



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN CHIMICA

TESI DI LAUREA MAGISTRALE

**Studio sull'utilizzo di nanotubi di carbonio funzionalizzati per la
rimozione di contaminanti organici da matrici acquose**

Relatore: Prof. Enzo Menna

Correlatrice: Prof.ssa. Ester Marotta

Controrelatore: Prof. Paolo Pastore

Laureanda: Benazzato Stefania

Anno Accademico
2021/2022

Indice

Acronimi e abbreviazioni	V
Riassunto.....	VII
Abstract.....	IX
1. Introduzione	1
1.1 Nanotubi di carbonio.....	1
1.1.1 Struttura e proprietà chimico – fisiche dei nanotubi di carbonio	1
1.1.2 Reattività dei nanotubi di carbonio	4
1.1.3 Funzionalizzazione delle estremità dei nanotubi di carbonio	6
1.1.4 Funzionalizzazione delle pareti dei nanotubi di carbonio	7
1.1.5 Tecniche di caratterizzazione dei nanotubi di carbonio	9
1.2 Idrogel nanocompositi con nanotubi di carbonio	14
1.2.1 Idrogel di alginato di calcio	15
1.3 Inquinamento delle acque	17
1.3.1 Inquinamento da inquinanti emergenti.....	17
1.3.2 Utilizzo dell’adsorbimento per la rimozione di inquinanti emergenti.	19
2. Scopo della tesi	23
3. Risultati e discussione	25
3.1 Funzionalizzazione dei nanotubi di carbonio tramite reazione di Tour ...	25
3.2 Esperimenti di adsorbimento.....	31
3.2.1 Esperimenti di adsorbimento di BM su MWCNT e MWCNT-S.....	33
3.2.2 Esperimenti di adsorbimento di CLB su MWCNT e MWCNT-S.....	38
3.2.3 Esperimenti di adsorbimento di CBZ su MWCNT e MWCNT-S.....	43
3.2.4 Esperimenti di adsorbimento di CLB su alginato di calcio e materiale nanocomposito	47
4. Conclusioni e prospettive future.....	51
5. Parte Sperimentale	53
5.1 Solventi e reagenti commerciali.....	53
5.2 Funzionalizzazione dei nanotubi	54
5.2.1 Funzionalizzazione attraverso reazione di Tour	54
5.3 Prove di adsorbimento	55
5.3.1 Preparazione del tampone fosfato (3 mM, pH 7).....	55

5.3.2 Preparazione della soluzione concentrata di blu di metilene.....	55
5.3.3 Preparazione della soluzione concentrata di clenbuterolo.....	56
5.3.4 Preparazione della soluzione concentrata di carbamazepina.....	56
5.3.5 Preparazione di sfere di alginato di calcio.....	56
5.3.6 Preparazione del materiale nanocomposito	56
5.3.7 Esperimenti di adsorbimento di blu di metilene.....	57
5.3.8 Esperimenti di adsorbimento di clenbuterolo su nanotubi di carbonio	57
5.3.9 Esperimenti di adsorbimento di clenbuterolo su alginato di calcio.....	59
5.3.10 Esperimenti di adsorbimento di clenbuterolo su materiale nanocomposito.....	59
5.3.11 Esperimenti di adsorbimento di carbamazepina	59
5.4 Strumenti e procedure utilizzate	61
5.4.1 Sonicazione.....	61
5.4.2 Centrifugazione	61
5.4.3 Caratterizzazione di MWCNT-S.....	61
5.4.4 Dinamic Light Scattering (DLS)	62
5.4.5 Potenziale Z	62
5.4.6 Spettroscopia UV-visibile-NIR.....	62
5.4.7 Analisi Termogravimetrica (TGA)	63
5.4.8 Filtrazione	63
5.4.9 Misure di pH	63
5.4.10 Agitatore orbitale	63
5.4.11 HPLC-UV.....	64
6. Appendice	65
6.1 Caratterizzazioni di MWCNT-S.....	65
6.2 Rette di calibrazione	67
6.2.1 Rette di calibrazione per blu di metilene	67
6.2.2 Rette di calibrazione per clenbuterolo.....	69
6.2.3 Rette di calibrazione per carbamazepina.....	71
Bibliografia	73

Acronimi e abbreviazioni

MW	Peso molecolare
CNT	Nanotubi di carbonio
SWCNT	Nanotubi di carbonio a parete singola
MWCNT	Nanotubi di carbonio a parete multipla
MWCNT-S	Nanotubi di carbonio a parete multipla funzionalizzati con gruppi benzensolfonato
MWCNT-N	Nanotubi di carbonio a parete multipla funzionalizzati con gruppi N,N,N-trimetilamminobenzene
CA	Alginato di calcio
PC	Policarbonato
BM	Blu di metilene
CLB	Clenbuterolo
CBZ	Carbamazepina
HPLC	Cromatografia liquida ad alta prestazione
TGA	Analisi termogravimetrica
DLS	Dinamic Light Scattering
PdI	Indice di polidispersione
EDL	Doppio Strato Elettrico
EC	Contaminanti emergenti
EDA	Elettron donatore-accettore

Riassunto

Negli ultimi anni è stata rilevata la presenza nelle acque di alcune sostanze, dette contaminanti emergenti, potenzialmente pericolose per la salute umana e per l'ambiente. Tali sostanze appartengono a diverse categorie quali prodotti farmaceutici, pesticidi di nuova generazione, prodotti per la cura personale, ritardanti di fiamma ecc.

Attualmente non è presente una legislazione che ne stabilisca un quantitativo limite oltre il quale tali inquinanti siano considerati dannosi. Il controllo dei contaminanti emergenti è però importante per il mantenimento della salute umana e degli ecosistemi. Tuttavia, esso è complicato dal fatto che la loro presenza è riscontrata con difficoltà a causa della loro bassa concentrazione e dalla mancanza di metodi di identificazione adeguati.

Molti inquinanti emergenti sono anche refrattari ai metodi tradizionali di trattamento delle acque, per cui la loro rimozione necessita di uno stadio di trattamento aggiuntivo. Tra i differenti metodi che sono stati proposti per la rimozione degli inquinanti emergenti è particolarmente promettente l'adsorbimento su materiali carboniosi. In particolare, i nanotubi di carbonio vengono utilizzati per le loro eccezionali proprietà meccaniche, termiche e chimico-fisiche e per la loro elevata area superficiale. I nanotubi di carbonio offrono inoltre la possibilità di introdurre modificazioni superficiali con il fine di aumentare la loro disperdibilità in acqua e di modulare le interazioni con le molecole con cui vengono a contatto.

In questo lavoro di Tesi è stata introdotta una funzionalizzazione sulla superficie di nanotubi di carbonio a parete multipla (MWCNT). I derivati ottenuti sono stati caratterizzati attraverso analisi termogravimetrica (TGA), spettroscopia UV-Vis-NIR, Dinamic Light Scattering (DLS) e potenziale Zeta. Successivamente è stata testata l'efficacia dei nanotubi di carbonio funzionalizzati ottenuti per la rimozione di alcuni inquinanti emergenti appartenenti alla categoria dei farmaci e dei coloranti.

La capacità dei nanotubi di carbonio di rimuovere inquinanti acquosi attraverso l'adsorbimento può essere migliorata incorporandoli in matrici porose. Si

costituiscono in tal modo materiali nanocompositi in cui le proprietà peculiari dei nanotubi di carbonio si combinano con quelle del materiale in cui vengono introdotti. Nell'ambito di questa Tesi è stata quindi esplorata la possibilità di incorporare i nanotubi di carbonio all'interno di un idrogel poroso di alginato di calcio, in modo da ottenere un materiale utile alla rimozione degli inquinanti testati.

Abstract

In recent years, the presence in water of some substances, called emerging contaminants, potentially dangerous for human health and the environment, has been detected. These substances belong to different categories such as pharmaceutical, new generation pesticides, personal care products, flame retardants etc.

Nowadays there is no legislation that establishes threshold values beyond which these pollutants are considered harmful. But the control of emerging pollutants is important for the maintenance of human health and ecosystems. However, it is complicated by the fact that their presence is difficult to detect due to their low concentration and the lack of adequate identification methods.

Many emerging contaminants are refractory to the traditional water treatment methods, thus their removal needs an additional treatment step. Among the various methods that have been proposed for the removal of emerging pollutants, adsorption on carbonaceous materials is particularly promising. In particular, carbon nanotubes are used for their exceptional mechanical, thermal and chemical-physical properties and for their high surface area. Carbon nanotubes also offer the possibility of introducing surface modifications with the aim of increasing their dispersibility in water and modulating the possibility of interaction with molecules with which they come in contact.

In this Thesis work a functionalization on the surface of walled carbon nanotubes (MWCNT) was introduced. The derivatives obtained were analyzed through thermogravimetry (TGA), UV-Vis-NIR spectroscopy, Dinamic Light Scattering (DLS) and Zeta potential. Subsequently, the effectiveness of functionalized carbon nanotubes produced for the removal of some emerging pollutants belonging to the categories of drugs and dyes was tested.

The capability of carbon nanotubes for the removal of aqueous pollutants can be enhanced by the incorporation into porous matrices resulting in the creation of nanocomposites. Furthermore, the peculiar properties of carbon nanotubes are combined with those of the material they are introduced into.

As part of this Thesis, the possibility of incorporating carbon nanotubes into a porous calcium alginate hydrogel was therefore explored, to obtain a material useful for the removal of the tested pollutants.

1. Introduzione

1.1 Nanotubi di carbonio

In seguito alla scoperta dei fullereni nel 1985¹, per cui fu assegnato il Premio Nobel per la Chimica nel 1996, è iniziata una intensa ricerca sulle nanostrutture a base di carbonio. La scoperta dei nanotubi di carbonio è strettamente correlata allo sviluppo di un processo per la produzione di fullereni in quantità macroscopiche. Tale tecnologia prevede la produzione di una scarica elettrica tra due elettrodi di grafite in atmosfera inerte, con produzione di carbonio atomico in fase gas che condensa in varie forme di carbonio. Tra i prodotti oltre ai fullereni è stata rilevata la presenza di forme tubulari di carbonio grafiteo: i nanotubi di carbonio.²

I nanotubi di carbonio sono materiali non omogenei con lunghezze e diametri molto diversi: possono raggiungere un rapporto diametro lunghezza pari a 1:28000 e hanno strutture differenti.

Essi hanno attratto la comunità scientifica per le loro peculiari proprietà meccaniche, elettriche, chimico – fisiche e strutturali. Hanno trovato infatti un utilizzo in ambito medico, in dispositivi elettrici, nella scienza dei materiali, per l'adsorbimento di inquinanti e in molto altro.

In questo paragrafo verranno descritte le caratteristiche strutturali dei nanotubi di carbonio, le loro proprietà chimico – fisiche, la loro reattività e i principali metodi di funzionalizzazione e caratterizzazione.

1.1.1 Struttura e proprietà chimico – fisiche dei nanotubi di carbonio

I nanotubi di carbonio possono essere visualizzati come un foglio di grafene avvolto a costituire una struttura tubolare. Il grafene è una struttura bidimensionale data da un reticolo di carboni ibridati sp^2 arrangiati a costituire degli esagoni.³

Le proprietà dei nanotubi di carbonio dipendono dalle loro dimensioni, quindi dal diametro e dalla lunghezza, ma anche dalla modalità con cui viene idealmente avvolto il singolo foglio di grafene per costituire il nanotubo.

I nanotubi di carbonio possono essere a parete singola (SWCNT) oppure a parete multipla (MWCNT), quest'ultimi sono composti da strati concentrici di SWCNT (*Figura 1.1*).

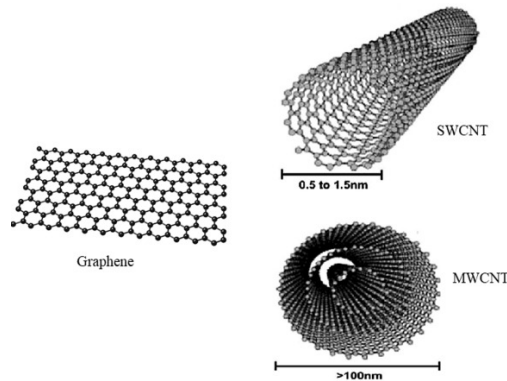


Figura 1.1. Rappresentazione di un foglio di grafene, di un nanotubo di carbonio a parete singola (SWCNT) e di un nanotubo di carbonio a parete multipla (MWCNT).⁴

I nanotubi di carbonio hanno lunghezze che variano dalle decine di nanometri ai micrometri e diametri che dipendono dal fatto abbiano una singola parete o pareti multiple. I SWCNT hanno diametri compresi tra i 0.4 e 2 nm, mentre MWCNT hanno diametro compreso tra 2 e 100 nm.⁵

In base alla direzione di avvolgimento del foglio di grafene, si ottengono nanotubi di carbonio con diversi diametri ed elicità. L'elicità di un nanotubo si definisce attraverso il vettore chirale \vec{C}_h e l'angolo chirale θ . In *Figura 1.2* è possibile visualizzare un ideale foglio di grafene e il vettore chirale; un nanotubo di un certo diametro si ottiene avvolgendo la sezione di grafene delimitata dalle linee tratteggiate nella direzione che va dalla coda del vettore chirale alla testa.

Il vettore chirale può essere definito dalla seguente equazione:

$$\vec{C}_h = n \vec{a}_1 + m \vec{a}_2$$

dove (m, n) sono numeri interi che definiscono la posizione di un atomo di carbonio lungo il reticolo esagonale, mentre \vec{a}_1 e \vec{a}_2 sono versori unitari. L'angolo chirale indica la torsione del nanotubo, e può essere ricavato in base ai valori dei coefficienti m e n:⁶

$$\theta = \tan^{-1} \left(\frac{\sqrt{3}n}{2m + n} \right)$$

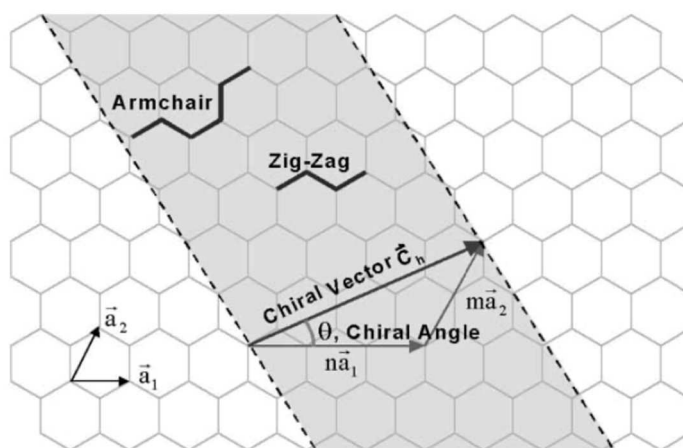


Figura 1.2. Rappresentazione di un foglio di grafene e del vettore chirale che definisce la direzione di avvolgimento per la formazione di un CNT.⁴

Ci sono due valori limite dell'angolo chirale: 0° e 30° . Se l'angolo chirale è di 0° si forma un nanotubo con struttura a zig-zag; se è di 30° si forma un nanotubo con struttura armchair, mentre per valori dell'angolo chirale compresi tra 0° e 30° si formano nanotubi definiti "chirali" (Figura 1.3).

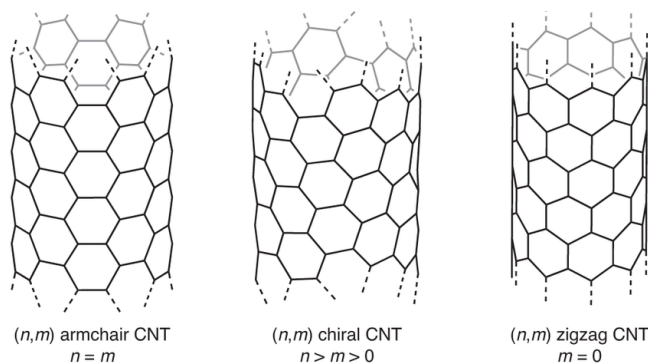


Figura 1.3. Rappresentazione di nanotubi di carbonio con struttura armchair, chiral e zig-zag⁷

L'elicità dei nanotubi di carbonio influenza soprattutto le loro proprietà elettroniche. Mentre la grafite è considerata un materiale con caratteristiche semimetalliche, i nanotubi di carbonio possono essere sia metallici sia semiconduttori, in base alla loro elicità.⁶

Noti i coefficienti m e n è quindi possibile prevedere il diametro e la struttura del corrispondente nanotubo di carbonio, e di conseguenza anche il suo carattere metallico o semimetallico. Questo è però solo un modello teorico. In un campione reale non si è in grado né di distinguere né di separare nanotubi con proprietà

differenti, si trovano miscelati tra loro e fortemente aggregati a causa delle forze attrattive di van der Waals che si esercitano.⁸

1.1.2 Reattività dei nanotubi di carbonio

I nanotubi di carbonio presentano eccezionali proprietà chimico-fisiche, elettroniche e meccaniche. Il loro utilizzo è però limitato dal fatto che sono fortemente aggregati. La modificazione chimica dei nanotubi di carbonio consente di agire su questo aspetto, rendendo i CNT maggiormente disperdibili e aprendo la strada a una serie di applicazioni.

Un SWCNT ideale è privo di gruppi funzionali, è quindi una macromolecola cilindrica aromatica chimicamente inerte. Il sistema aromatico dei nanotubi di carbonio è però sottoposto a una curvatura, rispetto a un foglio di grafene è quindi maggiormente reattivo. I carboni sp^2 hanno la loro massima stabilità in una configurazione planare, nei nanotubi di carbonio gli orbitali sp^2 sono costretti a una distorsione dalla planarità che induce una tensione. La distorsione dalla planarità è quantificata con l'angolo di piramidalizzazione (*Figura 1.4*):

$$\theta_p = \theta_{\sigma\pi} - 90^\circ$$

Dove $\theta_{\sigma\pi}$ è l'angolo tra l'asse dell'orbitale p e i legami σ . Per un orbitale sp^2 l'angolo di piramidalizzazione (θ_p) è pari a 0° , mentre per un orbitale sp^3 θ_p è pari a 19.5° .

Un secondo fattore che contribuisce alla reattività dei nanotubi di carbonio è il disallineamento degli orbitali p (*Figura 1.4*). La curvatura nei nanotubi di carbonio induce un disallineamento degli orbitali p di alcuni legami carbonio-carbonio, comportando un aumento di reattività in alcuni punti.⁹

Per descrivere la reattività è utile considerare due regioni diverse del nanotubo: le estremità e le pareti. Le estremità di SWCNT sono semisfere fullereniche, pertanto hanno forma sferica e questo comporta che il contributo alla reattività da parte del disallineamento sia nullo, è però maggiore il contributo dell'angolo di piramidalizzazione.

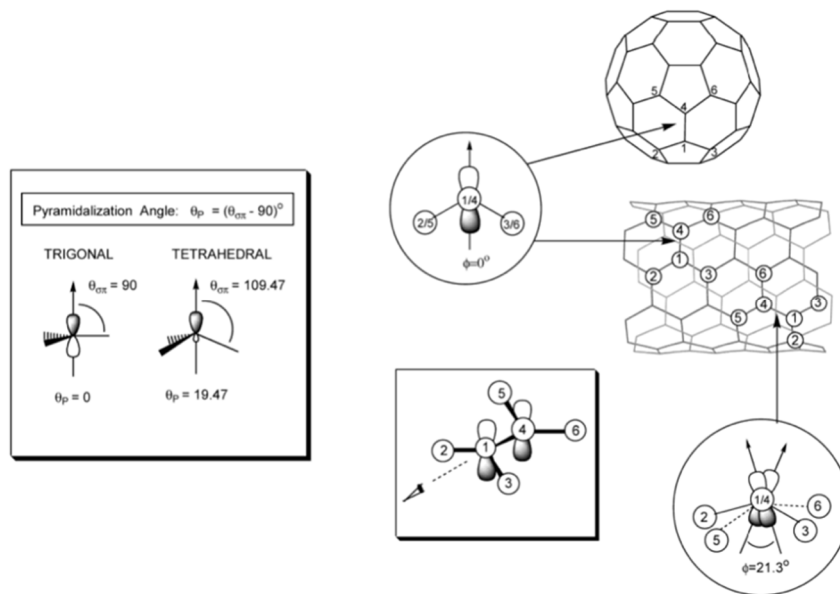


Figura 1.4. Rappresentazione dell'angolo di piramidizzazione e del disallineamento degli orbitali p.⁹

Le pareti dei nanotubi di carbonio hanno simmetria cilindrica; pertanto, il contributo dell'angolo di piramidizzazione alla reattività è inferiore rispetto al contributo del disallineamento degli orbitali p. In generale, sia la piramidizzazione sia il disallineamento danno un contributo alla reattività, differente in base alla zona dei nanotubi di carbonio che si sta considerando. Le estremità fullereniche dei nanotubi di carbonio sono le parti più reattive.⁹

Anche il diametro dei nanotubi ha una influenza sulla loro reattività. Nanotubi con un diametro più piccolo presentano un maggiore angolo di piramidizzazione, di conseguenza si è indotti a pensare che questo comporti una maggiore reattività. Allo stesso tempo però un diametro minore implica un aumento delle interazioni di van der Waals, e quindi la formazione di aggregati più stabili. L'aggregazione limita l'accesso dei reagenti alle pareti laterali dei nanotubi comportando complessivamente una decrescita della reattività.¹⁰

I nanotubi di carbonio possono essere funzionalizzati in modo non covalente oppure in modo covalente. La funzionalizzazione non covalente avviene tipicamente tramite l'interazione $\pi - \pi$ tra molecole con un sistema aromatico e la superficie dei nanotubi di carbonio e lascia intatta la struttura e la morfologia dei nanotubi di carbonio. La funzionalizzazione covalente altera la struttura dei nanotubi di carbonio,

comportando la conversione dei carboni in cui viene introdotta la funzionalizzazione da sp^2 a sp^3 . La funzionalizzazione covalente è fondamentale per contrastare l'aggregazione dei nanotubi di carbonio, contribuisce all'aumento della solubilità e della disperdibilità dei nanotubi.

La funzionalizzazione covalente dei nanotubi di carbonio può riguardare le estremità fullereniche dei nanotubi, oppure le pareti.

1.1.3 Funzionalizzazione delle estremità dei nanotubi di carbonio

La funzionalizzazione alle estremità dei nanotubi di carbonio è stata sviluppata a partire dai metodi di purificazione dei nanotubi di carbonio.

I metodi di sintesi dei nanotubi di carbonio comportano la presenza di impurezze metalliche e forme di carbonio amorfo nel prodotto; è necessaria quindi una purificazione che generalmente avviene tramite metodi ossidativi.

Le reazioni di ossidazione vengono condotte con diversi agenti ossidanti quali: acido nitrico, acido solforico, acqua ossigenata; e comportano l'introduzione di gruppi carbossilici sui nanotubi di carbonio, principalmente alle estremità ma anche sulle pareti. L'introduzione di gruppi carbossilici tramite procedure ossidative dà accesso ad un ampio numero di funzionalizzazioni introducibili su CNT che sfruttano la chimica del gruppo carbossilico (Figura 1.5).¹¹

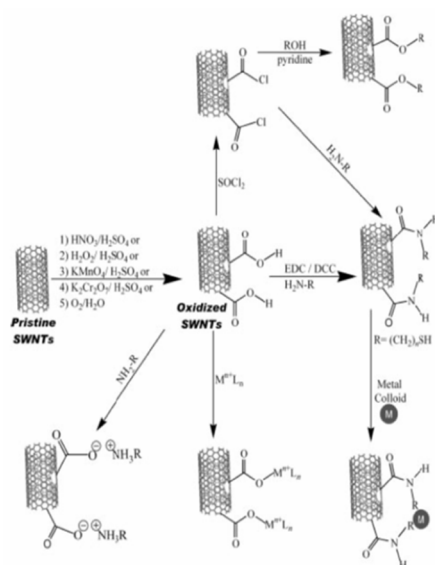


Figura 1.5. Esempi di possibili reazioni che sfruttano la chimica del gruppo carbossilico per l'introduzione di gruppi funzionali su CNT.¹²

Comunemente le funzioni carbossiliche sui nanotubi di carbonio vengono attivate utilizzando cloruro di tionile oppure reagenti di coupling come dicicloesilcarbodiimmide (DCC). In seguito, il gruppo carbossilico attivato viene fatto reagire tipicamente con ammine o alcoli, in modo da introdurre nuovi gruppi funzionali su CNT.⁸

1.1.4 Funzionalizzazione delle pareti dei nanotubi di carbonio

Esistono molte reazioni sfruttabili per la funzionalizzazione della parete dei nanotubi di carbonio: fluorurazione, addizione di radicali alchilici perfluorurati, addizione di carbeni nucleofili, cicloaddizioni di carbeni e nitreni.⁸ Sono sfruttabili anche reazioni tipiche della chimica dei fullereni come cicloaddizioni dipolari di azidi azometiniche¹³ e la reazione di ciclopropanazione di Bingel¹⁴. In *Figura 1.6* è riportata una rappresentazione schematica di tali reazioni.

