a 1000h, tutti i biocompositi hanno mostrato una più rapida degradazione e valori della frazione di massa residua inferiori a quelli del polimero puro. È stato anche possibile rilevare che entrambi i contenuti di riempitivo (inteso come dimensione iniziale delle particelle) hanno giocato un ruolo significativo nel processo di

degradazione. Si può valutare che, maggiori sono le dimensioni iniziali di PF, maggiore è il grado di perdita di massa. Inoltre, lo stesso comportamento si può osservare all'aumentare del contenuto di filler. In particolare, il sistema PLA-20B, alla fine della prova, ha mantenuto meno della metà del suo peso iniziale. A pH = 10, si possono fare considerazioni simili, ad eccezione di una maggiore perdita di massa, che si è rivelata più notevole anche per il PLA puro, con una ritenzione di massa finale pari al 65%. In particolare, il campione contenente 20B ha mostrato il 30% di ritenzione di massa dopo 1000h. Sia i valori finali di ritenzione di massa che l'andamento delle curve sembrano essere fortemente influenzati dal contenuto di riempitivo e dalle proporzioni.

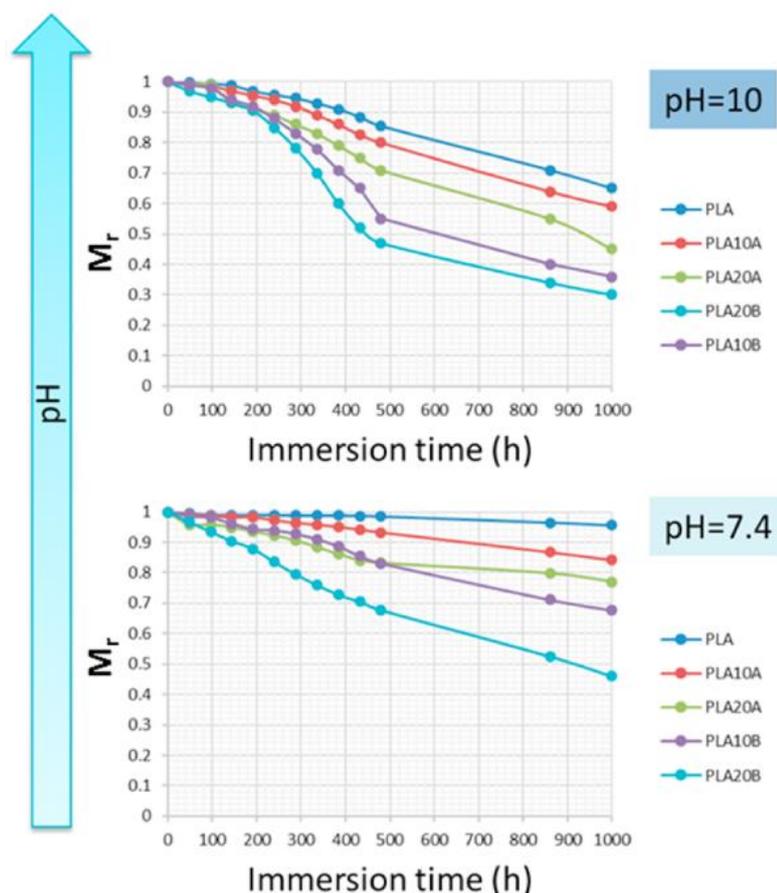


Figura 107 grado di massa residua del bicomposito di PLA in funzione del tempo di immersione in ambiente neutro (in basso) e ambiente alcalino (in alto)

Con l'obiettivo di valutare l'interazione tra contenuto di riempitivo e proporzioni, è stato utile fare un confronto tra PLA-20A e PLA-10B degradati a pH = 7,4.

Il primo sistema ha mostrato una cinetica di degradazione più rapida fino alle 480 h, dopodiché si

assiste a un ribaltamento delle curve, ovvero, la massa residua di PLA-10B (68%) era inferiore a quella di PLA-20A (77%). Tale andamento è probabilmente indicativo di diversi meccanismi di degradazione. È noto che i poliesteri possono subire un degrado puramente superficiale o una combinazione dei due, con cinetica ed estensione che possono variare a seconda della dinamica tra i fenomeni di trasporto di massa (penetrazione della soluzione, diffusione degli oligomeri) e la velocità cinetica chimica delle reazioni di degradazione.

Generalmente, l'idrofilia iniziale di un campione, insieme all'area superficiale disponibile, permettere alla soluzione di idrolizzare il polimero aumentando la velocità di degradazione ed è noto anche che un campione poroso si degradi più velocemente rispetto ad un campione a bassa porosità [171], [173]. Si può ipotizzare che l'eventuale presenza di particelle di PF sulla superficie dei campioni può offrire un *gateway*, mentre la porosità interna può consentire alla soluzione di penetrare nel nucleo del campione. Naturalmente, lo stato iniziale del polimero, compreso il suo peso molecolare all'inizio dell'esperimento, dovrebbe influenzare la penetrazione della soluzione e l'idrolizzabilità del Materiale.

Per valutare il ruolo della penetrazione della soluzione sulla degradazione del biocomposito, l'assorbimento della soluzione dei campioni a  $\text{pH} = 7,4$  e  $\text{pH} = 10$  è mostrato in Figura 108. Innanzitutto, vale la pena notare che il pH ha influenzato l'aumento di peso dei materiali, i cui valori di assorbimento in ambiente alcalino sono risultati il doppio rispetto a quelli in ambiente neutro.

Indipendentemente dal pH, il PLA era il campione meno sensibile, mentre la formulazione dei biocompositi ha avuto un effetto diverso a seconda del pH.

Più in dettaglio, a  $\text{pH} = 7,4$  è stato riscontrato l'assorbimento iniziale della soluzione all'aumentare del contenuto e le proporzioni del riempitivo.

Quindi, l'assorbimento della soluzione dei campioni segue il seguente ordine ascendente:

$\text{PLA} < \text{PLA10A} < \text{PLA10B} < \text{PLA20B}$ . A  $\text{pH} = 10$ , invece, l'assorbimento della soluzione, pur essendo direttamente proporzionale a queste caratteristiche, ha mostrato che il fattore più influente è la proporzione del riempitivo. Pertanto, in questo caso l'assorbimento della soluzione ha seguito l'ordine:  $\text{PLA} < \text{PLA10A} < \text{PLA20A} < \text{PLA10B} < \text{PLA20B}$ .

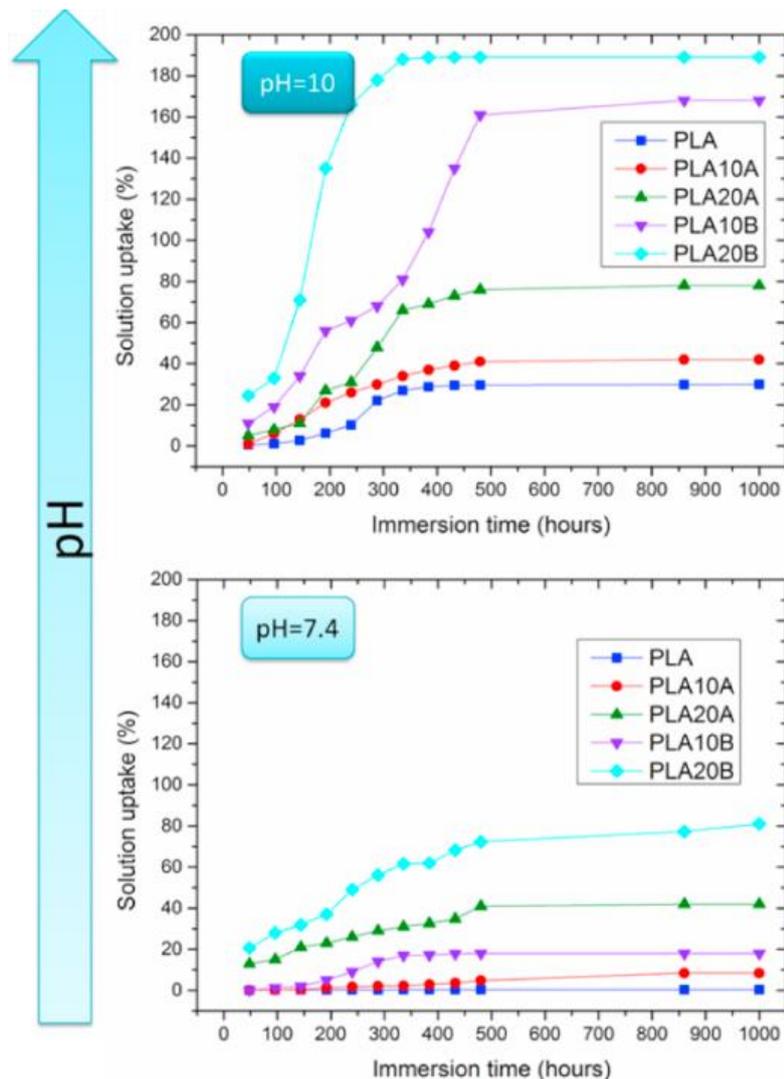
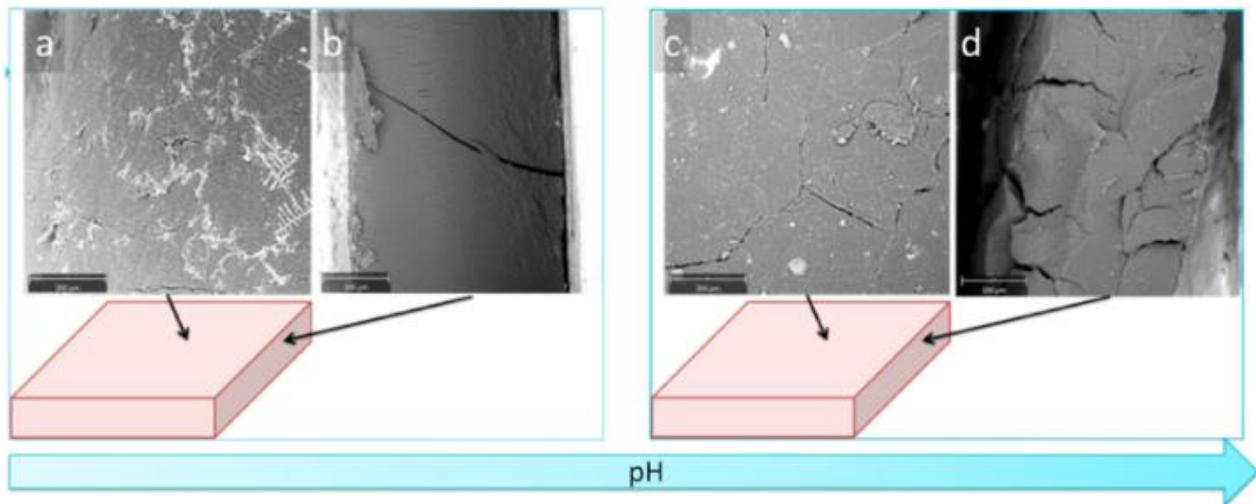


Figura 108 capacità di assorbimento della soluzione a  $pH = 7,4$  e  $pH = 10$  dei campioni

È interessante notare che è stata trovata una forte correlazione tra i valori di perdita di massa e queste proprietà. L'assorbimento della soluzione dei biocompositi durante l'idrolisi e la disintegrazione indotta dal degrado può essere dovuta a diversi motivi, compresa l'evidente idrofilia dei riempitivi naturali e quella della matrice, che tende ad aumentare durante il tempo di immersione a causa del progressivo accorciamento delle catene, con relativo incremento di  $-COOH$  e  $-OH$  e dei gruppi di terminali. Inoltre, i notevoli incrementi rilevati tra le 200 e le 400 h per tutti i materiali potrebbero essere riferiti al verificarsi di fenomeni erosivi che in qualche modo hanno aumentato la porosità dei campioni. Con l'obiettivo di eseguire un'ispezione più ravvicinata di tali fenomeni e per confermare queste ipotesi, è stata effettuata l'analisi SEM su PLA immerso per 864 h e i biocompositi immersi per 400 h (si noti che dopo 400–450 h, la maggior parte dei campioni ha subito grandi modifiche

strutturali, a causa del degrado ampiamente esteso).



*Figura 109 immagini SEM di PLA immerso per 864h a pH=7.4 (a-b) e pH=10 (c-d)*

La Figura 109 mostra le micrografie della superficie e della sezione trasversale del PLA trattato a pH = 7,4 (a-b) e pH = 10 (c-d). A pH = 7,4 la superficie del campione è apparsa degradata, mentre è stata trovata una sezione trasversale priva di significativi eventi degradativi, salvo qualche fessura presumibilmente dovuta all'aumento della fragilità del campione. Viceversa, a pH=10, oltre alla riduzione dello spessore del provino, si osservano numerose crepe che si propagano lungo tutta la sezione, sintomo di degradazione idrolitica e di innesco di fenomeni erosivi.

Le micrografie SEM trasversali dei biocompositi, dopo 400 h di immersione a pH=7,4 e pH=10, sono mostrate nelle Figure 110–111.

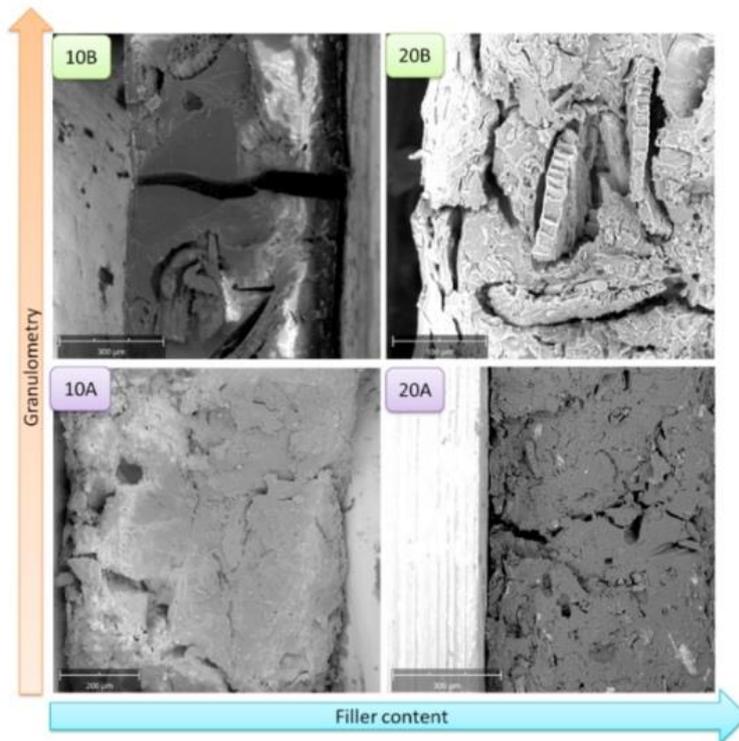


Figura 110 Immagini SEM delle sezioni trasversali dei biocompositi immerisi per 400h a pH=7.4

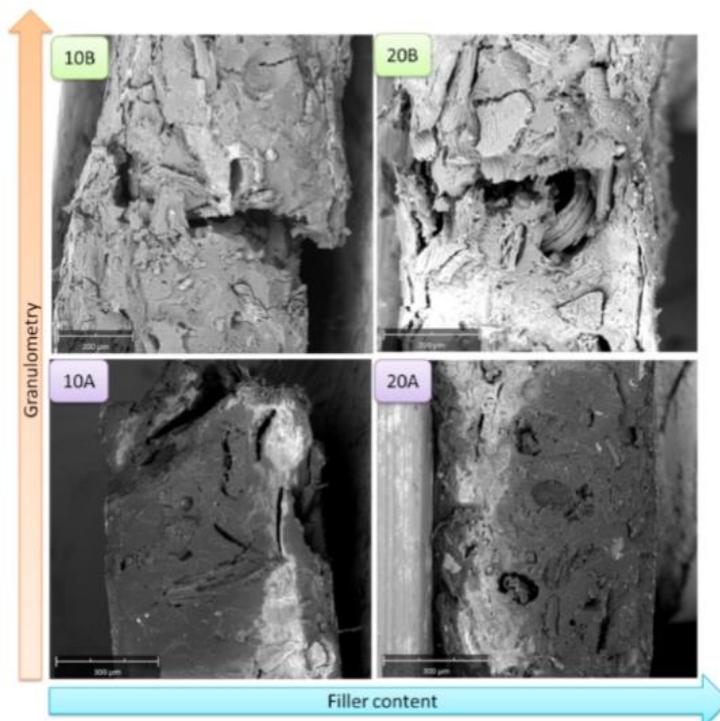


Figura 111 Immagini SEM delle sezioni trasversali dei biocompositi immerisi per 400h a pH=10

I risultati hanno evidenziato che tutti i biocompositi sono stati sottoposti a fenomeni erosivi, che coinvolgono sia la superficie che il bulk. Vale la pena notare che tutti i materiali mostravano praticamente le stesse caratteristiche morfologiche, sebbene in diverse proporzioni ed entità. Si può osservare la presenza di diverse crepe in tutti i sistemi, tale morfologia è ragionevolmente imputabile alle sollecitazioni tensionali impartite alla matrice fragile dal rigonfiamento delle fibre idrofile [177].

La propagazione delle crepe è responsabile dell'assorbimento del solvente, insieme alla capillarità, che consente alle molecole del solvente di attaccare le interfacce riempitivo-matrice, provocando così il distacco delle fibre dal polimero. In questo contesto, l'intrafase, cioè la capacità di penetrazione del PLA di riempire i canali vuoti di PF, ha dimostrato di variare a seconda della formulazione.

Tabella 24 valori di viscosità intrinseca prima e dopo i test idrolitici

Sample	Viscosimetric molecular weight ( $M_v$ ) expressed in kg/mol		
	before hydrolytic tests	after hydrolytic tests (pH = 7.4)	after hydrolytic tests (pH = 10)
PLA	82.9	81.0	62.7
10A	63.0	58.6	50.9
20A	51.4	47.1	41.1
10B	43.0	39.1	33.1
20B	40.6	33.6	23.1

Il grado di intrafase, essendo strettamente legato alla porosità di ogni materiale, può essere correlato a diversi fenomeni di trasporto, compresa la capillarità, la diffusione e la propagazione delle cricche [177]. In particolare, maggiore è il grado intrafase, minore è la porosità e naturalmente, minore è la superficie disponibile per essere degradata. Inoltre, un alto grado di intrafase può indurre la formazione di rigonfiamenti.

Nel lavoro precedente è stato già dimostrato che la dimensione e il contenuto del riempitivo possono influenzare il peso molecolare del polimero, la tabella 24 fornisce i pesi molecolari di ciascun campione misurato prima e dopo i test di degradazione eseguiti a pH = 7,4 e pH = 10. Vale la pena notare che le particelle PF-B hanno indotto una degradazione significativa della matrice durante la lavorazione, mentre l'attività degradativa di PF-a si rilevata moderata.

Questo aspetto è molto interessante, poiché l'assorbimento della soluzione e la velocità di diffusione che catalizzano la degradazione del PLA possono essere correlati alla mobilità della catena, alla concentrazione dei gruppi terminali -OH e -COOH e alla probabilità di formazione di oligomeri idrosolubili, che sono tutti inversamente proporzionali al peso molecolare [178]. Dopo prove

idrolitiche eseguite a pH=7,4, il PLA mantiene il suo  $M_v$  iniziale, confermando ulteriormente l'assenza percorsi degradativi di bulk, già previste dall'analisi SEM. Nel caso dei biocompositi, il decremento di  $M_v$  è abbastanza rilevante a pH 7,4 e ancor più evidente a pH 10. Tale decremento è, in entrambi i casi, compatibile con una propagazione della degradazione di bulk, confermando così quanto osservato nell'analisi morfologica dei campioni degradati e in accordo con le perdite di massa sperimentali. Pertanto, i fenomeni degradativi dei campioni possono essere innescati da entrambe le morfologie (disponibilità della superficie di riempimento, presenza di canali vuoti, eventuale rete di percolazione delle cariche) e stato chimico del polimero (peso molecolare, con conseguenti ripercussioni sull'idrofilia e sulla stabilità chimica).

### *Conclusioni*

In questo lavoro è stato valutato l'effetto del contenuto e delle dimensioni granulometriche di farina di Posidonia Oceanica sul comportamento di degradazione idrolitica del PLA in condizioni neutre e alcaline. È stata monitorata la perdita di massa di tutti i campioni, che sono stati monitorati in funzione del tempo di immersione e correlata ad alcune caratteristiche chiave dei materiali, impartite inequivocabilmente dalla formulazione. Infatti, tali cariche lignocellulosiche presentano una struttura porosa parzialmente riempita da macromolecole di PLA (intrafase) e quindi forniscono un accesso preferenziale (gateway) per la penetrazione del solvente. Quindi, i comportamenti degradativi di questi compositi green potrebbero essere considerati a metà strada tra materiali altamente porosi e materiali densi. I biocompositi hanno mostrato una disintegrabilità senza precedenti nell'intervallo del pH 7–10, risultando quindi particolarmente idonei nella prospettiva della riduzione dei problemi legati allo smaltimento delle microplastiche.

### ***5.7 Dispositivi green: Valorizzazione di scarti agricoli autoctoni per l'ottenimento di green composites con strutture customizzabili attraverso FDM***

Le matrici biopolimeriche più comunemente utilizzate per ottenere compositi green sono PLA, PCL, PBAT, cellulosa e amido [179], [180]. Il Mater-Bi® (MB) è una famiglia di biopolimeri commerciali a base di amido che trova applicazioni rilevanti in molti campi grazie alle sue interessanti proprietà meccaniche, buona stabilità termica, ottima lavorabilità, biodegradabilità e buona compatibilità con le fibre naturali, come riportato in diversi studi [181].

