

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
FACOLTÀ DI FARMACIA
DOTTORATO DI RICERCA IN CHIMICA DEL FARMACO XXIV CICLO



Dipartimento di Scienze Molecolari Applicate ai Biosistemi

**SPETTROSCOPIE VIBRAZIONALI PER LA
CARATTERIZZAZIONE DI SISTEMI
FARMACEUTICI E DI MATERIALI**

CHIM 03/C1 (ex CHIM 06)

Tesi di Dottorato di
Maria Chiara Sala
Matricola R08253

Tutor: Prof. Riccardo Stradi
Dott.ssa Elena Pini

Coordinatore: Prof. Ermanno Valoti

Anno Accademico 2010/2011

INDICE

Premessa	Pag. 1
Parte I: Tecniche Analitiche	
1.1 Spettroscopia Infrarossa	2
1.1.1 Strumentazione	3
1.1.2 Analisi in trasmissione	9
1.1.3 Analisi in riflessione	10
1.1.4 Microscopia IR	15
1.2 Spettroscopia Raman	20
1.2.1 Strumentazione	22
1.2.2 Applicazioni della spettroscopia Raman	24
1.3 Diffrazione a raggi X	24
Parte II: Diretta identificazione della forma di stato solido di un API formulato in crema	
2.1 Introduzione	28
2.2 Scopo del lavoro	29
2.3 Materiali	29
2.3.1 Crema Elidel®	29
2.3.2 Pimecrolimus	30
2.4 Strumenti	42
2.5 Caratterizzazione delle forme di stato solido del Pimecrolimus (DRX e FTIR)	44
2.5.1 Diffrattometria a raggi X	44
2.5.2 Spettroscopia FTIR	47
2.6 Analisi dei cristalli nella crema (DRX e FTIR)	53
2.6.1 Diffrattometria a raggi X	53
2.6.2 Spettroscopia FTIR Imaging	54
2.7 Spettroscopia Raman Imaging delle singole forme e del cristallo nella crema	64
2.7.1 Analisi delle singole forme di stato solido di API	64
2.7.2 Analisi dei cristalli di API nella crema	65
2.8 Conclusioni e sviluppi futuri	71

Parte III: Caratterizzazione di film protettivi di metalli	
3.1 Introduzione	72
3.1.1 Tossicologia del cromo	73
3.1.2 La corrosione ed i meccanismi di protezione	75
3.1.3 I silani organofunzionali come agenti protettivi	79
3.1.4 Polianilina	83
3.2 Scopo del lavoro	86
3.3 Materiali e metodi della caratterizzazione DRIFTS	87
3.3.1 Metalli	87
3.3.2 Soluzioni di organosilani per il rivestimento	89
3.3.3 Spettroscopia DRIFT	92
3.4 Materiali e metodi della caratterizzazione RAIRS	93
3.5 Screening DRIFTS su alluminio	96
3.5.1 Rivestimenti omopolimerici di mono e bis-silani	96
3.5.2 Rivestimenti eteropolimerici	106
3.6 Screening DRIFTS su acciaio zincato	111
3.6.1 Rivestimenti omopolimerici di mono e bis-silani	111
3.6.2 Rivestimenti eteropolimerici	119
3.7 Spettroscopia RAIRS di rivestimenti di N-(3-trimetossisilil) propilanilina	126
3.8 Spettroscopia RAIRS di rivestimenti di N-(3-trimetossisilil) propilpirrolo	133
3.9 Caratterizzazione delle soluzioni di rivestimento	136
3.9.1 Colorazione delle soluzioni	136
3.9.2 Spettroscopia UV-Vis delle soluzioni di organosilano	138
3.10 Conclusioni e sviluppi futuri	145
Bibliografia	147

PREMESSA

Il lavoro qui proposto ha come filo conduttore l'utilizzo della spettroscopia FTIR in due differenti applicazioni innovative, una prettamente farmaceutica ed una nell'ambito più propriamente dello studio dei materiali.

Nel primo caso l'obiettivo era risolvere un problema reale e concreto riscontrato nell'industria farmaceutica grazie ad una tecnica di campionamento FTIR non ancora molto diffusa, la microspettroscopia FTIR imaging. L'indubbio vantaggio di questa tecnica è quello di poter scegliere sia nel visibile, sia a seconda della risposta all'infrarosso, la zona del campione che si vuole analizzare: ciò permette nel caso di matrici complesse come una preparazione farmaceutica, di limitare l'interferenza dei costituenti la matrice a favore di un componente specifico della formulazione, come per esempio il principio attivo. Il componente che si vuole analizzare non viene estratto dalla matrice e quindi è possibile un'analisi del tal quale formulato. I buoni risultati ottenuti hanno spinto ad approfondire la caratterizzazione del campione in esame utilizzando un'altra spettroscopia vibrazionale, quella Raman.

Si è potuto in questo modo giungere ad una risoluzione del problema.

La seconda applicazione prevede lo sfruttamento della spettroscopia infrarossa con tecniche di campionamento forse non fra le più diffuse, ma - almeno nel caso della RAIRS - specifiche per la tipologia del campione. In questo caso lo scopo era mettere a punto un metodo di *screening* rapido di serie di campioni, per poi approfondire eventualmente la caratterizzazione di *sample* particolarmente interessanti. Più che come risoluzione di un problema, il lavoro si presentava quindi nell'ambito ricerca e sviluppo analitico di un metodo per l'analisi di superfici metalliche.

I due ambiti di indagine approfonditi nell'utilizzo della spettroscopia infrarossa non fanno altro che sottolineare ancora una volta la notevolissima ampiezza di applicazioni di questa tecnica analitica.

PARTE I: *TECNICHE ANALITICHE*

1.1 *Spettroscopia Infrarossa*

Quando una molecola organica viene investita da una radiazione infrarossa la cui frequenza (espressa in termini di numero d'onda, inversamente proporzionale alla lunghezza d'onda) sia compresa fra 10.000 e 100 cm^{-1} , l'energia ceduta dalla radiazione stessa viene convertita in energia vibrazionale. Si parla quindi di *spettroscopia vibrazionale*.

L'energia della molecola aumenta di una quantità pari ad $E = h\nu$ dove ν è la frequenza della radiazione incidente.

La molecola può assorbire solo un quanto di luce alla volta: l'assorbimento di due quanti, $2h\nu$, è una transizione proibita. Solo quando la radiazione elettromagnetica possiede l'energia esatta per far passare la molecola allo stato energetico più alto, avviene l'assorbimento. Poiché l'energia dei livelli vibrazionali è strettamente associata alla struttura molecolare e poiché l'energia che può o non può essere assorbita è determinata dai livelli stessi, ne consegue che, osservando quale energia viene assorbita dalla molecola, è possibile dedurre quali siano i principali gruppi funzionali di una molecola e quindi determinare la sua natura chimica. La spettroscopia infrarossa è dunque una *spettroscopia di assorbimento*.

I modi in cui la molecola può vibrare sono essenzialmente due:

- ✓ *Vibrazione di stretching* (stiramento): dovuta a stiramento ritmico lungo l'asse di legame
- ✓ *Vibrazione di bending* (piegamento): dovuta a variazione dell'angolo di legame.

Una *vibrazione di stretching* è un movimento ritmico lungo l'asse di legame con conseguente aumento e diminuzione della distanza interatomica.

Una *vibrazione di bending* invece può essere dovuta ad una variazione dell'angolo nei legami con un atomo in comune oppure ad un movimento di un gruppo di atomi rispetto al resto della molecola senza che si muovano gli atomi nel gruppo, uno rispetto all'altro.

La radiazione infrarossa si riferisce, in generale, a quella parte dello spettro elettromagnetico che si trova tra le regioni del visibile e delle microonde.

In particolare questa zona si divide in:

IR vicino (NIR) \rightarrow 13.000 – 4.000 cm^{-1}

IR medio (MIR) \rightarrow 4.000 – 400 cm^{-1}

IR lontano (FIR) \rightarrow 400 – 10 cm^{-1}

La zona di maggiore interesse analitico è quella compresa fra 4.000 e 400 cm^{-1} .

Lo spettro infrarosso si presenta come una sequenza di bande di assorbimento registrate in funzione della lunghezza d'onda (o del numero d'onda).

I parametri che caratterizzano una banda di assorbimento IR sono:

- ✓ *Posizione:* indicata con la sua λ_{max} (in micrometri μm) o più spesso in numero d'onda ν (cm^{-1}). La ν_{max} (e quindi la λ_{max}) dipende dalla costante di forza del legame interessato: più rigido è il legame, maggiore è l'energia necessaria per amplificare le vibrazioni.
- ✓ *Intensità:* l'intensità di una banda esprime la probabilità che avvenga la transizione energetica dallo stato fondamentale a quello eccitato (da parte del gruppo funzionale) che provoca l'assorbimento. Si ricordi che l'intensità dell'assorbimento dipende strettamente dalla variazione del momento dipolare: così il carbonile, che possiede un forte momento dipolare in grado di variare in modo sensibile, fornisce di solito bande molto intense. È consuetudine classificare le bande in: forti (*s*, da *strong*), medie (*m* da *medium*), deboli (*w*, da *weak*).
- ✓ *Forma:* le bande IR possono essere di due tipi: strette (*sharp*) o larghe (*broad*). Ovviamente la forma può risentire dell'unità di misura scelta per l'asse delle ascisse, lunghezza d'onda o numero d'onda.

1.1.1 Strumentazione

L'analisi nel medio e lontano IR può essere eseguita sostanzialmente con due differenti tipi di spettrofotometri:

- ✓ Spettrofotometri a dispersione
- ✓ Spettrofotometri a interferenza

L'intervallo di lunghezze d'onda coperto dagli strumenti è compreso solitamente tra i 4000 ed i 625 cm^{-1} , corrispondente al *medio IR*, ma può estendersi verso λ più elevate, fino a 400 e 200 cm^{-1} , corrispondente al *lontano IR*.

Spettroscopia a dispersione

Gli spettrofotometri a dispersione (fig. I) lavorano per lo più nella configurazione a doppio raggio: un dispositivo (*chopper*) ripartisce la radiazione continua emessa dalla sorgente in due fasci di uguale intensità.

- ✓ dispositivo di dispersione (reticolo di riflessione), che separa le componenti della radiazione policromatica;
- ✓ dispositivo di focalizzazione (filtro) che preleva dall'insieme delle radiazioni disperse un sottile intervallo di lunghezze d'onda (banda);
- ✓ fenditura d'uscita;

I movimenti del reticolo e del filtro consentono di far passare dalla fenditura di uscita, in successione, la sequenza ordinata di tutte le bande che nel loro insieme compongono la radiazione policromatica. Tale movimento realizza la cosiddetta scansione delle lunghezze d'onda.

RIVELATORE

Si tratta del dispositivo in grado di convertire la radiazione termica (IR) in un segnale elettrico, che viene poi inviato al sistema di elaborazione e di registrazione.

La registrazione dello spettro avviene nel seguente modo: il *chopper* indirizza sul rivelatore il raggio campione ed il raggio di riferimento in maniera alternata (ciò permette di effettuare un confronto continuo fra l'intensità dei due raggi). Finché tali intensità si mantengono uguali (cioè il campione non assorbe) il rivelatore e il registratore rimangono in equilibrio. Quando l'intensità del raggio campione diminuisce (a seguito del fenomeno di assorbimento) il segnale elettrico generato dal rivelatore, e opportunamente elaborato, muove un motore che insinua un cuneo ottico sul cammino del raggio di riferimento. L'ampiezza dell'attenuazione operata dal cuneo per rendere uguali le intensità dei due raggi è direttamente proporzionale alla variazione di intensità del raggio campione.

L'intensità residua del raggio dopo la variazione viene espressa come percentuale rispetto all'intensità iniziale, cioè come trasmittanza percentuale (%T) del campione.

L'intera operazione viene effettuata in continuo per tutto l'intervallo spettrale.

Spettroscopia FT-IR

Grazie alla trasformata di Fourier è possibile cogliere contemporaneamente tutte le frequenze dello spettro IR nel rivelatore, il che rende superflua la scansione della lunghezza d'onda.

Questo è possibile trasformando, per mezzo di un INTERFEROMETRO, la radiazione IR policromatica emessa dalla sorgente (istante per istante con la medesima intensità) in un INTERFEROGRAMMA, dove l'assorbimento non è più funzione della frequenza, ma del tempo (cioè *si passa da dominio delle frequenze a dominio dei tempi*).

Contrariamente agli spettrofotometri tradizionali quindi, in questa apparecchiatura non si ha un monocromatore a dispersione, ma viene utilizzato l'INTERFEROMETRO DI MICHELSON, il quale produce nel corso della scansione l'interferogramma della sostanza in esame.

Il primo interferometro fu creato nel 1891 e solo un anno più tardi venne definita la correlazione tra l'interferogramma e lo spettro IR, grazie a un'operazione matematica: la trasformata di Fourier. Non fu possibile tuttavia impiegare questa tecnica per lungo tempo, cioè fino a quando lo sviluppo del computer digitale non permise un utilizzo rapido ed economico della trasformata. Nel 1949 venne convertito per la prima volta un interferogramma nel corrispondente spettro infrarosso: era all'epoca necessaria un'intera giornata per elaborare un singolo spettro. Fu solo nel 1965 che, grazie all'algoritmo di Cooley e Tukey, il calcolo della trasformata fu notevolmente velocizzato (FFT, *Fast Fourier Transform*), riducendo significativamente il numero di operazioni matematiche da effettuare. Dagli anni settanta apparvero interferometri sempre più veloci, meno ingombranti e meno costosi.

Nonostante l'avanzamento della tecnologia, il *design* ottico concepito da Michelson è ancora oggi quello più diffuso.

L'energia proveniente da una sorgente IR convenzionale è collimata e diretta verso un *beamsplitter*, ovvero uno specchio semitrasparente, che è in genere un sottilissimo film di germanio supportato da un substrato di potassio bromuro. Un *beamsplitter* ideale riflette il 50% della luce incidente e trasmette il rimanente 50%, creando così due percorsi ottici distinti.

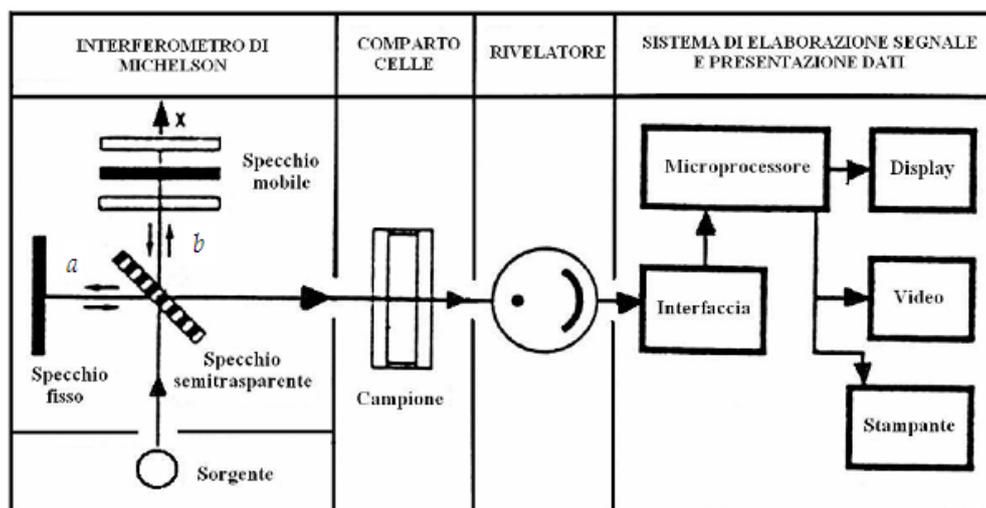


Fig. II Schema a blocchi di uno spettrofotometro FT-IR con interferometro di Michelson

La figura II mostra come, sperimentalmente, circa il 50% della radiazione incida su uno specchio fisso (raggio *a*) mentre l'altra metà incida su uno specchio mobile che scorre avanti e indietro a velocità costante (raggio *b*). I raggi riflessi dai due specchi intercettano di nuovo lo specchio

semitrasparente e si ricombinano in un punto, interferendo tra loro. Il raggio risultante viene inviato prima al campione e poi al rivelatore. L'interferenza tra i raggi a e b è provocata dallo specchio che si sposta avanti e indietro, lungo la direzione x , a velocità costante.

In figura III è rappresentato l'interferogramma di una radiazione monocromatica di frequenza ν . Quando lo specchio mobile si trova nella posizione $x=0$ i raggi a e b percorrono la stessa distanza perciò l'interferenza è costruttiva ed il segnale in uscita dal rivelatore ha la massima intensità. Quando lo specchio mobile si sposta nella posizione $x=l$, la differenza di cammino ottico tra i due raggi, indicata con δ , è uguale a $\lambda/2$, perciò l'interferenza è distruttiva e l'intensità della radiazione si annulla.

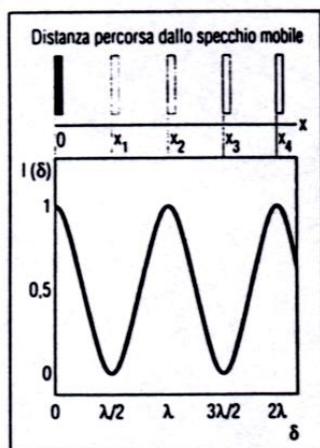


Fig. III Interferogramma di una radiazione monocromatica di frequenza ν .

In generale si può affermare che:

- ✓ Se i cammini dei due raggi sono uguali o differiscono di una quantità uguale ad un numero intero di lunghezze d'onda $\delta=n\lambda$ con $n=0,1,2,3,4,\dots$, l'interferenza è costruttiva.
- ✓ Se $\delta = (n + \frac{1}{2})\lambda$ l'interferenza è completamente distruttiva.

Il passaggio da interferogramma a spettro è illustrato in figura IV che mostra inoltre come, in assenza del campione, il detector registri uno spettro di assorbimento riferibile al vapore acqueo, alla CO_2 e ad impurezze di varia natura presenti nell'aria. Questo spettro, detto *background*, viene memorizzato ed in seguito sottratto allo spettro eseguito sul campione che, nello schema di funzionamento dello spettrofotometro, è posto sulla traiettoria del raggio, prima del detector. La risultante è uno spettro che porta in ordinata la trasmittanza percentuale ed in ascissa il numero d'onda (cm^{-1}).

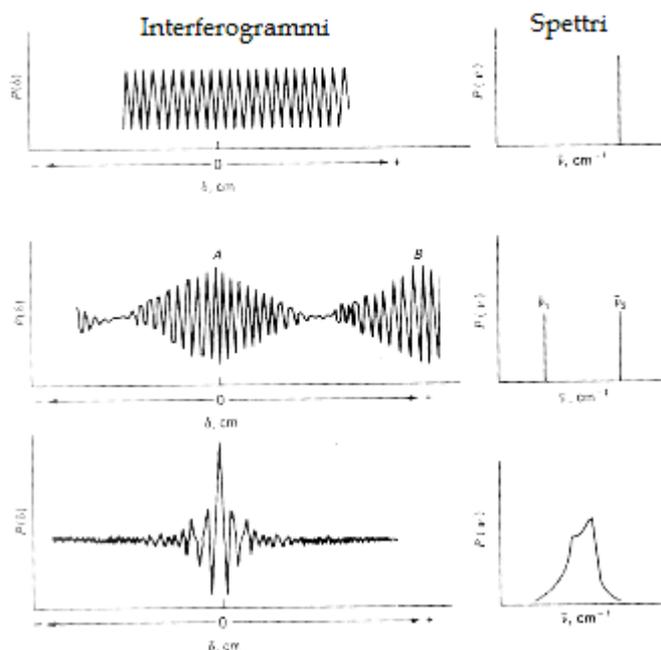


Fig. IV *Interferogrammi, spettri e rapporto tra gli stessi.*

L'operazione di sottrazione degli spettri viene eseguita mediante un computer, parte integrante dello spettrofotometro FT-IR.

Un aumento del numero di scansioni e quindi un maggior numero di percorsi ottici del raggio b , permette di ottenere un miglior rapporto segnale/rumore ed una più adeguata risoluzione. Ciò avviene perché sommando più interferogrammi il rumore tende a zero, mentre il segnale aumenta di definizione proporzionalmente alla radice quadrata del numero di scansioni.

Il vantaggio più significativo della spettrofotometria FT-IR è sicuramente il rapporto segnale/rumore: mentre il rumore di fondo è casuale, il segnale è costante e tutte le frequenze sono analizzate simultaneamente.

La velocità ha inoltre reso possibili numerose applicazioni, soprattutto in quei casi in cui il campione è disponibile all'analisi per brevi periodi di tempo, come ad esempio studi di cinetica con intermedi poco stabili, osservazioni su eluati di colonne gascromatografiche o ancora l'impiego della microscopia FT-IR a temperatura variabile.

Ulteriori vantaggi consistono nel fatto che è possibile accumulare gli spettri e quindi diminuire il rumore, che il laser viene usato per ogni singola scansione e che la risoluzione dello strumento è costante.

Infine, la possibilità di integrare le potenzialità dello spettrofotometro FT-IR con un vasto numero di accessori aumenta la versatilità dello strumento, adeguandolo a svariate condizioni operative e di campionamento [1, 2].

1.1.2 Analisi in trasmissione

Nell'analisi in trasmissione si posiziona il campione in modo che venga attraversato dalla radiazione infrarossa; il rivelatore misura l'entità della radiazione che passa attraverso il campione, cioè che viene trasmessa, che sarà ovviamente complementare a quella assorbita. Assorbimento e trasmissione sono inversamente proporzionali tra loro, quindi il loro utilizzo diventa intercambiabile. Per esprimere l'entità di radiazione trasmessa si usa la TRASMITTANZA:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

In cui I è l'intensità della radiazione giunta al rivelatore e I_0 quella della radiazione emessa; la trasmittanza viene solitamente espressa come percentuale. Per esprimere invece l'entità della radiazione assorbita si usa l'ASSORBANZA:

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \log\left(\frac{1}{T}\right)$$

L'importanza di poter esprimere l'entità dell'interazione tra radiazione e materia in assorbanza è dovuta al fatto che questa grandezza è direttamente proporzionale alla concentrazione secondo la legge di Beer:

$$A = \epsilon b C$$

dove A è l'assorbanza, b il cammino ottico in cm, C la concentrazione e ϵ è il coefficiente di assorbimento molare, una costante dipendente dalla lunghezza d'onda della radiazione, dal solvente e dall'analita. Grazie a questa legge è possibile usare i valori di assorbanza per eseguire analisi quantitative, con opportune rette di taratura.

La preparazione del campione è differente a seconda del suo stato fisico. I campioni gassosi vengono analizzati mediante celle a gas a tenuta stagna e spesso in pressione oppure sottovuoto. Queste celle presentano cammino ottico più lungo rispetto ad una cella per campioni in fase condensata in quanto la probabilità che la radiazione incontri una molecola è molto più bassa; l'aumento di cammino ottico serve quindi a compensare questa situazione.

I campioni liquidi vengono analizzati deponendone una goccia su vetrini di materiali trasparenti alla radiazione infrarossa. Il campione spandendosi tra le due finestre forma un film sottile attraverso il quale viene poi fatto passare il raggio. Poiché vetro e quarzo non sono trasparenti all'IR è necessario impiegare materiali alternativi. Il più usato è NaCl che ha però il grosso limite di non poter essere usato per campioni in soluzione acquosa. Per poter analizzare campioni acquosi è necessario usare altri materiali insolubili, molto più costosi, quali ad esempio AgF,

BaF₂ o CaF₂. Rimane comunque sia difficile l'utilizzo di soluzioni acquose, anche su materiale opportunamente insolubile, perché in questo caso il segnale del solvente è preponderante nello spettro.

I campioni solidi vengono finemente sminuzzati in mortaio fino ad ottenere una polvere di granulometria più fine possibile; successivamente ci sono due possibilità:

- Il campione può essere disperso in un olio di paraffina ad alta viscosità (nujol) che viene poi posto come film sottile su vetrino;
- Il campione può essere miscelato con un opportuno diluente trasparente all'IR e posto in pressa idraulica fino ad ottenere una compressa sottile che non blocchi la radiazione. Il diluente più comune è KBr, poco costoso e con buona trasparenza nell'intervallo 4000-400 cm⁻¹, ma molto igroscopico. Altri diluenti, utilizzati per esigenze particolari, sono CsI, AgBr, CaF₂, As₂Se₃ (fortemente tossico).

I campioni solidi non possono essere compressi tal quali in quanto darebbero eccessivo assorbimento della radiazione, dando uno spettro con regioni allo 0% di trasmittanza e quindi prive di significato analitico; questa condizione è detta saturazione dello spettro.

1.1.3 Analisi in riflessione

Nell'eseguire un'analisi in riflessione è possibile misurare sia l'entità della radiazione riflessa dal campione stesso (tecniche DRIFT e RAIR), sia l'entità della radiazione riflessa internamente ad un materiale ad elevato indice di rifrazione posto a diretto contatto con il campione (tecniche ATR e MIR). In entrambi i casi la radiazione riflessa viene espressa come RIFLETTANZA:

$$R = \frac{I_R}{I_0}$$

dove I_R è l'intensità della radiazione riflessa. Anche la riflettanza, come già la trasmittanza, viene espressa come percentuale.

Quando la radiazione infrarossa investe un campione può dare tre tipi fondamentali di interazione: assorbimento, trasmissione e riflessione. In quest'ultimo caso si può andare incontro ad una:

- ✓ *Riflessione speculare* (fig. V a): il fascio infrarosso incidente, che forma un certo angolo rispetto alla perpendicolare alla superficie riflettente, viene riflesso formando un angolo di uguale ampiezza nel semipiano opposto;
- ✓ *Riflessione diffusa* (fig. V b): si assiste a questo tipo di riflessione quando il campione presenta superficie irregolare, con presenza di molte superfici formanti con il piano

orizzontale angoli diversi. In questa situazione il fascio di radiazione infrarossa forma angoli di incidenza diversi per ogni superficie incontrata e quindi viene diffuso in molte componenti con intensità minore rispetto a quella che si avrebbe in una riflessione speculare pura.

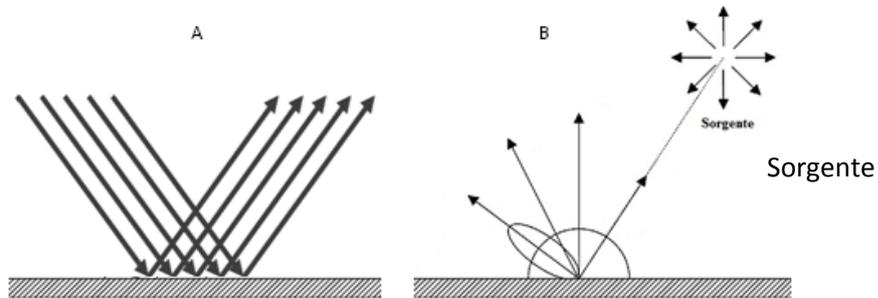


Fig. V Fenomeni di riflessione: a) riflessione speculare, b) riflessione diffusa

La **spettroscopia infrarossa in riflessione diffusa** (*Diffuse Reflectance Infrared Fourier-Transform Spectroscopy*, DRIFTS) utilizza accessori con sistemi di specchi diversi rispetto a quelli che si vedranno per la RAIRS oppure per l'ATR/MIR. Il fascio infrarosso viene fatto convergere verso uno specchio parabolico, l'elemento cardine del sistema ottico. Lo specchio parabolico è posto al di sopra del campione e ha due funzioni:

- Focalizzare tutta la radiazione verso il campione;
- Raccogliere tutte le componenti di riflessione diffusa e convogliarle verso gli specchi che le invieranno al rivelatore.

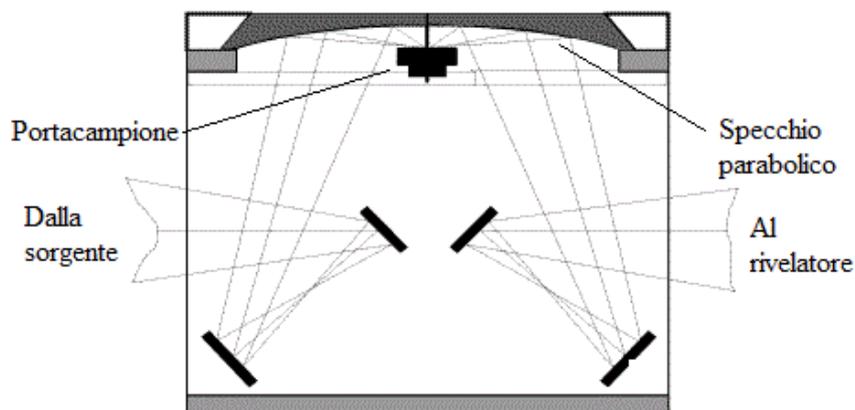


Fig. VI Diagramma ottico di un accessorio per tecnica DRIFT

Il fenomeno della riflessione diffusa è trascurabile quando si hanno campioni che assorbono/trasmettono la maggior parte della radiazione oppure ad elevata componente di riflessione speculare. La spettroscopia DRIFT è un buon metodo di campionamento per polveri o materiale cristallino nel medio e vicino infrarosso ed inoltre è molto usata per campioni solidi non trattabili, poiché evita la compressione.

Il campione viene infatti macinato con diluizione in KBr, ma la miscela ottenuta viene direttamente analizzata. Per cercare di minimizzare la componente speculare è quindi importante avere un *particle size* molto basso e una buona omogeneità, oltre ad un accurato impaccamento e livellamento della polvere nel porta campione.

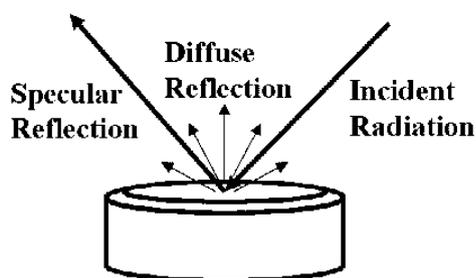


Fig. VII *Componente diffusa e riflessa del raggio incidente sul campione*

L'analisi in riflessione-assorbimento (*Reflection-Absorption InfraRed Spectroscopy, RAIRS*) viene usata su campioni che riflettano la maggior parte della radiazione incidente e che abbiano una superficie liscia e regolare, in modo che la radiazione riflessa emerga con un solo angolo ben determinato. Da un punto di vista operativo il raggio passa attraverso un sistema di specchi che lo convoglia sul campione, dove viene riflesso; altri specchi lo deviano quindi al rivelatore. Un diagramma ottico di esempio è visibile in figura VIII. L'angolo di incidenza impiegato è solitamente vicino alla normale. Molti accessori non lavorano ad angolo fisso, ma hanno la possibilità di variare l'angolo di incidenza, allo scopo di indagare profondità diverse del film analizzato. Ad angolo di incidenza minore (per esempio 30°) corrisponde una maggior penetrazione in profondità del raggio, ma anche una minor area di interazione. Al contrario un angolo di incidenza alto (per esempio 75°) consentirà di studiare gli strati più superficiali del campione, ma con una superficie di interazione più estesa.

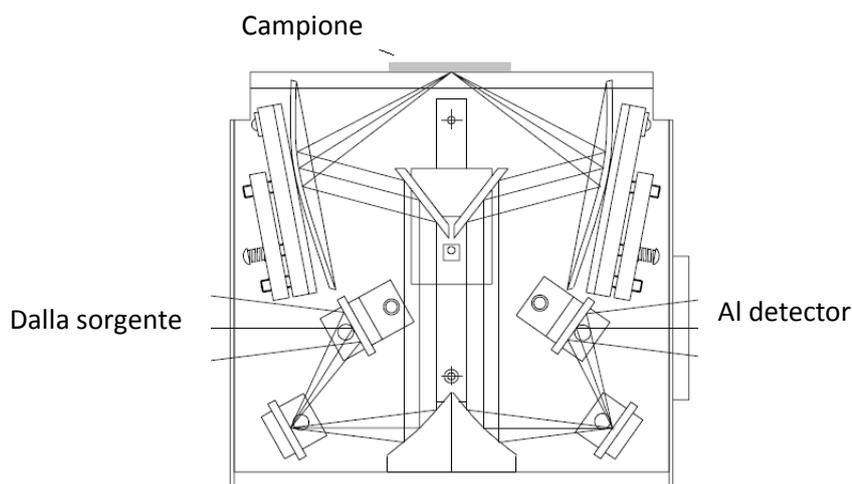


Fig. VIII Diagramma ottico di un accessorio per RAIRS

La RAIRS è una tecnica molto usata per la caratterizzazione di film sottili su superficie riflettente. La componente di interesse del raggio in uscita dal campione è in questo caso I_A (fig. X), derivante dall'assorbimento del raggio incidente da parte dello strato superficiale del *sample*. Il *background* è registrato su uno specchio dorato utilizzando la stessa finestra di apertura che poi si utilizzerà per l'analisi. È possibile anche effettuare un *purge* in azoto dell'accessorio che è un sistema chiuso, così da diminuire l'interferenza della CO_2 dell'aria. In questo caso deve essere insufflato azoto per una mezz'ora circa prima dell'analisi, così da far uscire tutta l'aria. Bisogna tener conto in ogni caso che il sistema non è ermeticamente chiuso.

La RAIRS ha il vantaggio che oltre a dare informazioni sulle specie chimiche legate alla superficie, dà indicazioni sull'orientamento della molecola adsorbita o legata. Infatti solamente le vibrazioni che hanno un momento dipolare perpendicolare alla superficie in analisi sono IR attivi, mentre le altre non sono osservabili (fig. IX).

Inoltre con filtri polarizzatori si può distinguere facilmente tra componenti adsorbite e legate alla superficie.

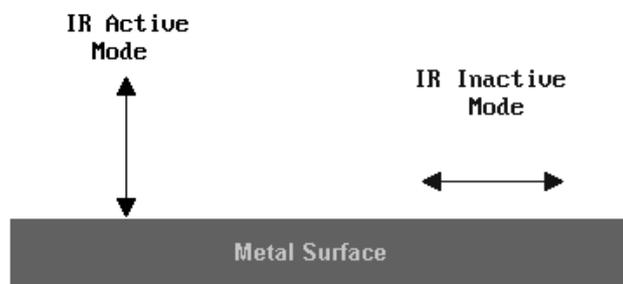


Fig. IX Esempificazione dei momenti dipolari attivi o inattivi in RAIRS

La **riflessione speculare** viene usata per l'analisi di film relativamente più spessi. La componente registrata è quella puramente speculare I_R , influenzata dall'indice di rifrazione, dalla rugosità e dal coefficiente di assorbimento del campione.

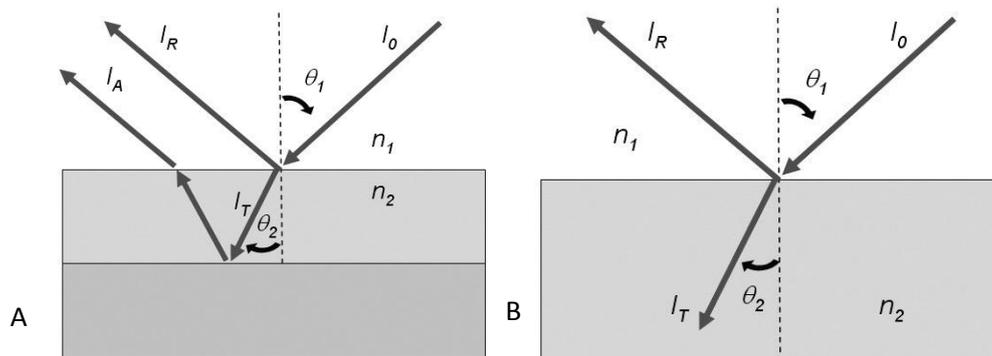


Fig. X Schema dell'interazione tra raggio e superficie per a) la tecnica di riflessione-assorbimento e b) la riflessione speculare

Terza applicazione della riflessione è la **spettroscopia ad angolo radente**, in cui si utilizza un angolo di incidenza tra i 60 e gli 85 gradi per studiare gli strati monomolecolari di film.

L'**analisi in riflessione interna** si basa sulla riflessione interna ad un cristallo ad alto indice di rifrazione (solitamente ZnSe o GeSe) posto a diretto contatto con il campione. La radiazione attraversa il cristallo e viene rifratta; colpisce quindi il campione, lo penetra per pochi μm e viene riflessa, riattraversando il cristallo e giungendo al rivelatore. La tecnica appena descritta è detta analisi in riflessione totale attenuata (*Attenuated Total Reflectance*, ATR). Una sua variante di largo impiego è l'analisi in riflessione interna multipla (*Multiple Internal Reflection*, MIR): in questa tecnica l'analita viene depositato su entrambe le facce del cristallo lasciando scoperte piccole porzioni per permettere l'ingresso e l'uscita della radiazione dal cristallo.

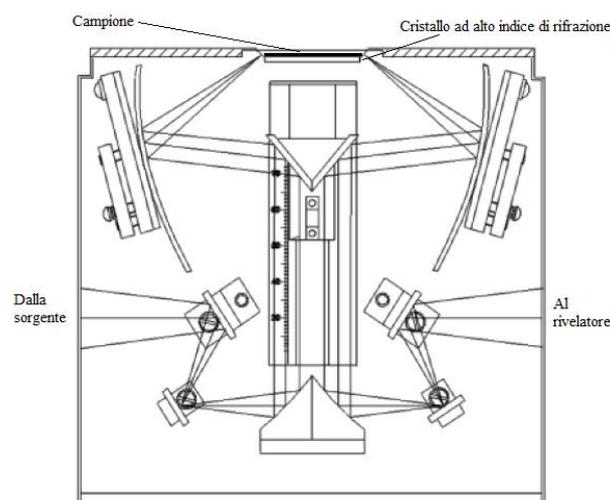


Fig. XI Analisi in riflessione interna: diagramma ottico di un accessorio per ATR

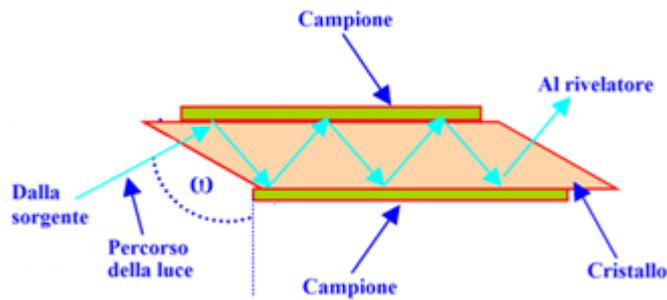


Fig. XII Analisi in riflessione interna: variante MIR

Il raggio viene riflesso più volte all'interno del cristallo prima di uscire e giungere al rivelatore. In entrambe queste tecniche lo scopo della riflessione, singola o multipla che sia, è studiare strati superficiali del campione. In figura XI è mostrato un diagramma ottico per ATR ed in figura XII un ingrandimento del cristallo nella variante MIR. Il campionamento ATR è molto utilizzato soprattutto nella microspettroscopia infrarossa.

1.1.4 Microscopia IR

L'accoppiamento tra la microscopia e la spettroscopia IR è un concetto noto fin dagli anni '40, sebbene l'utilizzo di tale tecnica fosse a quei tempi assai ridotto a causa dei costi elevati e dei lunghi tempi di acquisizione. Negli anni '80, grazie alla messa in commercio dei primi spettrofotometri FT-IR, tali problemi furono risolti.

Il limite quantitativo per il campionamento, per gli accessori per FT-IR, è dell'ordine dei decimi di milligrammo.

Le figure XIII e XIV mostrano lo schema ottico di un microscopio FT-IR.

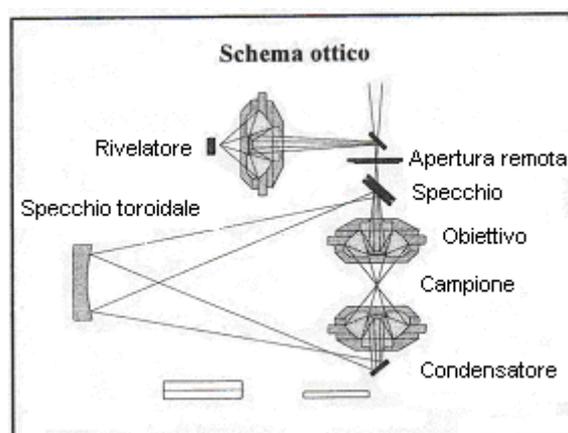


Fig. XIII Rivelatore, obiettivo e condensatore cassegrain in un microscopio FT-IR

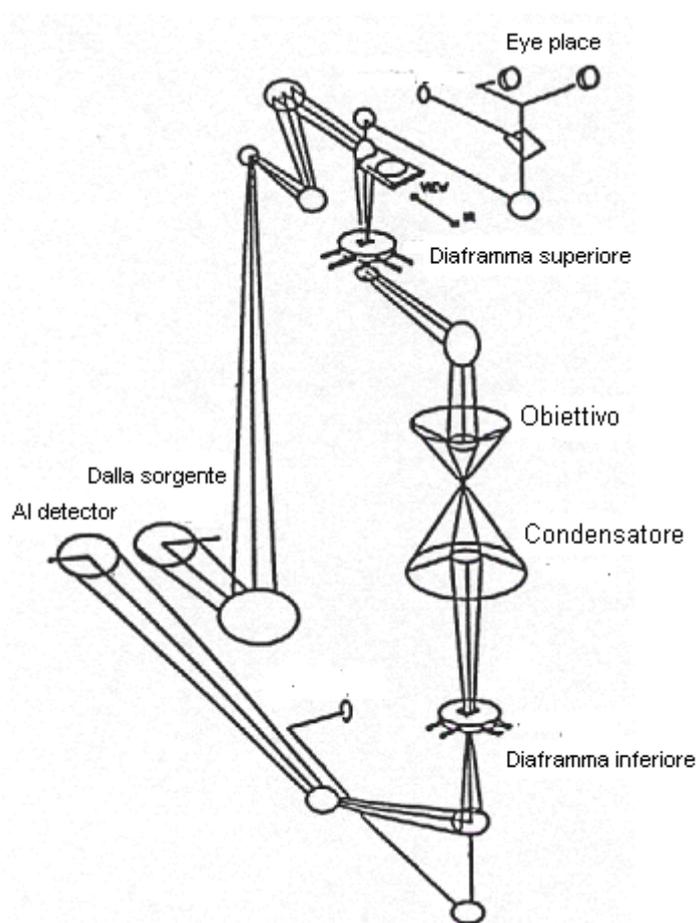


Fig. XIV Schema di un microscopio FT-IR

Il campione è posto su un piano orizzontale, traslabile lungo le due direzioni per consentire il posizionamento del campo visivo sulla zona d'interesse analitico. Nei moderni microscopi l'operazione di posizionamento è motorizzata.

Il sistema ottico è dotato di due circuiti indipendenti: uno per la visione del campione e l'altro per l'analisi IR.

Nel primo circuito la luce emessa da un illuminatore viene fatta collimare attraverso un condensatore sul campione; l'operatore mette a fuoco l'immagine e, attraverso un sistema di finestre, seleziona la zona di analisi. L'immagine viene a questo punto raccolta da un obiettivo e trasmessa agli oculari oppure, più modernamente, ad una telecamera collegata ad un monitor per la visione ingrandita.

Nel secondo circuito il raggio IR, dopo essere passato nell'interferometro, viene inviato al campione e trasmesso al rivelatore per la registrazione dello spettro.

Molti microscopi sono strutturati in modo da poter essere usati sia in riflessione che in trasmissione, così da permettere l'analisi anche di campioni su supporti che riflettono le radiazioni (fig. XV).

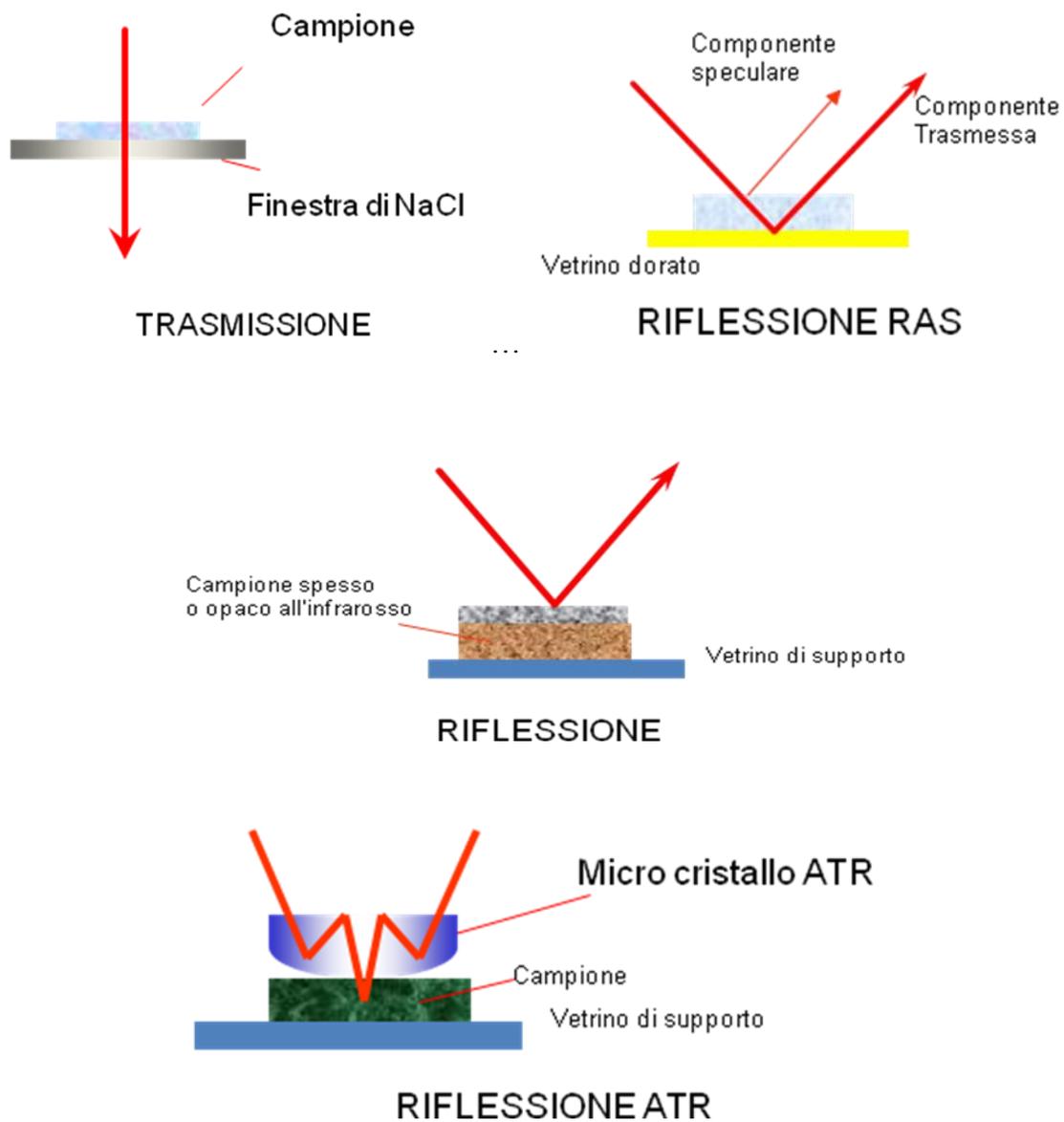


Fig. XV Schema delle varie tecniche di acquisizione utilizzabili in microscopia

I microscopi hanno in dotazione un obiettivo *cassegrain multimode* (fig. XVI): i percorsi visibile e IR attraversano il medesimo obiettivo e si analizza esattamente ciò che viene inquadrato. Tutte le modalità di campionamento avvengono attraverso lo stesso obiettivo e ciò determina facilità e rapidità nel cambio della tecnica di campionamento, nonché stabilità e costanza dell'allineamento.



Fig. XVI *Obiettivo cassegrain multimode*

Per quanto riguarda la risoluzione spaziale in microscopia FT-IR, questa è limitata dal fenomeno di diffrazione: quando una radiazione luminosa emessa da una sorgente puntiforme attraversa un'apertura in un sistema ottico, l'immagine che si ottiene non ha la stessa forma puntiforme; risultano invece delle frange chiare e scure dette *figure di diffrazione*.

Secondo il *Criterio di Rayleigh* l'immagine della sorgente puntiforme può essere pensata come un insieme di diverse frange di diffrazione sovrapposte. Se il centro di una figura di diffrazione giace sul primo minimo di una figura di diffrazione adiacente, allora i due punti sono risolti.

Il fenomeno della diffrazione deve essere tenuto in particolare considerazione durante la selezione dell'area da campionare, attuata mediante un'apertura di dimensioni variabili. Nel caso di un'apertura di dimensioni paragonabili alla lunghezza d'onda impiegata nell'analisi, infatti, avviene che l'apertura non possa bloccare completamente le radiazioni provenienti dalle zone immediatamente all'esterno della zona di campionamento (fig. XVII).