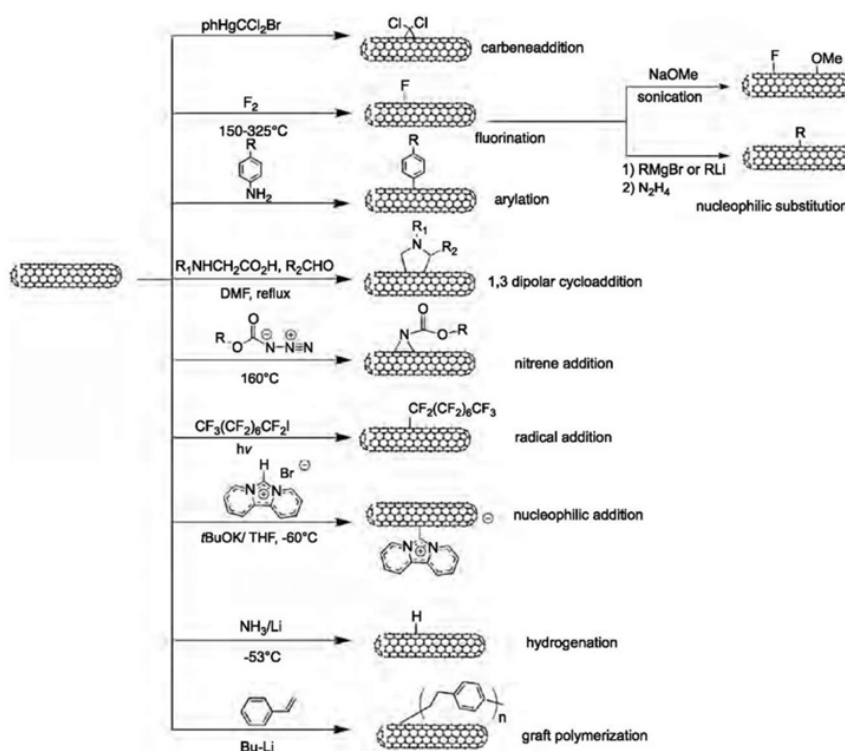


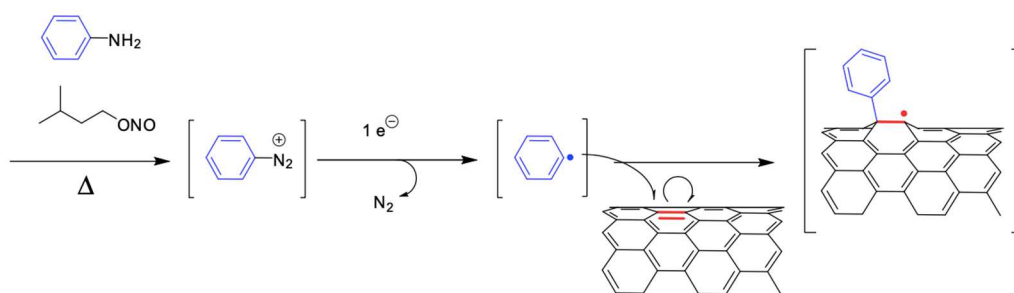
Figura 1.6. Esempi di possibili reazioni di funzionalizzazione delle pareti di CNT.¹⁵

In questo lavoro di Tesi per la funzionalizzazione dei nanotubi di carbonio si è scelta la reazione di Tour, che prende il nome dallo scienziato che per la prima volta la scoprì

nel 2001.¹⁶ La reazione di Tour è uno dei metodi di funzionalizzazione più utilizzati per i nanotubi di carbonio, perché consente di introdurre una vasta gamma di residui (scegliendo opportunamente una anilina sostituita in para), è veloce, si ottiene un buon grado di funzionalizzazione e avviene con condizioni di reazione moderate.

Originariamente tale reazione prevedeva l'isolamento di un sale di diazonio generato a partire da un precursore anilino, seguito dalla sua riduzione per via elettrochimica con generazione di un radicale arilico che può attaccarsi alla superficie di CNT. I sali di diazonio isolati sono però altamente instabili e potenzialmente pericolosi. La reazione di Tour è stata in seguito condotta sfruttando procedure alternative più sicure che prevedono la generazione in situ di sali di diazonio, utilizzando isopentilnitrito o nitrito di sodio come agenti di diazotazione.^{17,18}

Il meccanismo della reazione di Tour (con generazione in situ dei sali di diazonio) non è ancora noto con precisione, tuttavia si ritiene che preveda la formazione del sale di diazonio per reazione tra il nitrito utilizzato e l'anilina para sostituita. Il sale di diazonio verrebbe poi ridotto ricevendo un elettrone dal nanotubo di carbonio, liberando azoto, per formare un radicale arilico che può attaccare il sistema aromatico del nanotubo di carbonio, legandosi covalentemente.¹⁹ In *Figura 1.7* è riportata una rappresentazione schematica del meccanismo della reazione di Tour.



*Figura 1.7. Meccanismo proposto per la reazione di Tour.*²⁰

È fondamentale il controllo delle condizioni sperimentali e dei rapporti molari tra reagenti. L'utilizzo di un eccesso dei precursori del sale di diazonio può portare alla formazione di ramificazioni sui nanotubi di carbonio chiamate "nanobrushes". Tali ramificazioni si costituiscono perché anche il sistema aromatico delle

funzionalizzazioni introdotte può reagire con i radicali arilici tramite sostituzione omolitica aromatica o tramite coupling biarilico.²⁰

1.1.5 Tecniche di caratterizzazione dei nanotubi di carbonio

1.1.5.1 Analisi termogravimetrica (TGA)

L'analisi termogravimetrica misura la perdita di peso di un campione sottoposto ad un programma di temperature prestabilito. Può essere condotta sia in aria sia in atmosfera inerte (generalmente di N₂). Il risultato dell'analisi termogravimetrica è il termogramma: un grafico in cui il peso (asse y) del campione è riportato in funzione della temperatura (asse x). Il peso può essere riportato come percentuale oppure come valore assoluto. C'è anche la possibilità di aggiungere un secondo asse y che riporta la derivata del peso, e serve principalmente a visualizzare la temperatura a cui si colloca la perdita di peso.

L'analisi termogravimetrica dei nanotubi di carbonio consente di visualizzare non solo la decomposizione della nanostruttura, ma anche quella dei gruppi funzionali eventualmente introdotti.

I nanotubi hanno una notevole stabilità termica a causa della loro struttura; infatti, degradano in aria a temperature superiori ai 500 °C. L'analisi termogravimetrica di un nanotubo non funzionalizzato mostrerà dunque una sola perdita di peso, corrispondente alla degradazione della nanostruttura. Nel caso di derivati funzionalizzati di nanotubi di carbonio è invece possibile distinguere la perdita di peso dovuta ai gruppi funzionali e quella dovuta alla nanostruttura: generalmente la perdita di peso associata ai gruppi funzionali si colloca a temperature inferiori rispetto alla temperatura a cui si verifica la degradazione di CNT (*Figura 1.8*).

L'analisi termogravimetrica può essere utilizzata per calcolare il grado di funzionalizzazione di nanotubi di carbonio.²¹ Il grado di funzionalizzazione è definito come il rapporto tra le moli di gruppo funzionale e le moli di carbonio del nanotubo:

$$FD = \frac{n_{FG}}{n_C}$$

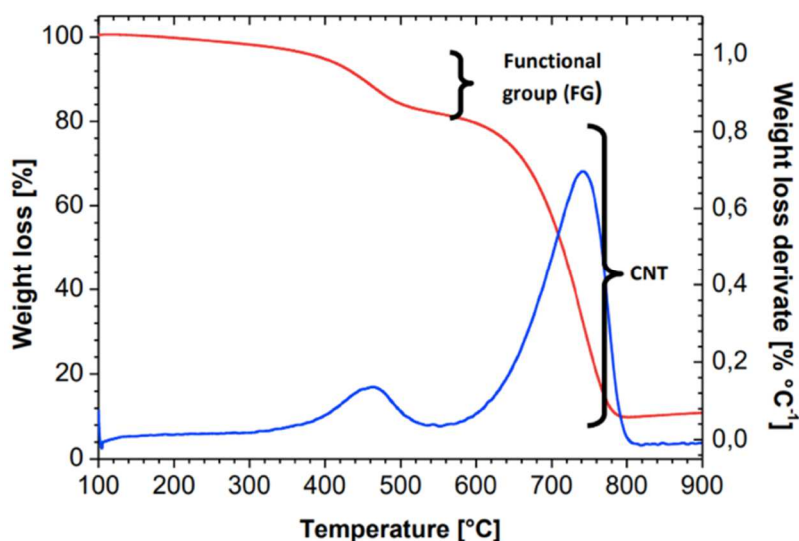


Figura 1.8. Esempio di un termogramma ottenibile per MWCNT funzionalizzati (registrato in aria).

Le moli di gruppo funzionale (n_{FG}) si ricavano dividendo la perdita di peso dovuta al gruppo funzionale (in valore assoluto) per la massa molare del gruppo funzionale; mentre le moli di carbonio si ricavano dividendo il peso che rimane in seguito alla decomposizione del gruppo funzionale per la massa molare del carbonio.

Considerando ipoteticamente che il gruppo funzionale degradi tra 100 °C e 500 °C si possono scrivere le seguenti formule:

$$n_{FG} = \frac{m_{100\text{ }^\circ\text{C}} - m_{500\text{ }^\circ\text{C}}}{MM_{FG}}$$

$$n_C = \frac{m_{500\text{ }^\circ\text{C}}}{MM_C}$$

La perdita di peso del campione viene generalmente calcolata a partire da 100 °C perché in questo modo si elimina il contributo di eventuali tracce residue di solvente. Lo strumento consente infatti di impostare una isoterma a 100 °C per alcuni minuti in modo da eliminare le tracce di solvente nel campione; il peso percentuale viene considerato pari al 100% a 100 °C.

Nel caso dei nanotubi a parete multipla è evidente che non si può correlare in modo semplice FD e densità superficiale dei gruppi funzionali, dato che le moli di carbonio

considerate comprendono anche le pareti interne, non interessate dalla funzionalizzazione.

1.1.5.2 Spettroscopia UV-Vis-NIR

La spettroscopia UV-Vis-NIR può essere sfruttata per la caratterizzazione di dispersioni di MWCNT. Nella regione tra 280 nm e 1400nm è presente un assorbimento dovuto al sistema π di MWCNT.

Il segnale prodotto dalle dispersioni di nanotubi di carbonio è la somma di un contributo di assorbanza e di scattering della radiazione da parte della nanostruttura. Le sospensioni di nanotubi di carbonio, infatti, presentano spesso agglomerati con dimensione paragonabile alla lunghezza d'onda della luce incidente, e questo consente l'applicazione della teoria dello scattering di Mie.²²

La spettroscopia di assorbimento può essere usata per correlare il segnale di assorbanza con la concentrazione²³ di dispersioni di MWCNT funzionalizzati. La relazione che lega assorbanza e concentrazione è la legge di Lambert – Beer:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot C$$

dove A è l'assorbanza della dispersione, l [cm] è il cammino ottico della cuvetta, C [mg/mL] è la concentrazione di CNT nel campione e ε [mL·mg⁻¹·cm⁻¹] è il coefficiente di estinzione.

Essendo i nanotubi di carbonio un materiale con caratteristiche eterogenee il coefficiente di estinzione non è noto a priori, va determinato misurando l'assorbanza di dispersioni a concentrazione nota di CNT.

In questo lavoro di Tesi la spettroscopia UV-Vis-NIR è stata usata solo con un approccio qualitativo, per confrontare la disperdibilità di derivati di MWCNT con funzionalizzazione diversa e le cui dispersioni sono state preparate applicando la stessa procedura.

1.1.5.3 Dinamic Light Scattering (DLS) e Zeta potential

Il DLS è una tecnica utile per misurare il diametro idrodinamico di nanoparticelle in soluzione. Tale tecnica si basa sulla misurazione della luce diffusa da parte di nanoparticelle disperse in soluzione. In base alla dimensione delle particelle si può verificare lo scattering di Rayleigh (se il raggio delle particelle è inferiore a 1/10 della lunghezza d'onda della luce incidente) oppure lo scattering di Mie (se il raggio delle particelle è superiore a 1/10 della lunghezza d'onda della luce incidente). Nello strumento è presente una sorgente di luce laser che colpisce il campione, le cui particelle producono scattering. L'intensità di tale scattering è misurata attraverso un rivelatore. Le particelle in una dispersione sono in continuo movimento, questo causa fenomeni di interferenza costruttiva e distruttiva della luce diffusa che comportano una fluttuazione nel tempo dell'intensità dello scattering. L'intensità dello scattering misurata dallo strumento è correlata, attraverso un modello matematico, al coefficiente di diffusione traslazione delle particelle (D_t). Sfruttando l'equazione di Stokes – Einstein si può ricavare a partire da D_t il diametro idrodinamico di particelle sferiche in soluzione:²⁴

$$D_t = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_H}$$

dove k_B è la costante di Boltzmann, T è la temperatura, η è la viscosità assoluta e R_H è il raggio idrodinamico.

Il DLS misura quindi il raggio idrodinamico di particelle in soluzione, che è il raggio di una sfera che diffonde alla stessa velocità di quella presa in esame. Il raggio idrodinamico è quindi una misurazione ipotetica. Le particelle in soluzione, infatti, non sono sfere perfette, hanno invece una forma irregolare e sono circondate da molecole di solvente.

I nanotubi non sono particelle sferiche, non sarebbe quindi applicabile l'equazione di Stokes-Einstein. L'applicazione del DLS a dispersioni di nanotubi non fornisce quindi una dimensione assoluta dei nanotubi di carbonio, ma può fornire una valutazione del diametro degli aggregati.

Il potenziale Zeta è invece una misurazione del potenziale generato in seguito alla formazione di un doppio strato elettrico (EDL). Quando particelle cariche sono disperse in soluzione si forma un doppio strato elettrico sulla loro superficie. Lo strato interno (detto strato di *Stern*) è dato principalmente da ioni/molecole di carica opposta alla particella, mentre lo strato esterno è uno strato diffuso che presenta particelle di carica sia positiva che negativa (*Figura 1.9*).

Quando si applica un campo elettrico a una dispersione di particelle cariche, queste ultime si muovono verso l'elettrodo di carica opposta (elettroforesi). All'interno dello strato diffuso c'è un piano ipotetico che agisce da confine tra la soluzione e la particella che si muove; tale piano è definito "piano di taglio" o "piano di scorrimento". Il potenziale Z è una misura del potenziale elettrocinetico su tale piano.²⁴

Il potenziale Z è stato misurato su dispersioni di MWCNT funzionalizzati come indice ulteriore, associato alle caratterizzazioni precedentemente descritte, dell'avvenuta funzionalizzazione.

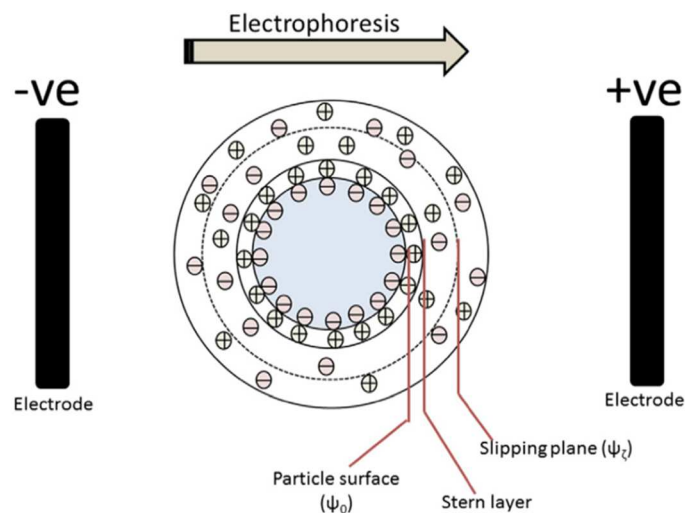


Figura 1.9. Rappresentazione dell'EDL su una particella carica negativamente e del piano di taglio.²⁴

Il valore positivo o negativo del potenziale Z dipende infatti dall'elettrodo a cui migrano i nanotubi di carbonio durante la corsa elettroforetica. Nanotubi con carica superficiale negativa migrano verso l'elettrodo positivo e ad essi si associano valori di potenziale Z negativi. Avviene il contrario per nanotubi carichi positivamente.

Tuttavia, la misura del potenziale Z è differente dalla misura di una carica superficiale e da sola non basta come indice di una avvenuta funzionalizzazione. Infatti, fornisce solo una evidenza indicativa sulla natura positiva o negativa della carica superficiale assumendo che gli ioni predominanti dell'EDL fino al piano di scorrimento siano simili rispetto alla superficie della particella stessa, ma ci sono delle eccezioni a tale assunzione.²⁴

1.2 Idrogel nanocompositi con nanotubi di carbonio

Gli idrogel sono strutture tridimensionali date da catene polimeriche idrofiliche reticolate a costituire matrici con elevato contenuto di acqua.²⁵ Gli idrogel possono provenire da fonti naturali (fibrina, collagene, acido ialuronico, alginato ecc.) oppure possono essere dati da polimeri sintetici (glicole polietilenico, poliacrilamide, alcol polivinilico ecc.).²⁶ Grazie alle loro caratteristiche, come le modulabili proprietà fisiche, chimiche e biologiche e la loro biocompatibilità hanno trovato utilizzo in diversi contesti applicativi. Sono utilizzati in ambito sensoristico, in ambito energetico per le celle solari, in ambito biomedico per l'ingegneria tissutale, nello smaltimento di inquinanti da matrici acquose per citarne alcuni. Presentano però lo svantaggio di avere una scarsa stabilità termica e meccanica, che limita il loro utilizzo. I nanotubi di carbonio, grazie alla loro elevata conduttività, forza meccanica ed elevata area superficiale vengono spesso inseriti all'interno di idrogel con lo scopo di migliorarne le proprietà.²⁷

Il contesto applicativo più interessante per questa tesi è la possibilità di utilizzo di idrogel nanocompositi per la rimozione di inquinanti da matrici acquose.

Gli idrogel sono materiali adsorbenti promettenti in questo ambito, in particolare grazie alla loro idrofilicità, alla presenza di diversi gruppi funzionali e alla loro struttura tridimensionale che può contribuire all'aumento delle capacità di rimozione.²⁸ In tale contesto l'incorporazione dei nanotubi di carbonio non serve solo a migliorare le proprietà strutturali degli idrogel; la dispersione dei nanotubi in una matrice dovrebbe contribuire alla loro disaggregazione e quindi a rendere maggiormente disponibile per l'adsorbimento la loro superficie e le funzionalità eventualmente introdotte su di essa. Inoltre, i nanotubi di carbonio sono molto

resistenti alla degradazione in natura e sono potenzialmente tossici per gli organismi; devono quindi essere rimossi dall'acqua trattata. Una soluzione è rappresentata dall'immobilizzazione in matrici polimeriche.²⁹

Nell'ambito di questa tesi si è scelto di utilizzare un idrogel di alginato, di cui saranno descritte le caratteristiche nel prossimo paragrafo.

1.2.1 Idrogel di alginato di calcio

L'alginato di sodio è un polisaccaride estratto dalle alghe brune. È utilizzato in ambito ambientale per la sua biodegradabilità, non tossicità e per il suo basso costo.³⁰ Si compone di unità di acido β -D-mannuronico (M) e di acido α -D-guluronico (G) unite da legami (1-4) α glicosidici a formare catene lineari (Figura 1.10). Tali unità costituenti si trovano legate a costituire blocchi nell'alginato di sodio.

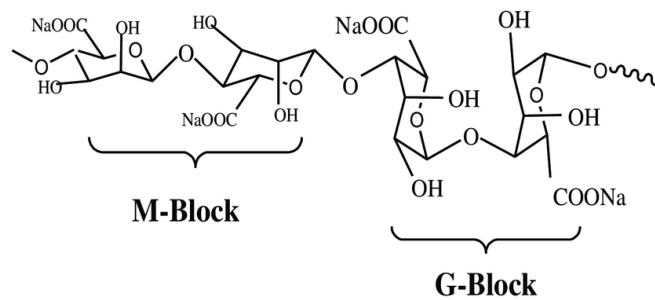


Figura 1.10. Struttura della catena polimerica data da blocchi di unità M e G che compongono l'alginato di sodio.³¹

In base alla specie algale da cui viene estratto, l'alginato di sodio presenta diverse composizioni in termini di unità M e G. Ci sono quindi più tipi di alginato con caratteristiche diverse.

Come si può osservare in Figura 1.10, i blocchi M e i blocchi G assumono conformazioni reciproche differenti: il piano su cui si posizionano le unità M è perpendicolare rispetto al piano in cui sono contenute le unità G. Tale differenza è dovuta alla diversa natura del legame tra unità M e G e comporta la presenza di zone con flessibilità differente nella catena dell'alginato.³²

L'alginato di sodio può legarsi a cationi divalenti formando gel. Solitamente per la gelificazione dell'alginato si utilizzano ioni Ca^{2+} , ma si possono utilizzare anche altri ioni quali Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} .³³ Solo le unità G possono coordinare gli ioni Ca^{2+} dando vita

alla formazione del gel, le unità M non sono coinvolte. Il modello comunemente accettato che descrive la formazione e la struttura dei gel di alginato di calcio è il modello "egg-box". In corrispondenza delle unità G la catena dell'alginato può assumere una conformazione a elica, andando a formare delle regioni piegate. I cationi Ca^{2+} si inseriscono nelle cavità idrofiliche formate dall'appaiamento di due catene che presentano le sequenze G in conformazione piegata (Figura 1.11 a e 1.11 b). Incrementando la concentrazione di Ca^{2+} in soluzione è possibile che la gelificazione prosegua con una associazione di tali dimeri (Figura 1.11 c).³⁴

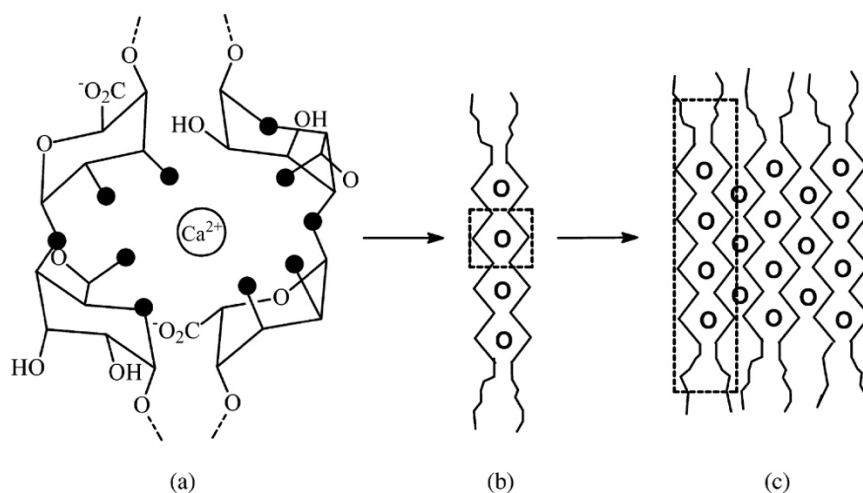


Figura 1.11. Rappresentazione schematica del processo di gelificazione dell'alginato di calcio con modello "egg-box": (a)(b) formazione dei dimeri per coordinazione di Ca^{2+} con le unità G, e (c) associazione dei dimeri con formazione di multimeri.³⁴

La gelificazione dell'alginato può essere condotta principalmente con due metodi: gelazione interna e gelazione esterna.