L'area mediterranea offre una grande varietà di specie vegetali che possono essere impiegate nella preparazione di compositi biodegradabili a base polimerica. L'Hedysarum coronarium (HC), ad esempio, è una pianta erbacea foraggera e ricca di sostanze solubili zuccheri, molto abbondante nella regione mediterranea, costituita da un apparato radicale molto denso e strutturato [182], [183]. Tende ad accumularsi nelle aree di campagna e per questo è considerata un'erba infestante che deve quindi essere raccolta e smaltita. L'HC è attualmente utilizzata nel settore agroalimentare ma non è mai stata utilizzata per la preparazione di green composites. Poiché l'HC è costituita da un fusto molto

ramificato, l'aggiunta di questa pianta ad una matrice polimerica potrebbe essere molto interessante per migliorarne le prestazioni meccaniche preservando la biodegradabilità/compostabilità del composito.

In questo studio è stato prodotto per la prima volta un composito green a base polimerica biodegradabile (Mater-Bi®) e farina di HC. Gli steli le foglie e fiori di HC sono stati macinati, setacciati e successivamente essiccati. Sono state ottenute quattro formulazioni mescolando allo stato fuso 5%, 15%, 10% e 20% di HC in MB. I biocompositi ottenuti sono stati quindi impiegati per la realizzazione di compositi sia per CM che per FDM. Sono state effettuate caratterizzazioni reologiche, morfologiche e meccaniche sui materiali di partenza e sui biocompositi. L'obiettivo finale di questo studio è stato quello di verificare la possibilità di sostituire fino al 20% di bioplastica con prodotti a basso costo provenienti da scarti ecocompatibili migliorando al contempo le prestazioni meccaniche.

### *Materiali e metodi*

L'HC (*Hedysarum coronarium* L., syn. *Sulla coronaria* [L.] Medik. Species Sparacia) utilizzata in questo studio è stata gentilmente fornita dall'Azienda "Agricola Alberto Lo Dico" Petralia Soprana (PA), Sicilia, Italia. Le piante sono state lavate e asciugate in stufa sottovuoto a  $T = 40^{\circ}\text{C}$  per 3 giorni. Al momento della raccolta le piante erano alte circa 40 cm. Dall'ispezione visiva della pianta, si è riscontrato che la biomassa ricevuta era costituita interamente da *Hedysarum coronarium*. Gli steli di HC hanno mostrato un modulo di Young di 1545 MPa, una resistenza alla trazione di 23,3 MPa e un allungamento a rottura del 20,3%. La farina ottenuta dalla macinazione dell'intera pianta ha mostrato una densità media di  $1,6 \text{ g/cm}^3$ .

Il Mater-Bi® EF51L (MB), fornito da Novamont SpA (Novara, Italia) è un biopolimero a base di miscele di copoliesteri biodegradabili, alifatici e aromatici. Il MB è stato essiccato sottovuoto per una notte a  $T = 60^{\circ}\text{C}$  per prevenire la scissione idrolitica del polimero durante la lavorazione.

### *Preparazione dei biocompositi*

L'HC essiccato è stato macinato per 3 minuti e successivamente setacciato per ottenere particelle di dimensioni adatte alla stampante 3D ed evitare eventuali ostruzioni dell'ugello. A tale scopo,

considerando i lavori precedenti, è stata selezionata la frazione di setacciatura da 75  $\mu\text{m}$  a 300  $\mu\text{m}$ . Prima di ogni lavorazione, la farina di HC e i pellets di MB sono stati essiccati per una notte in una stufa sottovuoto (NSV9035, ISCO, Milano, Italia) rispettivamente a 40°C e 60°C. Al fine di ottenere una dispersione omogenea del riempitivo nel MB, tutti i compositi (ovvero MB/HC5, MB/HC10, MB/HC15, MB/HC20) sono stati preparati mediante miscelazione allo stato fuso, utilizzando i seguenti parametri: T = 170 °C; velocità del rotore = 64 giri/min. t = 5 min. I compositi ottenuti sono stati quindi macinati in pellets e lavorati nell'estrusore monovite ad una velocità della vite di 40 giri/min utilizzando un profilo di temperatura di 140-150-160-170°C. Gli estrusi sono stati stirati con l'ausilio di un sistema a nastro rotante (velocità di raccolta = 5,5 m/min), al fine di ottenere filamenti dal diametro adatto all'ugello della stampante (1,75 mm).

I campioni stampati a compressione (CM) sono stati ottenuti utilizzando la pressa da laboratorio descritta nella sezione delle apparecchiature con i seguenti parametri: T=160 °C, P= 180 bar, t=2 min. I campioni ottenuti dallo stampaggio a compressione sono stati fustellati per ottenere dei provini di geometria appropriata (60 mm x 10 mm) per le successive caratterizzazioni. I campioni ottenuti per FDM sono stati progettati con l'ausilio del software CAD Solid Edge 2019® (Plano, TX, USA) e i file STL prodotti sono stati elaborati sul software Simplify3D® (Cincinnati, OH, USA) per ottenere i file gcode. Per ciascuna formulazione, sono stati stampati campioni da 60 mm x 10 mm x 1 mm utilizzando la stessa stampante 3D dei lavori precedenti. I parametri operativi dell'FDM sono riportati in Tabella 25.

Tabella 25 parametri di processo della stampa 3D per FDM

FDM Operating Parameter	Value
Nozzle temperature	160 °C
Bed temperature	60 °C
Infill rate	100%
Infill pattern	Rectilinear
Raster angle	0°
Layer thickness	0.1 mm
Extrusion width	0.4 mm
Printing speed	50 mm/s
Perimeter shells	1
Sample Orientation	flat

I nomi in codice e le formulazioni dei campioni sono stati riportati in Tabella 26. Inoltre, alcune immagini rappresentative dei campioni ottenuti attraverso CM e FDM sono mostrati in Figura 112.

Tabella 26 nomi in codice e le formulazioni dei campioni

Sample Code Name	MB Content (wt%)	HC Content (wt%)	HC Mesh Size ( $\mu\text{m}$ )	Production Technique
CM_MB	100	0	-	CM
CM_MB/HC5	95	5	300 < 75	CM
CM_MB/HC10	90	10	300 < 75	CM
CM_MB/HC15	85	15	300 < 75	CM
CM_MB/HC20	80	20	300 < 75	CM
FDM_MB	100	0	-	FDM
FDM_MB/HC5	95	5	300 < 75	FDM
FDM_MB/HC10	90	10	300 < 75	FDM
FDM_MB/HC15	85	15	300 < 75	FDM

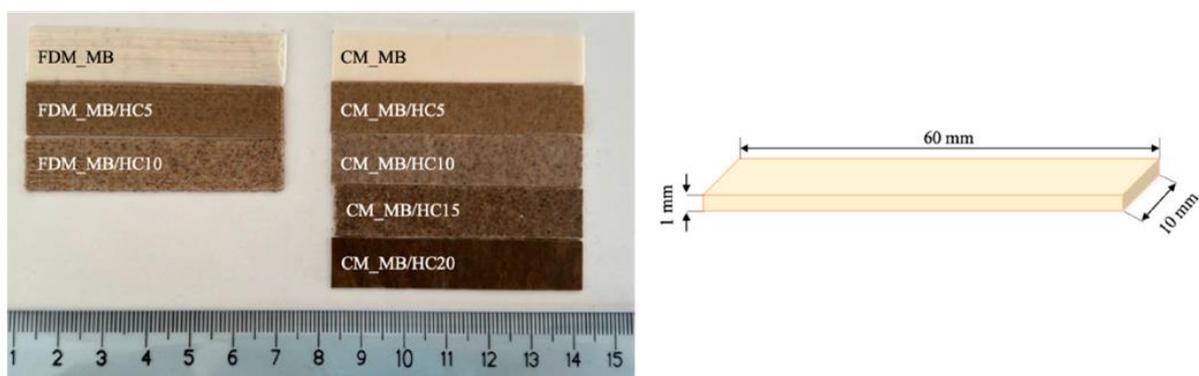


Figura 112 foto di campioni biocompositi ottenuti mediante FDM (a sinistra), compression molding (a destra) e immagine rappresentativa di un provino

### Risultati e discussione

Sono stati realizzati i filamenti di biocompositi di MB e HC con un diametro adatto alla stampante (1,75 mm) e parte di essi è stata pellettizzata e lavorata mediante stampaggio a compressione. Attraverso il CM è stato possibile ottenere campioni omogenei con tutte le quantità di riempitivo. Per quanto riguarda la stampabilità dei campioni in FDM, il MB puro e quelli contenenti il 5% e il 10% di HC si sono dimostrati facilmente stampabili, una volta individuati i parametri di processo appropriati. Il biocomposito contenente più del 10% di HC, invece, non poteva essere processato con la tecnica FDM. In particolare, i filamenti contenenti il 15% e il 20% di HC, non sono riusciti a scorrere all'interno della camera di fusione. È noto in letteratura scientifica che le proprietà reologiche del filamento polimerico hanno una forte influenza sulla stampabilità [184]. Per questo motivo sono state studiate le proprietà reologiche dei biocompositi.

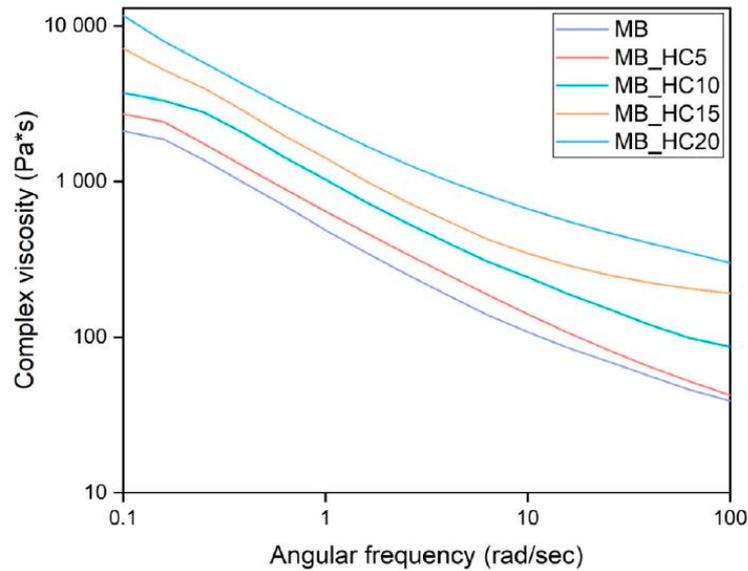
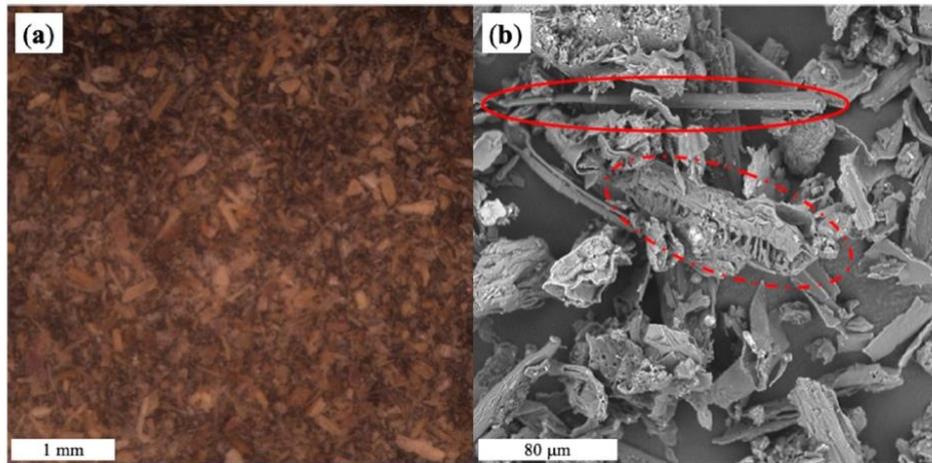


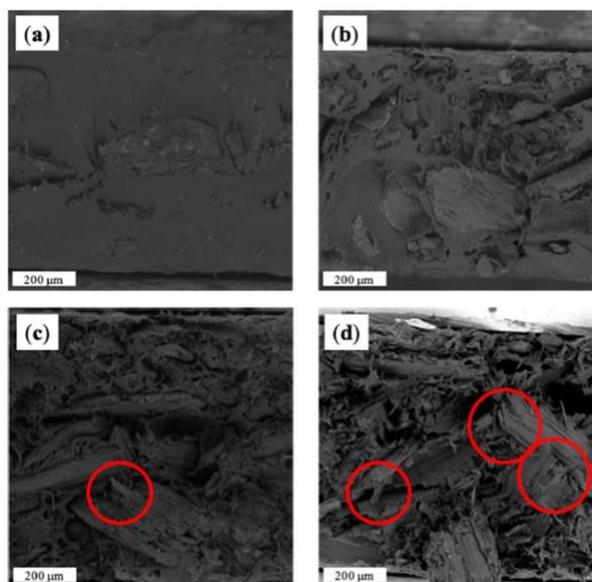
Figura 113 curve di viscosità complessa in funzione del gradiente di deformazione

Nella Figura 113 sono mostrate le curve reologiche del MB e dei suoi compositi con HC. Per il MB è stato osservato un comportamento pseudoplastico, con un notevole *shear thinning* alle frequenze più elevate. In generale, l'aggiunta di HC porta ad una variazione della viscosità del polimero: all'aumentare del contenuto di carica, i valori di viscosità aumentano in modo monotono nell'intero intervallo di frequenza investigato. Vale la pena osservare che MB/HC15 e MB/HC20 mostrano un comportamento notevolmente non newtoniano con *yield stress* nella regione delle basse frequenze, in accordo con i risultati reologici ottenuti su altri compositi simili [185]. Questo comportamento potrebbe ragionevolmente giustificare la non stampabilità del 15% e del 20% dei compositi contenenti HC. Non appena il filamento raggiunge la camera di fusione, infatti, la primissima parte del filamento fonde e, per la sua elevata viscosità, crea un tappo all'ingresso della camera che lo intasa, non permettendo al filamento di avanzare. Pertanto, i filamenti non si sciolgono nella camera, lasciandola vuota e impedendo così la stampa del campione.



*Figura 114 immagine al microscopio ottico della farina di HC (a sinistra) e immagine SEM della stessa (a destra)*

La morfologia dei compositi ottenuti e della farina di HC è stata analizzata al SEM. L'immagine ottica e le micrografie del riempitivo sono mostrate in Figura 114. Dalla micrografia SEM (Figura 114 b), si osserva che la polvere di HC contiene elementi con morfologia diversa, ragionevolmente appartenenti alle diverse parti della pianta. La linea continua in figura evidenzia una parte probabilmente appartenente al fusto, mentre la linea tratteggiata evidenzia una parte di fiore di HC. L'analisi morfologica è stata eseguita anche sulle superfici di frattura trasversali dei campioni ottenuti tramite CM, per i quali sono riportate le micrografie SEM.



*Figura 115 immagini SEM dei campioni ottenuti per compression molding a) CM\_MB/HC5, b) CM\_MB/HC10, c) CM\_MB/HC15, d) CM\_MB/HC20*

In Figura 115 è possibile notare una dispersione pressoché omogenea del riempitivo e un'ottima adesione matrice-filler per tutti i campioni realizzati in CM. Tuttavia, all'aumentare del contenuto di filler, la bagnabilità della matrice diminuisce. In particolare, quando il livello di riempimento è del 15%, la matrice non è in grado di ricoprire in modo omogeneo il riempitivo, come evidenzia chiaramente il cerchio rosso in Figura 115 c. Questo comportamento è ovviamente più evidente quando viene aggiunto il 20% di HC (cerchio rosso, Figura 115 d). Ciò non impedisce comunque la produzione di campioni per CM, mentre, al contrario, la stampabilità per FDM dei campioni contenenti il 15% e il 20% di HC è stata totalmente inibita.

Tabella 27 proprietà meccaniche dei campioni

Sample	E (MPa)	TS (MPa)	EB (%)
CM_MB	74.3 ± 0.84	18.6 ± 0.5	821 ± 1.8
CM_MB/HC5	121 ± 11.3	23.7 ± 2.33	43.6 ± 3.39
CM_MB/HC10	131 ± 8	24.5 ± 2.16	39.8 ± 2.75
CM_MB/HC15	145 ± 12	27.2 ± 0.88	24 ± 0.88
CM_MB/HC20	236 ± 8.49	33.4 ± 0.29	20.3 ± 0.37
FDM_MB	83.9 ± 1.34	27.2 ± 0.16	58.2 ± 0.75
FDM_MB/HC5	166 ± 8.8	41.5 ± 1.39	42.3 ± 4.19
FDM_MB/HC10	188 ± 1.54	45 ± 1.36	34.6 ± 0.82
FDM_MB/HC15	-	-	-
FDM_MB/HC20	-	-	-

Le prestazioni meccaniche dei campioni sono state investigate mediante prove di trazione. I valori di modulo elastico (E), tensione a rottura (TS) e allungamento a rottura (EB) dei campioni analizzati sono riportati nella Tabella 27. Per quanto riguarda i campioni realizzati per CM, CM\_MB ha mostrato un Modulo di Young di 74,3 MPa, una tensione a rottura di 18,6 MPa e un allungamento a rottura dell'821%. All'aumentare del contenuto di riempitivo, aumentano anche i moduli di Young e la tensione a rottura dei compositi. Al contrario, EB diminuisce significativamente quando il riempitivo viene aggiunto alla matrice. CM\_MB/HC20 ha mostrato un valore di modulo di Young di 236 MPa mentre il valore EB è sceso al 20,3%. Per quanto riguarda i compositi stampati per FDM, è stata osservata la stessa tendenza. In particolare, FDM\_MB ha mostrato un modulo di Young di 83,9 MPa. Quando è stata aggiunta una quantità di riempitivo del 5% o del 10%, i valori del modulo di Young dei compositi hanno raggiunto rispettivamente 166 MPa e 188 MPa. È ben noto nella letteratura scientifica, infatti, che l'aggiunta di cariche organiche ad una matrice biopolimerica porti tipicamente ad un aumento delle proprietà meccaniche [186]. Inoltre, i campioni preparati per FDM hanno mostrato un miglioramento delle prestazioni meccaniche più netto rispetto a quelli ottenuti per CM. Per quanto riguarda i compositi con HC al 10%, infatti, il modulo di Young dei campioni

fabbricati per CM e FDM ha mostrato un incremento relativo rispettivamente del 176% e del 224%. Questo comportamento è ragionevolmente ascrivibile al tipo di *infill* selezionato [187], [188]. Inoltre, la micrografia SEM di FDM\_MB/HC5 (Figura 116 a) e FDM\_MB/HC10 (Figura 116 b) ha mostrato che, durante il processo di stampa, le fibre HC risultano allineate lungo l'orientamento della stampa. Questo allineamento delle fibre potrebbe ragionevolmente migliorare le proprietà meccaniche dei compositi prodotti per FDM[189].

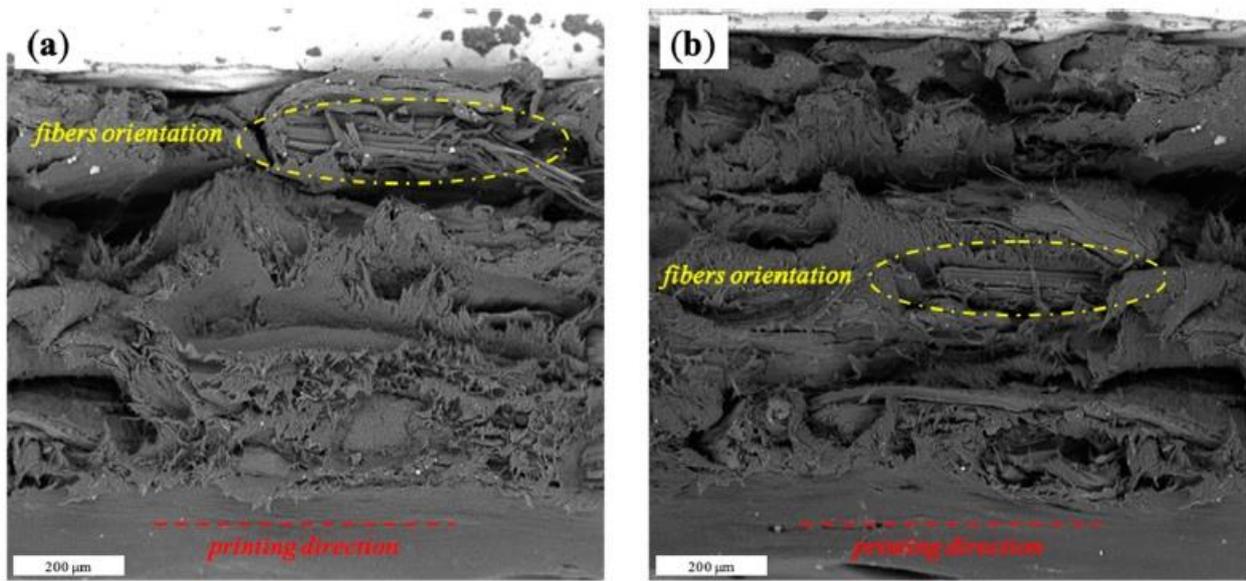


Figura 116 micrografia SEM di a) FDM\_MB/HC5 e b) FDM\_MB/HC10

### Conclusioni

È stato prodotto un composito green innovativo aggiungendo al Mater-Bi® il 5%, 10%, 15% e 20% di farina di hedysarum coronarium (HC). Tramite CM è stato possibile ottenere campioni omogenei con tutte le percentuali di riempitivi. Inoltre, i campioni contenenti il 5% e il 10% di HC si sono dimostrati facilmente stampabili. I risultati di questo studio sottolineano che è possibile sostituire fino al 20% della bioplastica con un riempitivo organico ecologico e a basso costo, migliorando allo stesso tempo le prestazioni meccaniche. I risultati meccanici, infatti, hanno mostrato che il riempitivo ha agito efficacemente come rinforzo: i moduli di Young e la tensione a rottura dei compositi sono aumentati rispettivamente da 74,3 MPa a 236 MPa e da 18,6 MPa a 33,4 MPa, quando il 20% di HC è stato aggiunto alla matrice pura. I campioni prodotti per FDM, inoltre, hanno mostrato proprietà meccaniche superiori rispetto a quelli ottenuti per CM grazie all'*infill* selezionato e all'orientamento delle fibre. Infatti, per quanto riguarda i compositi al 10% di HC, il modulo di Young dei campioni

ottenuti per CM e quelli per FDM hanno mostrato un incremento relativo rispettivamente del 176% e del 224%. Il miglioramento delle proprietà meccaniche insieme agli altri vantaggi dell'FDM, come la riduzione dei tempi e dei costi di produzione, e la possibilità di produrre geometrie estremamente elaborate, rendono i compositi in MB/HC promettenti per la realizzazione di manufatti a base green composites che, grazie al loro colore simile al legno, possono trovare applicazione nella fabbricazione green di pannelli per vari usi nel settore strutturale, nella produzione di mobili e così via.