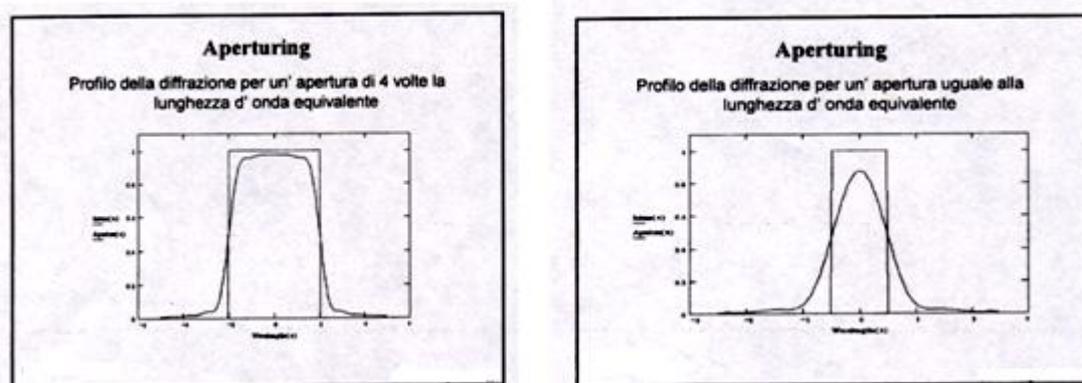


Fig. XVII *Tecnica di diffrazione aperturing*

Considerando un campione di larghezza $10 \mu\text{m}$ analizzato attraverso un'apertura di $10 \mu\text{m}$ avremo quindi un'interferenza dovuta alla matrice circostante il campione.

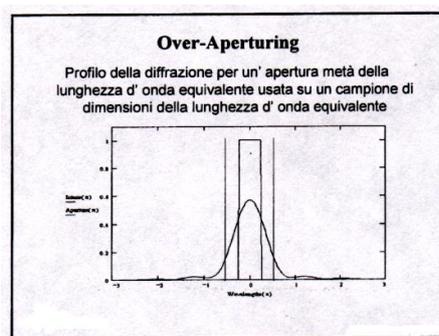


Fig. XVIII *Tecnica di diffrazione over-aperturing*

Analizzando il medesimo campione con un'apertura più stretta, per esempio 5 μm , si compensa l'effetto della diffrazione e si ottiene lo spettro privo d'interferenze dovute alle zone circostanti. La tecnica *Over-aperturing* assicura quindi l'ottenimento di uno spettro estremamente nitido (fig. XVIII).

L'acquisizione mediante microscopia infrarossa può avvenire principalmente secondo tre modalità:

SINGLE POINT: registrazione degli spettri in punti specifici d'interesse del campione;

MAPPING: acquisizione *sequenziale* automatica di più spettri derivanti da punti affiancati al fine di definire un'immagine chimica del campione;

IMAGING: acquisizione *simultanea* automatica di molti spettri derivanti da punti contigui al fine di definire l'immagine chimica del campione in maniera particolarmente veloce.

Nel caso della registrazione a singolo punto viene inquadrata nel visibile la regione di cui si vuole uno spettro e si procede poi all'acquisizione. Non si otterrà alcuna mappa, ma solo uno spettro associato ad una foto.

L'analisi mediante *mapping* (fig. XIX a) è sostanzialmente una via di mezzo tra le altre due tecniche: si ottiene una immagine chimica per affiancamento di spettri di punti contigui registrati singolarmente uno dopo l'altro. L'acquisizione è ovviamente automatizzata, ma i tempi sono più lunghi rispetto ad un *imaging*. La dimensione del raggio dipende dall'apertura del diaframma, il piano si muove lungo gli assi X e Y per coprire l'intera zona d'analisi.

Nella modalità *imaging* (fig. XIX b) una serie lineare di *detector*, il cui numero varia a seconda delle case produttrici, è responsabile di una acquisizione in contemporanea di molti spettri (tanti quanti sono i *detector*) derivanti da punti affiancati tra loro. Il tavolino motorizzato del microscopio deve scorrere con un numero di movimenti minore rispetto al singolo punto per analizzare tutto il campione. La dimensione minima del raggio è data dalla grandezza dei pixel sul punto a fuoco del *sample*.

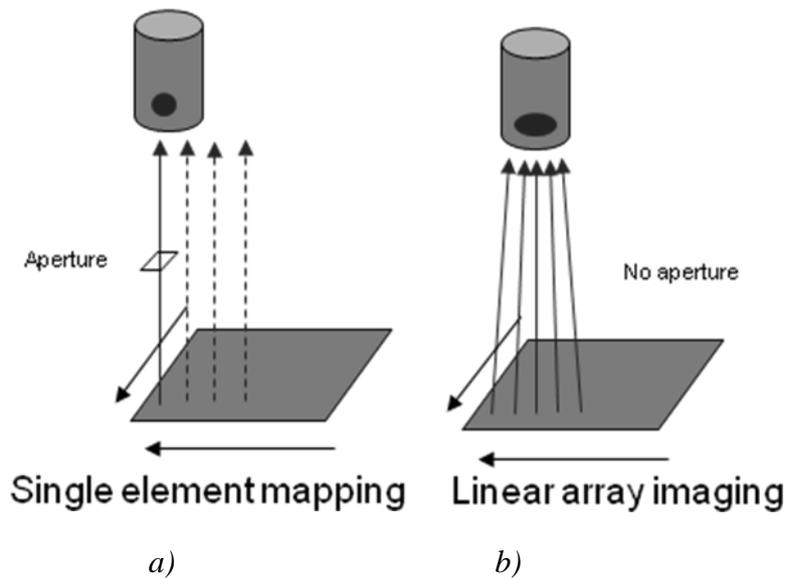


Fig. XIX a) tecnica di acquisizione mapping e b) tecnica imaging

1.2 Spettroscopia Raman

La spettroscopia Raman è una tecnica non invasiva e non distruttiva che si basa sull'interazione radiazione/materia.

In particolare la radiazione emessa da un fascio laser interagisce con i moti roto-vibrazionali delle molecole, con la conseguente riemissione di luce a lunghezze d'onda diverse da quella incidente. Si tratta quindi di una spettroscopia di emissione.

Lo spettro che si ottiene, detto spettro Raman, fornisce un'impronta digitale (*finger print*) della molecola in esame, permettendone l'identificazione.

La tecnica si basa sul cosiddetto "effetto Raman" che prevede che la radiazione sia diffusa:

- in piccola parte in modo elastico in tutte le direzioni senza perdita di energia, cioè alla stessa frequenza della radiazione incidente (*diffusione elastica o Rayleigh*);
- in parte ancora più piccola in modo anelastico cedendo (*diffusione Raman Stokes*) o acquisendo (*diffusione Raman anti-Stokes*) energia nell'interazione con la molecola, vibrando così a frequenze che differiscono per quanti energetici vibrazionali

L'intensità della radiazione diffusa (inferiore all'intensità della radiazione incidente) dipende dunque dal contributo dato sia dallo *scattering* elastico che dallo *scattering* anelastico e questi, a loro volta, dipendono dalla struttura chimica delle molecole responsabili della diffusione.

La diffusione Rayleigh darà un picco più intenso di quella Raman perché l'evento ad essa legato è statisticamente più probabile. La frequenza della radiazione Rayleigh è detta frequenza di

eccitazione ν_0 . Inoltre l'emissione Stokes è favorita rispetto a quella anti-Stokes: dunque le righe Stokes sono più intense delle anti-Stokes e sono quelle utilizzate ai fini analitici.

Un tipico spettro della luce diffusa generalmente riporta intensità rispetto a spostamento (*shift*) in frequenza dalla radiazione eccitatrice. Le vibrazioni Stokes e anti-Stokes si posizionano simmetricamente rispetto alla frequenza eccitatrice e non dipendono dalla lunghezza d'onda della luce inviata, ma solo dalla differenza di energia tra gli stati vibrazionali ($\Delta\nu$ è definito come la differenza tra la radiazione diffusa emessa dal campione e quella emessa dalla sorgente, un parametro perciò indipendente dalla lunghezza d'onda del laser).

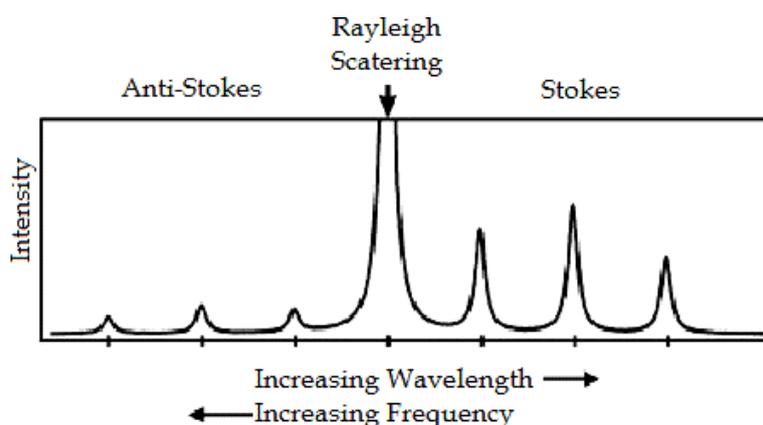


Fig. XX Esempio di spettro della luce diffusa

In caso di composti fluorescenti si può avere elevata interferenza nell'osservazione degli spostamenti Stokes, quindi si usano i picchi anti-Stokes, sebbene meno intensi.

In un tipico esperimento Raman un fascio di luce monocromatica viene fatto incidere sul campione per poi rilevarne la radiazione diffusa ad un angolo ortogonale rispetto alla direzione del fascio incidente.

Quando i fotoni incidenti collidono con la molecola, essi possono perdere o guadagnare energia:

- ✓ se la molecola assorbe parte dell'energia del fotone per passare ad uno stato eccitato, il fotone riemergerà con un'energia (frequenza) minore di quella d'incidenza andando a formare le cosiddette righe Stokes dello spettro Raman;
- ✓ se invece la molecola si trova già in uno stato eccitato (l'energia termica a temperatura ambiente eccita alcuni stati rotazionali) può cedere energia al fotone incidente che riemergerà dall'urto con un'energia maggiore andando a formare le righe anti-Stokes.

La componente della radiazione diffusa nella stessa direzione d'origine senza cambiamenti di frequenza rispetto alla sorgente è la radiazione Rayleigh che essendo la componente di gran lunga più intensa dello spettro Raman deve essere allontanata.

Lo spettro Raman è uno spettro vibrazionale, come lo spettro IR, ma da questo differisce per due motivi fondamentali: lo spettro Raman viene generato dalla differenza di due livelli elettronici (la cui differenza è pari ad un livello vibrazionale); la sorgente dello spettrometro è perciò nel visibile, anche se ora sono molto diffuse sorgenti nel NIR.

Gli spettri Raman ed IR differiscono inoltre per differenti regole di selezione delle transizioni. Questo significa che le bande hanno in genere intensità diversa ed in alcuni casi si possono avere bande presenti in una tecnica e non nell'altra, e viceversa.

La spettroscopia infrarossa e quella Raman risultano pertanto tecniche complementari, poiché affiancano emissione ed assorbimento vibrazionali di una stessa molecola.

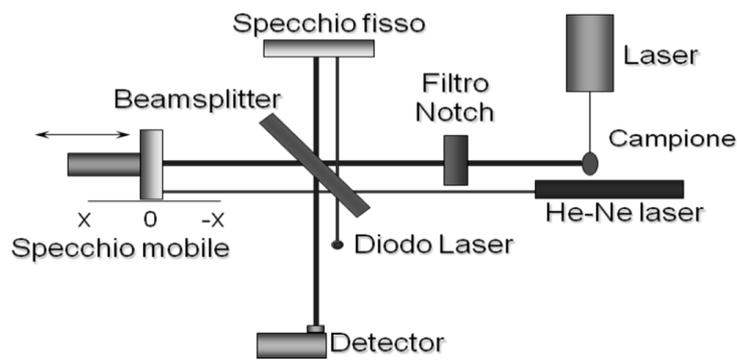
1.2.1 Strumentazione

Un sistema per spettroscopia Raman può essere sintetizzato come composto da:

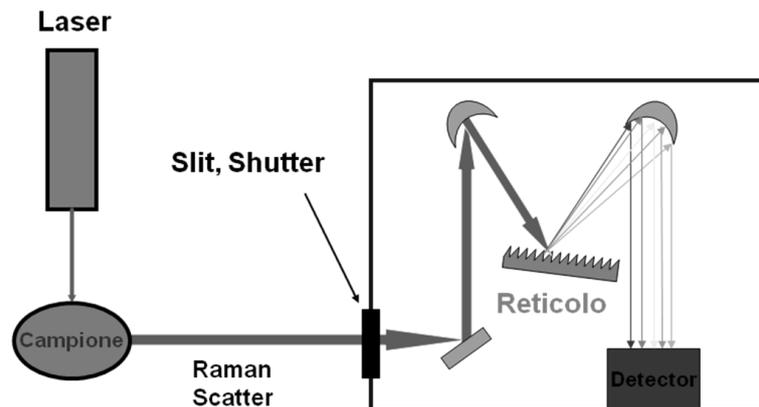
- ✓ una SORGENTE Laser;
- ✓ un SISTEMA DI CAMPIONAMENTO per inviare il fascio laser sul campione e raccogliere il segnale Raman;
- ✓ un SISTEMA PER SEPARARE IL SEGNALE RAMAN DALLA COMPONENTE DI LUCE DIFFUSA in modo quasi elastico (il cosiddetto *scattering Rayleigh*);
- ✓ un INTERFEROMETRO che consenta un effetto additivo o di annichilazione tra radiazioni aventi la stessa lunghezza d'onda;
- ✓ un sistema di rivelazione che, fino a non molto tempo fa, era un tradizionale fotomoltiplicatore, oggi sostituito da moderni rivelatori.

Il tipo di sorgente di eccitazione condiziona la scelta di gran parte delle altre caratteristiche strumentali. È possibile scegliere sorgenti laser con lunghezza d'onda nell'UV, nel visibile e nel vicino infrarosso.

Gli strumenti FT-Raman usano un interferometro per generare lo spettro. Gli interferometri permettono di acquisire l'intero spettro simultaneamente cosicché si ha un guadagno in sensibilità per la possibilità di sommare un grande numero di spettri e per la possibilità di utilizzare l'intera potenza radiante della sorgente. Al contrario, negli strumenti dispersivi si seleziona una lunghezza d'onda alla volta e solo una piccola frazione della potenza totale irradia il campione. Un difetto degli strumenti FT-Raman è però quello di distribuire anche il rumore sull'intero spettro. La rivelazione della radiazione Raman è effettuata di solito mediante dei detector a semiconduttore.



a)



b)

Fig. XXI a) *schema FT-Raman* b) *strumento dispersivo*

La spettroscopia Raman Imaging non è altro che l'accoppiamento di un microscopio allo strumento FT-Raman. In questo modo analogamente alla tecnica FT-IR Imaging è possibile posizionare il campione sotto l'obiettivo del microscopio, osservarlo nel visibile e irraggiarlo poi con un laser, così da registrare spettri Raman. A seconda dei modelli sarà il tavolino del microscopio a muoversi sotto il laser o il laser a scorrere lungo il campione, collezionando sequenzialmente spettri di punti contigui del *sample* fino a coprire l'intera regione selezionata per l'analisi.

La risoluzione spaziale è maggiore che nell'IR dato che la sorgente è un laser. L'utilizzo di una sorgente di luce focalizzata ha come vantaggio anche un minor disturbo da diffrazione che consente di raggiungere ingrandimenti maggiori che con l'infrarosso. Lo svantaggio va a scapito però dei tempi di analisi che si allungano (a parità di estensione un raggio focalizzato essendo più "piccolo" ci metterà di più a sventagliare l'intero campione).

1.2.2 Applicazioni della spettroscopia Raman

Il principale vantaggio della tecnica Raman rispetto all'IR è che l'acqua è praticamente Raman trasparente e perciò i campioni acquosi possono essere analizzati tal quali. Se si aggiunge che anche il vetro ha un debole assorbimento Raman, si può pensare di analizzare i campioni acquosi in semplici provette.

Invece nell'analisi di campioni solidi, la spettrometria Raman, a differenza delle tecniche IR, non richiede una particolare preparazione del campione. Per esempio, i prodotti farmaceutici possono essere analizzati tal quali, nella loro forma finale per il consumo. Questa caratteristica rende il Raman una tecnica potenzialmente utile per il controllo di processo. Lo spettro Raman dei prodotti attivi è inoltre generalmente molto più intenso di quello degli eccipienti.

Il Raman sta trovando un crescente numero di applicazioni nel campo farmaceutico e nella scienza dei materiali. La maggior parte dei picchi Raman si posizionano nell'intervallo tra $150\div 3500\text{ cm}^{-1}$. È così possibile identificare la composizione chimica di un campione incognito, per confronto con spettri standard, ma anche caratterizzare il diverso stato di aggregazione delle molecole. Nell'analisi dei materiali la non distruttività della tecnica è poi un indubbio vantaggio, tenendo conto che, a livello di ricerca e sviluppo, le quantità di campione disponibile sono spesso limitate. L'analisi del campione tal quale è spesso indispensabile per valutare le proprietà della superficie di materiali adsorbenti.

Le maggiori applicazioni del Raman rimangono però nel settore biologico e medico, dove si devono analizzare campioni con elevato contenuto d'acqua.

1.3 Diffrazione a Raggi X

La diffrattometria a raggi X su polveri (XRPD) è ampiamente utilizzata nel contesto farmaceutico per caratterizzare materiali cristallini. Ha infatti il vantaggio di essere una tecnica non distruttiva, caratterizzata da assoluta specificità ed alto grado di accuratezza.

Ad ogni fase solida cristallina, infatti, corrisponde un unico pattern diffrattometrico, fondamentale per la sua identificazione. Significativi esempi di questa peculiarità si ritrovano nel contesto del polimorfismo, in cui l'analisi delle diverse forme polimorfe di uno stesso composto conduce frequentemente all'ottenimento di diffrattogrammi marcatamente diversi tra loro.

Nell'applicazione dei metodi di diffrazione a raggi X occorre fare distinzione tra la diffrazione su cristallo singolo (SC-XRD, Single Crystal X-ray Diffraction) e la diffrazione su polveri (XRPD, X-ray Powder Diffraction). Tradizionalmente la diffrazione a raggi X su cristallo singolo

viene utilizzata per la determinazione dettagliata della struttura cristallina e molecolare di un composto, mentre quella su polveri per l'identificazione qualitativa e quantitativa di singole fasi o di miscele di fasi e quindi anche per lo studio di sistemi polimorfi o miscele di polimorfi.

Lo studio di cristalli dispersi in una matrice è poco diffuso a causa dell'elevata interferenza dei molteplici componenti.

Un diffrattometro a raggi X è composto da un generatore di raggi X, un sistema goniometrico ad altissima precisione che consente di orientare il cristallo rispetto alla sorgente di raggi X, ed un rivelatore per misurare la posizione e l'intensità dei raggi diffratti.

Lo strumento è progettato secondo la geometria di Bragg-Brentano e lavora in riflessione, consentendo così una elevata intensità del fascio diffratto. Il fascio incidente viene emesso da un tubo radiogeno e collimato da una fenditura perché assuma un percorso quanto più possibile rettilineo. Ciò avviene mediante l'uso di un cilindretto che conduce il fascio nella direzione voluta, permettendo così una divergenza massima dipendente dalla geometria del collimatore, secondo il rapporto tra il diametro della sezione e la lunghezza del percorso. Dopo aver colpito il campione, posto in opportune condizioni geometriche, il fascio subisce una diffrazione (*scattering*) e conclude la sua corsa, passando attraverso due fenditure nello scintillatore: l'apertura delle fenditure determina la risoluzione dello strumento.

Lo scintillatore è composto da un fototubo sottovuoto dotato di una finestrella trasparente alla radiazione X. Al suo interno vi sono due elettrodi, anodo e catodo, sottoposti ad una elevata differenza di potenziale. Il catodo è fotosensibile e quindi reagisce alla radiazione emettendo un elettrone; se un raggio lo colpisce si instaura nel circuito un flusso di corrente la cui intensità è misurata da un galvanometro. Poiché l'intensità di corrente dipende dall'intensità della radiazione stimolatrice, si può correlare la misura del galvanometro all'intensità del segnale che ha raggiunto il rivelatore.

Il diffrattometro è controllato da un computer che gestisce la parte goniometrica e provvede all'acquisizione dei dati forniti dal rivelatore, dotato inoltre di un braccio rotante per acquisire informazioni a diverse angolazioni.

Lo schema di funzionamento di un diffrattometro a raggi x è riportato in figura XXII.

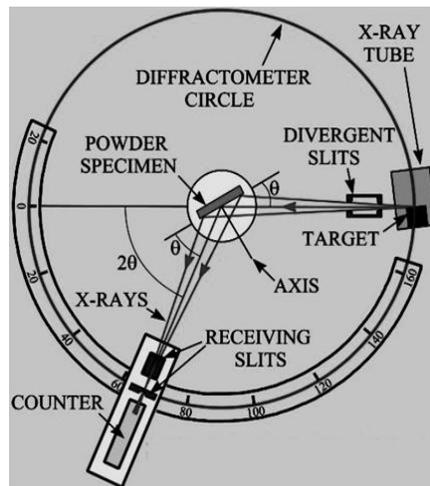


Fig. XXII Schema di funzionamento di un diffrattometro a raggi X

I raggi X sono onde elettromagnetiche caratterizzate da energia di tre ordini di grandezza superiore a quella della luce visibile e vengono prodotti in pacchetti di energia chiamati fotoni. Il processo in cui un raggio di fotoni incidente su un campione viene diffratto dagli elettroni di quest'ultimo è utilizzato per determinarne la struttura cristallina tramite l'analisi della distribuzione angolare della radiazione diffusa.

Un'immagine di diffrazione si produce ogni qualvolta la luce attraversa o viene riflessa da una struttura che abbia una caratteristica che si ripete regolarmente nello spazio tridimensionale. Affinché la figura di diffrazione sia evidente, la distanza ripetitiva della struttura periodica, deve essere uguale alla lunghezza d'onda della radiazione impiegata. Un cristallo presenta una struttura periodica tridimensionale in cui la distanza tra gli atomi nei punti reticolati è dell'ordine di 1 \AA ; perciò quando un cristallo è colpito da un fascio di raggi X, gli elettroni degli atomi che lo costituiscono li diffondono in ogni direzione e tali radiazioni prodotte interferiscono. Le diverse porzioni del fascio di raggi X incidente vengono riflesse, o più in generale diffuse, da diversi strati di atomi in funzione della simmetria del cristallo; di conseguenza il loro cammino a valle del cristallo risulterà diverso. Raccogliendo i raggi in uscita su di uno schermo situato a distanza praticamente infinita rispetto alle loro lunghezze d'onda, essi daranno origine ad interferenze positive o negative, a seconda che si trovino in fase o meno. Una parte di questi raggi X avrà una λ diversa da quella originaria (radiazione incoerente), mentre un'altra parte avrà una λ invariata (radiazione coerente); quest'ultima radiazione dà luogo a fenomeni di diffrazione.

Lo spettro di diffrazione di un solido cristallino è quindi il risultato di un insieme di fenomeni di interferenza che hanno esito costruttivo soltanto quando è soddisfatta l'equazione di Bragg, che

lega l'intensità della radiazione diffratta da un campione all'angolo che la radiazione incidente forma rispetto alla perpendicolare della superficie del campione:

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

Nell'equazione λ è la lunghezza d'onda della radiazione utilizzata, incidente con un angolo θ su una famiglia di piani reticolari paralleli, caratterizzati da una distanza interplanare d . Il fenomeno della diffrazione è riassunto schematicamente in figura XXIII.

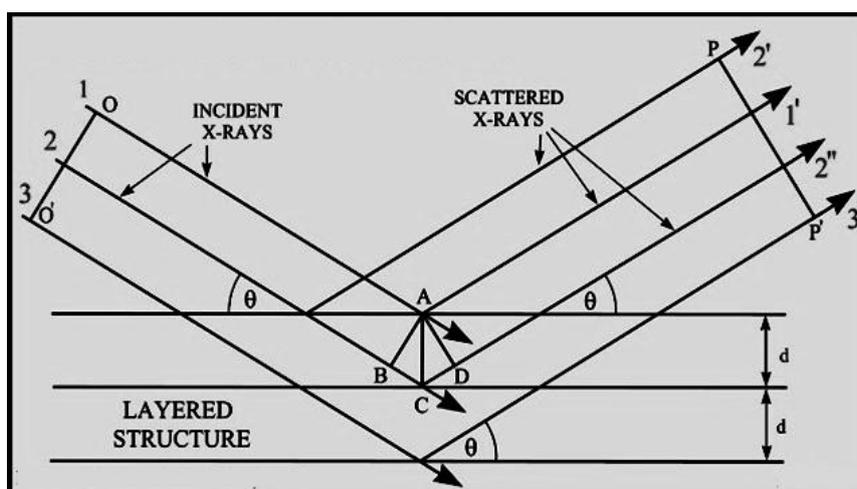


Fig. XXIII Diffrazione dei raggi X da parte del reticolo di un cristallo i cui atomi sono distribuiti su piani distanti di un intervallo d l'uno dall'altro.

Lo spettro di diffrazione su polveri è pertanto un diagramma dell'intensità diffratta da una famiglia di piani reticolari paralleli con distanza interplanare d in funzione dell'angolo di incidenza θ (o meglio in funzione di 2θ) e può essere considerato l'impronta digitale della sostanza in esame. Infatti i valori delle distanze interplanari dipendono dalle dimensioni e dalla forma della cella elementare, che è una caratteristica della sostanza stessa, mentre le intensità dipendono dal contenuto della cella elementare e dal modo in cui gli atomi e le molecole sono disposte in essa [3, 4].

PARTE II: DIRETTA IDENTIFICAZIONE DELLA FORMA DI STATO SOLIDO DI UN API FORMULATO IN CREMA

2.1 Introduzione

È a tutti noto quante e quali siano le restrizioni di carattere legislativo che portano dall'individuazione di un principio attivo fino alla sua produzione ed immissione in commercio come farmaco. Lo scopo è ovviamente quello di garantire sicurezza, qualità ed efficacia del medicinale.

In questo quadro, il controllo della forma farmaceutica finita diventa essenziale non solo in fase di progettazione, ma anche successivamente alla commercializzazione per assicurare, grazie ad analisi random dei lotti, la qualità del prodotto.

L'industria farmaceutica è dunque spinta alla ricerca non solo di nuovi principi attivi e formulazioni, ma anche di efficaci metodi di analisi che consentano un controllo accurato e, viste le esigenze di produttività, rapido dell'API formulato.

La forte richiesta in tal senso ha portato negli ultimi anni a sperimentare tecniche analitiche strumentali inusuali nel controllo tecnologico della formulazione.

Tra queste una delle più innovative è la spettroscopia detta di *imaging*, in grado cioè di affiancare ad una osservazione microscopica tradizionale la registrazione di immagini con informazioni di contenuto chimico-fisico quali spettri infrarossi o Raman.

Tale tecnica può essere efficacemente impiegata per esempio per valutare la natura di impurezze presenti sulla superficie di compresse o l'omogeneità di formulazioni in granulato o in polvere.

Il lavoro esposto in questa tesi ha rivelato come la spettroscopia FTIR Imaging sia fondamentale nell'analisi di preparazioni semisolide. Le tecniche di controllo classiche dei semisolidi non consentono un'analisi del principio attivo in se stesso, ma valutano le proprietà globali della formulazione. Poiché però il PA viene spesso disciolto durante la preparazione della crema, del gel o dell'unguento diventa importante poterlo analizzare una volta formulato, così da sapere in quale modo sia cristallizzato. Questo è particolarmente rilevante nel caso di principi attivi polimorfi.

È chiaro infatti che se una determinata forma di stato solido viene disciolta è possibile che ricristallizzi in altra forma differente dalla prima.

L'esigenza di conoscere la forma polimorfa all'interno del farmaco scaturisce da problematiche non solo di ordine tecnologico, ma anche farmacologico. Le diverse proprietà chimico-fisiche dei polimorfi influenzano infatti il rilascio del farmaco e la sua permeabilità, a parità di formulazione. Di conseguenza cambieranno la biodisponibilità del PA e il suo effetto. Accade per esempio che la minima dose efficace e la massima tollerata siano differenti per due forme solide, poiché dipendono dalla concentrazione ematica che si raggiunge e quindi in ultima istanza dalla solubilità, che è diversa per ogni forma.

Oltre che per garantire sicurezza ed efficacia del medicinale, lo studio di un polimorfo formulato acquista interesse anche da un punto di vista esclusivamente economico. L'utilizzo di una forma solida differente da quella commercializzata può essere occasione di ampliamento per un'azienda detentrica di brevetto o, al contrario, occasione per sfuggire alla copertura brevettuale da parte di terzi.

Da quanto detto risulta evidente la necessità di una tecnica analitica da utilizzare direttamente sulla preparazione farmaceutica semisolida (nel nostro caso una crema) che consenta di studiare fenomeni di polimorfismo.

La spettroscopia FT-IR Imaging e la sua tecnica complementare, la spettroscopia Raman Imaging, sono a tal proposito come già ricordato le tecniche più promettenti: esse sono in grado infatti di minimizzare l'interferenza della matrice e di focalizzarsi sull'API, cosa che attualmente non è possibile per esempio con la DRX.

2.2 Scopo del lavoro

Scopo di questo lavoro è stata la risoluzione di un problema reale presentatosi a livello industriale nell'ambito della tecnica farmaceutica. Era necessario, per evidenti motivi normativi e di sicurezza clinica, operare una diretta identificazione della forma solida di un principio attivo, all' 1% in peso, in una formulazione topica semisolida.

2.3 Materiali

2.3.1 Crema Elidel[®]: tubo da 15g, Novartis Farma S.p.A.

È una crema bianca, omogenea, inodore, che si assorbe velocemente e facilmente e non macchia i vestiti.

Il titolare dell'autorizzazione all'immissione in commercio è *Novartis Farma S.p.A.* a partire dal 01/12/2004 con AIC n. 036006017/M per il tubo da 15 grammi.

Il principio attivo presente è *Pimecrolimus* in concentrazione dell'1% in peso.

Gli eccipienti che intervengono nella formulazione sono:

- trigliceridi a catena media
- alcool oleico
- glicole propilenico
- alcool stearilico
- alcool cetilico
- mono e digliceridi
- sodio cetostearil solfato
- alcool benzilico
- acido citrico anidro
- sodio idrossido
- acqua depurata.

La validità di questa preparazione adeguatamente conservata nell'imballaggio originale è di due anni. Una volta aperto il confezionamento il prodotto è da consumarsi entro 12 mesi.

2.3.2 Pimecrolimus

Le forme di stato solido analizzate sono:

Pimecrolimus Forma Idrata (Poli Industria Chimica S.p.A.)

Pimecrolimus Forma Anidra (Poli Industria Chimica S.p.A.)

Pimecrolimus Forma Amorfa (Poli Industria Chimica S.p.A.)

Si presentano come una polvere bianca, con granulometria differente ad un'analisi macroscopica.

Caratteristiche chimiche, farmacologiche e tecnologico-applicative

Il Pimecrolimus (fig. 1) è un macrolattame lipofilo non-steroido derivato dall'Ascomicina.

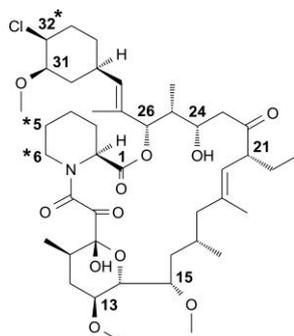


Figura 1 *Pimecrolimus (SDZ ASM 981)*

Nomenclatura IUPAC:

(3S,4R,5S,8R,9E,12S,14S,15R,16S,18R,19R,26aS)-3-((1E)-2-[(1R,3R,4S)-4-Chloro-3-methoxycyclohexyl]-1-methylvinyl)-8-ethyl-5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-hexadecahydro-5,19-dihydroxy-14,16-dimethoxy-4,10,12,18-tetramethyl-15,19-epoxy-3H-pyrido[2,1c][1,4]oxaazacyclotricosine-1,7,20,21(4H,23H)-tetrone

Formula: C₄₃H₆₈ClNO₁₁

Massa molecolare: 810,453 g/mol

Legame alle proteine plasmatiche: 74%–87%

Metabolismo: epatico, a carico del citocromo CYP 450 3A4

Solubilità: Solubile in DMSO ed etanolo, fino a circa 25 mg/ml

Stoccaggio: conservazione a -20°C ;periodo di validità di 2 anni

CAS N°: 137071-32-0

Il pimecrolimus è il risultato di un'estensiva ricerca multidisciplinare tesa ad identificare un composto che selettivamente rispondesse agli stati infiammatori della cute senza compromettere la normale attività di risposta immunitaria sistemica.

Partendo dall'ascomicina (fig. 2), un prodotto macrociclico naturale derivato da *Streptomyces hygroscopicus* variante *ascomyceticus*, sono stati sintetizzati e caratterizzati biologicamente più di 400 derivati.

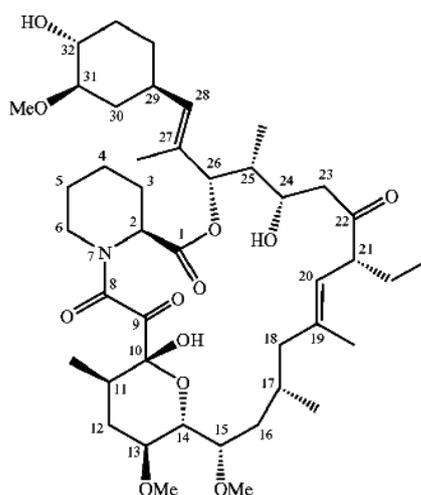


Figura 2 Ascomicina

Da questi il pimecrolimus (32-epiclolo derivato) è stato selezionato per lo sviluppo grazie alla sua attività antinfiammatoria selettiva per la cute e per il suo favorevole profilo di sicurezza [5].

L'ascomicina viene convertita in pimecrolimus tramite la sostituzione del gruppo 32-idrossi con un atomo di cloro, con inversione di configurazione.

La contemporanea presenza di 2 gruppi idrossilici, nella posizione 24 e 32, richiede una protezione selettiva prima dell'introduzione del cloro.

Uno degli approcci usati per la conversione è di tipo chimico-enzimatico con l'introduzione di due *step* chiave catalizzati dalla lipasi di *Candida antarctica*, scelta tra le varie lipasi disponibili in commercio grazie alla sua alta regio selettività; un altro metodo convenzionalmente usato prevede la silazione di entrambi i gruppi OH, seguita dalla deprotezione nella posizione 32. Dopo questi passaggi è necessaria la purificazione tramite colonna cromatografica.

Le strutture dei nuovi intermedi chiave, 24-, 32- monoacetato, e 24-, 32- diacetato, sono state identificate tramite studi NMR (risonanza magnetica nucleare).

Polimorfismo

Sono conosciute tre forme di stato solido del pimecrolimus: una forma idrata, una anidra ed una amorfa. (fig. 3, 4, 5).



Figura 3 *Forma idrata*



Figura 4 *Forma anidra*



Figura 5 *Forma amorfa*

Meccanismo d'azione

Il pimecrolimus è un farmaco immunosoppressivo e studi in vitro e in vivo hanno dimostrato che ha come *target* sia linfociti T che mastociti e granulociti basofili della cute.

I *linfociti T* (fig. 6) possiedono un sistema di recettori, TCR/CD3, tramite i quali riescono a riconoscere il peptide antigenico, presente sulla superficie di una cellula legata alle proteine del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC o HLA per la specie umana): venute a contatto con il sistema immunitario di un individuo, queste molecole sono riconosciute come estranee dai linfociti T e suscitano una risposta immunitaria.

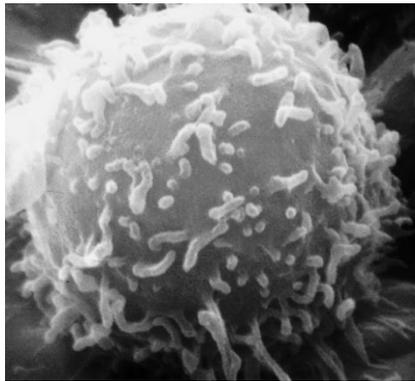


Figura 6 *Linfocita T*

I *mastociti* (fig. 7) sono presenti nel tessuto connettivo soprattutto lungo i vasi sanguigni, e intervengono nella genesi delle reazioni allergiche, anafilattiche e di ipersensibilità. Quando vengono attivati, secernono rapidamente il contenuto dei granuli (degranulazione), interleuchine e altre sostanze chemiotattiche. Dei numerosi mediatori dei mastociti, l'istamina è generalmente considerata come la principale "induttrice" delle reazioni allergiche, ipotesi sostenuta dall'eccellente efficacia dei farmaci antistaminici nell'orticaria e nelle riniti allergiche. Recentemente, è diventato chiaro che i mastociti non promuovono reazioni allergiche solo attraverso il rilascio di istamina, ma anche producendo e secernendo una serie di citochine e mediatori infiammatori, come i leucotrieni, mediatore lipidici che inducono la contrazione della muscolatura liscia, intervenendo ad esempio nella bronco costrizione delle crisi asmatiche; l'enzima triptasi, l'ossido di azoto (NO), un vasodilatatore coinvolto nella regolazione del sistema immunitario e la citochina *Tumor necrosis factor* (TNF).

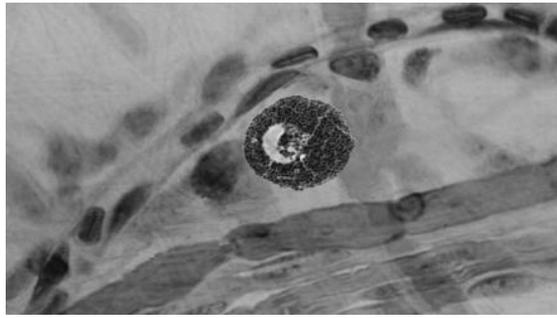


Figura 7 *Mastocita tissutale*

I *granulociti basofili* (fig. 8) rappresentano lo 0-1% dei globuli bianchi, e i loro granuli contengono: eparina, istamina, perossidasi, leucotrieni, fosfatasi acida e molti altri mediatori chimici dei processi infiammatori. I basofili possiedono inoltre sulla loro superficie i recettori specifici per la porzione Fc delle Immunoglobuline E (IgE), caratteristica essenziale per la loro attività. Da queste loro caratteristiche si può capire come la loro funzione nella genesi delle reazioni allergiche e di tutti i fenomeni di ipersensibilità si esplichino con meccanismi molto simili a quelli dei mastociti.

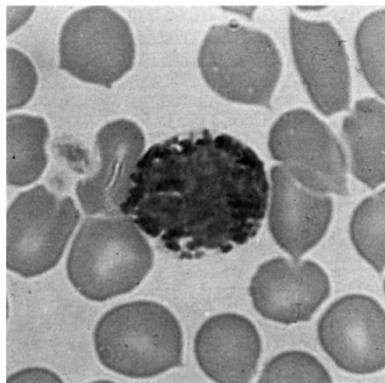


Figura 8 *Granulocita basofilo*

Ci si aspetta quindi che il pimecrolimus sia efficace nel trattamento di quelle patologie dipendenti dall'azione dei mastociti, dai basofili e dai mediatori infiammatori da loro derivati: le cosiddette *patologie allergiche di tipo I*. L'attivazione dei linfociti T e dei mastociti infatti svolge un ruolo chiave nella patogenesi, ad esempio, della dermatite atopica, nella dermatite allergica da contatto, e nella psoriasi [6].

Il pimecrolimus si lega con alta affinità al suo recettore, la microfillina-12 (un'immunofillina citoplasmatica specifica dei macrolidi immunomodulatori), formando un complesso che inibisce la via di trasduzione del segnale dipendente dal calcio nei linfociti T, in particolare inibisce la calcineurina fosfatasi calcio dipendente, che regola l'attivazione delle cellule T mediate

dall'Interleuchina 2, richiesta per la formazione di un fattore nucleare funzionale delle cellule T attivate (NF-AT).

Il pimecrolimus inibisce la degranolazione dei mastociti e previene la cascata infiammatoria, blocca l'attivazione dei linfociti T e inibisce la trascrizione, la sintesi e il rilascio di citochine infiammatorie dai linfociti T dopo stimolazione dei loro recettori. In particolare esso blocca il rilascio sia delle citochine dei *T-helper* di tipo 1 (Th1) (interleuchina [IL-2], interferone [IFN]- γ) sia dei *T-helper* di tipo 2 (Th2) (interleuchine [IL-4], [IL-10]). Inoltre previene la produzione di citochine come il *tumor necrosis factor* (TNF)- α e il rilascio dai mastociti di mediatori pro-infiammatori come istamina, esosaminidasi (enzima lisosomiale coinvolto nella degradazione dei gangliosidi, senza il quale questi si accumulano con rischio di alterazioni neurodegenerative) e triptasi. I risultati degli studi in vitro hanno evidenziato una significativa e dose-dipendente inibizione del rilascio di istamina (indotto da anti IgE) dai mastociti e basofili. Non ha effetto sul rilascio dell'interleuchina IL-8 rilasciata dai cheratinociti, fibroblasti e cellule endoteliali. In particolare, l'inibizione del rilascio IgE-dipendente della specifica proteasi di mastociti, la triptasi, da parte del pimecrolimus, è di grande interesse, in quanto è sempre più accreditato il ruolo molto speciale giocato dalla triptasi nell'infiammazione allergica. Essa infatti può indurre il rilascio di attive IL-1 e IL-8 dalle cellule endoteliali umane, l'accumulo di un grande numero di neutrofili e eosinofili, e aumentare l'iper-reattività dei bronchi umani all'istamina.

All'inizio della reazione allergica, specifiche IgE legano mastociti della pelle attraverso recettori FC I ad alta affinità con conseguente degranolazione dei mastociti e rilascio di mediatori dell'infiammazione. Durante questo processo, la produzione delle IgE dalle cellule B dipende dal supporto delle cellule *T-helper 2* (Th2). Il trattamento con pimecrolimus porta a *down-regulation* dell'espressione dell'RNA messaggero (mRNA) per i geni associati alla sintesi dei suoi *target*, ad infiammazione, chemiotassi e migrazione cellulare. Studi più approfonditi non hanno rilevato attacco ad altre cellule né segni di cambiamenti nell'espressione di mRNA per geni che possono essere correlati agli effetti indesiderati del farmaco.

Questo meccanismo d'azione con alta selettività cellulare lo differenzia dai corticosteroidi e lo rende un ottimo candidato per la terapia orale delle patologie infiammatorie della pelle.

Formulazione e attività farmacologica

Il pimecrolimus mostra un'elevata attività antinfiammatoria dose-dipendente nei modelli animali di infiammazione cutanea dopo somministrazione sistemica e topica. I risultati clinici indicano che la selettività della sua azione farmacologica rilevata nei modelli animali è valida anche nell'uomo

È stato specificamente sviluppato per via topica in crema all'1% come alternativa ai corticosteroidi topici, per il trattamento a breve termine e non continuativo delle patologie infiammatorie croniche della pelle, su pazienti adulti e bambini di età superiore ai 2 anni e immunocompetenti.

Attualmente questa formulazione è stata approvata in Europa, negli Stati Uniti e in Giappone.

Gli antiinfiammatori steroidei, usati tradizionalmente come prima linea per molte condizioni croniche dermatologiche, presentano effetti collaterali ben noti. Grazie al suo profilo farmacologico favorevole e selettivo per la cute, molti medici preferiscono usare il pimecrolimus (non steroideo), mentre altri preferiscono usarlo in seconda linea solo nei casi in cui non ci sia stata un'adeguata risposta terapeutica ad altri trattamenti topici o nei quali tali terapie non siano attuabili. Il pimecrolimus dà rapido sollievo a prurito, rossore, e il rigonfiamento sparisce o regredisce in più del 70% dei pazienti trattati, durante le prime tre settimane. Riduce effettivamente l'infiammazione della pelle ed i sintomi correlati ad aumento di granulociti eosinofili, alla presenza di istamina e di ossido nitrico nel sangue, di degranolazione dei mastociti e di infiltrazione di cellule infiammatorie nel derma. Grazie al suo profilo di sicurezza ed efficacia, se applicato ai primi segni e sintomi di eczema atopico, il pimecrolimus ha dimostrato di prevenire la progressione dell'infiammazione e di offrire un superiore controllo a lungo termine della patologia, comparato al trattamento convenzionale basato sull'uso di corticosteroidi, che viene riservato generalmente per il trattamento d'urto degli arrossamenti e delle eruzioni cutanee, negli episodi di riacutizzazione.

Dermatite atopica

La dermatite atopica (o eczema atopico) è una patologia della pelle comune e di lunga durata, causata sia da fattori genetici che ambientali, e nella maggior parte dei casi inizia nell'infanzia. L'incidenza della dermatite atopica nei paesi occidentali è aumentata negli ultimi 30 anni e colpisce approssimativamente il 20% dei bambini e l'1-3% degli adulti, soprattutto nei paesi sviluppati (Nuova Zelanda, Irlanda, Svezia, Germania, Regno Unito) ed è sempre in aumento in paesi in via di sviluppo (Messico, Cile, Kenya, Algeria, Asia meridionale). È quindi principalmente un patologia dell'infanzia, che però persiste nell'età adulta nel 50 % dei casi. Approssimativamente dal 30 al 50% dei bambini con eczema atopico svilupperà asma e il 75% rinite allergica.

Evidenze ambientali e genetiche puntano ad un difetto nella barriera cutanea come maggiore contributo allo sviluppo della patologia: questo può essere in parte dovuto a mutazioni del gene della *filaggrina*, una proteina chiave nella formazione della barriera cutanea. Si è di recente

ipotizzato che un miglioramento nell'integrità della barriera cutanea possa prevenire la progressione della dermatite atopica in asma.

Le cause scatenanti della patologia includono comunemente detergenti, saponi, cosmetici contenenti alcol o sostanze astringenti, profumi e conservanti, svariati composti chimici, alcuni cibi, agenti infettivi, aero-allergeni come acari della polvere e peli di animali, e gli stessi corticosteroidi topici usati per il trattamento delle lesioni. Infatti più dell'85% degli adulti con eczema presentano evidenze di ipersensibilità ad allergeni ambientali mediata da IgE.

Si pensa che la fase acuta iniziale della patologia sia dominata dalle citochine Th2 mentre lo stadio cronico dalle *T-helper 1* (Th1); inoltre ci sono evidenze che le cellule T regolatorie possano giocare un ruolo nello stadio finale nel controllo dell'infiammazione cronica.

Sintomi peculiari della patologia sono: xerosi della pelle (mancanza di umidità o di sebo, quindi pelle molto secca e facilmente irritabile), prurito, eccessivo ispessimento della pelle, sanguinamenti e infezioni da batteri, virus o funghi, chiazze eritemato-vescicolose spesso essudanti, lesioni principalmente su viso e altre superfici cutanee esposte come collo, tronco, mani e piedi, e spesso perdita del sonno, con grossa influenza anche sulla vita delle famiglie dei pazienti. La malattia procede con alti e bassi, a volte anche indipendentemente dalle cure praticate, spesso con carattere di stagionalità: migliora o guarisce del tutto durante i mesi estivi, peggiora in primavera.

Recentemente una serie di studi ha dimostrato che circa un terzo dei pazienti affetti da eczema atopico ha una o più allergie da contatto, con sviluppo improvviso di prurito, gonfiore, orticaria, che si può accompagnare ad abbassamento della pressione sanguigna e a difficoltà respiratorie.

Il trattamento base è innanzitutto una buona cura della pelle, idratandola con creme, bagni ed emollienti in generale, evitando in particolare sostanze scatenanti, allergeni e irritanti. Durante la fase acuta dell'infezione, è appropriato somministrare per via orale antibiotici o antistaminici e sedativi. Durante le periodiche fasi acute con eritemi e crescente prurito, è necessario per molti pazienti l'uso di agenti antiinfiammatori immunomodulatori quali i classici corticosteroidi ad uso topico, che non sono però adatti ad un trattamento a lungo termine per i numerosi effetti collaterali. Rimane quindi spazio a nuovi farmaci non steroidei e inibitori della calcineurina, come il pimecrolimus e il tacrolimus, che non solo curano i sintomi, ma sono anche in grado, in alcuni casi e in una certa misura, di prevenirli [7].

Altre patologie cutanee

Il pimecrolimus ha un grande potenziale per la terapia topica di numerose malattie infiammatorie cutanee. Nella sperimentazione clinica si è dimostrato efficace, al pari dei corticosteroidi di elevata potenza, anche nei pazienti con dermatite allergica da contatto, dermatite seborroica,

dermatite cronica alle mani e placche di psoriasi, soprattutto se applicato con bendaggio occlusivo [8], rosacea papulo-pustolare [9].

Recentemente alcuni autori hanno riportato la sua azione anche nella cura delle manifestazioni cutanee del *Lupus* eritematoso discoide [10] e della vitiligine (nel 50% dei casi porta a ripigmentazione dopo 6 mesi di trattamento)[11].

Efficace e ben tollerato anche nel trattamento del *lichen planus* orale erosivo e genitale [12, 13].

Potenziali vie di somministrazione alternative

Oltre all'uso topico, alcuni studi hanno evidenziato un potenziale utilizzo sistemico per il trattamento delle patologie infiammatorie della cute, in particolare dermatite atopica severa, psoriasi e acne *rosacea* e *vulgaris*.