La gelazione esterna è un metodo diffusivo e prevede di introdurre l'alginato in una soluzione contenente ioni divalenti per la reticolazione (solitamente si usa CaCl_2 come fonte di ioni Ca^{2+}). Lo svantaggio principale di tale metodo è la formazione di un gradiente di Ca^{2+} nell'idrogel con conseguente non uniformità della reticolazione. La gelazione interna è invece un metodo che consente la formazione di un idrogel uniforme. Tale metodo prevede che gli ioni Ca^{2+} vengano distribuiti all'interno di una soluzione di alginato, in una modalità per cui la loro concentrazione nell'idrogel sia uniforme. La fonte di ioni Ca^{2+} generalmente è CaCO_3 , o comunque un sale di calcio insolubile. L'aggiunta di un acido debole in soluzione, come δ gluconolattone,

comporta la lenta idrolisi di CaCO_3 con rilascio degli ioni Ca^{2+} che producono la reticolazione.³⁵

1.3 Inquinamento delle acque

Negli ultimi 30 anni la contaminazione chimica e biologica dell'acqua è diventata una preoccupazione e una priorità per la società, per le autorità pubbliche e per l'industria. Per inquinante si intende una sostanza che quando viene introdotta nell'acqua causa degli effetti indesiderati. Ci sono diversi tipi di inquinanti con caratteristiche diverse; essi si accumulano con il passare del tempo e il loro effetto dannoso aumenta con l'aumentare della loro quantità. Le cause dell'inquinamento delle acque possono essere molteplici: rifiuti industriali, attività minerarie, liquami e acque reflue, pesticidi e fertilizzanti chimici, uso di energia, rifiuti radioattivi, sviluppo urbano ecc.³⁶ Le sorgenti di inquinamento possono essere puntuali o non puntuali. Per sorgente puntuale di inquinamento si intendono inquinanti che provengono da una singola fonte identificabile. Per sorgente non puntuale di inquinamento si intendono inquinanti che provengono da più fonti non identificabili. La qualità dell'acqua è inoltre influenzata anche da fattori quali: precipitazioni, clima, tipo di suolo, geologia, attività umane.³⁷

Negli anni sono stati sviluppati diversi metodi chimici, fisici e biologici per il trattamento delle acque come ad esempio flottazione, precipitazione, ossidazione, estrazione con solvente, evaporazione, scambio ionico, filtrazione con membrane, metodi elettrochimici e biodegradazione. Ogni metodo ha i suoi vantaggi e i suoi svantaggi in termini di efficienza, applicabilità e impatto ambientale. Il problema generale che si presenta con il trattamento delle acque è la presenza di diversi tipi di inquinanti, la cui rimozione risulta difficile con un unico trattamento perché ciascuno richiederebbe un processo di rimozione specifico.³⁶

1.3.1 Inquinamento da inquinanti emergenti

Tra i vari inquinanti acquosi c'è una classe di "inquinanti emergenti" (EC) che desta una particolare preoccupazione al giorno d'oggi. Per inquinante emergente si intende "qualsiasi sostanza chimica sintetica presente in natura o qualsiasi microorganismo

che non è comunemente monitorato in natura, ma ha il potenziale di entrare nell'ambiente e causare effetti negativi noti o sospetti sull'ambiente e/o sulla salute umana".³⁸ Tipici contaminanti emergenti includono farmaci, pesticidi, prodotti chimici industriali, prodotti per la cura personale, tensioattivi, plastificanti, ritardanti di fiamma. Tra i farmaci si hanno interferenti del sistema endocrino, antibiotici, analgesici, ormoni, antiinfiammatori, antiepilettici, antidiabetici. Anche i coloranti possono essere considerati EC in quanto sono potenzialmente tossici e si trovano in matrici acquose; provengono principalmente da industrie tessili, alimentari, cosmetiche e di inchiostri.³⁹ Il termine "contaminante emergente" non si attribuisce necessariamente al fatto che tali sostanze siano nuove o appena entrate nell'ambiente. La maggior parte dei contaminanti emergenti sono composti noti da tempo, il cui effetto tossico e modalità di azione sono stati però recentemente scoperti. Per questa ragione spesso sono indicati come "sostanze chimiche a rischio emergente".⁴⁰

La Direttiva 2013/39/UE, a sostegno della Direttiva Quadro Acque che ha istituito un quadro unitario a livello europeo in materia di acque, ha previsto un nuovo meccanismo per fornire informazioni attendibili sul monitoraggio di sostanze emergenti, chiamato elenco di controllo (*Watch List*). Esso prevede il monitoraggio di sostanze emergenti, su tutto il territorio europeo, per un periodo di almeno 4 anni e su un numero ristretto di stazioni significative. Le sostanze emergenti individuate saranno poi inserite nella lista delle sostanze prioritarie da monitorare per definire lo stato chimico delle acque.⁴¹

Gli EC possono migrare verso i corpi idrici attraverso varie vie da fonti puntuali a non puntuali e possono essere bioaccumulati attraverso le reti alimentari, causando rischi per la salute della fauna selvatica e dell'uomo. Gli EC sono presenti in concentrazioni molto basse nelle acque, dell'ordine dei µg/L o ng/L. I processi di analisi e di studio degli EC sono quindi complicati dalla loro presenza in tracce; ci sono infatti difficoltà nell'arricchimento del campione di acqua e la matrice in cui sono contenuti può dare interferenze.⁴²

I processi di attenuazione naturale e i trattamenti convenzionali delle acque non sono efficaci nella rimozione dei contaminanti emergenti perché quest'ultimi comprendono un ampio spettro di sostanze tossiche che richiedono metodi di

rimozione più specifici. Sono state quindi sviluppate delle tecnologie di trattamento non convenzionali, che possono essere suddivise in tre macrocategorie: processi di cambiamento di fase, trattamenti biologici e processi di ossidazione avanzata.

I processi di cambiamento di fase prevedono di rimuovere l'inquinante che si trova in fase acquosa e di trasportarlo in fase solida. Tali processi includono l'adsorbimento su diversi materiali (carboni attivi, nanotubi di carbonio, grafene, zeoliti, resine, minerali argillosi ecc.) e differenti tipologie di filtrazione (ultrafiltrazione, nanofiltrazione, microfiltrazione, osmosi diretta e osmosi inversa).

I trattamenti biologici prevedono l'utilizzo di fanghi attivi in processi che avvengono in aerobiosi o in anaerobiosi.

I processi di ossidazione avanzata si caratterizzano per la produzione di radicali idrossilici per la rimozione di inquinanti, e si sono rivelati maggiormente efficaci rispetto ai tradizionali processi di ossidazione.⁴³

In questo progetto di Tesi verrà analizzato l'utilizzo della tecnica di adsorbimento per la rimozione di contaminanti emergenti appartenenti alle categorie dei farmaci e dei coloranti. Nel seguente paragrafo verranno messi in evidenza i vantaggi dell'utilizzo dell'adsorbimento come tecnica di rimozione di inquinanti emergenti, in particolare verrà descritto l'utilizzo dei nanotubi di carbonio a tale scopo.

1.3.2 Utilizzo dell'adsorbimento per la rimozione di inquinanti emergenti

L'adsorbimento rappresenta una delle metodologie più convenienti per la rimozione di inquinanti da matrici acquose, grazie ai bassi costi di implementazione, all'elevata efficienza e alla semplice progettazione operativa.⁴⁴ Altri metodi per rimuovere inquinanti dalle acque prevedono costi elevati e la generazione di fanghi di scarto. I materiali carboniosi hanno trovato una applicazione nell'ambito della rimozione degli inquinanti a causa della loro elevata stabilità chimica e termica, elevata area superficiale, porosità e possibilità di introduzione di gruppi funzionali. In particolare, i nanotubi di carbonio sono nanomateriali unidimensionali utilizzati nell'ambito della rimozione di inquinanti per la loro elevata area superficiale e disponibilità di siti di adsorbimento.⁴⁵ Tuttavia, le tecnologie basate sui nanotubi di carbonio non sono ancora state ampiamente implementate a livello commerciale a causa del costo

elevato dei nanotubi di carbonio e per la complessa interazione che hanno con componenti biotiche e abiotiche nell'ambiente.²⁹

I nanotubi di carbonio si trovano aggregati a formare fasci a causa delle forze di van der Waals. In un caso ideale, i siti di adsorbimento disponibili negli aggregati di nanotubi includono l'area superficiale, le scanalature, i pori interstiziali e i pori interni. Nella realtà i siti effettivamente disponibili all'adsorbimento sono la superficie esterna dei nanotubi e le scanalature, ma non pori interstiziali e pori interni.

I meccanismi che entrano in gioco nell'adsorbimento di inquinanti su nanotubi di carbonio sono molteplici. Una delle interazioni principali che si instaura tra nanotubi di carbonio e inquinanti è l'effetto idrofobico. Tale interazione da sola non giustifica però l'efficienza dei nanotubi di carbonio per l'adsorbimento di molti inquinanti. Altre interazioni che si possono instaurare sono: interazione elettrostatica, legami a idrogeno e interazioni π - π elettrone donatore – accettore (EDA).

Le interazioni π - π EDA si instaurano fra il sistema π dei nanotubi di carbonio ed eventuali anelli benzenici o doppi legami presenti sulle molecole che vengono adsorbite. La forza di tale interazione dipende fortemente dai gruppi funzionali presenti sulla molecola organica che deve essere adsorbita. I nanotubi di carbonio possono essere visti sia come elettrone donatori sia come elettrone accettori, di conseguenza l'adsorbimento di molecole sostituite con gruppi elettrone donatori ed elettrone accettori sarà favorito rispetto all'adsorbimento di molecole non sostituite. Infatti, la forza dell'interazione π - π dipende dalla tendenza della molecola a donare o accettare elettroni.

I legami a idrogeno e le interazioni elettrostatiche possono instaurarsi perché i nanotubi pristini presentano dei gruppi funzionali come -OH, -C=O, -COOH che sono una conseguenza delle procedure utilizzate per la sintesi dei nanotubi. Nei *Paragrafi 1.1.3 e 1.1.4* è stato evidenziato come sia possibile introdurre anche volontariamente dei gruppi funzionali sulla superficie dei nanotubi. L'introduzione di funzionalizzazioni è svolta con lo scopo di poter realizzare una interazione specifica con gli inquinanti che devono essere adsorbiti e per aumentare la disperdibilità dei nanotubi di carbonio che è uno dei principali fattori che limita la superficie disponibile all'adsorbimento. Tuttavia, bisogna considerare che la funzionalizzazione non

comporta solo l'introduzione di gruppi funzionali in superficie, ma influenza anche l'idrofobicità dei nanotubi e la loro carica superficiale.⁴⁶

Alcuni EC sono molecole ionizzabili, in tal caso il pH e la forza ionica del mezzo in cui vengono condotti gli esperimenti di adsorbimento hanno una influenza sulle capacità di adsorbimento della nanostruttura.

Variando il pH, gli inquinanti o anche i nanotubi di carbonio (nel caso in cui quest'ultimi presentino delle funzionalizzazioni) possono subire protonazione o deprotonazione di alcuni gruppi funzionali, e questo influenza le capacità di interazione reciproca. L'aumento della forza ionica in soluzione può comportare una schermatura della carica sulla superficie dei nanotubi di carbonio, ma può agire anche aumentando l'aggregazione dei nanotubi di carbonio a causa della compressione del doppio strato elettrico (EDL). L'effetto di un aumento della forza ionica in soluzione può avere effetti positivi oppure negativi sull'adsorbimento in base alla specifica molecola che deve essere adsorbita e al tipo di interazioni prevalenti nell'interazione di quest'ultima con i nanotubi di carbonio. In ogni caso, l'aumento della forza ionica altera in generale l'attrazione/repulsione di contaminanti ionizzabili verso la superficie dei nanotubi di carbonio.⁴⁷

2. Scopo della tesi

In questo lavoro di Tesi verrà studiata la possibilità di utilizzare i nanotubi di carbonio a parete multipla per l'adsorbimento di alcuni inquinanti emergenti da matrici acquose.

Inizialmente verrà introdotta una funzionalizzazione carica su MWCNT sfruttando la reazione di Tour. La funzionalizzazione dei nanotubi di carbonio verrà svolta con l'obiettivo di introdurre delle interazioni specifiche con gli inquinanti scelti per l'adsorbimento.

I tre inquinanti che verranno testati sono blu di metilene, clenbuterolo e carbamazepina. Le prove di adsorbimento verranno condotte attraverso esperimenti in batch in cui i materiali adsorbenti verranno dispersi in soluzioni a concentrazione nota dei tre inquinanti per tempi differenti.

Per ciascun inquinante le prove di adsorbimento verranno svolte sia su MWCNT sia sui derivati funzionalizzati. In particolare, verrà posta l'attenzione sul tipo di interazioni che le molecole scelte creano con i nanotubi di carbonio e su come la modificazione di tali interazioni in seguito alla funzionalizzazione di MWCNT incide sull'adsorbimento.

Le prove di adsorbimento verranno svolte sia in tampone fosfato sia in acqua MilliQ. Si potrà in questo modo evidenziare la presenza di un eventuale effetto della forza ionica sull'adsorbimento di tali inquinanti.

In seguito, si esplorerà la possibilità di introdurre i nanotubi di carbonio all'interno di una matrice porosa di alginato di calcio costituendo così un materiale nanocomposito. Verranno testate le proprietà di adsorbimento del clenbuterolo sia sulla matrice porosa sia sul nanocomposito.

Sarà possibile quindi stabilire alcuni fattori che incidono sul tipo di interazioni che si possono instaurare tra gli inquinanti e i nanotubi di carbonio e, alla luce di questi, ricavare informazioni utili per la rimozione efficace di altri inquinanti.

3. Risultati e discussione

3.1 Funzionalizzazione dei nanotubi di carbonio tramite reazione di Tour

Come accennato nel *Capitolo 2*, con il fine di utilizzare nanotubi di carbonio per la rimozione di inquinanti emergenti da matrici acquose, nella prima parte della tesi è stato scelto di introdurre una funzionalizzazione su nanotubi di carbonio a parete multipla (MWCNT). In seguito, le capacità di adsorbimento dei derivati funzionalizzati verranno confrontate con quelle della nanostruttura non funzionalizzata, in modo da capire l'influenza della funzionalizzazione sulle capacità di adsorbimento del materiale.

Come spiegato nel *Paragrafo 1.3.2*, tra i differenti meccanismi che possono intervenire nell'adsorbimento di molecole su nanotubi di carbonio una componente importante è l'interazione fra il sistema π del nanotubo e il sistema π della molecola presa in esame. I nanotubi di carbonio, avendo un sistema π molto esteso, interagiscono fortemente tra loro attraverso forze di van der Waals e interazioni $\pi - \pi$. Questo causa una forte aggregazione e una bassa disperdibilità, che sono le principali ragioni per cui l'efficienza di adsorbimento degli inquinanti può risultare bassa.⁴⁸

La funzionalizzazione mira ad incrementare la disperdibilità dei MWCNT in acqua, in modo da aumentare la superficie disponibile all'adsorbimento, e quindi l'efficienza del materiale.

La funzionalizzazione della nanostruttura è avvenuta utilizzando una reazione precedentemente testata nel gruppo di ricerca, la reazione di Tour, attraverso cui sono stati introdotti dei gruppi benzensolfonato sulla parete di MWCNT. Esistono altri metodi di funzionalizzazione covalente dei nanotubi, come la reazione di Prato, che consente una efficiente funzionalizzazione, ma in tempi molto più lunghi rispetto alla reazione di Tour.⁴⁹ Le caratteristiche e il meccanismo ipotizzato della reazione di Tour sono riportate nel *Paragrafo 1.1.4*. In breve, tale reazione prevede la formazione di un sale di diazonio per reazione tra una anilina para-sostituita e un nitrito, seguita dalla sua addizione al nanotubo. Per questo lavoro si è utilizzato sodio sulfanilato

come precursore anilino e isopentilnitrito come reagente di diazotazione. Lo schema di reazione è riportato in *Figura 3.1*.

Le condizioni di reazione sono state precedentemente ottimizzate nel gruppo di ricerca. Si è scelto di svolgere la reazione in acqua, nonostante la forte idrofobicità dei nanotubi, per consentire la dissoluzione del sodio sulfanilato. Come nanostruttura da funzionalizzare sono stati scelti MWCNT con diametro tra 8 e 15 nm, in precedenza sono stati testati anche MWCNT con diametro < 8 nm, ma i risultati migliori in termini di disperdibilità e funzionalizzazione si sono ottenuti per i nanotubi con diametro di 8 – 15 nm. La reazione è stata condotta a 80°C utilizzando un rapporto molare, rispetto alle moli di carbonio, di 0.5 per il sodio sulfanilato e di 1 per l'isopentilnitrito.

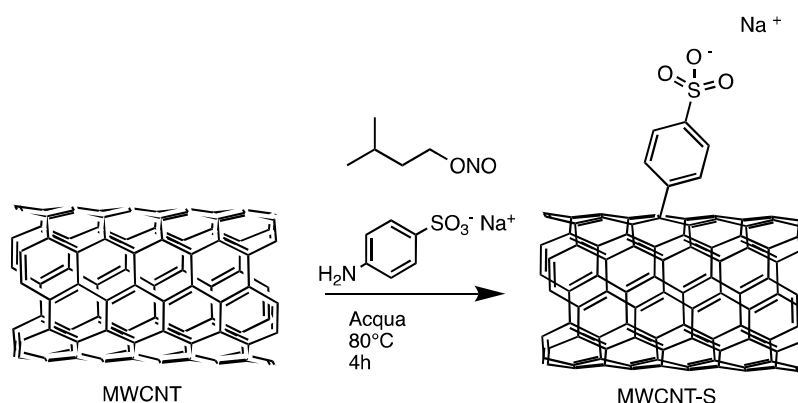


Figura 3.1. Rappresentazione schematica della reazione di Tour, per l'introduzione di gruppi benzensolfonato su MWCNT

L'acido benzensolfonico è fortemente acido ($pK_a = -2.8^{50}$), e quindi a pH neutro il gruppo introdotto rimane nella forma anionica come benzensolfonato.

L'introduzione di un gruppo carico negativamente sulla parete del nanotubo aumenta la repulsione elettrostatica fra nanotubi, e favorisce le interazioni con il solvente, facilitando la dispersione della nanostruttura in acqua. Inoltre, dato che alcune delle molecole che verranno utilizzate in seguito per le prove di adsorbimento sono cariche positivamente, o assumono una carica positiva al pH di lavoro, si realizzano le condizioni per una possibile interazione elettrostatica tra molecola e nanostruttura, favorendo l'adsorbimento.

Dopo aver ottenuto i nanotubi funzionalizzati (MWCNT-S), questi ultimi sono stati caratterizzati.

È stata svolta l'analisi TGA con lo scopo di stabilire il grado di funzionalizzazione e la disperdibilità in acqua della nanostruttura funzionalizzata. Sono stati svolti UV – Vis – NIR, DLS e potenziale Z per determinare il comportamento in acqua dei derivati ottenuti.

La TGA è stata svolta in atmosfera inerte (N_2), in *Figura 3.2* sono riportati i termogrammi sovrapposti dei nanotubi pristini (MWCNT, 8 – 15 nm) e dei nanotubi funzionalizzati (MWCNT-S).

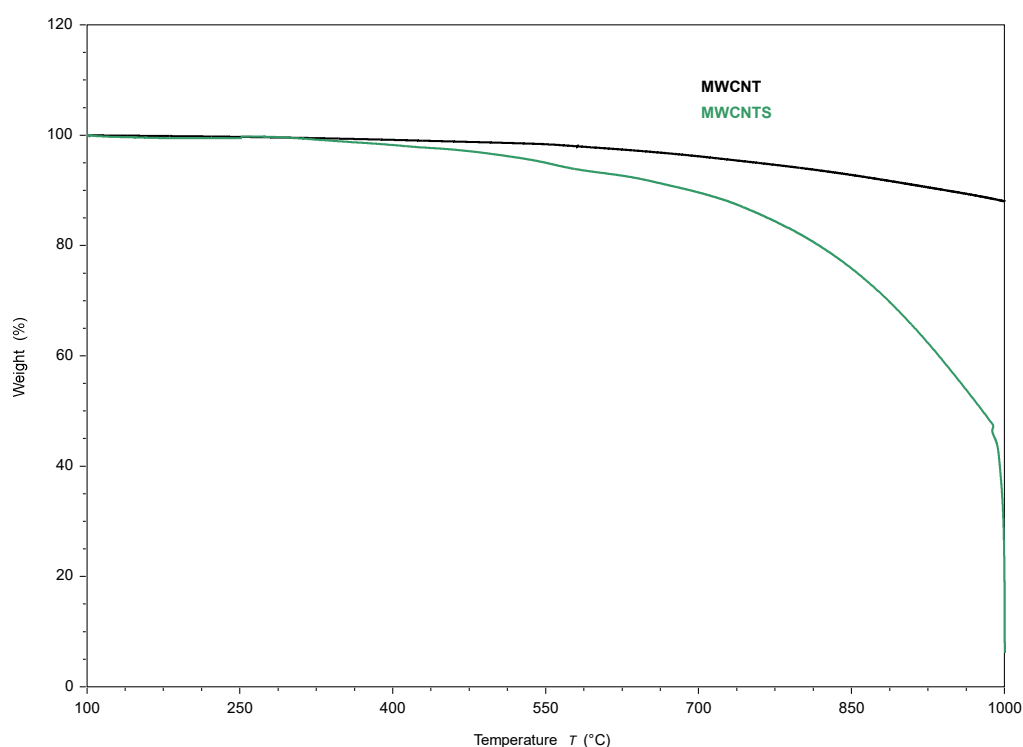


Figura 3.2. Termogrammi sovrapposti di MWCNT (in nero) e MWCNTS (in verde)

Confrontando i due termogrammi è possibile evidenziare una perdita di peso tra 100°C e 650 °C nei MWCNT-S che non è presente nei MWCNT, e viene associata alla funzionalizzazione. Osservando la perdita di peso, si può evidenziare che essa è composta da due stadi di degradazione successivi. Si possono fare diverse ipotesi sull'attribuzione della degradazione: l'intera perdita di peso tra 100 °C e 650 °C potrebbe essere dovuta al gruppo benzensolfonato, che decomporrebbe quindi in più step di degradazione.⁵¹⁵² Oppure si può ipotizzare che parte della perdita di peso sia dovuta alla degradazione di unità singole di benzensolfonato, mentre la

degradazione a temperature più alte si potrebbe associare a ramificazioni che si possono creare durante la reazione di Tour.²⁰

Un'altra possibile spiegazione consiste nell'attribuire lo step di degradazione a temperature inferiori alla degradazione di molecole adsorbite sulla superficie del nanotubo; mentre lo step di degradazione a temperature superiori sarebbe attribuibile a unità di benzensolfonato di sodio legate covalentemente al nanotubo di carbonio.

Utilizzando la perdita di peso fornita dalla TGA tra 100 °C e 650 °C è stato possibile calcolare il grado di funzionalizzazione di MWCNT-S (si veda il *Paragrafo 1.1.5.1*), entrambi riportati in *Tabella 3.1*. Il grado di funzionalizzazione rappresenta le moli di gruppo funzionale rapportate alle moli di carbonio. Va considerato che, utilizzando i nanotubi a parete multipla, gran parte degli atomi di carbonio appartengono alle pareti interne, non coinvolte nella funzionalizzazione; quindi, il massimo grado di funzionalizzazione ipotizzabile (calcolato in questo modo) è comunque molto inferiore al 100%.

Derivato	Perdita di peso [%] 100 – 650 °C in N ₂	Grado di Funzionalizzazione [%] a 650 °C
MWCNT-S	8.198	0.60

Tabella 3.1. Perdita di peso e grado di funzionalizzazione di MWCNT-S

Si è scelto di acquisire i termogrammi in azoto per avere una distinzione fra la degradazione del gruppo funzionale dalla degradazione del nanotubo di carbonio; dal termogramma della nanostruttura pristina si vede infatti che la degradazione di quest'ultima avviene dopo i 650 °C, a temperature più alte rispetto alla degradazione della funzionalizzazione, mentre a temperature più basse la perdita di peso della nanostruttura pristina è molto bassa.

Per misurare la disperdibilità in acqua dei MWCNT-S, i nanotubi funzionalizzati sono stati dispersi in acqua MilliQ tramite sonicazione, a cui è seguita una centrifugazione e un recupero e filtraggio del surnatante, ottenendo un estratto. Una quantità nota di estratto è stata evaporata sul crogiolo della TGA, tramite analisi termogravimetrica

è stato determinato il peso del solido residuo sul portacampione. La quantità di nanotubi disperdibile in acqua è correlata alla loro tendenza all'aggregazione. Più i nanotubi tendono ad aggregare meno sono disperdibili, e tendono invece a precipitare. La funzionalizzazione diminuisce l'aggregazione e aumenta la disperdibilità; ciò che è contenuto nell'estratto è la frazione più solubile dei nanotubi funzionalizzati.