## ***5.8 Dispositivi green: strutture customizzabili attraverso FDM per il rilascio di fertilizzanti***

Negli ultimi anni, i fertilizzanti a rilascio controllato (CRF) hanno guadagnando una crescente attenzione grazie al loro ruolo chiave nel settore dell'agricoltura sostenibile. Un'eccessiva fertilizzazione, infatti, causa gravi problemi ecologici ed enormi sprechi. I CRF possono rilasciare lentamente nutrienti alla specifica pianta in modo continuo e regolare aumentandone l'efficacia e riducendo lo spreco di materiale e la frequenza di applicazione [190], [191]. L'incapsulamento di fertilizzanti in matrici polimeriche biodegradabili si è rivelato una possibile strategia per la produzione di materiali compositi capaci di rilasciare fertilizzante in modo controllato [192], [193].

La combinazione di polimeri biodegradabili con rifiuti agricoli consente di migliorare le prestazioni meccaniche [181] e contestualmente accelerare la biodegradabilità [195], [196] del dispositivo. L'aggiunta di una certa quantità di scarti naturali ad una matrice biopolimerica, inoltre, riduce l'impatto ambientale e i costi del prodotto finale.

In questo lavoro è stato prodotto un composito verde innovativo per il rilascio controllato di fertilizzante, aggiungendo farina di NPK alla matrice di Mater-Bi<sup>®</sup> con o senza particelle di OFI. Le farine di NPK e OFI sono state prodotte in due diverse granulometrie ( $< 75 \mu\text{m}$  e  $75\text{--}300 \mu\text{m}$ ) e sono state impiegate per ottenere quattro formulazioni di biocompositi che sono stati poi impiegati per la realizzazione di dispositivi sia per CM che per FDM. Sui vari compositi sono state effettuate caratterizzazioni morfologiche e meccaniche prima e dopo il rilascio. In definitiva, lo scopo di questo lavoro è stato quello di regolare la velocità di rilascio di NPK, scelto come fertilizzante modello, incorporandolo su una matrice compostabile. È stata valutata la possibilità di regolare il rilascio dai compositi in MB e in MB/OFI modificando la granulometria delle farine e le tecniche di produzione. Per verificare il raggiungimento di questo obiettivo sono stati effettuati dei test di rilascio ed è stato applicato il modello matematico Peppas-Korsmeyer per modellare i dati ottenuti.

### *Materiali e metodi*

In primo luogo, OFI e NPK sono stati macinati separatamente per 3 minuti e le particelle ottenute sono state setacciate selezionando due diverse granulometrie:  $< 75\mu\text{m}$  (OFI-A e NPK-A) e da  $75\mu\text{m}$  a  $300\mu\text{m}$  (OFI-B e NPK-B). Le dimensioni delle particelle sono state scelte al fine di evitare eventuali intasamenti dell'ugello della stampante 3D durante lo stampaggio. Prima della lavorazione, le farine di OFI, la polvere di NPK e i pellets di MB sono stati essiccati per una notte sottovuoto in stufa rispettivamente a 40 e 60 °C. Sono state prodotte, per miscelazione da fuso, quattro formulazioni,

ovvero, MB/OFI-A, MB/OFI-B, MB/NPK-A, MB/NPK-B, MB/OFI-A/NPK-A e MB/OFI-B/NPK-B. I biocompositi e il MB puro, per confronto. I parametri per il processo di miscelazione da fuso sono:  $T = 160\text{ }^{\circ}\text{C}$ , velocità del rotore = 64 giri/min,  $t = 5\text{ min}$ .

I materiali ottenuti sono stati quindi macinati in pellets e lavorati in estrusore monovite (velocità della vite di 40 rpm, profilo di temperatura: 140-150-160-170  $^{\circ}\text{C}$ ). Per ottenere filamenti con un diametro adatto alla stampante ( $\sim 1,75\text{ mm}$ ), gli estrusi sono stati stirati mediante sistema a nastro rotante (velocità di avvolgimento = 5,5 m/min). I campioni stampati a compressione (CM) sono stati ottenuti tramite pressa ( $T=160\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $P=180\text{ bar}$ ,  $t= 2\text{ min}$ ). I campioni ottenuti sono stati infine fustellati in provini di geometria appropriata (60 mm x 10 mm) per le ulteriori caratterizzazioni.

I campioni ottenuti per FDM sono stati inizialmente progettati con l'ausilio del software CAD Solid Edge 2019<sup>®</sup> e i file STL prodotti sono stati elaborati sul software Simplify3D<sup>®</sup> per ottenere i file gcode. Per ciascuna formulazione sono stati stampati campioni di 60 mm x 10 mm x 1 mm utilizzando una stampante 3D Sharebot Next Generation (Italia). I parametri operativi FDM sono riportati in Tabella 28.

Tabella 28 parametri di processo di stampa3D per FDM

<b>FDM Operating Parameter</b>	<b>Value</b>
Nozzle temperature	160 $^{\circ}\text{C}$
Bed temperature	60 $^{\circ}\text{C}$
Infill rate	100%
Infill pattern	Rectilinear
Raster angle	$\pm 45^{\circ}$
Layer thickness	0.1 mm
Extrusion width	0.4 mm
Printing speed	50 mm/s
Perimeter shells	1
Sample Orientation	flat

Le formulazioni dei campioni e i loro codici sono riportati in Tabella 29. Inoltre, in Figura 117 sono mostrate alcune immagini rappresentative dei campioni ottenuti tramite CM e FDM.

Tabella 29 codici e formulazioni dei campioni

Sample code name	MB content (wt%)	OFI content (wt%)	OFI Mesh size ( $\mu\text{m}$ )	NPK content (wt%)	NPK Mesh size ( $\mu\text{m}$ )	Production technique
CM_MB	100	0	-	0	-	CM
CM_MB/OFI-A	90	10	< 75	0	-	CM
CM_MB/OFI-B	90	10	300 < 75	0	-	CM
CM_MB/NPK-A	90	0	-	10	< 75	CM
CM_MB/NPK-B	90	0	-	10	300 < 75	CM
CM_MB/OFI-A/NPK-A	80	10	< 75	10	< 75	CM
CM_MB/OFI-B/NPK-B	80	10	300 < 75	10	300 < 75	CM
FDM_MB	100	0	-	0	-	FDM
FDM_MB/OFI-A	90	10	< 75	0	-	FDM
FDM_MB/OFI-B	90	10	300 < 75	0	-	FDM
FDM_MB/NPK-A	90	0	-	10	< 75	FDM
FDM_MB/NPK-B	90	0	-	10	300 < 75	FDM
FDM_MB/OFI-A/NPK-A	80	10	< 75	10	< 75	FDM
FDM_MB/OFI-B/NPK-B	80	10	300 < 75	10	300 < 75	FDM

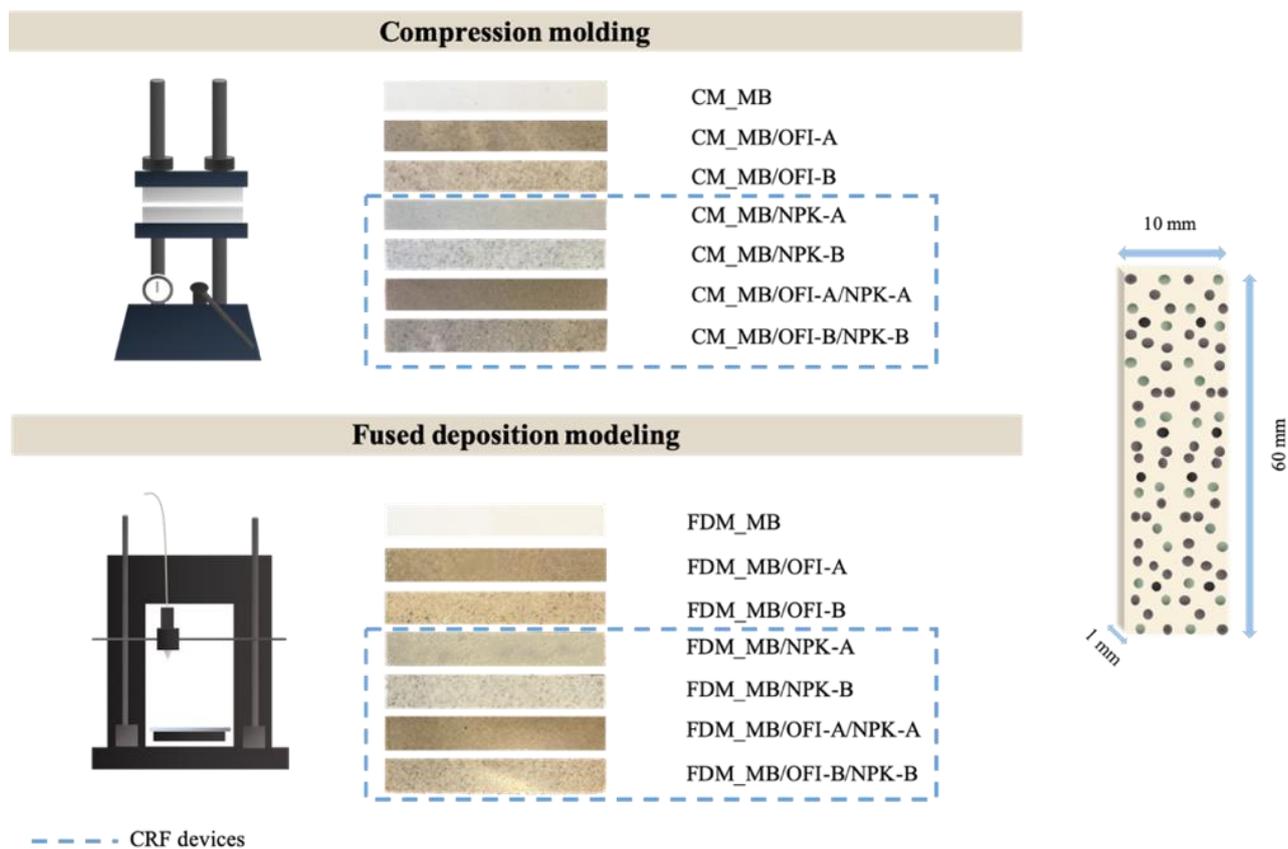
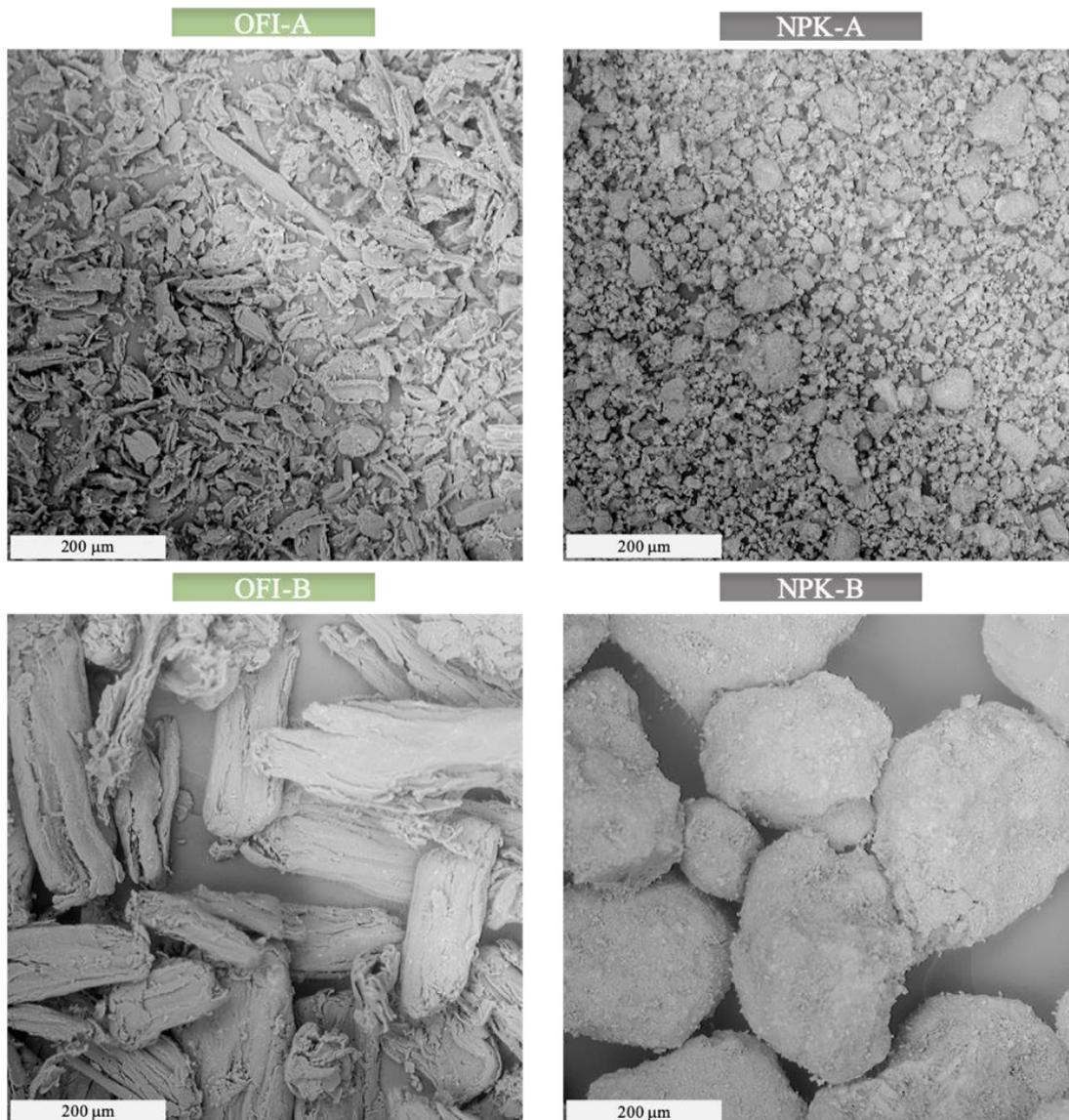


Figura 117 foto dei campioni ottenuti tramite FDM e CM e schema rappresentativo dei campioni

### *Risultati e discussione*

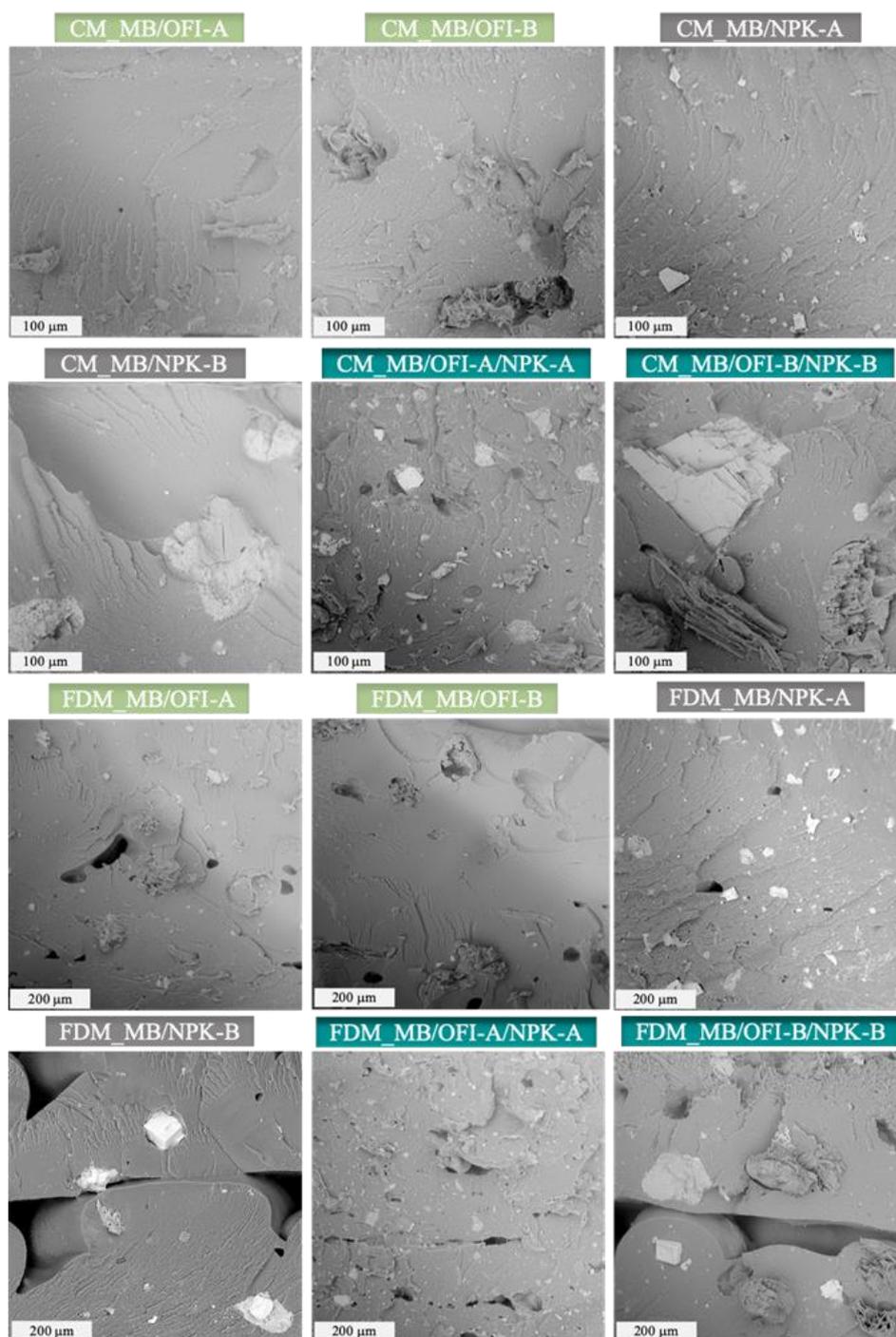
La morfologia delle particelle di OFI, della polvere di NPK e dei compositi ottenuti è stata analizzata al SEM. In Figura 118 sono mostrate le micrografie relative alle due farine in entrambe le granulometrie (A e B).



*Figura 118 morfologia delle particelle di OFI, della polvere di NPK nelle due granulometrie*

Le particelle di OFI e NPK hanno mostrato una morfologia ben distinguibile. Anche se entrambi presentano disomogeneità di forma e dimensioni, il riempitivo naturale è caratterizzato da una forma allungata mentre il fertilizzante da una forma più tondeggiate e da un colore bianco brillante che lo rende facilmente identificabile all'interno del composito. L'analisi morfologica è stata eseguita anche

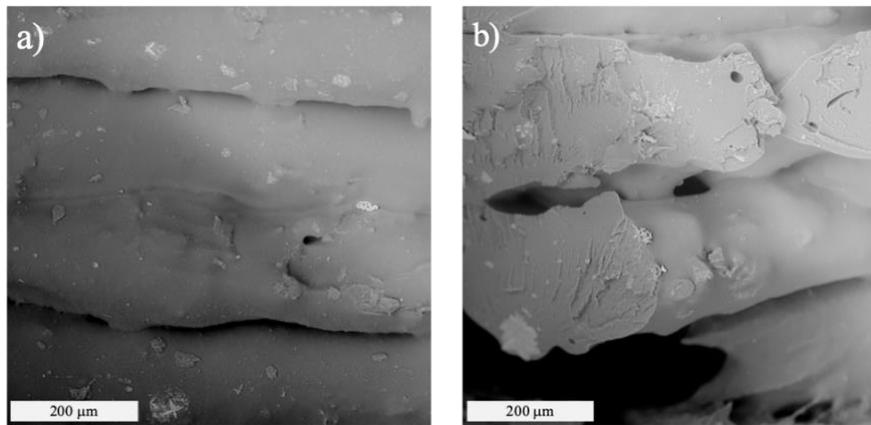
sulla sezione trasversale dei compositi e le relative micrografie SEM sono riportate in Figura 119.



*Figura 119 immagini SEM delle sezioni trasversali dei compositi ottenuti*

È possibile osservare una dispersione quasi omogenea del riempitivo e/o del fertilizzante in tutti i campioni. Inoltre, le particelle sembrano ben incorporate nella matrice polimerica e l'adesione matrice-particelle sembra essere buona sia per l'OFI che per l'NPK in entrambe le granulometrie (A

e B). Per i campioni realizzati per FDM è possibile notare una buona adesione tra gli strati. Inoltre, l'angolo di stampa selezionato ( $\pm 45^\circ$ ) ha permesso di ottenere una struttura porosa creando dei punti di separazione tra gli strati adiacenti (Figura 120).