Somministrato per via orale, il pimecrolimus si è dimostrato più potente della ciclosporina A (già molto efficace per queste patologie) e ugualmente potente o superiore al tacrolimus.

L'effetto del pimecrolimus sui mastociti e granulociti basofili è più pronunciato di quello del desametasone o della ciclosporina A. In generale, sono necessarie dosi maggiori di 40 mg di prednisolone per controllare i sintomi istamino-dipendenti, come rinorrea e formazione di edemi o piaghe pruriginose: a queste dosi per trattamenti prolungati sono inevitabili effetti collaterali, quindi si preferisce evitare la somministrazione sistemica di corticosteroidi per il trattamento delle patologie allergiche. Il pimecrolimus invece sembra non essere associato con gli effetti collaterali osservati per i farmaci correntemente in uso: esso è altamente specifico e ha un basso profilo di effetti avversi e un basso potenziale di attacco della risposta immunitaria sistemica dopo somministrazione orale o parenterale.

Non ha generalmente attività antiproliferativa a concentrazioni clinicamente rilevanti (effetti inibitori sulla crescita cellulari vengono osservati solo a concentrazioni sopra 1 $\mu\text{mol/L}$ (IC_{50} = 3.5-7.0 $\mu\text{mol/L}$).

In uno studio pilota in pazienti con psoriasi, il pimecrolimus per via orale ha dimostrato di essere ben tollerato e sicuro fino alla più alta dose testata (60 mg/die), dando beneficio anche su altre condizioni, non allergiche, associate ai mastociti come la mastocitosi (proliferazione di mastociti nella cute e/o in altri organi). Non è stata evidenziata alcuna influenza sul rilascio spontaneo di istamina e questo comporta un abbassamento della probabilità di effetti collaterali; inoltre inibisce in modo meno pronunciato il rilascio di LTC₄ (leucotriene C₄) rispetto a ciclosporina A e tacrolimus), e di TNF- α dai mastociti.

Ciò che limita l'uso del pimecrolimus per via sistemica è l'aumento del rischio di linfoma (generalmente di tipo non-Hodgkin) riscontrato in alcuni casi clinici e in studi di carcinogenesi condotti sull'animale da esperimento.

Effetti collaterali, precauzioni d'uso e confronto con altri farmaci

Il pimecrolimus somministrato per via topica, rispetto ai corticosteroidi, penetra nella cute dei soggetti umani in maniera molto simile, ma vi si diffonde molto meno, evidenziando un potenziale molto basso di assorbimento sistemico.

I livelli sanguigni di pimecrolimus infatti rimangono consistentemente bassi anche in caso di uso su estese zone del corpo e nessun effetto sistemico clinicamente significativo è stato osservato durante studi clinici *short and long term*.

Attualmente, l'approccio terapeutico più comunemente seguito per la cura delle allergie si concentra sull'antagonizzare i mediatori derivati dai mastociti e dai basofili. Ne deriva che altri farmaci convenzionalmente usati per il trattamento delle patologie infiammatorie croniche della pelle siano: corticosteroidi, come clobetasone e betametasone dipropionato, fluocinolone acetone, fluticasone propionato; antibiotici come la ciclosporina A; immunoppressori come sirolimus e tacrolimus. Tutti inibiscono efficacemente il rilascio di questi mediatori, ma sono limitati nell'uso a causa del loro profilo farmacologico.

I corticosteroidi topici non sono selettivi e interferiscono con molte cellule e processi e quindi possono causare diversi tipi di effetti collaterali locali (atrofia della pelle, ulcerazioni, infezioni, acne e rosacee, dermatiti peri-orali, dermatiti allergiche da contatto, irsutismo, iper- e ipopigmentazione, fotosensibilizzazione, riacutizzazione della psoriasi, disturbi della barriera epidermica, ipertricosi, ritardo nella guarigione delle ferite) e sistemici (glaucoma e cataratta, per applicazione periorbitale, ritardi nella crescita, iperglicemia e diabete mellito, osteopatia/osteoporosi, ipertensione, ulcera peptica, e ipocalcemia).

A differenza dei corticosteroidi, il pimecrolimus topico non presenta potenziale atrofogenico (non causa atrofia e assottigliamento della pelle) in quanto non attacca le cellule endoteliali e i fibroblasti non modificando la sintesi del collagene.

Pimecrolimus e ciclosporina A hanno chiare differenze strutturali che portano a diverse proprietà farmacocinetiche e rendono la ciclosporina inefficace per applicazione topica.

Il Sirolimus (o rapamicina) si lega competitivamente alla macrofilina ma non impedisce l'attivazione dei mastociti mediata dagli anti-IgE.

Il Tacrolimus, come il pimecrolimus, appartiene alla classe dei macrolattami immunosoppressivi ed è indicato, oltre che per uso topico, principalmente per uso orale per la profilassi dei rigetti di trapianti di organi solidi. Queste due molecole hanno strutture chimiche molto simili e lo stesso meccanismo molecolare d'azione (presentano infatti lo stesso dominio di *binding* che media il legame con la microfillina). Le uniche differenze nella struttura comportano una maggiore lipofilia del pimecrolimus, che gli consente una più alta affinità per la pelle. Ciò può spiegare il

suo minore potenziale di assorbimento percutaneo in vivo e quindi di permeazione attraverso la cute nel sistema circolatorio in quanto rimane là dove deve agire: nella pelle. Il pimecrolimus è più selettivo, con minori effetti sistemici, mentre il tacrolimus porta ad alta potenza immunosoppressiva sistemica.

A differenza della ciclosporina A e del tacrolimus, il pimecrolimus inoltre ha un basso potenziale di interferenza con le risposte del sistema immunitario sistemico, non danneggia la risposta immunitaria primaria, non ha azione sui linfonodi, e non ha effetti sulla differenziazione, maturazione e funzione delle cellule dendritiche di Langerhans. del sistema immune, che permettono il corretto espletamento delle funzione delle cellule di linea linfoide. Concludendo, il pimecrolimus ha un profilo farmacologico selettivo per la cute e combina un'elevata attività antiinfiammatoria cutanea con un basso potenziale di danneggiamento dell'attività di immunosorveglianza locale e sistemica dell'organismo.

Il trattamento è generalmente ben tollerato anche su aree sensibili come viso e collo; in qualche caso si è rilevata una sensazione transitoria di bruciore e di prurito in sede di applicazione che si risolve senza un ulteriore intervento; più raramente si sono verificate infezioni di tipo erpetico. Elidel non deve essere applicato su aree affette da infezioni virali cutanee acute (*herpes simplex*, *pox virus*), non è indicato per l'applicazione sulle mucose e deve essere evitato il contatto con gli occhi.

Non ci sono dati conclusivi sulla sicurezza d'uso durante la gravidanza; il pimecrolimus viene escreto nel latte umano quindi non è raccomandato l'uso durante l'allattamento.

Non si riportano effetti conosciuti di Elidel sulla capacità di guidare e sull'uso di macchinari.

Elidel contiene alcool cetilico, alcool stearilico e glicol propilenico che possono causare reazioni cutanee locali. I dati a disposizione indicano che Elidel può essere somministrato contemporaneamente ad antibiotici, antistaminici e corticosteroidi (orali/nasali/inalati).

Grazie al suo minimo assorbimento, è improbabile che si verifichi una potenziale interazione sistemica con i vaccini. Tuttavia, tale interazione non è stata studiata. Pertanto, in pazienti con malattia presente in forma estesa, si raccomanda di somministrare i vaccini nei periodi liberi dal trattamento.

L'utilizzo concomitante di altre preparazioni antinfiammatorie topiche non è stato indagato, pertanto Elidel non deve essere utilizzato in concomitanza a corticosteroidi topici ed altri prodotti antiinfiammatori ad uso topico.

Elidel negli animali non ha potenziale fotocarcinogenico. Tuttavia, dato che l'effetto nell'uomo non è noto, durante l'applicazione di Elidel, si raccomanda di evitare un'esposizione eccessiva della cute ai raggi ultravioletti durante tutto il periodo di trattamento, anche nei momenti in cui la crema non viene applicata. Alcuni studi su animali evidenziano i che l'esposizione a raggi UV

sulle zone dove il farmaco è stato applicato ha causato un aumento dell'insorgenza di tumori cutanei e la sua applicazione a livello topico, a dosi molto superiori di quelle che vengono utilizzate nella terapia della dermatite atopica, ha provocato l'insorgenza di tumori. Durante la sorveglianza post-marketing sono infatti stati riportati casi di linfoma in pazienti trattati con inibitori della calcineurina usati da soli o in associazione con corticosteroidi topici. Non tutti gli studi però concordano con questa tesi ed occorrerebbe valutare gli effetti a lungo termine di prolungate esposizioni a questi farmaci.

I dubbi sulla sicurezza del pimecrolimus hanno indotto l'Agenzia americana FDA (*Food & Drug Administration*) a chiedere alle ditte produttrici una modifica del foglietto illustrativo della specialità *Elidel* e l'apposizione di un "black box" informativo sulla confezione, per riportare il possibile rischio cancerogeno, in attesa che ulteriori studi chiariscano definitivamente la relazione tra immunosoppressori topici e l'insorgenza di cancro. La FDA ha inoltre ribadito che sia il pimecrolimus che il tacrolimus devono essere presi in considerazione e prescritti come trattamento di seconda linea dell'eczema atopico, non sono indicati in bambini di età inferiore ai 2 anni e non devono essere usati per altre indicazioni per le quali questi farmaci non sono stati studiati. Il loro impiego deve essere limitato e discontinuo, compatibilmente con il tempo necessario ad ottenere la guarigione delle lesioni. considerando caso per caso l'adeguato rapporto rischio beneficio

Nei pazienti che richiedono un trattamento prolungato, l'uso topico di pimecrolimus e tacrolimus dovrebbe essere intermittente, con periodi di interruzione dopo i quali la terapia può essere ripresa. Inoltre i pazienti dovrebbero essere avvertiti di non esporsi al sole o a lampade a UV durante il trattamento, e avvisati di contattare il medico se, dopo sei settimane di trattamento, i sintomi non migliorano o addirittura peggiorano.

Anche se, sulla base dei dati disponibili, non è possibile stabilire se tacrolimus e pimecrolimus siano effettivamente responsabili dei casi segnalati di tumori della pelle e linfomi, con una recente nota informativa anche il Comitato per le Specialità Medicinali dell'EMEA (Agenzia Europea per i Medicinali) raccomanda cautela nell'uso di questi farmaci. Questo comunque non ha scoraggiato le prescrizioni di queste preparazioni da parte di dermatologi europei e non, anche grazie agli studi più recenti e alla sorveglianza post-marketing che non hanno evidenziato prove causali ed evidenze che questi immunomodulatori topici provochino realmente linfomi o tumori della pelle o immunosoppressione sistemica [14].

2.4 Strumenti

Gli strumenti utilizzati sono stati:

- ✓ *Diffratometro Rigaku MiniFlex*: si è operato a 30 kV ed a 15 mA, utilizzando come fonte di radiazioni la linea Cu K_{α} a 1.54056 Å (fig. 9).



Figura 9 Diffratometro Rigaku MiniFlex interfacciato a PC

- ✓ *Spettrofotometro FT-IR Spectrum One Perkin Elmer* e programma di acquisizione e registrazione dati SPECTRUM VERS. 6.3.2 (fig. 10).

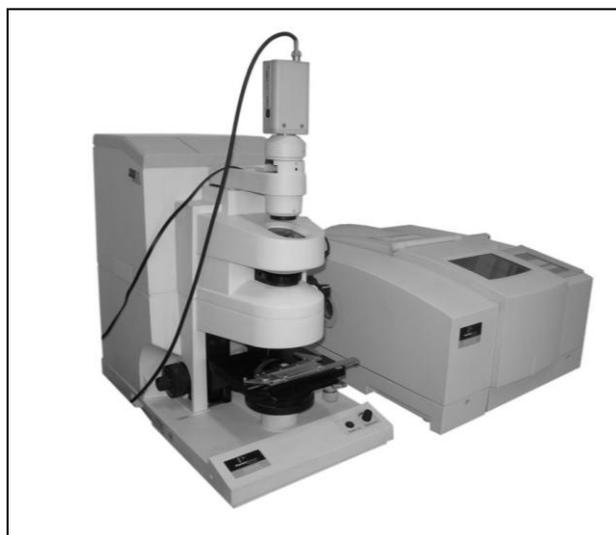


Figura 10 Spettrofotometro Perkin Elmer Spectrum one associato a microscopio

- ✓ Spettrofotometro FT-IR 4200 Jasco Europe interfacciato a microscopio IMV 4000 per analisi FT-IR Imaging (fig. 11).



Figura 11 Spettrofotometro FT-IR Imaging Jasco associato a microscopio

- ✓ Spettrofotometro Raman Imaging DXR Microscope Thermo Fisher (fig. 12).

Lo strumento è stato gentilmente messo a disposizione dalla ditta produttrice Thermo Fisher Scientific presso la sede di Milano.



Figura 12 Spettrofotometro Raman Imaging Thermo Fisher interfacciato a microscopio

2.5 Caratterizzazione delle forme di stato solido del Pimecrolimus (DRX e FTIR)

2.5.1 Difrattometria a raggi X

Una prima caratterizzazione delle forme solide del pimecrolimus è stata effettuata con la diffrattometria a raggi X su polveri, tecnica classica per l'indagine di polimorfi.

La polvere è stata stesa e livellata su un porta campione di alluminio schermato con un disco di vetro, facendo attenzione a coprire tutta l'area di analisi in modo uniforme.

Le misurazioni XRPD sono state eseguite operando a 30 kV ed a 15 mA, utilizzando come fonte di radiazioni la linea Cu K_{α} a 1.54056 Å.

Ogni campione è stato analizzato da 3° a 60° (2 θ), con un *sampling* di 0,02° (variando cioè l'angolo di 0,02° alla volta), utilizzando una velocità di scansione di 2 deg/min.

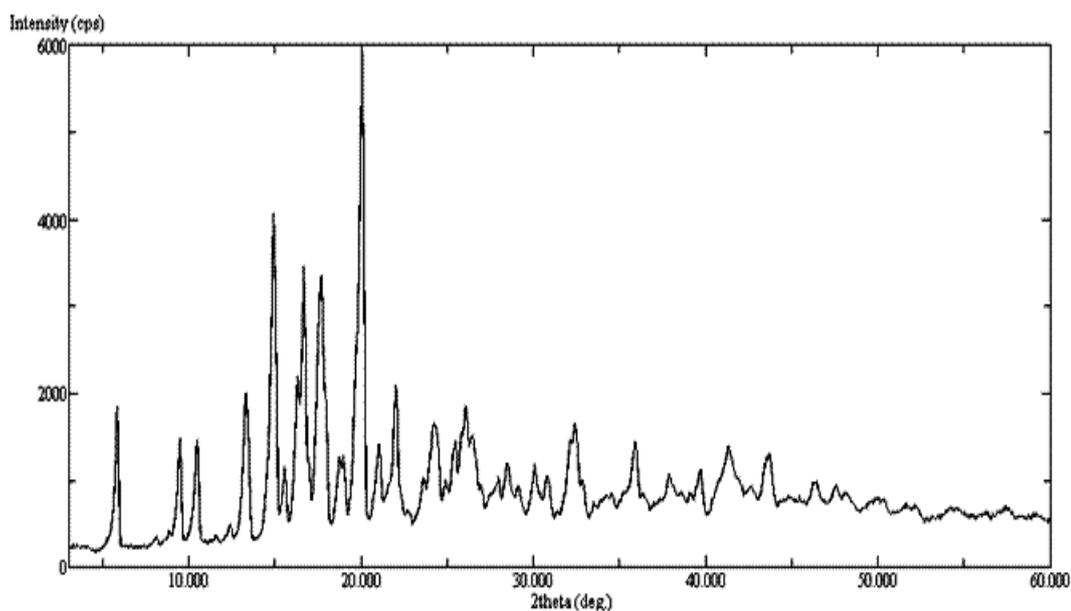


Figura 13 Difrattogramma della forma anidra

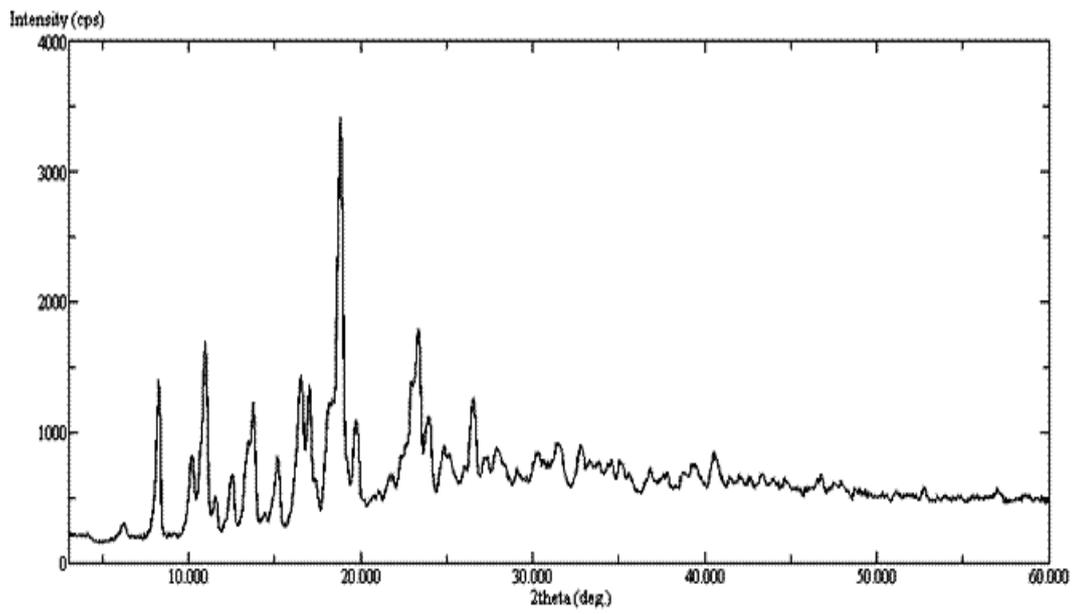


Figura 14 *Diffrattogramma della forma idrata*

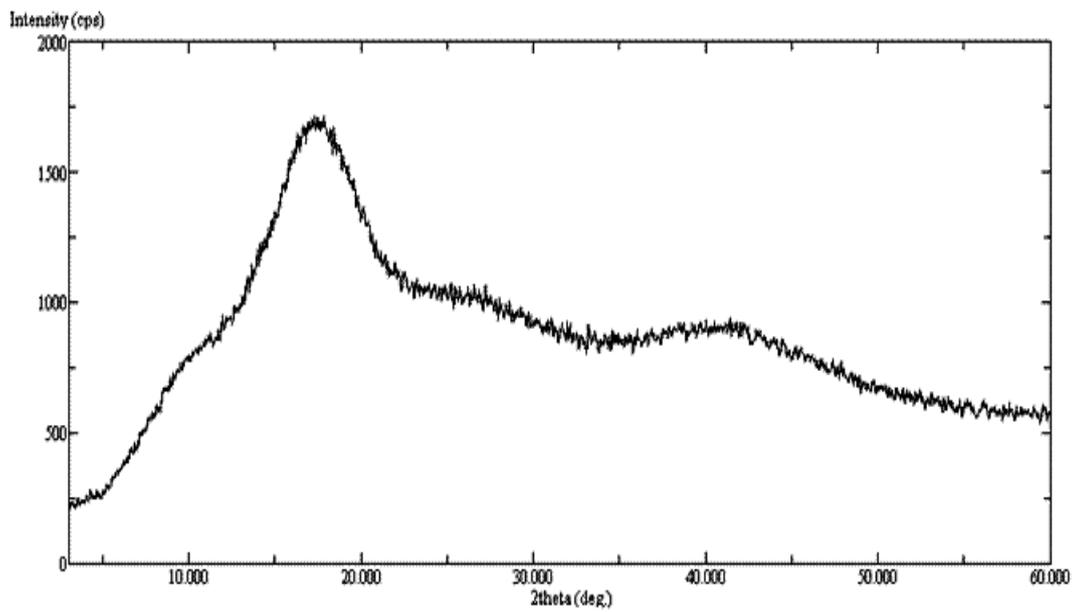


Figura 15 *Diffrattogramma della forma amorfa*

Nella figura 16 è presentata la sovrapposizione dei diffrattogrammi delle tre forme polimorfe.

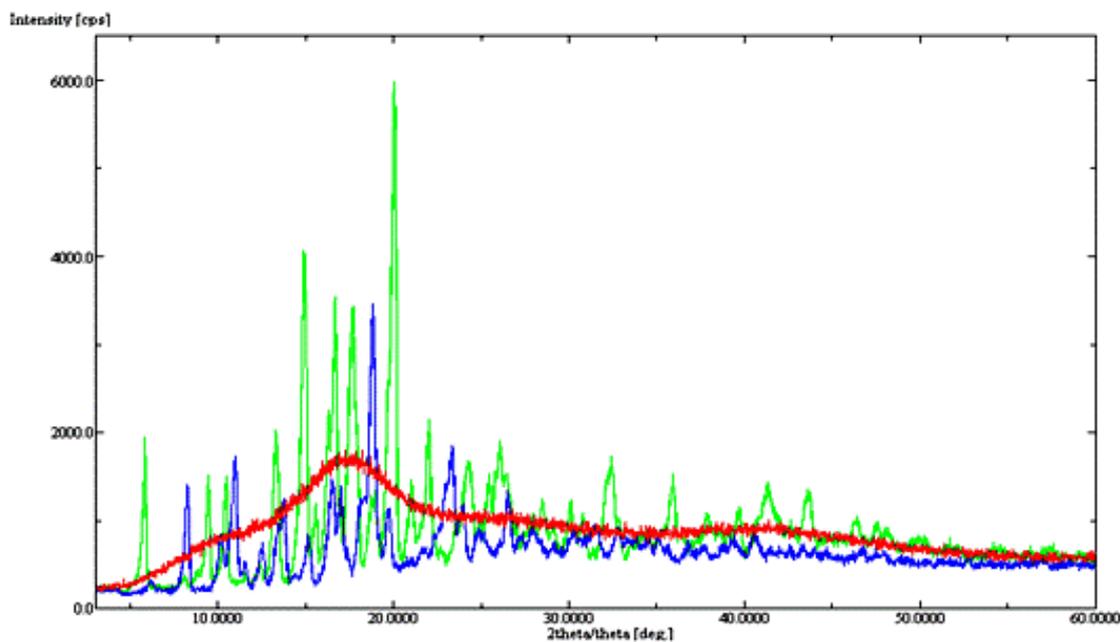


Figura 16 Sovrapposizione dei diffrattogrammi della forma anidra (verde), idrata (blu), amorfa (rossa)

Dal confronto è facilmente identificabile l'andamento dell'amorfo, senza alcun picco caratteristico.

I *pattern* dell'idrata e dell'anidra, ciascuno con i propri segnali tipici, presentano differenze significative permettendo una facile distinzione delle due forme.

Il riconoscimento delle varie forme polimorfe si ottiene quindi in modo veloce e ottimale con l'utilizzo della XRPD, operando un raffronto tra eventuali campioni incogniti di forme isolate e standard noti.

2.5.2 Spettroscopia FT-IR

Una preliminare analisi infrarossa è stata condotta utilizzando il banco ottico Spectrum One Perkin Elmer.

Il principio attivo è stato miscelato con potassio bromuro (diluizione 1:100) e macinato finemente in mortaio d'agata; la compressa è stata poi ottenuta usando una pressa idraulica applicando una forza di 9 tonnellate. L'analisi è stata effettuata con 8 scansioni e una risoluzione di 4 cm^{-1} .

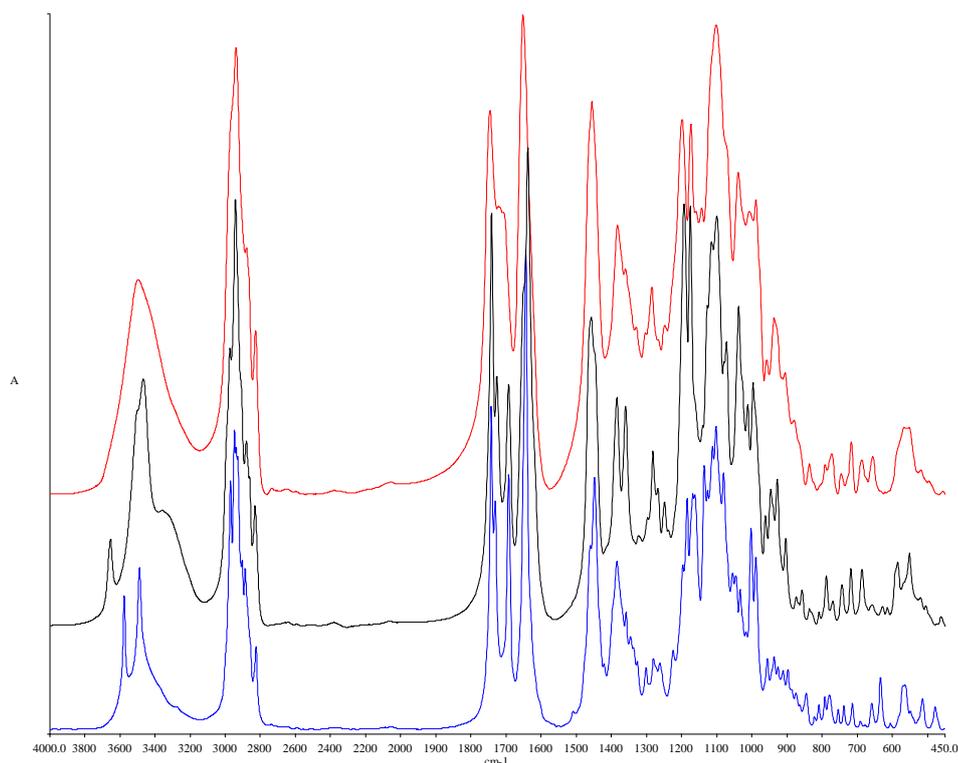


Figura 17 Spettri FT-IR delle tre forme solide a confronto (idratata in nero, anidra in blu, amorfa in rosso)

La figura 17 mostra una sovrapposizione degli spettri dei tre standard di pimecrolimus.

La possibilità di uno studio di polimorfismo è data dall'osservazione di segnali specifici per le varie forme dovuti al diverso impaccamento della struttura molecolare.

Oltre alle aspettate differenze riscontrabili nella zona dell'impronta digitale, altri segnali caratteristici sono presenti nella zona tra i 3800 e 3400 cm^{-1} e in quella tra i 3000 e i 2800 cm^{-1} .

In particolare è da notare che nella zona tra i 1800 e i 1600 cm^{-1} i tre standard hanno andamenti diversi caratterizzati da tre picchi, specifici ciascuno di una forma, molto vicini tra di loro: a 1651 cm^{-1} per la forma idrata; a 1643 cm^{-1} per la forma anidra; a 1636 cm^{-1} per la forma amorfa.

Pur essendo partiti da una registrazione degli spettri delle tre forme con compressa in KBr, ciò che interessava era anche una caratterizzazione di come queste si presentassero microscopicamente.

Per questo motivo si è pensato di passare ad un'analisi in *microspettroscopia infrarossa* che permettesse di affiancare ad uno spettro una foto nel visibile.

Utilizzando il microspettroscopio Jasco, le polveri sono state disposte su vetrino di BaF₂ così da poter effettuare un'analisi in trasmittanza nel *range* dai 4000 ai 700 cm⁻¹.

Effettuato il *background* su BaF₂, gli spettri sono stati acquisiti con 16 scansioni e una risoluzione di 8 cm⁻¹.

Forma idrata

Le immagini nel visibile della forma idrata mostrano cristalli di forma aciculare e dimensioni fino a 150 x 10 µm (fig. 18).



Figura 18 Fotografie campo visibile 600X600 µm (ingrandimento16X) di cristalli di Pimecrolimus forma idrata

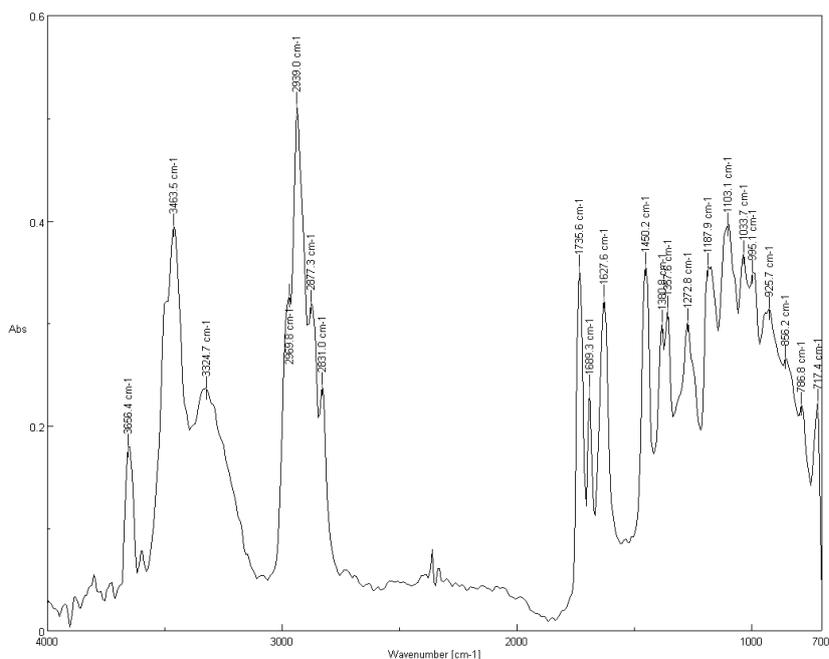


Figura 19 Spettro FT-IR ($4000\text{-}700\text{ cm}^{-1}$) in trasmittanza su BaF_2 di un cristallo di Pimecrolimus forma idrata

Forma anidra

Il prodotto si presenta allo stato solido con cristalli di forma aciculare e dimensioni fino a $50 \times 5\text{ }\mu\text{m}$ (fig. 20).

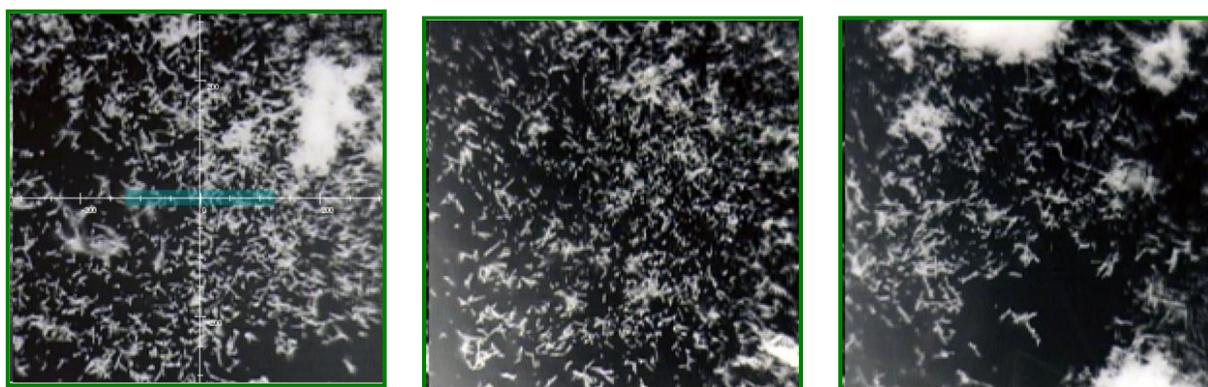


Figura 20 Fotografie campo visibile $600 \times 600\text{ }\mu\text{m}$ (ingrandimento 16X) di cristalli di Pimecrolimus forma anidra

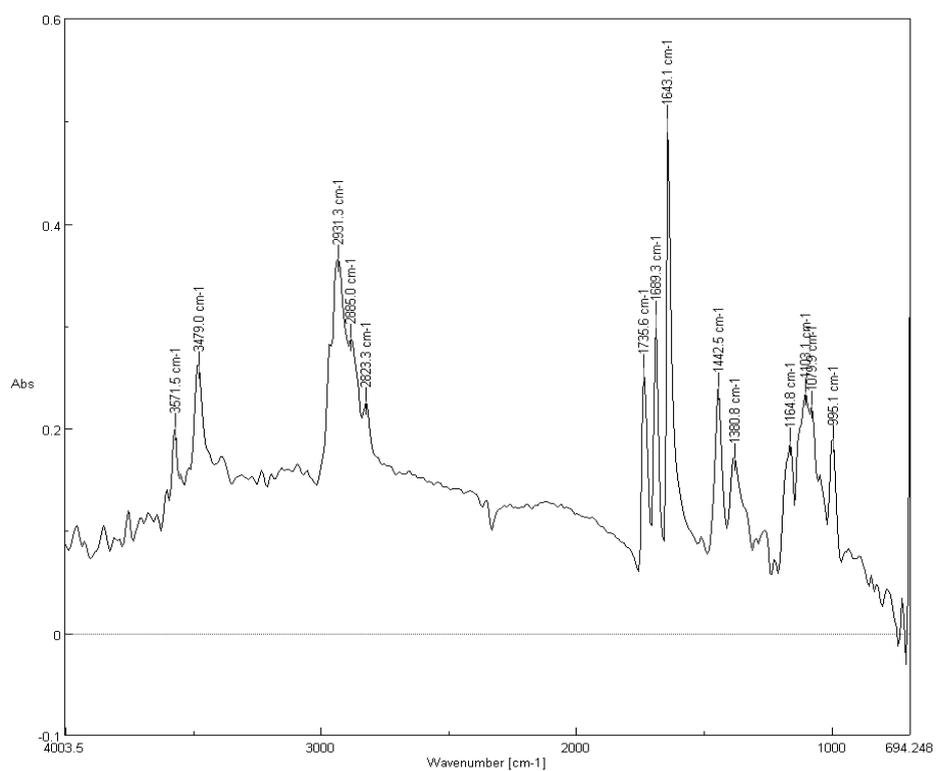


Figura 21 Spettro FT-IR (4000-700 cm^{-1}) in trasmittanza su BaF_2 di un cristallo di Pimecrolimus forma anidra

Forma amorfa

Il prodotto si presenta allo stato solido con abito non organizzato e dimensioni variabili (fig. 22).



Figura 22 Fotografie campo visibile 600X600 μm (ingrandimento 16X) di cristalli di Pimecrolimus forma amorfa

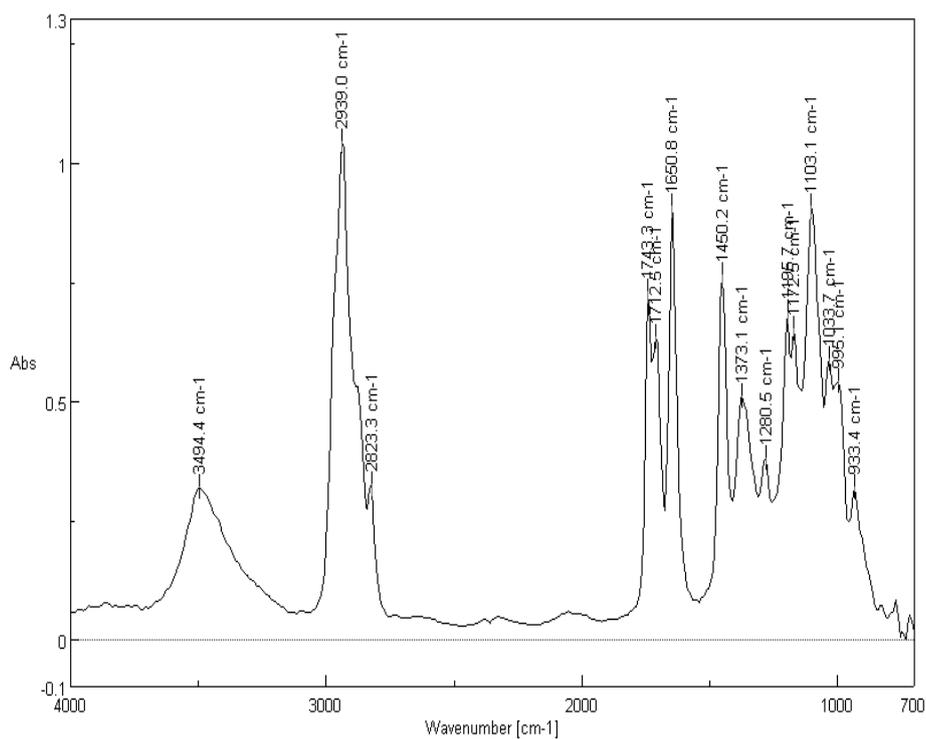


Figura 23 Spettro FT-IR (4000-700 cm^{-1}) in trasmittanza su BaF_2 di un cristallo di Pimecrolimus forma amorfa

Il confronto degli spettri infrarosso delle tre forme registrati in microscopia conferma quanto già detto per gli spettri acquisiti mediante banco ottico.

In particolare, nelle zone già evidenziate in precedenza, è possibile vedere dagli ingrandimenti (fig. 24 e 25) come i segnali caratteristici delle tre forme cadano a differenti lunghezze d'onda.

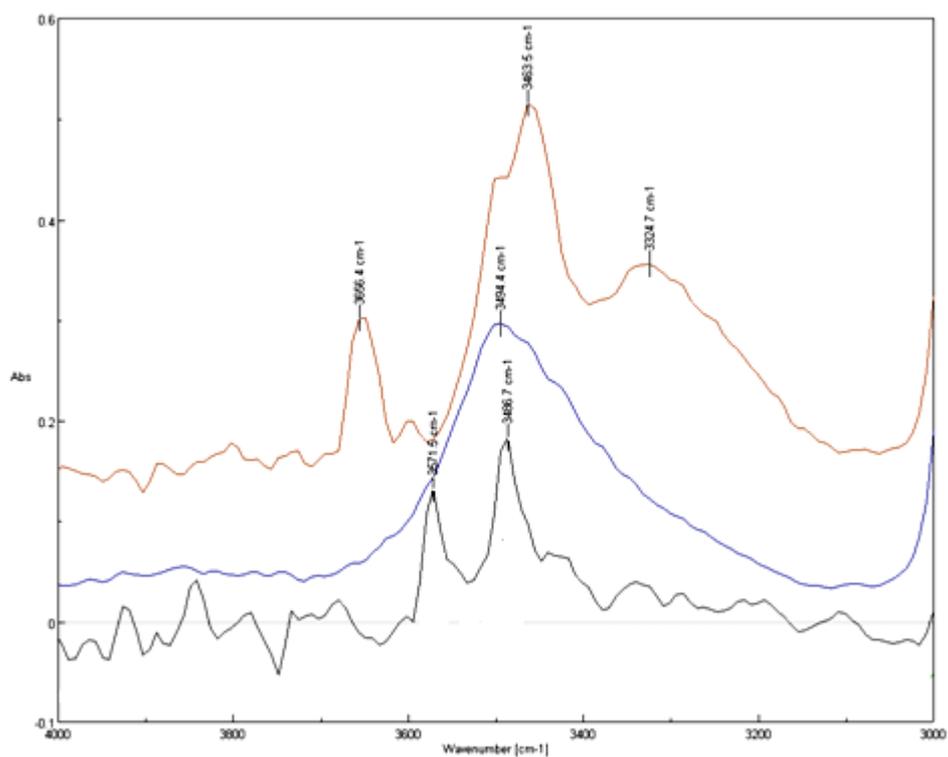


Figura 24 Sovrapposizione degli spettri infrarosso delle tre forme solide di pimecrolimus range tra 4000 e 3000 cm^{-1} (nero = anidra, blu = amorfa, rossa = idrata)

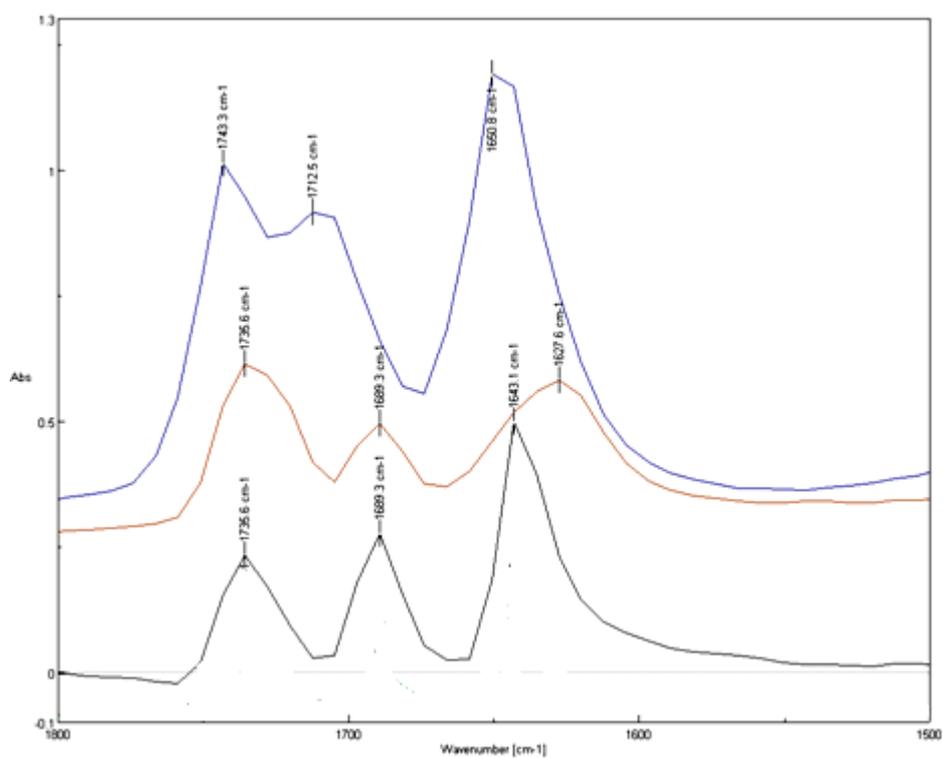


Figura 25 Sovrapposizione degli spettri infrarosso delle tre forme solide di pimecrolimus range tra 1800 e 1500 cm^{-1} (nero = anidra, rosso = idrata, blu = amorfa)

2.6 Analisi dei cristalli nella crema (DRX e FTIR)

2.6.1 Difrattometria a raggi X

Si è proceduto ad un'analisi diffrattometrica sulla preparazione topica nell'intento di identificare direttamente la forma polimorfa per confronto con i diffrattogrammi delle singole polveri.

È necessario quindi impostare gli stessi parametri utilizzati nelle analisi fatte in precedenza e cioè:

- ✓ $3^\circ < 2\theta < 60^\circ$
- ✓ *sampling*: $0,02^\circ$
- ✓ *scan speed*: 2 deg/min

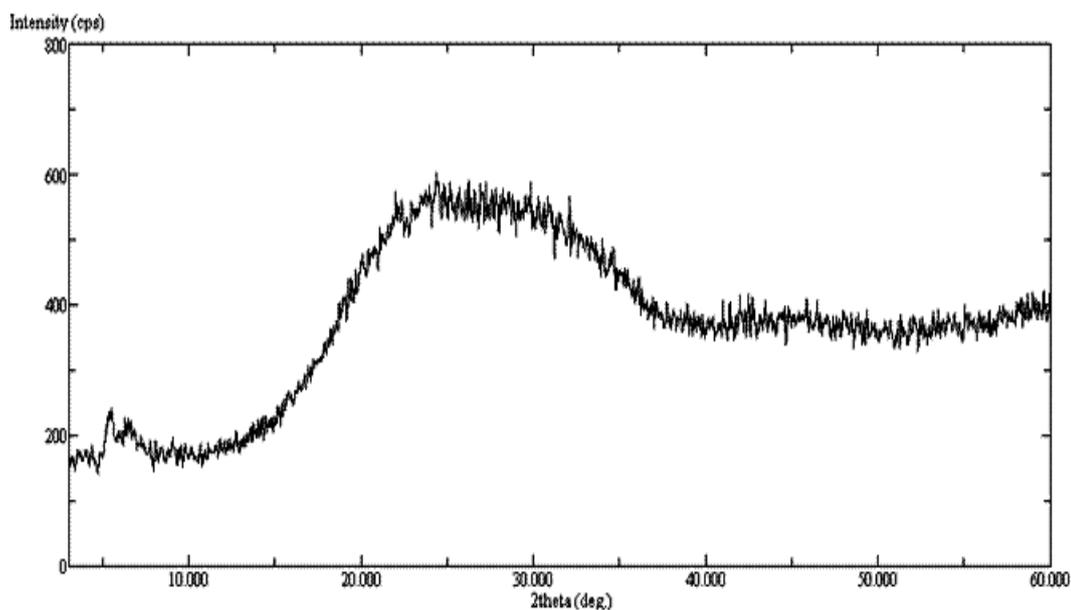


Figura 26 Difrattogramma di Elidel in condizioni standard

Il diffrattogramma presenta un *pattern* completamente amorfo, tale da non consentire una correlazione con una qualsiasi delle forme solide del principio attivo.

Questo è in gran parte dovuto alla massiccia presenza degli eccipienti della matrice semisolida e alla bassa percentuale di principio attivo presente.

Di conseguenza, cercando di ottenere un diffrattogramma più risolto, sono stati variati i parametri di analisi diminuendo la velocità di scansione (1 deg/min) e il *sampling* (0,01°), così da aumentare la sensibilità dell'acquisizione.

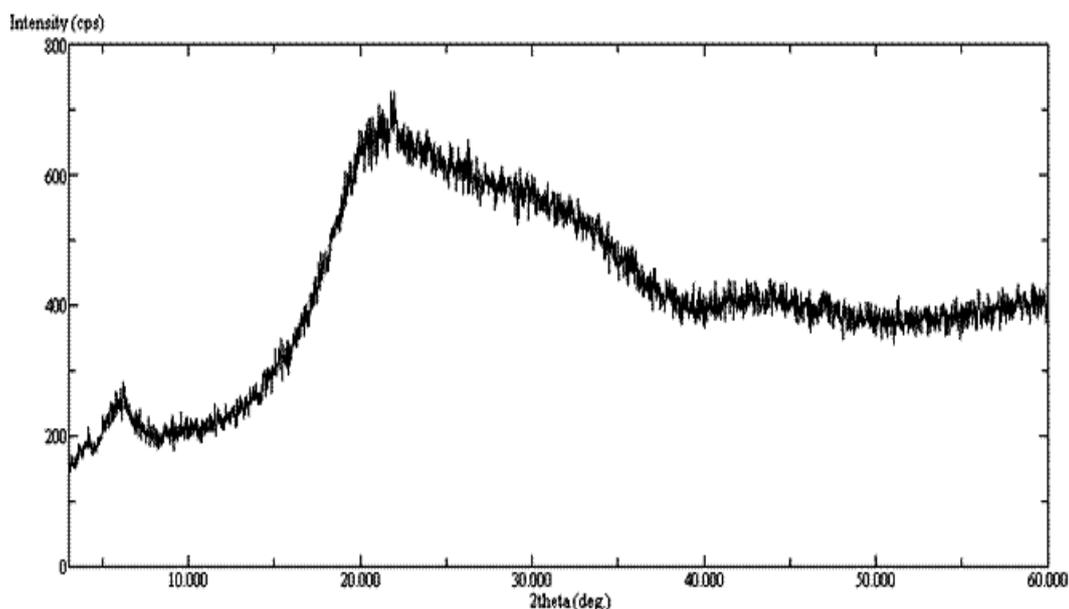


Figura 27 Diffrattogramma di Elidel in condizioni variate

Nonostante queste modifiche, la figura 27 mostra gli scarsi risultati ottenuti.

La diffrazione a raggi X si dimostra quindi una tecnica insufficiente a raggiungere il nostro scopo, sebbene sia comunque utile nella caratterizzazione delle singole forme.

Ci si è ritrovati quindi nelle condizioni di dover esplorare tecniche alternative e innovative per risolvere il problema.

2.6.2 Spettroscopia FT-IR Imaging

La tecnica FT-IR Imaging si è rivelata risolutiva nell'analisi del principio attivo formulato.

Dà infatti il vantaggio di poter osservare la preparazione al microscopio inquadrando direttamente i singoli cristalli distribuiti nel complesso della matrice semisolida, così da focalizzare l'analisi su questi, minimizzando le interferenze degli eccipienti.

Analisi morfologica

Osservando la crema al microscopio con ingrandimento 16X, sono ben visibili i cristalli dispersi nella matrice (fig. 28).