In *Tabella 3.2* sono riportate le disperdibilità in acqua e le assorbanze a 1000 nm di MWCNT-S, confrontati ai dati relativi ad un altro derivato, ottenuto precedentemente nel gruppo di ricerca, in cui i nanotubi di carbonio sono stati funzionalizzati con gruppi N,N,N-trimetilamminobenzene, nelle stesse condizioni in cui si sono ottenuti i MWCNT-S.

Derivato	Disperdibilità in acqua [mg/mL]	Assorbanza a 1000 nm [a.u.]
MWCNT-S	1.66	3.66
MWCNT-N	0.13	0.24

Tabella 3.2. Valori della disperdibilità in acqua in TGA e dell'assorbanza a 1000 nm per MWCNT-S e MWCNT-N.

Confrontando i risultati si evidenzia che i MWCNT-S sono maggiormente disperdibili rispetto ai MWCNT-N, ed entrambi sono più disperdibili rispetto ai MWCNT pristini, che hanno una disperdibilità trascurabile, dato che in poco tempo aggregano e precipitano. La disperdibilità è quindi una ulteriore evidenza di come la funzionalizzazione consenta la disaggregazione dei nanotubi di carbonio.

L'analisi UV-Vis-NIR dell'estratto ottenuto è un approccio alternativo, più veloce rispetto alla TGA, per valutare la disperdibilità dei MWCNT-S, fornisce però un dato qualitativo e non quantitativo, che assume una valenza da un punto di vista comparativo. Lo spettro UV-Vis-NIR dell'estratto in acqua è stato acquisito tra 280 nm e 1400 nm, ed è stata misurata l'assorbanza a 1000 nm che è correlabile alla quantità di nanotubi dispersi in acqua²³, ma non in modo quantitativo perché presenta una componente di scattering. Per la comparazione è stata scelta

l'assorbanza a 1000 nm perché è la regione in cui il contributo di scattering è inferiore, mentre quest'ultimo è molto più presente nella regione dell'UV e del visibile.⁵³

Confrontando l'assorbanza a tale lunghezza d'onda per i MWCNT-S e per i MWCNT-N si evidenzia che il valore di assorbanza è maggiore per i MWCNT-S e minore per i MWCNT-N (i valori riportati in *Tabella 3.2* sono stati ottenuti rapportando l'assorbanza ai diversi fattori di diluizione utilizzati per l'analisi UV-vis-NIR degli estratti). Il risultato è in accordo con il valore di disperdibilità registrato attraverso la TGA; il derivato più disperdibile sono i MWCNT-S.

Al fine di valutare come la funzionalizzazione contribuisca alla disaggregazione della nanostruttura è stata svolta anche l'analisi DLS. Come descritto nel *Paragrafo 1.1.5.3* il DLS viene normalmente utilizzato per valutare il diametro idrodinamico di particelle sferiche. I nanotubi non hanno forma sferica, di conseguenza questo impedisce l'applicazione dell'equazione di Stokes – Einstein per derivare il raggio idrodinamico. Il risultato del DLS svolto sull'estratto dei MWCNT-S è quindi una valutazione del diametro idrodinamico degli aggregati dei nanotubi. In *Tabella 3.3* sono riportati i valori del diametro idrodinamico e dell'indice di polidispersione per i MWCNT-S e per i MWCNT-N. In accordo con i risultati ottenuti in precedenza di disperdibilità in acqua e di assorbanza a 1000 nm, si evidenzia un diametro idrodinamico minore degli aggregati di MWCNT-S, che indica quindi una maggiore dispersione di quest'ultimi.

Derivato	Diametro idrodinamico [nm]	PdI
MWCNT – S	136.1	0.234
MWCNT – N	169.1	0.294

Tabella 3.3. Valori del diametro idrodinamico e del PdI misurati al DLS per MWCNT-S e MWCNT-N.

Il PdI fornisce una misura dell'uniformità della distribuzione dimensionale degli aggregati, minore è il PdI maggiormente uniforme è la distribuzione. Si osserva che i

MWCNT-S hanno una distribuzione dimensionale che è paragonabile a quella dei MWCNT-N in termini di uniformità.

Come ultima caratterizzazione è stato eseguito il potenziale Z (si veda il *Paragrafo 1.1.5.3*) dei derivati funzionalizzati che rappresenta un indice ulteriore dell'avvenuta funzionalizzazione. Il potenziale Z è un valore di potenziale la cui positività o negatività dipende dall'elettrodo a cui migra la particella durante la corsa elettroforetica; quindi, non si associa alla carica superficiale del nanotubo. Per particelle che presentano una carica superficiale negativa, generalmente il potenziale Z risulta negativo, e migrano verso l'elettrodo positivo. Per i MWCNT-S è stato trovato un valore di potenziale Z negativo, che può essere associato a una carica superficiale negativa, e quindi può risultare una conferma dell'avvenuta funzionalizzazione. Il potenziale Z, tuttavia, è solo un dato indicativo, in quanto ci sono diversi fattori che possono influire sul valore positivo e negativo del potenziale.²⁴ In *Tabella 3.4* sono riportati i valori di potenziale Z e la corrispondente deviazione standard per MWCNT-S.

Derivato	Potenziale Z [mV]	Dev. Std. su potenziale Z
MWCNT-S	- 43.4	0.9

Tabella 3.4. Valori del diametro idrodinamico e del Pdl misurati al DLS per MWCNT-S

Il valore assoluto di potenziale Z è correlato alla stabilità delle dispersioni. Valori assoluti di potenziale Z inferiori a 30 mV indicano che la dispersione è molto stabile, in base al valore ottenuto per i MWCNT-S, si può desumere che la dispersione sia ragionevolmente stabile.²⁴

3.2 Esperimenti di adsorbimento

In seguito alla funzionalizzazione dei nanotubi di carbonio è stata testata l'efficacia dei derivati ottenuti per l'adsorbimento di blu di metilene, clenbuterolo e carbamazepina. Come accennato in precedenza, le prove di adsorbimento sono state

eseguite sulla nanostruttura pristina e sul derivato funzionalizzato, per stabilire l'influenza della funzionalizzazione sull'adsorbimento. Si è scelto di svolgere le prove di adsorbimento sia in tampone fosfato sia in acqua MilliQ. La scelta del tampone fosfato è dovuta al fatto che offre la possibilità di svolgere le prove a pH controllato. Il tampone però presenta una certa concentrazione ionica; per stabilire il possibile instaurarsi di competizioni ioniche con le molecole analizzate si è scelto quindi di svolgere le prove anche in acqua MilliQ.

Il blu di metilene (BM) è stato scelto perché, oltre ad essere un inquinante presente negli effluenti acquosi di molte industrie, è ampiamente utilizzato nella ricerca per valutare la capacità di adsorbimento di nanostrutture; quindi, ha reso possibile un confronto con la letteratura.

Si è scelto poi di testare una categoria specifica di microinquinanti: i farmaci, tra cui sono stati scelti clenbuterolo (CLB) e carbamazepina (CBZ).

Le tre molecole, riportate in *Figura 3.3*, presentano differenze strutturali che consentono di focalizzare l'attenzione sul tipo di interazioni che si possono instaurare con i nanotubi di carbonio.

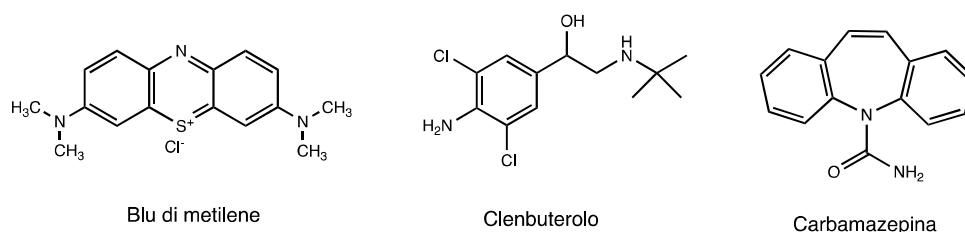


Figura 3.3. *Rappresentazione delle formule di struttura di blu di metilene, clenbuterolo e carbamazepina.*

In *Figura 3.4*, è riportata una rappresentazione schematica della procedura comune utilizzata per le prove di adsorbimento. La descrizione dettagliata dello svolgimento delle prove di adsorbimento è riportata per BM, CLB e CBZ rispettivamente nei *Paragrafi 5.3.7, 5.3.8 e 5.3.11*.

Il metodo scelto prevede una previa sonicazione dei nanotubi di carbonio nel mezzo acquoso utilizzato per le prove, in modo da favorire la dispersione dei nanotubi di carbonio aumentando la superficie disponibile all'adsorbimento. In seguito, viene aggiunta una soluzione di inquinante, in modo da raggiungere una concentrazione

complessiva di 50 ppm in 25 mL totali di soluzione. La dispersione viene poi posta ad agitare per tempi diversi.

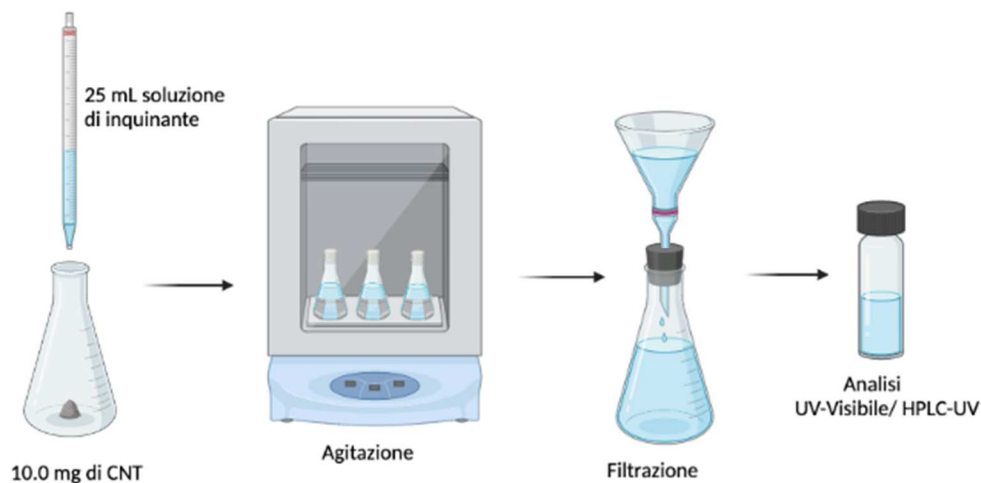


Figura 3.4. Rappresentazione schematica della procedura utilizzata per le prove di adsorbimento

I nanotubi vengono allontanati dalla soluzione utilizzando un sistema di filtrazione sottovuoto costituito da un setto di vetro su cui viene depositato un filtro in polycarbonato (PC) con pori di diametro pari a $0.1 \mu\text{m}$.

Questo sistema di filtraggio è stato preferito rispetto a sistemi monouso, come la filtrazione su siringa, perché quest'ultimi prevedono l'utilizzo di filtri con pori di diametri maggiori rispetto a $0.1 \mu\text{m}$ che non trattengono la nanostruttura funzionalizzata. La concentrazione di inquinante residua in soluzione dopo l'adsorbimento è stata rilevata con spettroscopia UV-visibile o con HPLC-UV ed è stata riportata in grafico in funzione del tempo di adsorbimento.

3.2.1 Esperimenti di adsorbimento di BM su MWCNT e MWCNT-S

Le prove di adsorbimento di BM su MWCNT, sia in acqua MilliQ che in tampone fosfato, sono state svolte con tempi di adsorbimento di 10, 20, 30 e 60 minuti. Le prove di adsorbimento su MWCNTS sono state svolte con tempi di adsorbimento di 1, 6, 10 e 30 minuti. In quest'ultimo caso i tempi sono stati ridotti rispetto ai MWCNT perché si è notato un raggiungimento più veloce di una situazione di equilibrio nell'adsorbimento di BM. La quantificazione del blu di metilene residuo in soluzione dopo l'adsorbimento è stata eseguita tramite spettroscopia UV-visibile con

calibrazione esterna; le rette di calibrazione in acqua MilliQ e in tampone fosfato sono riportate in *Appendice*. Le concentrazioni residue di BM sono state espresse come percentuale, riferite a una concentrazione iniziale di 50 ppm.

In *Figura 3.5* sono riportati gli andamenti della concentrazione percentuale di BM residua in funzione del tempo di adsorbimento per MWCNT e MWCNT-S in acqua MilliQ. In *Figura 3.6* sono riportati gli stessi andamenti per le prove svolte in tampone fosfato.

Confrontando gli andamenti delle concentrazioni percentuali di BM, sia in tampone fosfato sia in acqua MilliQ, è possibile osservare che la funzionalizzazione incrementa in modo significativo la capacità di adsorbimento dei nanotubi di carbonio; sia in termini di quantità di inquinante adsorbita sia in termini di tempo: la velocità di adsorbimento, infatti, risulta maggiore con la nanostruttura funzionalizzata.

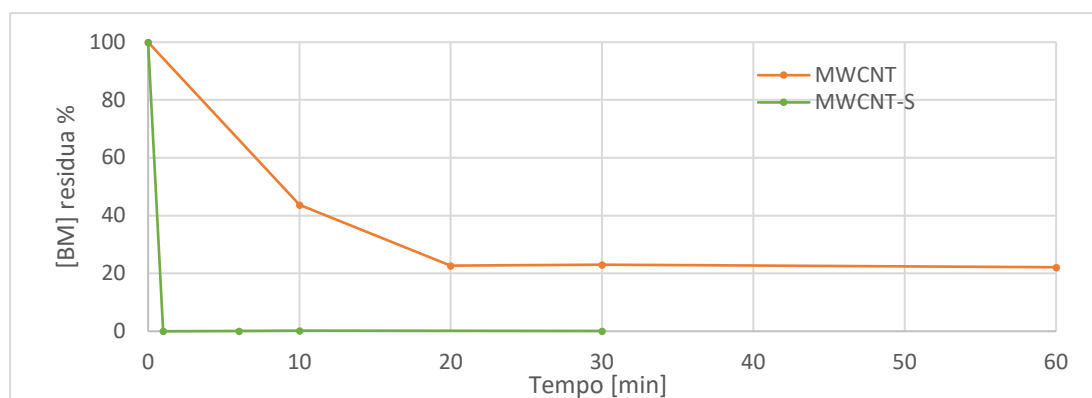


Figura 3.5. Andamenti delle concentrazioni percentuali residue di BM in funzione del tempo di adsorbimento in acqua MilliQ.

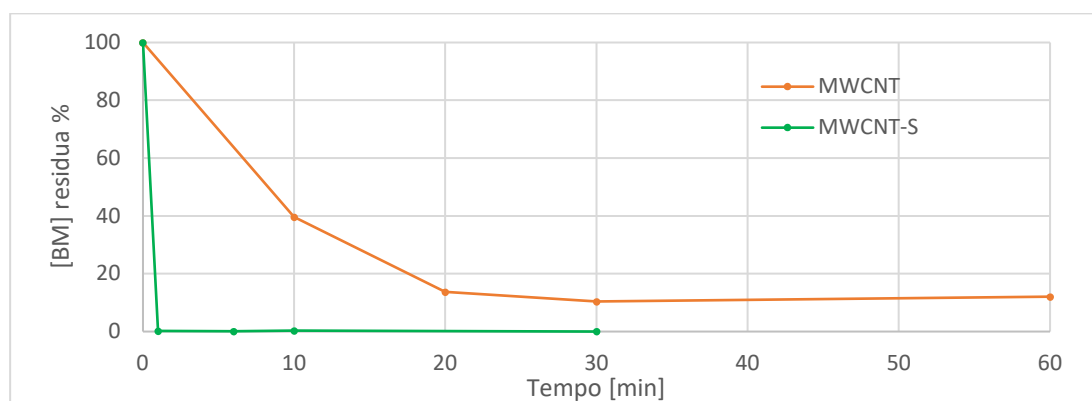


Figura 3.6. Andamenti delle concentrazioni percentuali residue di BM in funzione del tempo di adsorbimento in tampone fosfato (3 mM, pH 7).

In *Tabella 3.5* sono riportate le concentrazioni percentuali di BM residue in acqua MilliQ, in seguito all'adsorbimento per i diversi tempi su MWCNT e MWCNT-S. In *Tabella 3.6* sono riportate analogamente le concentrazioni percentuali di BM residue in seguito all'adsorbimento su MWCNT e MWCNT-S in tampone fosfato.

Le percentuali residue di BM dopo l'adsorbimento su MWCNT-S sono prossime allo 0%; apparentemente la nanostruttura non avrebbe quindi raggiunto la sua massima capacità di adsorbimento. Svolgendo le prove di adsorbimento si è però osservato che il sistema di filtraggio, composto da setto di vetro e filtro, ha un contributo non trascurabile nell'adsorbimento del BM.

Tempo [min]	[BM] (%)	[BM] (%)
	MWCNT	MWCNT-S
10	43.7	0.09
20	22.7	0.10
30	23.0	0.18
60	22.2	0.13

Tabella 3.5. Concentrazioni percentuali di BM residue in soluzione in seguito all'adsorbimento su MWCNT e MWCNT-S in acqua MilliQ.

Tempo [min]	[BM] (%)	[BM] (%)
	MWCNT	MWCNT-S
1	39.6	0.18
6	13.8	0.11
10	10.4	0.28
30	12.1	0.07

Tabella 3.6. Concentrazioni percentuali di BM residue in soluzione in seguito all'adsorbimento su MWCNT e MWCNT-S in tampone fosfato (3 mM, pH 7).

Le percentuali di inquinante riportate sono quindi il frutto dell'adsorbimento della nanostruttura e del sistema di filtraggio. Si è scelto di svolgere alcuni bianchi filtrando

soluzioni a concentrazione diversa di BM, in modo da verificare se il solo sistema di filtraggio assorbe un quantitativo fisso di BM che può quindi essere sottratto all'adsorbimento totale.

Ne è risultato che il quantitativo di inquinante adsorbito dal sistema di filtraggio non è costante, ma dipende dalla concentrazione della soluzione di BM di partenza. Quest'ultima, durante le prove di adsorbimento, non è determinabile, in quanto la concentrazione di BM nella soluzione che deve essere filtrata dipende dal previo adsorbimento della nanostruttura. Utilizzando i dati relativi ai quantitativi di BM adsorbiti dal sistema di filtraggio ricavati con i bianchi e note le percentuali totali di adsorbimento risultate dalle prove, è stato possibile determinare un contributo approssimativo dell'adsorbimento del filtro compreso tra il 10% e il 20%; si può quindi affermare che i MWCNT-S raggiungono la loro massima capacità adsorbente e che la percentuale di BM dopo l'adsorbimento appare dello 0% a causa del contributo del sistema di filtraggio.

Le percentuali di adsorbimento riportate sono quindi valide per fare un confronto tra MWCNT e MWCNT-S e per stabilire che la funzionalizzazione determina un effetto positivo sull'adsorbimento, mentre i valori assoluti non sono indicativi dell'effettivo adsorbimento della sola nanostruttura.

Per ovviare al problema dell'adsorbimento da parte del sistema di filtraggio, è stata eseguita una ricerca in letteratura riguardante i sistemi comunemente utilizzati per rimuovere i nanotubi di carbonio in seguito all'adsorbimento del blu di metilene. Solitamente o vengono utilizzate nanostrutture non funzionalizzate, che, essendo più aggregate, consentono l'utilizzo di sistemi di filtraggio monouso con pori di dimensione maggiore.⁵⁴ In alternativa si utilizza la centrifugazione⁵⁵, o si utilizzano MWCNT con nanoparticelle magnetiche che vengono facilmente allontanate dalla soluzione⁵⁶ o si incorporano i nanotubi di carbonio in una matrice eliminando il problema di averli dispersi in soluzione.⁵⁷

La filtrazione con sistemi monouso, come spiegato nel *Paragrafo 3.2*, non è applicabile ai MWCNT-S. Anche la centrifugazione non è efficace perché i MWCNT-S sono molto disperdibili e precipitano difficilmente. La prospettiva più efficace per ovviare al problema della separazione sarebbe trovare una matrice in cui sia possibile

incorporare i MWCNT-S, eliminando quindi il problema di doverli separare dalla soluzione.

Si possono infine svolgere delle considerazioni sul tipo di interazioni che si instaurano tra i nanotubi di carbonio e blu di metilene che ne determinano l'adsorbimento.

I MWCNT pristini presentano una elevata area superficiale e una estesa superficie idrofobica che può interagire con il sistema aromatico del blu di metilene; si possono instaurare interazioni idrofobiche e interazioni π - π ⁴⁶ (si veda la rappresentazione in *Figura 3.7*).

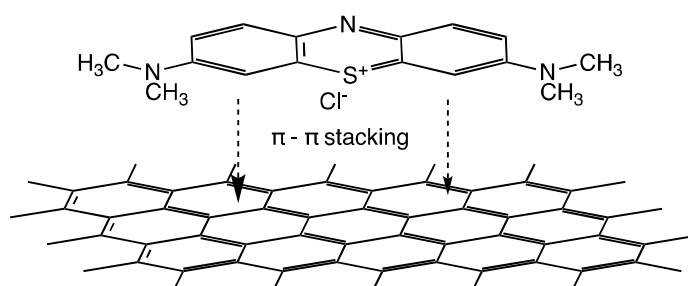


Figura 3.7. Rappresentazione dell'interazione π - π tra superficie di CNT e blu di metilene.

I nanotubi pristini sono però fortemente aggregati, per cui la funzionalizzazione può contribuire all'aumento della percentuale di adsorbimento del blu di metilene in due modi: in parte riducendo l'aggregazione dei nanotubi e aumentando la superficie disponibile per le interazioni descritte in precedenza, in parte consentendo l'instaurarsi di una interazione elettrostatica (*Figura 3.8*) tra il gruppo funzionale introdotto sui nanotubi, carico negativamente, e la molecola di blu di metilene, carica positivamente.

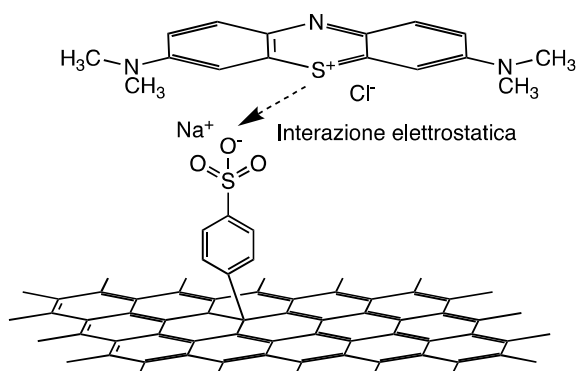


Figura 3.8. Rappresentazione dell'interazione elettrostatica tra blu di metilene e gruppo benzensolfonato sulla superficie di CNT.

3.2.2 Esperimenti di adsorbimento di CLB su MWCNT e MWCNT-S

Le prove di adsorbimento di CLB su MWCNT e MWCNT-S, sia in acqua MilliQ che in tampone fosfato, sono state svolte con tempi di adsorbimento di 10, 20, 30 e 60 minuti. In parallelo sono stati effettuati dei test di adsorbimento su bianchi procedurali, con l'obiettivo di verificare se ci fosse un adsorbimento di CLB da parte del sistema di filtraggio utilizzato per separare i nanotubi di carbonio dalla soluzione oppure da parte delle pareti interne della beuta di vetro utilizzata per le prove. I test sono stati condotti utilizzando la procedura descritta nel *Paragrafo 3.2* ma senza inserire il materiale adsorbente. Le prove di adsorbimento su bianchi procedurali sono state svolte in acqua MilliQ e in tampone fosfato, confrontando gli stessi tempi degli esperimenti condotti con il materiale adsorbente.

La quantificazione del clenbuterolo residuo in soluzione dopo l'adsorbimento è stata eseguita tramite analisi HPLC-UV con calibrazione esterna; le rette di calibrazione in acqua MilliQ e in tampone fosfato sono riportate in *Appendice*.

Le concentrazioni di CLB risultanti dalle prove di adsorbimento su bianchi procedurali sono prossime alla concentrazione iniziale della soluzione (50 ppm), con delle leggere oscillazioni attorno a questo valore che possono essere attribuite a fattori sperimentali. Il clenbuterolo, a differenza del blu di metilene, non viene adsorbito né dal sistema di filtraggio né dalla beuta di vetro utilizzata per le prove di adsorbimento. Le concentrazioni di CLB residue in soluzione, in seguito all'adsorbimento su CNT, sono state quindi espresse come percentuale riferendosi alla concentrazione risultante dalle corrispettive prove su bianchi procedurali.