*Figura 120 Adesione tra layer a) struttura porosa b) ottenute tramite processo FDM*

Le proprietà meccaniche dei campioni sono state valutate mediante prove a trazione. I valori di modulo elastico (E), tensione a rottura (TS) e allungamento a rottura (EB) dei compositi e dei provini in MB puro sono riportati in tabella 30. Per quanto riguarda i campioni prodotti per CM, CM\_MB mostra un modulo di Young di 74,3 MPa, una tensione a rottura di 19 MPa e un allungamento a rottura dell'821%. L'aggiunta del riempitivo, del fertilizzante o di entrambi (in entrambe le granulometrie), porta ad un aumento del valore E, una diminuzione di EB mentre TS è rimasto pressoché invariato. In particolare, CM\_MB/OFI-B ha mostrato un modulo di Young di 112 MPa e quindi un aumento leggermente superiore rispetto a CM\_MB/OFI-A (98,1 MPa). Al contrario, non si osserva alcuna differenza tra CM\_MB/NPK-A e CM\_MB/NPK-B, infatti, entrambi hanno mostrato un modulo di Young di ~ 95 MPa e un EB di ~ 64%. I compositi ibridi (CM\_MB/OFI-A/NPK-A e CM\_MB/OFI-B/NPK-B) hanno mostrato il più alto aumento del modulo di Young (~ 206%) e il valore più basso di allungamento a rottura per i campioni prodotti per CM (~ 30 %). Questo comportamento potrebbe essere ragionevolmente spiegato considerando che la quantità totale di filler (ovvero OFI e NPK) per questi ultimi è del 20% essendo solo del 10% nei casi precedenti. I compositi stampati per FDM hanno mostrato il medesimo comportamento. Inoltre, i campioni preparati per FDM hanno mostrato un aumento delle proprietà meccaniche leggermente superiore rispetto a quelli ottenuti per CM. Questo comportamento potrebbe essere ragionevolmente ascritto al tipo di *infill*

utilizzato [197], [198]. Le proprietà meccaniche dei campioni prodotti per FDM, inoltre, potrebbero essere ulteriormente migliorate utilizzando un angolo di stampa di 0° [199].

Tabella 30 risultati delle performance meccaniche dei compositi

Sample code name	E (MPa)	TS (MPa)	EB (%)
<b>CM_MB</b>	74.3 ± 1.2	19 ± 0.1	821 ± 0.5
<b>CM_MB/OFI-A</b>	98.1 ± 11	17 ± 0.3	49 ± 0.9
<b>CM_MB/OFI-B</b>	112 ± 8.5	16 ± 0.3	38 ± 1.8
<b>CM_MB/NPK-A</b>	95 ± 1.4	15 ± 1.2	65 ± 2.3
<b>CM_MB/NPK-B</b>	96 ± 1.5	16 ± 0.1	63 ± 2.5
<b>CM_MB/OFI-A/NPK-A</b>	151 ± 7.7	17 ± 0.1	30 ± 0.0
<b>CM_MB/OFI-B/NPK-B</b>	155 ± 8.1	16 ± 0.3	26 ± 1.0
<b>FDM_MB</b>	89 ± 1.3	20 ± 0.2	49 ± 0.8
<b>FDM_MB/OFI-A</b>	113 ± 1.6	17 ± 0.8	21 ± 0.6
<b>FDM_MB/OFI-B</b>	128 ± 1.5	18 ± 1.5	30 ± 1.5
<b>FDM_MB/NPK-A</b>	116 ± 1.6	19 ± 1.7	33 ± 1.3
<b>FDM_MB/NPK-B</b>	120 ± 1.2	20 ± 0.6	49 ± 1.4
<b>FDM_MB/OFI-A/NPK-A</b>	168 ± 1.4	17 ± 1.3	26 ± 1.5
<b>FDM_MB/OFI-B/NPK-B</b>	162 ± 1.8	15 ± 1.5	23 ± 0.1

In questo studio, è stato utilizzato un angolo di stampa di  $\pm 45^\circ$  per ottenere un buon compromesso tra l'ottimizzazione delle proprietà a trazione dei compositi e la promozione del rilascio di NPK grazie alla struttura porosa (veda micrografia dei campioni FDM in Figura 119 e Figura 120) che l'angolo a  $\pm 45^\circ$  consente di ottenere.

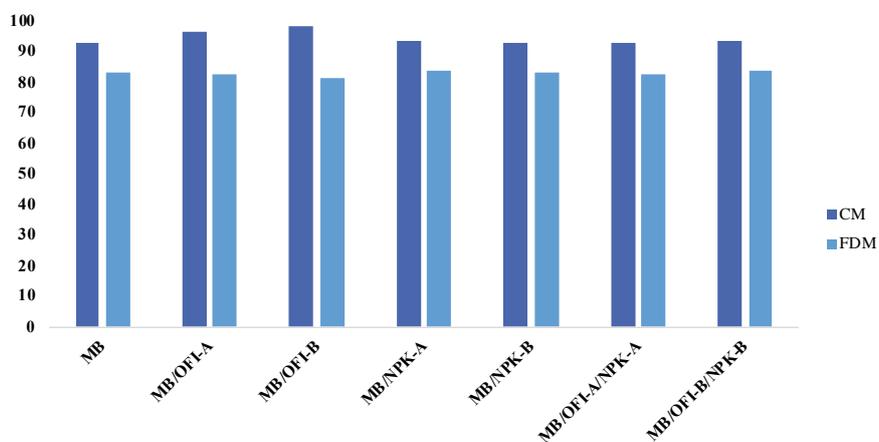


Figura 121 WCA dei campioni ottenuti per CM e FDM

In Figura 121 sono riportati i valori di WCA dei campioni ottenuti per CM e FDM. L'aggiunta di riempitivo e/o fertilizzante non comporta una variazione della bagnabilità superficiale del campione. Al contrario, tutti i campioni prodotti per FDM hanno mostrato un valore di WCA inferiore rispetto alla loro controparte ottenuta per CM. Questo comportamento potrebbe essere ascrivibile alla struttura porosa della superficie ottenuta grazie l'angolo di stampa selezionato. È noto nella letteratura scientifica, infatti, che la bagnabilità dei compositi prodotti per FDM è influenzata dall'angolo di stampa[200], [201]. La bagnabilità dei compositi, inoltre, potrebbe influire sul rilascio del fertilizzante: aumentando la bagnabilità il rilascio dovrebbe aumentare.

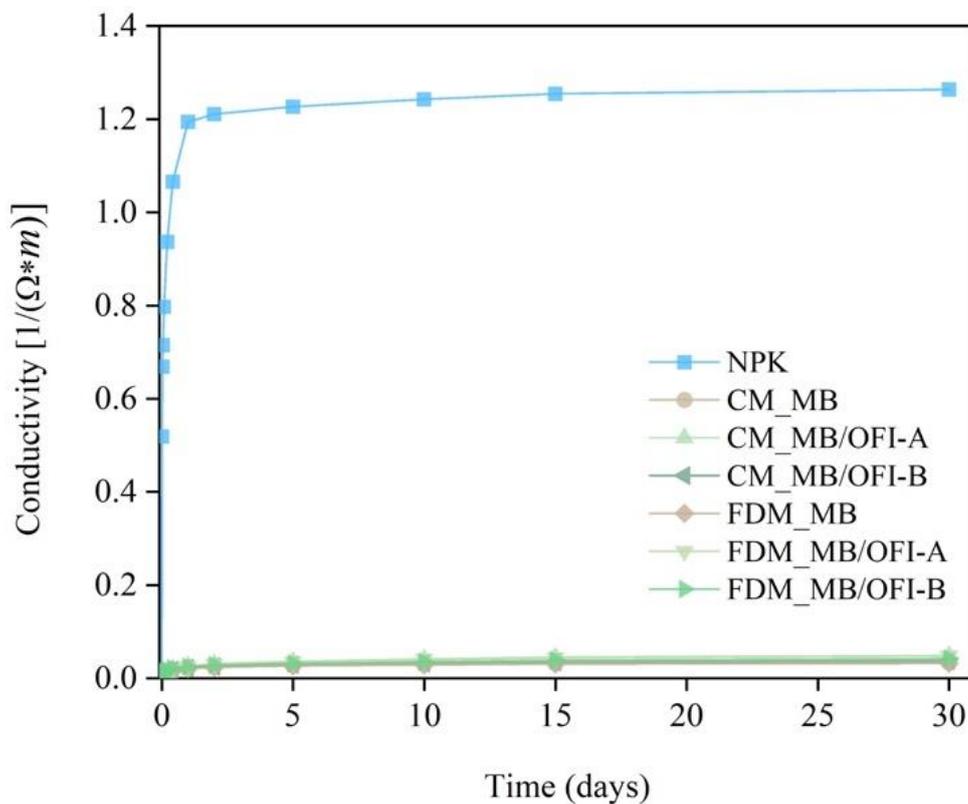


Figura 122 test di rilascio del fertilizzante NPK in funzione del tempo attraverso misure di conducibilità per l’NPK in grani e per i compositi senza NPK

Il profilo di rilascio dell’NPK è stato valutato attraverso misurazioni di conducibilità. La resistenza elettrolitica, infatti, può fornire informazioni sulla concentrazione totale degli elettroliti presenti in soluzione. La resistenza elettrolitica è stata misurata anche per l’NPK in grani (stessa quantità

contenuta nei compositi) e per i compositi senza NPK. I relativi risultati sono mostrati in Figura 122. I valori di conducibilità dell’NPK puro hanno rapidamente raggiunto una regione di plateau a causa dell’immediata dissociazione dei sali solubili. In questo caso, si ha il completo rilascio del fertilizzante nelle prime 24 ore di immersione. Al contrario, per tutti i compositi senza NPK (CM\_MB, CM\_MB/OFI-A, CM\_MB/OFI-B, FDM\_MB, FDM\_MB/OFI-A, FDM\_MB/OFI-B) una bassa concentrazione di elettroliti è stata rilasciata lentamente e costantemente. Tale comportamento potrebbe essere ragionevolmente riconducibile al rilascio di alcune sostanze provenienti dalla matrice polimerica e dalle particelle di OFI che si sono liberate in acqua al momento dell’immersione dei campioni.

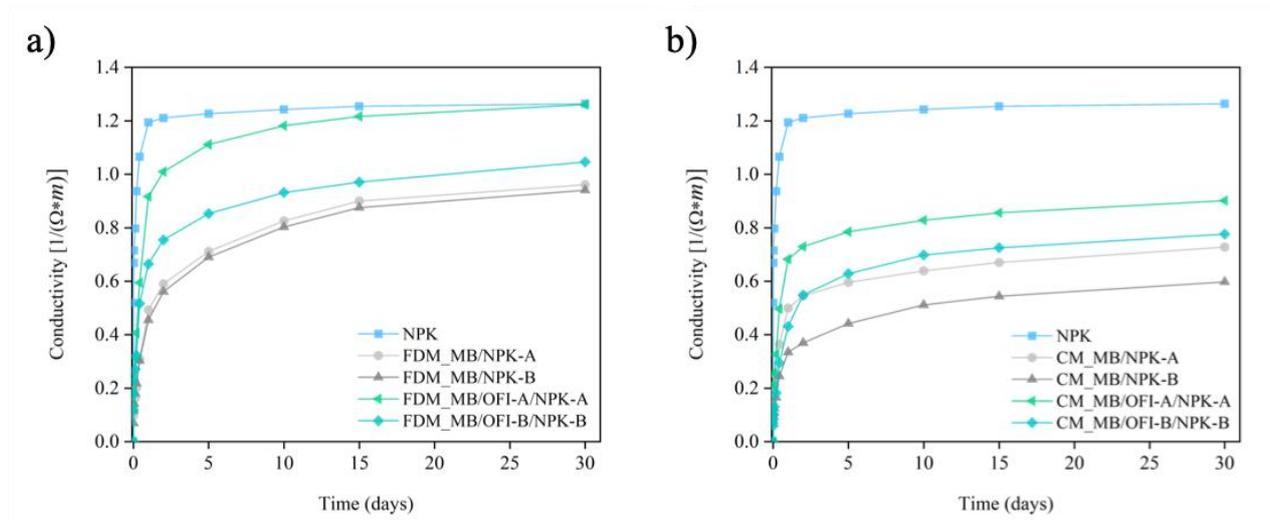


Figura 123 test di rilascio del fertilizzante NPK in funzione del tempo attraverso misure di conducibilità i compositi con NPK ottenuti tramite FDM a) e compression molding b), è riportato il valore di NPK libero per confronto

Le prove di conducibilità dei compositi con NPK ottenuti per FDM e CM, sono state eseguite in funzione del tempo in acqua a 25 °C e sono mostrate rispettivamente in Figura 123 a e 123 b. La cinetica di rilascio dell’NPK dei compositi realizzati per FDM (Figura 123 a) è caratterizzata, per tutti i campioni, da tre fasi: una fase iniziale di *burst* fino a 24 ore, una seconda fase caratterizzata dal progressivo e più lento rilascio di NPK e una regione di plateau finale osservata dopo 15 giorni di immersione dei campioni in acqua. Nel dettaglio, FDM\_MB/OFI-A/NPK-A mostra un notevole *burst* iniziale con circa il 70% di NPK rilasciato nelle prime 24 ore. Gli altri compositi realizzati per FDM hanno mostrato un rilascio di NPK inferiore, in particolare, dopo 24 ore, FDM\_MB/OFI-B/NPK-B

ha rilasciato circa il 50% di NPK mentre FDM\_MB/NPK-A e FDM\_MB/NPK-B hanno rilasciato circa il 40% e 45 % rispettivamente. Questo comportamento può essere ragionevolmente spiegato tenendo conto che, durante l'immersione, le particelle OFI creano dei canali lungo la matrice polimerica che consentono all'acqua di essere convogliata all'interno del campione favorendo il rilascio delle particelle di NPK inglobate nella parte più interna del campione. Inoltre, come previsto, la serie A ha mostrato un rilascio più rapido rispetto alle rispettive controparti (B). Una dimensione delle particelle più piccola, infatti, permette una più rapida dissoluzione grazie alla loro maggiore superficie esposta. I campioni prodotti per CM (Figura 123 b) hanno mostrato lo stesso comportamento di quelli stampati per FDM ma la loro struttura compatta rallenta significativamente il rilascio di NPK. Le elevate porosità indotte dalla stampa per FDM, infatti, contribuiscono significativamente al trasporto dell'acqua all'interno della matrice polimerica consentendo il rilascio dell'NPK anche dallo strato più interno dei compositi [202]. Dopo 24 ore, infatti, CM\_MB/OFI-A/NPK-A ha rilasciato circa il 25% del fertilizzante.

In generale, dunque, è stato possibile controllare il rilascio NPK utilizzando entrambe le tipologie di compositi (MB e MB/OFI) preparati sia per CM che per FDM. Tutti i compositi, infatti, se confrontati con l'NPK in grani, hanno mostrato una significativa riduzione della conducibilità e quindi del contenuto di composti rilasciati, soprattutto nelle prime 24 ore. Inoltre, selezionando opportunamente la dimensione delle particelle, l'aggiunta o meno di OFI e la tecnica di produzione è possibile modulare la velocità di rilascio dell'NPK.

La quantità totale di NPK rilasciata da ciascun composito al termine del test, dopo 30 giorni, è riassunta in Tabella 31.

Tabella 31 quantità di NPK totale rilasciato per i sistemi realizzati tramite CM e FDM dopo 30 giorni

Sample code name	NPK released [%]	
	CM	FDM
MB/NPK-A	58	76
MB/NPK-B	47	74
MB/OFI-A/NPK-A	71	100
MB/OFI-B/NPK-B	61	83

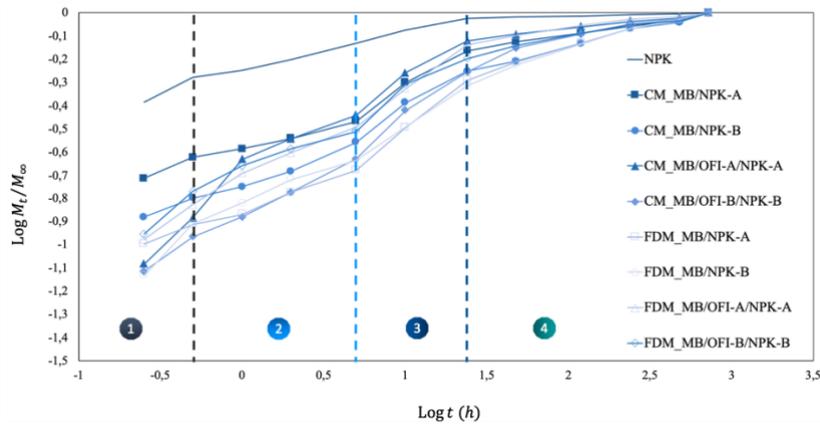


Figura 124 grafico logaritmico dei dati di rilascio espressi come  $M_t/M_\infty$  in funzione del tempo per l'NPK in grani e i sistemi compositi contenenti NPK. Le linee verticali e i numeri identificano le diverse regioni del meccanismo di rilascio del fertilizzante.

I grafici logaritmici dei dati del rilascio di NPK ottenuti in funzione del tempo (Figura 124) sono stati valutati per comprendere meglio il meccanismo di rilascio del fertilizzante. Nelle prime 5 ore (Figura 124, regione 1), i dispositivi hanno mostrato una regione di rilascio di *burst* in cui ragionevolmente il fertilizzante disponibile sulla superficie dei compositi viene disciolto immediatamente (primi 30 min) e successivamente il rilascio risulta regolato da fenomeni diffusivi (Figura 124, regione 2). Dopo questa prima fase la pendenza delle curve di rilascio aumenta, probabilmente a causa del verificarsi di alcuni fenomeni di rigonfiamento della matrice polimerica (Figura 124, regione 3). Quest'ultima fase risulta più marcata per i campioni realizzati per FDM. La maggiore porosità indotta dal processo stesso, infatti, porta ragionevolmente ad un aumento rilevante dell'assorbimento d'acqua e quindi del rigonfiamento della struttura dei campioni prodotti per FDM rispetto alla struttura compatta dei dispositivi realizzati per CM [202]. Dopo 24 ore, il rilascio del fertilizzante è ragionevolmente regolato sia da fenomeni di rigonfiamento che da quelli diffusivi (Figura 124, regione 4). La Figura 125 fornisce una descrizione schematica del meccanismo di rilascio dei compositi.

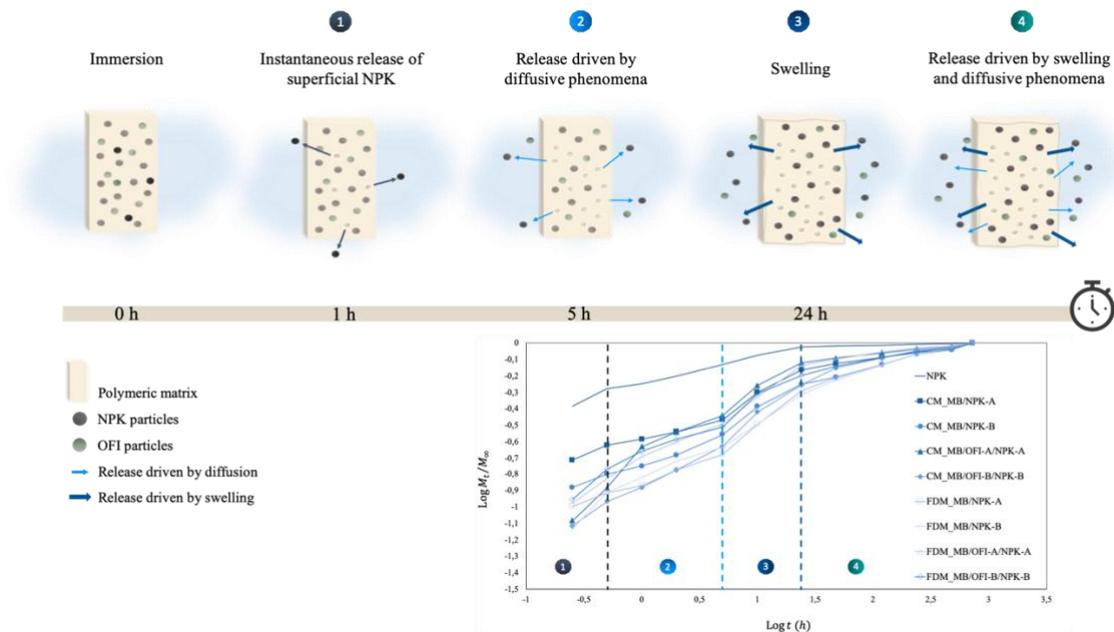


Figura 125 descrizione grafica del meccanismo di rilascio di NPK

Al fine di confermare queste ipotesi sul meccanismo di rilascio, i dati ottenuti sono stati valutati secondo il modello matematico di Peppas-Korsmeyer, uno dei più applicati per interpretare i profili di diffusione non lineare [33–35]. Inoltre, questo modello è stato precedentemente utilizzato con successo per descrivere la cinetica di rilascio dei fertilizzanti [203], [204]. Sono stati quindi determinati e riportati in Tabella 32 i valori di  $K$  e  $n$  delle diverse formulazioni. Attraverso il valore  $n$  è possibile ottenere informazioni sul meccanismo di rilascio. Infatti, quando  $n$  è circa 0,5, il rilascio risulta regolato da fenomeni diffusivi; quando  $n=1$  il meccanismo di rilascio è governato dal rigonfiamento della matrice e quando  $n$  ha valori compresi tra 0,5 e 1 si ha un rilascio anomalo, governato da fenomeni di rigonfiamento e diffusivi [203]–[205],[206]. Tuttavia, la matrice biopolimerica può ostacolare la diffusione, portando così a valori di  $n$  minore di 0,5. La presenza del riempitivo organico, dall’atra parte, potrebbe favorire la formazione di canali interni nei campioni consentendo il rilascio del fertilizzante incorporato nelle zone più interne del composito.