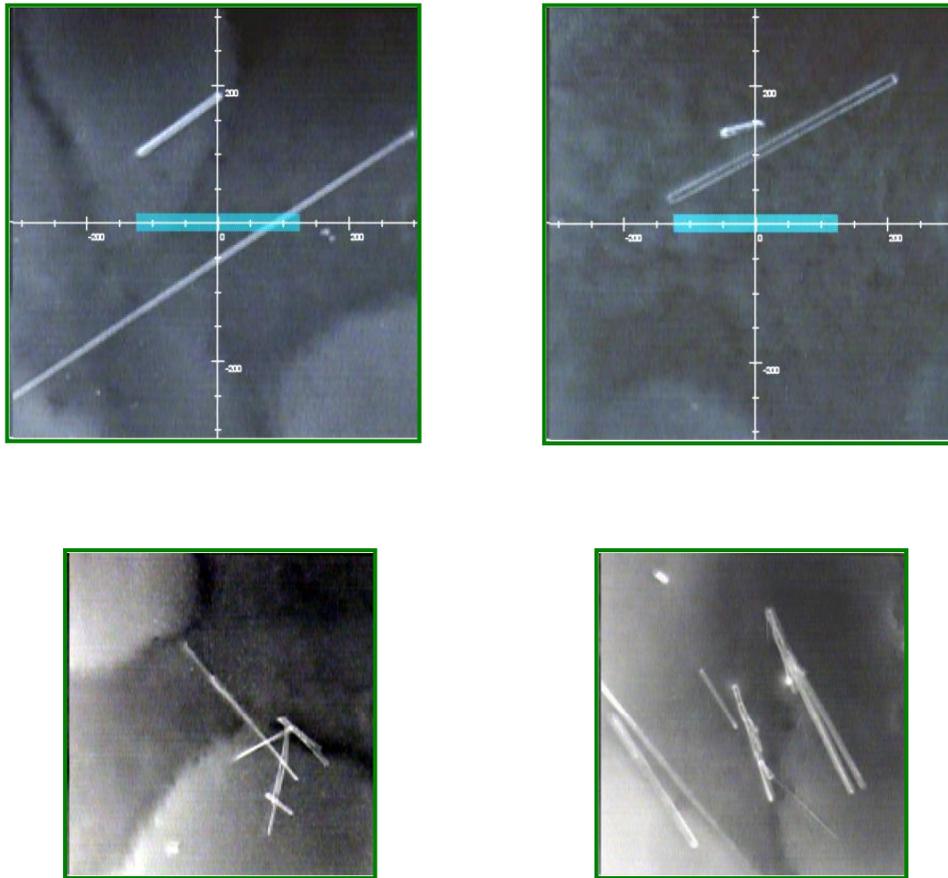


Figura 28 Fotografie campo visibile 600X600 μm (ingrandimento 16X) di cristalli presenti in Elidel 1% Crema

Nel preparato è ben evidente la presenza in fase eterogenea di cristalliti di forma aciculare e dimensioni variabili fino a 600X30 μm .

Non sono stati osservati fenomeni di accrescimento dei cristalli nel breve termine (30 minuti circa).

Analisi infrarossa

Il punto critico per l'acquisizione degli spettri è la preparazione del campione su vetrino da microscopia.

In un primo caso la crema è stata stesa in strato sottile e il *background* acquisito su vetrino di BaF₂.

Parametri di acquisizione:

- analisi in trasmittanza
- risoluzione: 8 cm^{-1}
- numero di scansioni: 16
- dimensione mappa: 600 X 600 μm

Dalla mappa così registrata sono stati estrapolati uno spettro acquisito sul cristallo e uno sulla matrice della crema.

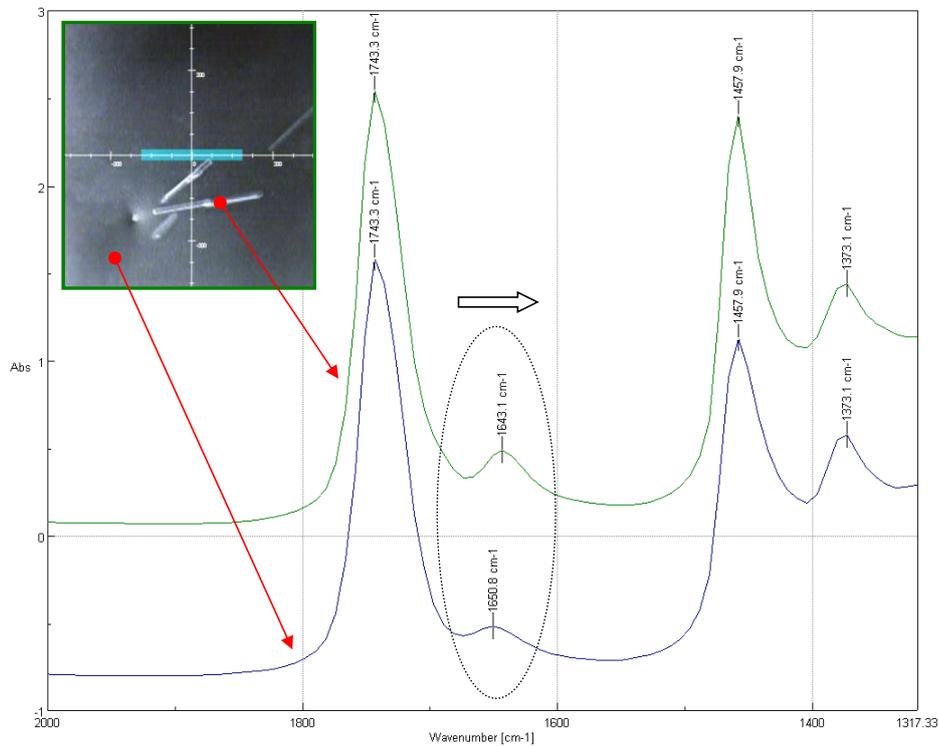


Figura 29 Spettro infrarosso della crema (blu) a confronto con uno collezionato sul cristallo (verde), particolare della zona $2000-1300\text{ cm}^{-1}$

Il confronto tra i due spettri è reso necessario dall'esigenza di trovare segnali caratteristici del cristallo distinguibili da quelli della base.

I *pattern* risultano altamente sovrapponibili, ad esclusione di un segnale che nella matrice si trova a 1650 cm^{-1} mentre nel cristallo presenta uno *shift* a 1643 cm^{-1} .

Assumendo questo segnale come caratteristico del cristallo, è stata ridisegnata un'immagine chimica della zona analizzata in base all'intensità del segnale stesso (fig. 30 b).

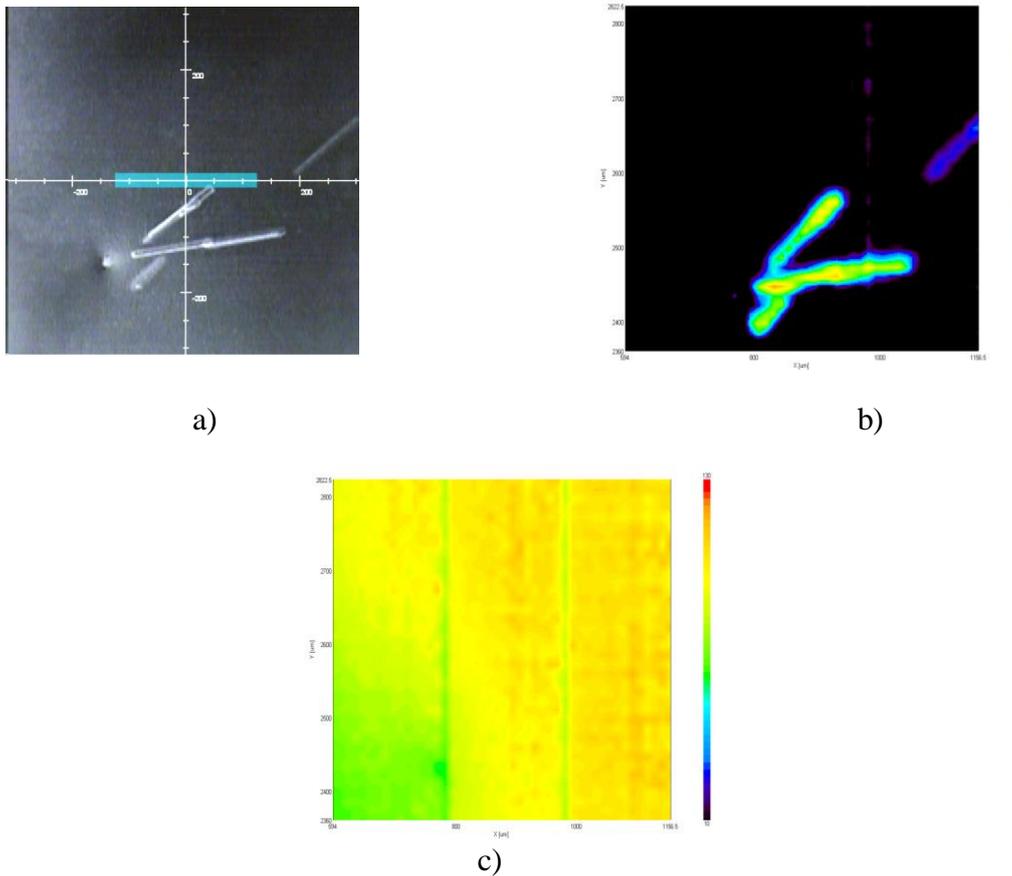


Figura 30 a) Immagine nel visibile del cristallo, b) Mappa imaging disegnata a 1643 cm^{-1} , c) Mappa imaging disegnata a 1743 cm^{-1}

Ci si aspetta che il segnale sia presente solo in corrispondenza del cristallo e che quindi questo sia distinguibile una volta modificata la mappa.

Questo è quello che si verifica effettivamente: la foto nel visibile infatti, affiancata alle due immagini digitali, mostra chiaramente la sua perfetta sovrapposibilità con la mappa ridisegnata a 1643 cm^{-1} .

A controprova della predittività di questo picco sulla presenza del cristallo, è stata elaborata l'immagine chimica di un altro segnale (a 1743 cm^{-1}) presente in entrambi gli spettri (fig. 30 c).

In questo secondo caso, non essendo il segnale discriminante del principio attivo, non si riesce a distinguere il cristallo nella zona mappata (fig. 31).

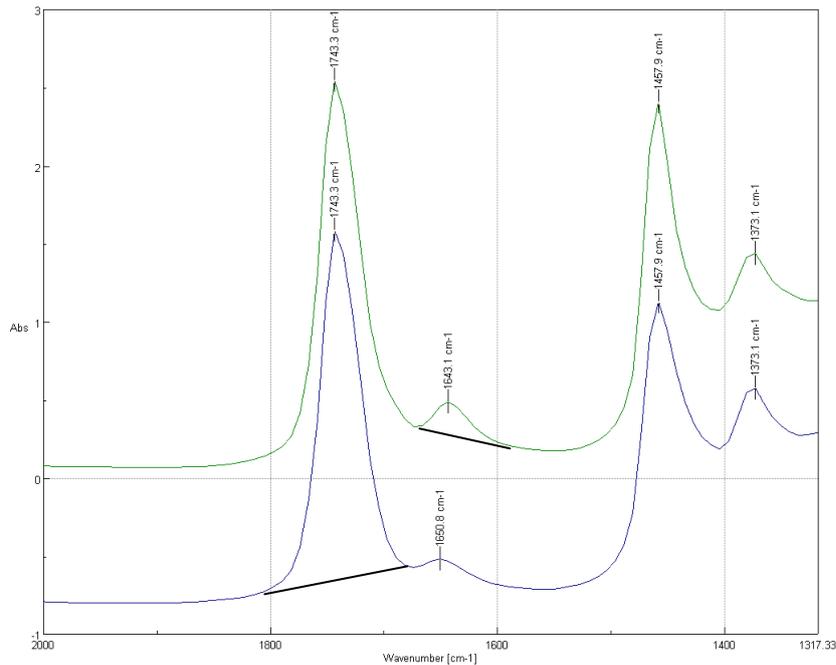


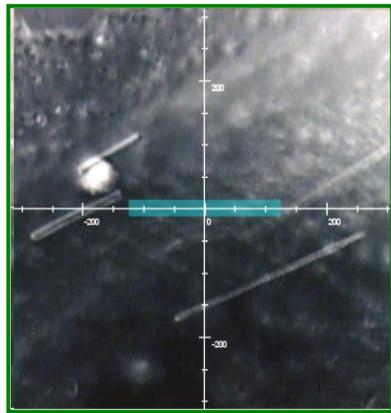
Figura 31 Confronto degli spettri infrarosso registrati a 1743 cm^{-1} (blu) e a 1643 cm^{-1} (verde)

Da queste prove è evidente come il segnale a 1643 cm^{-1} possa essere utilizzato come *target* per l'espressione della mappa del solo cristallo.

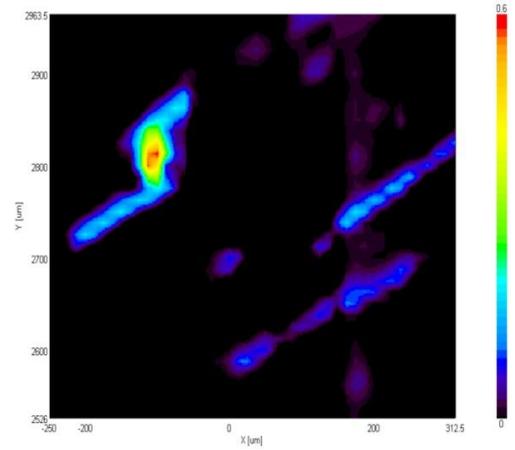
Successivamente, nel tentativo di diminuire il rumore di fondo e trovare eventuali altri segnali caratteristici, il *background* è stato effettuato su una zona della preparazione che al microscopio non mostrava la presenza di cristalli di principio attivo, ma solo della matrice di eccipienti.

Inoltre la crema è stata stesa in strato sottile e lasciata asciugare all'aria per 20 minuti circa.

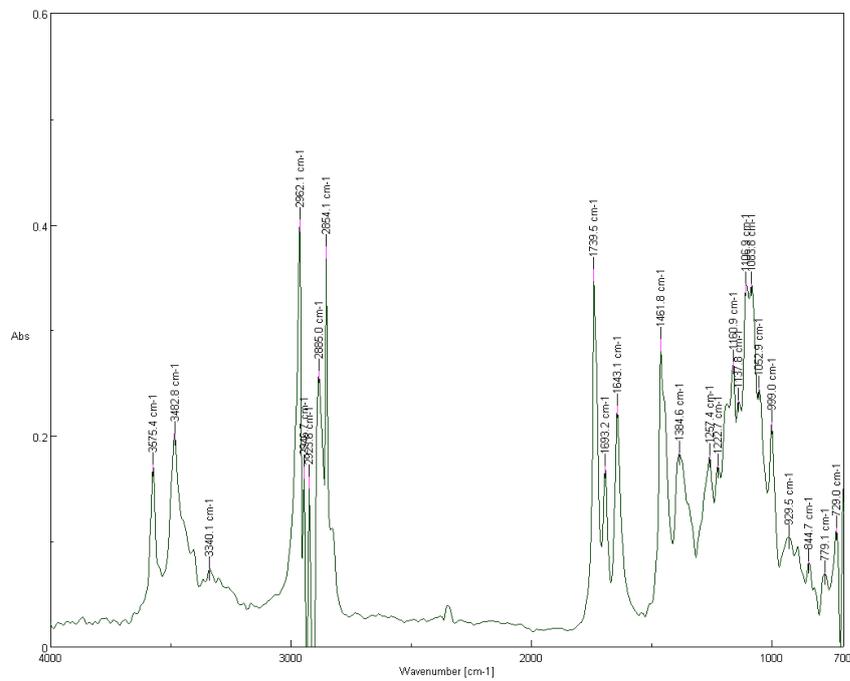
I parametri di acquisizione rimangono gli stessi, come pure le dimensioni della mappa (fig. 32).



a)



b)



c)

Figura 32 a) Foto nel visibile del film di crema asciugato all'aria e b) Mappa corrispondente, ottenuta al segnale 1643 cm^{-1} ; c) Spettro infrarosso full range

In una terza metodica di preparazione il campione è stato preventivamente ultracentrifugato a 14000 rpm per 10 minuti. Si ottengono in questo modo due fasi: quella superiore si presenta bianca e più compatta ed è ricca di eccipienti (matrice tridimensionale della crema), mentre quella inferiore si presenta come un olio giallo e contiene il principio attivo in percentuale maggiore.

La mappatura della fase sottostante dovrebbe quindi permettere di ottenere un incremento dell'intensità dei segnali del principio attivo (fig. 34).

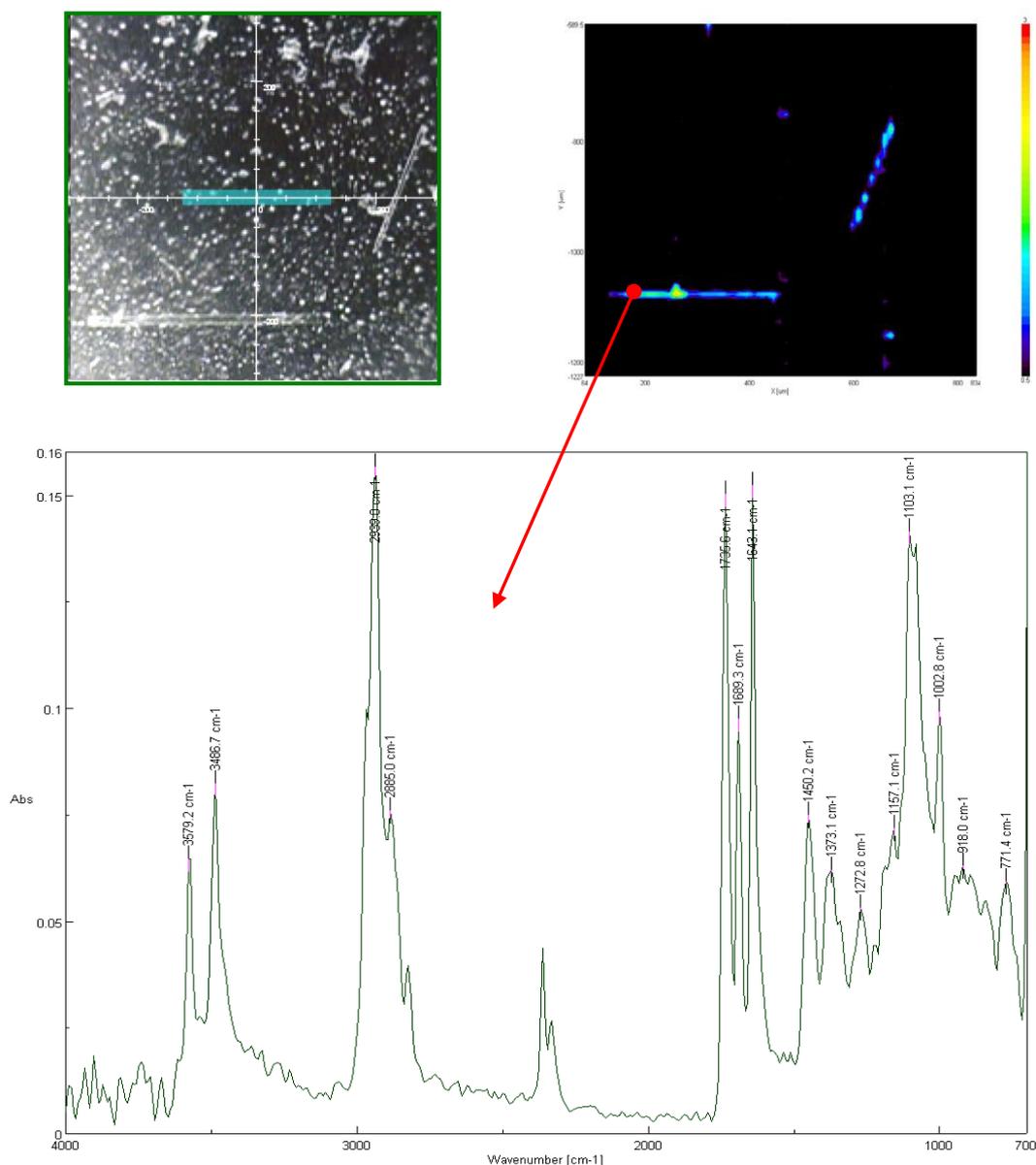


Figura 34 a) foto nel visibile e b) mappa imaging corrispondente della crema dopo centrifugazione; c) spettro infrarosso registrato sul punto del cristallo evidenziato sulla mappa

Paragonando gli spettri ottenuti con le ultime due tecniche di preparazione, si è visto che la centrifugazione si dimostra utile per diminuire l'interferenza della matrice, ma la laboriosità della preparazione e la scarsità di fase oleosa ottenuta rendono il semplice *background* su base della crema tecnicamente più conveniente.

In entrambi i casi il segnale a 1643 cm^{-1} si è confermato quello proprio del cristallo.

Ottimizzato in questo modo lo spettro del cristallo all'interno della crema, è stato possibile un confronto con gli spettri delle singole forme di stato solido, al fine di una identificazione diretta. Le sovrapposizioni dei quattro spettri nelle zone tra 4000 e 3000 cm^{-1} e tra 1800 e 1500 cm^{-1} consentono un confronto tra i segnali delle varie forme (fig. 35).

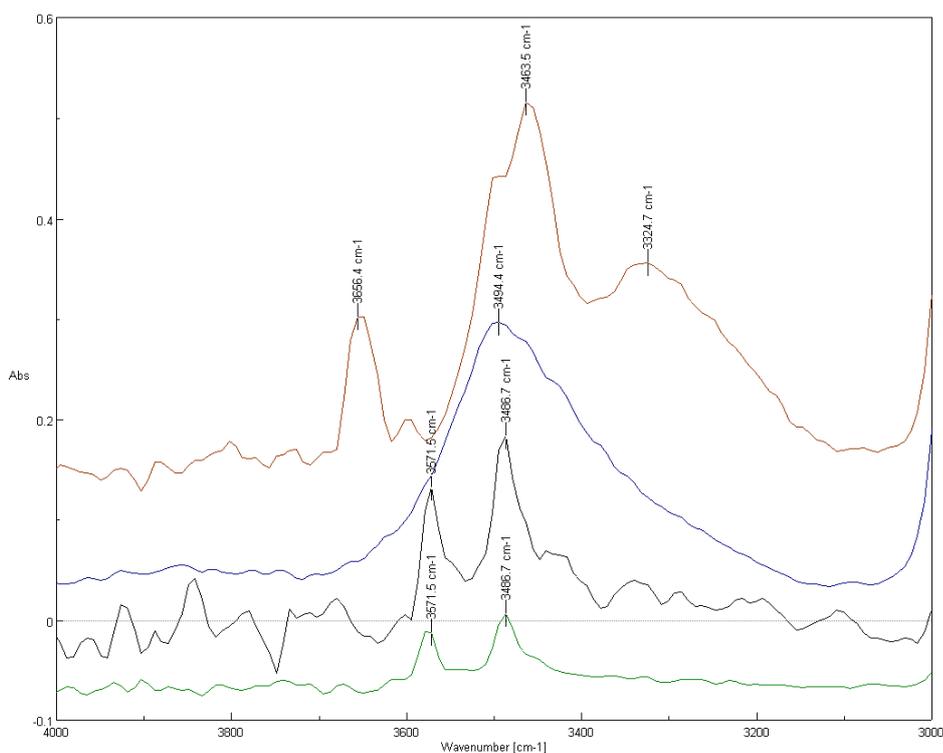


Figura 35 Sovrapposizione degli spettri di crema e forme solide del pimecrolimus (particolare della zona tra 4000 e 3000 cm^{-1}); idrata in rosso, amorfa in blu, anidra in nero e cristallo nella crema in verde

La forma amorfa, nella zona riportata in figura 35, presenta soltanto un picco allargato intorno a 3494 cm^{-1} .

La forma idrata ha picchi che cadono a 3656 , 3463 e 3325 cm^{-1} .

La forma anidra invece non presenta questo triplice sistema, ma due riflessi a 3572 e 3487 cm^{-1} .

A queste identiche lunghezze d'onda cadono i due segnali del cristallo di pimecrolimus nella crema riscontrabili in questa zona.

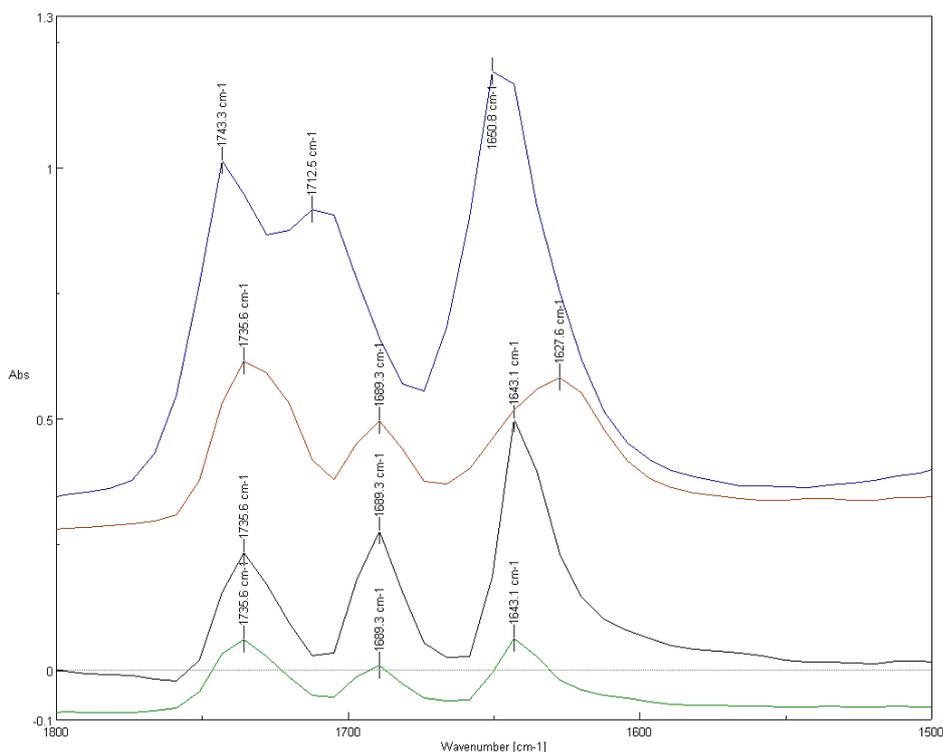


Figura 36 Sovrapposizione degli spettri di crema e forme solide del pimecrolimus (particolare della zona tra 1800 e 1500 cm^{-1}); idrata in blu, amorfa in rosso, anidra in nero e cristallo nella crema in verde

L'altra zona considerata (fig. 36) comprende il segnale giudicato caratteristico del principio attivo formulato (1643 cm^{-1}).

Sebbene sia lo spettro della forma idrata che quello della forma amorfa presentino picchi di poco spostati rispetto a questo valore (rispettivamente 1651 e 1627 cm^{-1}), l'unico che ha effettivamente un segnale a 1643 cm^{-1} è quello della forma anidra.

L'analisi di questi spettri per confronto rende quindi chiaramente deducibile che la forma di stato solido del pimecrolimus presente nella formulazione è quella anidra.

Il raggiungimento dello scopo originario grazie a questa tecnica, ci ha spinto ad investigare ulteriormente la problematica dell'identificazione diretta di un principio attivo formulato con tecniche analoghe basate sui medesimi principi teorici.

2.7 Spettroscopia Raman Imaging delle singole forme e del cristallo nella crema

La metodologia sperimentale seguita per la caratterizzazione mediante spettroscopia Raman Imaging ha previsto gli stessi *step* di quella con FT-IR Imaging.

Pur essendo già stata identificata la forma di stato solido, si è proceduto in un primo tempo all'analisi delle singole forme, successivamente a quella del principio attivo nella crema, e infine al confronto tra queste.

Particolare attenzione è stata posta a trovare riflessi analoghi a quello considerato caratteristico nell'IR a 1643 cm^{-1} così da confermare lo stesso risultato in termini di immagini chimiche.

2.7.1 Analisi delle singole forme di stato solido di API

Anche in questo caso le tre forme sono state osservate al microscopio per valutarne morfologia e grandezza dei cristalli (fig. 37).

Le potenzialità di questa tecnica hanno consentito un'osservazione delle polveri e della crema a ingrandimenti molto maggiori (da 16X a 50X); di conseguenza la porzione di campione osservata ha un'estensione proporzionalmente minore.

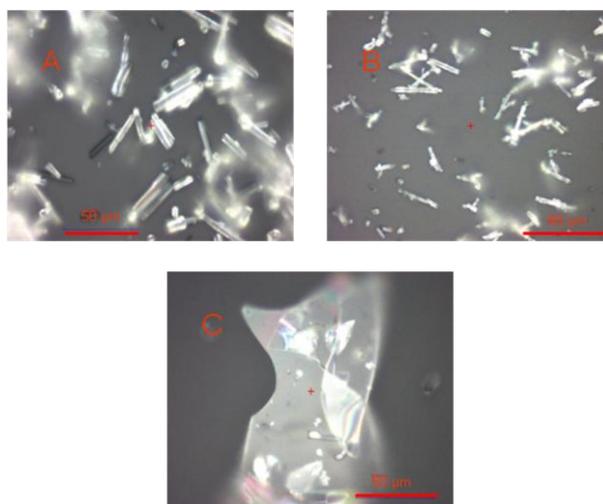


Figura 37 Immagini del visibile delle forme solide di pimecrolimus: A) idrata, B) anidra, C) amorfa

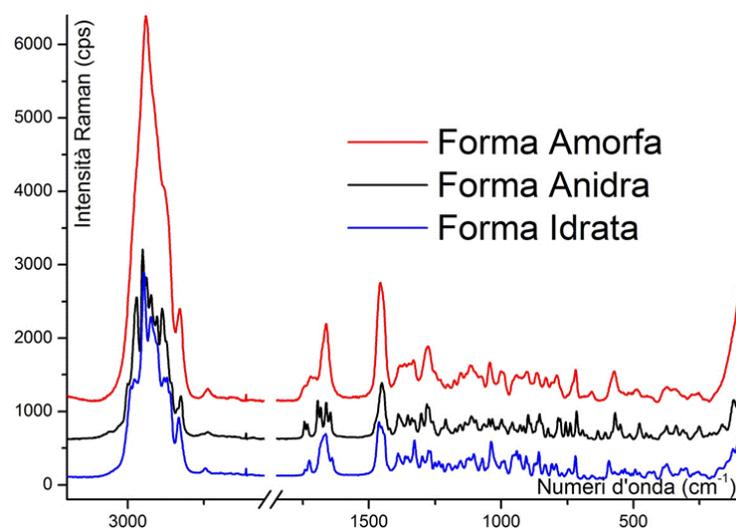


Figura 38 Sovrapposizione dello spettro Raman delle tre forme di pimecrolimus

2.7.2 Analisi dei cristalli di API nella crema

Come per la spettroscopia infrarossa, anche per il Raman sono state acquisite più mappe su vari cristalli in zone differenti della crema, così da comprovare la presenza della stessa forma di stato solido per tutti i cristalli nella formulazione.

Abbiamo già accennato nella parte teorica che la risoluzione spaziale di questa tecnica è superiore a quella del FT-IR Imaging; questo comporta tempi di acquisizione più lunghi che costringono ad una riduzione dell'estensione dell'area di analisi per evitare registrazioni che durino ore (con maggiore rischio di degradazione del campione).

Inoltre, dato l'ingrandimento a cui si riescono ad osservare i cristalli, le mappe ne inquadreranno uno singolo o al massimo pochi di dimensioni ridotte e spazialmente vicini.

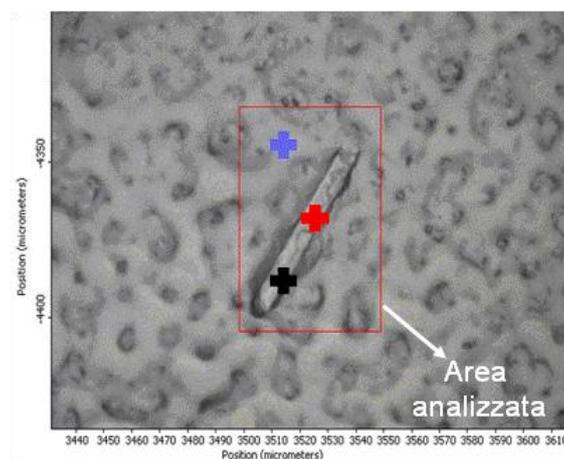


Figura 39 Foto nel visibile di un cristallo di pimecrolimus all'interno della crema

La figura 39 mostra l'immagine visibile di un cristallo ingrandita 50X; la zona nel riquadro rosso corrisponde all'area mappata di superficie $28 \times 51 \mu\text{m}^2$

Si è usato un laser a lunghezza d'onda di 532 nm, che si sposta sugli assi x e y con *step* di 1 μm . Ogni punto della mappa è stato sottoposto a 2 singole esposizioni della durata di 1 secondo ciascuna.

Per valutare la risposta della tecnica sono stati estrapolati dalla mappa tre differenti spettri, uno raccolto sulla matrice e due in corrispondenza del cristallo.

Come riportato nella sovrapposizione dei *pattern* ottenuti, quelli rilevati sul cristallo risultano sovrapponibili mentre quello sul complesso degli eccipienti si differenzia sia come rumore di fondo che come tipologia dei segnali.

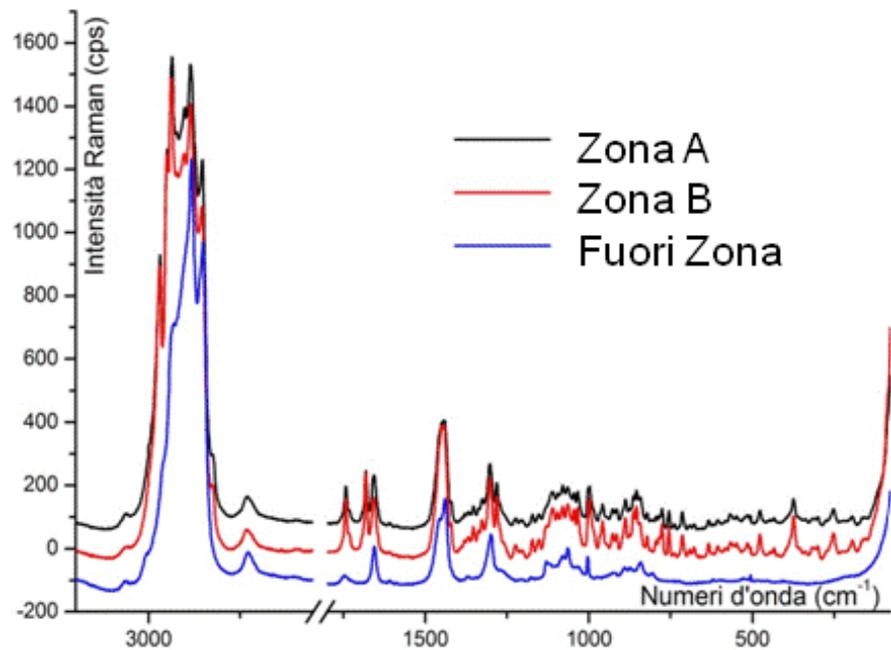


Figura 40 Spettro Raman Imaging sulla zona al di fuori del cristallo (crocetta blu sulla mappa), sul punto A (crocetta nera) e sul punto B (crocetta rossa) del cristallo

Verificato quindi che questo tipo di spettroscopia è anch'esso utile per l'osservazione di segnali propri del cristallo all'interno di una formulazione semisolida, è possibile operare il confronto con gli spettri delle singole forme, per tentare un'identificazione che confermi quella precedentemente ottenuta tramite FT-IR Imaging.

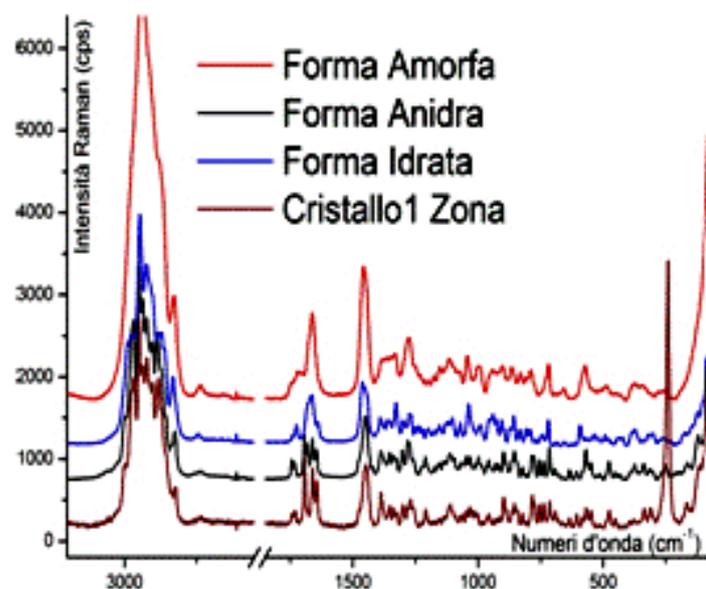


Figura 41 Spettro Raman Imaging full range

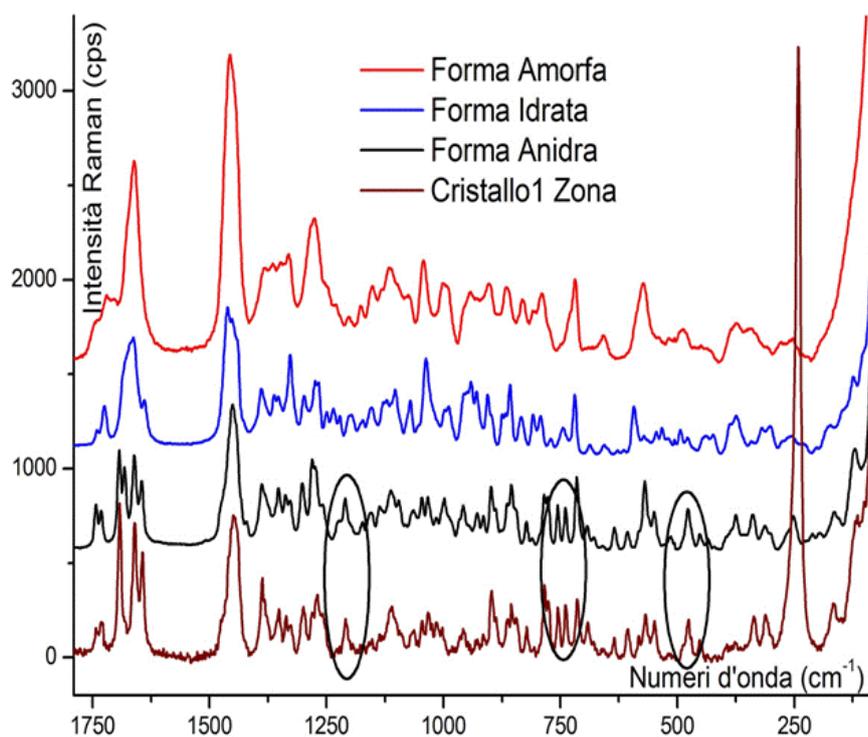


Figura 42 Confronto tra gli spettri Raman degli standard con quello ottenuto dal cristallo della crema

L'analisi accurata degli spettri ha permesso di individuare analogie di segnali tra lo standard della forma anidra e il cristallo nella crema in particolare nelle zone intorno ai 1200, 750 e 550 cm^{-1} .

Si è pensato di ridisegnare le immagini chimiche a ciascuna delle lunghezze d'onda dei picchi caratteristici al fine di provare che questi segnali siano effettivamente tipici del cristallo ed assenti nel resto della matrice.

Le immagini così ottenute dovrebbero permettere di osservare forma e posizione del cristallo nella zona analizzata, risultando sovrapponibili alla foto nel visibile. Riflessi caratteristici sono stati giudicati quelli a 1209 , 755 e 477 cm^{-1} (in quanto presenti nello spettro della forma anidra e del cristallo nella crema).

La figura 43 affianca le mappe ottenute a queste lunghezze d'onda. In tutte e tre si riesce ad individuare nettamente il cristallo.

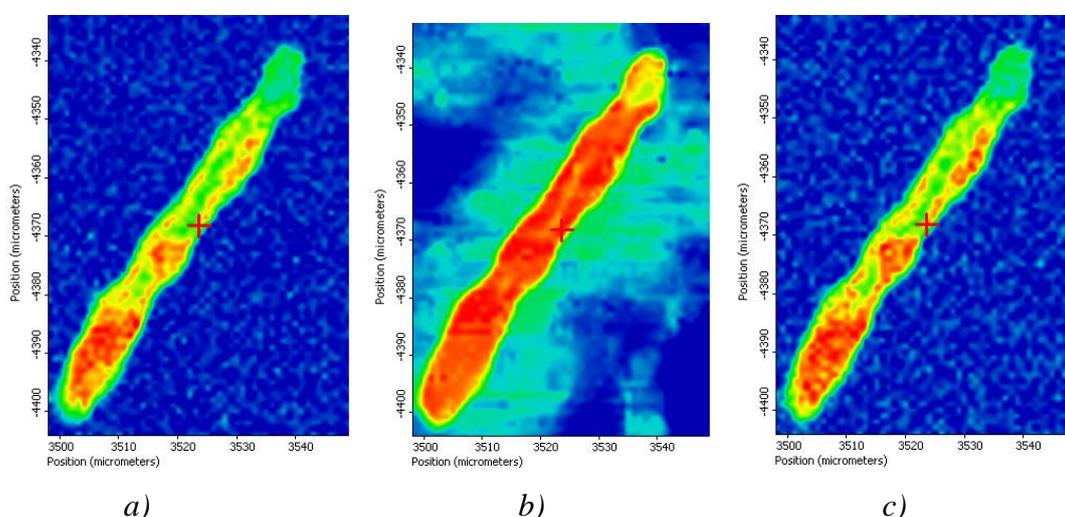


Figura 43 a) mappa al numero d'onda di 1209 cm^{-1} ; b) mappa a 755 cm^{-1} , c) mappa a 477 cm^{-1}

A definitiva conferma dell'identificazione della forma di stato solido come quella anidra e della capacità predittiva dei segnali scelti, la sovrapposizione tra immagine chimica e immagine nel visibile risulta pressoché perfetta (fig. 44).

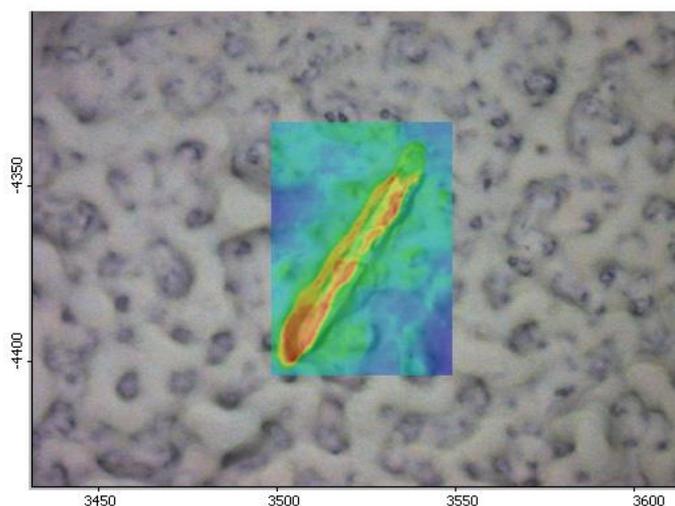


Figura 44 Sovrapposizione dell'immagine chimica su quella ottica

Nella tabella sottostante sono mostrate le percentuali di correlazione ricavate sulla base del confronto tra gli spettri del cristallo e la libreria creata con gli standard.

Le zone analizzate si riferiscono alla figura 44: le crocette nera e rossa corrispondono rispettivamente ad un punto A e ad un punto B del cristallo, mentre la crocetta blu ad una zona della matrice.

Tabella 1 Match di correlazione

	Match %		
	Cristallo zona A	Cristallo zona B	Fuori zona
Forma Anidra	69,25	70,75	11,56
Forma Idrata	12,86	14,87	3,85
Forma Amorfa	21,53	24,01	11,56

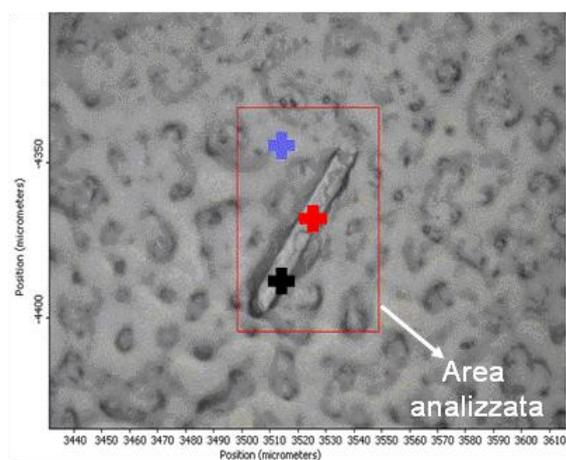


Figura 45 Foto del cristallo con le zone analizzate

Per entrambi gli spettri collezionati sul cristallo si ottiene un *match* di correlazione intorno al 69,9 %; questo valore in assoluto può non sembrare ottimale ma, considerata l'interferenza data dalla presenza degli eccipienti, può essere considerato soddisfacente.

I *match* con le altre forme invece hanno un valore molto più basso come pure quello tra lo spettro della matrice e i tre polimorfi.

Per completezza viene riportata qui di seguito un'altra mappa tra quelle successivamente eseguite, con gli stessi parametri, in zone differenti del campione.

I risultati fino a qui riportati vengono sempre confermati, come mostrano le foto e gli spettri.

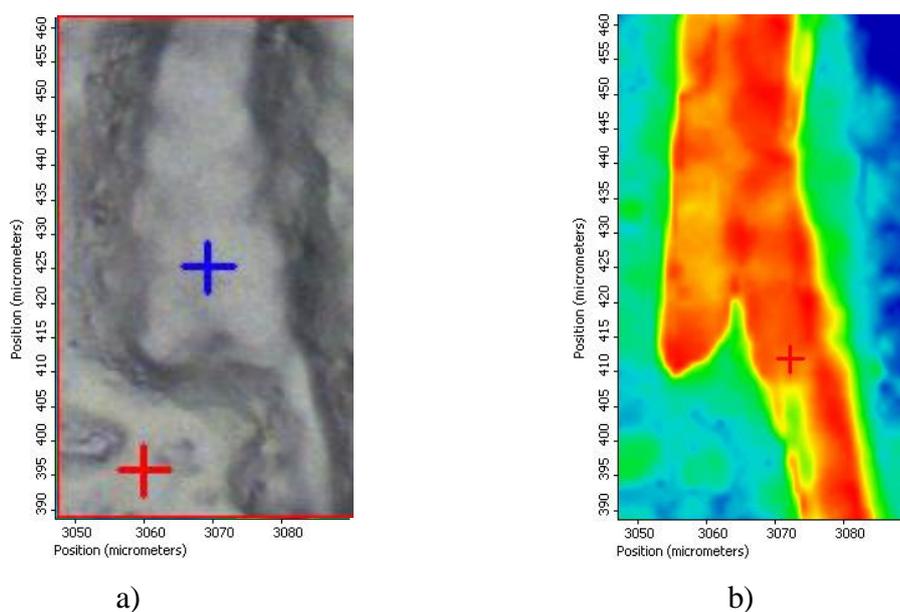


Figura 46 Dettaglio della zona analizzata nel visibile e b) mappa imaging di correlazione con lo standard della forma anidra

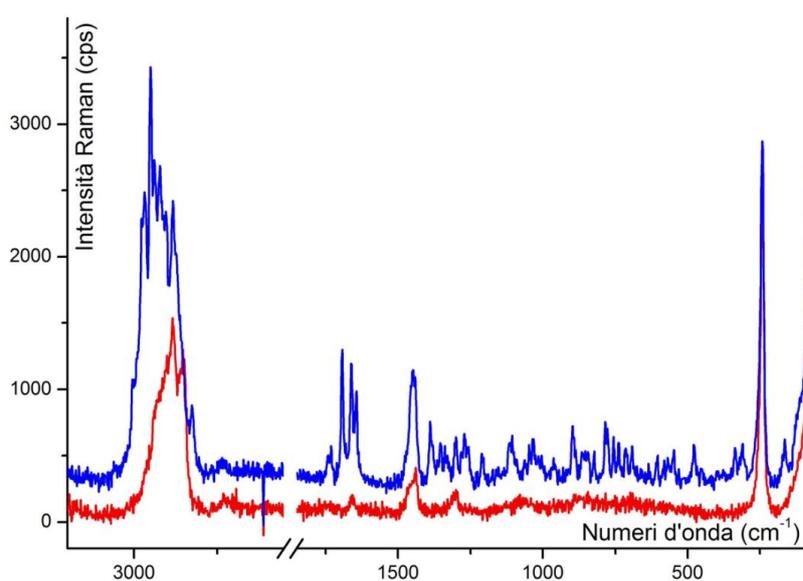


Figura 47 Spettro Raman del cristallo, individuato come forma anidra (blu), e della zona esterna al cristallo (rosso)

2.8 CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI

L'individuazione ed identificazione della forma cristallina di pimecrolimus nella formulazione semisolida è stata ottenuta con successo: in seguito alle numerose prove eseguite è risultata evidente la presenza del principio attivo all'interno della preparazione nella sua forma anidra.

Le due tecniche sperimentate quindi si sono dimostrate molto valide per raggiungere lo scopo e superare i problemi analitici connessi con le formulazioni semisolide.

L'infrarosso in particolare ha l'indubbio vantaggio della rapidità di esecuzione, consentendo uno *screening* rapido di più campioni o di più zone dello stesso campione.

Nel caso specifico qui analizzato la spettroscopia Raman si è dimostrata superiore perché sono maggiormente evidenti negli spettri i segnali caratteristici di ogni campione. Questo grazie a una migliore risoluzione e alla possibilità di un sovracampionamento che aumenta la sensibilità dello strumento.