In *Figura 3.9* sono riportati gli andamenti della concentrazione percentuale di CLB residua in funzione del tempo di adsorbimento per MWCNT e MWCNT-S in acqua MilliQ. In *Tabella 3.7* sono riportate le concentrazioni percentuali di CLB in acqua MilliQ in seguito all'adsorbimento su MWCNT e MWCNT-S.

Confrontando gli andamenti delle concentrazioni percentuali residue di CLB in acqua MilliQ si evidenzia che la funzionalizzazione apporta un incremento modesto alla capacità di adsorbimento di MWCNT. Dopo 60 minuti, la concentrazione percentuale CLB residua in soluzione in seguito all'adsorbimento su MWCNT è pari all'83%; cala invece al 65% utilizzando MWCNT-S. La funzionalizzazione migliora quindi le capacità

di adsorbimento dei nanotubi di carbonio abbassando di circa il 20% la concentrazione percentuale di CLB residua in soluzione.

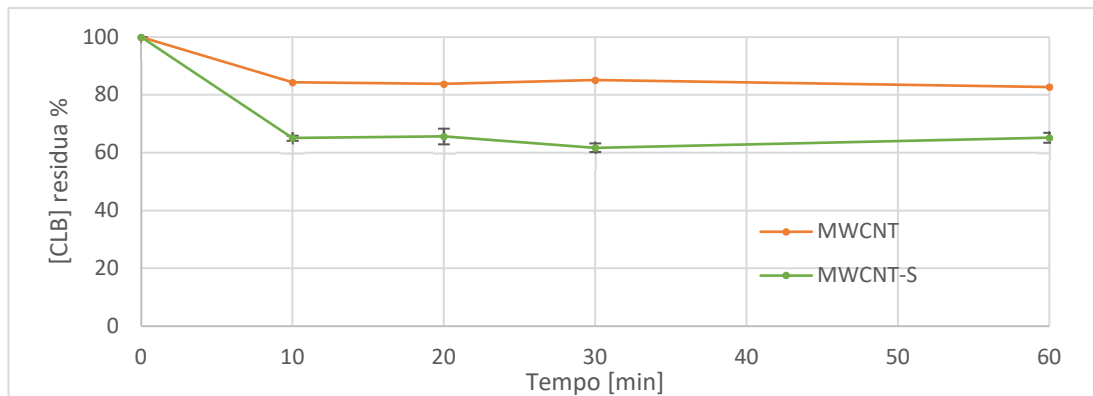


Figura 3.9. Andamenti delle concentrazioni percentuali residue di CLB in funzione del tempo di adsorbimento in acqua MilliQ.

Tempo [min]	[CLB] (%)	[CLB] (%)
	MWCNT	MWCNT-S
10	84.4	65.0 ± 0.9
20	83.8	65.6 ± 2.7
30	85.1	61.7 ± 1.5
60	82.8	65.2 ± 1.7

Tabella 3.7. Concentrazioni percentuali di CLB residue in soluzione in seguito all'adsorbimento su MWCNT e MWCNT-S in acqua MilliQ.

Per accertare la riproducibilità dei dati con l'utilizzo di MWCNT-S provenienti da batch di reazione differenti, si è scelto di eseguire due serie di prove di adsorbimento di CLB su MWCNT-S in acqua MilliQ. Per ciascuna serie sono stati analizzati i tempi di adsorbimento citati sopra e sono stati utilizzati MWCNT-S provenienti da un singolo batch di reazione. I dati riportati sono la media delle due repliche con rispettivo errore (le modalità di calcolo di quest'ultimo sono riportate nel *Paragrafo 5.3.8*). La variabilità delle concentrazioni percentuali di CLB residue in soluzione in seguito all'adsorbimento su MWCNT-S provenienti da due batch diversi è risultata compresa tra 1 e 4%, per cui si può affermare che l'effetto della funzionalizzazione sulle capacità

di adsorbimento di CLB dei nanotubi di carbonio ha una buona riproducibilità. Le prove di adsorbimento di CLB su MWCNT sono state invece effettuate su singola misura, pertanto i valori sono riportati senza errori. D'altra parte, in questi esperimenti la concentrazione di equilibrio viene raggiunta in un tempo inferiore a 10 minuti, per cui è la concentrazione che viene misurata in tutti gli esperimenti, anche se eseguiti a diversi tempi. Si tratta di esperimenti indipendenti tra loro, in cui la differenza massima ottenuta nel valore di percentuale residua è pari al 3%. Si può dunque concludere che anche questi dati hanno una buona riproducibilità e che la differenza nelle capacità di adsorbimento di MWCNT e MWCNT-S osservata in acqua MilliQ è significativa.

In *Figura 3.10* sono riportati gli andamenti della concentrazione percentuale di CLB residua in funzione del tempo di adsorbimento per MWCNT e MWCNT-S in tampone fosfato. In *Tabella 3.8* sono riportate le concentrazioni percentuali di CLB in tampone fosfato in seguito all'adsorbimento su MWCNT e MWCNT-S.

Osservando gli andamenti si evidenzia che in tampone fosfato le capacità di adsorbimento di CLB di MWCNT e MWCNT-S sono analoghe. Dopo 60 minuti, la concentrazione percentuale di CLB residua in soluzione in seguito all'adsorbimento su MWCNT è pari al 73%, utilizzando MWCNT-S risulta pari al 76%, valori che non differiscono significativamente.

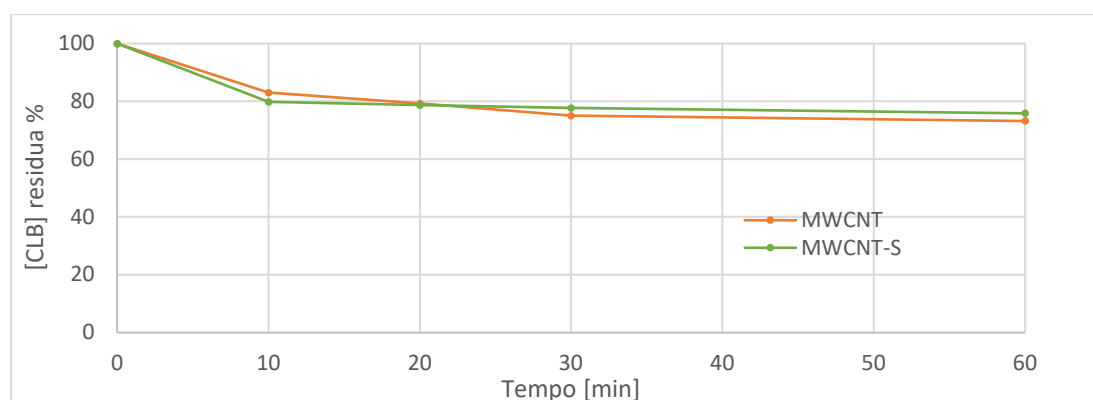


Figura 3.10. Andamenti delle concentrazioni percentuali residue di CLB in funzione del tempo di adsorbimento in tampone fosfato (3mM, pH 7).

Tempo [min]	[CLB] (%)	[CLB] (%)
	MWCNT	MWCNT-S
10	83.0	79.8
20	79.3	78.7
30	75.1	77.7
60	73.2	75.9

Tabella 3.8. Concentrazioni percentuali di CLB residue in soluzione in seguito all'adsorbimento su MWCNT e MWCNT-S in tampone fosfato (3mM, pH 7).

Non avendo osservato un effetto della funzionalizzazione sulle capacità di adsorbimento di MWCNT si è scelto di non replicare le prove di adsorbimento su MWCNT-S in tampone fosfato; quest'ultime sono state eseguite su singola misura e pertanto sono riportate senza errore.

Considerando le possibili interazioni instaurabili tra CLB e nanotubi di carbonio si possono fare delle ipotesi per razionalizzare i diversi esiti delle prove di adsorbimento in acqua MilliQ e in tampone fosfato.

Il CLB presenta un gruppo amminico nella catena laterale alifatica con $pK_a = 9.6^{58}$ che quindi risulta protonato sia in tampone fosfato (pH 7) sia in acqua MilliQ. Il CLB è quindi carico positivamente nelle condizioni di svolgimento delle prove.

In acqua MilliQ è stato osservato che le capacità di adsorbimento di MWCNT-S sono maggiori rispetto alle capacità di adsorbimento di MWCNT. Tale differenza può essere attribuita al fatto che, mentre le uniche interazioni instaurabili tra CLB e MWCNT sono forze di dispersione e π - π stacking (si veda la rappresentazione in *Figura 3.11*), l'utilizzo di MWCNT-S introduce la possibilità di instaurare anche una interazione elettrostatica (*Figura 3.12*). Tale interazione si sviluppa tra il gruppo amminico presente nella catena alifatica di CLB e il gruppo benzensolfonato carico negativamente introdotto sulla superficie di MWCNT.

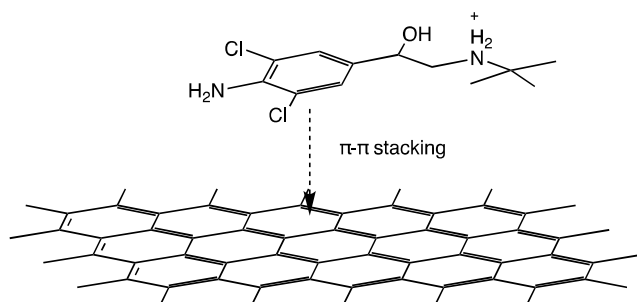


Figura 3.11. Rappresentazione dell'interazione π - π tra superficie di CNT e clenbuterolo.

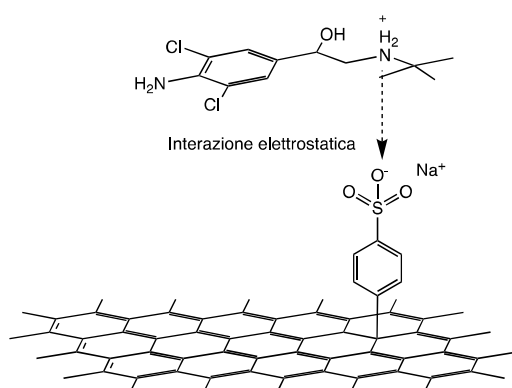


Figura 3.12. Rappresentazione dell'interazione elettrostatica tra blu di metilene e gruppo benzensolfonato sulla superficie di CNT.

In tampone fosfato è risultato che la funzionalizzazione non migliora le capacità di adsorbimento della nanostruttura pristina. Questa evidenza può essere spiegata ipotizzando che si realizzi una competizione ionica tra gli ioni positivi del tampone e il gruppo amminico di CLB per l'interazione con il gruppo benzensolfonato presente su MWCNT.

È possibile infine confrontare gli andamenti delle concentrazioni percentuali residue in soluzione di CLB e BM. Si osserva che la concentrazione percentuale di BM residua in soluzione in seguito all'adsorbimento, sia su MWCNT sia su MWCNT-S, è molto inferiore rispetto alla concentrazione percentuale di CLB. Si possono fare delle considerazioni sulle differenze strutturali esistenti tra queste due molecole per razionalizzare i diversi andamenti. Per quanto riguarda l'adsorbimento su nanotubi di carbonio non funzionalizzati, il BM ha un sistema aromatico più esteso rispetto a CLB (che invece presenta un solo anello benzenico); quindi, l'interazione di BM con MWCNT attraverso π - π stacking è maggiore.

Il differente effetto della funzionalizzazione sulle capacità di adsorbimento di BM e CLB su MWCNT-S può essere invece spiegato prendendo in considerazione l'interazione elettrostatica che si instaura tra l'inquinante e la funzionalizzazione sui nanotubi di carbonio. Nel clenbuterolo la carica positiva si trova su un gruppo amminico in una catena alchilica ed è legato ad un *terz*-butile, mentre nel blu di metilene la carica positiva si trova sull'atomo di zolfo compreso nel sistema aromatico (con possibilità di delocalizzazione). È possibile ipotizzare che l'ingombro sterico della catena laterale nel clenbuterolo renda meno efficace l'interazione con la funzionalizzazione rispetto al blu di metilene.

3.2.3 Esperimenti di adsorbimento di CBZ su MWCNT e MWCNT-S

Le prove di adsorbimento di CBZ su MWCNT e MWCNT-S, sia in acqua MilliQ che in tampone fosfato, sono state svolte con tempi di adsorbimento di 10, 20, 30 e 60 minuti. Analogamente a CLB, sono state svolte delle prove di adsorbimento su bianchi procedurali, per verificare se ci fosse un adsorbimento di CBZ da parte del sistema di filtraggio utilizzato per separare i nanotubi di carbonio dalla soluzione oppure da parte delle pareti interne della beuta di vetro utilizzata per le prove.

La quantificazione della carbamazepina residua in soluzione dopo l'adsorbimento è stata eseguita tramite analisi HPLC-UV con calibrazione esterna; le rette di calibrazione in acqua MilliQ e in tampone fosfato sono riportate in *Appendice*.

Le concentrazioni residue di CBZ sono state espresse come percentuale riferendosi alla concentrazione iniziale risultante dall'analisi HPLC-UV dei corrispettivi bianchi procedurali associati a ciascuna prova.

Anche nel caso di CBZ le concentrazioni risultanti dalle prove di adsorbimento su bianchi procedurali sono prossime alla concentrazione iniziale della soluzione (50 ppm). La carbamazepina non viene quindi adsorbita né dal sistema di filtraggio né dalla beuta di vetro utilizzata per le prove di adsorbimento.

Le concentrazioni di CBZ residue in soluzione, in seguito all'adsorbimento su CNT, sono state quindi espresse come percentuale rispetto alla concentrazione misurata nelle corrispettive prove su bianchi procedurali.

In *Figura 3.13* sono riportati gli andamenti della concentrazione percentuale di CBZ residua in funzione del tempo di adsorbimento per MWCNT e MWCNT-S in acqua MilliQ. In *Figura 3.14* sono riportati gli stessi andamenti per le prove svolte in tampone fosfato.

Confrontando gli andamenti delle concentrazioni percentuali di CBZ in acqua MilliQ e in tampone fosfato si osserva, a differenza di quanto visto con gli inquinanti precedenti, che l'introduzione della funzionalizzazione sui nanotubi di carbonio peggiora le capacità di adsorbimento di CBZ rispetto alla nanostruttura pristina.

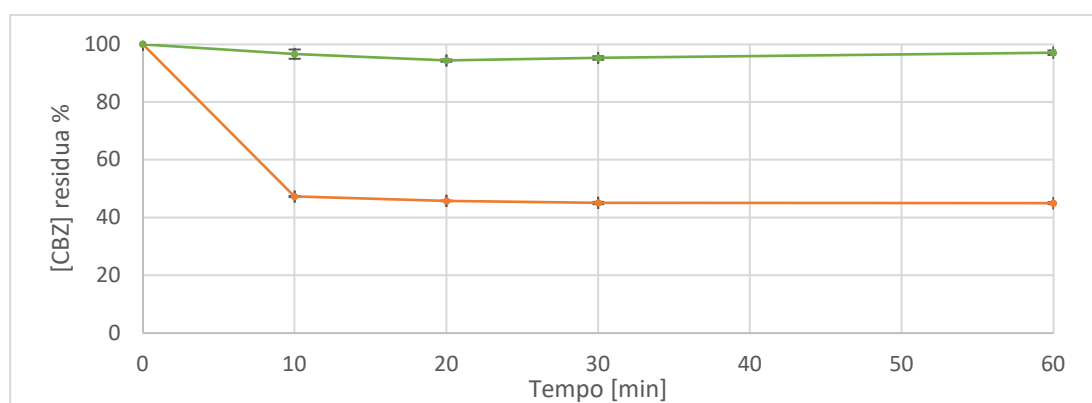


Figura 3.13. Andamenti delle concentrazioni percentuali residue di CBZ in funzione del tempo di adsorbimento in acqua MilliQ.

Tempo [min]	[CBZ] (%)	[CBZ] (%)
	MWCNT	MWCNT-S
10	47.26 ± 0.14	96.6 ± 1.6
20	45.74 ± 0.11	94.39 ± 0.36
30	45.09 ± 0.38	95.28 ± 0.64
60	44.99 ± 0.33	97.07 ± 0.77

Tabella 3.9. Concentrazioni percentuali di CBZ residue in soluzione in seguito all'adsorbimento su MWCNT e MWCNT-S in acqua MilliQ.

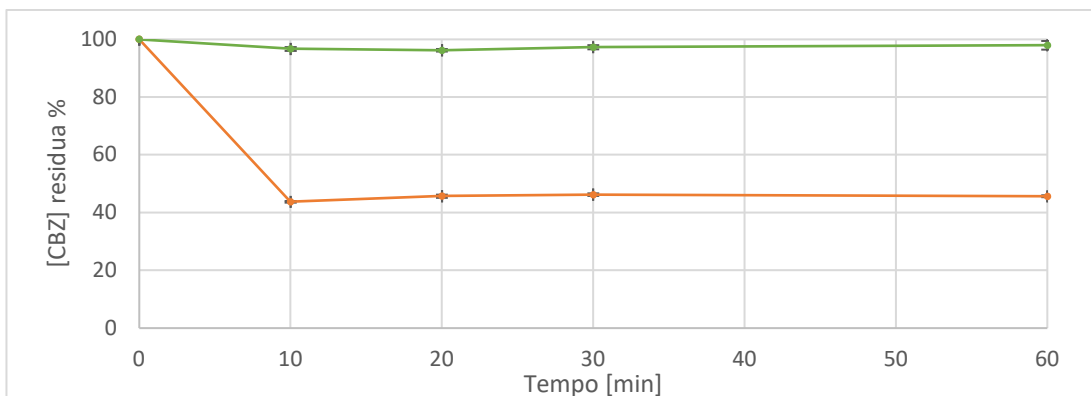


Figura 3.14. Andamenti delle concentrazioni percentuali residue di CBZ in funzione del tempo di adsorbimento in tampone fosfato.

Tempo [min]	[CBZ] (%)	[CBZ] (%)
	MWCNT	MWCNT-S
10	43.73 ± 0.25	96.69 ± 0.65
20	45.67 ± 0.53	96.20 ± 0.46
30	46.20 ± 0.47	97.26 ± 0.71
60	45.62 ± 0.33	97.9 ± 1.5

Tabella 3.10. Concentrazioni percentuali di CBZ residue in soluzione in seguito all'adsorbimento su MWCNT e MWCNT-S in tampone fosfato (3mM, pH7).

Le Tabelle 3.9 e 3.10 mettono a confronto le concentrazioni percentuali residue di CBZ in acqua MilliQ in seguito all'adsorbimento su MWCNT e MWCNT-S e le stesse relative alle prove di adsorbimento in tampone fosfato.

Con delle leggere oscillazioni nel tempo, utilizzando MWCNT la concentrazione percentuale di CBZ residua in soluzione in seguito all'adsorbimento è pari al 45%, mentre utilizzando MWCNT-S la concentrazione percentuale di CBZ residua in soluzione è pari al 96%.

Si è scelto di non eseguire repliche delle prove, sia perché dopo 10 minuti si è già raggiunta la concentrazione di equilibrio e i risultati ottenuti ai diversi tempi sono tra loro analoghi, sia perché da entrambe le prove è risultato evidente che la funzionalizzazione non produce un effetto positivo sulla capacità di adsorbimento dell'inquinante.

Tuttavia, per ciascuna prova sono state prelevate due aliquote di filtrato per l'analisi HPLC – UV; in modo da testare la ripetibilità di risultati ottenuti con una procedura identica. I dati riportati sono la media dei valori di concentrazione risultanti dalle analisi delle due aliquote con rispettivo errore (le modalità di calcolo di quest'ultimo sono riportate nel *Paragrafo 5.3.11*).

Anche in questo caso si possono fare delle considerazioni sui tipi di interazioni che si possono instaurare tra inquinante e nanostruttura per razionalizzare gli andamenti osservati.

La carbamazepina è una molecola neutra che presenta un sistema π ; quest'ultimo può dare quindi interazioni con il sistema aromatico di MWCNT analoghe a quelle descritte per i precedenti inquinanti, quali forze di dispersione e interazioni π - π (rappresentazione in *Figura 3.15*). L'interazione π - π nel caso della carbamazepina è rinforzata dal fatto che il gruppo $-NH_2$ e il doppietto elettronico sull'azoto compreso nell'anello sono dei donatori di elettroni che arricchiscono di densità elettronica la molecola favorendo l'interazione π - π EDA.⁵⁹

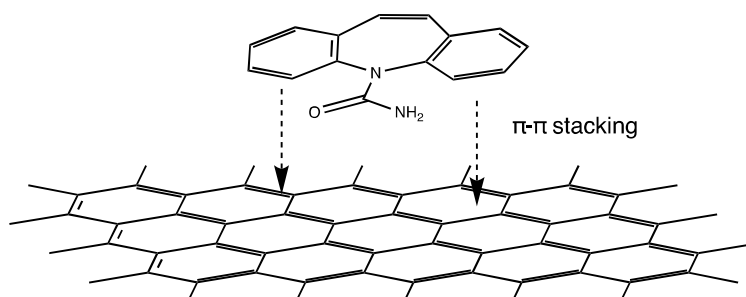


Figura 3.15. Rappresentazione dell'interazione π - π tra superficie di CNT e carbamazepina.

L'introduzione della funzionalizzazione sulla superficie dei nanotubi aumenta la disperdibilità di MWCNT perché si instaura una repulsione elettrostatica fra i gruppi carichi negativamente introdotti sulla superficie dei nanotubi di carbonio; la funzionalizzazione, quindi, aumenta la superficie disponibile all'adsorbimento grazie alla riduzione dell'aggregazione ma introduce anche gruppi carichi sulla superficie. Nel caso della carbamazepina, che è una molecola neutra, si può ipotizzare che l'introduzione dei gruppi carichi negativamente su MWCNT limiti la possibilità di

interazione della carbamazepina con la superficie dei nanotubi di carbonio, oscurando l'effetto positivo che avrebbe l'aumento della disperdibilità.

3.2.4 Esperimenti di adsorbimento di CLB su alginato di calcio e materiale nanocomposito

Dopo aver effettuato uno studio iniziale sulle capacità di adsorbimento di MWCNT e sull'effetto dell'introduzione di una funzionalizzazione su quest'ultime, si è scelto di indagare la possibilità di incorporare i nanotubi di carbonio all'interno di una matrice porosa di alginato di calcio (CA).

Questa tecnica offre il vantaggio di combinare le proprietà di adsorbimento dei nanotubi di carbonio con quelle del materiale in cui vengono inseriti. Inoltre, l'utilizzo dei nanotubi di carbonio per l'adsorbimento di inquinanti pone il problema di doverli separare dalla soluzione dopo l'utilizzo, in modo da evitare una contaminazione delle acque da residui di CNT.⁶⁰ Questo implica l'utilizzo di procedure come la filtrazione. Incorporando i nanotubi di carbonio all'interno dell'alginato di calcio si elimina il problema di dover separare i nanotubi dalla soluzione.

L'alginato è stato scelto come matrice perché è di origine naturale, viene estratto dalle alghe brune, non è tossico, non è dannoso per l'ambiente, è economico e presenta gruppi carbossilati che possono dare interazioni con più gruppi funzionali.⁶¹ In letteratura sono già riportati numerosi studi sull'utilizzo dell'alginato di calcio e di materiali nanocompositi costituiti da MWCNT e CA per l'adsorbimento di coloranti cationici, tra cui BM.⁶²⁻⁶⁵ Si è scelto quindi di utilizzare l'alginato per l'adsorbimento di farmaci, che è stato testato su CLB.

Le prove di adsorbimento sono state eseguite in acqua MilliQ perché l'alginato di calcio in tampone fosfato darebbe scambio ionico degli ioni Ca^{2+} nel reticolo dell'alginato con gli ioni Na^+ del tampone, con conseguente perdita della struttura tipica dell'alginato.⁶⁶

Si è scelto di testare inizialmente l'adsorbimento di CLB su CA, e poi sul materiale nanocomposito dato da CA e MWCNT-S. La scelta di utilizzare i nanotubi funzionalizzati deriva da due motivi: sono maggiormente disperdibili rispetto a MWCNT, quindi si possono distribuire più omogeneamente nella matrice di alginato. Inoltre, gli esperimenti condotti in questo lavoro di tesi hanno dimostrato che

MWCNT-S hanno migliori capacità di adsorbimento di CLB rispetto a MWCNT: si è quindi voluto verificare se l'alginato potesse migliorarne ulteriormente l'efficienza.