Tabella 32 valori di n e di k della modellazione della legge di potenza di Peppas-korsmayer applicata ai valori di rilascio nella regione di *burst*

Sample code name	Step 1		Step 2	
	K	n	K	n
CM_MB/NPK-A	1.96	0.30	1.83	0.16
CM_MB/NPK-B	1.52	0.25	-	-
CM_MB/OFI-A/NPK-A	1.71	0.78	1.72	0.27
CM_MB/OFI-B/NPK-B	1.36	0.35	-	-
FDM_MB/NPK-A	1.38	0.24	-	-
FDM_MB/NPK-B	1.61	0.74	1.42	0.27
FDM_MB/OFI-A/NPK-A	1.55	0.34	-	-
FDM_MB/OFI-B/NPK-B	1.67	0.46	1.67	0.21

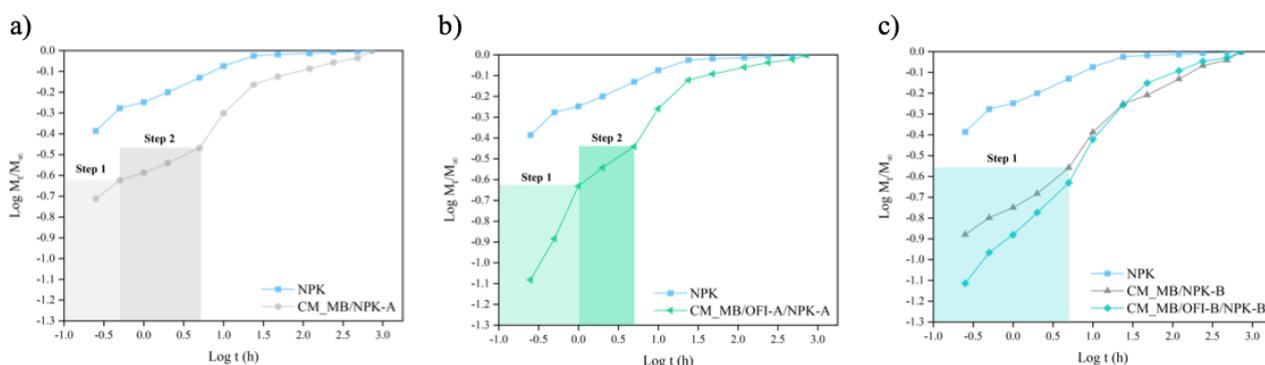


Figura 126 grafici logaritmici della legge di potenza applicata ai dati di rilascio della regione *burst* per CM\_MB/NPK-A, a) CM\_MB/OFI-A/NPK-A b), CM\_MB/NPK-B c), CM\_MB/OFI-A/NPK-B d)

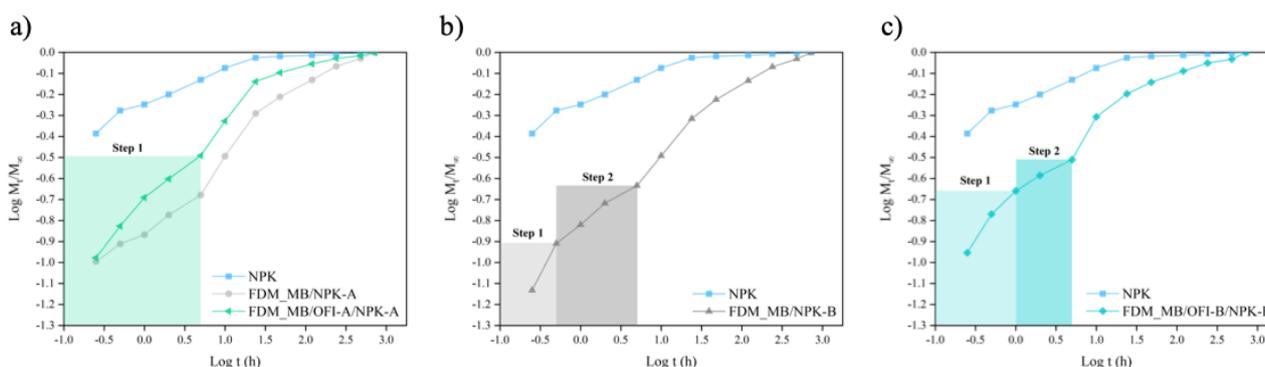
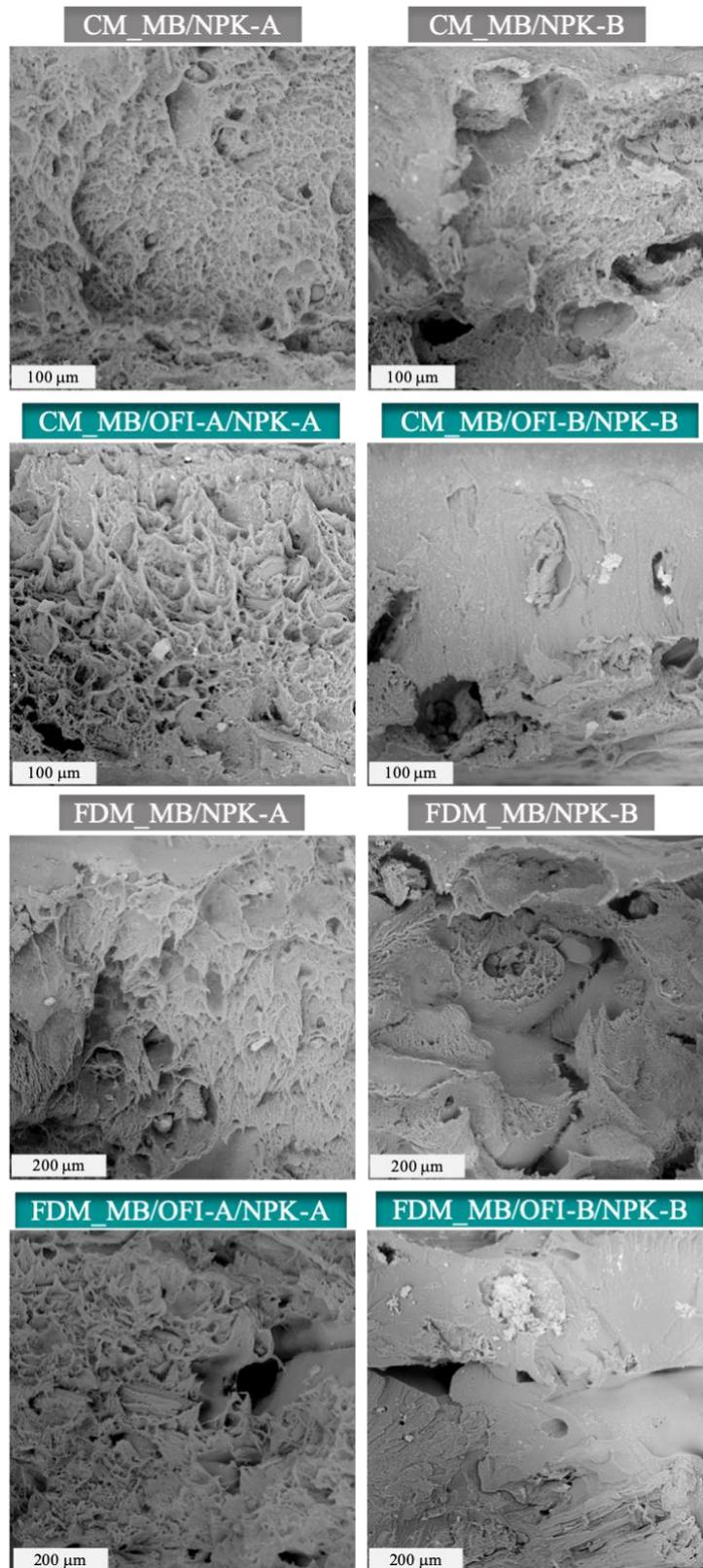


Figura 127 grafici logaritmici della legge di potenza applicata ai dati di rilascio della regione *burst* per FDM\_MB/NPK-A, a) FDM\_MB/OFI-A/NPK-A b), FDM\_MB/NPK-B c), FDM\_MB/OFI-A/NPK-B d)

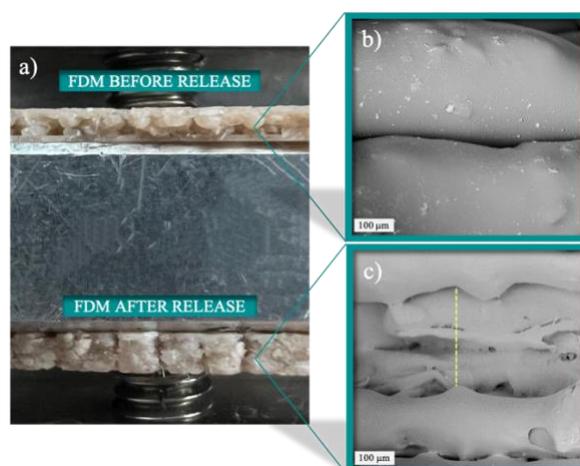
In particolare, CM\_MB/NPK-A (Figura 126 a) ha mostrato una regione di *burst* che può essere suddivisa in due sotto-regioni, una caratterizzata da cinetiche più veloci ( $n=0,30$ ), probabilmente

attribuibile ad alcune particelle di NPK presenti sulla superficie del composito e quindi immediatamente rilasciate e una seconda regione che fornisce informazioni sulla capacità effettiva del sistema di controllare il rilascio ( $n=0,16$ ). In entrambe le regioni, dunque,  $n$  risulta minore di 0,5, specialmente nella seconda regione, quindi, il composito potrebbe effettivamente rallentare il rilascio del fertilizzante. CM\_MB/OFI-A/NPK-A (Figura 126 b) ha mostrato lo stesso comportamento ma con una prima regione caratterizzata da una cinetica molto più veloce ( $n=0,75$ ). Questo comportamento potrebbe essere ragionevolmente imputabile alla presenza di particelle OFI nella matrice come già discusso. CM\_MB/NPK-B e CM\_MB/OFI-B/NPK-B (Figura 126 c), invece, hanno mostrato una singola regione caratterizzata da una diffusione impedita dell'NPK ( $n=0,25$  e  $n=0,35$ ), garantendo un meccanismo di rilascio quasi fickiano. Allo stesso modo, FDM\_MB/NPK-A e FDM\_MB/OFI-A/NPK-A (Figura 127 a) hanno mostrato una diffusione impedita del fertilizzante con un valore  $n$  rispettivamente di 0,24 e 0,34. Al contrario, FDM\_MB/NPK-B (Figura 127 b) e FDM\_MB/OFI-B/NPK-B (Figura 127 c) hanno mostrato due sottoregioni, una caratterizzata da cinetiche più veloci, soprattutto per FDM\_MB/NPK-B ( $n = 0,74$ ), e la seconda che conferma la capacità dei sistemi di stabilire un rilascio controllato ( $n= 0,27$  e  $n= 0,21$  rispettivamente). In generale, tutti i compositi hanno mostrato un notevole rallentamento del rilascio dell'NPK, soprattutto nelle prime 24 ore. Il rilascio, inoltre, può essere modulato selezionando opportunamente la dimensione delle particelle del fertilizzante, l'aggiunta di OFI e la tecnica di produzione. I compositi ottenuti garantiscono un meccanismo di rilascio quasi Fickiano, a differenza dell'NPK in grani, dove il fertilizzante viene rilasciato immediatamente a causa della sua dissoluzione istantanea.



*Figura 128 micrografie SEM dei compositi contenenti NPK prodotti per CM e FDM dopo 30 giorni di immersione in acqua*

La morfologia dei compositi contenenti NPK è stata analizzata anche dopo il rilascio (30 giorni di immersione in acqua distillata) e la relativa micrografia SEM è mostrata in Figura 128. È possibile notare che tutti i dispositivi mostravano un'evidente degradazione della matrice polimerica. Inoltre, tutti i compositi presentavano vuoti nella matrice (non rilevabili nei campioni prima del rilascio) ragionevolmente prodotti dalla dissoluzione dell'NPK rilasciato. Alcune particelle di NPK sono ancora presenti in tutti i dispositivi tranne in FDM\_MB/OFI-A/NPK-A. In quest'ultimo, infatti, non si rilevano particelle di fertilizzante a conferma del rilascio del 100% di NPK.



*Figura 129 immagine ottica a) e micrografie SEM della buona adesione tra i layer nei campioni in FDM prima del rilascio di NPK b) e distacco dei layer negli stessi dopo 24h di immersione a causa dello swelling c)*

Inoltre, sono state riportate l'immagine ottica (Figura 129 a) e la micrografia dei campioni prodotti per FDM prima (Figura 129 b) e dopo (Figura 129 c) il rilascio. Nella Figura 129 b è possibile notare la buona adesione dello strato adiacente nei campioni FDM prima del rilascio di NPK. Dopo 30 giorni di immersione in acqua, invece, i campioni hanno mostrato un distacco degli strati adiacenti (Figura 129 c). Questo comportamento testimonia l'effettivo verificarsi del rigonfiamento della matrice polimerica, a conferma del presunto meccanismo di rilascio.

Le prestazioni meccaniche dei campioni dopo 30 giorni di immersione in acqua sono state valutate mediante prove di trazione e i valori di modulo elastico (E), tensione a rottura (TS) e allungamento a rottura (EB) sono riportati in Tabella 33. Anche i campioni senza NPK sono stati anche immersi in acqua per 30 giorni e poi testati per confronto. Per quanto riguarda i campioni prodotti per CM, tutti i campioni senza NPK (CM\_MB, CM\_MB/OFI-A, CM\_MB/OFI-B) hanno mostrato un aumento del

modulo di Young ragionevolmente imputabile alla degradazione della matrice biopolimerica [167]. Per quanto riguarda CM\_MB/NPK-A e CM\_MB/NPK-B, nessuna differenza di E può essere osservata prima e dopo il rilascio di fertilizzante, infatti, entrambi hanno mostrato un modulo di Young di ~ 95 MPa. Tale comportamento potrebbe essere interpretato come conseguenza della diminuzione di E dovuta alla perdita di filler (NPK) durante la fase di rilascio e di un contemporaneo aumento di essa imputabile alla degradazione della matrice. Al contrario, i compositi ibridi (CM\_MB/OFI-A/NPK-A e CM\_MB/OFI-B/NPK-B) hanno mostrato una leggera diminuzione del modulo di Young. In questo caso l'effetto della perdita di filler durante la fase di rilascio risulta predominante sull'effetto della biodegradazione considerando che la quantità totale di filler per questi ultimi è del 20% e non più del 10%. Inoltre, l'indebolimento delle interazioni interfaccia riempitivo/matrice dovuto all'acqua e le minori proprietà della matrice dovute ad un effetto plastificante potrebbero influenzare le prestazioni meccaniche inducendo una riduzione della rigidità [202].

Tabella 33 proprietà meccaniche dei campioni post rilascio di NPK

<b>Sample code name</b>	<b>E (MPa)</b>	<b>TS (MPa)</b>	<b>EB (%)</b>
<b>CM_MB</b>	128 ± 1.6	6.1 ± 1.8	7.3 ± 2.1
<b>CM_MB/OFI-A</b>	135 ± 11	5.4 ± 0.0	8.9 ± 1.6
<b>CM_MB/OFI-B</b>	150 ± 3.1	5.7 ± 0.8	6.4 ± 0.4
<b>CM_MB/NPK-A</b>	94.6 ± 0.8	5.3 ± 0.6	8.4 ± 0.0
<b>CM_MB/NPK-B</b>	95.4 ± 3.7	5.7 ± 0.4	7.8 ± 0.8
<b>CM_MB/OFI-A/NPK-A</b>	137 ± 3.9	6.3 ± 0.3	7.5 ± 0.4
<b>CM_MB/OFI-B/NPK-B</b>	143 ± 9.5	4.8 ± 2.2	4.7 ± 2.0
<b>FDM_MB</b>	85.6 ± 1.1	5.9 ± 0.6	13 ± 1.4
<b>FDM_MB/OFI-A</b>	101 ± 1.7	5.2 ± 0.4	7.8 ± 1.4
<b>FDM_MB/OFI-B</b>	114 ± 0.5	5.6 ± 1.7	7.4 ± 0.7
<b>FDM_MB/NPK-A</b>	90.7 ± 1.5	5.9 ± 1.3	8.9 ± 1.3
<b>FDM_MB/NPK-B</b>	101 ± 0.7	6.1 ± 0.2	8.4 ± 0.3
<b>FDM_MB/OFI-A/NPK-A</b>	105 ± 0.4	5.9 ± 1.5	8.9 ± 0.8
<b>FDM_MB/OFI-B/NPK-B</b>	104 ± 1.4	5.7 ± 1.2	8.4 ± 1.6

Per quanto riguarda i campioni prodotti per FDM è necessario tenere conto del fatto che le elevate porosità indotte dal processo favoriscono il trasporto dell'acqua attraverso i campioni consentendo il rilascio dell'NPK anche dallo strato più interno dei compositi. Questo comporta che nel caso dei campioni prodotti per FDM si avrà un rilevante aumento dell'assorbimento di acqua e quindi un maggior rigonfiamento della matrice rispetto ai campioni fabbricati per CM [202]. FDM\_MB, infatti,

ha mostrato una leggera diminuzione del valore di E probabilmente imputabile al suo comportamento igroscopico. Questa diminuzione risulta ancora più marcata per i compositi in cui oltre all'effetto plastificante dell'acqua è necessario considerare anche l'effetto della perdita di riempitivo durante la fase di rilascio. In dettaglio, FDM\_MB/OFI-A e FDM\_MB/OFI-B hanno mostrato una diminuzione del modulo di Young rispettivamente da 113 a 101 MPa e da 128 a 114 MPa. Quando si aggiunge solo NPK alla matrice biopolimerica (FDM\_MB/NPK-A e FDM\_MB/NPK-B) la diminuzione del valore E risulta più marcata. Questo comportamento potrebbe essere ragionevolmente imputabile alla maggiore perdita di carica dovuta alla migliore solubilità dell'NPK rispetto a quella dell'OFI. Inoltre, FDM\_MB/OFI-A/NPK-A e FDM\_MB/OFI-B/NPK-B hanno mostrato la più alta diminuzione del valore del modulo di Young. Ancora una volta va considerato che la quantità totale di filler per questi ultimi è del 20% e non più del 10%.

### *Conclusioni*

Un innovativo composito verde per il rilascio controllato di fertilizzante è stato prodotto aggiungendo farina di NPK a un polimero biodegradabile (Mater-Bi®) con o senza l'aggiunta di particelle di OFI. I dispositivi finali sono stati fabbricati con successo sia per CM che per FDM. Sia il riempitivo che il fertilizzante hanno mostrato una buona dispersione nei compositi, un'eccellente adesione con la matrice polimerica e hanno agito efficacemente come rinforzo. I campioni preparati per FDM, inoltre, hanno mostrato proprietà meccaniche superiori rispetto a quelli prodotti per CM. I test di rilascio dei dispositivi hanno rivelato la capacità di tutti i compositi ottenuti di rallentare la velocità di rilascio dell'NPK (fino a 30 giorni). Tale controllo sul rilascio si è inoltre rivelato modulabile modificando formulazione del composito, granulometria delle farine e tecniche di produzione. La struttura porosa dei campioni stampati per FDM, indotta dal processo stesso, favorisce il trasporto dell'acqua attraverso i dispositivi consentendo il rilascio dell'NPK anche dagli strati più interni. In particolare, FDM\_MB/OFI-A/NPK-A ha mostrato un notevole *burst* iniziale con circa il 70% di NPK rilasciato nelle prime 24 ore e un rilascio del 100% dopo 30 giorni. Altri compositi preparati per FDM hanno mostrato un rilascio di NPK inferiore, in particolare, dopo 24 ore, FDM\_MB/OFI-B/NPK-B ha rilasciato circa il 50% di NPK (83% dopo 30 giorni) mentre FDM\_MB/NPK-A e FDM\_MB/NPK-B hanno rilasciato rispettivamente circa il 40% e il 45% (circa il 75% dopo 30 giorni). I campioni CM hanno mostrato lo stesso comportamento di quelli FDM ma la loro struttura compatta ha rallentato significativamente il rilascio di NPK.

## 6 Conclusioni

L'obiettivo di questo lavoro di ricerca è stato quello di sviluppare nuovi metodi di elaborazione combinata sia in *one-step* che in *two-steps*. In particolare, sono state testate diverse combinazioni di processing al fine di ottenere dispositivi a base biopolimerica con strutture e proprietà non ottenibili da singoli processi, trattamenti o materiali.

È stato possibile, dunque, acquisire conoscenze in merito alla combinazione e al controllo dei processi di produzione, trattamenti e materiali e dimostrare come tale combinazione possa portare alla fabbricazione di dispositivi con strutture complesse dalle proprietà ottimizzate per la specifica applicazione.

È stato realizzato un dispositivo multilayer, mediante tecnica di produzione *two-steps*, caratterizzato da variazioni discrete di struttura con proprietà modulabili. La tecnica di produzione *two-steps*, infatti, ha consentito di combinare le ottime proprietà meccaniche di un film, ottenuto mediante solvent casting, con l'elevata area superficiale dei materiali nanofibrosi, ottenuta mediante elettrofilatura.

Inoltre, è stato elaborato con successo un nuovo metodo *one-step* versatile, green e veloce per ottenere un dispositivo di *drug release* base di PVA/GNP per il rilascio di clorexidina. L'elettrofilatura con simultanea reticolazione in *one-step* ha permesso di elaborare membrane nanofibrose il cui grado di reticolazione diminuisce lungo le loro sezioni trasversali consentendo un controllo avanzato sulla cinetica di rilascio del farmaco.

Sono state sviluppate e confrontate metodologie di processo *two-steps* e *one-step* per la realizzazione di membrane con strutture complesse, costituite da nanofibre *core-shell* porose e pervie. Dai risultati ottenuti è emerso che la lisciviazione delle membrane, eseguita in *one-step* o in *two-steps*, ha portato alla formazione di strutture diverse. In particolare, con il metodo di processo *two-steps* è stato possibile ottenere fibre con un'elevata porosità superficiale. Il metodo *one-step*, invece, ha permesso la formazione di nanofibre pervie e porose. I sistemi ottenuti mediante i due metodi di processo (*one-step* e *two-steps*) hanno mostrato elevate capacità di assorbimento di olio rendendoli degli ottimi candidati per il sequestro di inquinanti nelle acque.

Sono stati realizzati, inoltre, dei filamenti compatibili con il processo di stampa FDM a base di cariche naturali ottenute da scarti agricoli o marini. La produzione di tali filamenti ha permesso la processabilità per FDM di materiali green e ha consentito di ottenere strutture finali complesse, dimostrando la possibilità di poter sostituire, con cariche naturali, fino al 20% di bioplastica, senza alterare significativamente la lavorabilità e le proprietà meccaniche del polimero. La valorizzazione degli scarti naturali per la produzione di materiali ecocompatibili, con proprietà meccaniche soddisfacenti, ha consentito la realizzazione di strutture complesse e green nel pieno rispetto delle

linee guida dell'economia circolare.