Inoltre con il Raman è stato possibile identificare più di un picco caratteristico nella crema, cosa che è riuscita più difficoltosa nella tecnica FT-IR.

Gli ottimi risultati ottenuti con queste metodologie potrebbero consentire l'utilizzo diffuso per la caratterizzazione e l'identificazione dei polimorfi nei preparati semisolidi. Inoltre rendono promettente l'impiego anche su altre forme farmaceutiche (compresse, sospensioni ecc.) per altri scopi quali evidenziare difetti di produzione, caratterizzare impurezze superficiali, valutare l'omogeneità della formulazione, effettuare studi di accrescimento dei cristalli.

PARTE III: CARATTERIZZAZIONE DI FILM PROTETTIVI DI METALLI

3.1 Introduzione

L'acciaio è una lega metallica composta da carbonio, in percentuale compresa tra lo 0.2% e il 2.1%, e ferro. Se la suddetta percentuale di carbonio viene superata, le proprietà della lega cambiano ed essa prende il nome di ghisa.

Gli acciai si possono classificare in base al contenuto di carbonio, dal basso degli acciai dolci al medio, alto ed ultra-alto. Inoltre la classificazione può avvenire in base alla composizione, permettendo di definire *acciai non legati* quelli che contengono solo ferro e carbonio ed *acciai in lega* quelli che includono anche altri elementi quali manganese, cromo, zinco, rame, cobalto, molibdeno e nichel che conferiscono al metallo differenti proprietà.

Gli acciai inossidabili in particolare sono acciai in cui il contenuto di cromo non è inferiore all'11%. Essi sono utilizzati per le applicazioni più svariate: dagli utensili di uso più comune in cucina ai veicoli spaziali, dalle armi da fuoco alle otturazioni odontoiatriche [15], alle costruzioni strutturali.

Sono molto spesso in lega, anche in percentuali relativamente alte, con altri elementi che esaltano specifiche qualità: il molibdeno viene aggiunto per migliorare la resistenza alla corrosione puntiforme, mentre il nichel viene aggiunto per ottenere acciai austenitici. A seconda delle loro peculiari proprietà, gli acciai inossidabili possono essere ulteriormente suddivisi in alcune classi principali:

- Acciai martensitici: contengono altri elementi oltre al cromo, hanno elevate caratteristiche meccaniche e sono gli unici acciai inossidabili a poter ricevere la tempra. Sono magnetici;
- Acciai ferritici: contengono solo cromo in lega, hanno basse caratteristiche meccaniche e sono magnetizzabili. Il loro basso costo ne favorisce l'utilizzo quando la qualità non sia l'obiettivo principale;
- Acciai austenitici: contengono cromo e nichel in percentuali rispettivamente del 18% e dell'8%. Possono contenere altri elementi in lega e data l'alta resistenza alla corrosione, l'ottima possibilità di lavorazione, l'igienicità e le buone caratteristiche meccaniche, sono tra gli acciai più usati in assoluto nonostante l'elevato costo.
- Acciai duplex: detti anche austenitico-ferritici, presentano una struttura microcristallina mista austenitica e ferritica e hanno un tenore di cromo più alto rispetto alle classi

precedentemente descritte, non inferiore al 18%. Contengono inoltre nichel, che conferisce le proprietà austenitiche, e molto spesso piccole percentuali (2-3%) di molibdeno che ne aumenta le capacità meccaniche. Sono impiegati in condizioni particolarmente aggressive di corrosione, come nei desalinizzatori, ambienti ad alta concentrazione di cloro, impianti per salamoia e scambiatori di calore.

Considerata la grande importanza soprattutto degli acciai inox nella costruzione di oggetti di uso quotidiano, negli ultimi 20 anni circa [16, 17] la comunità scientifica internazionale ha iniziato ad interrogarsi sulla potenziale tossicità degli elementi usati per produrli, ed in particolare su quella del cromo, in quanto il Cr(VI) è un noto cancerogeno con un grave profilo tossicologico.

3.1.1 Tossicologia del cromo

Il cromo (Cr) è un metallo appartenente al blocco di transizione della tavola periodica, con numero atomico 24 e massa atomica relativa 51,996. Esso può presentarsi in tutti gli stati di ossidazione compresi tra -2 e +6, tuttavia le sole forme presenti in natura sono quelle negli stati 0 (Cr metallico), +2, +3 e +6. Il Cr(II) è instabile e viene facilmente ossidato a Cr(III) per semplice esposizione all'aria. Le forme che rivestono quindi importanza per la salute umana sono Cr(III) e Cr(VI) e l'equilibrio redox che lega le due forme è rappresentato dall'equazione chimica:



Dove E_0 rappresenta il potenziale standard di riduzione di Nernst.

Risulta quindi evidente che, data l'alta quantità di energia necessaria per operare l'ossidazione da Cr(III) a Cr(VI), questa non avviene normalmente all'interno delle cellule; al contrario, nei sistemi biologici il Cr(VI) si riduce spontaneamente a Cr(III).

Il Cr(III) è necessario all'uomo, in piccole quantità dell'ordine di 50-200 µg/die, per svolgere correttamente i processi metabolici degli zuccheri. Le concentrazioni di questo elemento normalmente presenti negli alimenti coprono senza eccessi questo fabbisogno e il cromo presente nell'ambiente non provoca aumenti apprezzabili dei livelli all'interno dell'organismo. Gli effetti negativi del cromo sulla salute sono quindi da imputarsi *in toto* a fattori antropogenici. I principali settori di esposizione per l'uomo sono l'impiego nell'industria siderurgica, delle vernici e della lavorazione del legno, le emissioni ambientali di cromo provenienti dalle stesse industrie (le quali possono avere ripercussioni anche sulla popolazione non addetta ai lavori), il ripetuto e prolungato contatto con elementi metallici ad alto contenuto di cromo e in condizioni di elevata corrosione (tubi sotterranei, impianti di lavorazione di soluzioni saline) nonché il largo

impiego degli acciai inossidabili nella produzione di protesi osteo-articolari [18], dentarie [15] e di impianti biomedici.

Il Cr(III) presenta scarso assorbimento per via orale (circa l'1%), cutanea ed inalatoria (trascurabili); all'interno dell'organismo si lega facilmente alle proteine plasmatiche, in particolare alla transferrina. Può anche legarsi alle proteine costitutive degli eritrociti, ma una volta legato a tali proteine non è più in grado di lasciare spontaneamente il globulo rosso, dove rimane per tutto il ciclo vitale della cellula senza però disturbarne le funzioni. Il Cr(III) può dare tossicità acuta in alti dosaggi (50-70 mg/kg p.c.) e può causare reazioni allergiche cutanee in individui sensibili. Sebbene l'incidenza della sensibilità a Cr(III) sia piuttosto bassa, esistono evidenze che suggeriscono che Cr(III) possa essere un promotore della sensibilizzazione dell'organismo nei confronti di Cr(VI).

Il Cr(VI) presenta un miglior assorbimento orale rispetto a Cr(III), nell'ordine del 10%. L'assorbimento polmonare dipende dalla solubilità del composto contenente Cr(VI), che può provocare irritazioni ed ulcere del setto nasale e delle alte vie respiratorie; esso viene ridotto a Cr(III) specialmente nelle basse vie respiratorie, con efficienza significativamente più alta nei soggetti fumatori che nei non fumatori. Una volta arrivato nel circolo sanguigno Cr(VI) viene selettivamente captato dagli eritrociti, dove viene ridotto a Cr(III) legandosi però, nel corso del processo, all'emoglobina che viene così resa incapace di svolgere la propria funzione. A livello cutaneo Cr(VI) è un allergene molto più potente di Cr(III), sia come agente scatenante della reazione allergica che come potenziale sensibilizzante nei confronti di altri allergeni.

L'azione tossica, a vari livelli, dei composti del cromo è dovuta essenzialmente al processo di riduzione $\text{Cr(VI)} \rightarrow \text{Cr(III)}$ che avviene all'interno della cellula, grazie all'azione in loco di agenti riducenti quali soprattutto l'acido ascorbico ed il glutathione ed in minor misura residui di cisteina, gli zuccheri, l'emoglobina e la vitamina E. Nel corso di questo processo è stato dimostrato che si formano, oltre al prodotto finale, intermedi altamente reattivi di Cr(IV) e Cr(V), che vengono rapidamente ridotti a Cr(III).

La capacità genotossica del cromo, in particolare di Cr(VI), è largamente riconosciuta dalla comunità scientifica. Il cromo agisce mediante due meccanismi d'azione: in primo luogo Cr(VI) è in grado, grazie alla sua capacità ossidante, di indurre rotture nelle catene polinucleotidiche del DNA e successivi cross-link DNA-DNA e DNA-proteine, mentre Cr(III) può interagire con i gruppi fosfato e gli atomi di azoto del DNA dopo la rottura indotta da Cr(VI); in secondo luogo, la riduzione $\text{Cr(VI)} \rightarrow \text{Cr(III)}$ indotta da agenti presenti nella cellula quali l'acido ascorbico, il glutathione ed i residui cisteinici può dar luogo alla formazione di specie radicaliche derivate dai composti riducenti, nonché di radicali liberi dell'ossigeno. L'attivazione del fattore di trascrizione NF-kB, mediata dagli stessi radicali, promuove efficacemente l'apoptosi delle cellule

danneggiate. Il cromo è quindi un insidioso agente genotossico, non molto pericoloso a livello di tossicità acuta, ma di rilevanza per quanto riguarda la tossicità a lungo termine. Può essere interessante citare, a questo proposito, che nei lavoratori costantemente esposti al cromo si registra un'incidenza significativamente maggiore di cancro sinonasale (classificato come raro dall'International Agency for Research on Cancer) rispetto alla popolazione non esposta [19].

Il profilo tossicologico del cromo non si esaurisce tuttavia con la sua azione cancerogena; esso può infatti dare origine a reazioni di ipersensibilità che possono degenerare in vere e proprie allergie, mediante il meccanismo classico di presentazione dell'antigene da parte delle cellule APC (*Antigen Presenting Cells*) ai linfociti T durante la risposta primaria e la comparsa della reazione secondaria alle successive esposizioni all'antigene. Come già per quanto riguardava la genotossicità, Cr(VI) è un antigene molto più potente rispetto a Cr(III), ma solo grazie al suo miglior profilo di assorbimento: il carattere allergenico è dovuto al Cr(III) derivante dall'ossidazione, il quale è in grado di reagire con i gruppi tiolici dei residui cisteinici delle proteine denaturandole e formando quindi antigeni che provocano risposte più marcate. È stato comunque dimostrato che l'insorgenza sia della reazione primaria sia di quella secondaria seguono un andamento dose-risposta.

È stato stimato che il 10-12% della popolazione sviluppi nel corso della vita ipersensibilità al cromo, spesso senza saperlo [20]. Le reazioni tipiche da ipersensibilità al cromo sono: dermatiti acute da contatto che possono degenerare in ulcere cutanee croniche, riniti croniche (che possono portare a ulcerazione e perforazione del setto nasale), broncospasmo ed asma bronchiale.

Ci sono, infine, alcuni studi che suggeriscono la possibilità che i composti del cromo possano portare alla formazione di anticorpi anti-DNA mediante meccanismi ancora non chiariti, con conseguente sviluppo di autoimmunità; tuttavia, gli studi su questo tipo di tossicità sono al momento pochi e non danno risultati definitivi.

Il largo impiego del cromo in molti aspetti della vita quotidiana (ad esempio le comuni stoviglie sono costruite con acciaio inossidabile) e le sue capacità cancerogena ed allergenica a lungo termine rendono necessario lo studio di metodi alternativi al trattamento con cromo nella protezione dalla corrosione.

3.1.2 La corrosione ed i meccanismi di protezione

Viene definito *corrosione* ogni processo che coinvolge meccanismi ossidoriduttivi portando alla distruzione di materiali strutturali [21]. Il termine “corrosione” è classicamente riferito ai metalli, ma questo utilizzo è riduttivo poiché qualsiasi materiale subisce lo stesso processo e la sua resistenza dipende dalle caratteristiche specifiche e da quelle dell'ambiente in cui esso si trova.

Lo svantaggio più preoccupante in ambito sanitario è dato dalla corrosione di impianti protesici scheletrici o biomedici di altro tipo (*pacemakers*, impianti cocleari, impianti sottocutanei per il rilascio modificato di farmaci). I problemi legati alla corrosione possono ostacolare il progresso tecnologico in vari campi, come ad esempio nella ricerca sulle fonti rinnovabili, che spesso richiede di operare in ambienti ad alto potenziale corrosivo. Infine in ambito farmaceutico non sono rari i casi in cui la corrosione di impianti o serbatoi di stockaggio porta alla contaminazione per esempio con ossidi di ferro di materie prime o prodotti finiti, con conseguente perdita del lotto di produzione.

MECCANISMI DI CORROSIONE

La corrosione prevede l'ossidazione dei metalli con conseguente formazioni degli ossidi o idrossidi corrispondenti oppure di sali di varia natura, secondo due processi fondamentali:

1. Corrosione a secco: è un processo non accompagnato da produzione di corrente elettrica e per cui non sono necessarie soluzioni elettrolitiche. Avviene in presenza di mezzi non elettrolitici (come benzina o nafta) e di additivi con un comportamento redox attivo (es. piombo) ad alte temperature. È un fenomeno di importanza relativa.
2. Corrosione elettrochimica: questo processo produce corrente elettrica e richiede che siano presenti due elettrodi a differente potenziale elettrico (metalli diversi o zone dello stesso metallo a diverso potenziale), collegati direttamente o mediante un conduttore elettrico, ed una soluzione elettrolitica in cui i due elettrodi siano immersi (l'umidità atmosferica è sufficiente). Questo insieme forma una cella (o pila) galvanica e rappresenta l'ambiente di corrosione presente nella grande maggioranza dei casi. Le condizioni di corrosione possono essere molto variabili.

MECCANISMI DI PROTEZIONE

Protezione passiva

Il metodo fondamentale di protezione consiste nell'evitare che gli agenti chimico-fisici responsabili della corrosione possano giungere ad interagire con lo strato di metallo, formando una barriera fisica che l'ossigeno e/o l'umidità atmosferica non possano attraversare. La protezione passiva può essere conferita con rivestimenti idrofili, spesso in forma di vernici (i silani appartengono a questa categoria). La protezione passiva, inoltre, rende possibile l'utilizzo di metodi di protezione attiva, altrimenti non utilizzabili: essi infatti senza una protezione passiva del metallo si troverebbero a combattere contro processi corrosivi estesi e continuativi, con

difficoltà e costi proibitivi. Per un buon rivestimento a protezione passiva sono richieste inerzia chimica, elevata adesione al metallo, scarsa permeabilità ad acqua e ossigeno, elevata resistenza meccanica e compattezza del film.

Protezione attiva

La protezione attiva dei metalli è intesa come l'uso di metodi che influiscono sulla differenza di potenziale che funge da forza motrice del processo corrosivo. La protezione attiva può essere catodica o anodica; nel primo caso si usano vari metodi per far sì che l'anodo della cella di corrosione (il metallo da proteggere) diventi il catodo di un secondo processo elettrochimico, con conseguente protezione, mentre nel secondo caso si applica all'anodo un potenziale in modo che la sua ossidazione sia inibita.

Protezione catodica

La protezione catodica viene raggiunta mediante due metodi principali: l'uso di anodi sacrificali e gli impianti a corrente impressa.

Un anodo sacrificale è un elemento strutturale composto di un secondo metallo posto a contatto (diretto o mediante collegamento elettrico) con il metallo da proteggere. Se il secondo metallo ha un potenziale di elettrodo minore rispetto a quello da proteggere (o, con termine tecnico, ha minor nobiltà) tenderà ad ossidarsi al posto di quello da proteggere, che quindi rimarrà intatto. Un tipico esempio di protezione mediante anodo sacrificale è un elemento di magnesio separato dal metallo da proteggere e ad esso collegato con un filo elettrico.

Un caso particolare di protezione attiva e passiva simultanea è dato dalla zincatura dell'acciaio. Questo tipo di protezione prevede che l'acciaio venga immerso in un bagno di zinco fuso mediante un processo detto *Hot-Dip Galvanizing* (da cui la sigla HDG comunemente usata per indicare gli acciai zincati). Lo zinco riveste quindi totalmente l'acciaio, con protezione passiva in quanto si assiste alla formazione di uno strato di ZnO sulla superficie del metallo. Nelle condizioni ambientali più comuni ($\text{pH} \geq 7$, potenziale di elettrodo $E \geq -0,8 \text{ V}$) lo zinco si trova nella regione di passività; l'ossido è insolubile nello strato di umidità ed è molto compatto, impedendo quindi all'ossigeno ed all'umidità di giungere a contatto con la superficie del metallo. In caso di danneggiamento del rivestimento zincato, lo zinco che circonda l'area danneggiata forma una cella elettrochimica con l'umidità e l'ossigeno, ossidandosi al posto del ferro come anodo sacrificale, imprimendo quindi una protezione attiva.

Diverso è il caso di un impianto a corrente impressa: il polo negativo di un alimentatore a corrente continua a controllo automatico viene collegato al metallo da proteggere, mentre quello positivo viene collegato ad un elemento analogo ad un anodo sacrificale, separato dal metallo e

detto anodo dispersore. In questo modo, il metallo da proteggere risulta essere il catodo e quindi perde la tendenza ad ossidarsi. L'alimentatore applica un'intensità di corrente tale da mantenere un potenziale costante tra metallo da proteggere e anodo dispersore. I materiali più impiegati per costruire gli anodi dispersori sono ferro, grafite, ferro silicato, titanio attivato e magnetite. Gli impianti a corrente impressa sono usati quando le quantità di metallo da proteggere sono importanti e le condizioni ambientali sono sfavorevoli (es. una rete di tubature sotterranee, oppure serbatoi d'acqua di grandi dimensioni).

Protezione anodica

La protezione anodica si basa su un concetto molto diverso rispetto a quella catodica. Mentre nella protezione catodica infatti l'obiettivo è mantenere il metallo nella zona di immunità inducendo un secondo elemento ad ossidarsi al suo posto, nella protezione anodica si sfrutta la capacità di alcuni metalli di dare una zona di passività stabile in un certo *range* di potenziale e pH. È interessante notare che, mentre il ferro non può essere protetto in questo modo dal momento che la ruggine non ha caratteristiche adatte a fungere da rivestimento protettivo, l'acciaio può invece essere sottoposto ai trattamenti di protezione anodica grazie all'effetto del carbonio incorporato in lega sulla struttura microcristallina degli ossidi. Altri metalli per cui la protezione anodica è indicata sono titanio, cromo, stagno.

Da un punto di vista operativo, la protezione anodica viene conferita in maniera simile ad un impianto a corrente impressa, in cui però il polo negativo dell'alimentatore (che in questo caso è un semplice potenziostato) viene collegato ad un catodo metallico di acciaio austenitico-ferritico o di ottone placcato con platino e quello positivo al metallo da proteggere. Il potenziostato viene quindi collegato ad un elettrodo di riferimento (es. a calomelano, in platino o in argento) e viene impostato per mantenere un determinato livello di potenziale, tale da conservare la passività del metallo.

Rispetto alla protezione catodica, quella anodica è limitata ai metalli che presentano un comportamento attivo/passivo (quella catodica è utilizzabile su tutti i metalli) e richiede investimenti iniziali molto più alti. Tuttavia è impiegabile in condizioni ambientali molto più aggressive, ha costi di esercizio minimi, richiede equipaggiamento meno costoso, ha un'alta capacità di uniformare la superficie del metallo e dato che la corrente da applicare può essere calcolata rapidamente e accuratamente a partire dalle misure elettrochimiche, può essere considerata una misura diretta della velocità di corrosione. Quest'ultima caratteristica è molto importante in ambienti molto corrosivi, in quanto il *range* di potenziale per la passività diventa molto ristretto e la precisione del potenziale applicato diventa essenziale. Un tipico impiego di protezione anodica si ha su serbatoi ed elementi impiantistici a contatto con acido solforico ad

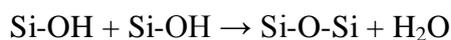
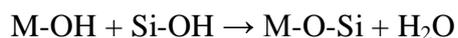
elevate concentrazioni, condizione nella quale anche piccole concentrazioni di ioni Cl^- diventano fortemente corrosive.

3.1.3 I silani organofunzionali come agenti protettivi

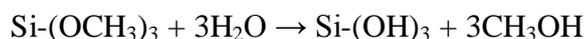
I silani organofunzionali sono studiati da oltre cinquant'anni come agenti di rivestimento per i metalli. Le loro proprietà come agenti protettivi contro la corrosione sono però state notate e studiate solo a partire dai primi anni novanta. In precedenza l'interesse di questi polimeri era dato dal fatto che la loro struttura li rende particolarmente adesivi su substrati metallici opportunamente pretrattati. Data la loro affinità con molte vernici di uso comune erano inoltre usati come promotori dell'adesione delle vernici. La sempre crescente attenzione rivolta dalle autorità regolatorie al problema della tossicità del cromo ha portato negli ultimi vent'anni a esplorare, approfondire e cercare di migliorare le caratteristiche anticorrosive di queste molecole. In particolare l'interesse è rivolto ultimamente a silani funzionalizzati con molecole organiche che siano in grado di interagire tra loro dando origine ad un polimero semiconduttore, il che presenta come si può intuire dalle proprietà degli ICP, un notevole vantaggio.

MECCANISMO DI FORMAZIONE DEI FILM DI ORGANOSILANI

I monomeri di mono- e bis-silani portano unità trialcossisilaniche che devono essere idrolizzate per potersi legare al metallo e dare in seguito interazioni Si-O-Si. Di seguito sono rappresentate la reazione di legame ad un generico metallo M e quella di formazione del silossano:



È quindi necessario idrolizzare i legami Si-O-CH₃ come mostrato dalla reazione:



In figura 48 è rappresentato il film in formazione.

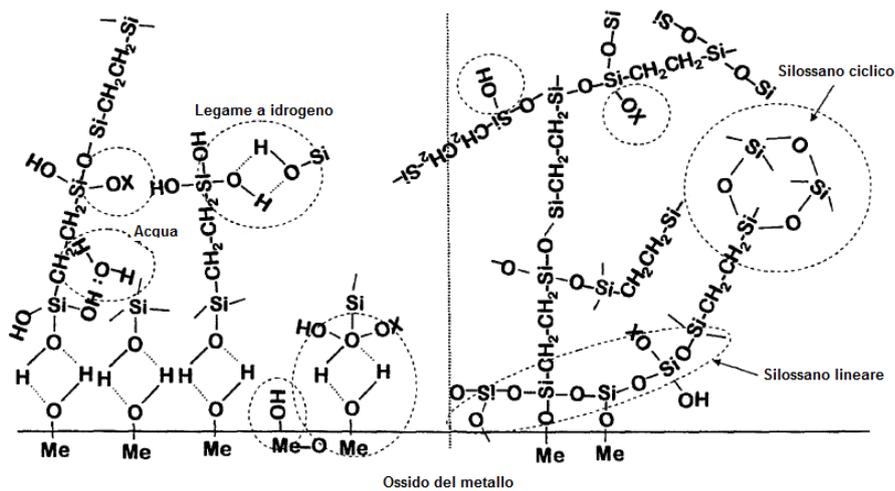


Figura 48 Film silossanico durante la reazione di formazione; a) inizio b) termine

Lo step di idrolisi del silano è il passaggio più critico affinché il film che si depositi sul metallo sia compatto, continuo e funzionale al suo scopo. I parametri fondamentali nella formazione del film sono pH di idrolisi, tempo di idrolisi, concentrazione delle soluzioni e temperatura di trattamento termico.

1) *pH di idrolisi.* In figura 49 sono mostrate le velocità delle reazioni di idrolisi e condensazione tra le unità di Si-OH e Me-OH rispetto al pH.

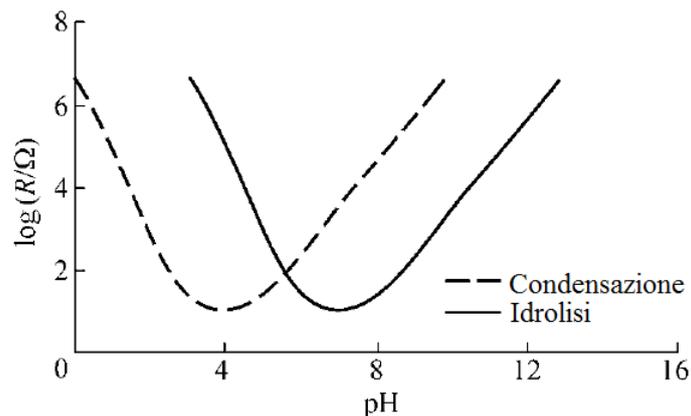


Figura 49 Grafico velocità/pH per le reazioni dei monomeri di silano

Tanto la reazione di idrolisi quanto quella di condensazione sono catalizzate sia in acidi che in basi e presentano un minimo nella velocità di reazione in corrispondenza dei valori neutri di pH. In ambiente basico tuttavia la reazione di condensazione presenta velocità più alte a parità di pH rispetto a quella di idrolisi, con conseguente formazione di aggregati gelatinosi che precipitano,

mentre a pH acidi è più favorita la reazione di idrolisi. Utilizzando un tampone acetato a pH = 4,3 si minimizza la velocità della reazione di condensazione a vantaggio di quella di idrolisi.

2) *Tempo di idrolisi.* Il tempo lasciato alla reazione di idrolisi per andare a compimento è un altro parametro critico. Evidenze sperimentali riportate in letteratura [22] mostrano infatti che oltre un certo tempo a cui si ha il massimo grado di idrolisi si osserva una diminuzione dei gruppi Si-OH, dovuta al fatto che la reazione di condensazione, sia pure sfavorita, inizia a dare oligomerizzazione dei silani idrolizzati. Il tempo ottimale dipende da parametri come pH, temperatura, natura del solvente e natura del silano.

3) *Concentrazione delle soluzioni di monomero.* Anche in questo caso, i dati sperimentali mostrano che, sebbene soluzioni più concentrate diano film più spessi e quindi potenzialmente più efficaci, esiste una concentrazione ottimale oltre la quale la *performance* del film inizia a peggiorare. Ciò è dovuto al fatto che film troppo spessi tendono a dare un comportamento di tipo *brittle*, con scheggiature e danni che ne diminuiscono le prestazioni.

4) *Temperatura di trattamento termico.* Il trattamento termico, ovvero l'esposizione ad alte temperature del metallo su cui è stato adsorbito il monomero di silano, è una fase indispensabile del processo di preparazione per tre motivi: in primo luogo il calore fornisce l'energia necessaria alla formazione dei legami covalenti Si-O-Si. In secondo luogo il trattamento termico è necessario per allontanare l'acqua residua dalla soluzione di monomero. Infine, i legami a idrogeno formati dal monomero adsorbito (Fig. 48a) richiamano acqua nel *layer* polimerico e devono quindi essere eliminati, obiettivo che si raggiunge trasformandoli in legami covalenti (Fig. 48b). Poiché trattamenti termici a temperature più alte richiedono tempi più brevi, si tende a condurre i trattamenti alla più alta temperatura che non induca degradazioni o modifiche nella struttura del film. Questa temperatura, così come tutti i parametri sopra elencati, viene determinata empiricamente in fase di studio della molecola.

Gli organosilani esercitano fondamentalmente una protezione passiva mediante effetto barriera: i film polimerici infatti sono permeabili ai gas (e quindi anche all'ossigeno), ma grazie al loro carattere idrofobico essi impediscono all'umidità atmosferica di giungere a contatto con il metallo e fornire la soluzione elettrolitica necessaria a chiudere il circuito della cella galvanica. Ottimo esempio di questo genere di molecole è l'ottilsilano, molto lipofilo e con una catena relativamente lunga che forma una barriera compatta. È possibile anche usare molecole che mantengano un certo carattere idrofilico (quindi capaci di formare soluzioni stabili e monofasiche in ambiente acquoso), formate da una catena più o meno lunga che però porti due gruppi trialcossisilanicici, uno ad ogni estremità. In questo modo l'aumentata possibilità di formare

legami Si-O-Si, meglio ancora se formanti *cross-linking*, aumenta grandemente la lipofilia del film polimerico nel suo insieme, anche se il monomero in sé non fosse particolarmente idrofobo. Ultimamente gli studi sono però rivolti a trimetossisilani funzionalizzati con molecole come il pirrolo, l'anilina o altri nuclei eteroaromatici. L'interesse di queste particolari molecole deriva dal fatto che nella formazione del film parallelamente alla polimerizzazione delle molecole di silossano avviene anche la polimerizzazione tra molecole di anilina o pirrolo (fig. 50). Si crea quindi un film caratterizzato da un doppio strato: il primo di silossani, responsabile dell'adesione al metallo o alla superficie da proteggere; il secondo di polianilina o polipirrolo. Questo secondo strato di polimeri semiconduttori incrementa la capacità protettiva di un silossano tradizionale, poiché aggiunge alla tradizionale protezione passiva una protezione attiva derivante dalla proprietà ossido-riduttive degli ICP. È quindi immediatamente chiaro il vantaggio derivante dall'utilizzo di simili agenti filmanti.

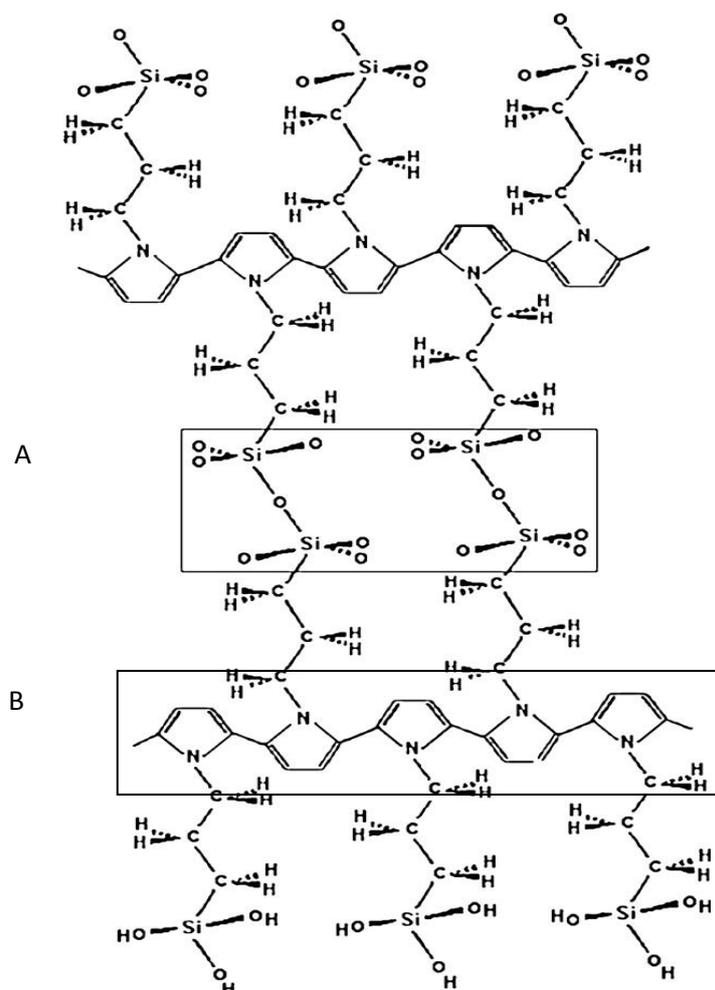


Figura 50 Esempio della struttura del film con doppio tipo di polimerizzazione a) tra silani e b) di polipirrolo.

3.1.4 Polianilina

La polianilina è uno dei polimeri semiconduttori più studiati grazie alle sue caratteristiche di stabilità a condizioni ambientali, la sua alta conducibilità, la sintesi relativamente semplice e soprattutto la possibilità di drogaggio reversibile facilmente rispetto a macromolecole analoghe.

Il principale problema della PANI è il fatto che in soluzione aggrega progressivamente dando una sospensione.

PANI può esistere in diversi stati di ossidazione ben definiti che vanno dalla forma ridotta leucoemeraldina alla forma totalmente ossidata pernigranilina passando successivamente per protoemeraldina, emeraldina (o smeraldina) e nigranilina.

L'emeraldina, 50% ossidata, è la più stabile: la forma emeraldina base (isolante) del polimero può reagire con acidi formando la specie emeraldina sale (conduttrice). La reazione di protonazione avviene principalmente sugli atomi di azoto imminici della polianilina ($-N=$).

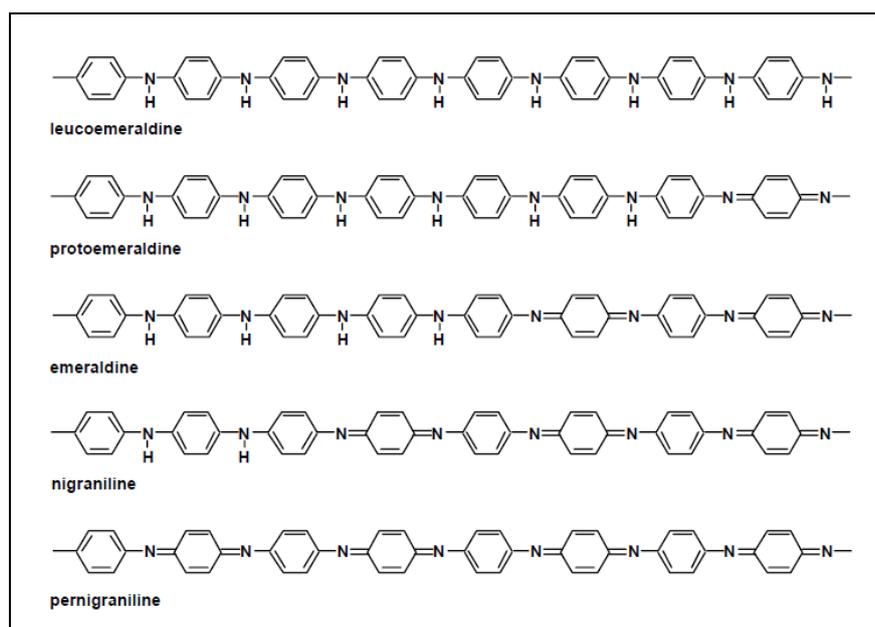


Figura 51 Polianilina nei suoi vari stati di ossidazione

La polianilina diviene di fatto conduttrice quando gli stati moderatamente ossidati vengono protonati e si formano dei portatori di carica. Nella maggior parte dei polimeri conduttori come il polipirrolo il processo di drogaggio avviene simultaneamente alla ossidazione della catena. Degli elettroni vengono estratti dalla catena durante l'ossidazione e si ha l'introduzione di controioni (droganti) per bilanciare la carica. L'unicità della polianilina sta nel fatto che può essere dopata

attraverso protonazione senza che si abbia una variazione del numero di elettroni (ossidazione/riduzione) associati alla catena polimerica. Questo processo è detto “*protonic acid doping*”. Esiste anche la possibilità di ottenere le varie forme di PANI semiossimate introducendo un agente ossidante, ma in questo caso la conducibilità è minore.

Le proprietà elettriche sono influenzate anche dal contenuto di acqua: i campioni anidri sono 5 volte meno conduttori di quelli idrati.

Oltre alla elevata conducibilità elettrica (che arriva a circa 100 S/cm) un'altra proprietà interessante della polianilina è quella di esibire diverse colorazioni quando si variano le condizioni di pH o di potenziale elettrico; il polimero ottenuto esibisce cioè elettrocromismo multiplo a seconda dello stato di ossidazione in cui si trova.

Riassumendo: sia lo stato ridotto che quello completamente ossidato, sono forme non conduttive del polimero mentre lo stato semi-ossidato protonato è quello responsabile delle conducibilità elettrica del materiale in quanto corrispondente allo stato polaronico del sistema.

La via sintetica più usata per ottenere PANI è l'ossidazione dell'anilina, sia essa per via elettrochimica che chimica. La polianilina, come pure il polipirrolo, può essere sintetizzata sotto l'azione di un agente ossidante. Nel caso della polianilina è essenziale mantenere un mezzo con pH prossimo ad 1. La PANI, come altri polimeri conduttori, può anche essere depositata elettrochimicamente sotto forma di film su elettrodi metallici o semiconduttori. La cella elettrochimica consiste di un elettrodo di lavoro (l'elettrodo sul quale il film del polimero si deposita), un contro elettrodo ed un elettrodo di riferimento. Questi elettrodi sono immersi in una soluzione contenente il monomero e l'elettrolita (anioni droganti). Il mezzo di reazione può essere acquoso od organico, a seconda della solubilità del precursore polimerico e della stabilità del prodotto.

Storicamente il polipirrolo ha tra i suoi impieghi più comuni il rivestimento anticorrosione. Il notevole interesse dell'industria verso questo tipo di applicazione ha fatto sì che la ricerca si estendesse ad altri polimeri semiconduttori. La polianilina si è recentemente affiancata come protettivo: il suo meccanismo di base è identico a quello del polipirrolo, le proprietà ossido riduttive del film fanno sì che si comporti da “elemento suicida”, ossidandosi al posto del metallo sottostante da proteggere.

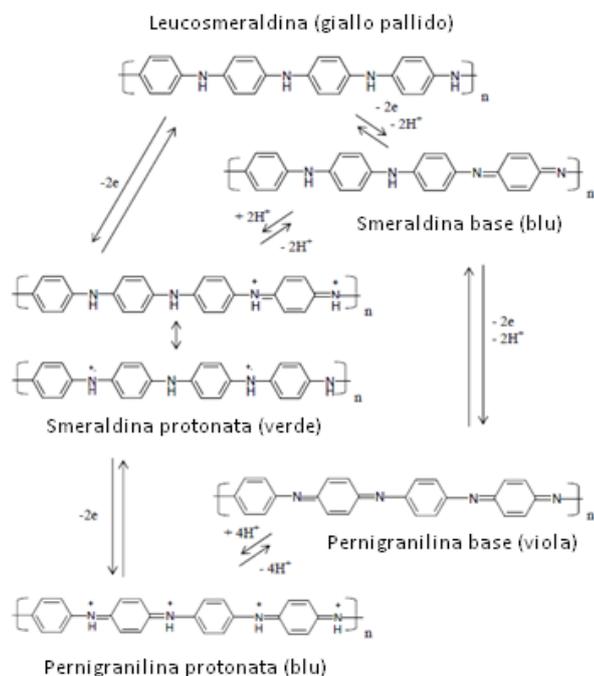


Figura 52 Ossidoriduzioni tra forme di PANI e loro colorazioni tipiche

La figura 53 mostra lo schema generale che ipotizza il meccanismo di deposizione e successiva polimerizzazione di un film di anilina su di una superficie da proteggere funzionalizzata con un primer di anilina trimetossisilano.

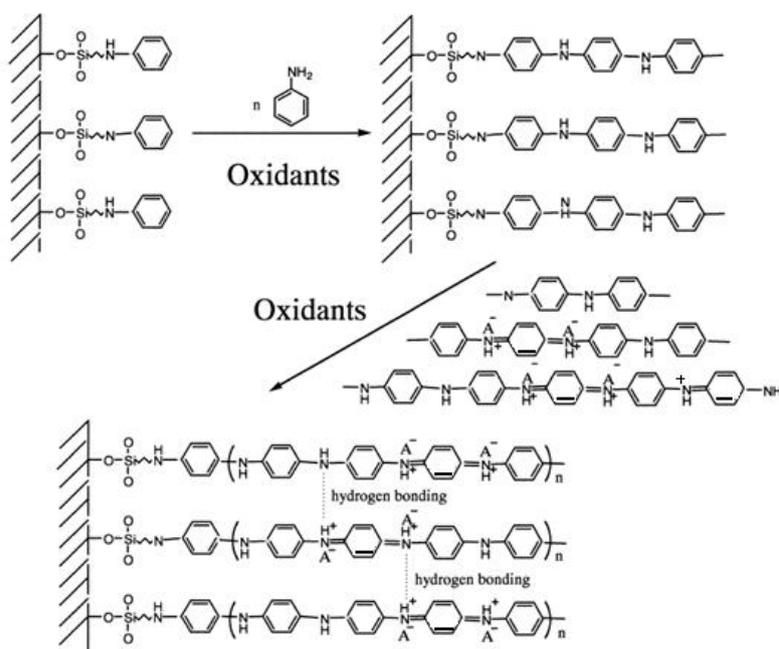


Figura 53 Schema del meccanismo di deposizione di anilina su di una superficie funzionalizzata con un primer di anilina trimetossisilano.

3.2 *Scopo del lavoro*

Nell'introduzione sono state accennate le problematiche tossicologiche correlate al largo impiego di cromo aggiunto in lega allo scopo di conferirle caratteristiche di resistenza alla corrosione. Sono stati inoltre presentati i principali meccanismi di corrosione dei metalli e le possibili strategie di protezione.

La ricerca in questo settore è indirizzata ormai da diverso tempo a trovare soluzioni alternative alla cromatura per ottenere la desiderata resistenza alla corrosione dei metalli di più largo impiego. È anche necessario però che tali nuove strategie rispondano anche ad altri requisiti, quali efficacia almeno pari alla cromatura, economicità, facilità di applicazione e, naturalmente, bassa tossicità [23].

Sebbene attualmente la protezione mediante rivestimento di organosilani sia meno efficiente della cromatura, studi che mostrino avanzamenti in questo campo vengono pubblicati continuamente. Inoltre la vasta gamma di potenziali funzionalizzazioni del silano permette di avere grande flessibilità nella progettazione sia in termini di tossicità delle molecole impiegate sia di scelta dell'opzione migliore per la singola applicazione.

Lo studio e lo sviluppo di metodi analitici in grado di caratterizzare un dato film protettivo rivestiranno dunque un ruolo di primo piano nella ricerca in questo campo. È chiaro che non basterà un'unica tecnica, ma che sarà l'insieme di più analisi a fornire una caratterizzazione completa e soddisfacente. La valutazione di serie di molecole filmogene ha oltre tutto esigenze particolari: dovendo effettuare numerosi controlli di *routine* ogni giorno saranno necessari tecniche e metodi semplici nell'interpretazione, veloci ed economici che facciano da substrato preliminare ad analisi più fini ed approfondite sui rivestimenti più promettenti.

Inserendosi in questo contesto il progetto a cui si è lavorato ha come obiettivo quello di definire un metodo relativamente rapido e riproducibile per verificare la deposizione degli organosilani, come monocomponenti o in miscela su supporti di diversi metalli e di valutare qualitativamente la polimerizzazione e le interazioni rivestimento/metallo. Questo lavoro assume quindi la connotazione di uno *screening*, le cui conclusioni possono essere usate come supporto nella valutazione della capacità dei campioni studiati di assolvere alla loro funzione.

Lo *screening* dei campioni metallici rivestiti oggetto di questo lavoro ha utilizzato inizialmente una tecnica inconsueta per la caratterizzazione di questo tipo di campioni, la spettroscopia infrarossa in trasformata di Fourier in riflessione diffusa (DRIFTS, Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy). Le varianti della spettroscopia IR classica più usate in questo campo sono infatti la spettroscopia in riflessione speculare (RAIRS, Reflectance-Absorbance InfraRed Spectroscopy) e quella in riflessione totale attenuata (ATR, Attenuated Total

Reflectance). I campioni normalmente analizzati mediante DRIFTS sono di natura totalmente diversa dalle lastrine caratterizzate in questo lavoro e quindi è stato necessario mettere a punto un metodo opportuno.

Successivamente invece, su nuove serie di campioni, si è potuto utilizzare un accessorio per RAIRS, rientrando nelle tecniche di caratterizzazione classiche. In questo caso si è potuto analizzare il rivestimento a diverse profondità, raccogliendo maggiori informazioni sul tipo di reticolazione formatasi sul metallo.

L'ultima indagine fatta riguarda uno step differente nel processo di rivestimento: non più il film già depositato, ma le soluzioni filmogene iniziali di monomero. Si tratta in questo caso di monomeri organosilanicici particolari, con una porzione organica in grado di polimerizzare a sua volta. L'intento è stato quello di verificare se in soluzione avvenisse già una oligomerizzazione, una polimerizzazione o se i monomeri non si legassero per nulla. Sarà poi interesse elettrochimico sapere quale delle tre situazioni sia favorevole ad un migliore e più compatto rivestimento.

3.3 Materiali e metodi della caratterizzazione DRIFTS

3.3.1 Metalli

I campioni analizzati si presentano come lamiere di metallo aventi dimensioni di 2cm x 4cm x 2mm (*h x l x p*). Le lamiere non sono perfettamente piane e ad occhio nudo è possibile in alcuni casi notare discromie dovute ad un rivestimento disomogeneo. I film sono infatti di per loro in gran parte trasparenti, ma talvolta assumono una colorazione giallina.

I metalli utilizzati come base da proteggere sono leghe diverse di uno stesso metallo (alluminio) o metalli differenti (tab. 2).

Tabella 2 Metalli analizzati e loro denominazioni

<i>Metallo</i>	<i>Nome commerciale</i>	<i>Composizione</i>
Leghe di alluminio serie 2	AA2xxx	Al-Cu
Leghe di alluminio serie 5	AA5xxx	Al-Mg
Leghe di alluminio serie 6	AA6xxx	Al-Mg-Si
Ferro	Acciaio al carbonio	Fe-C
Zinco	Acciaio zincato HDG	Zn-Fe-C

Le composizioni specifiche delle leghe di alluminio sono riportate in tabella 3.

Tabella 3 Composizione delle leghe di alluminio (% in peso dei metalli in lega diversi da Al)

<i>Lega</i>	<i>Si</i>	<i>Fe</i>	<i>Cu</i>	<i>Mn</i>	<i>Mg</i>	<i>Zn</i>	<i>Ti</i>	<i>Cr</i>
2024	0,15	0,25	4,67	0,63	1,34	0,02	0,06	0,01
5083	0,17	0,32	0,04	0,62	4,32	0,03	0,02	0,07
5052	0,18	0,26	0,05	0,08	2,73	0,04	<0,01	0,19
6082	0,90	0,36	0,04	0,56	1,00	0,02	0,02	0,04

L'acciaio zincato HDG (*Hot Dip Galvanized*) è un acciaio al carbonio interamente rivestito di zinco mediante immersione a caldo in un bagno di zinco fuso. Dopo l'estrazione dal bagno, lo zinco superficiale a contatto con l'ossigeno atmosferico si ossida formando ZnO che successivamente si combina con la CO₂ dell'aria per dare ZnCO₃. Il metallo su cui i polimeri aderiscono è dunque effettivamente zinco. Il processo di produzione dell'acciaio HDG gli conferisce una caratteristica irregolarità superficiale definita comunemente “a buccia d'arancia”. Sui campioni pervenuti per la caratterizzazione, oltre alla stesura del film, era stato anche preventivamente fatto un pretrattamento del metallo. Questo ha un duplice scopo: eliminare eventuali residui di grassi, polveri ed ossidi ed inoltre “attivare” la superficie metallica promuovendo la formazione di idrossidi, indispensabili per l'ancoraggio del silossano al metallo. Le lastre provenienti dal taglio della lamiera erano state quindi sgrassate con un opportuno solvente mediante ultrasuoni e successivamente sottoposte ad un pre-trattamento utilizzando soluzioni commerciali le cui caratteristiche sono riportate in tabella. Tra le varie combinazioni delle soluzioni mostrate in tabella 4 quella ottimale per alluminio ed acciaio al carbonio era risultata il semplice trattamento con Oxidite.

Tabella 4 Soluzioni usate per il pre-trattamento delle lastre metalliche

<i>Nome commerciale</i>	<i>Composizione</i>	<i>Funzione</i>	<i>Parametri di impiego</i>	<i>Potenziale metallo di utilizzo</i>
Oxidite C-8	Na ₃ BO ₃ · H ₂ O + tensioattivo non ionico	Sgrassante alcalino	30-50 g/l, 50-70 °C per 5 minuti	Tutti
Deox 2208	H ₂ SO ₄ + H ₃ PO ₃ + HF	Sgrassante acido deossidante	10-30 g/l, 20-40 °C per 3 minuti	Alluminio, zinco
Quickdet	NaOH + alchilsolfonato di sodio	Sgrassante fortemente alcalino	40-60 g/l, 40-70 °C per 5 minuti	Zinco, acciaio al carbonio

La superficie rugosa tipica dell'acciaio HDG è invece responsabile di una maggiore difficoltà a rimuovere le tracce di grasso dal metallo non trattato. Questo fatto e la necessità di idrolizzare lo strato superficiale di $ZnCO_3$ aveva reso necessario un trattamento Deox 2208 e successivamente l'utilizzo di un agente fortemente alcalino (Quickdet) per ottenere il risultato desiderato.

Le lastre così pre-trattate erano state quindi immerse in soluzioni di differenti silani (fase di adsorbimento) e successivamente fatte alla temperatura di $150 \pm 10^\circ C$ per 1 ora (fase di condensazione) così da ottenere la deposizione di un film superficiale.

3.3.2 Soluzioni di organosilani per il rivestimento

Le molecole di organosilani utilizzate per le soluzioni filmogene sono riportate in tabella 5.