La preparazione delle sfere di alginato di calcio è stata eseguita con metodo di gelazione esterna, secondo la procedura dettagliata riportata nel *Paragrafo 5.3.5*. Le prove di adsorbimento sono state svolte con la procedura descritta al *Paragrafo 5.3.9*, di cui è riportata una rappresentazione schematica in *Figura 3.16*.

Il metodo scelto prevede l'introduzione delle sfere di CA in una soluzione ottenuta unendo 20 mL di acqua MilliQ e 5 mL di soluzione concentrata di CLB (la preparazione di quest'ultima è riportata nel *Paragrafo 5.3.3*). La soluzione viene posta ad agitare per tempi di 1, 3, 5 e 24 ore. Viene poi prelevata una aliquota di 1 mL di soluzione per la quantificazione di CLB tramite analisi HPLC – UV. Le concentrazioni di CLB residue in soluzione sono state espresse come percentuale, riferendosi alla concentrazione iniziale risultante dall'analisi HPLC – UV di una soluzione ottenuta unendo 20 mL di acqua MilliQ e 5 mL di soluzione concentrata di CLB. La concentrazione iniziale è circa 50ppm.

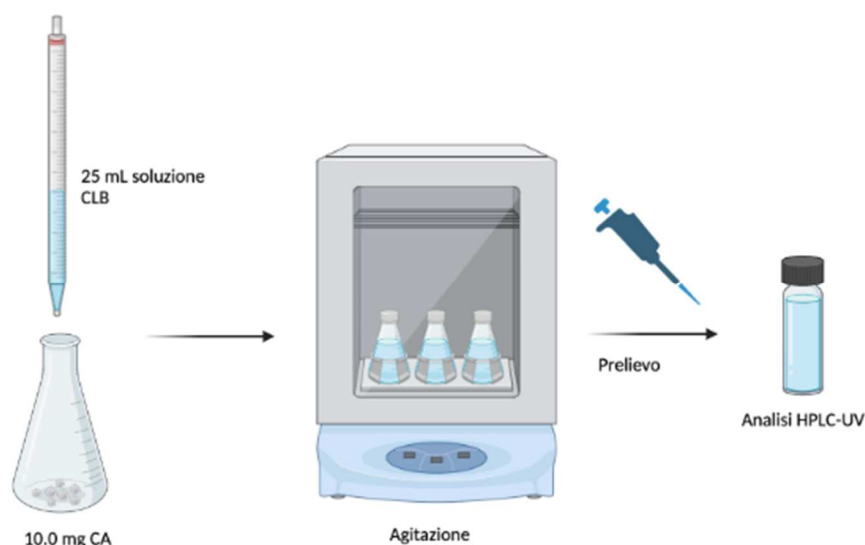


Figura 3.16. Rappresentazione schematica della procedura utilizzata per le prove di adsorbimento di CLB su CA.

In *Figura 3.17* è riportato l'andamento della concentrazione percentuale di CLB residua in soluzione dopo l'adsorbimento su CA in funzione del tempo di adsorbimento. Si osserva che la concentrazione percentuale di CLB residua è pari a circa il 98%, l'alginato non ha quindi capacità di adsorbimento di CLB.

Si è passati poi ad eseguire le prove con il materiale nanocomposito, la cui procedura di preparazione è riportata al *Paragrafo 4.3.6*. Le prove di adsorbimento sono state svolte con la procedura descritta al *Paragrafo 4.3.10*; è analoga alla procedura utilizzata per le prove di adsorbimento su CA, ma prevede l'utilizzo di sfere di nanocomposito dato da CA e MWCNT come materiale adsorbente.

In *Figura 3.18* è riportato l'andamento della concentrazione percentuale di CLB residua in soluzione dopo l'adsorbimento sul materiale nanocomposito in funzione del tempo di adsorbimento.

Si osserva che la concentrazione percentuale di CLB residua è anche in questo caso pari al 95%, quindi l'alginato peggiora le capacità di adsorbimento dei MWCNT-S rispetto a quando si trovano liberi in soluzione.

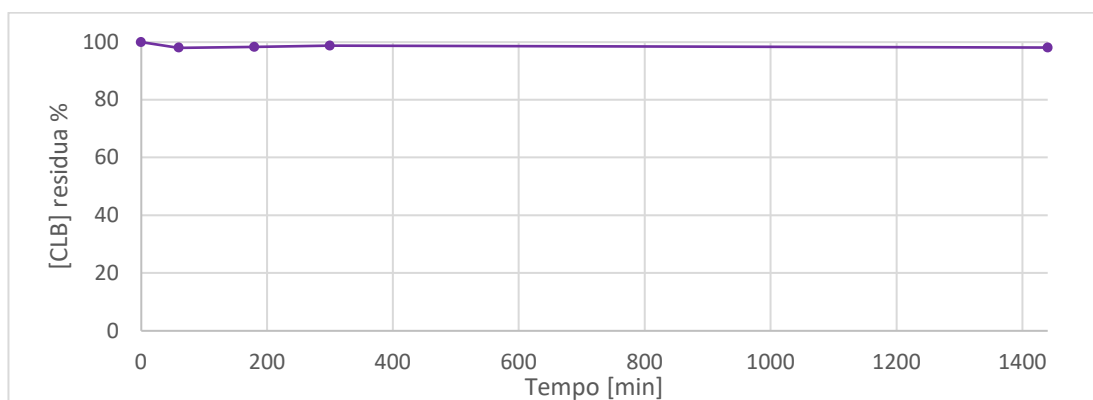


Figura 3.17. Andamenti delle concentrazioni percentuali residue di CLB in funzione del tempo di adsorbimento su CA in acqua MilliQ.

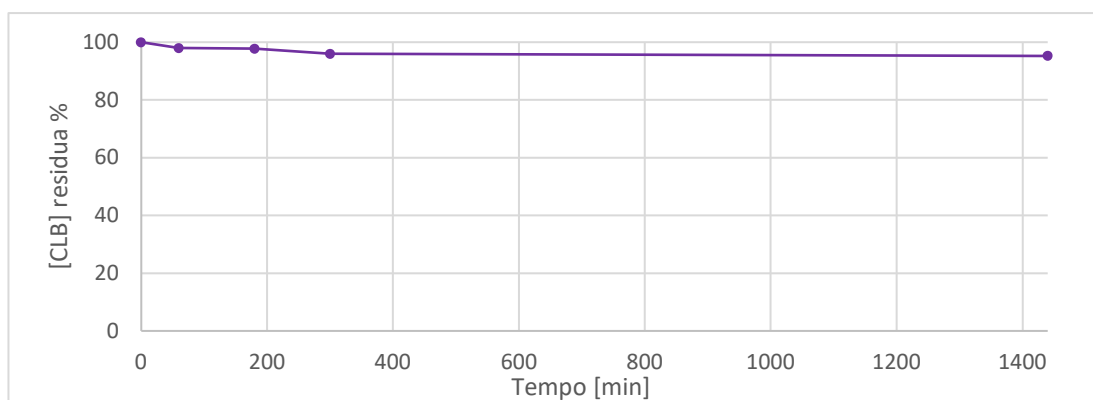


Figura 3.18. Andamenti delle concentrazioni percentuali residue di CLB in funzione del tempo di adsorbimento su nanocomposito (CA + MWCNT-S) in acqua MilliQ.

In letteratura sono riportati studi che descrivono la struttura di sfere di alginato di calcio prodotto con metodo di gelazione esterna. Questo metodo di produzione dell'alginato di calcio comporta la formazione di una struttura densa, costituita da pori molto piccoli. Inoltre, tali studi riportano che la concentrazione di ioni Ca^{2+} nella parte esterna delle sfere risulta maggiore rispetto a quella all'interno; questo porta ad avere una struttura molto fitta e reticolata all'esterno e con una porosità maggiore all'interno.⁶⁷ Si può ipotizzare che la scarsa capacità di adsorbimento di CLB sia dovuta alla difficoltà di permeazione della soluzione all'interno dei pori dell'alginato. Nonostante molti studi riportino l'efficacia nell'utilizzo di CA nell'ambito dell'adsorbimento di diverse molecole⁶⁰⁻⁶⁵, esiste comunque una forte variabilità nella reticolazione a causa della diversa composizione dell'alginato di calcio⁶⁸. È quindi possibile che l'eccessiva reticolazione sia dovuta alla composizione dell'alginato utilizzato.

Nel caso del materiale nanocomposito è possibile che l'introduzione dei nanotubi nell'alginato limiti la loro capacità di adsorbimento perché, essendo i pori poco penetrabili dalla soluzione, la superficie dei nanotubi incorporata nella matrice non viene resa disponibile all'adsorbimento.

4. Conclusioni e prospettive future

In questo lavoro di Tesi è stato sintetizzato un derivato funzionalizzato di nanotubi di carbonio a parete multipla. Si è scelto di introdurre un gruppo benzensolfonato carico negativamente su MWCNT utilizzando come metodo di funzionalizzazione la reazione di Tour.

È stato poi eseguito uno studio sull'efficacia dei nanotubi di carbonio per la rimozione di tre contaminanti organici da matrici acquose: blu di metilene, clenbuterolo e carbamazepina.

In particolare, è stata focalizzata l'attenzione sulla modalità con cui la funzionalizzazione introdotta su MWCNT influenza la capacità di adsorbimento degli inquinanti e sul tipo di interazioni instaurabili tra le molecole testate e la nanostruttura. A tale scopo le prove di adsorbimento sono state effettuate sia sui nanotubi pristini sia sui nanotubi funzionalizzati. Si è voluto inoltre testare l'influenza del mezzo acquoso in cui sono state condotte le prove; pertanto, quest'ultime sono state svolte sia in acqua MilliQ sia in tampone fosfato.

Il blu di metilene è stato efficacemente adsorbito da MWCNT, probabilmente grazie all'interazione tra i sistemi aromatici della molecola e della nanostruttura. È stato dimostrato inoltre che la funzionalizzazione migliora notevolmente le capacità di adsorbimento di BM; si è attribuita tale evidenza al possibile instaurarsi di una interazione elettrostatica tra BM e la funzionalizzazione introdotta su MWCNT. Tali effetti sono risultati riproducibili sia in acqua MilliQ sia in tampone fosfato.

Il clenbuterolo è stato meno efficacemente assorbito da MWCNT rispetto al blu di metilene. Tale evidenza è stata attribuita al fatto che CLB ha un sistema aromatico molto meno esteso rispetto a BM, ne consegue una limitata capacità di interazione con le pareti di MWCNT. La funzionalizzazione dei nanotubi di carbonio ha prodotto un miglioramento nell'adsorbimento di CLB solo in acqua MilliQ e non in tampone fosfato. L'effetto della funzionalizzazione è stato attribuito all'instaurarsi di una interazione elettrostatica tra il gruppo ammonio carico positivamente di CLB e la funzionalizzazione introdotta su MWCNT. Questa interazione risulta però limitata in tampone fosfato a causa del possibile instaurarsi di una competizione ionica tra gli

ioni Na⁺ contenuti nel tampone e CLB per l'interazione con il gruppo benzensolfonato su MWCNT.

Nel caso della carbamazepina, l'unica molecola neutra testata, è stata osservata una buona capacità di adsorbimento su MWCNT. A differenza delle altre molecole si è però osservato che la funzionalizzazione peggiora le capacità di adsorbimento rispetto alla nanostruttura pristina. Probabilmente l'introduzione di gruppi carichi sulla superficie dei nanotubi di carbonio limita la capacità di interazione del sistema π della carbamazepina con la superficie dei nanotubi. Tali effetti sono risultati riproducibili sia in acqua MilliQ sia in tampone fosfato.

Infine, i nanotubi di carbonio sono stati inseriti in una matrice porosa di alginato di calcio al fine di costituire un materiale nanocomposito. Sia l'alginato di calcio da solo, sia il materiale nanocomposito, sono stati testati per l'adsorbimento del clenbuterolo con lo scopo di verificare se una matrice porosa potesse migliorare le capacità di adsorbimento della nanostruttura funzionalizzata.

L'alginato di calcio non si è però rivelato una matrice opportuna per l'adsorbimento di CLB; tale evidenza è stata attribuita ad una reticolazione eccessiva dell'alginato utilizzato.

In futuro, pertanto, alla luce delle considerazioni fatte sul tipo di interazioni che si possono instaurare tra nanostruttura e inquinanti e su come queste influiscono sull'adsorbimento, sarà possibile testare nuove molecole e sperimentare l'introduzione di funzionalizzazioni differenti sui nanotubi di carbonio. Inoltre, con l'obiettivo di incorporare i nanotubi in una matrice si potranno testare modalità di produzione dell'alginato differenti dalla gelazione esterna, in modo da ottenere una reticolazione minore e un conseguente eventuale miglioramento nelle capacità di adsorbimento.

5. Parte Sperimentale

5.1 Solventi e reagenti commerciali

Nelle tabelle 5.1, 5.2, e 5.3 sono riportati rispettivamente i reagenti, i nanotubi di carbonio e i solventi, utilizzati senza ulteriori purificazioni. L'acqua MilliQ utilizzata nelle analisi è acqua deionizzata filtrata attraverso il sistema MILLI-Q Millipore (conducibilità finale 18 mΩ).

Reagente	MW [g/mol]	Densità a 25°C [g/mL]	T _{eb} [°C]	Rivenditore
Isopentilnitrito	117.15	0.872	99	Sigma Aldrich
Sodio sulfanilato diidrato	231.2	/	/	Sigma Aldrich
Sodio fosfato bibasico dodecaidrato	358.14	/	/	Carlo Erba
Sodio fosfato monobasico monoidrato	137.99	/	/	Carlo Erba
Clenbuterolo idrocloreuro	313.65	/	/	Sigma Aldrich
Blu di metilene triidrato	373.90	/	/	Sigma Aldrich
Carbamazepina	236.27	/	/	Sigma Aldrich
Alginato di sodio	/	/	/	Sigma Aldrich
Cloruro di calcio	110.98	/	/	Merck
Acido formico	46.03	1.22	100 – 101	Sigma Aldrich

Tabella 5.1. Elenco dei reagenti utilizzati

Nanostruttura	Diametro esterno [nm]	Lunghezza [μm]	Area superficiale [m^2/g]	Rivenditore
Nanotubi di carbonio a parete multipla	8 – 15	0.5 – 2	>233	ACS Material

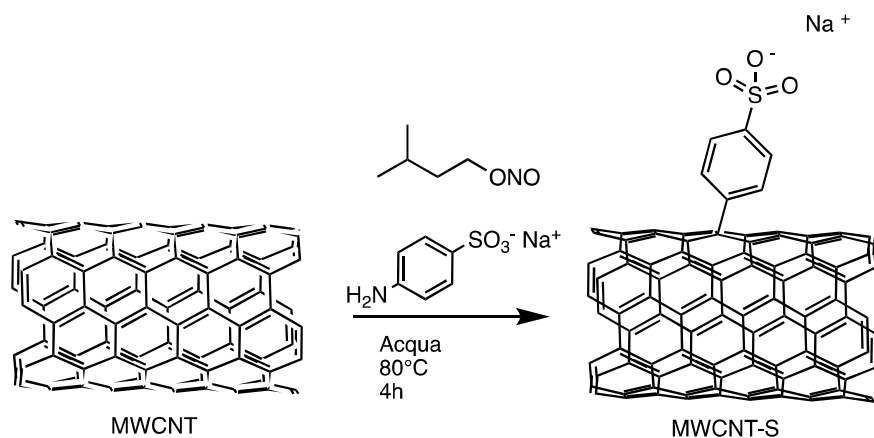
Tabella 5.2. Nanostruttura utilizzata

Solvente	MW [g/mol]	Densità a 25°C [g/mL]	T _{eb} [°C]	Rivenditore
Metanolo	32.04	0.7910	64.70	Sigma Aldrich
Acetonitrile (HPLC)	41.05	0.781 – 0.785 (20°C)	80 – 82	Carlo Erba
Metanolo (HPLC)	32	0.7910 – 0.7930 (20°C)	64.1 – 65.1	Carlo Erba

Tabella 5.3. Solventi utilizzati

5.2 Funzionalizzazione dei nanotubi

5.2.1 Funzionalizzazione attraverso reazione di Tour



In un pallone sono stati posti 50.0 mg (4.16 mmol) di MWCNT e una soluzione di 0.4812 g (2.08 mmol) di sodio sulfanilato diidrato in 7.5 mL di acqua milliQ. Il pallone è stato equipaggiato con ancoretta magnetica, isomantello, piastra riscaldante e ricadere a bolle. La reazione è stata condotta sotto flusso di azoto. La miscela di reazione è stata riscaldata fino al raggiungimento degli 80 °C. Sono stati aggiunti poi 590 µL (4.16 mmol) di isopentilnitrito. La reazione è stata lasciata procedere per 4 h, al termine la miscela di reazione è stata tolta dal riscaldamento. La sospensione è stata filtrata su filtro Isopore in policarbonato (diametro pori 0.1 µm). Il prodotto è stato lavato con sette aliquote da 50 mL di acqua MilliQ e con tre aliquote da 50 mL di metanolo. Il prodotto funzionalizzato è stato rimosso dal filtro tramite sonicazione in metanolo. Il prodotto è stato seccato utilizzando flusso di azoto.

5.3 Prove di adsorbimento

5.3.1 Preparazione del tampone fosfato (3 mM, pH 7)

In un matraccio da 500 mL sono stati introdotti 0.1269 g (0.9197 mmol) di $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ e 0.2078 g (0.5803 mmol) di $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. I due sali sono stati sciolti e la soluzione è stata portata a volume con acqua MilliQ. Il pH della soluzione è stato misurato con pHmetro ed è risultato pari a 7.00.

5.3.2 Preparazione della soluzione concentrata di blu di metilene

5.3.2.1 Soluzione concentrata di BM in acqua milliQ

In un matraccio da 100 mL sono stati introdotti 25 mg (0.067 mmol) di blu di metilene. Il solido è stato sciolto e la soluzione è stata portata a volume con acqua MilliQ.

5.3.2.2 Soluzione concentrata di BM in tampone fosfato

In un matraccio da 100 mL sono stati introdotti 25 mg (0.067 mmol) di blu di metilene. Il solido è stato sciolto e la soluzione è stata portata a volume con tampone fosfato.

5.3.3 Preparazione della soluzione concentrata di clenbuterolo

5.3.3.1 Soluzione concentrata di CLB in acqua milliQ

In un matraccio da 100 mL sono stati introdotti 25 mg (0.079 mmol) di clenbuterolo. Il solido è stato sciolto e la soluzione è stata portata a volume con acqua MilliQ.

5.3.3.2 Soluzione concentrata di CLB in tampone fosfato

In un matraccio da 100 mL sono stati introdotti 25 mg (0.079 mmol) di clenbuterolo. Il solido è stato sciolto e la soluzione è stata portata a volume con tampone fosfato.

5.3.4 Preparazione della soluzione concentrata di carbamazepina

5.3.4.1 Soluzione concentrata di CBZ in acqua milliQ

In un matraccio da 100 mL sono stati introdotti 12.5 mg (0.053 mmol) di carbamazepina. Il solido è stato sciolto e la soluzione è stata portata a volume con acqua MilliQ.

5.3.4.2 Soluzione concentrata di CBZ in tampone fosfato

In un matraccio da 100 mL sono stati introdotti 12.5 mg (0.053 mmol) di carbamazepina. Il solido è stato sciolto e la soluzione è stata portata a volume con tampone fosfato.

5.3.5 Preparazione di sfere di alginato di calcio

10 mL di una soluzione di alginato di sodio all'1% m/V sono stati aggiunti goccia a goccia all'interno di una soluzione di CaCl₂ al 3% m/V. Le sfere di alginato ottenute sono state mantenute per 1 ora nella soluzione di CaCl₂, in modo da consentirne la gelificazione. L'alginato è stato poi lavato più volte con acqua MilliQ, in modo da rimuovere i residui di cloruro di calcio ed essiccato per 16 h in stufa a 70 °C.

5.3.6 Preparazione del materiale nanocomposito

30 mg di MWCNT-S sono stati dispersi in 3 mL di acqua MilliQ (tramite sonicazione a micropunta per 3 minuti, 3 s pulse on, 3 s pulse off). 120 mg di alginato di sodio sono stati sciolti in 9 mL di acqua milliQ. La dispersione di nanotubi in acqua è stata unita

alla soluzione di alginato. La miscela ottenuta è stata aggiunta goccia a goccia a una soluzione di CaCl_2 al 3% m/V. Le sfere di alginato/ MWCNT-S ottenute sono state mantenute per 1 ora nella soluzione di CaCl_2 , in modo da consentirne la gelificazione. Il nanocomposito è stato poi lavato più volte con acqua MilliQ, in modo da rimuovere i residui di cloruro di calcio ed essiccato per 16 h in stufa a 70 °C.

5.3.7 Esperimenti di adsorbimento di blu di metilene

Per tutti gli esperimenti di adsorbimento è stata eseguita la procedura riportata di seguito. In una beuta da 100 mL sono stati posti 10 mg di materiale adsorbente, a cui sono stati aggiunti 20 mL di acqua MilliQ (o tampone fosfato, a seconda dell'esperimento). Il materiale adsorbente è stato disperso nel mezzo acquoso tramite sonicazione in bagno ad ultrasuoni per cinque minuti. Sono stati aggiunti poi 5 mL di soluzione concentrata di BM. La beuta è stata poi posta in agitatore orbitalico e lasciata agitare a 150 rpm per tempi variabili a seconda della prova. Una volta terminata l'agitazione, la soluzione è stata filtrata sottovuoto, utilizzando filtri in policarbonato (diametro filtro 47 mm, dimensione pori 0.1 μm) supportati su setto di vetro. I primi 20 mL di soluzione filtrata sono stati scartati, i 5 mL restanti sono stati utilizzati per la successiva analisi UV-visibile. Non sono stati eseguiti bianchi procedurali, come concentrazione iniziale ci si è riferiti alla concentrazione della soluzione che si ottiene aggiungendo a 20 mL di acqua MilliQ (o tampone fosfato), 5 mL di soluzione concentrata di BM, ossia 50 mg/L (0.13 mM).

Per l'analisi UV-visibile delle soluzioni di BM dopo l'adsorbimento in alcuni casi, in cui la soluzione è risultata concentrata, è stata effettuata una diluizione in cuvetta ponendo 200 μL di filtrato di BM in 2800 μL di acqua milliQ (o tampone fosfato).

5.3.8 Esperimenti di adsorbimento di clenbuterolo su nanotubi di carbonio

Per tutti gli esperimenti di adsorbimento è stata eseguita la procedura riportata di seguito. In una beuta da 100 mL sono stati posti 10 mg di materiale adsorbente, a cui sono stati aggiunti 20 mL di acqua MilliQ (o tampone fosfato, a seconda dell'esperimento). Il materiale adsorbente è stato disperso nel solvente tramite sonicazione in bagno ad ultrasuoni per cinque minuti. Sono stati aggiunti poi 5 mL di

soluzione concentrata di CLB. La beuta è stata poi posta in agitatore orbitalico e lasciata agitare a 150 rpm per tempi variabili a seconda della prova. Una volta terminata l'agitazione, la soluzione è stata filtrata a vuoto, utilizzando filtri in polycarbonato (diametro filtro 47 mm, dimensione pori 0.1 μm) supportati su setto di vetro. I primi 20 mL di soluzione filtrata sono stati scartati, i 5 mL restanti sono stati utilizzati per la successiva analisi in HPLC-UV, ponendo 1 mL di filtrato in ciascuna vial da HPLC da analizzare. Per ogni prova di adsorbimento è stato svolto un bianco procedurale, eseguendo le stesse operazioni spiegate in precedenza e senza inserire il materiale adsorbente.

Per verificare la riproducibilità dei risultati, le prove di adsorbimento di CLB su MWCNT-S in acqua MilliQ sono state replicate utilizzando due batch diversi di MWCNT-S. Per ciascuna prova di adsorbimento la concentrazione di CLB residua in soluzione dopo l'adsorbimento e la concentrazione di CLB nei bianchi procedurali è stata espressa come media dei risultati delle due repliche.

Per ogni valore medio è stato calcolato il corrispondente errore relativo:

$$\varepsilon_r = \frac{C_1 - C_2}{2 \bar{C}}$$

Dove C_1 e C_2 sono le concentrazioni di CLB risultanti dalle due repliche, mentre \bar{C} è la media delle concentrazioni risultanti dalle due repliche.