La preparazione di vari dispositivi per applicazioni diverse ha dunque dato prova di come la strategia di combinare materiali e processi, sfruttando le loro sinergie, risulti vincente al fine di creare strutture complesse.

## 7 Bibliografia

- [1] R. F. Gibson, “A review of recent research on mechanics of multifunctional composite materials and structures,” *Composite Structures*, vol. 92, no. 12. pp. 2793–2810, Nov. 2010. doi: 10.1016/j.compstruct.2010.05.003.
- [2] E. Baer, A. Hiltner, H. D. Keith, and A. Hilmer, “Hierarchical Structure in Polymeric Materials,” 1986. [Online]. Available: [www.sciencemag.org](http://www.sciencemag.org)
- [3] D. Rickert, A. Lendlein, I. Peters, M. A. Moses, and R. P. Franke, “Biocompatibility testing of novel multifunctional polymeric biomaterials for tissue engineering applications in head and neck surgery: An overview,” *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, vol. 263, no. 3, pp. 215–222, Mar. 2006, doi: 10.1007/s00405-005-0950-1.
- [4] “materiali con struttura gerarchica rev nature”.
- [5] K. B. Biji, C. N. Ravishankar, C. O. Mohan, and T. K. Srinivasa Gopal, “Smart packaging systems for food applications: a review,” *Journal of Food Science and Technology*, vol. 52, no. 10. Springer India, pp. 6125–6135, Oct. 24, 2015. doi: 10.1007/s13197-015-1766-7.
- [6] R. Scaffaro *et al.*, “Polycaprolactone-based scaffold for oil-selective sorption and improvement of bacteria activity for bioremediation of polluted water: Porous PCL system obtained by leaching melt mixed PCL/PEG/NaCl composites: Oil uptake performance and bioremediation efficiency,” *European Polymer Journal*, vol. 91, pp. 260–273, Jun. 2017, doi: 10.1016/J.EURPOLYMJ.2017.04.015.
- [7] S. Kara, B. Keskinler, and E. Erhan, “A novel microbial BOD biosensor developed by the immobilization of *P. Syringae* in micro-cellular polymers,” *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 84, no. 4, pp. 511–518, Apr. 2009, doi: 10.1002/JCTB.2071.
- [8] S. Khalil, J. Nam, and W. Sun, “Multi-nozzle deposition for construction of 3D biopolymer tissue scaffolds,” *Rapid Prototyping Journal*, vol. 11, no. 1, pp. 9–17, 2005, doi: 10.1108/13552540510573347/FULL/XML.
- [9] R. Scaffaro, F. Lopresti, L. Botta, S. Rigogliuso, and G. Ghersi, “Preparation of three-layered porous PLA/PEG scaffold: relationship between morphology, mechanical behavior and cell permeability,” *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, vol. 54, pp. 8–20, Feb. 2016, doi: 10.1016/J.JMBBM.2015.08.033.

- [10] M. Nuruddin, J. Hamlin, C. M. Clarkson, J. A. Howarter, C. R. Szczepanski, and J. P. Youngblood, "Processing and Characterization of Food-Grade Plasticizer-Compatibilized Cellulose Nanocrystals and Ethylene Vinyl Alcohol Copolymer Nanocomposites," *ACS Applied Polymer Materials*, vol. 3, no. 10, pp. 5000–5011, Oct. 2021, doi: 10.1021/ACSAPM.1C00756/SUPPL\_FILE/AP1C00756\_SI\_001.PDF.
- [11] D. H. Kim, S. M. Richardson-Burns, J. L. Hendricks, C. Sequera, and D. C. Martin, "Effect of Immobilized Nerve Growth Factor on Conductive Polymers: Electrical Properties and Cellular Response," *Advanced Functional Materials*, vol. 17, no. 1, pp. 79–86, Jan. 2007, doi: 10.1002/ADFM.200500594.
- [12] M. N. S. Kumar, Z. Yaakob, and Siddaramaiah, "Biobased Materials in Food Packaging Applications," *Handbook of Bioplastics and Biocomposites Engineering Applications*, pp. 121–159, Sep. 2011, doi: 10.1002/9781118203699.CH5.
- [13] V. Siracusa, P. Rocculi, S. Romani, and M. D. Rosa, "Biodegradable polymers for food packaging: a review," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 19, no. 12, pp. 634–643, Dec. 2008, doi: 10.1016/J.TIFS.2008.07.003.
- [14] "Global Status of the Production of Biobased Packaging Materials." <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/1521-379X%28200108%2953%3A8%3C351%3A%3AAID-STAR351%3E3.0.CO%3B2-R> (accessed Feb. 14, 2022).
- [15] R. Scaffaro, L. Botta, F. Lopresti, A. Maio, and F. Suter, "Polysaccharide nanocrystals as fillers for PLA based nanocomposites," *Cellulose*, vol. 24, no. 2, 2017, doi: 10.1007/s10570-016-1143-3.
- [16] A. Kumar and S. S. Han, "PVA-based hydrogels for tissue engineering: A review," <http://dx.doi.org/10.1080/00914037.2016.1190930>, vol. 66, no. 4, pp. 159–182, Mar. 2016, doi: 10.1080/00914037.2016.1190930.
- [17] S. Nadem, H. Ziyadi, M. Hekmati, and M. Baghali, "Cross-linked poly(vinyl alcohol) nanofibers as drug carrier of clindamycin," *Polymer Bulletin*, vol. 77, no. 11, pp. 5615–5629, Nov. 2020, doi: 10.1007/S00289-019-03027-Z/FIGURES/10.
- [18] R. Matsukawa, A. Miyamoto, T. Yokota, and T. Someya, "Skin Impedance Measurements with Nanomesh Electrodes for Monitoring Skin Hydration," *Advanced Healthcare Materials*,

vol. 9, no. 22, p. 2001322, Nov. 2020, doi: 10.1002/ADHM.202001322.

- [19] S. Magni, F. Bonasoro, C. della Torre, C. C. Parenti, D. Maggioni, and A. Binelli, “Plastics and biodegradable plastics: ecotoxicity comparison between polyvinylchloride and Mater-Bi® micro-debris in a freshwater biological model,” *Science of The Total Environment*, vol. 720, p. 137602, Jun. 2020, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2020.137602.
- [20] J. H. Jeong, D. W. Lim, D. K. Han, and T. G. Park, “Synthesis, characterization and protein adsorption behaviors of PLGA/PEG di-block co-polymer blend films,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 18, no. 3–4, pp. 371–379, Oct. 2000, doi: 10.1016/S0927-7765(99)00162-9.
- [21] D. Q. M. Craig, “Polyethylene Glycols and Drug Release,” <http://dx.doi.org/10.3109/036390490009058544>, vol. 16, no. 17, pp. 2501–2526, 2008, doi: 10.3109/036390490009058544.
- [22] M. Luisa Caballero, “Excipients as potential agents of anaphylaxis in vaccines: analyzing the formulations of the current authorized COVID-19 vaccines,” *J Investig Allergol Clin Immunol*, vol. 31, no. 1, 2021, doi: 10.18176/jiaci.0667.
- [23] Z. Walsh, E. R. Janeček, M. Jones, and O. A. Scherman, “Natural polymers as alternative consolidants for the preservation of waterlogged archaeological wood,” *Studies in Conservation*, vol. 62, no. 3, pp. 173–183, Apr. 2017, doi: 10.1179/2047058414Y.0000000149/SUPPL\_FILE/YSIC\_A\_1098483\_SM6213.PDF.
- [24] O. Faruk, A. K. Bledzki, H. P. Fink, and M. Sain, “Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010,” *Progress in Polymer Science*, vol. 37, no. 11, pp. 1552–1596, Nov. 2012, doi: 10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2012.04.003.
- [25] F. P. la Mantia and M. Morreale, “Green composites: A brief review,” *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, vol. 42, no. 6, pp. 579–588, Jun. 2011, doi: 10.1016/J.COMPOSITESA.2011.01.017.
- [26] E. Zini and M. Scandola, “Green composites: An overview,” *Polymer Composites*, vol. 32, no. 12, pp. 1905–1915, Dec. 2011, doi: 10.1002/PC.21224.
- [27] N. G. M. L. US Department of Commerce, “Global Monitoring Laboratory - Carbon Cycle Greenhouse Gases”.

- [28] T. Gurunathan, S. Mohanty, and S. K. Nayak, "A review of the recent developments in biocomposites based on natural fibres and their application perspectives," *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, vol. 77, pp. 1–25, Oct. 2015, doi: 10.1016/J.COMPOSITESA.2015.06.007.
- [29] A. di Bartolo, G. Infurna, and N. T. Dintcheva, "A Review of Bioplastics and Their Adoption in the Circular Economy," *Polymers 2021, Vol. 13, Page 1229*, vol. 13, no. 8, p. 1229, Apr. 2021, doi: 10.3390/POLYM13081229.
- [30] P. Matic, "Overview of Multifunctional Materials," 2003. [Online]. Available: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/>
- [31] J. P. Thomas and M. A. Qidwai, "Mechanical design and performance of composite multifunctional materials," *Acta Materialia*, vol. 52, no. 8, pp. 2155–2164, May 2004, doi: 10.1016/j.actamat.2004.01.007.
- [32] B. Karolewicz, "A review of polymers as multifunctional excipients in drug dosage form technology," *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 24, no. 5. Elsevier B.V., pp. 525–536, Sep. 01, 2016. doi: 10.1016/j.jsps.2015.02.025.
- [33] S. Kumar Bohidar, R. Sharma, and R. Mishra, "Functionally Graded Materials: A Critical Review," *International Journal of Research (IJR)*, vol. 1, no. 7, 2014.
- [34] E. Baer, A. Hiltner, H. D. Keith, and A. Hilmer, "Hierarchical Structure in Polymeric Materials," 1986. [Online]. Available: [www.sciencemag.org](http://www.sciencemag.org)
- [35] Z. Li, Y. Xu, L. Fan, W. Kang, and B. Cheng, "Fabrication of polyvinylidene fluoride tree-like nanofiber via one-step electrospinning," *Materials & Design*, vol. 92, pp. 95–101, Feb. 2016, doi: 10.1016/J.MATDES.2015.12.037.
- [36] "Electrospinning: Materials, Processing, and Applications - Joachim H. Wendorff, Seema Agarwal, Andreas Greiner - Google Libri." [https://books.google.it/books?hl=it&lr=&id=ePnhJY8iHoEC&oi=fnd&pg=PR9&dq=Wendorff+JH,+Agarwal+S,+Greiner+A.+Electrospinning+%E2%80%93+Some+Technical+Aspects.+&ots=mlbs9IhG\\_0&sig=Ea58w8sO-a4irs2Kon-Mj-X1Ew4&redir\\_esc=y#v=onepage&q=Wendorff%20JH%2C%20Agarwal%20S%2C%20Greiner%20A.%20Electrospinning%20%E2%80%93%20Some%20Technical%20Aspects.&f=false](https://books.google.it/books?hl=it&lr=&id=ePnhJY8iHoEC&oi=fnd&pg=PR9&dq=Wendorff+JH,+Agarwal+S,+Greiner+A.+Electrospinning+%E2%80%93+Some+Technical+Aspects.+&ots=mlbs9IhG_0&sig=Ea58w8sO-a4irs2Kon-Mj-X1Ew4&redir_esc=y#v=onepage&q=Wendorff%20JH%2C%20Agarwal%20S%2C%20Greiner%20A.%20Electrospinning%20%E2%80%93%20Some%20Technical%20Aspects.&f=false) (accessed Feb. 15, 2022).

- [37] J. Xu *et al.*, “Roll-to-Roll Transfer of Electrospun Nanofiber Film for High-Efficiency Transparent Air Filter,” *Nano Letters*, vol. 16, no. 2, pp. 1270–1275, Feb. 2016, doi: 10.1021/ACS.NANOLETT.5B04596/SUPPL\_FILE/NL5B04596\_SI\_003.AVI.
- [38] R. Sarbatly, D. Krishnaiah, and Z. Kamin, “A review of polymer nanofibres by electrospinning and their application in oil–water separation for cleaning up marine oil spills,” *Marine Pollution Bulletin*, vol. 106, no. 1–2, pp. 8–16, May 2016, doi: 10.1016/J.MARPOLBUL.2016.03.037.
- [39] H. Zhu, S. Qiu, W. Jiang, D. Wu, and C. Zhang, “Evaluation of Electrospun Polyvinyl Chloride/Polystyrene Fibers As Sorbent Materials for Oil Spill Cleanup,” *Environmental Science and Technology*, vol. 45, no. 10, pp. 4527–4531, May 2011, doi: 10.1021/ES2002343.
- [40] J. Lin, B. Ding, J. Yang, J. Yu, and G. Sun, “Subtle regulation of the micro- and nanostructures of electrospun polystyrene fibers and their application in oil absorption,” *Nanoscale*, vol. 4, no. 1, pp. 176–182, Dec. 2011, doi: 10.1039/C1NR10895F.
- [41] X. Wang, J. Yu, G. Sun, and B. Ding, “Electrospun nanofibrous materials: a versatile medium for effective oil/water separation,” *Materials Today*, vol. 19, no. 7, pp. 403–414, Sep. 2016, doi: 10.1016/J.MATTOD.2015.11.010.
- [42] Y. Liu, J. Lu, G. Xu, J. Wei, Z. Zhang, and X. Li, “Tuning the conductivity and inner structure of electrospun fibers to promote cardiomyocyte elongation and synchronous beating,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 69, pp. 865–874, Dec. 2016, doi: 10.1016/J.MSEC.2016.07.069.
- [43] P. Bhattacharjee, D. Naskar, H. W. Kim, T. K. Maiti, D. Bhattacharya, and S. C. Kundu, “Non-mulberry silk fibroin grafted PCL nanofibrous scaffold: Promising ECM for bone tissue engineering,” *European Polymer Journal*, vol. 71, pp. 490–509, Oct. 2015, doi: 10.1016/J.EURPOLYMJ.2015.08.025.
- [44] S. Thakkar and M. Misra, “Electrospun polymeric nanofibers: New horizons in drug delivery,” *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 107, pp. 148–167, Sep. 2017, doi: 10.1016/J.EJPS.2017.07.001.
- [45] R. Scaffaro *et al.*, “Polycaprolactone-based scaffold for oil-selective sorption and improvement of bacteria activity for bioremediation of polluted water: Porous PCL system obtained by leaching melt mixed PCL/PEG/NaCl composites: Oil uptake performance and

- bioremediation efficiency,” *European Polymer Journal*, vol. 91, pp. 260–273, Jun. 2017, doi: 10.1016/J.EURPOLYMJ.2017.04.015.
- [46] R. Scaffaro, F. Lopresti, A. Sutura, L. Botta, R. M. Fontana, and G. Gallo, “Plasma modified PLA electrospun membranes for actinorhodin production intensification in *Streptomyces coelicolor* immobilized-cell cultivations,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 157, pp. 233–241, Sep. 2017, doi: 10.1016/J.COLSURFB.2017.05.060.
- [47] T. He *et al.*, “Electrospinning polyvinylidene fluoride fibrous membranes containing anti-bacterial drugs used as wound dressing,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 130, pp. 278–286, Jun. 2015, doi: 10.1016/J.COLSURFB.2015.04.026.
- [48] M. Liu, X. P. Duan, Y. M. Li, D. P. Yang, and Y. Z. Long, “Electrospun nanofibers for wound healing,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 76, pp. 1413–1423, Jul. 2017, doi: 10.1016/J.MSEC.2017.03.034.
- [49] U. Siemann, “Solvent cast technology - A versatile tool for thin film production,” *Progress in Colloid and Polymer Science*, vol. 130, pp. 1–14, 2005, doi: 10.1007/b107336.
- [50] C. H. Park and W. I. Lee, “Compression molding in polymer matrix composites,” in *Manufacturing Techniques for Polymer Matrix Composites (PMCs)*, Elsevier, 2012, pp. 47–94. doi: 10.1533/9780857096258.1.47.
- [51] H. Guo, R. Lv, and S. Bai, “Recent advances on 3D printing graphene-based composites,” *Nano Materials Science*, vol. 1, no. 2, pp. 101–115, Jun. 2019, doi: 10.1016/J.NANOMS.2019.03.003.
- [52] “Tissue Engineering - Clemens Van Blitterswijk, Jan De Boer, Peter Thomsen, Jeffrey Hubbell, Ranieri Cancedda, J.D. de Bruijn, Anders Lindahl, Jerome Sohler, David F. Williams - Google Libri.”  
[https://books.google.it/books?hl=it&lr=&id=AN9s2p9ZzgoC&oi=fnd&pg=PP1&dq=engineering+tissue+&ots=jx9S8aT699&sig=usLm0AijFWYhRQMa1I8idL5baVo&redir\\_esc=y#v=onepage&q=engineering%20tissue&f=false](https://books.google.it/books?hl=it&lr=&id=AN9s2p9ZzgoC&oi=fnd&pg=PP1&dq=engineering+tissue+&ots=jx9S8aT699&sig=usLm0AijFWYhRQMa1I8idL5baVo&redir_esc=y#v=onepage&q=engineering%20tissue&f=false) (accessed Feb. 15, 2022).
- [53] P. Karuppuswamy, J. R. Venugopal, B. Navaneethan, A. L. Laiva, S. Sridhar, and S. Ramakrishna, “Functionalized hybrid nanofibers to mimic native ECM for tissue engineering applications,” *Applied Surface Science*, vol. 322, pp. 162–168, Dec. 2014, doi: 10.1016/J.APSUSC.2014.10.074.

- [54] S. A. Sell, P. S. Wolfe, K. Garg, J. M. McCool, I. A. Rodriguez, and G. L. Bowlin, “The Use of Natural Polymers in Tissue Engineering: A Focus on Electrospun Extracellular Matrix Analogues,” *Polymers 2010*, Vol. 2, Pages 522-553, vol. 2, no. 4, pp. 522–553, Nov. 2010, doi: 10.3390/POLYM2040522.
- [55] S. Heydarkhan-Hagvall *et al.*, “Three-dimensional electrospun ECM-based hybrid scaffolds for cardiovascular tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 29, no. 19, pp. 2907–2914, Jul. 2008, doi: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2008.03.034.
- [56] M. Subramani, N. Vekatahwaremoorthy, and R. Sambathkumar, “A Novel Approach on Role of Polymers Used In Sustained Release Drug Delivery System-A Review,” *Saudi J Med Pharm Sci*, vol. 7, no. 4, pp. 170–178, 2021, doi: 10.36348/sjmps.2021.v07i04.002.
- [57] M. C. Berg, L. Zhai, R. E. Cohen, and M. F. Rubner, “Controlled Drug Release from Porous Polyelectrolyte Multilayers,” *Biomacromolecules*, vol. 7, no. 1, pp. 357–364, Jan. 2005, doi: 10.1021/BM050174E.
- [58] E. Szpyrka, M. Podbielska, A. Zwolak, B. Piechowicz, G. Siebielec, and M. Słowik-Borowiec, “Influence of a Commercial Biological Fungicide containing *Trichoderma harzianum* Rifai T-22 on Dissipation Kinetics and Degradation of Five Herbicides in Two Types of Soil,” *Molecules 2020*, Vol. 25, Page 1391, vol. 25, no. 6, p. 1391, Mar. 2020, doi: 10.3390/MOLECULES25061391.
- [59] A. Gatto, W. Loewenstein, and E. R. Sadik-Zada, “An extensive data set on energy, economy, environmental pollution and institutional quality in the petroleum-reliant developing and transition economies,” *Data in Brief*, vol. 35, p. 106766, Apr. 2021, doi: 10.1016/J.DIB.2021.106766.
- [60] H. M. Choi, H. J. Kwon, and J. P. Moreau, “Cotton Nonwovens as Oil Spill Cleanup Sorbents:,” <http://dx.doi.org/10.1177/004051759306300404>, vol. 63, no. 4, pp. 211–218, Jul. 2016, doi: 10.1177/004051759306300404.
- [61] T. T. Lim and X. Huang, “Evaluation of kapok (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) as a natural hollow hydrophobic–oleophilic fibrous sorbent for oil spill cleanup,” *Chemosphere*, vol. 66, no. 5, pp. 955–963, Jan. 2007, doi: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2006.05.062.
- [62] M. D. Teli and S. P. Valia, “Grafting of Butyl Acrylate on to Banana Fibers for Improved Oil Absorption,” <https://doi.org/10.1080/15440478.2015.1055034>, vol. 13, no. 4, pp. 470–476,

Jul. 2016, doi: 10.1080/15440478.2015.1055034.