Tabella 5 Monomeri di silano utilizzati per il rivestimento

<i>Sigla</i>	<i>Nome chimico</i>	<i>Formula molecolare</i>
BA	Bis-(trimetossisililpropil)-ammina	
BTSE	Bis-(trimetossisililpropil)-etano	
BSU	Bis-(trietossisililpropil)-tetrasolfuro	
BBE	1,4-bis-(trimetossisililpropil)-benzene	

<i>Sigla</i>	<i>Nome chimico</i>	<i>Formula molecolare</i>
VTAS	Viniltriacetossisilano	
PYSI	N-(3-trimetossisililpropil)-pirrolo	
IMSI	N-(3-trimetossisililpropil)-4,5-diidroimidazolo	
OSI	Otiltrimetossisilano	
U	3-ureidopropil-trimetossisilano	
G	3-glicidossipropil-trimetossisilano	

Sulle lamierine erano stati applicati sia rivestimenti omopolimerici di alcuni dei silani sopra elencati che film eteropolimerici di miscele dei medesimi silani. I campioni ricevuti per le analisi non comprendono tutte le possibili combinazioni metallo/funzionalizzazione; alcune molecole sono inadatte all'uso in linea generale (ad esempio, la soluzione di BA monocomponente forma aggregati gelatinosi inutilizzabili, mentre VTAS preso singolarmente non è filmogeno), altri

rivestimenti non sono idonei all'uso su determinati materiali (è ad esempio il caso dei rivestimenti contenenti G e U per l'alluminio).

Non entrando nel merito della preparazione delle soluzioni usate per la deposizione, si sottolinea solo che erano state provate differenti miscele di solventi e che i silani erano al 2% p/v in soluzione. Per correggere il pH era stato aggiunto acido acetico.

I rapporti e i tipi di miscele utilizzati per le lastre giunte alla caratterizzazione infrarossa sono riportati in tabella 6.

Tabella 6 Soluzioni di rivestimento e composizioni delle miscele espresse come rapporti

<i>Sigla</i>	<i>Composizione miscela</i>	<i>Solvente</i>
BAV	BA + VTAS 1:1 BA + VTAS 3:1	Acqua
BBE	monocomponente	Etanolo/acqua
BABE	BA + BBE 1:1	Etanolo/acqua
BAVBE	BA + VTAS + BBE 3:1:1	Etanolo/acqua
BTSE	monocomponente	Acqua
BATE	BA + BTSE 1:1	Acqua
BAVTE	BA + VTAS + BTSE 3:1:1	Acqua
BSU	monocomponente	Acqua
BAPO	BA + OSI 2:1	Acqua
BAVPO	BA + VTAS + OSI 3:1:1	Acqua
IMSI	monocomponente	Acqua
BAVPYSI	BA + VTAS + PYSI 3:1:1	Etanolo/acqua
BAVSU	BA + VTAS + U	Acqua
U	monocomponente	Acqua
G	monocomponente	Acqua
BEG	BBE + G 1:1	Acqua
TEG	BTSE + G 1:1	Acqua
VG	VTAS + G 1:1	Acqua
GU	G + U 1:1	Acqua

Le soluzioni di silano erano state considerate utili per l'impiego nel rivestimento dei metalli dopo un tempo di idrolisi di 3 giorni.

3.3.3 Spettroscopia DRIFT

I campioni in esame sono stati analizzati con la tecnica in riflessione diffusa (DRIFT) usando uno spettrofotometro FT-IR Perkin Elmer Spectrum One (fig. 54) equipaggiato con un accessorio per riflessione diffusa Perkin Elmer mod. 0186-2765 ed usando per il trattamento dei dati acquisiti il software Spectrum. Dove non diversamente precisato, i parametri di analisi sono i seguenti:

- Intervallo di scansione: $4000 - 450 \text{ cm}^{-1}$;
- Numero di scansioni per campione: 32;
- Background: spettro registrato posizionando nell'alloggiamento dell'accessorio la Macro Cup di acciaio vuota;
- Risoluzione spettrale: 4 cm^{-1} ;
- Regolazione degli specchi: gli specchi dell'accessorio per DRIFTS sono stati allineati in modo che il detector dello strumento rilevasse, nelle condizioni in cui veniva registrato il background, un valore di energia pari a 1150 ± 20 (unità arbitrarie del software).

Gli spettri ricavati presentano generalmente un elevato rumore di fondo, come è tipico della tecnica DRIFT impiegata. Quando indicate, le correzioni di software apportate sono: correzione della linea di base, *smoothing* e normalizzazione dello spettro a 1,0 unità di assorbanza.

Il *background* è stato registrato in un primo momento sulla Macro Cup fornita con l'accessorio DRIFT dal produttore, vuota. Nella nostra metodologia la registrazione di tale tipo di *background* sottrae l'eccessiva componente riflettente del metallo. La Macro Cup è in acciaio e consiste in un piccolo crogiolo in cui viene posta la polvere da analizzare durante l'uso della DRIFTS su polvere. Nell'analizzare i campioni in alluminio in molti casi gli spettri acquisiti con questo *background* risultavano avere uno scarso rapporto segnale/rumore di fondo, probabilmente perché il metallo di riferimento era diverso. Gli spettri sono stati quindi registrati nuovamente dopo aver acquisito il *background* su una lastrina di alluminio serie AA5052 non rivestita e fornita insieme ai campioni, ottenendo risultati sensibilmente migliori. Questo problema non si è presentato nell'analisi dei campioni di acciaio al carbonio e di acciaio zincato, per i quali è stato osservato che gli spettri registrati con *background* eseguito sulla Macro Cup o su lastrina non rivestita erano paragonabili. Compensare l'eccessiva riflessione è uno dei passi critici del metodo e riesce tanto meglio quanto più la componente riflettente del *background* è simile a quella del campione.

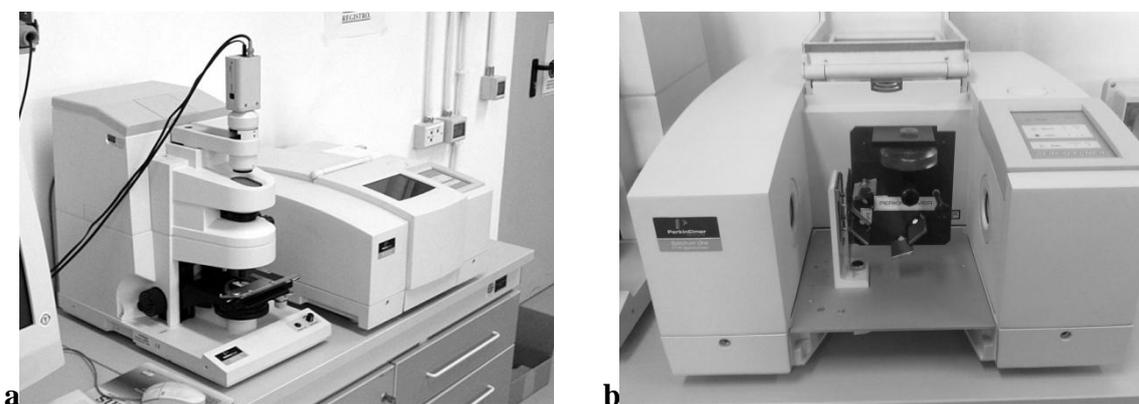


Figura 54 Spettrofotometro Perkin Elmer Spectrum One: a) banco ottico, b) con accessorio DRIFT inserito nell'apposito alloggiamento

3.4 Materiali e metodi della caratterizzazione RAIRS

Le lamierine di metallo sono in questo caso rivestite con N-(3-trimetossisililpropil)-pirrolo oppure con N-(3-trimetossisililpropil)-anilina.

Prima dell'arrivo dei campioni nel nostro laboratorio era stata effettuata la stesura del film per immersione delle lastre di alluminio nelle soluzioni dei due monomeri. La composizione di dette soluzioni è riassunta in tabella 7.

Tabella 7 Composizione delle soluzioni monometriche di partenza per il rivestimento.

Soluzione	Composizione in ml			
	Molecola di interesse	Metanolo	Acido acetico 50%	Acido acetico 10%
Anilina TMS	0.4 ml	9 ml	0.6 ml	-
Anilina	0.4 ml	9 ml	0.6 ml	-
Pirrolo TMS	0.4 ml	9 ml	-	0.6 ml
Pirrolo	0.4 ml	9 ml	-	0.6 ml

Un tempo di idrolisi di tre giorni consente ai gruppi trimetossisilanicici di interagire con gli idrossidi di superficie del metallo instaurando legami ad idrogeno. Le lamierine subiscono poi un trattamento termico a 180 °C che, provocando perdita di acqua, favorisce la polimerizzazione

I campioni si presentano quindi ancora come lamiere di metallo di circa 2x4 cm e pochi mm di spessore. L'analisi infrarossa è stata effettuata grazie ad uno spettrofotometro FTIR *SpectrumOne* Perkin-Elmer attrezzato questa volta con l'accessorio Pike VeeMAX II, per analisi RAIRS. Il *background* è stato registrato sull'apposita superficie a specchio dorato.



Figura 55 Accessorio per RAIRS VeeMAX II

Sono state registrate 64 scansioni utilizzando una risoluzione di 4 cm^{-1} . L'analisi DRIFTS è per sua natura ad angolo fisso, nella spettroscopia in riflessione-assorbimento invece gli spettri sono stati acquisiti ad angoli di incidenza diversi ovvero 30° (maggior penetrazione del raggio), 45° e 75° (minor penetrazione del raggio) con una finestra di apertura in tutti i casi di 1,5 cm di diametro. La stessa maschera è stata usata anche per il *background*. L'ampiezza del diaframma è dettata in questo caso dalle dimensioni del campione, vista la tipologia dei quali non è stato considerato necessario un *purge* in azoto.

Di seguito è riportata una tabella dei vari metalli analizzati con i due rivestimenti organosilanic.

Tabella 8 Campioni di lamierine caratterizzati tramite RAIRS

Sigla	Campione
AniTMS 6082	N-(3-trimetossisililpropil)-anilina su alluminio lega 6082
AniTMS 5083	N-(3-trimetossisililpropil)-anilina su alluminio lega 5083
AniTMS 2024	N-(3-trimetossisililpropil)-anilina su alluminio lega 2024
AniTMS 7075	N-(3-trimetossisililpropil)-anilina su alluminio lega 7075
AniTMS 1050	N-(3-trimetossisililpropil)-anilina su alluminio lega 1050
AniTMS ferro	N-(3-trimetossisililpropil)-anilina su ferro
AniTMS zinco	N-(3-trimetossisililpropil)-anilina su acciaio zincato
PyTMS 2024	N-(3-trimetossisililpropil)-pirrolo su alluminio lega 2024
PyTMS 5083	N-(3-trimetossisililpropil)-pirrolo su alluminio lega 5083
PyTMS ferro	N-(3-trimetossisililpropil)-pirrolo su ferro
PyTMS zinco	N-(3-trimetossisililpropil)-pirrolo su acciaio zincato

Le diverse leghe di alluminio si differenziano per la percentuale di impurezze presenti. La lega 1050 viene considerata come alluminio pressoché puro. La lega 5083 ha un alto contenuto di

magnesio ($\approx 4\%$), mentre la 6082 non è particolarmente ricca in magnesio ($\approx 1\%$), ma la percentuale di quest'ultimo è 1:1 con il silicio presente. La lega 2024 è ricca in rame ($\approx 4\%$) ed infine la 7075 ha un quantitativo di zinco pari al 5% circa.

I campioni di interesse sono principalmente quelli di anilinaTMS, i film di pirrolo sono più noti e studiati ed hanno oltre tutto costi decisamente maggiori.

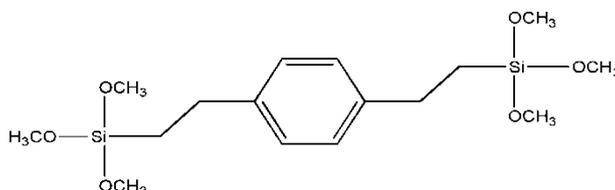
Sono inoltre state predisposte analisi per anilinaTMS e pirroloTMS su magnesio, ma il risultato scadente delle prove di corrosione ha fermato questi campioni allo *step* precedente l'osservazione in spettroscopia infrarossa.

3.5 Screening DRIFTS su alluminio

3.5.1 Rivestimenti omopolimerici di mono- e bis-silani

Poiché lo studio aveva inizialmente riguardato la deposizione di soluzioni e film omopolimerici, anche la caratterizzazione analitica ha preso in considerazione per primi i medesimi rivestimenti. Per quanto riguarda l'alluminio, alcune molecole non sono state utilizzate come monocomponente: è il caso ad esempio della bis-(trimetossisililpropil)-ammina, che pur entrando nella maggioranza delle miscele sperimentate in seguito, se posta in soluzione da sola tende a dare aggregati gelatinosi inutilizzabili per formare un film. Altre due molecole, quali il 3-ureidopropil-trimetossisilano e il glicidossipropil-trimetossisilano non sono arrivate allo *step* di caratterizzazione infrarossa perché già poco promettenti in fase di deposizione, mentre sono state sperimentate come rivestimento per acciai zincati ed acciai al carbonio. Le molecole usate per formare omopolimeri su alluminio sono quelle riportate di seguito. La lega proposta come esempio è la AA5052.

1,4-bis-(trimetossisililetil)-benzene (BBE)



Lo spettro del rivestimento di BBE è riportato in figura 56.

- 3398 cm^{-1} : stiramenti dei legami O-H dei solventi (EtOH + H₂O) e dei gruppi SiOH delle molecole di silossano idrolizzato non condensato.
- 3050 cm^{-1} e 3022 cm^{-1} : *stretching* rispettivamente asimmetrico e simmetrico dei C-H aromatici.

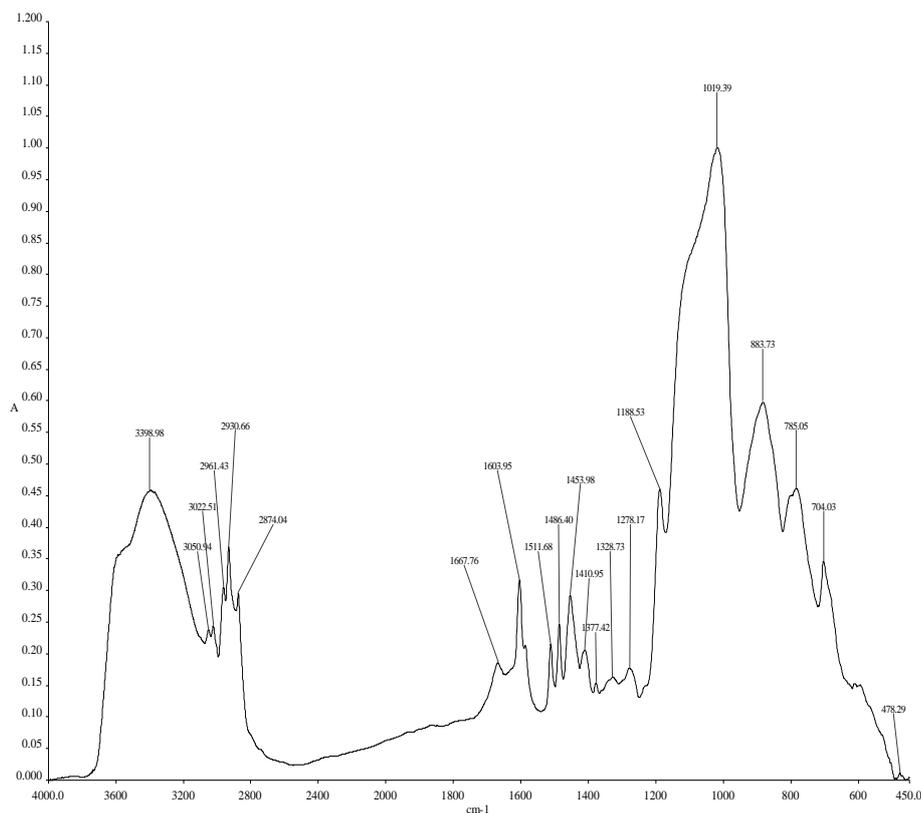
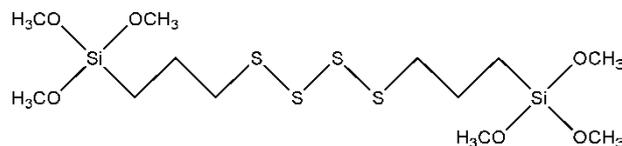


Figura 56 Spettro del rivestimento di BBE

- 2961 cm^{-1} : stiramento asimmetrico dei legami C-H dei gruppi metossilici.
- 2930 cm^{-1} : *stretching* degli altri C-H alifatici.
- 2874 cm^{-1} : stiramenti simmetrici di tutti i C-H alifatici.
- 1667 , 1603 e 1511 cm^{-1} : *stretching* C=C degli anelli aromatici.
- 1486 , 1455 , 1410 , 1377 e 1328 cm^{-1} : questi segnali sono dovuti ai *bending* dei legami C-H aromatici ed alifatici, sebbene sia difficile attribuire i singoli segnali ad un certo tipo di vibrazione.
- 1278 cm^{-1} : vibrazioni di *twisting* delle catene alifatiche in posizione 1 e 4 al benzene.
- 1188 cm^{-1} : questo segnale è dovuto al *rocking* dei legami C-H metossilici ed è un segnale caratteristico nelle funzionalizzazioni in esame. Si può ipotizzare anche un contributo da parte delle deformazioni d'anello per i nuclei aromatici.
- 1019 cm^{-1} : questo picco è solitamente il più intenso dato da questo genere di campioni ed è dovuto allo *stretching* Si-O-Si delle catene polimeriche.
- 883 cm^{-1} : questa banda data dallo *stretching* dei legami Si-OH suggerisce una buona percentuale di idrolisi del silano in soluzione, ipotesi ulteriormente convalidata dall'assenza del segnale di *stretching* dei legami Si-O-C a 1070 - 1150 cm^{-1} , che si presenta solo come una spalla.
- 785 cm^{-1} e 704 cm^{-1} : segnali di *stretching* asimmetrico e simmetrico dei legami Si-C.

Bis-(trimetossililpropil)-tetrasolfuro (BSU)



Lo spettro del rivestimento di BSU applicato su lega AA5083 è riportato in figura 57. Come si può vedere il rapporto segnale/rumore di fondo in questo caso è buono.

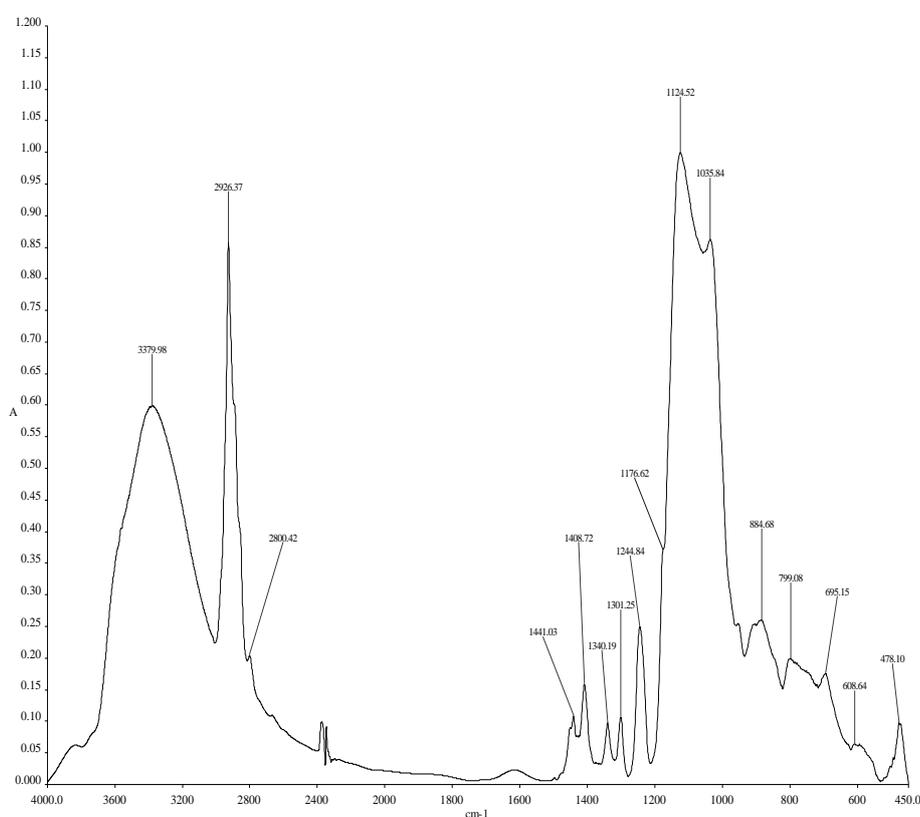
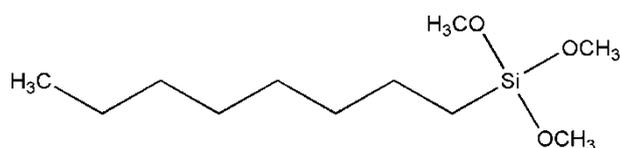


Figura 57 Spettro del rivestimento di BSU

- 3379 cm^{-1} : *stretching* dei legami O-H, in questo caso da imputare interamente ai gruppi SiOH per l'assenza della banda debole e allargata dei *bending* tipici dei legami O-H di H₂O a circa 1630 cm^{-1} .
- 2926 cm^{-1} : questo picco stretto e intenso è dovuto agli *stretching* dei legami C-H alifatici.
- 2800 cm^{-1} : spalla degli *stretching* dei legami C-H del gruppo metossilico.
- 1441 cm^{-1} : *bending* asimmetrici dei legami C-H alifatici.
- 1408 cm^{-1} : segnale del *bending* C-H relativo ai metileni direttamente legati a Si, molto caratteristico in questo tipo di campioni.

- 1340 cm^{-1} : *wagging* delle catene propiliche.
- 1301 cm^{-1} : *twisting* delle catene propiliche.
- 1244 cm^{-1} : intenso segnale di *wagging* C-H dei metileni legati a Si.
- 1124 cm^{-1} : forte segnale di *stretching* asimmetrico Si-O-C.
- 1035 cm^{-1} : intensa banda di stiramento asimmetrico Si-O-Si.
- 884 cm^{-1} : *stretching* Si-OH.
- 799 cm^{-1} : combinazione tra lo *stretching* simmetrico Si-O-C e quello asimmetrico Si-C.
- 695 cm^{-1} : *stretching* simmetrico Si-C con un contributo di *stretching* asimmetrico C-S.
- 608 cm^{-1} : *stretching* simmetrico dei legami C-S.
- 478 cm^{-1} : questo segnale di intensità pari a quella dei *bending* C-H e di forma allargata è dovuto allo *stretching* dei legami S-S.

Ottitrimetossisilano (OSI)



Lo spettro del rivestimento di OSI è riportato in figura 58.

- 3304 cm^{-1} : *stretching* dei legami O-H del solvente e dei gruppi SiOH.
- 2956 cm^{-1} , 2923 cm^{-1} e 2854 cm^{-1} : segnali stretti ed intensi dovuti, rispettivamente, allo *stretching* asimmetrico dei legami C-H alifatici dei gruppi metossilici, agli *stretching* asimmetrici dei legami C-H della catena alifatica ad otto atomi di carbonio (alla cui lunghezza è dovuta la prevalenza dell'intensità di questo picco nello spettro) ed allo *stretching* simmetrico dei legami C-H in genere.

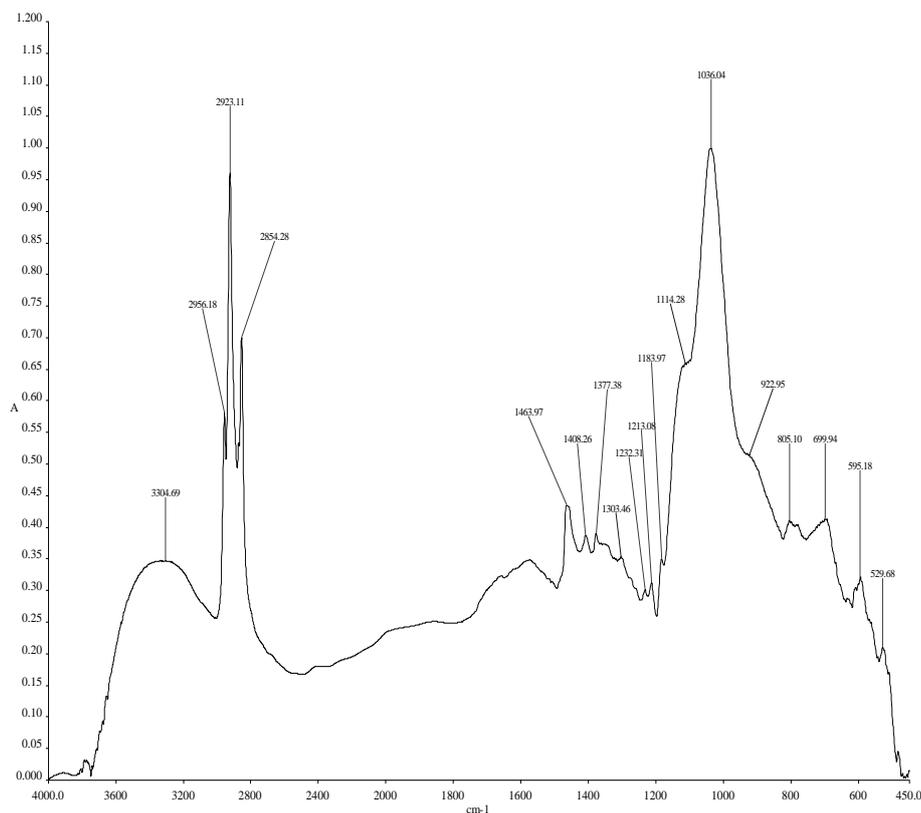
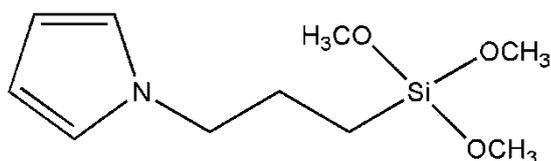


Figura 58 Spettro del rivestimento di OSI

- 1463 cm^{-1} : *bending* dei legami C-H di catena.
- 1408 cm^{-1} : tipico *bending* C-H del primo metilene legato a Si.
- 1377 cm^{-1} : *bending* simmetrico dei legami C-H metossilici.
- 1303 cm^{-1} , 1232 cm^{-1} e 1213 cm^{-1} : questi tre deboli segnali corrispondono a deformazioni dei C-H della catena alchilica normalmente non apprezzabili nella spettroscopia FT-IR, ma che in questo caso risultano visibili grazie alla lunghezza della catena.
- 1183 cm^{-1} : *rocking* C-H dei metossili. Questo segnale, più debole rispetto ad altri campioni, assume notevole interesse se considerato insieme a quello a 1114 cm^{-1} dello *stretching* Si-O-C, molto meno intenso di quello a 1036 cm^{-1} dello *stretching* Si-O-Si, a quello a 922 cm^{-1} relativo allo *stretching* Si-OH ed alla larghezza ed intensità della banda a 3304 cm^{-1} . Un'interpretazione globale di questi segnali porta alla conclusione che l'idrolisi del silano iniziale in soluzione è stata ad alta resa e che quindi il grado di polimerizzazione dei monomeri è stato presumibilmente elevato. Quest'ipotesi è suffragata anche dall'intensità del picco a 595 cm^{-1} , dovuto allo *stretching* delle catene silossaniche (Si-O-Si)_n.
- 805 cm^{-1} e 700 cm^{-1} : *stretching* rispettivamente asimmetrico e simmetrico dei legami Si-C.
- 529 cm^{-1} : debole picco di deformazione Si-O-Si.

N-(3-trimetossililpropil)-pirrolo (PYSI)



Il rivestimento di silano funzionalizzato con pirrolo possiede particolari proprietà rispetto agli altri polimeri studiati in questo lavoro. Il polipirrolo infatti ha le caratteristiche tipiche dei polimeri intrinsecamente conduttori (ICP) e gli è quindi stata dedicata un'attenzione particolare nel corso degli *screening* di corrosione effettuati presso il Dipartimento di Chimica Fisica ed Elettrochimica. Erano stati quindi preparati vari campioni applicando questo rivestimento su diverse leghe (fig. 59).

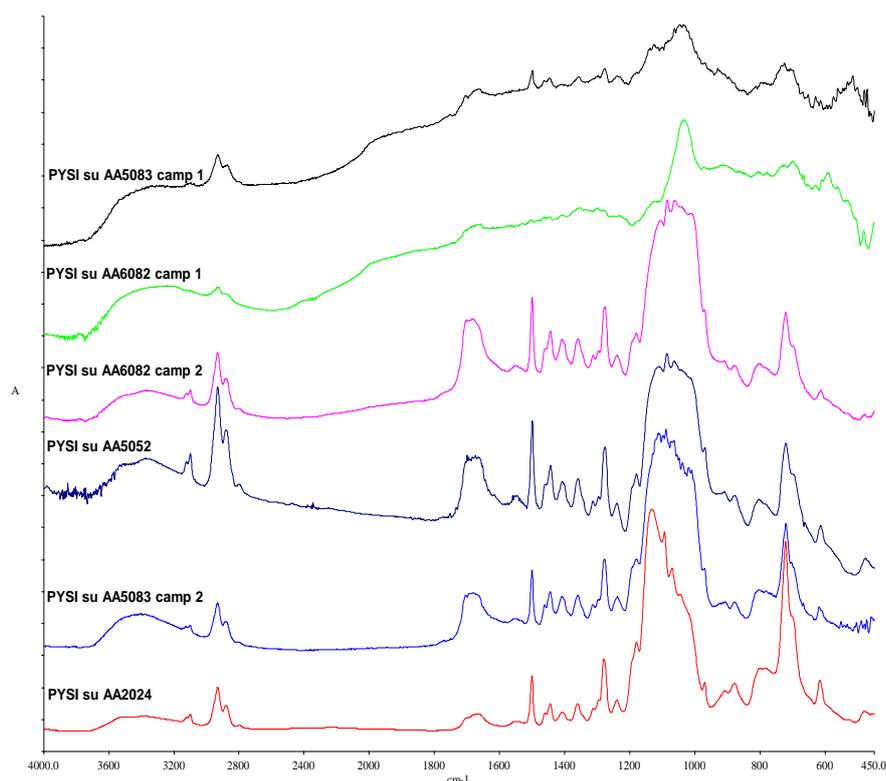


Figura59 Confronto degli spettri grezzi di PYSI applicato su leghe di alluminio diverse: AA2024, AA6082 (due campioni), AA5052 e AA5083 (due campioni)

In figura 60 viene invece riportato uno spettro dopo l'applicazione delle correzioni di software, di cui si propone l'interpretazione.

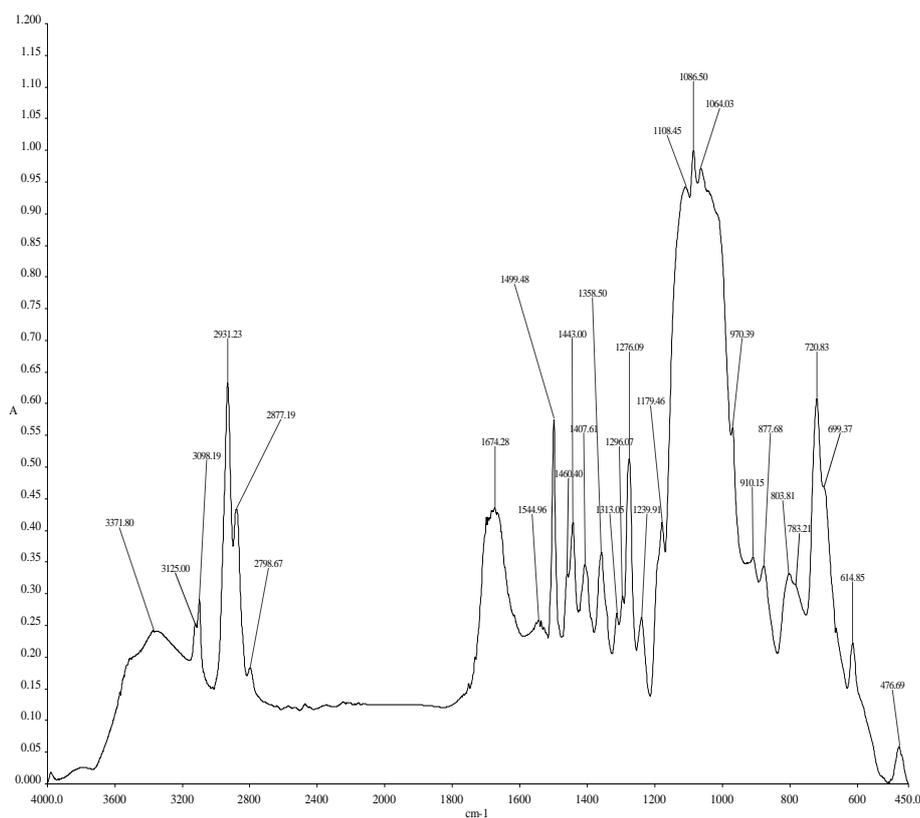
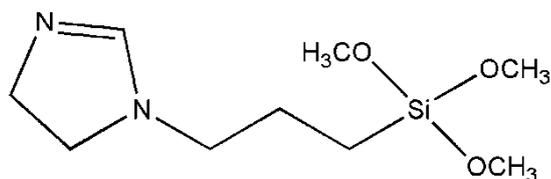


Figura 60 Spettro del rivestimento di PYSI

- 3371 cm^{-1} : *stretching* dei legami O-H; la spalla a numeri d'onda più alti potrebbe essere indice di legami a ponte di idrogeno [24], sebbene manchino altri segnali a supporto di questa teoria.
- 3125 e 3098 cm^{-1} : questo picco che presenta due massimi è dato dagli *stretching* rispettivamente asimmetrico e simmetrico dei legami C-H dell'anello pirrolico.
- 2931 , 2877 e 2798 cm^{-1} : questi tre segnali sono dati dallo *stretching* asimmetrico dei C-H metossilici, da quello dei C-H della catena propilica e dagli stiramenti simmetrici di tutti i legami C-H.
- 1674 cm^{-1} : questa banda è di non facile interpretazione, data l'assenza di gruppi carbonilici nella molecola. In letteratura [24] è stata attribuita a molecole di H₂O intrappolate all'interno del *layer* di polimero in formazione durante la fase di adsorbimento e non eliminate in seguito al trattamento termico. È possibile in questo caso che ci sia anche un contributo dovuto all'acido acetico.
- Tra 1600 cm^{-1} e 1400 cm^{-1} : sistema di bande strette e affilate tipiche delle deformazioni dell'anello pirrolico.
- 1544 cm^{-1} : debole segnale dato dalle vibrazioni nel piano dei legami C=C e C=N dell'anello; un altro segnale, più intenso, dovuto alle stesse vibrazioni è visibile a 1460 cm^{-1} .
- 1499 cm^{-1} : *stretching* dei legami C=C pirrolici.
- 1443 cm^{-1} : deformazione C-H caratteristica del gruppo N-metilenico.
- 1407 cm^{-1} : *bending* caratteristico del legame C-H del metilene direttamente legato a Si, già osservato negli spettri precedenti.

- 1358 cm^{-1} e 1239 cm^{-1} : *bending* dei legami C-H delle catene propiliche (asimmetrico e simmetrico rispettivamente).
- 1276 cm^{-1} : banda di media intensità dello *stretching* C-N; il segnale presenta due spalle affilate a 1313 cm^{-1} e 1296 cm^{-1} dovute al *wagging* delle catene propiliche in conformazione all-trans [24].
- 1179 cm^{-1} : *rocking* C-H dei gruppi metossilici.
- Tra 1150 cm^{-1} e 1050 cm^{-1} : queste bande appartengono ad un sistema Si-O più complesso di quello osservato nei casi precedenti; qui infatti sono riconoscibili tre segnali a 1108 cm^{-1} , 1086 cm^{-1} e 1064 cm^{-1} . La letteratura [24] riporta come spiegazione per la banda a 1086 cm^{-1} la formazione di sistemi ciclici di silossani ad almeno quattro termini, derivanti da un *cross-linking* favorito dalla particolare conformazione di questo polimero; a questa stessa frequenza si trova anche un assorbimento tra la media e la forte intensità tipico dei pirroli N-sostituiti, dato dalla deformazione degli atomi di idrogeno adiacenti. A 1108 cm^{-1} e 1064 cm^{-1} si osservano invece le bande degli *stretching* Si-O-C e Si-O-Si rispettivamente, che in questo caso però tendono ad avvicinarsi tra loro e risultano quindi simili a spalle della banda centrale.
- 970 cm^{-1} : segnale del *wagging* nel piano dell'anello pirrolico.
- 910 cm^{-1} : questo segnale è caratteristico di questo sistema ed è dovuto ad oligomeri di pirrolo concatenati con legami α - α' [24] ma non evoluti nel sistema polimerico prima descritto; probabilmente al segnale contribuisce anche lo *stretching* Si-OH.
- 877 cm^{-1} : *stretching* scheletrici associati alle catene propiliche, associati alla conformazione all-trans.
- Circa 790 cm^{-1} : è riconoscibile una banda con due massimi, di cui il primo a 803 cm^{-1} ed il secondo a 783 cm^{-1} , dovuti rispettivamente allo *stretching* simmetrico dei legami Si-O-C ed a quello asimmetrico dei legami Si-C.
- 720 cm^{-1} : questo segnale intenso ed affilato è dato dalle deformazioni fuori piano dei legami CH=CH dell'anello, e la sua forma ed intensità sono caratteristiche di questo polimero.
- 699 cm^{-1} : *stretching* simmetrico dei legami Si-C.
- 614 cm^{-1} : deformazione fuori piano dell'anello pirrolico; la sua forma scodata suggerisce che il segnale principale copra la banda di polimerizzazione data dallo *stretching* dei legami (Si-O-Si)_n.
- 476 cm^{-1} : debole picco probabilmente dato dagli *stretching* simmetrici dei legami Si-O-Si, solitamente coperti da altri segnali ma qui sottolineati ed amplificati dalla reticolazione in silossani ciclici.

1-(3-trimetossililpropil)-4,5-diidroimidazolo (IMSI)



L'imidazolo è un sostituito della catena propilica strutturalmente molto simile al pirrolo, essendo come quest'ultimo un eterociclo azotato a cinque termini che però ha due atomi di azoto in posizione 1,3 anziché uno solo. Lo spettro di IMSI presenta quindi varie affinità con quello di PYSI, data la somiglianza tra i due sistemi ciclici; sono perciò interessanti alcuni paralleli tra i due spettri, che saranno evidenziati nel corso dell'attribuzione dei segnali. Per conferire maggior chiarezza a questo approccio interpretativo, si riporta in figura 61 un confronto tra gli spettri grezzi dei due omopolimeri. Le differenze in termini sia spettroscopici che di *performance* dei due polimeri sono tuttavia molte, tanto più che IMSI in realtà contiene un ciclo diidroimidazolico, in cui è stato saturato il doppio legame in 3,4 con conseguente perdita dell'aromaticità del ciclo e quindi della capacità elettroconduttiva; può essere quindi interessante analizzare lo spettro di IMSI tenendo conto non solo delle somiglianze, ma anche (e forse ancor più) delle differenze con lo spettro di PYSI.

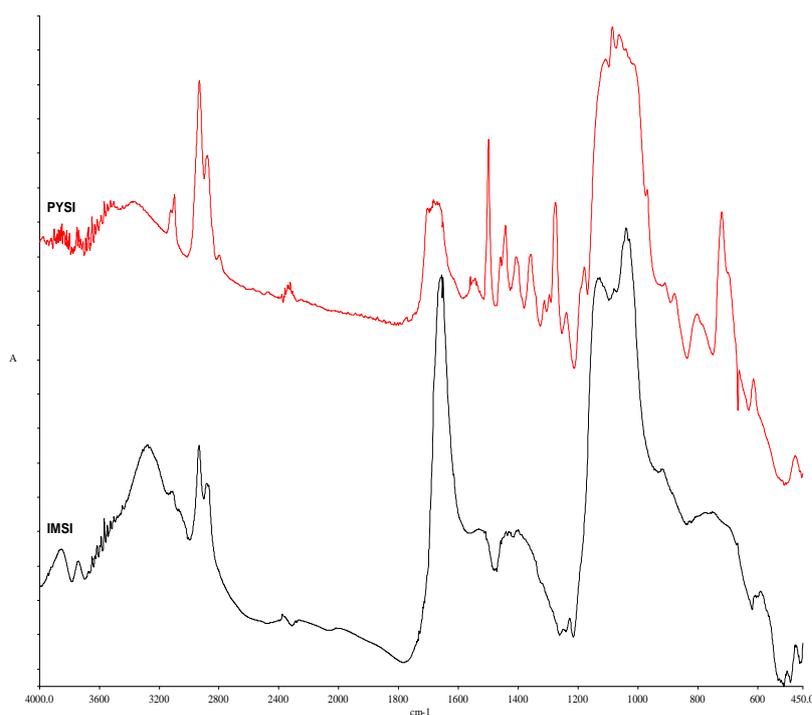


Figura 61 Confronto degli spettri grezzi di IMSI e PYSI

In figura 62 è invece riportato lo spettro di IMSI a cui sono state applicate le correzioni di software, usato come base per le attribuzioni dei segnali.

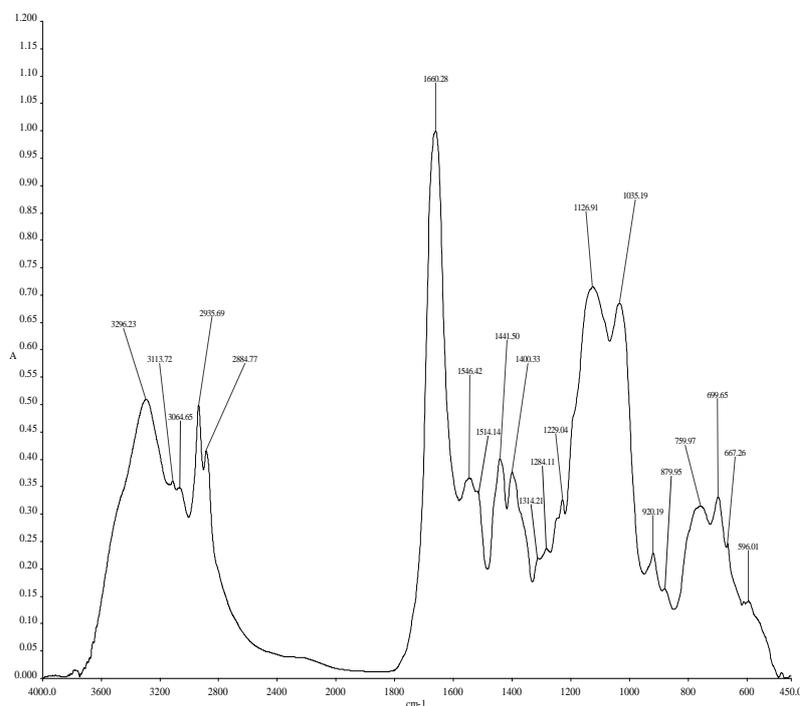


Figura 62 Spettro del rivestimento di IMSI

- 3296 cm^{-1} : *stretching* dei legami O-H.
- 3113 cm^{-1} e 3064 cm^{-1} : stiramenti rispettivamente asimmetrico e simmetrico dei legami C-H relativi al carbonio ibridato sp² del ciclo diidroimidazolico.
- 2935 cm^{-1} e 2884 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico dei restanti legami C-H.
- 1660 cm^{-1} : questo segnale rappresenta il primo punto di interessante confronto tra IMSI e PYSI. Nel caso relativo a quest'ultimo infatti compariva una banda media e allargata, circa alla stessa lunghezza d'onda, che è stata imputata all'acqua intrappolata nel *layer* polimerico e a possibili residui di dopante che davano *stretching* C=O; in questo caso, però, il contributo di questi due soli segnali sembra improbabile, poiché la banda è stretta, ben definita e di grande intensità, al punto che risulta essere il segnale più intenso nello spettro. La mancata aromaticità del ciclo diidroimidazolico cambia le caratteristiche energetiche del legame N=C-N rispetto a quelle del ciclo pirrolico, causando un forte assorbimento di *stretching* asimmetrico del sistema, tipico delle amidine; in un imidazolo, lo stesso sistema assorbirebbe a frequenze intorno ai 1530 cm^{-1} .
- 1546 cm^{-1} : banda media data dallo *stretching* simmetrico del sistema amidinico N-C=N.
- 1518 cm^{-1} : *bending* dei legami C-H del carbonio amidinico.
- 1441 cm^{-1} e 1400 cm^{-1} : *bending*, rispettivamente asimmetrico e simmetrico, dei legami C-H.
- 1312 cm^{-1} e 1283 cm^{-1} : questi picchi deboli e poco risolti sono da imputare,

analogamente a quanto già visto per PYSI, ai *wagging* delle catene propiliche in configurazione all-trans.

- 1229 cm^{-1} : picco di *wagging* dei gruppi metilenici direttamente legati a Si.
- 1126 cm^{-1} : *stretching* dei legami Si-O-C.
- 1035 cm^{-1} : stiramento dei legami Si-O-Si.
- 920 cm^{-1} : stiramento dei legami Si-OH.
- 877 cm^{-1} : questo segnale, visibile anche nello spettro di PYSI, lo *stretching* della catena, tipico ancora una volta della conformazione all-trans. Questo picco può essere quindi un secondo punto di confronto tra i due spettri, il che suggerisce che questi sistemi ciclici distorcano la struttura polimerica, obbligandola ad assumere una determinata conformazione che permetta ai cicli di trovarsi in posizioni di minor tensione d'anello.
- Sistema tra 650 cm^{-1} e 800 cm^{-1} : questa regione rappresenta un altro interessante punto di confronto tra IMSI e PYSI. In PYSI compariva infatti un segnale di grande intensità a 720 cm^{-1} dato dalla deformazione fuori piano del sistema (a geometria trigonale planare) CH=CH appartenente all'anello. Nella molecola di IMSI questo doppio legame è stato idrogenato, e quindi il picco correlato non compare. Si possono invece osservare il segnale a 760 cm^{-1} dovuto allo *stretching* asimmetrico Si-C e quello a 699 cm^{-1} dovuto allo stiramento simmetrico dello stesso sistema.
- 667 cm^{-1} : questo picco è un tipico segnale riferibile alla CO_2 adsorbita sulla lastrina, che come si vedrà è molto più evidente sulle lastrine di acciaio zincato a causa della maggiore rugosità superficiale.
- 596 cm^{-1} : questo debole segnale di *stretching* $(\text{SiOSi})_n$ suggerisce la polimerizzazione silossanica.

3.5.2 Rivestimenti eteropolimerici

In un secondo approccio sono state caratterizzate lamiere rivestite con miscele dei vari silani fin qui trattati. Come già spiegato in precedenza, sono disponibili in commercio miscele di rivestimento per metalli che fungono non solo da agenti anticorrosione, ma anche da promotori di adesione per vernici, sviluppati a partire da una miscela di bis-(trimetossisililpropil)-ammina (nota anche come bis-amminosilano) e viniltriacetossisilano (BAV). Lo studio di questa composizione è stato approfondito e sono state preparate miscele, oltre che nel rapporto 1:1, anche in rapporto 3:1. Basandosi su questo esempio nonché sulla letteratura disponibile [25], si è ritenuto importante valutare le *performance* anche di altre miscele dei prodotti succitati. Il principio su cui ci si basa è che la combinazione di più agenti protettivi può avere un effetto protettivo sinergico. I motivi di questa sinergia possono essere molti; nel caso più semplice, due agenti in miscela formano un film più compatto e quindi di più difficile penetrazione (per intercalazione delle catene di uno dei due omopolimeri negli interstizi lasciati dall'altro e successivo *cross-linking*). Le caratteristiche dell'eteropolimero possono anche essere diverse da

quelle dei due omopolimeri, come nel caso spiegato in precedenza della miscela BAV. Infine, si può avere sinergia per miscelazione di agenti con diversi meccanismi protettivi (ad esempio uno a resistenza passiva e un ECP).

Sono state preparate miscele binarie e ternarie. Tutte le miscele analizzate contengono BA e tutte le miscele ternarie contengono anche VTAS (quindi si può dire, analogamente, che contengono BAV). Come però già accennato, BA posto da solo in soluzione tende a dare aggregati gelatinosi inutilizzabili, mentre la molecola di VTAS è inadatta all'uso come monocomponente in quanto troppo reattiva e non filmogena. In analisi spettroscopica, questo causa un problema poiché impedisce di effettuare un confronto tra gli spettri delle miscele e quelli dei singoli componenti. A titolo di esempio viene riportato lo spettro di una miscela binaria e di una ternaria.

Miscela binaria bis-amminosilano + ottiltrimetossisilano (BAPO)

In figura 63 è riportato un confronto tra lo spettro della miscela BAPO in proporzione 2:1 e quello del suo unico componente analizzato, OSI.