La concentrazione di CLB residua in soluzione è stata riportata come percentuale, ottenuta dal rapporto tra la concentrazione media di CLB residua in soluzione dopo l'adsorbimento e la concentrazione media di CLB nel corrispettivo bianco procedurale. L'errore assoluto associato a ciascuna concentrazione percentuale di CLB è stato calcolato attraverso la teoria di propagazione dell'errore, utilizzando la seguente formula:

$$\varepsilon = (\varepsilon_{r[CLB]} + \varepsilon_{r[BP]}) \cdot [CLB]_{\%}$$

Dove $\varepsilon_{r[CLB]}$ è l'errore relativo associato alla concentrazione media di CLB in soluzione in seguito all'adsorbimento, $\varepsilon_{r[BP]}$ è l'errore relativo associato alla

concentrazione media di CLB nei bianchi procedurali e $[CLB]_{\%}$ è la concentrazione di CLB residua in soluzione espressa come percentuale.

5.3.9 Esperimenti di adsorbimento di clenbuterolo su alginato di calcio

Per gli esperimenti di adsorbimento del CLB su CA è stata seguita la procedura descritta di seguito. In una beuta da 100 mL sono stati posti 10 mg di sfere di CA, a cui sono stati aggiunti 20 mL di acqua MilliQ e 5 mL di soluzione concentrata di CLB. La beuta è stata poi posta in agitatore orbitalico e lasciata agitare a 150 rpm per tempi variabili a seconda della prova. Una volta terminata l'agitazione, è stato prelevato 1 mL di soluzione e posto in vial da HPLC per la successiva analisi HPLC – UV.

È stata preparata una soluzione unendo 20 mL di acqua MilliQ e 5 mL di soluzione concentrata di CLB. Ne è stato prelevato 1 mL e posto in vial da HPLC per la successiva analisi HPLC-UV. Il valore di concentrazione di CLB risultante è stato utilizzato come concentrazione iniziale nell'espressione dati.

5.3.10 Esperimenti di adsorbimento di clenbuterolo su materiale nanocomposito

Per gli esperimenti di adsorbimento del CLB su materiale nanocomposito è stata seguita la procedura descritta di seguito. In una beuta da 100 mL sono stati posti 10 mg di sfere di nanocomposito, a cui sono stati aggiunti 20 mL di acqua MilliQ e 5 mL di soluzione concentrata di CLB. La beuta è stata poi posta in agitatore orbitalico e lasciata agitare a 150 rpm per tempi variabili a seconda della prova. Una volta terminata l'agitazione, è stato prelevato 1 mL di soluzione e posto in vial da HPLC per la successiva analisi HPLC – UV.

È stata preparata una soluzione unendo 20 mL di acqua MilliQ e 5 mL di soluzione concentrata di CLB. Ne è stato prelevato 1 mL e posto in vial da HPLC per la successiva analisi HPLC-UV. Il valore di concentrazione di CLB risultante è stato utilizzato come concentrazione iniziale nell'espressione dati.

5.3.11 Esperimenti di adsorbimento di carbamazepina

Per tutti gli esperimenti di adsorbimento è stata eseguita la procedura riportata di seguito. In una beuta da 100 mL sono stati posti 10 mg di materiale adsorbente, a cui

sono stati aggiunti 15 ml di acqua MilliQ (o tampone fosfato, a seconda dell'esperimento). Il materiale adsorbente è stato disperso nel solvente tramite sonicazione in bagno ad ultrasuoni per cinque minuti. Sono stati aggiunti poi 10 mL di soluzione concentrata di CBZ. La beuta è stata poi posta in agitatore orbitalico e lasciata agitare a 150 rpm per tempi variabili a seconda della prova. Una volta terminata l'agitazione, la soluzione è stata filtrata a vuoto, utilizzando filtri in PC (diametro filtro 47 mm, dimensione pori 0.1 μm) supportati su setto di vetro. I primi 20 mL di soluzione filtrata sono stati scartati, i 5 mL restanti sono stati utilizzati per la successiva analisi in HPLC-UV, ponendo 1 mL di filtrato in ciascuna vial da HPLC da analizzare. Per ogni esperimento di adsorbimento è stato fatto un corrispettivo bianco procedurale, in cui si sono svolte le stesse operazioni, senza inserire il materiale adsorbente. Per ogni esperimento di adsorbimento e per il rispettivo bianco sono state raccolte due aliquote per l'analisi HPLC-UV; allo scopo di testare la ripetibilità dei dati con procedure identiche. Per ciascuna prova di adsorbimento la concentrazione di CBZ residua in soluzione dopo l'adsorbimento e la concentrazione di CBZ nei bianchi procedurali è stata espressa come media dei risultati delle due aliquote.

Per ogni valore medio è stato calcolato il corrispondente errore relativo:

$$\varepsilon_r = \frac{C_1 - C_2}{2 \bar{C}}$$

Dove C_1 e C_2 sono le concentrazioni di CBZ risultanti dalle due aliquote, mentre \bar{C} è la media delle concentrazioni risultanti dalle due aliquote.

La concentrazione di CBZ residua in soluzione è stata riportata come percentuale, ottenuta dal rapporto tra la concentrazione media di CBZ residua in soluzione dopo l'adsorbimento e la concentrazione media di CBZ nel corrispettivo bianco procedurale. L'errore assoluto associato a ciascuna concentrazione percentuale di CBZ è stato calcolato attraverso la teoria di propagazione dell'errore, utilizzando la seguente formula:

$$\varepsilon = \left(\varepsilon_{r [CBZ]} + \varepsilon_{r [BP]} \right) \cdot [CBZ]_{\%}$$

Dove $\varepsilon_r [CBZ]$ è l'errore relativo associato alla concentrazione media di CBZ in soluzione in seguito all'adsorbimento, $\varepsilon_r [BP]$ è l'errore relativo associato alla concentrazione media di CBZ nei bianchi procedurali e $[CBZ]_{\%}$ è la concentrazione di CBZ residua in soluzione espressa come percentuale.

5.4 Strumenti e procedure utilizzate

5.4.1 Sonicazione

5.4.1.1 Sonicazione in bagno a ultrasuoni

Le operazioni di sonicazione sono state eseguite con lavatrice ad ultrasuoni Sonorex (35 kHz) della Bandelin.

5.4.1.2 Sonicazione a micropunta

Le sonicazioni a micropunta sono state eseguite con sonicatore a micropunta Sonicator 3000 della Misonix Inc. Il programma di sonicazione utilizzato è il seguente: potenza di sonicazione livello 2 (4 – 6 W), tempo di sonicazione 1 minuto, pulse on 3s, pulse off 3 s.

5.4.2 Centrifugazione

Le operazioni di centrifugazione sono state eseguite utilizzando una centrifuga IEC CL10 della Thermo electron corporation. Sono state impiegate delle provette da centrifuga in vetro con fondo conico della Duran da 10 mL. Le centrifugazioni sono state svolte a 4000 rpm per 10 minuti.

5.4.3 Caratterizzazione di MWCNT-S

I MWCNT – S (5.0 mg) sono stati dispersi in 2.5 mL di acqua MilliQ tramite sonicazione con sonicatore a micropunta (potenza 4-6 W, tempo 1 minuti 3 s pulse on, 3 s pulse off). La dispersione è stata poi centrifugata a 4000 rpm per 10 minuti. Il surnatante è stato prelevato e filtrato su cotone.

- Per l'analisi DLS sono stati posti in una cuvetta di polistirene 1 mL di acqua MilliQ e 100 μ L di surnatante filtrato.
- Per l'analisi Z potential sono stati posti nella cuvetta 700 μ L di acqua MilliQ, 160 μ L di NaCl (0.2 mM) e 100 μ L di surnatante filtrato.
- Per la caratterizzazione UV – visibile dei nanotubi in una cuvetta sono stati posti 2970 μ L di acqua MilliQ e 30 μ L di dispersione.
- È stato eseguito un drop casting di 1 mL di surnatante filtrato su un crogiolo della TGA, per una successiva TGA in aria.

5.4.4 Dinamic Light Scattering (DLS)

Le misure di DLS sono state acquisite utilizzando lo strumento Zetasizer Nano S della Malvern Instruments, settando il materiale come reticolo in polistirene (RI = 1.590; Abs = 0.010). Le analisi sono state svolte a 25 °C (tempo di equilibratura dello strumento di 120 s). Lo strumento svolge tre misure, ciascuna è il risultato di undici acquisizioni, ogni acquisizione dura 10 s. Sono state utilizzate delle cuvette di plastica con cammino ottico di 1 cm.

5.4.5 Potenziale Z

Le misure di potenziale Z sono state acquisite utilizzando lo strumento Zetasizer Nano S della Malvern Instruments, settando il materiale come reticolo in polistirene (RI = 1.590; Abs = 0.010). Le analisi sono state svolte a 25 °C (tempo di equilibratura dello strumento di 120 s), utilizzando come disperdente NaCl 0.2 mM. Lo strumento svolge tre misure, ciascuna è il risultato di 40 acquisizioni.

5.4.6 Spettroscopia UV-visibile-NIR

5.4.6.1 Gli spettri UV di caratterizzazione di MWCNT-S sono stati acquisiti tra 280 nm e 1400 nm, a temperatura ambiente, con uno spettrometro Varian Cary 5000. È stata utilizzata una cuvetta in quarzo con cammino ottico di 1 cm.

5.4.6.2 Gli spettri UV del BM sono stati acquisiti tra 200 nm e 800 nm, a temperatura ambiente, con uno spettrometro Varian Cary 50. È stata utilizzata una cuvetta in quarzo con cammino ottico di 1 cm.

5.4.7 Analisi Termogravimetrica (TGA)

I termogrammi sono stati ottenuti utilizzando una bilancia termogravimetrica TGA Q5000IR della TA Instruments. I campioni, come solidi in polvere, sono stati analizzati in atmosfera inerte (N₂) utilizzando portacampioni Platinum HT da 100 µL. È stato utilizzato il seguente programma di temperature: il campione viene portato a 100 °C, e mantenuto a tale temperatura per dieci minuti (in modo da eliminare tracce di solvente). La temperatura viene poi aumentata di 10 °C al minuto fino ad arrivare a una temperatura di 1000 °C. La temperatura finale viene mantenuta per dieci minuti in modo da pulire il portacampione da eventuali tracce di solido.

5.4.8 Filtrazione

Le operazioni di filtrazione in vuoto sono state svolte utilizzando porta filtri in vetro Millipore da 47 mm della Merck. Sono stati utilizzati filtri Isopore in policarbonato (dimensione pori 0.1 µm, codice filtro VCTP04700).

5.4.9 Misure di pH

Le misure di pH sono state svolte con pHmetro S220 SevenCompact della Mettler Toledo. La calibrazione del pHmetro è stata effettuata utilizzando tre soluzioni tampone commerciali (a pH 4.01; 7.00; 10.01).

5.4.10 Agitatore orbitale

Per gli esperimenti di adsorbimento è stato utilizzato un agitatore orbitale della VWR. Gli esperimenti sono stati condotti a una temperatura di 25°C a 150 rpm, per tempo variabili a seconda della prova.

5.4.11 HPLC-UV

Le soluzioni di clenbuterolo sono state analizzate attraverso un sistema HPLC-UV (Agilent Technologies 1260 Infinity II) con colonna Kinetex 5 μm C₁₈ 100 Å, dimensione 150 x 4.6 mm (Phenomenex). Come eluenti sono stati utilizzati acetonitrile (B) e acqua MilliQ (A), entrambi acidificati allo 0.1 % V/V con acido formico. È stato utilizzato un flusso di 1 mL/min ed è stato iniettato un volume di 10 μL . Per l'eluizione è stato utilizzato il gradiente indicato in *Tabella 5.4*. L'acquisizione del segnale è stata effettuata a 295nm.

Le soluzioni di carbamazepina sono state analizzate attraverso un sistema HPLC – UV (Agilent Technologies 1260 Infinity II) con colonna Kinetex 5 μm C₁₈ 100 Å, dimensione 150 x 4.6 mm (Phenomenex). Come eluenti sono stati utilizzati metanolo (B) e acqua MilliQ (A). È stato utilizzato un flusso di 1 mL/min ed è stato iniettato un volume di 10 μL . Per l'eluizione è stato utilizzato lo stesso gradiente utilizzato per il clenbuterolo e l'acquisizione del segnale è stata effettuata alla lunghezza d'onda di 286nm.

Tempo [min]	A [%]	B [%]
0	90	10
1	90	10
26	0	100
28	0	100
30	90	10

Tabella 5.4. Gradiente di eluizione utilizzato per l'analisi HPLC-UV del clenbuterolo e della carbamazepina.

6. Appendice

6.1 Caratterizzazioni di MWCNT-S

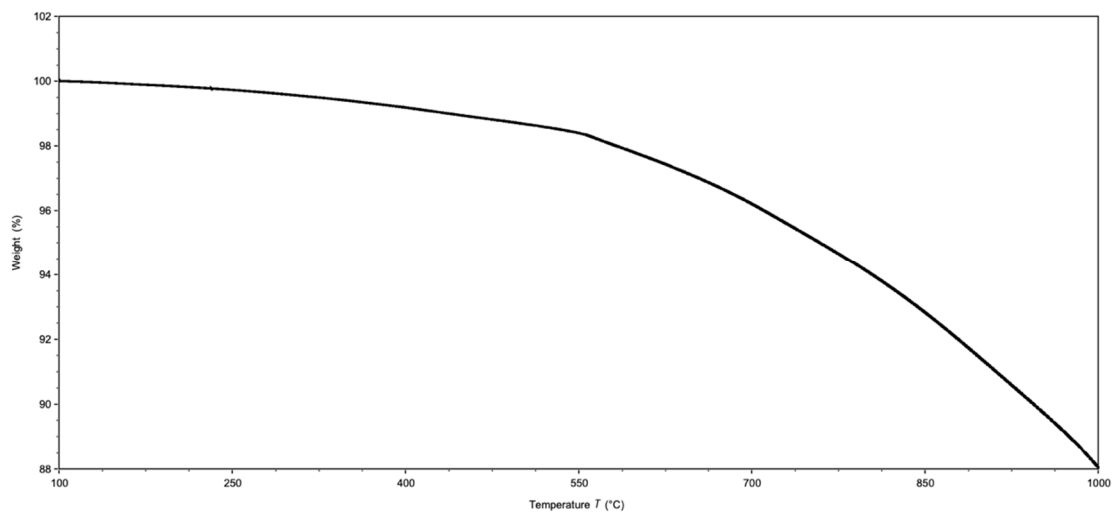


Figura 6.1. Analisi termogravimetrica di MWCNT pristini (d: 8-15 nm, l: 0.5-2 μm)

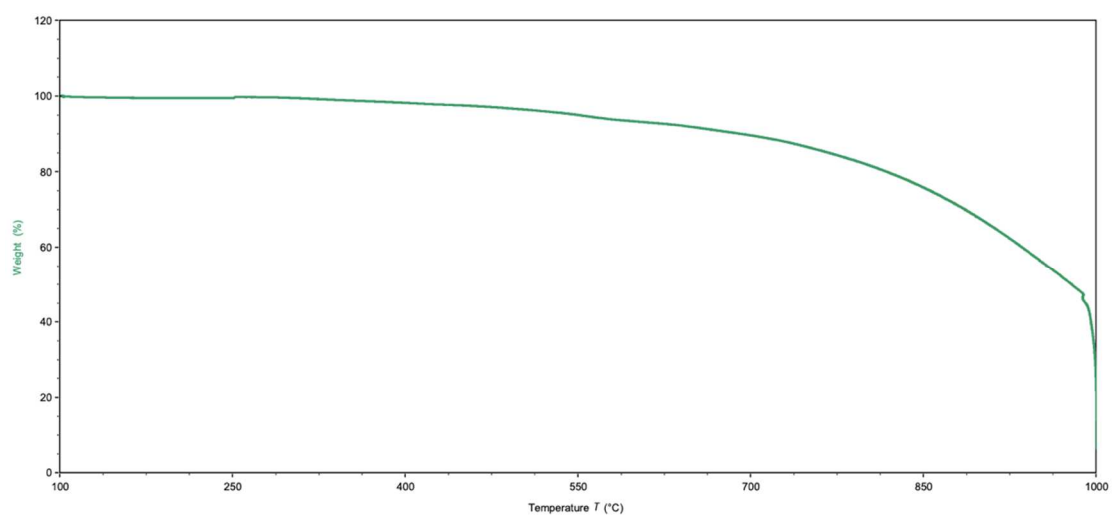


Figura 6.2 Analisi termogravimetrica di MWCNT-S

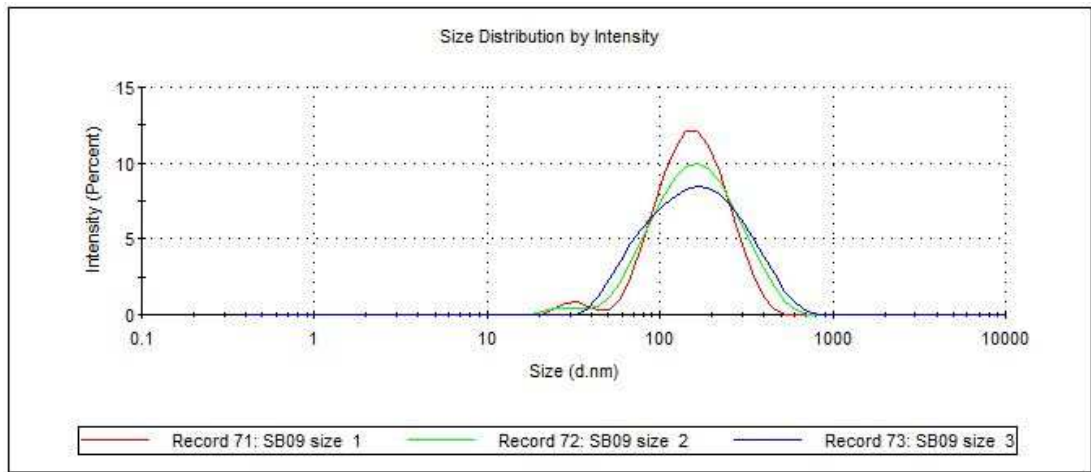


Figura 6.3 DLS di MWCNT-S in acqua MilliQ

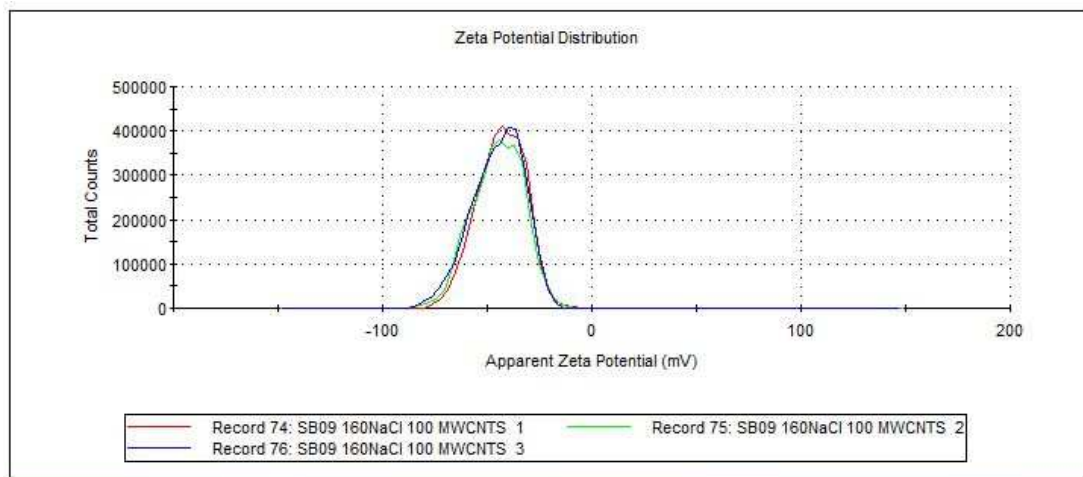


Figura 6.4 Potenziale Zeta di MWCNT-S in acqua MilliQ

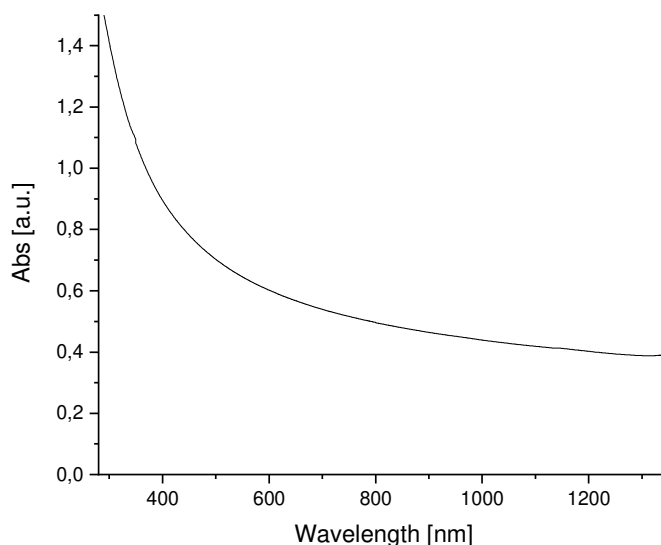


Figura 6.5 Spettro UV-vis di MWCNT-S in acqua MilliQ

6.2 Rette di calibrazione

6.2.1 Rette di calibrazione per blu di metilene

Le rette di calibrazione per il blu di metilene sono state ottenute preparando soluzioni diluite a concentrazione crescente di blu di metilene (0.5 mg/L; 1 mg/L; 2mg/L; 2.5 mg/L; 3mg/L; 4mg/L) in acqua MilliQ; a partire da una soluzione concentrata di 50 mg/L. Utilizzando la spettroscopia UV-visibile è stato misurato il segnale di assorbanza tra 200 nm e 800 nm associato a ciascuna soluzione. In *Figura 6.6* sono riportati gli spettri UV-Vis. delle soluzioni a diversa concentrazione di BM in acqua MilliQ. In un grafico sono stati riportati i valori di assorbanza registrati a 665 nm in funzione della corrispettiva concentrazione. È stata eseguita una interpolazione lineare dei punti ottenuti sul grafico concentrazione – assorbanza per ottenere la retta di calibrazione. L'equazione della retta di calibrazione è la seguente (l'intercetta è stata posta a zero):

$$y = ax$$

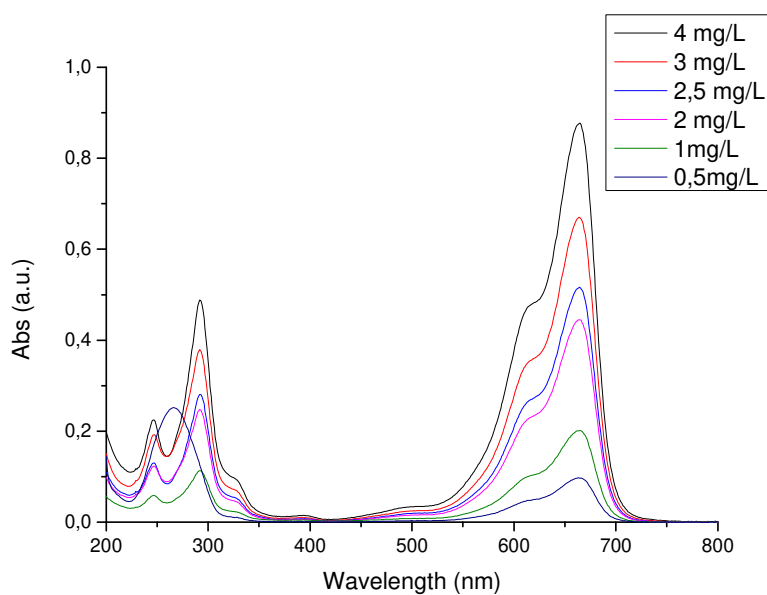


Figura 6.6. Spettri UV – visibile delle soluzioni di BM in acqua MilliQ utilizzate per la retta di calibrazione.

È stata seguita la stessa metodica per costruire le rette di calibrazione in tampone fosfato. In *Figura 6.7* e *6.8* sono riportate rispettivamente le rette di calibrazione in acqua MilliQ e in tampone fosfato (3 mM, pH7).