- [63] Z. M. Salisu, S. U. Ishiaku, D. Abdullahi, M. K. Yakubu, and B. H. Diya'uddeen, "Development of kenaf shive bio-mop via surface deposit technique for water remediation from crude oil spill contamination," *Results in Engineering*, vol. 3, p. 100020, Sep. 2019, doi: 10.1016/J.RINENG.2019.100020.
- [64] K. L. Yam, P. T. Takhistov, and J. Miltz, "Intelligent packaging: Concepts and applications," *Journal of Food Science*, vol. 70, no. 1, 2005, doi: 10.1111/J.1365-2621.2005.TB09052.X.
- [65] B. Malhotra, A. Keshwani, and H. Kharkwal, "Antimicrobial food packaging: Potential and pitfalls," *Frontiers in Microbiology*, vol. 6, no. JUN, p. 611, 2015, doi: 10.3389/FMICB.2015.00611/BIBTEX.
- [66] P. WALETZKO and T. P. LABUZA, "ACCELERATED SHELF-LIFE TESTING OF AN INTERMEDIATE MOISTURE FOOD IN AIR AND IN AN OXYGEN-FREE ATMOSPHERE," *Journal of Food Science*, vol. 41, no. 6, pp. 1338–1344, Nov. 1976, doi: 10.1111/J.1365-2621.1976.TB01166.X.
- [67] R. Scaffaro, A. Maio, F. E. Gulino, C. di Salvo, and A. Arcarisi, "Bilayer biodegradable films prepared by co-extrusion film blowing: Mechanical performance, release kinetics of an antimicrobial agent and hydrolytic degradation," *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, vol. 132, p. 105836, May 2020, doi: 10.1016/J.COMPOSITESA.2020.105836.
- [68] "Active Packaging for Food Applications - Aaron L. Brody, E. P. Strupinsky, Lauri R. Kline - Google Libri." [https://books.google.it/books?hl=it&lr=&id=6z1QbQTmcukC&oi=fnd&pg=PR9&dq=Brody+AL,+Strupinsky+ER,+Kline+LR+\(2002\)+Active+packaging+for+food+applications.+CRC+press,+Boca+Raton&ots=nKnADmUGXk&sig=Xg1ouivyvvred4qZphlTXK-zgCU&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.it/books?hl=it&lr=&id=6z1QbQTmcukC&oi=fnd&pg=PR9&dq=Brody+AL,+Strupinsky+ER,+Kline+LR+(2002)+Active+packaging+for+food+applications.+CRC+press,+Boca+Raton&ots=nKnADmUGXk&sig=Xg1ouivyvvred4qZphlTXK-zgCU&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false) (accessed Feb. 15, 2022).
- [69] B. Cuq, N. Gontard, and S. Guilbert, "Edible films and coatings as active layers," *Active Food Packaging*, pp. 111–142, 1995, doi: 10.1007/978-1-4615-2175-4\_5.
- [70] W. Chalco-Sandoval, M. J. Fabra, A. López-Rubio, and J. M. Lagaron, "Development of polystyrene-based films with temperature buffering capacity for smart food packaging," *Journal of Food Engineering*, vol. 164, pp. 55–62, Nov. 2015, doi:

10.1016/J.JFOODENG.2015.04.032.

- [71] X. Wu, J. Zhou, J. Huang, X. Wu, J. Zhou, and J. Huang, "Integration of Biomaterials into Sensors Based on Organic Thin-Film Transistors," *Wiley Online Library*, vol. 39, no. 15, Aug. 2018, doi: 10.1002/marc.201800084.
- [72] W. Liu *et al.*, "Flexible and Stretchable Energy Storage: Recent Advances and Future Perspectives," *Advanced Materials*, vol. 29, no. 1, p. 1603436, Jan. 2017, doi: 10.1002/ADMA.201603436.
- [73] H. Liu *et al.*, "Electrically conductive polymer composites for smart flexible strain sensors: a critical review," *Journal of Materials Chemistry C*, vol. 6, no. 45, pp. 12121–12141, Nov. 2018, doi: 10.1039/C8TC04079F.
- [74] R. Scaffaro, A. Maio, and M. C. Citarrella, "Ionic tactile sensors as promising biomaterials for artificial skin: Review of latest advances and future perspectives," *European Polymer Journal*, vol. 151, p. 110421, May 2021, doi: 10.1016/J.EURPOLYMJ.2021.110421.
- [75] M. Jian, Y. Zhang, and Z. Liu, "Natural Biopolymers for Flexible Sensing and Energy Devices," *Chinese Journal of Polymer Science 2020 38:5*, vol. 38, no. 5, pp. 459–490, Feb. 2020, doi: 10.1007/S10118-020-2379-9.
- [76] Z. Li, Y. Xu, L. Fan, W. Kang, and B. Cheng, "Fabrication of polyvinylidene fluoride tree-like nanofiber via one-step electrospinning," *Materials and Design*, vol. 92, pp. 95–101, Feb. 2016, doi: 10.1016/j.matdes.2015.12.037.
- [77] L. Zhang, C. Narita, Y. Himeda, H. Honma, and K. Yamada, "Development of highly oil-absorbent polylactic-acid microfibers with a nanoporous structure via simple one-step centrifugal spinning," *Separation and Purification Technology*, vol. 282, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.seppur.2021.120156.
- [78] Q. Cui, D. J. Bell, S. B. Rauer, and M. Wessling, "Wet-Spinning of Biocompatible Core–Shell Polyelectrolyte Complex Fibers for Tissue Engineering," *Advanced Materials Interfaces*, vol. 7, no. 23, Dec. 2020, doi: 10.1002/admi.202000849.
- [79] E. Tavakkol, H. Tavanai, A. Abdolmaleki, and M. Morshed, "Production of conductive electrospun polypyrrole/poly(vinyl pyrrolidone) nanofibers," *Synthetic Metals*, vol. 231, pp. 95–106, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.synthmet.2017.06.017.

- [80] L. Zhao *et al.*, “Superelastic, lightweight, and flame-retardant 3D fibrous sponge fabricated by one-step electrospinning for heat retention,” *Composites Communications*, vol. 25, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.coco.2021.100681.
- [81] S. Pawłowska *et al.*, “Ultraviolet Light-Assisted Electrospinning of Core–Shell Fully Cross-Linked P(NIPAAm-co-NIPMAAm) Hydrogel-Based Nanofibers for Thermally Induced Drug Delivery Self-Regulation,” *Advanced Materials Interfaces*, vol. 7, no. 12, Jun. 2020, doi: 10.1002/admi.202000247.
- [82] M. S. Birajdar and J. Lee, “Sonication-triggered zero-order release by uncorking core–shell nanofibers,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 288, pp. 1–8, Mar. 2016, doi: 10.1016/J.CEJ.2015.11.095.
- [83] J. W. Choi, W. Y. Maeng, Y. H. Koh, H. Lee, and H. E. Kim, “3D plotting using camphene as pore-regulating agent to produce hierarchical macro/micro-porous poly( $\epsilon$ -caprolactone)/calcium phosphate composite scaffolds,” *Materials*, vol. 12, no. 7, 2019, doi: 10.3390/ma12172650.
- [84] Z. Hou *et al.*, “Bamboo charcoal/poly(L-lactide) fiber webs prepared using laser-heated melt electrospinning,” *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 16, Aug. 2021, doi: 10.3390/polym13162776.
- [85] C. Wang *et al.*, “Multi-scale hierarchical scaffolds with aligned micro-fibers for promoting cell alignment,” *Biomedical Materials (Bristol)*, vol. 16, no. 4, Jul. 2021, doi: 10.1088/1748-605X/ac0a90.
- [86] G. T. S. Kirby *et al.*, “PLGA-based microparticles for the sustained release of BMP-2,” in *European Cells and Materials*, 2011, vol. 22, no. SUPPL.3, p. 24. doi: 10.3390/polym3010571.
- [87] J. E. Snyder, P. M. Hunger, C. Wang, Q. Hamid, U. G. K. Wegst, and W. Sun, “Combined multi-nozzle deposition and freeze casting process to superimpose two porous networks for hierarchical three-dimensional microenvironment,” *Biofabrication*, vol. 6, no. 1, Mar. 2014, doi: 10.1088/1758-5082/6/1/015007.
- [88] P. Song *et al.*, “Novel 3D porous biocomposite scaffolds fabricated by fused deposition modeling and gas foaming combined technology,” *Composites Part B: Engineering*, vol. 152, pp. 151–159, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.compositesb.2018.06.029.

- [89] J. v. John *et al.*, “Engineering Biomimetic Nanofiber Microspheres with Tailored Size, Predesigned Structure, and Desired Composition via Gas Bubble–Mediated Coaxial Electrospray,” *Small*, vol. 16, no. 19, May 2020, doi: 10.1002/sml.201907393.
- [90] X. Li *et al.*, “Water filtration properties of novel composite membranes combining solution electrospinning and needleless melt electrospinning methods,” *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 132, no. 10, Mar. 2015, doi: 10.1002/app.41601.
- [91] N. A. Hotaling, K. Bharti, H. Kriel, and C. G. Simon, “DiameterJ: A validated open source nanofiber diameter measurement tool,” *Biomaterials*, vol. 61, pp. 327–338, Aug. 2015, doi: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2015.05.015.
- [92] G. lo Re, F. Lopresti, G. Petrucci, and R. Scaffaro, “A facile method to determine pore size distribution in porous scaffold by using image processing,” *Micron*, vol. 76, pp. 37–45, Sep. 2015, doi: 10.1016/J.MICRON.2015.05.001.
- [93] P. L. Ritger and N. A. Peppas, “A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices,” *Journal of Controlled Release*, vol. 5, no. 1, pp. 37–42, Jun. 1987, doi: 10.1016/0168-3659(87)90035-6.
- [94] O. F. Solomon and I. Z. Ciută, “Détermination de la viscosité intrinsèque de solutions de polymères par une simple détermination de la viscosité,” *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 6, no. 24, pp. 683–686, Nov. 1962, doi: 10.1002/APP.1962.070062414.
- [95] J. R. Dorgan, J. Janzen, D. M. Knauss, S. B. Hait, B. R. Limoges, and M. H. Hutchinson, “Fundamental solution and single-chain properties of polylactides,” *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, vol. 43, no. 21, pp. 3100–3111, Nov. 2005, doi: 10.1002/POLB.20577.
- [96] R. Scaffaro, A. Maio, E. F. Gulino, M. Morreale, and F. P. la Mantia, “The Effects of Nanoclay on the Mechanical Properties, Carvacrol Release and Degradation of a PLA/PBAT Blend,” *Materials 2020, Vol. 13, Page 983*, vol. 13, no. 4, p. 983, Feb. 2020, doi: 10.3390/MA13040983.
- [97] R. Scaffaro and F. Lopresti, “Processing, structure, property relationships and release kinetics of electrospun PLA/Carvacrol membranes,” *European Polymer Journal*, vol. 100, pp. 165–171, Mar. 2018, doi: 10.1016/J.EURPOLYMJ.2018.01.035.

- [98] R. Scaffaro, A. Maio, and A. Nostro, "Poly(lactic acid)/carvacrol-based materials: preparation, physicochemical properties, and antimicrobial activity," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 104, no. 5, pp. 1823–1835, Mar. 2020, doi: 10.1007/S00253-019-10337-9/FIGURES/4.
- [99] A. Nostro *et al.*, "Study on carvacrol and cinnamaldehyde polymeric films: Mechanical properties, release kinetics and antibacterial and antibiofilm activities," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 96, no. 4, pp. 1029–1038, Nov. 2012, doi: 10.1007/S00253-012-4091-3/FIGURES/3.
- [100] E. J. A. Veldhuizen, J. L. M. Tjeerdsma-Van Bokhoven, C. Zweijter, S. A. Burt, and H. P. Haagsman, "Structural Requirements for the Antimicrobial Activity of Carvacrol," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, no. 5, pp. 1874–1879, Mar. 2006, doi: 10.1021/JF052564Y.
- [101] M. Sharifi-Rad *et al.*, "Carvacrol and human health: A comprehensive review," *Phytotherapy Research*, vol. 32, no. 9, pp. 1675–1687, Sep. 2018, doi: 10.1002/PTR.6103.
- [102] R. Tao, J. Sedman, and A. Ismail, "Characterization and in vitro antimicrobial study of soy protein isolate films incorporating carvacrol," *Food Hydrocolloids*, vol. 122, p. 107091, Jan. 2022, doi: 10.1016/J.FOODHYD.2021.107091.
- [103] N. Chami, S. Bennis, F. Chami, A. Aboussekhra, and A. Remmal, "Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol in vitro and in vivo," *Oral Microbiology and Immunology*, vol. 20, no. 2, pp. 106–111, Apr. 2005, doi: 10.1111/J.1399-302X.2004.00202.X.
- [104] F. Chami, N. Chami, S. Bennis, J. Trouillas, and A. Remmal, "Evaluation of carvacrol and eugenol as prophylaxis and treatment of vaginal candidiasis in an immunosuppressed rat model," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 54, no. 5, pp. 909–914, Nov. 2004, doi: 10.1093/JAC/DKH436.
- [105] W. S. Choi, G. H. Kim, J. H. Shin, G. Lim, and T. An, "Electrospinning onto Insulating Substrates by Controlling Surface Wettability and Humidity," *Nanoscale Research Letters*, vol. 12, no. 1, pp. 1–7, Nov. 2017, doi: 10.1186/S11671-017-2380-6/FIGURES/6.
- [106] R. Scaffaro and A. Maio, "A green method to prepare nanosilica modified graphene oxide to inhibit nanoparticles re-aggregation during melt processing," *Chemical Engineering Journal*, vol. 308, pp. 1034–1047, Jan. 2017, doi: 10.1016/J.CEJ.2016.09.131.

- [107] R. Scaffaro and A. Maio, "Integrated ternary bionanocomposites with superior mechanical performance via the synergistic role of graphene and plasma treated carbon nanotubes," *Composites Part B: Engineering*, vol. 168, pp. 550–559, Jul. 2019, doi: 10.1016/J.COMPOSITESB.2019.03.076.
- [108] R. Scaffaro, A. Maio, and F. Lopresti, "Effect of graphene and fabrication technique on the release kinetics of carvacrol from polylactic acid," *Composites Science and Technology*, vol. 169, pp. 60–69, Jan. 2019, doi: 10.1016/J.COMPSCITECH.2018.11.003.
- [109] R. Scaffaro and A. Maio, "Influence of Oxidation Level of Graphene Oxide on the Mechanical Performance and Photo-Oxidation Resistance of a Polyamide 6," *Polymers 2019, Vol. 11, Page 857*, vol. 11, no. 5, p. 857, May 2019, doi: 10.3390/POLYM11050857.
- [110] P. L. Ritger and N. A. Peppas, "A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices," *Journal of Controlled Release*, vol. 5, no. 1, pp. 37–42, Jun. 1987, doi: 10.1016/0168-3659(87)90035-6.
- [111] L. Keawchaoon and R. Yoksan, "Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 84, no. 1, pp. 163–171, May 2011, doi: 10.1016/J.COLSURFB.2010.12.031.
- [112] N. R. Saha *et al.*, "Studies on methylcellulose/pectin/montmorillonite nanocomposite films and their application possibilities," *Carbohydrate Polymers*, vol. 136, pp. 1218–1227, Jan. 2016, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2015.10.046.
- [113] R. Scaffaro, L. Botta, A. Maio, M. Chiara Mistretta, F. Paolo, and L. Mantia, "Effect of graphene nanoplatelets on the physical and antimicrobial properties of biopolymer-based nanocomposites," *mdpi.com*, 2016, doi: 10.3390/ma9050351.
- [114] M. V. Dias *et al.*, "Thermal and morphological properties and kinetics of diffusion of antimicrobial films on food and a simulant," *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 16, pp. 15–22, Jun. 2018, doi: 10.1016/J.FPSL.2018.01.007.
- [115] R. Morita, R. Honda, and Y. Takahashi, "Development of oral controlled release preparations, a PVA swelling controlled release system (SCRS): I. Design of SCRS and its release controlling factor," *Journal of Controlled Release*, vol. 63, no. 3, pp. 297–304, Feb. 2000, doi: 10.1016/S0168-3659(99)00203-5.

- [116] R. Morita, R. Honda, and Y. Takahashi, "Development of oral controlled release preparations, a PVA swelling controlled release system (SCRS): I. Design of SCRS and its release controlling factor," *Journal of Controlled Release*, vol. 63, no. 3, pp. 297–304, Feb. 2000, doi: 10.1016/S0168-3659(99)00203-5.
- [117] D. Yang, Y. Li, and J. Nie, "Preparation of gelatin/PVA nanofibers and their potential application in controlled release of drugs," *Carbohydrate Polymers*, vol. 69, no. 3, pp. 538–543, Jun. 2007, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2007.01.008.
- [118] S. Nadem, H. Ziyadi, M. Hekmati, and M. Baghali, "Cross-linked poly(vinyl alcohol) nanofibers as drug carrier of clindamycin," *Polymer Bulletin*, vol. 77, no. 11, pp. 5615–5629, Nov. 2020, doi: 10.1007/S00289-019-03027-Z/FIGURES/10.
- [119] B. Singh and L. Pal, "Sterculia crosslinked PVA and PVA-poly(AAm) hydrogel wound dressings for slow drug delivery: Mechanical, mucoadhesive, biocompatible and permeability properties," *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, vol. 9, pp. 9–21, May 2012, doi: 10.1016/J.JMBBM.2012.01.021.
- [120] M. Sabzi, M. J. Afshari, M. Babaahmadi, and N. Shafagh, "pH-dependent swelling and antibiotic release from citric acid crosslinked poly(vinyl alcohol) (PVA)/nano silver hydrogels," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 188, p. 110757, Apr. 2020, doi: 10.1016/J.COLSURFB.2019.110757.
- [121] A. Kumar and S. S. Han, "PVA-based hydrogels for tissue engineering: A review," <http://dx.doi.org/10.1080/00914037.2016.1190930>, vol. 66, no. 4, pp. 159–182, Mar. 2016, doi: 10.1080/00914037.2016.1190930.
- [122] H. B. Chen *et al.*, "Fabrication and Properties of Irradiation-Cross-Linked Poly(vinyl alcohol)/Clay Aerogel Composites," *ACS Applied Materials and Interfaces*, vol. 6, no. 18, pp. 16227–16236, Sep. 2014, doi: 10.1021/AM504418W.
- [123] H. B. Chen, E. Hollinger, Y. Z. Wang, and D. A. Schiraldi, "Facile fabrication of poly(vinyl alcohol) gels and derivative aerogels," *Polymer (Guildf)*, vol. 55, no. 1, pp. 380–384, Jan. 2014, doi: 10.1016/J.POLYMER.2013.07.078.
- [124] C. B. Ma, B. Du, and E. Wang, "Self-Crosslink Method for a Straightforward Synthesis of Poly(Vinyl Alcohol)-Based Aerogel Assisted by Carbon Nanotube," *Advanced Functional Materials*, vol. 27, no. 10, p. 1604423, Mar. 2017, doi: 10.1002/ADFM.201604423.

- [125] H. Hu, H. Liu, D. Zhang, J. Wang, G. Qin, and X. Zhang, "pH and electromagnetic dual-remoted drug delivery based on bimodal superparamagnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Porous silica nanoparticles," *Engineered Science*, vol. 2, pp. 43–48, 2018, doi: 10.30919/ES8D136.
- [126] W. H. de Jong and P. J. A. Borm, "Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 3, no. 2, p. 133, 2008, doi: 10.2147/IJN.S596.
- [127] R. Scaffaro, L. Botta, A. Maio, M. C. Mistretta, and F. P. la Mantia, "Effect of Graphene Nanoplatelets on the Physical and Antimicrobial Properties of Biopolymer-Based Nanocomposites," *Materials 2016, Vol. 9, Page 351*, vol. 9, no. 5, p. 351, May 2016, doi: 10.3390/MA9050351.
- [128] R. Scaffaro, L. Botta, A. Maio, and G. Gallo, "PLA graphene nanoplatelets nanocomposites: Physical properties and release kinetics of an antimicrobial agent," *Composites Part B: Engineering*, vol. 109, pp. 138–146, Jan. 2017, doi: 10.1016/J.COMPOSITESB.2016.10.058.
- [129] T. Kaur, A. Thirugnanam, and K. Pramanik, "Effect of carboxylated graphene nanoplatelets on mechanical and in-vitro biological properties of polyvinyl alcohol nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering," *Materials Today Communications*, vol. 12, pp. 34–42, Sep. 2017, doi: 10.1016/J.MTCOMM.2017.06.004.
- [130] Y. Li, H. Porwal, Z. Huang, H. Zhang, E. Bilotti, and T. Peijs, "Enhanced Thermal and Electrical Properties of Polystyrene-Graphene Nanofibers via Electrospinning," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2016, 2016, doi: 10.1155/2016/4624976.
- [131] X. Lu, D. Zhu, X. Li, M. Li, Q. Chen, and Y. Qing, "Gelatin-derived N-doped hybrid carbon nanospheres with an adjustable porous structure for enhanced electromagnetic wave absorption," *Advanced Composites and Hybrid Materials*, vol. 4, no. 4, pp. 946–956, Dec. 2021, doi: 10.1007/S42114-021-00258-5/TABLES/1.
- [132] R. Scaffaro, A. Maio, L. Botta, E. F. Gulino, and D. Gulli, "Tunable release of Chlorhexidine from Polycaprolactone-based filaments containing graphene nanoplatelets," *European Polymer Journal*, vol. 110, pp. 221–232, Jan. 2019, doi: 10.1016/J.EURPOLYMJ.2018.11.031.
- [133] R. Niu, J. Gong, D. Xu, T. Tang, and Z. Y. Sun, "Influence of molecular weight of polymer matrix on the structure and rheological properties of graphene oxide/polydimethylsiloxane composites," *Polymer (Guildf)*, vol. 55, no. 21, pp. 5445–5453, Oct. 2014, doi:

10.1016/J.POLYMER.2014.08.056.