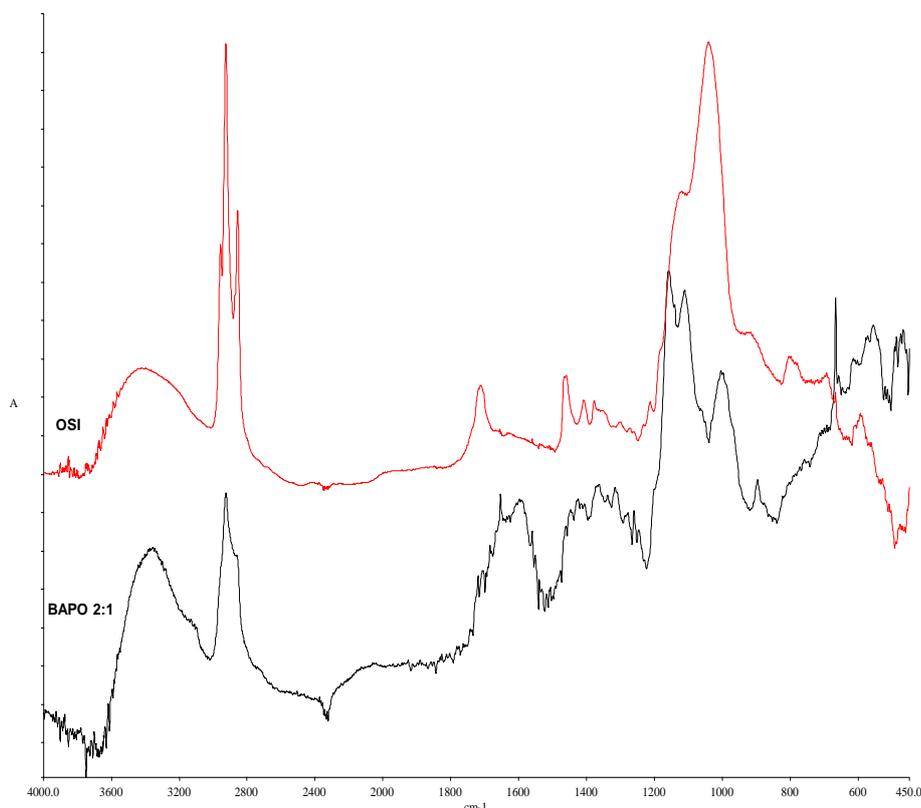


Figura 63 Confronto tra gli spettri della miscela BAPO in proporzione 2:1 e del suo componente OSI

Come si può vedere in figura, lo spettro della miscela presenta elevato rumore di fondo ed i segnali, soprattutto nella regione 1800-1200 cm⁻¹, sono molto allargati e non risolti. È quindi

difficile identificare bande chiaramente attribuibili ad uno o all'altro dei singoli componenti, difficoltà accentuata dalla mancanza dello spettro di BA singolo. Si può comunque dire che il segnale degli *stretching* C-H alifatici a 2800-3000 cm^{-1} presenta grande intensità dovuta probabilmente alla presenza delle lunghe catene ottiliche. Inoltre si può osservare una spalla molto netta verso le frequenze inferiori che riflette quello che, nello spettro del singolo componente OSI, è invece un picco ben risolto relativo agli stiramenti simmetrici dei legami. L'alto rumore di fondo della regione dei *bending* C-H rende impossibile effettuare un confronto accurato. Il sistema del silicio, al contrario, presenta un andamento nettamente dissimile nei due spettri: nella miscela si può osservare una morfologia in qualche modo analoga a quella già vista nel caso di BATE, ma con una migliore risoluzione dei due massimi della banda a circa 1150-1200 cm^{-1} ed un'intensità molto più importante del segnale a circa 1000 cm^{-1} che, come già detto in precedenza, in letteratura è attribuito ad un *rocking* metilico normalmente invisibile a causa del carattere predominante del sistema Si-O-Si. A circa 870 cm^{-1} si può vedere un picco di media intensità, affilato e ben risolto, attribuibile agli *stretching* Si-OH. Al di sotto di questa frequenza, non è più possibile effettuare confronti accurati a causa dell'eccessivo rumore di fondo nello spettro della miscela.

Miscela ternaria di Bis-(trimetossisililpropil)-ammina + Viniltriacetossisilano + Ottiltrimetossisilano

Tutti gli eteropolimeri ternari che sono stati analizzati nel corso di questo lavoro erano composti dalla miscela BAV in proporzione 3:1 e da un terzo componente aggiunto in rapporto 1:1 con VTAS. Gli spettri delle miscele ternarie, quando posti a confronto con quello di BAV 3:1 e quello del terzo componente, mostrano spesso una forte somiglianza con lo spettro di BAV, mentre molti segnali del terzo componente sono difficilmente distinguibili. Fa eccezione la miscela BAVPO.

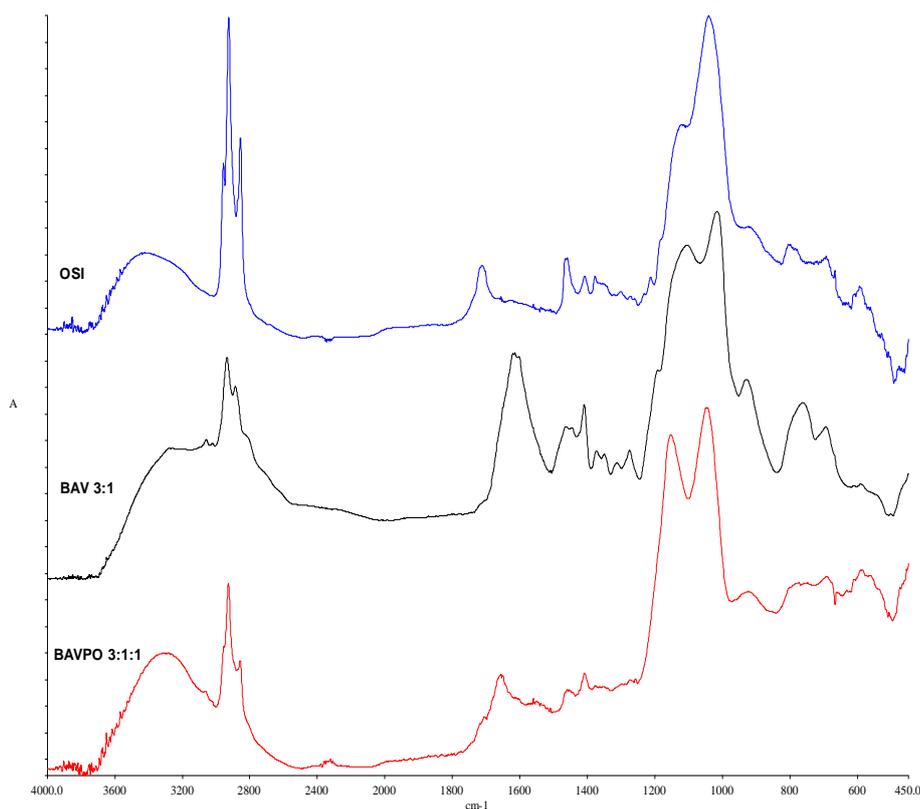


Figura 64 Confronto dello spettro della miscela ternaria BAVPO 3:1:1 con quelli dei componenti BAV 3:1 e OSI

In questo caso lo spettro della miscela ternaria è molto rumoroso. Mostra una certa sovrapposibilità con lo spettro di OSI; rimangono facilmente individuabili i segnali dovuti allo stiramento dei C-H a 2932 cm^{-1} e 2867 cm^{-1} e quelli attribuiti alle relative deformazioni a 1409 cm^{-1} (*bending* del metilene legato a Si) e 1384 cm^{-1} . Il picco a circa $1650\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ è un segnale additivo tra lo *stretching* C=O dell'addotto amidico e il *bending* O-H dell'umidità, che determina allargamento di banda.

Non sempre i campioni di alluminio hanno dato spettri che mostrassero segnali univocamente e sicuramente riconducibili ad una precisa molecola. Nel caso degli omopolimeri generalmente questo problema non si verifica e si trovano sempre uno o più segnali caratteristici dei gruppi funzionali propri del silossano, così che si è in grado non solo di riconoscere la presenza di una componente organica sulla superficie del metallo, ma anche di distinguere tra loro diverse funzionalizzazioni. Un'eccezione in questo caso è data da OSI: questa molecola presenta solo segnali comuni ad altri monomeri, dati dalle vibrazioni del sistema trimetossisilano e dei C-H della catena. È vero che l'intensità di questi ultimi segnali è sensibilmente maggiore rispetto al caso in cui essi siano dovuti a catene, ma i limiti insiti nella tecnica utilizzata sconsigliano di trarre solo da questa informazione una conclusione sull'identità di un eventuale campione incognito.

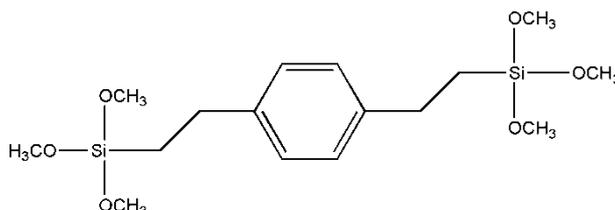
Per quanto riguarda le miscele, il problema è più complesso ancora. Nelle miscele ternarie non è mai possibile trovare segnali realmente identificativi dell'eteropolimero, in quanto i segnali del terzo componente della miscela (due essendo sempre BA e VTAS in rapporto 3:1) vengono coperti dalle bande di BAV (è il caso degli *stretching* C=C a circa 1600 cm⁻¹ in BAVBE) oppure sono sovrapposti con altri segnali, per esempio sistemi del silicio e l'attribuzione si fa quindi incerta, specie qualora ci si trovasse a lavorare con un campione di natura incognita.

3.6 Screening DRIFTS su acciaio zincato

3.6.1 Rivestimenti omopolimerici di mono- e bis-silani

Come già accaduto studiando i rivestimenti da applicare all'alluminio, anche nel caso dell'acciaio zincato (di seguito “zinco”) il primo approccio è stato mirato all'uso di singoli organosilani per formare i polimeri protettivi. Alcuni di questi rivestimenti sono gli stessi impiegati sull'alluminio, pertanto la loro trattazione sarà più schematica di quanto fatto in precedenza. A questi rivestimenti omopolimerici si vanno ad aggiungere il glicidossipropil-trimetossisilano (G) ed il 3-ureidopropil-trimetossisilano (U), che verranno invece discussi nel dettaglio.

1,4-bis-(trimetossisililetil)-benzene (BBE)



Lo spettro del rivestimento di BBE applicato su zinco è riportato in figura 65.

- 3400 cm^{-1} : *stretching* O-H, con spalla a 3589 cm^{-1} dei legami a ponte di idrogeno.
- 3051 cm^{-1} e 3021 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico dei legami C-H aromatici.
- 2959 cm^{-1} , 2929 cm^{-1} e 2872 cm^{-1} : *stretching* dei legami C-H, rispettivamente asimmetrici dei metossili, asimmetrici delle catene e simmetrici di entrambi i precedenti.
- 1603 cm^{-1} : *stretching* legami C=C aromatici.
- 1482 cm^{-1} , 1454 cm^{-1} , 1437 cm^{-1} , 1412 cm^{-1} : segnali poco risolti, imputabili genericamente alle deformazioni dei C-H sia alifatici che aromatici.
- 1187 cm^{-1} : *rocking* dei legami C-H metossilici.
- 1114 cm^{-1} : *stretching* Si-O-C.
- 1042 cm^{-1} : *stretching* Si-O-Si.
- 887 cm^{-1} : *stretching* dei legami Si-OH.
- 787 cm^{-1} e 690 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico Si-C.

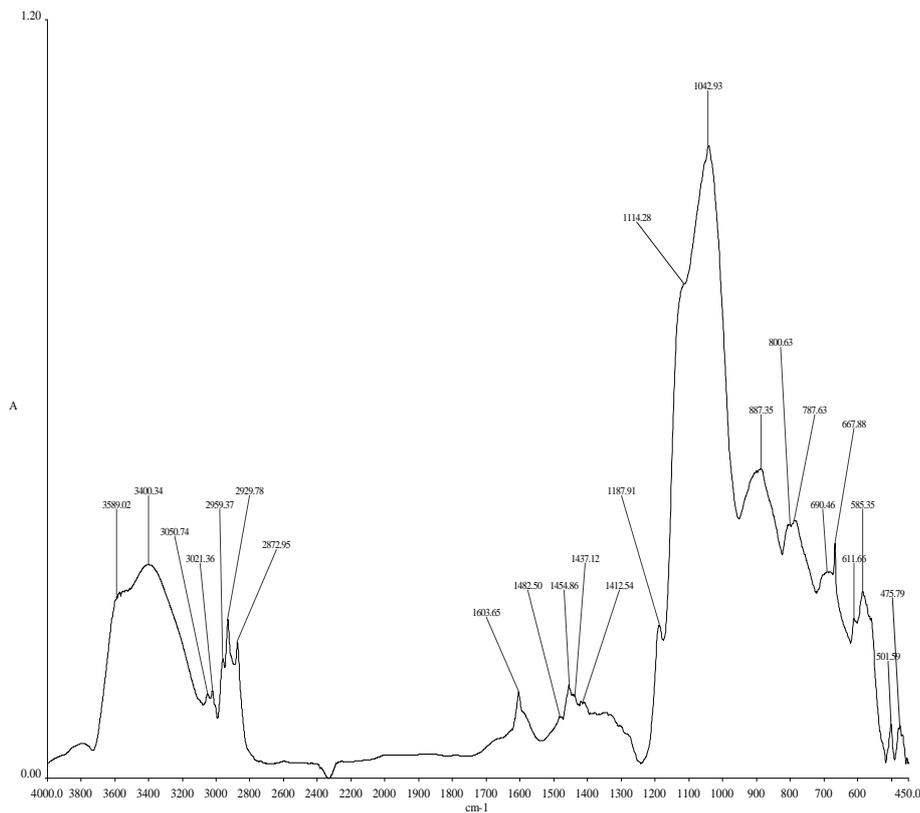
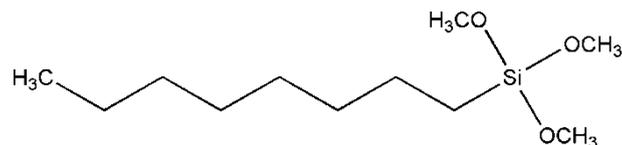


Figura 65 Spettro del rivestimento di BBE

- 667 cm^{-1} : segnale di deformazione della CO_2 . Questo segnale, che era solitamente appena visibile nel caso dell'alluminio, è spesso evidente invece nei campioni di zinco, probabilmente poiché la superficie più irregolare dello zinco ed in un certo qual modo più porosa adsorbe meglio la CO_2 atmosferica.
- 611 cm^{-1} e 585 cm^{-1} : segnale delle lunghe catene polisilossaniche $(\text{SiOSi})_n$.
- 501 cm^{-1} e 474 cm^{-1} : altri due segnali tipici dei campioni di zinco, sono dovuti allo *stretching* dei legami Zn-O dello strato superficiale di metallo ossidato.

Ottitrimetilsilano (OSI)



Lo spettro dato dal rivestimento di OSI su zinco è riportato in figura 66.

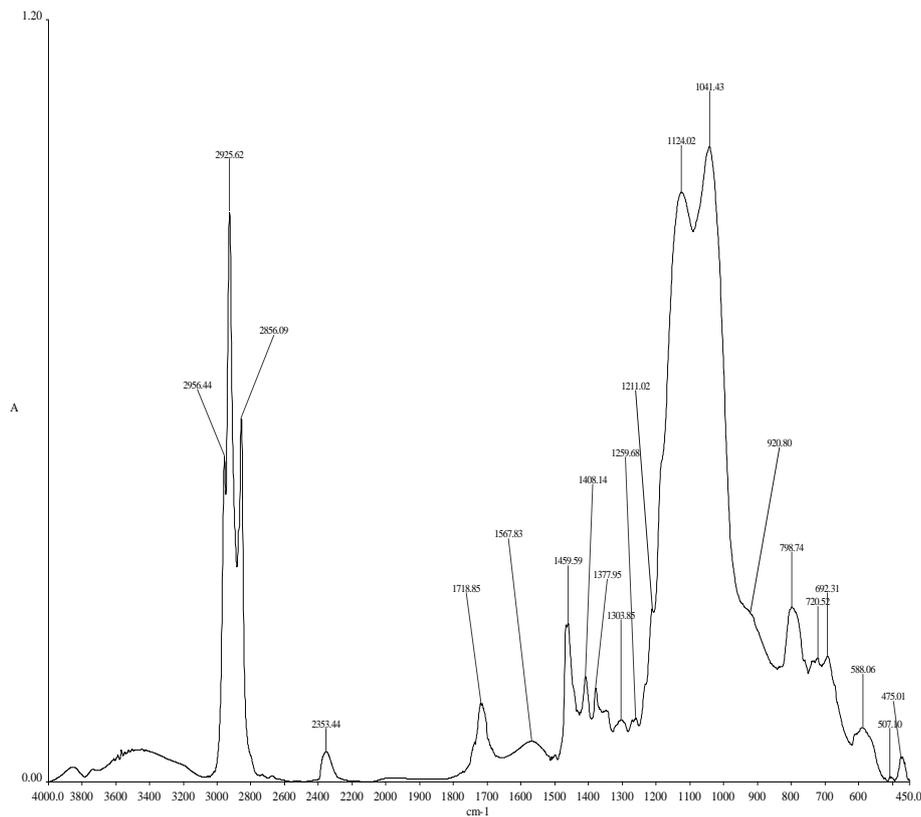
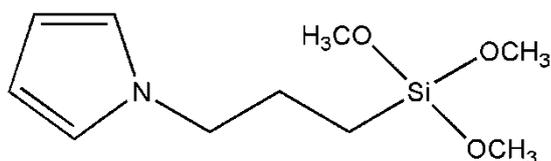


Figura 66 Spettro del rivestimento di OSI

- 2956 cm^{-1} , 2925 cm^{-1} , 2856 cm^{-1} : *stretching* dei legami C-H.
- 2351 cm^{-1} e 1718 cm^{-1} : segnali di *stretching* della CO_2 atmosferica.
- 1567 cm^{-1} : *bending* legami O-H dell'umidità atmosferica.
- 1459 cm^{-1} : *bending* asimmetrici dei legami C-H delle catene ottiliche.
- 1408 cm^{-1} : *bending* caratteristico del primo metilene legato a Si.
- 1377 cm^{-1} : *bending* simmetrici dei legami C-H di catena.
- 1303 cm^{-1} e 1259 cm^{-1} : segnali, normalmente invisibili nell'IR, relativi a deformazioni delle lunghe catene ottiliche.
- 1211 cm^{-1} : *rocking* dei C-H metossilici.
- 1124 cm^{-1} : *stretching* Si-O-C.
- 1041 cm^{-1} : *stretching* Si-O-Si.
- 920 cm^{-1} : *stretching* Si-OH.
- 798 cm^{-1} e 692 cm^{-1} *stretching* asimmetrico Si-C.
- 588 cm^{-1} : segnale delle catene polisilossaniche $(\text{SiOSi})_n$.
- 507 cm^{-1} e 475 cm^{-1} : *stretching* Zn-O.

N-(3-trimetossilpropil)-pirrolo (PYSI)



Lo spettro del rivestimento di PYSI su zinco è visibile in figura 67.

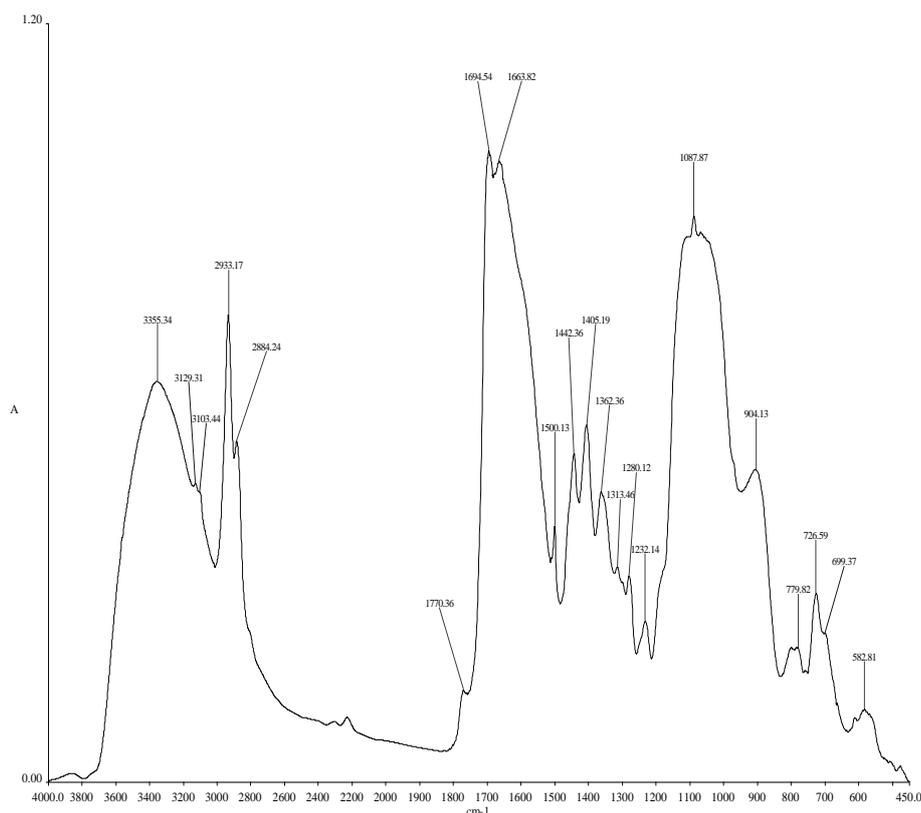
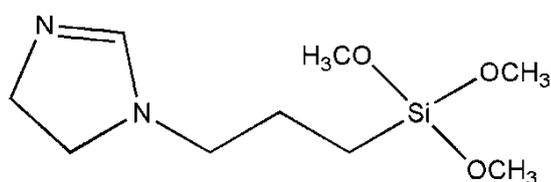


Figura 67 Spettro del rivestimento di PYSI

- 3355 cm^{-1} : *stretching* dei legami O-H.
- 3129 cm^{-1} e 3103 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico dei legami C-H aromatici del pirrolo.
- 2933 cm^{-1} e 2884 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico dei C-H alifatici.
- 1770 cm^{-1} : il debole picco è dovuto allo *stretching* C=O dell'acido acetico usato come dopante.
- 1694 cm^{-1} e 1663 cm^{-1} : il picco sdoppiato, predominante nello spettro, è dovuto a vari contributi: la banda larga a 3355 cm^{-1} suggerisce la presenza di umidità che dà *bending* dei legami O-H, il cui segnale è a questa lunghezza d'onda. Altro fattore è la presenza di carbonili dell'acido acetico in forma dimerizzata oppure come ione, forme che assorbono a numeri d'onda inferiori rispetto all'acido monomero. Inoltre, osservando la morfologia del picco, si nota un allargamento verso i 1550 cm^{-1} che suggerisce la presenza del segnale di *stretching* C=N, coperto dalla banda complessiva.

- 1500 cm^{-1} : vibrazioni nel piano dei legami C=C e C=N dell'anello.
- 1442 cm^{-1} : deformazione dei legami C-H del gruppo N-metilenico.
- 1405 cm^{-1} : *bending* dei legami C-H dei gruppi metilenici legati a Si.
- 1362 cm^{-1} e 1232 cm^{-1} : *bending* asimmetrico e simmetrico dei gruppi C-H propilici.
- 1313 cm^{-1} e 1280 cm^{-1} : *wagging* delle catene propiliche in conformazione all-trans [24].
- 1087 cm^{-1} : la forma della banda, caratteristica per i polimeri di pirrolo suggerisce la presenza di *stretching* Si-O-C (prima spalla), silossani ciclici ad almeno 4 termini (picco centrale) e *stretching* Si-O-Si (seconda spalla).
- 904 cm^{-1} : oligomeri di pirrolo in cui gli anelli sono uniti da legami α - α' .
- 779 cm^{-1} e 699 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico Si-C.
- 726 cm^{-1} : deformazione fuori piano del sistema planare CH=CH dell'anello.
- 582 cm^{-1} : segnale delle catene polisilossaniche (SiOSi)_n.

1-(3-trimetossilpropil)-4,5-diidroimidazolo (IMSI)



La lastrina di zinco rivestita con IMSI ha dato lo spettro mostrato in figura 68.

- 3392 cm^{-1} : *stretching* dei legami O-H.
- 3133 cm^{-1} e 3056 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico dei legami C-H relativi al carbonio ibridato sp^2 del ciclo diidroimidazolico.
- 2928 cm^{-1} e 2879 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico dei legami C-H alifatici.
- 2222 cm^{-1} : questo picco inatteso si è ipotizzato possa esser dovuto alla presenza di legami Si-H, di cui rappresenterebbe lo *stretching*; l'ipotesi è avvalorata dalla larga banda con un picco a 956 cm^{-1} , indice del *bending* Si-H, e soprattutto dall'intenso picco a 566 cm^{-1} , dato dai *rocking* Si-H. Quest'ultimo picco è alla frequenza tipica dei gruppi R-SiH₃; il motivo per cui si sia avuta questa riduzione tuttavia non è chiaro, ed è probabilmente legato ai pre-trattamenti subiti dal campione.
- 1619 cm^{-1} : questo picco è dato dallo *stretching* asimmetrico N=C-N amidinico, che emerge grazie alla mancata aromaticità del ciclo diidroimidazolico (cfr. par. 9.2.5); la spalla a 1655 cm^{-1} è dovuta agli *stretching* C=O di residui di acido acetico, mentre quella a 1591 cm^{-1} allo *stretching* simmetrico amidinico.
- 1487 cm^{-1} : questo picco, a prima vista di nessuna importanza, è in realtà di intensità medio-forte, se considerato in relazione alla linea di base; il segnale deriva dal *bending* C-H relativo al carbonio amidinico.

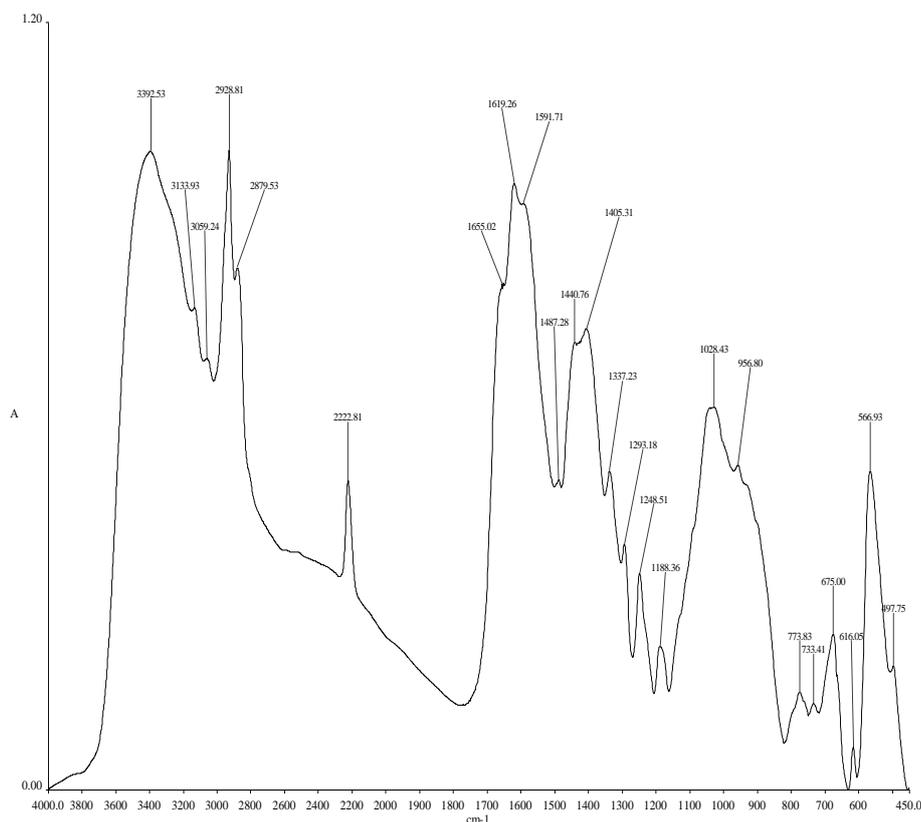
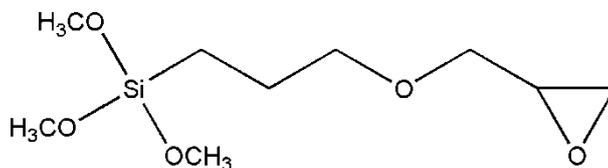


Figura 68 Spettro del rivestimento di IMSI

- 1440 cm^{-1} e 1405 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico dei legami C-H propilici.
- 1337 cm^{-1} e 1293 cm^{-1} : questi due segnali sono da imputare alle deformazioni (rispettivamente *bending* e *wagging*) delle catene propiliche bloccate in conformazione all-trans.
- 1188 cm^{-1} : *rocking* dei legami C-H metossilici.
- 1028 cm^{-1} : questa banda, molto larga e stranamente poco intensa, è formata dall'addizione degli *stretching* Si-O-C e Si-O-Si; inoltre si sovrappone con la banda a 956 cm^{-1} data dai *bending* Si-H.
- 773 cm^{-1} e 675 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico dei legami Si-C.
- 733 cm^{-1} e 616 cm^{-1} : deformazioni all'interno e fuori dal piano dell'anello imidazolico.
- 566 cm^{-1} : *rocking* dei legami Si-H sopra descritti.
- 497 cm^{-1} : *stretching* dei legami Zn-O.

Glicidossipropil-trimetossisilano (G)



Questa funzionalizzazione non è stata impiegata sulle leghe di alluminio; lo spettro relativo al rivestimento di glicidossipropil-trimetossisilano applicato su zinco è mostrato in figura 69.

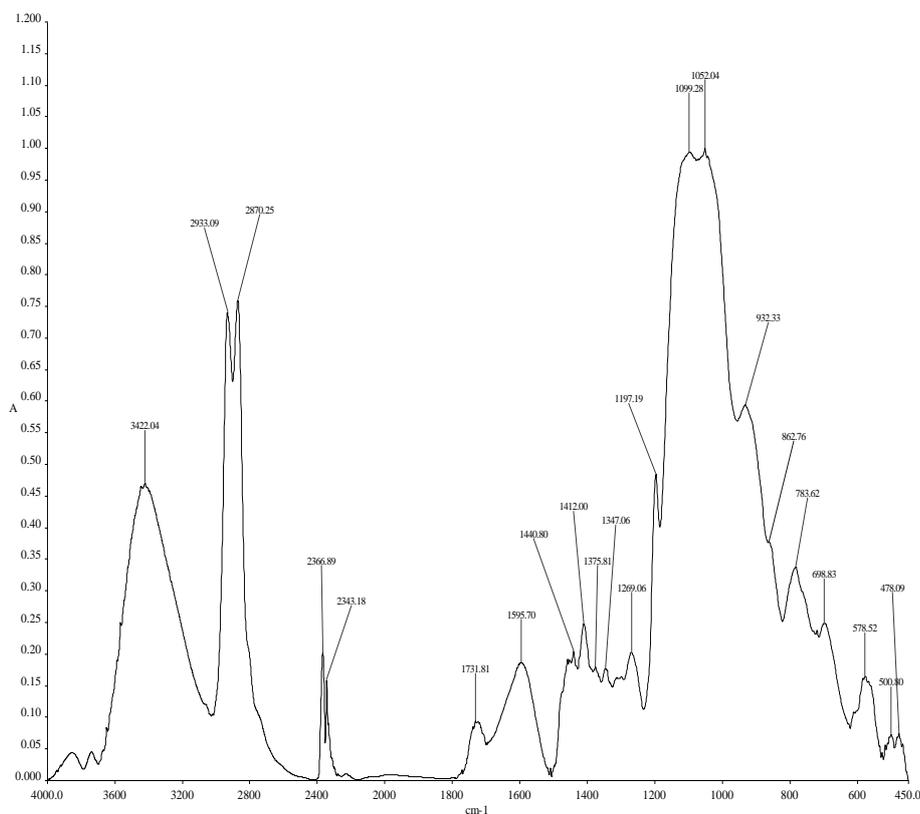


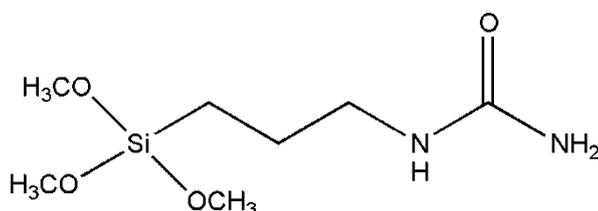
Figura 69 Spettro del rivestimento di G

- 3422 cm^{-1} : *stretching* dei legami O-H.
- 2933 cm^{-1} e 2870 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico dei legami C-H della catena. I legami C-H dell'anello ossiranicco dovrebbero dare segnali di *stretching* a numero d'onda poco superiore a 3000 cm^{-1} che tuttavia non sono presenti; è appena distinguibile una piccola spalla ai piedi della larga banda degli O-H che probabilmente copre questi segnali.
- 2340 cm^{-1} : segnale dato dalle tipiche interferenze degli *stretching* della CO_2 .
- 1731 cm^{-1} : segnale tipico di uno *stretching* C=O. Questa banda inattesa è dovuta ad un prodotto di degradazione termica dell'epossido, più volte riscontrato in letteratura [26] [27].
- 1595 cm^{-1} : questa larga banda è dovuta ai *bending* O-H ed è indice di umidità.
- 1458 cm^{-1} : segnale dato dal contributo tra i *bending* dei metilene dell'etere lineare e quelli del gruppo CH_2 appartenente all'epossido.
- 1375 cm^{-1} : *bending* del gruppo CH ossiranicco.
- 1440 cm^{-1} : *bending* dei C-H della catena propilica.
- 1412 cm^{-1} : *bending* caratteristico del metilene direttamente legato a Si.
- 1347 cm^{-1} : deformazioni della catena carboniosa.
- 1269 cm^{-1} : segnale di media intensità dato dagli *stretching* C-O-C dell'ossirano.
- 1197 cm^{-1} : segnale di *rocking* dei C-H metossilici, particolarmente intenso in questo

spettro. Ciò avviene grazie al contributo, alla stessa frequenza e poi a frequenze inferiori, dello *stretching* asimmetrico C-O-C dell'etere lineare.

- 1099 cm^{-1} : segnale di *stretching* Si-O-C.
- 1052 cm^{-1} : stiramento dei legami Si-O-Si.
- 932 cm^{-1} : *stretching* dei legami Si-OH.
- 860 cm^{-1} : segnale medio-forte delle vibrazioni d'anello all'interno del piano dell'eossido.
- 783 cm^{-1} e 698 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico dei legami Si-C.
- 611 cm^{-1} : vibrazioni fuori piano dell'ossirano.
- 578 cm^{-1} : segnale delle catene polisilossaniche $(\text{SiOSi})_n$.
- 500 cm^{-1} e 478 cm^{-1} : i due picchi sono imputabili agli *stretching* Zn-O.

3-Ureidopropil-trimetossisilano (U)



Come già detto a proposito del glicidossisilano, anche in questo caso la funzionalizzazione non è stata impiegata sulle leghe di alluminio. Lo spettro corrispondente viene riportato in figura 70. Questo spettro è un raro caso di acquisizione con tecnica DRIFT che dà risultati con un alto rapporto segnale/rumore di fondo, picchi molto ben risolti e linea di base buona.

- 3346 cm^{-1} : a questa frequenza cade una banda stretta che si allarga alla base; è indubbio il contributo degli stiramenti O-H dell'umidità, ma la forma più affilata alla sommità suggerisce un forte contributo degli *stretching* N-H del gruppo ureidico, in particolare di quelli dell'azoto primario.
- 2931 cm^{-1} e 2883 cm^{-1} : questi segnali (di cui il secondo presenta anche una sommità leggermente sdoppiata) indicano gli *stretching* asimmetrici e simmetrici dei legami C-H alifatici.
- 2214 cm^{-1} : questo picco molto intenso, stretto e isolato dagli altri segnali della molecola è dato dagli *stretching* Si-H; i gruppi Si-H si sono probabilmente formati in seguito ad una degradazione durante i pre-trattamenti.

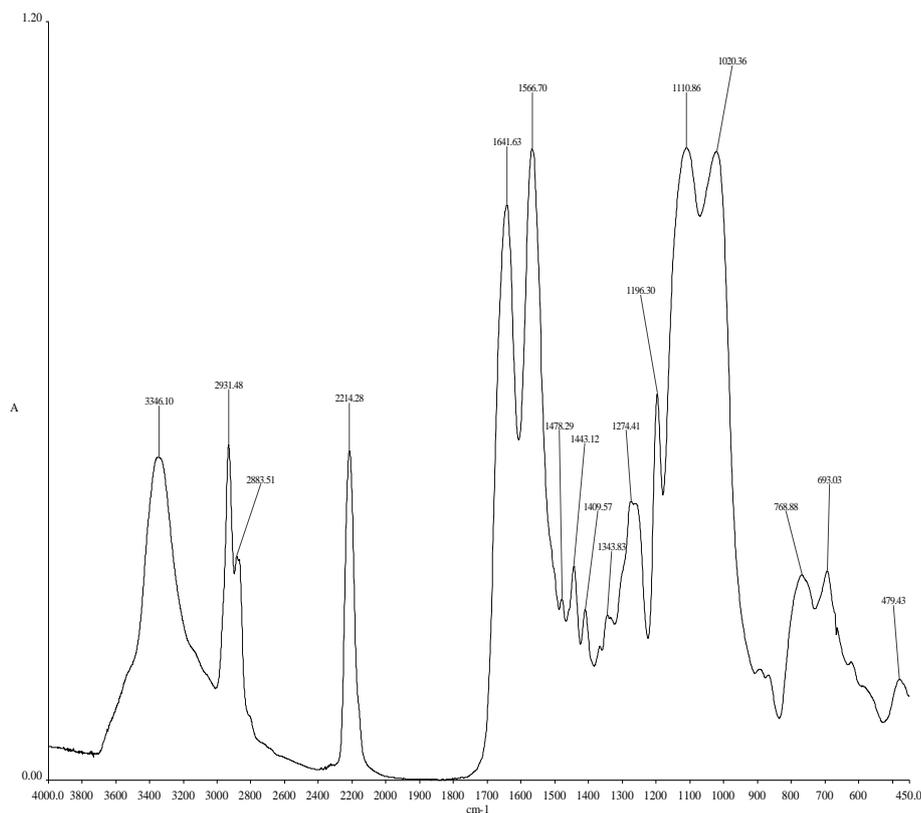


Figura 70 Spettro del rivestimento di U a cui è stata applicata unicamente la normalizzazione

- 1641 cm^{-1} : intenso picco di *stretching* C=O del gruppo ureidico.
- 1566 cm^{-1} : forte segnale di *bending* dei legami N-H del gruppo NH_2 sempre dell'urea.
- 1478 cm^{-1} e 1443 cm^{-1} : deformazioni dei legami C-H delle catene propiliche.
- 1409 cm^{-1} : *rocking* del metilene legato a Si.
- 1343 cm^{-1} : segnale di *wagging* delle catene propiliche.
- 1274 cm^{-1} : *twisting* delle catene propiliche in conformazione all-trans.
- 1196 cm^{-1} : *rocking* dei gruppi metossilici.
- 1110 cm^{-1} e 1020 cm^{-1} : *stretching* rispettivamente dei legami Si-O-C e Si-O-Si.
- 769 cm^{-1} e 693 cm^{-1} : sono visibili i due segnali dovuti agli stiramenti asimmetrico e simmetrico dei legami Si-C. Il debole picco a 480 cm^{-1} è dato dai segnali di Zn-O, la cui risoluzione in questo caso non è ottimale.

3.6.2 Rivestimenti eteropolimerici

I campioni di zinco riportavano sia le stesse funzionalizzazioni eteropolimeriche che già erano state applicate sull'alluminio che altre non sperimentate in precedenza. Queste ultime comprendono le miscele binarie contenenti glicidossipropil-trimetossisilano e ureidopropil-trimetossisilano e la miscela ternaria BA + VTAS + PYSI, denominata BAVPYSI.

Le funzionalizzazioni eteropolimeriche contenenti glicidossipropil-trimetossisilano (G) in miscela sono quattro:

- Miscela G + BBE, identificata dalla sigla BEG;
- Miscela G + BTSE, identificata dalla sigla TEG;
- Miscela G + U, identificata dalla sigla GU;
- Miscela G + VTAS, identificata dalla sigla VG.

Gli spettri corrispondenti sono confrontati in figura 71; per una più facile comparazione, è stata applicata la sola correzione della linea di base.

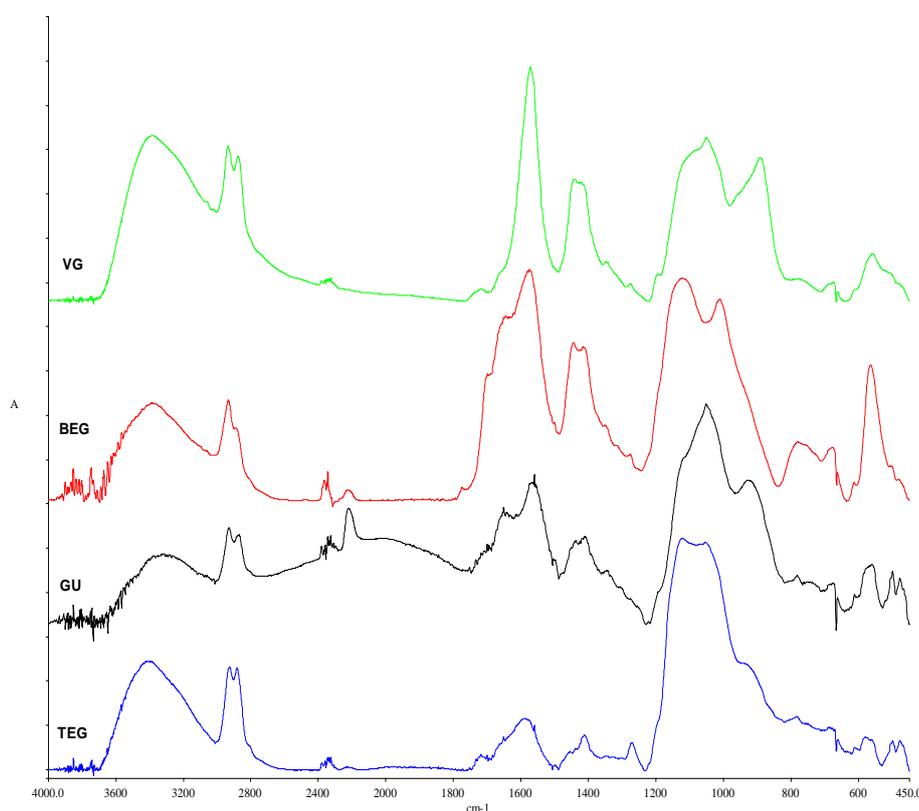


Figura 71 Confronto degli spettri delle miscele BEG, TEG, GU e VG. Correzione della linea di base applicata

Durante lo studio analitico di queste funzionalizzazioni si è riscontrato che tutti gli spettri mostrano due bande inattese e in due casi (miscele BEG e VG) di grande intensità, di frequenza compresa tra 1500 cm^{-1} e 1650 cm^{-1} per la prima banda e 1300 cm^{-1} e 1450 cm^{-1} per la seconda. Per poterle meglio osservare, un ingrandimento della regione $1900\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ è mostrato in figura 73.

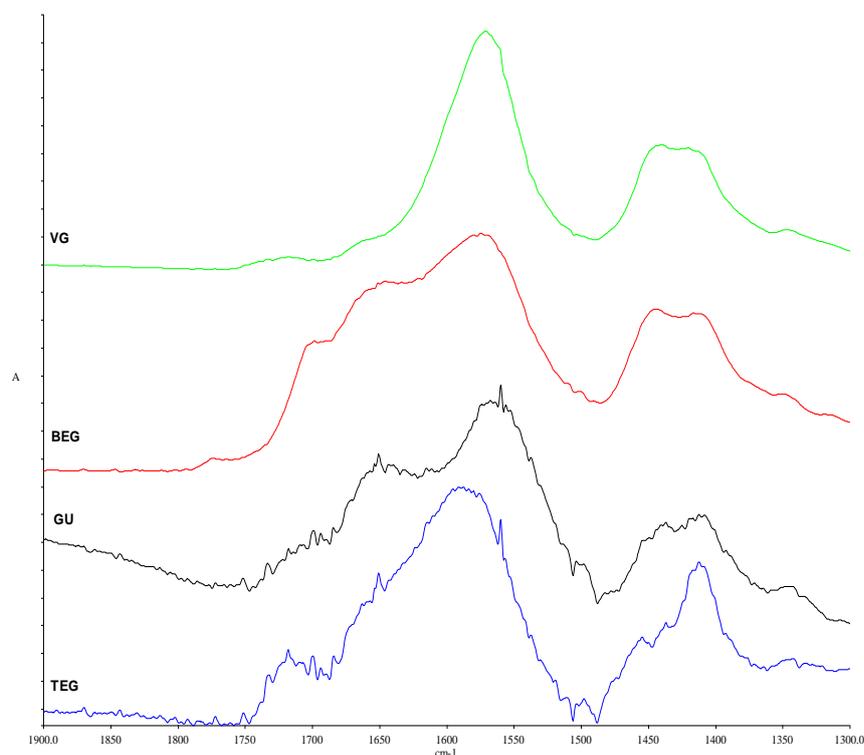


Figura 72 Confronto degli spettri delle miscele BEG, TEG, VG e GU nella regione $1900-1300\text{ cm}^{-1}$. Correzione della linea di base applicata

Inizialmente la banda a circa 1600 cm^{-1} era stata attribuita a vari segnali dei singoli componenti, in particolare agli *stretching* C=C aromatici per BEG ed allo *stretching* C=O dei gruppi acetato in VG; tuttavia queste interpretazioni incontravano vari elementi di contraddizione:

- Nel caso di VG, la frequenza a cui cadeva lo *stretching* carbonilico era troppo bassa, in quanto nel caso di un estere acetico legato ad un silicio la banda è attesa a $1730-1770\text{ cm}^{-1}$. Inoltre, non era nemmeno possibile ipotizzare un addotto ammidico simile a quello formatosi nella miscela BAV, poiché la miscela non contiene gruppi amminici;
- Nel caso di BEG, sebbene la posizione della banda fosse alla frequenza giusta per indicare uno stiramento C=C, l'intensità della banda lasciava vari dubbi in quanto, come si può vedere nello spettro di BBE in figura 66, per motivi poco chiari questo segnale rimane di intensità modesta quando le formulazioni contenenti benzene vengono applicate su metallo mentre in questo caso è molto evidente;
- Non era stato possibile trovare alcuna spiegazione plausibile per la banda a 1600 cm^{-1} per le miscele TEG e GU (anche in questo caso lo *stretching* C=O del gruppo ureidico cade a frequenze più alte).

Per quanto riguarda invece le bande a circa 1400 cm^{-1} , in un primo tempo erano state attribuite a deformazioni dei legami C-H di catena, ma le loro intensità insolitamente elevate e la peculiare

forma a doppietto (tranne che in TEG) rendevano anche questa interpretazione non soddisfacente. Si è quindi iniziato a cercare spiegazioni alternative, e le due bande sono state attribuite agli *stretching* rispettivamente asimmetrico e simmetrico dei gruppi carbossilato derivanti dalla presenza di ioni acetato liberi in soluzione. Questo sistema, grazie alla risonanza $O=C-O^- \leftrightarrow ^-O-C=O$ si comporta diversamente da un classico carbonile e non presenta quindi una banda a circa 1750 cm^{-1} , bensì le due bande riscontrate.

Per spiegare questa caratteristica ricorrente si è ipotizzata una reazione tra l'acetato e il ciclo epossidico con successiva coordinazione dello ione da parte degli ioni di Zn^{2+} presenti alla superficie del metallo; questa reazione è schematizzata in figura 73.

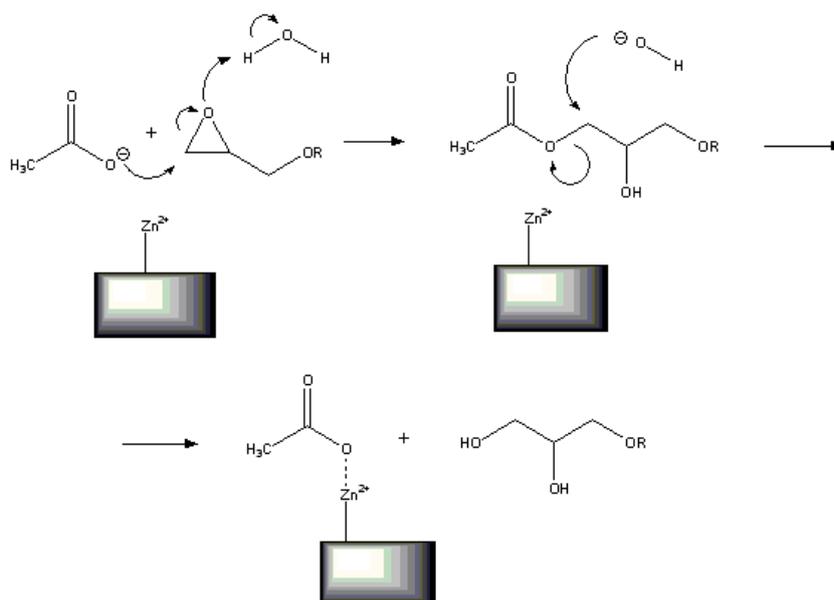


Figura 73 Reazione tra gli ioni acetato e G durante formazione del film su zinco

L'acido acetico era stato usato, in fase di preparazione dei campioni, come agente acidificante, il che spiega la sua presenza in soluzione. Le probabili interazioni degli ioni con l'eossido possono spiegare la loro tendenza a rimanere intrappolati nel layer polimerico in formazione e quindi a non venire eliminati tramite risciacquo e trattamento termico.