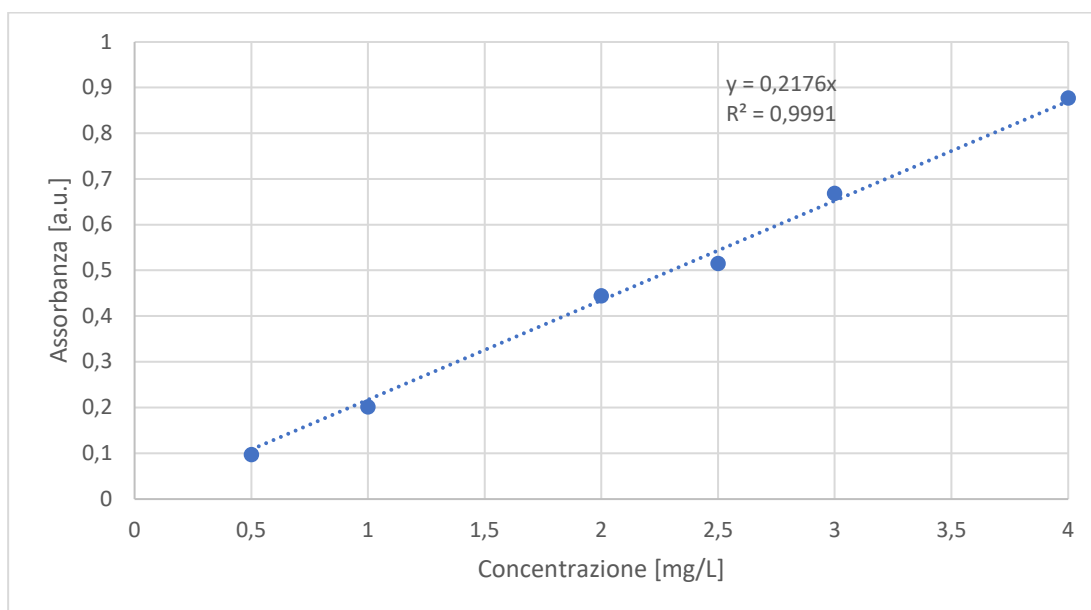


Figura 6.7. Retta di calibrazione di BM in acqua MilliQ ($a = 0.2176$; $R^2 = 0.9991$)

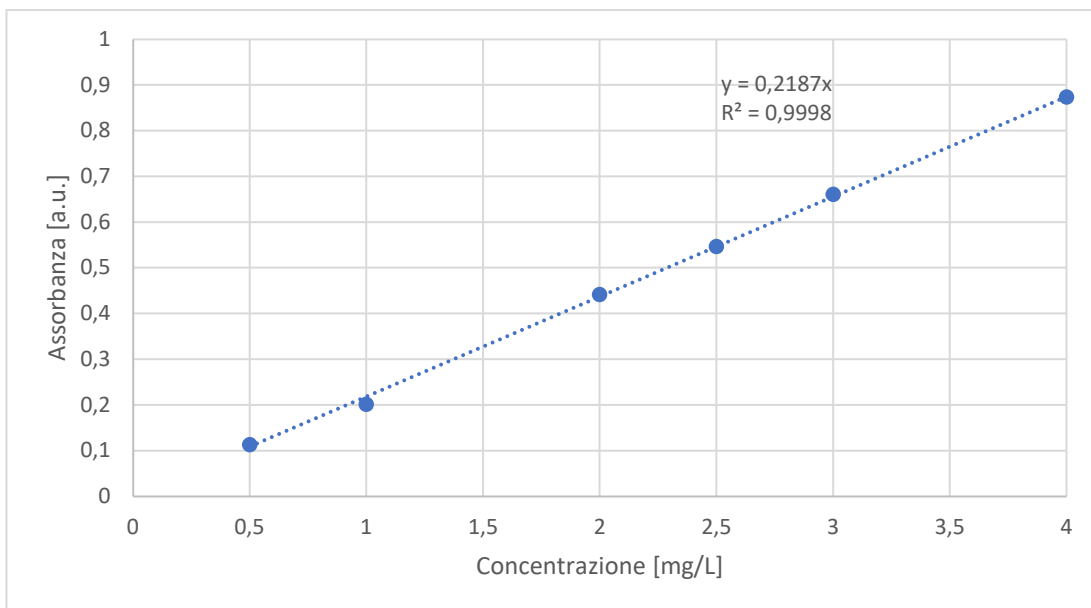


Figura 6.8. Retta di calibrazione di BM in tampone fosfato ($a = 0.2187$; $R^2 = 0.9998$)

6.2.2 Rette di calibrazione per clenbuterolo

Le rette di calibrazione per CLB sono state ottenute preparando soluzioni a concentrazione crescente di CLB (3 mg/L; 5 mg/L; 10 mg/L; 20 mg/L; 30 mg/L; 50 mg/L; 70 mg/L) in acqua MilliQ; sono state ottenute per diluizione successiva a partire da una soluzione di CLB 70 mg/L. La quantificazione di CLB è avvenuta tramite analisi HPLC-UV, con rivelatore settato a una lunghezza d'onda di 295 nm. In un grafico sono stati riportati i valori di area del picco associato al CLB in funzione della corrispondente concentrazione. È stata eseguita una interpolazione lineare dei punti ottenuti sul grafico concentrazione – area per ottenere la retta di calibrazione. L'equazione della retta di calibrazione è la seguente (l'intercetta è stata posta a zero):

$$y = ax$$

È stata seguita la stessa metodica per acquisire le rette di calibrazione in tampone fosfato. In *Figura 6.9* e *6.10* sono riportate rispettivamente le rette di calibrazione in acqua MilliQ e in tampone fosfato (3 mM, pH7).

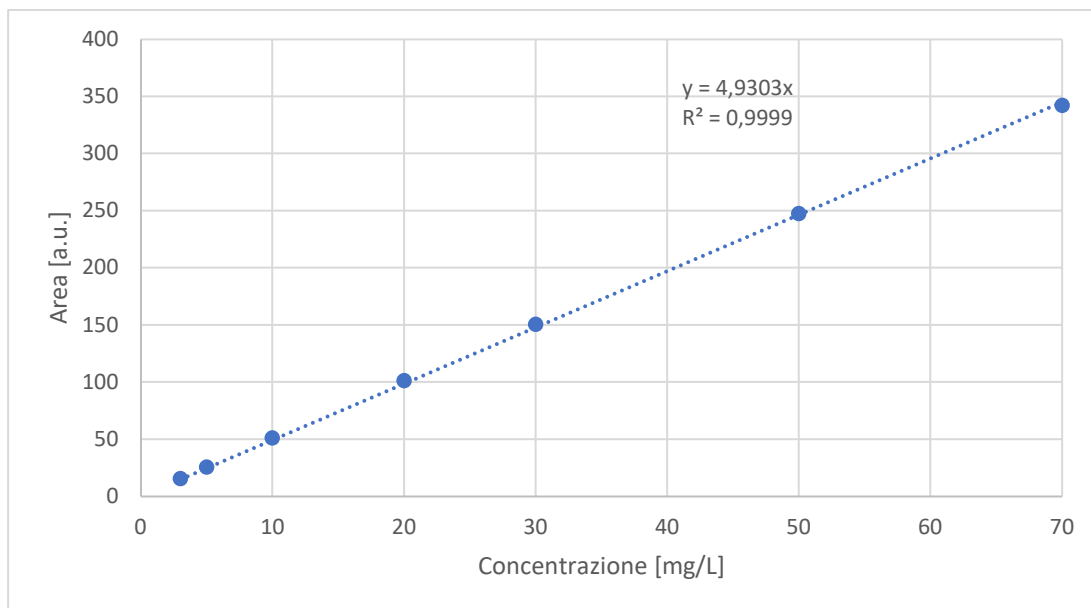


Figura 6.9. Retta di calibrazione di CLB in acqua MilliQ ($a = 4.9303$; $R^2 = 0.9999$)

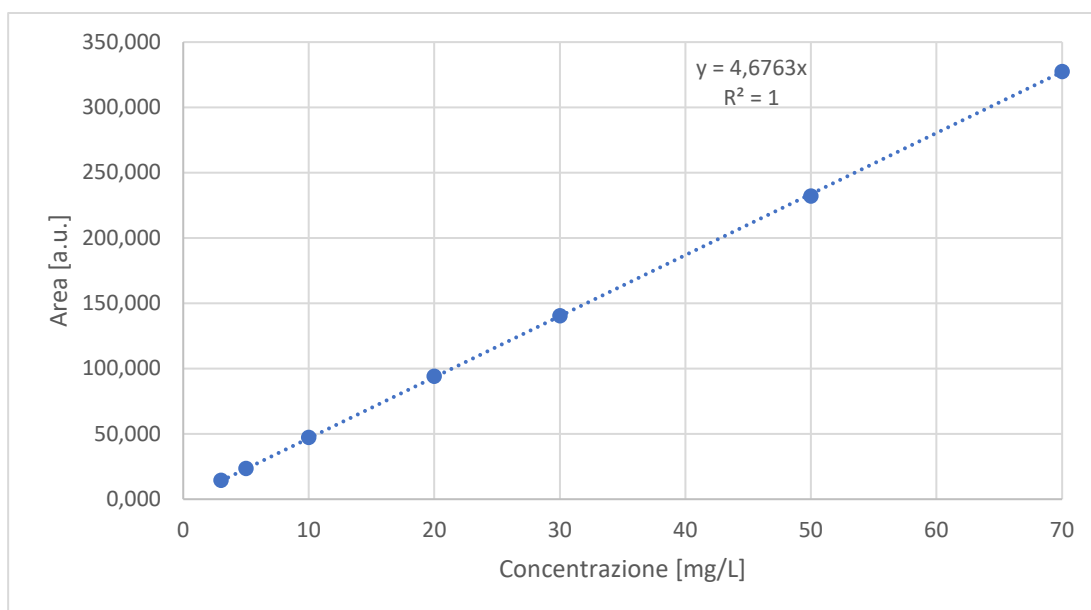


Figura 6.10. Retta di calibrazione di CLB in tampone fosfato ($a = 4.6763$; $R^2 = 1$)

Come atteso, le rette di calibrazione in acqua MilliQ e in tampone fosfato sono confrontabili. Infatti, l'utilizzo dell'HPLC esclude effetti del tampone fosfato sul segnale registrato.

6.2.3 Rette di calibrazione per carbamazepina

Le rette di calibrazione per CBZ sono state ottenute preparando soluzioni a concentrazione crescente di CBZ (5 mg/L; 10 mg/L; 20 mg/L; 30 mg/L; 50 mg/L; 70 mg/L) in acqua MilliQ; sono state ottenute per diluizione successiva a partire da una soluzione di CBZ 180 mg/L. La quantificazione di CBZ è avvenuta tramite l'HPLC-UV, con rivelatore settato a una lunghezza d'onda di 286 nm. In un grafico sono stati riportati i valori di area del picco associato a CBZ in funzione della corrispondente concentrazione. È stata eseguita una interpolazione lineare dei punti ottenuti sul grafico concentrazione – area per ottenere la retta di calibrazione. L'equazione della retta di calibrazione è la seguente (l'intercetta è stata posta a zero):

$$y = ax$$

È stata seguita la stessa metodica per acquisire le rette di calibrazione in tampone fosfato. In *Figura 6.11* e *6.12* sono riportate rispettivamente le rette di calibrazione in acqua MilliQ e in tampone fosfato (3 mM, pH7).

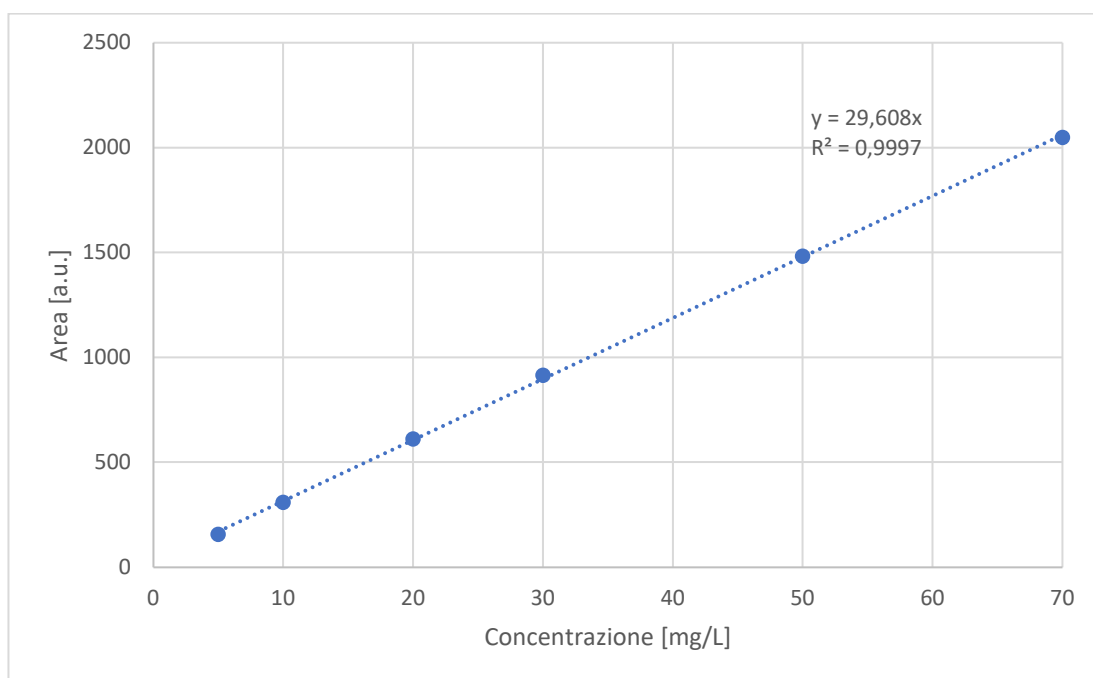


Figura 6.11. Retta di calibrazione di CBZ in acqua MilliQ ($a = 29.608$; $R^2 = 0.9997$)

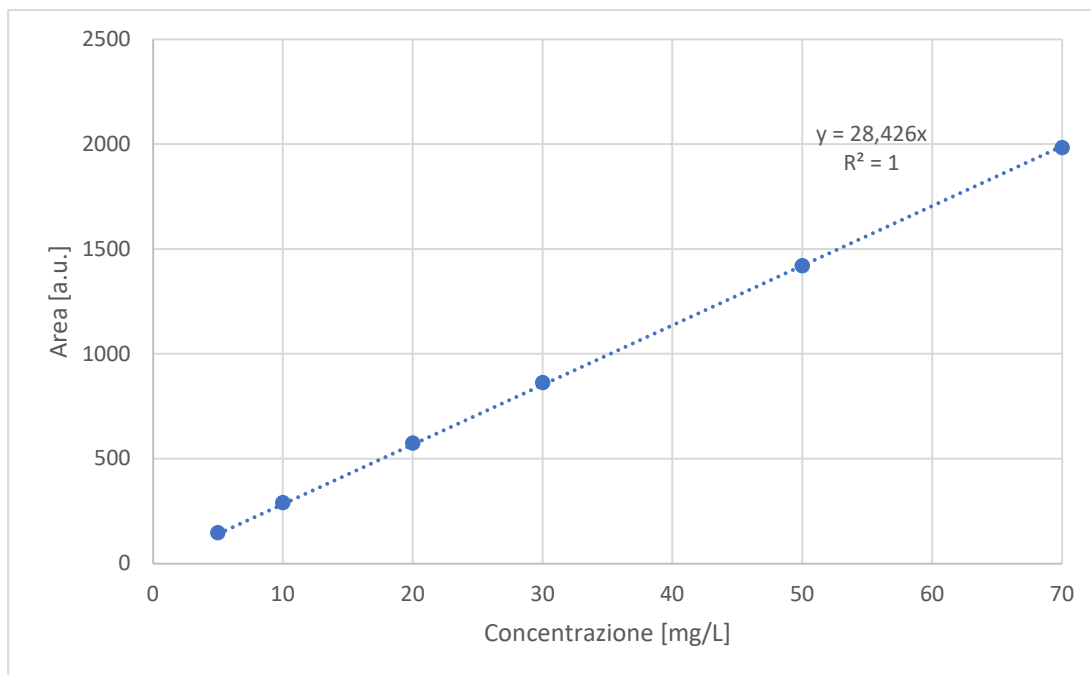


Figura 6.12. Retta di calibrazione di CBZ in tampone fosfato ($a = 28,426$; $R^2 = 1$)

Come atteso, le rette di calibrazione in acqua MilliQ e in tampone fosfato sono confrontabili. Infatti, l'utilizzo dell'HPLC esclude effetti del tampone fosfato sul segnale registrato.

Bibliografia

1. Kroto, H. W., Heath, J. R., O'Brien, S. C., Curl, R. F. & Smalley, R. E. *Nature* **1985**, *318*, 162–163.
2. Eletsii, A. v. *Physics - Uspekhi* **1997**, *40*, 899–924.
3. Thostenson, E. T., Ren, Z. & Chou, T. W. *Compos Sci Technol* **2001**, *61*, 1899–1912.
4. Arun, H. *AEU - International Journal of Electronics and Communications* **2021**, *136*.
5. Caruso, G., Merlo, L., Tot, E., Pignataro, C. & Caffo, M. *Design and Fabrication* **2017**, 95–112.
6. Dresselhaus M.S., Dresselhaus G. & Eklund P.C. *Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes*. **1996**.
7. Cheung, K. Y., Watanabe, K., Segawa, Y. & Itami, K. *Nat Chem* **2021**, *13*, 255–259.
8. Guldi D. & Martin N. *Carbon nanotubes and related structures: synthesis, characterization, functionalization, and applications*. **2010**
9. Niyogi, S. *et al. Acc Chem Res* **2002**, *35*, 1105–1113.
10. Badamshina, E. R., Gafurova, M. P. & Estrin, Y. I. *Russian Chemical Reviews* **2010**, *79*, 945–979.
11. Hirsch, A. & Vostrowsky, O. *Top Curr Chem* **2005**, *245*, 193–237.
12. Mehra, N. K. *et al. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* **2008**, *25*, 169–206.
13. Ménard-Moyon, C., Izard, N., Doris, E. & Mioskowski, C. *J Am Chem Soc* **2006**, *128*, 6552–6553.
14. Coleman, K. S., Bailey, S. R., Fogden, S. & Green, M. L. H. *J Am Chem Soc* **2003**, *125*, 8722–8723.
15. Liu & Speranza. *Journal of Carbon Research* **2019**, *5*, 72–132.
16. Bahr, J. L. *et al. J Am Chem Soc* **2001**, *123*, 6536–6542.
17. Bahr, J. L. & Tour, J. M. *Chemistry of Materials* **2001**, *13*, 3823–3824.
18. Price, B. K. & Tour, J. M. *J Am Chem Soc* **2006**, *128*, 12899–12904.
19. Dyke, C. A., Stewart, M. P., Maya, F. & Tour, J. M. *Synlett* **2004**, 155–160.
20. Salice, P. *et al. Carbon* **2014**, *74*, 73–82.
21. D'Este, M., de Nardi, M. & Menna, E. *European J Org Chem* **2006**, 2517–2522.
22. Alafogianni, P. *et al. Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* **2016**, *495*, 118–124.
23. Jeong, S. H. *et al. Synth Met* **2007**, *157*, 570–574.
24. Bhattacharjee, S. *Journal of Controlled Release* **2016**, *235*, 337–351.
25. Annabi, N. *et al. Advanced Materials* **2014**, *26*, 85–124.
26. Bratovic, A. *Int J Eng Res Appl* **2020**, *10*, 30–41.
27. Adewunmi, A. A., Ismail, S. & Sultan, A. S. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* **2016**, *26*, 717–737.
28. Thamer, B. M., Aldalbahi, A., Meera, M. A. & El-Newehy, M. H. *Polymers (Basel)* **2020**, *12*, 1–18.
29. Sarkar, B. *et al. Science of the Total Environment* **2018**, *612*, 561–581.
30. Rocher, V., Siaugue, J. M., Cabuil, V. & Bee, A. *Water Res* **2008**, *42*, 1290–1298.
31. Salisu, A., Sanagi, M. M., Abu Naim, A., Wan Ibrahim, W. A. & Abd Karim, K. J. *Desalination Water Treat* **2016**, *57*, 15353–15361.

32. Amsden, B. & Turner, N. *Biotechnol Bioeng* **1999**, *65*, 605–610.
33. Kohn, R. *Pure and Applied Chemistry* **1975**, *42*, 371–397.
34. Fang, Y. *et al. Journal of Physical Chemistry* **2007**, *111*, 2456–2462.
35. Sergeeva, A., Vikulina, A. S. & Volodkin, D. *Micromachines* **2019**, *10*, 357–378.
36. Crini, G. & Lichtfouse, E. *Environ Chem Lett* **2019**, *17*, 145–155.
37. Chaudhry, F. N. & Malik, M. F. *J Ecosyst Ecography* **2017**, *07*.
38. Smital, T. *Handbook of Environmental Chemistry* **2008**, *5 S/1*, 107–136.
39. Ribeiro, A. R. & Umbuzeiro, G. de A. *Environ Sci Eur* **2014**, *26*.
40. Rosenfeld, P. E. & Feng, L. G. H. Risks of hazardous wastes. **2011**
41. Sousa, J. C. G. *et al. Science of the Total Environment* **2019**, *649*, 1083–1095.
42. Tang, Y. *et al. Water Environment Research* **2019**, *91*, 984–991.
43. Rodriguez-Narvaez, O. M., Peralta-Hernandez, J. M., Goonetilleke, A. & Bandala, E. R. *Chemical Engineering Journal* **2017**, *323*, 361–380.
44. Cukierman, A. L., Nunell, G. v. & Bonelli, P. R. *Emerging and Nanomaterial Contaminants in Wastewater: Advanced Treatment Technologies* **2019**, 159–213.
45. Gopinath, K. P. *et al. Environmental Chemistry Letters* **2021**, *19*, 557–582.
46. Pan, B. & Xing, B. *Environ Sci Technol* **2008**, *42*, 9005–9013.
47. Ma, X. & Agarwal, S. *Molecules* **2016**, *21*, 628–639.
48. Aslam, M. M. A. *et al. Sustainability* **2021**, *13*, 1–54.
49. Georgakilas, V. *et al. J Am Chem Soc* **2002**, *124*, 760–761.
50. Guthrie, J. P. *Can J Chem* **1978**, *56*, 2342–2354.
51. Thirupathy, J., Dhas, S. S. J., Jose, M. & Dhas, S. A. M. B. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* **2019**, *30*, 2224–2234.
52. Zhao, F. G. *et al. ACS Appl Mater Interfaces* **2018**, *10*, 24679–24688.
53. Grossiord, N., Regev, O., Loos, J., Meuldijk, J. & Koning, C. E. *Anal Chem* **2005**, *77*, 5135–5139.
54. Shahryari, Z., Goharrizi, A. S. & Azadi, M. *International Journal of Water Resources and Environmental Engineering* **2010**, *2*, 16–28.
55. Selen, V., Güler, Ö., Özer, D. & Evin, E. *Desalination Water Treat* **2016**, *57*, 1–13.
56. Hussain, S. *et al. Alexandria Engineering Journal* **2022**, *61*, 9107–9117.
57. Kunde, G. B., Sehgal, B. & Ganguli, A. K. *J Hazard Mater* **2019**, *374*, 140–151.
58. Koole, A., Jetten, A. C., Luo, Y., Franke, J. P. & de Zeeuw, R. A. *J Anal Toxicol* **1999**, *23*, 632–635.
59. Oleszczuk, P., Pan, B. & Xing, B. *Environ Sci Technol* **2009**, *43*, 9167–9173.
60. Ashrafi, S. D., Safari, G. H., Sharafi, K., Kamani, H. & Jaafari, J. *Int J Biol Macromol* **2021**, *185*.
61. Boukhalfa, N., Boutahala, M., Djebri, N. & Idris, A. *Int J Biol Macromol* **2019**, *123*.
62. Sui, K. *et al. Carbohydr Polym* **2012**, *90*, 399–406.
63. Wang, B., Gao, B., Zimmerman, A. R. & Lee, X. *Chemical Engineering Research and Design* **2018**, *133*, 235–242.
64. Boukhalfa, N., Boutahala, M., Djebri, N. & Idris, A. *Int J Biol Macromol* **2019**, *123*, 539–548.
65. Makhado, E. & Hato, M. J. *Front Chem* **2021**, *9*, 1–16.
66. Bajpai, S. K. & Sharma, S. *React Funct Polym* **2004**, *59*, 129–140.

67. Liu, X. D. *et al.* *J Microencapsul* **2002**, 19, 775–782.
68. Tanaka, H., Matsumura, M. & Veliky, A. *Biotechnol Bioeng* **1984**, 26, 53–58.