- [134] M. el Achaby, F. E. Arrakhiz, S. Vaudreuil, A. el Kacem Qaiss, M. Bousmina, and O. Fassi-Fehri, “Mechanical, thermal, and rheological properties of graphene-based polypropylene nanocomposites prepared by melt mixing,” *Polymer Composites*, vol. 33, no. 5, pp. 733–744, May 2012, doi: 10.1002/PC.22198.
- [135] R. M. Nezarati, M. B. Eifert, and E. Cosgriff-Hernandez, “Effects of Humidity and Solution Viscosity on Electrospun Fiber Morphology,” <https://home.liebertpub.com/tec>, vol. 19, no. 10, pp. 810–819, Apr. 2013, doi: 10.1089/TEN.TEC.2012.0671.
- [136] X. Wei, J. Cai, S. Lin, F. Li, and F. Tian, “Controlled release of monodisperse silver nanoparticles via in situ cross-linked polyvinyl alcohol as benign and antibacterial electrospun nanofibers,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 197, p. 111370, Jan. 2021, doi: 10.1016/J.COLSURFB.2020.111370.
- [137] J. Zhu *et al.*, “Facile and Green Strategy for Designing Ultralight, Flexible, and Multifunctional PVA Nanofiber-Based Aerogels,” *Advanced Sustainable Systems*, vol. 4, no. 4, Apr. 2020, doi: 10.1002/adsu.201900141.
- [138] Z. Wang *et al.*, “Effects of MWNT nanofillers on structures and properties of PVA electrospun nanofibres,” *Nanotechnology*, vol. 18, no. 22, p. 225605, May 2007, doi: 10.1088/0957-4484/18/22/225605.
- [139] J. Zhu *et al.*, “Facile and Green Strategy for Designing Ultralight, Flexible, and Multifunctional PVA Nanofiber-Based Aerogels,” *Advanced Sustainable Systems*, vol. 4, no. 4, p. 1900141, Apr. 2020, doi: 10.1002/ADSU.201900141.
- [140] X. Wei, J. Cai, S. Lin, F. Li, and F. Tian, “Controlled release of monodisperse silver nanoparticles via in situ cross-linked polyvinyl alcohol as benign and antibacterial electrospun nanofibers,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 197, p. 111370, Jan. 2021, doi: 10.1016/J.COLSURFB.2020.111370.
- [141] J. Voorneveld, A. Oosthuysen, T. Franz, P. Zilla, and D. Bezuidenhout, “Dual electrospinning with sacrificial fibers for engineered porosity and enhancement of tissue ingrowth,” *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, vol. 105, no. 6, pp. 1559–1572, Aug. 2017, doi: 10.1002/JBM.B.33695.

- [142] J. Hodge and C. Quint, “The improvement of cell infiltration in an electrospun scaffold with multiple synthetic biodegradable polymers using sacrificial PEO microparticles,” *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 107, no. 9, pp. 1954–1964, Sep. 2019, doi: 10.1002/JBM.A.36706.
- [143] R. Scaffaro, F. E. Gulino, and F. Lopresti, “Structure–property relationship and controlled drug release from multiphasic electrospun carvacrol-embedded polylactic acid/polyethylene glycol and polylactic acid/polyethylene oxide nanofiber mats;,” <https://doi.org/10.1177/1528083718801359>, vol. 49, no. 7, pp. 943–966, Oct. 2018, doi: 10.1177/1528083718801359.
- [144] C. Zhu *et al.*, “Enhanced Wettability and Thermal Stability of a Novel Polyethylene Terephthalate-Based Poly(Vinylidene Fluoride) Nanofiber Hybrid Membrane for the Separator of Lithium-Ion Batteries,” *ACS Applied Materials and Interfaces*, vol. 9, no. 31, pp. 26400–26406, Aug. 2017, doi: 10.1021/ACSAMI.7B06303.
- [145] X. Liu *et al.*, “In vivo wound healing and antibacterial performances of electrospun nanofibre membranes,” *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 94A, no. 2, pp. 499–508, Aug. 2010, doi: 10.1002/JBM.A.32718.
- [146] H. Wu *et al.*, “Biomimetic nanofiber patterns with controlled wettability,” *Soft Matter*, vol. 4, no. 12, pp. 2429–2433, Nov. 2008, doi: 10.1039/B805570J.
- [147] J. Gao, X. Song, X. Huang, L. Wang, B. Li, and H. Xue, “Facile preparation of polymer microspheres and fibers with a hollow core and porous shell for oil adsorption and oil/water separation,” *Applied Surface Science*, vol. 439, pp. 394–404, May 2018, doi: 10.1016/J.APSUSC.2018.01.013.
- [148] T. Dong, S. Cao, and G. Xu, “Highly porous oil sorbent based on hollow fibers as the interceptor for oil on static and running water,” *Journal of Hazardous Materials*, vol. 305, pp. 1–7, Mar. 2016, doi: 10.1016/J.JHAZMAT.2015.11.030.
- [149] “doi:10.1016/j.compositesa.2008.05.015 | Elsevier Enhanced Reader.” <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1359835X08001541?token=DEA987509760F368A714F65CA5146FF2127B67D7EAB3E349FA143CF859FCD30C2DFE8DE0E8A6104529FAB4A92F64E763&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220217091242> (accessed Feb. 17, 2022).

- [150] “Physical properties of green composites based on poly-lactic acid or Mater-Bi® filled with *Posidonia Oceanica* leaves | Elsevier Enhanced Reader.” <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1359835X18302525?token=C41270BEB2F65B76BDC74D3429E4CAF111A7F2FF53A255158FF0A8908D4BF0A1E8E7576C00D5FD9A821613EE213F4F29&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220217091222> (accessed Feb. 17, 2022).
- [151] “PLA based biocomposites reinforced with *Arundo donax* fillers | Elsevier Enhanced Reader.” <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0266353814003595?token=08E212CAB817F209C4E25EA6FC5790668D06F17BB77A6AAC52CD38BCF9B0CA3464ED61BFE4BD0DC85EE84045D18550CA&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220217091147> (accessed Feb. 17, 2022).
- [152] L. Botta, “New Polylactic Acid Composites Reinforced with Artichoke Fibers,” 2015, doi: 10.3390/ma8115422.
- [153] G. S. Mann, L. P. Singh, P. Kumar, and S. Singh, “Green composites: A review of processing technologies and recent applications:,” <https://doi.org/10.1177/0892705718816354>, vol. 33, no. 8, pp. 1145–1171, Dec. 2018, doi: 10.1177/0892705718816354.
- [154] A. K. Behera, S. Avancha, R. K. Basak, R. Sen, and B. Adhikari, “Fabrication and characterizations of biodegradable jute reinforced soy based green composites,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 88, no. 1, pp. 329–335, Mar. 2012, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2011.12.023.
- [155] K. Rafiee, H. Schmitt, D. Pleissner, G. Kaur, and S. K. Brar, “Biodegradable green composites: It’s never too late to mend,” *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, vol. 30, p. 100482, Aug. 2021, doi: 10.1016/J.COGSC.2021.100482.
- [156] M. Morreale, R. Scaffaro, A. Maio, F. L. M.-C. P. A. Applied, and undefined 2008, “Effect of adding wood flour to the physical properties of a biodegradable polymer,” *Elsevier*, Accessed: Feb. 17, 2022. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359835X07002801>
- [157] V. Fiore, L. Botta, R. Scaffaro, A. Valenza, and A. Pirrotta, “PLA based biocomposites reinforced with *Arundo donax* fillers,” *Composites Science and Technology*, vol. 105, pp. 110–117, Dec. 2014, doi: 10.1016/J.COMPSCITECH.2014.10.005.
- [158] D. M. Kalyon, A. Lawal, R. Yazici, P. Yaras, and S. Railkar, “Mathematical modeling and

experimental studies of twin-screw extrusion of filled polymers,” *Polymer Engineering & Science*, vol. 39, no. 6, pp. 1139–1151, Jun. 1999, doi: 10.1002/PEN.11501.

- [159] G. S. Ananthapadmanabha and V. Deshpande, “Influence of aspect ratio of fillers on the properties of acrylonitrile butadiene styrene composites,” *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 135, no. 11, p. 46023, Mar. 2018, doi: 10.1002/APP.46023.
- [160] A. Maio, R. Fucarino, R. Khatibi, S. Rosselli, M. Bruno, and R. Scaffaro, “A novel approach to prevent graphene oxide re-aggregation during the melt compounding with polymers,” *Composites Science and Technology*, vol. 119, pp. 131–137, Nov. 2015, doi: 10.1016/J.COMPSCITECH.2015.10.006.
- [161] R. Scaffaro, L. Botta, A. Maio, and G. Gallo, “PLA graphene nanoplatelets nanocomposites: Physical properties and release kinetics of an antimicrobial agent,” *Composites Part B: Engineering*, vol. 109, pp. 138–146, Jan. 2017, doi: 10.1016/J.COMPOSITESB.2016.10.058.
- [162] R. Scaffaro, L. Botta, A. Maio, M. C. Mistretta, and F. P. la Mantia, “Effect of Graphene Nanoplatelets on the Physical and Antimicrobial Properties of Biopolymer-Based Nanocomposites,” *Materials 2016, Vol. 9, Page 351*, vol. 9, no. 5, p. 351, May 2016, doi: 10.3390/MA9050351.
- [163] M. E. Malainine, M. Mahrouz, and A. Dufresne, “Lignocellulosic Flour from Cladodes of *Opuntia ficus-indica* Reinforced Poly(propylene) Composites,” *Macromolecular Materials and Engineering*, vol. 289, no. 10, pp. 855–863, Oct. 2004, doi: 10.1002/MAME.200400103.
- [164] M. Seggiani *et al.*, “New Bio-Composites Based on Polyhydroxyalkanoates and *Posidonia oceanica* Fibres for Applications in a Marine Environment,” *Materials 2017, Vol. 10, Page 326*, vol. 10, no. 4, p. 326, Mar. 2017, doi: 10.3390/MA10040326.
- [165] J. C. H. Affdl and J. L. Kardos, “The Halpin-Tsai equations: A review,” *Polymer Engineering & Science*, vol. 16, no. 5, pp. 344–352, May 1976, doi: 10.1002/PEN.760160512.
- [166] R. Scaffaro, A. Maio, E. F. Gulino, and B. Megna, “Structure-property relationship of PLA-*Opuntia Ficus Indica* biocomposites,” *Composites Part B: Engineering*, vol. 167, 2019, doi: 10.1016/j.compositesb.2018.12.025.
- [167] M. Morreale, R. Scaffaro, A. Maio, and F. P. la Mantia, “Effect of adding wood flour to the physical properties of a biodegradable polymer,” *Composites Part A: Applied Science and*

*Manufacturing*, vol. 39, no. 3, pp. 503–513, Mar. 2008, doi: 10.1016/J.COMPOSITESA.2007.12.002.

- [168] R. Scaffaro, A. Maio, M. Gammino, and F. P. la Mantia, “Effect of an organoclay on the photochemical transformations of a PBAT/PLA blend and morpho-chemical features of crosslinked networks,” *Polymer Degradation and Stability*, vol. 187, p. 109549, May 2021, doi: 10.1016/J.POLYMDEGRADSTAB.2021.109549.
- [169] R. Scaffaro, A. Maio, E. F. Gulino, and G. Pitarresi, “Lignocellulosic fillers and graphene nanoplatelets as hybrid reinforcement for polylactic acid: Effect on mechanical properties and degradability,” *Composites Science and Technology*, vol. 190, p. 108008, Apr. 2020, doi: 10.1016/J.COMPSCITECH.2020.108008.
- [170] M. A. Elsayy, K. H. Kim, J. W. Park, and A. Deep, “Hydrolytic degradation of polylactic acid (PLA) and its composites,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 79, pp. 1346–1352, Nov. 2017, doi: 10.1016/J.RSER.2017.05.143.
- [171] G. Gorrasi and R. Pantani, “Hydrolysis and Biodegradation of Poly(lactic acid),” *Advances in Polymer Science*, vol. 279, pp. 119–151, 2017, doi: 10.1007/12\_2016\_12.
- [172] L. Wu and J. Ding, “In vitro degradation of three-dimensional porous poly(d,l-lactide-co-glycolide) scaffolds for tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 25, no. 27, pp. 5821–5830, Dec. 2004, doi: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2004.01.038.
- [173] L. Lu *et al.*, “In vitro degradation of porous poly(l-lactic acid) foams,” *Biomaterials*, vol. 21, no. 15, pp. 1595–1605, Aug. 2000, doi: 10.1016/S0142-9612(00)00048-X.
- [174] T. Zhang, S. Zhou, X. Gao, Z. Yang, L. Sun, and D. Zhang, “A multi-scale method for modeling degradation of bioresorbable polyesters,” *Acta Biomaterialia*, vol. 50, pp. 462–475, Mar. 2017, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2016.12.046.
- [175] A. Gleadall, J. Pan, M. A. Kruff, and M. Kellomäki, “Degradation mechanisms of bioresorbable polyesters. Part 1. Effects of random scission, end scission and autocatalysis,” *Acta Biomaterialia*, vol. 10, no. 5, pp. 2223–2232, May 2014, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2013.12.039.
- [176] Y. Ratna Kumari, K. Ramanaiyah, A. v. Ratna Prasad, K. Hemachandra Reddy, S. Prasad Sanaka, and A. Kalyan Prudhvi, “Experimental investigation of water absorption behaviour of

sisal fiber reinforced polyester and sisal fiber reinforced poly lactic acid composites,” *Materials Today: Proceedings*, vol. 44, pp. 935–940, Jan. 2021, doi: 10.1016/J.MATPR.2020.11.002.

- [177] Y. Ratna Kumari, K. Ramanaiah, A. v. Ratna Prasad, K. Hemachandra Reddy, S. Prasad Sanaka, and A. Kalyan Prudhvi, “Experimental investigation of water absorption behaviour of sisal fiber reinforced polyester and sisal fiber reinforced poly lactic acid composites,” *Materials Today: Proceedings*, vol. 44, pp. 935–940, Jan. 2021, doi: 10.1016/J.MATPR.2020.11.002.
- [178] S. Lazzari, F. Codari, G. Storti, M. Morbidelli, and D. Moscatelli, “Modeling the pH-dependent PLA oligomer degradation kinetics,” *Polymer Degradation and Stability*, vol. 110, pp. 80–90, Dec. 2014, doi: 10.1016/J.POLYMDEGRADSTAB.2014.08.012.
- [179] S. Tejyan, N. K. Baliyan, V. K. Patel, A. Patnaik, and T. Singh, “Polymer green composites reinforced with natural fibers: A comparative study,” *Materials Today: Proceedings*, vol. 44, pp. 4767–4769, Jan. 2021, doi: 10.1016/J.MATPR.2020.10.971.
- [180] K. Rafiee, H. Schritt, D. Pleissner, G. Kaur, and S. K. Brar, “Biodegradable green composites: It’s never too late to mend,” *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, vol. 30, p. 100482, Aug. 2021, doi: 10.1016/J.COGSC.2021.100482.
- [181] P. Bordón, R. Paz, C. Peñalva, G. Vega, M. Monzón, and L. García, “Biodegradable Polymer Compounds Reinforced with Banana Fiber for the Production of Protective Bags for Banana Fruits in the Context of Circular Economy,” *Agronomy 2021, Vol. 11, Page 242*, vol. 11, no. 2, p. 242, Jan. 2021, doi: 10.3390/AGRONOMY11020242.
- [182] A. Squartini *et al.*, “*Rhizobium sullae* sp. nov. (formerly ‘*Rhizobium hedysari*’), the root-nodule microsymbiont of *Hedysarum coronarium* L.,” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 52, no. 4, pp. 1267–1276, Jul. 2002, doi: 10.1099/00207713-52-4-1267/CITE/REFWORKS.
- [183] A. Tava *et al.*, “Chemical Identification of Specialized Metabolites from *Sulla* (*Hedysarum coronarium* L.) Collected in Southern Italy,” *Molecules 2021, Vol. 26, Page 4606*, vol. 26, no. 15, p. 4606, Jul. 2021, doi: 10.3390/MOLECULES26154606.
- [184] G. Cicala, D. Giordano, C. Tosto, G. Filippone, A. Recca, and I. Blanco, “Polylactide (PLA) Filaments a Biobased Solution for Additive Manufacturing: Correlating Rheology and

Thermomechanical Properties with Printing Quality,” *Materials* 2018, Vol. 11, Page 1191, vol. 11, no. 7, p. 1191, Jul. 2018, doi: 10.3390/MA11071191.

- [185] M. C. Mistretta, L. Botta, R. Arrigo, F. Leto, G. Malucelli, and F. P. la Mantia, “Bionanocomposite Blown Films: Insights on the Rheological and Mechanical Behavior,” *Polymers* 2021, Vol. 13, Page 1167, vol. 13, no. 7, p. 1167, Apr. 2021, doi: 10.3390/POLYM13071167.
- [186] M. Xiang *et al.*, “Polymer Composites Completely Derived from Waste: The Crystalline Structure and the Mechanical Enhancement Effect,” *ACS Applied Polymer Materials*, vol. 3, no. 7, pp. 3679–3684, Jul. 2021, doi: 10.1021/ACSAPM.1C00696.
- [187] K. L. Alvarez C., R. F. Lagos C., and M. Aizpun, “Investigating the influence of infill percentage on the mechanical properties of fused deposition modelled ABS parts,” *Ingeniería e Investigación*, vol. 36, no. 3, pp. 110–116, 2016, doi: 10.15446/ING.INVESTIG.V36N3.56610.
- [188] N. Royan *et al.*, “Current state and challenges of natural fibre-reinforced polymer composites as feeder in fdm-based 3d printing,” *mdpi.com*, vol. 13, no. 14, Jul. 2021, doi: 10.3390/polym13142289.
- [189] P. Wang *et al.*, “Preparation of short CF/GF reinforced PEEK composite filaments and their comprehensive properties evaluation for FDM-3D printing,” *Composites Part B: Engineering*, vol. 198, p. 108175, Oct. 2020, doi: 10.1016/J.COMPOSITESB.2020.108175.
- [190] A. Jarosiewicz and M. Tomaszewska, “Controlled-Release NPK Fertilizer Encapsulated by Polymeric Membranes,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51, no. 2, pp. 413–417, Jan. 2002, doi: 10.1021/JF020800O.
- [191] P. Vejan, T. Khadiran, R. Abdullah, and N. Ahmad, “Controlled release fertilizer: A review on developments, applications and potential in agriculture,” *Journal of Controlled Release*, vol. 339, pp. 321–334, Nov. 2021, doi: 10.1016/J.JCONREL.2021.10.003.
- [192] L. R. Sigmon *et al.*, “Biodegradable Polymer Nanocomposites Provide Effective Delivery and Reduce Phosphorus Loss during Plant Growth,” *ACS Agricultural Science and Technology*, vol. 2021, pp. 529–539, 2021, doi: 10.1021/ACSAGSCITECH.1C00149/SUPPL\_FILE/AS1C00149\_SI\_001.PDF.

- [193] J. de L. Souza, C. G. Chiaregato, and R. Faez, “Green Composite Based on PHB and Montmorillonite for KNO<sub>3</sub> and NPK Delivery System,” *Journal of Polymers and the Environment*, vol. 26, no. 2, pp. 670–679, Feb. 2018, doi: 10.1007/S10924-017-0979-4/TABLES/4.
- [194] H. L. Boudjema, H. Bendaikha, and U. Maschke, “Green composites based on Atriplex halimus fibers and PLA matrix,” *Journal of Polymer Engineering*, vol. 40, no. 8, pp. 693–702, Sep. 2020, doi: 10.1515/POLYENG-2020-0068/PDF.
- [195] P. Bordón *et al.*, “Biodegradable Polymer Compounds Reinforced with Banana Fiber for the Production of Protective Bags for Banana Fruits in the Context of Circular Economy,” *mdpi.com*, 2021, doi: 10.3390/agronomy11020242.
- [196] R. Scaffaro, A. Maio, and E. F. Gulino, “Hydrolytic degradation of PLA/Posidonia Oceanica green composites: A simple model based on starting morpho-chemical properties,” *Composites Science and Technology*, vol. 213, p. 108930, Sep. 2021, doi: 10.1016/J.COMPSCITECH.2021.108930.
- [197] N. R. Rajendran Royan, J. S. Leong, W. N. Chan, J. R. Tan, and Z. S. B. Shamsuddin, “Current State and Challenges of Natural Fibre-Reinforced Polymer Composites as Feeder in FDM-Based 3D Printing,” *Polymers 2021, Vol. 13, Page 2289*, vol. 13, no. 14, p. 2289, Jul. 2021, doi: 10.3390/POLYM13142289.
- [198] K. L. Alvarez C., R. F. Lagos C., and M. Aizpun, “Investigating the influence of infill percentage on the mechanical properties of fused deposition modelled ABS parts,” *Ingeniería e Investigación*, vol. 36, no. 3, pp. 110–116, 2016, doi: 10.15446/ING.INVESTIG.V36N3.56610.
- [199] R. Scaffaro, A. Maio, E. F. Gulino, G. Alaimo, and M. Morreale, “Green Composites Based on PLA and Agricultural or Marine Waste Prepared by FDM,” *Polymers 2021, Vol. 13, Page 1361*, vol. 13, no. 9, p. 1361, Apr. 2021, doi: 10.3390/POLYM13091361.
- [200] U. Modi and S. Prakash, “Wettability of 3D printed polylactic acid (PLA) parts,” *AIP Conference Proceedings*, vol. 2148, no. 1, p. 030052, Sep. 2019, doi: 10.1063/1.5123974.
- [201] A. Haryńska *et al.*, “A comprehensive evaluation of flexible FDM/FFF 3D printing filament as a potential material in medical application,” *European Polymer Journal*, vol. 138, p. 109958, Sep. 2020, doi: 10.1016/J.EURPOLYMJ.2020.109958.

- [202] A. le Duigou, M. Castro, R. Bevan, and N. Martin, “3D printing of wood fibre biocomposites: From mechanical to actuation functionality,” *Materials & Design*, vol. 96, pp. 106–114, Apr. 2016, doi: 10.1016/J.MATDES.2016.02.018.
- [203] Y. C. Chen and Y. H. Chen, “Thermo and pH-responsive methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose hydrogels containing K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> for water retention and a controlled-release water-soluble fertilizer,” *Science of The Total Environment*, vol. 655, pp. 958–967, Mar. 2019, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2018.11.264.
- [204] S. Noppakundilokrat, N. Pheatcharat, and S. Kiatkamjornwong, “Multilayer-coated NPK compound fertilizer hydrogel with controlled nutrient release and water absorbency,” *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 132, no. 2, p. 41249, Jan. 2015, doi: 10.1002/APP.41249.
- [205] P. Costa and J. M. Sousa Lobo, “Modeling and comparison of dissolution profiles,” *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 13, no. 2, pp. 123–133, May 2001, doi: 10.1016/S0928-0987(01)00095-1.
- [206] P. L. Ritger and N. A. Peppas, “A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices,” *Journal of Controlled Release*, vol. 5, no. 1, pp. 37–42, Jun. 1987, doi: 10.1016/0168-3659(87)90035-6.