È stato inoltre ipotizzato che questa reazione non avvenga sul ferro perché a differenza dello zinco esso non sia in grado di coordinare efficacemente gli ioni acetato e fungere quindi da catalizzatore per la reazione.

Infine la degradazione dell'eossido suggerisce una peggiore efficacia del rivestimento anche in termini di protezione. Il confronto di queste ipotesi con i risultati di protezione dalla corrosione ottenuti nel Dipartimento di Chimica Fisica ed Elettrochimica conferma queste deduzioni: le

miscele contenenti glicidossipropil-trimetossisilano davano risultati comparabili o addirittura peggiori rispetto al singolo componente.

Anche nel caso dello zinco, dopo la binarie si è passati ad uno *screening* delle miscele ternarie che contengono la miscela binaria BAV 3:1 ed un terzo componente variabile, in proporzione 1:1 con VTAS.

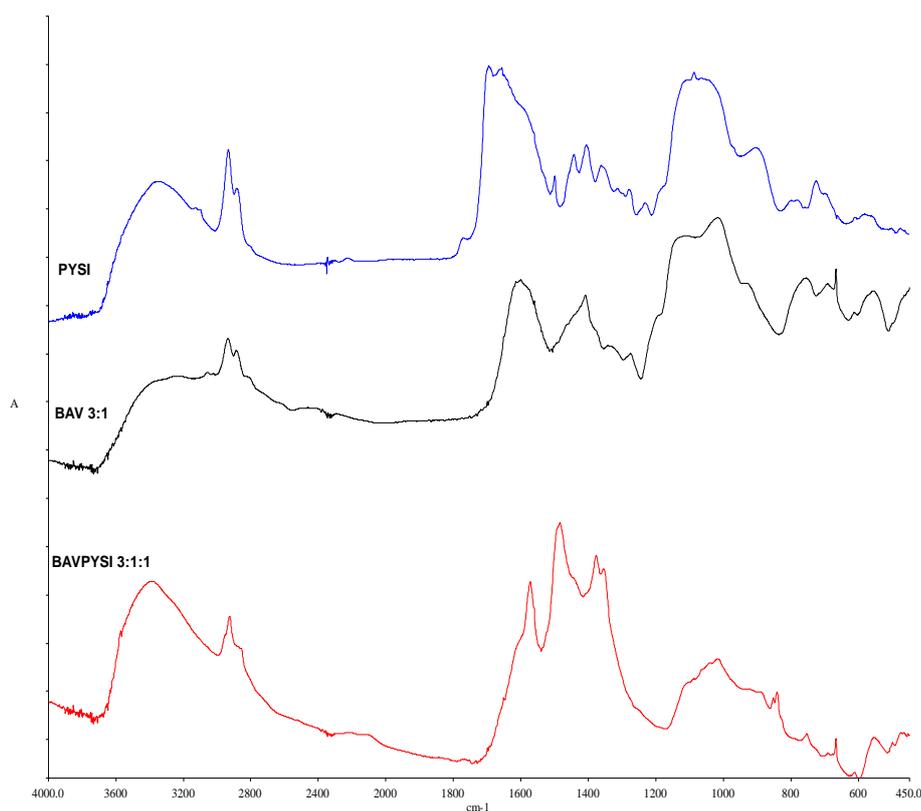


Figura 74 Confronto dello spettro della miscela ternaria BAVPYSI 3:1:1 con quello dei componenti BAV 3:1 e PYSI

In figura 74 sono riportati gli spettri relativi alla miscela BAVPYSI. Appare subito evidente che la regione più interessante per un confronto è quella compresa tra 1800 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} , che viene quindi mostrata ingrandita in figura 75.

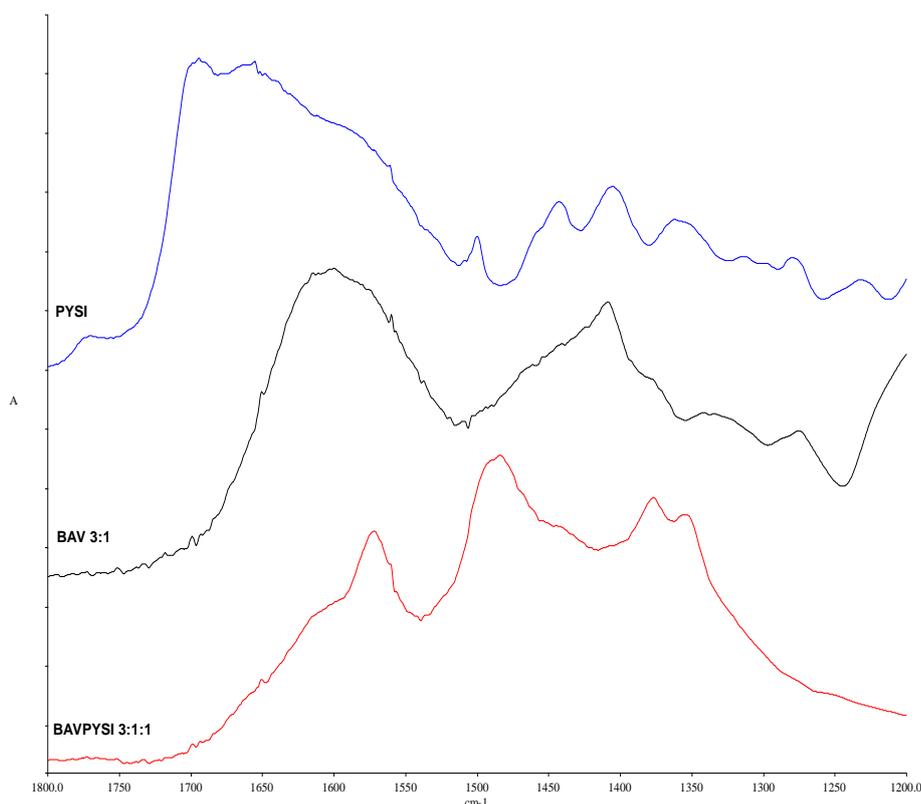


Figura 75 Confronto dello spettro della miscela ternaria BAVPYSI 3:1:1 con quello dei componenti BAV 3:1 e PYSI. Ingrandimento della regione 1200-1800 cm^{-1}

Lo spettro della miscela mostra in questa zona tre segnali ben riconoscibili:

- una banda a circa 1570 cm^{-1} con una spalla a circa 1610 cm^{-1} , che riflette un segnale additivo tra gli *stretching* C=N di PYSI e quelli C=O dell'addotto ammidico di BAV;
- una banda a circa 1500 cm^{-1} , dovuta all'allargamento e restringimento d'anello dato dagli *stretching* C=C e C=N dell'anello pirrolico di PYSI. Questa banda appare molto amplificata nella miscela grazie all'aumentata coniugazione α - α' tra gli anelli pirrolici [24];
- Una banda con due massimi a circa 1360 cm^{-1} e 1320 cm^{-1} , attribuibile alle deformazioni C-H delle catene propiliche, specialmente N-pirroliche.

Come già visto nel caso dei campioni di alluminio, anche per le miscele binarie su zinco non sempre le funzionalizzazioni presentano segnali utili a discriminare un tipo di rivestimento dagli altri. Per i polimeri monocomponenti il problema non si pone, in quanto i segnali caratteristici sono presenti e visibili.

Per quanto riguarda, infine, le miscele ternarie, abbiamo due casi opposti: la miscela BAVTE, indistinguibile dalla miscela BAV 3:1 (come mostrato in figura 76) e quello di BAVPYSI, che

invece mostra un andamento molto caratteristico dato da combinazioni dei segnali dei vari componenti, come visibile nelle figure 74-75. In questo caso la tecnica sperimentata si dimostra un valido strumento di caratterizzazione per il rivestimento.

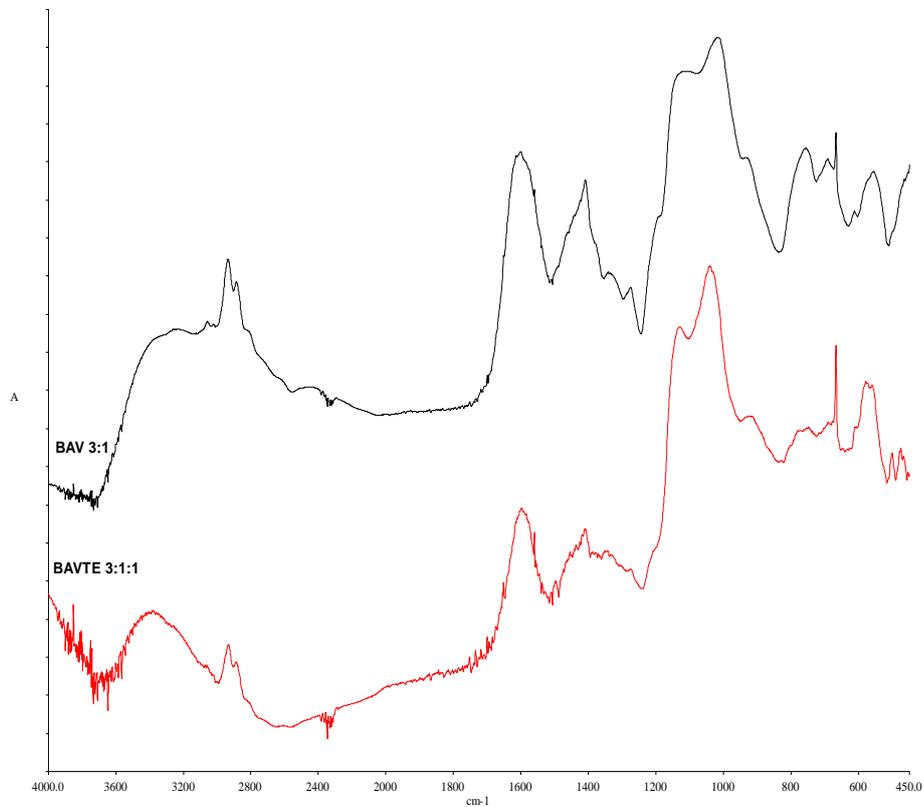


Figura 76 Confronto dello spettro della miscela ternaria BAVTE 3:1:1 con quello del componente BAV 3:1

3.7 Spettroscopia RAIRS di rivestimenti di N-(3-trimetossisilil)propilanilina

Il rivestimento di anilina trimetossisilano è stato depositato su lamierine di vari metalli a partire da una soluzione in metanolo ed acqua acidulata la cui composizione è già stata mostrata in tabella 7.

La caratterizzazione con spettroscopia infrarossa è mirata a valutare la deposizione dei monomeri/oligomeri di organosilano su metallo ed una eventuale polimerizzazione degli stessi. Per far ciò l'analisi è stata registrata a diversi angoli di incidenza, così da cercare di ottenere informazioni sulla struttura del film a profondità differenti.

Il primo metallo su cui si è provata la deposizione del film è stato alluminio in lega 1050. Si ricorda che questa lega è considerata assimilabile ad alluminio al 99%.

Si è proceduto all'interpretazione dei singoli segnali su questo campione, limitandosi nei casi successivi allo studio delle variazioni dell'andamento dello spettro nel suo insieme, delle intensità e della morfologia dei picchi. È chiaro infatti che trattandosi sempre della stessa molecola di partenza ci si aspetta che i moti vibrazionali ed i corrispondenti assorbimenti tipici siano gli stessi anche su un'altra superficie metallica.

Nella figura 77 è mostrata una sovrapposizione tra gli spettri RAIRS registrati ad angoli di incidenza crescenti del film di polianilina-silossano.

L'interpretazione completa che segue fa riferimento allo spettro acquisito all'angolo di 75°. Tuttavia essendo l'andamento degli spettri a 30° ed a 45° in gran parte analogo, le attribuzioni del primo spettro saranno valide anche per gli altri due. Le peculiari piccole differenze verranno discusse poi in dettaglio.

Il primo segnale riscontrato cade a 3397 cm⁻¹ ed è correlabile allo *stretching* del legame N-H del gruppo amminico dell'anilina. Nel *range* tra 3700 cm⁻¹ e 3200 cm⁻¹ si può notare una banda molto allargata ed intensa che corrisponde allo stiramento del legame SiO-H, banda che deriva dall'idrolisi dei legami SiO-CH₃. Nonostante il forte assorbimento, questo segnale non copre totalmente il suddetto picco relativo all'ammina, che va quindi considerato di notevole intensità anche se il suo emergere dalla *broad band* è limitato, specialmente in superficie. Quest'ultimo dato è significativo, poiché sarebbe a sostegno di una polimerizzazione maggiore della parte organica in superficie: le aniline N-sostituite polimerizzando perdono il legame N-H.

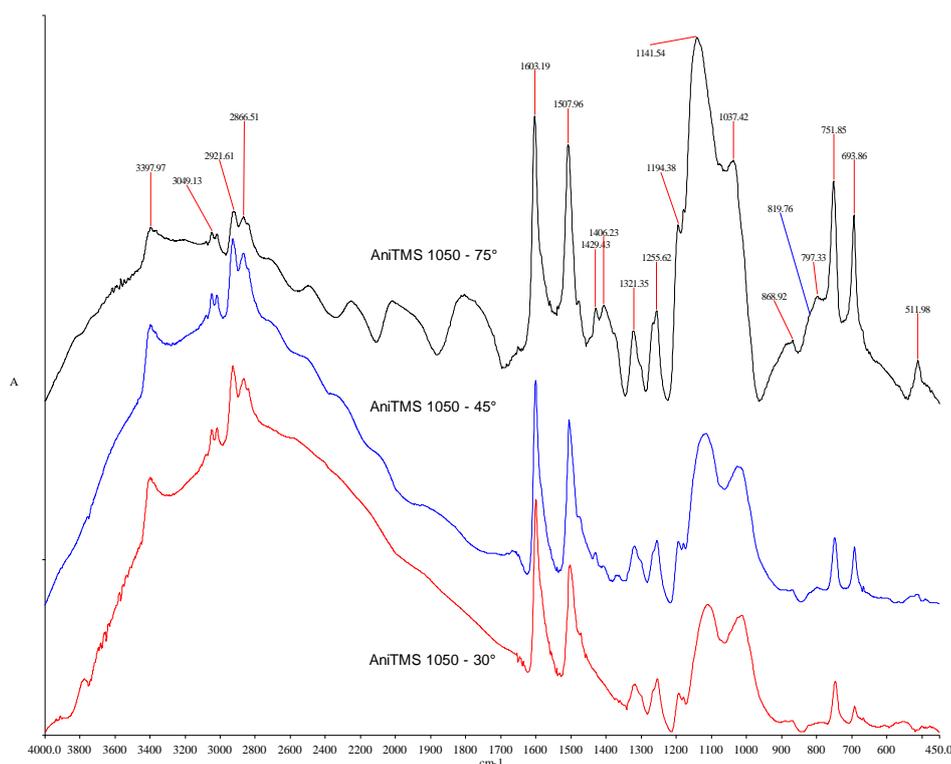


Figura 77 Spettri del film di polianilinasilossano su lamiera di alluminio 1050 a differenti profondità

Altri segnali di cui si riporta l'interpretazione sono :

- 3078 cm^{-1} , 3049 cm^{-1} e 3018 cm^{-1} : questi tre segnali sono dati dagli *stretching* sia assimetrici che simmetrici dei legami C-H dell'anello aromatico;
- 2921 cm^{-1} e 2866 cm^{-1} : picchi dovuti agli stiramenti rispettivamente asimmetrico e simmetrico dei legami C-H della catena propilica;
- 1603 cm^{-1} e 1507 cm^{-1} : *stretching* dei doppi legami C=C aromatici;
- 1429 cm^{-1} e 1406 cm^{-1} : *bending* del legame C-H della catena propilica;
- 1321 cm^{-1} : banda di stiramento del legame tra il C sp² dell'anello aromatico e l'azoto;
- 1255 cm^{-1} : *stretching* del legame tra C sp³ del propile e N del gruppo amminico;
- 1194 cm^{-1} : questa spalla può essere attribuita specificamente al *rocking* dei C-H dei gruppi metossilici legati al silicio;
- 1141 cm^{-1} : *stretching* dei legami Si-O-C;
- 1037 cm^{-1} : stiramento dei legami Si-O-Si formati con la polimerizzazione;
- 868 cm^{-1} : *bending* del legame C-H sull'anello (chinoide) della polianilina;
- 797 cm^{-1} : *stretching* simmetrico dei legami Si-O-C;
- 751 cm^{-1} e 693 cm^{-1} : segnali riferibili all'anilina in quanto corrispondono rispettivamente al *bending* del legame C-N-C ed al piegamento dell'anello;
- 511 cm^{-1} : debole segnale di *stretching* Si-O-CH₃.

È interessante osservare che il rapporto tra le intensità dei picchi dello *stretching* Si-O-C e Si-O-Si varia considerevolmente con l'angolo. In profondità (30°) le intensità sono quasi pari, mentre con l'aumentare dell'angolo aumenta anche la banda Si-O-C. Questo dato è importante per una valutazione qualitativa della polimerizzazione dei gruppi silossanici: più sarà avvenuta la

reticolazione, minore sarà l'intensità dello *stretching* Si-O-C perché i gruppi SiO-CH₃ saranno stati idrolizzati ad SiO-H per poi dare Si-O-Si con perdita di una molecola di acqua. Tutto ciò concorda con i dati ottenuti dagli spettri: a profondità maggiore la reticolazione sarà consistente, in superficie ci saranno invece Si-OCH₃.

Launer però sottolinea come lo *stretching* del legame Si-O-Si, quando ci si trovi in presenza di catene polisilossaniche, si sdoppi in due bande intorno ai 1130 cm⁻¹ e 1040 cm⁻¹. Questi picchi intensi sono ben visibili in effetti sia a 30° che a 45°, con *shift* di una decina di cm⁻¹ a frequenze minori rispetto allo stato dell'arte, mentre a 75° si ha uno spostamento del segnale a frequenza maggiore della letteratura verso i 1140 cm⁻¹, con differenza effettiva tra i due picchi nello spettro di 20 cm⁻¹. In sostanza il picco a 1140 cm⁻¹ a 75° sembra derivare dalla somma dei contributi di segnali Si-O-C (intorno ai 1190 e 1180 cm⁻¹) ed Si-O-Si a catena media (1130 cm⁻¹). Si può quindi ulteriormente pensare che in profondità il polimero abbia una struttura più organizzata che porta a lunghe catene polisilossaniche, mentre in superficie prevalgano i segnali di catene brevi o legami Si-O-Si singoli sovrapposti ai segnali Si-O-C.

Le evidenze di una polimerizzazione della parte organica sono meno facili da sottolineare. Lo stato dell'arte suggerisce che le spalle del picco a 1603 cm⁻¹ siano dovute allo *stretching* dei legami C=C delle forme chinoidi della catena, mentre quelle del picco a 1508 cm⁻¹ invece ai doppi legami dell'anello benzenico. Inoltre in letteratura la spalla a 819 cm⁻¹ è considerata tipica di una *para* sostituzione sugli anelli aromatici, il che confermerebbe il progressivo formarsi di una catena anche tra le aniline oltre che tra i silossani. In superficie la spalla diventa più evidente, come ad indicare un legame tra aniline maggiore. Considerando l'esiguità della spalla in questione, queste attribuzioni sono piuttosto dubbie. Come avvenga esattamente il *cross-linking* tra catene e quale sia quindi di fatto la struttura di questo doppio polimero non è ancora chiaro.

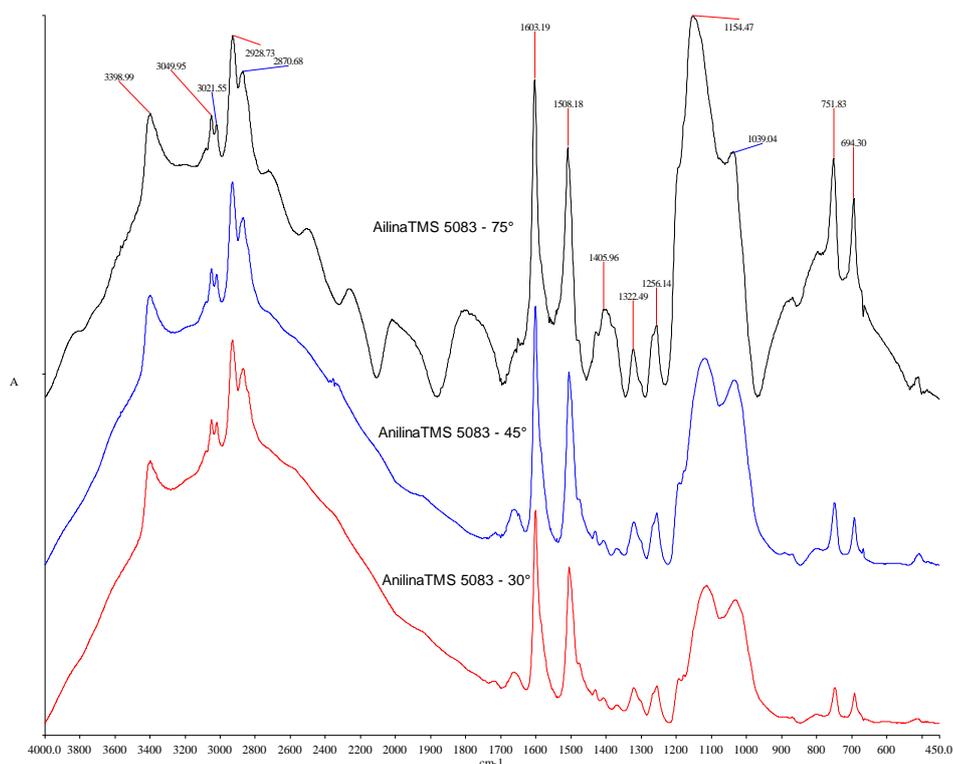


Figura 78 Spettri del film di polianilinasilossano su lamiera di alluminio 5083 a differenti profondità

Analogo discorso sulla polimerizzazione in relazione alla spessore del film si può fare per le altre leghe di alluminio, come si può vedere dalle figure 78, 79 e 81 in cui l'intensità del segnale Si-O-C è sempre maggiore in superficie e minore in profondità, ovviamente sempre rispetto allo *stretching* Si-O-Si. Allo stesso modo si comporterebbe, se si volesse dare per vera l'interpretazione già discussa, anche la spalla a 814 cm^{-1} circa, indice della para sostituzione. Tutte queste sovrapposizioni degli spettri sia su lega 5083, sia su 7075 come sulla 1050, mostrano che a 75° il rapporto segnale/rumore di fondo è maggiore, forse perché la superficialità dell'analisi consente di limitare l'interferenza del metallo sottostante.

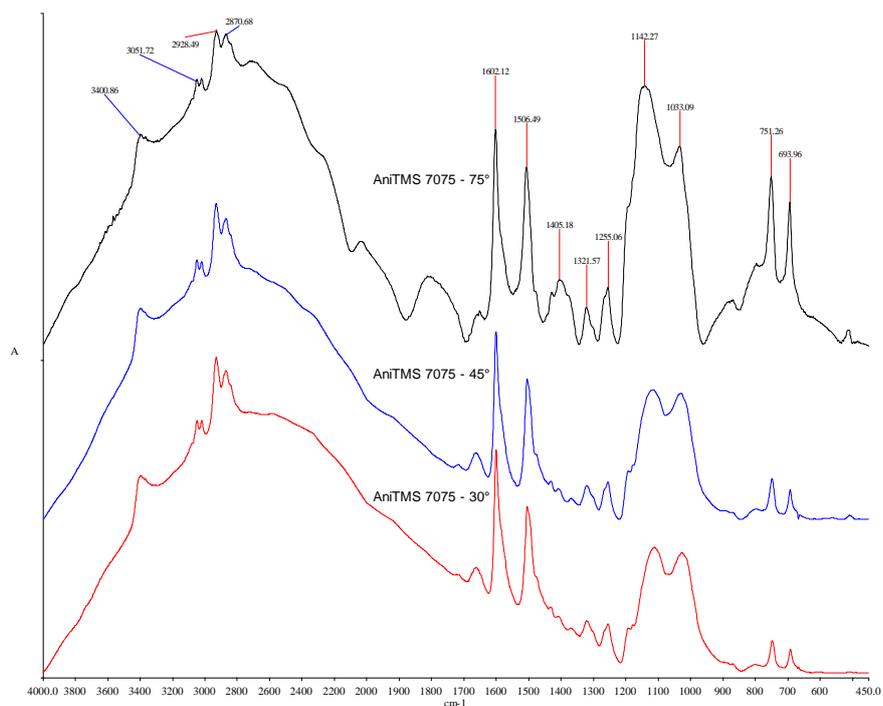


Figura 79 Spettri del film di polianilinasilossano su lamiera di alluminio 7075 a differenti profondità

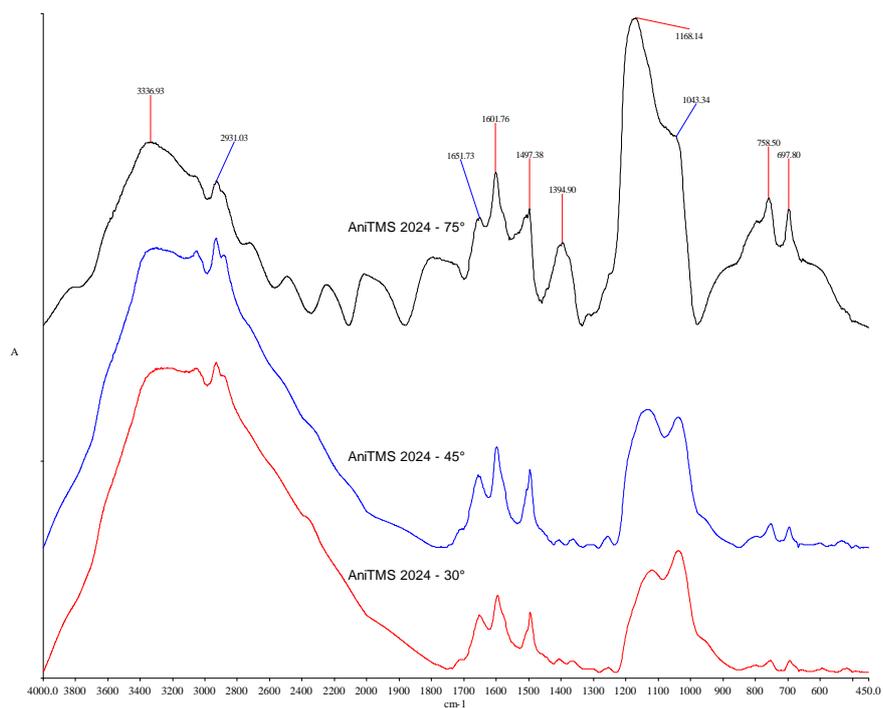


Figura 80 Spettri del film di polianilinasilossano su lamiera di alluminio 2024 a differenti profondità

Aumentano però fenomeni di *scattering* superficiale responsabili delle bande di interferenza tra i 1700 ed i 2500 cm^{-1} . Questi sono dovuti al fatto che i *films* in superficie risultano molto lisci, anche se non perfettamente omogenei. Queste bande sono quindi dovute alla natura stessa dei campioni e non sono eliminabili.

Leggermente diverse sono le considerazioni che si possono fare per la polianilina-silossano sulle leghe 2024 e 6082. In questi due casi a spessore maggiore il segnale di *stretching* Si-O-Si è addirittura più intenso di quello Si-O-C: ciò dovrebbe testimoniare la bontà del film, che proteggerà meglio quanto più la polimerizzazione sia avvenuta ed il rivestimento sia continuo e ben adeso. Inoltre lo *stretching* N-H dell'anilina è coperto dalla forte banda allargata tra i 2600 e i 4000 cm^{-1} . Questo può essere interpretato positivamente sia perché una banda larga e tanto intensa in questa regione indica una buona percentuale di idrolisi dei trimetossisilani (con conseguente successiva condensazione), sia perché la diminuzione del segnale N-H porta a pensare ad una coniugazione della catena di anilina ancor più estesa. Infatti trattandosi di anilina N-sostituita, in caso di polimerizzazione il legame N-H scompare progressivamente.

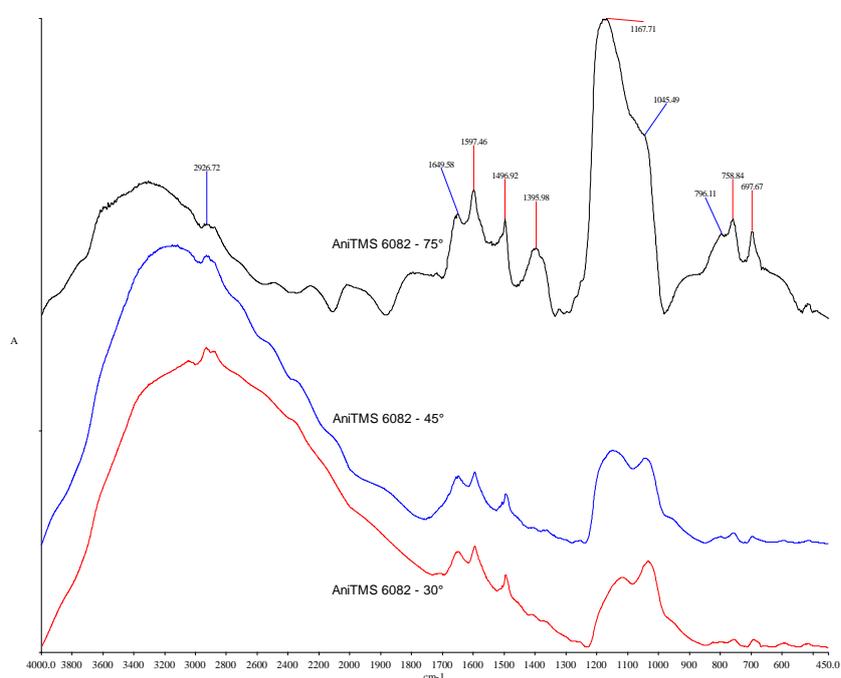


Figura 81 Spettri del film di polianilinasilossano su lamiera di alluminio 6082 a differenti profondità

La capacità protettiva di questi film è in effetti stata verificata dalle successive prove di corrosione.

Sono infine state studiate pellicole di anilinaTMS su lamierine di ferro e zinco. Nel primo caso il rapporto segnale/rumore di fondo è basso, il film è meno spesso che sulle leghe di alluminio, tanto che si notano le bande di *scattering* superficiale già a 45° e non solo a 75°. La capacità di adesione del film a questi metalli sembra quindi decisamente minore. Inoltre anche a 30° si hanno più bande sovrapposte dello *stretching* Si-O-Si, il che indica una disorganizzazione del reticolo polimerico anche a profondità maggiore.

Su zinco invece lo spettro che si ottiene è decisamente migliore come rapporto/segnale rumore di fondo, anche se valgono le stesse considerazioni sullo spessore del film e lo *scattering*

sottolineate per il ferro. È interessante notare che gli spettri del film su zinco, benché la superficie sia più irregolare che per l'alluminio, siano gli unici in cui si noti chiaramente l'assorbimento dovuto al legame Si-O-Metallo tra i 1000 e i 900 cm^{-1} . Forse proprio la maggior area superficiale dovuta alla porosità è la causa di questo incremento del segnale.

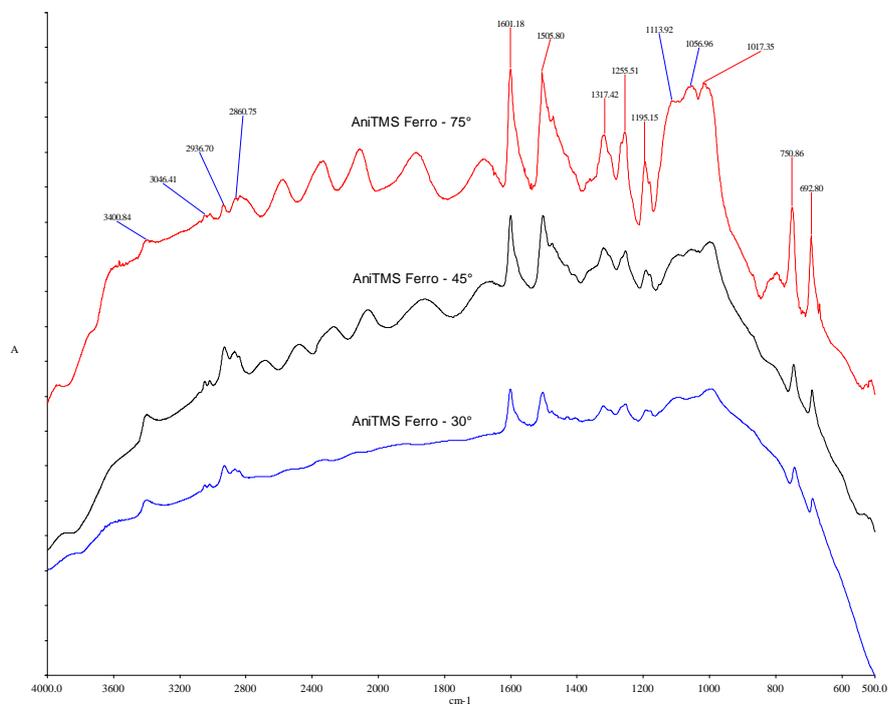


Figura 82 Spettri del film di polianilinasilossano su lamiera di ferro a differenti profondità

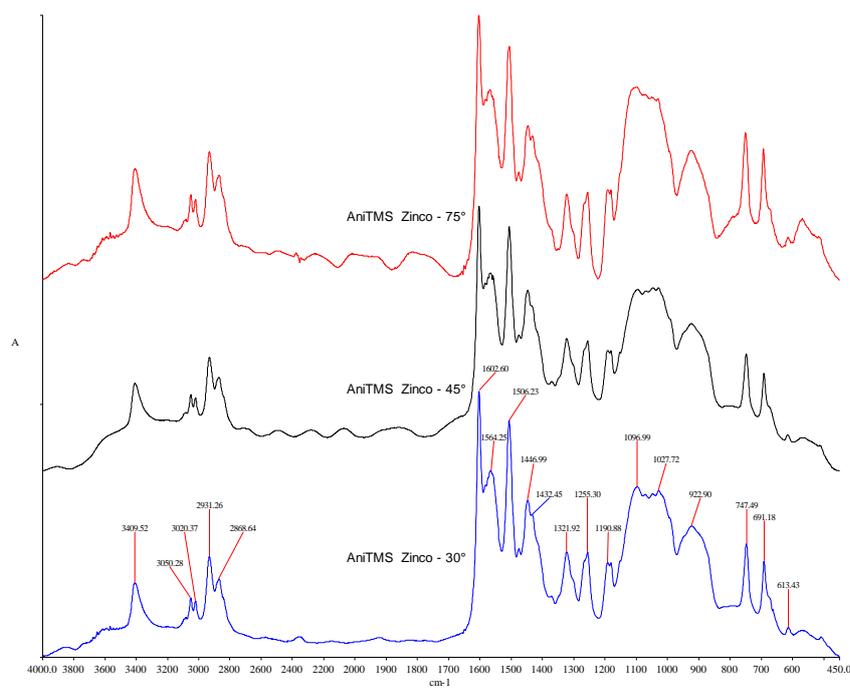


Figura 83 Spettri del film di polianilinasilossano su lamiera di zinco a differenti profondità

3.8 Spettroscopia RAIRS di rivestimenti di *N*-(3-trimetossisilil)propil pirrolo

Nel corso di questo studio si sono analizzati film di pirroloTMS su lega di alluminio 5083 e 6082, forse le più usate, per avere termini di confronto anche con analisi DRIFTS già effettuate. Interessava inoltre avere un supporto alle ipotesi avanzate sull'andamento dei segnali relativi ai legami del silicio nei film di anilina. Essendo maggiormente nota la struttura del polimero di *N*-(3-trimetossisilil)propil pirrolo, ci si aspetta di trovare riscontro negli spettri RAIRS della polimerizzazione.

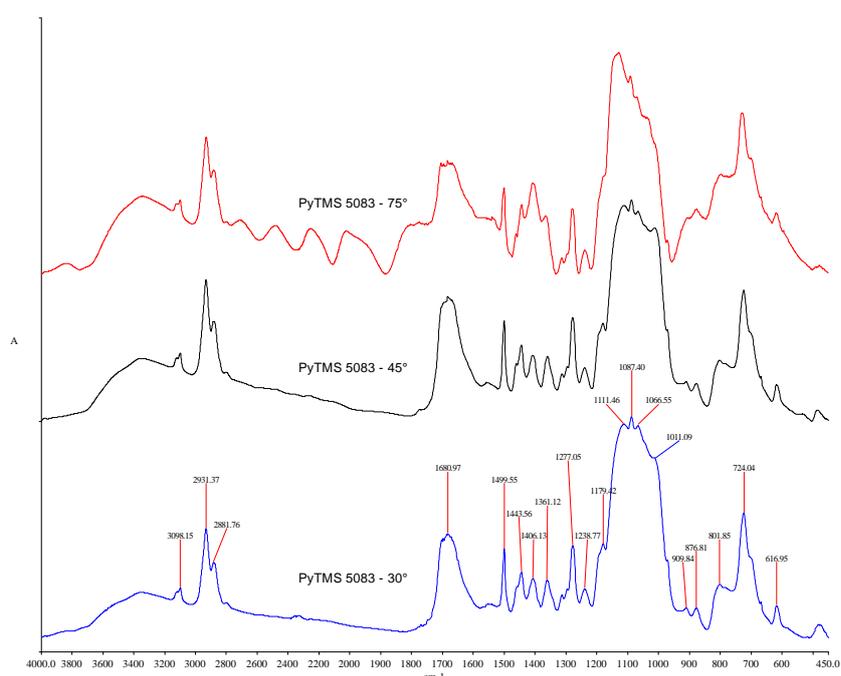


Figura 84 Sovrapposizione degli spettri di polipirroloTMS su lega di alluminio 5083 a 30°, 45°, 75°

In effetti per entrambe le leghe, oltre ad essere molto visibili i segnali del sistema dell'anello pirrolico, sono presenti bande multiple di assorbimento del legame Si-O-Si. Questo indicherebbe che, facendo riferimento a quanto già detto per le polianilinesilossano sulla base degli studi di A. Lee Smith, la polimerizzazione avviene con lunghezza delle catene polisilossaniche molto variabile. La velocità di polimerizzazione della porzione organica di pirroloTMS è maggiore che per l'anilinaTMS, in cui prevale invece la polimerizzazione dei silossani. In superficie ancora una volta i segnali Si-O-C e Si-O-Si a breve catena si fanno più intensi.

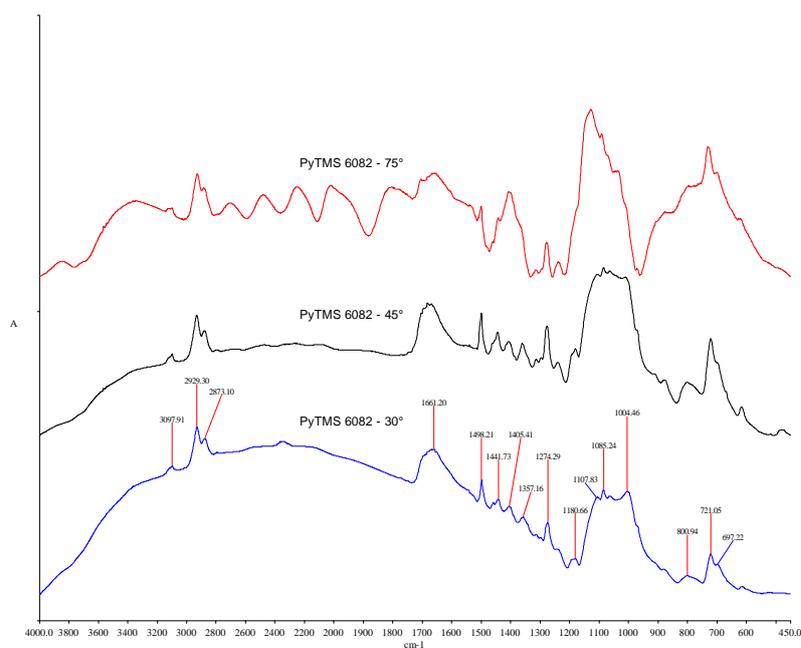


Figura 85 Sovrapposizione degli spettri di polipirroloTMS su lega di alluminio 6082 a 30°, 45°, 75°

Nella figura 84 e 85 sono inoltre ben visibili segnali di ossidazione progressiva del film, gli assorbimenti via via più larghi tra i 1600 e i 1700 cm^{-1} , ad ulteriore conferma della capacità diagnostica della spettroscopia infrarossa: le lamierine in questione non erano infatti preparate di fresco, ma qualche mese prima dell'analisi.

Come già fatto per l'anilina anche in questo caso verrà interpretato in dettaglio soltanto uno tra gli spettri a diversi angoli, viste le analogie di andamento deducibili dalla figura 84.

Lo spettro presenta segnali a:

- 3098 cm^{-1} : *stretching* dei legami C-H aromatici del pirrolo;
- 2931 cm^{-1} e 2873 cm^{-1} : *stretching* asimmetrico e simmetrico dei C-H della catena alifatica;
- 1661 cm^{-1} : vibrazione O-H in letteratura [24] questa banda è stata attribuita a molecole di H_2O intrappolate all'interno del *layer* di polimero in formazione e non eliminate in seguito al trattamento termico;
- 1500 cm^{-1} - 1200 cm^{-1} : questa regione è caratterizzata da un sistema di bande strette e affilate dovute alle vibrazioni dell'anello pirrolico;
- 1498 cm^{-1} : *stretching* dei legami C=C pirrolici;
- 1441 cm^{-1} : deformazione caratteristica del legame C-H con C adiacente ad un atomo di azoto;
- 1377 cm^{-1} : *bending* dei legami C-H della catena propilica;
- 1274 cm^{-1} : banda medio-intensa e affilata dello *stretching* del legame C-N;
- 1180 cm^{-1} : deformazione del legame C-H dei gruppi metossilici;
- 1160 cm^{-1} - 1000 cm^{-1} : bande che appartengono al sistema RSi-O in cui sono riconoscibili quattro segnali a 1104 cm^{-1} , 1085 cm^{-1} , 1062 cm^{-1} e 1004 cm^{-1} . Caratteristico in particolare è il picco a 1085 cm^{-1} , che viene attribuito alla formazione di

sistemi ciclici di silossani ad almeno quattro termini, derivanti dal crosslinking fra le catene. A 1104 cm^{-1} e 1062 cm^{-1} si osservano rispettivamente le bande degli *stretching* Si-O-C e quelle degli *stretching* Si-O-Si, sebbene la sovrapposizione dei segnali e degli intervalli di assorbimento suggerisca prudenza nell'interpretazione;

- 800 cm^{-1} : banda dovuta allo stiramento simmetrico dei legami Si-O-C;
- 700 cm^{-1} : *stretching* simmetrico dei legami Si-C;

Per gli spettri di polipirroloTMS su ferro e zinco valgono le medesime considerazioni già fatte per i film di polianilinaTMS. Rimane da sottolineare che anche in questo caso negli spettri dei rivestimenti su zinco è evidenziabile il legame Si-O-Metallo, questa volta a 926 cm^{-1} .

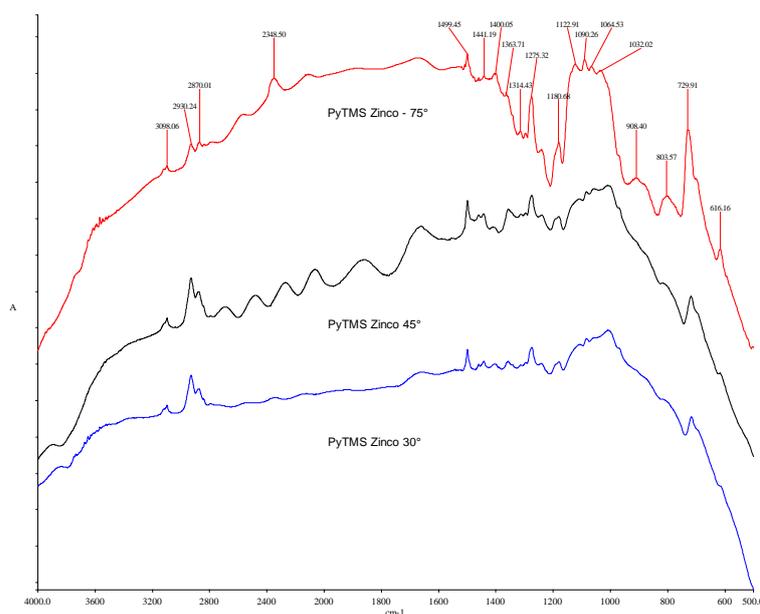


Figura 86 Sovrapposizione degli spettri di polipirroloTMS su ferro a 30° , 45° , 75°

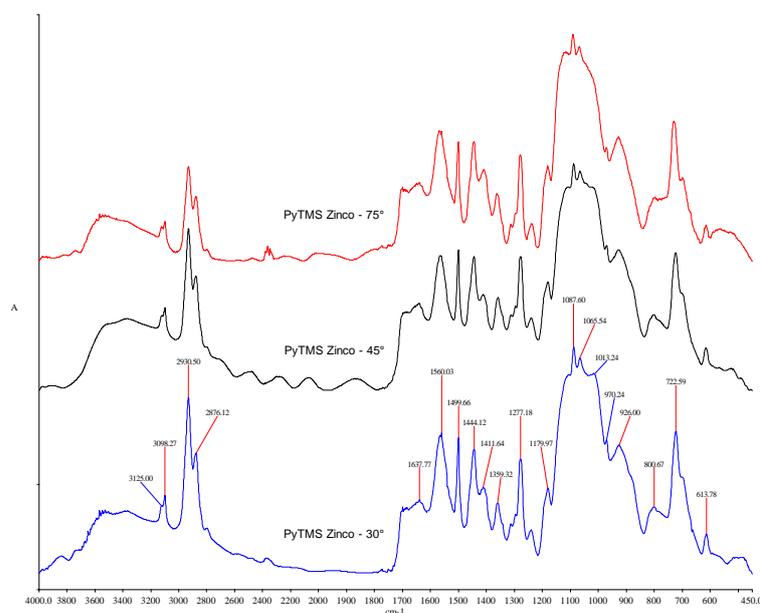


Figura 87 Sovrapposizione degli spettri di polipirroloTMS su zinco a 30° , 45° , 75°

3.9 Caratterizzazione delle soluzioni di rivestimento

3.9.1 Colorazione delle soluzioni

L'osservazione della colorazione delle soluzioni diviene interessante poiché i cambiamenti nel corso del periodo di studio sono considerevoli e possono contribuire ad una visione complessiva per determinare ciò che accade in soluzione. La tabella seguente riassume le variazioni di colore delle soluzioni a base pirrolo TMS ed anilina TMS.

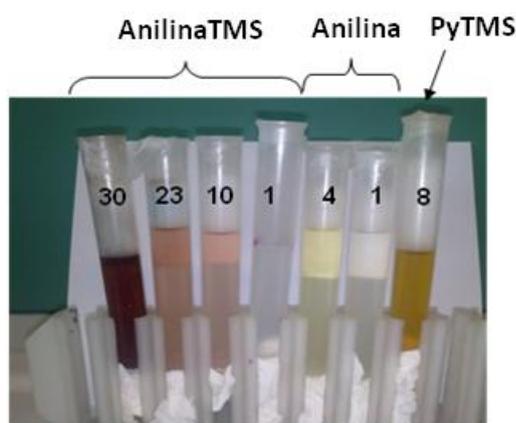


Figura 88 Variazione del colore delle soluzioni di Anilina silano, Anilina e Pirrolo silano al passare del tempo. Sulle provette sono indicati i giorni di monitoraggio

Tabella 8 Osservazione colorimetrica delle soluzioni

Soluzione	Tempo di monitoraggio			
	1° GIORNO	10° GIORNO	20° GIORNO	30° GIORNO
Anilina TMS	incolore	rosa	rosso	rosso scuro
Anilina	incolore	giallo chiaro	giallo chiaro	giallo
Ottil TMS	incolore	incolore	incolore opaco	
Pirrolo TMS	giallo	giallo vivo	arancio-marrone	
Pirrolo	incolore	giallo chiaro	giallo chiaro	giallo

La soluzione di anilina TMS, incolore inizialmente, diventa rosa e nel giro di un mese si scurisce fino a diventare di un rosso molto cupo. Inoltre non è più perfettamente limpida, ma presenta degli aggregati in sospensione. L'anilina invece in soluzione si presenta incolore, vira al giallo chiaro dopo tre o quattro giorni e si mantiene poi costante. L'osservazione di questi cambiamenti cromatici e soprattutto della viscosità consente di ipotizzare che l'anilina da sola abbia una velocità di polimerizzazione più lenta dell'anilina legata ai silani. Probabilmente i silani interagiscono tra loro e in questo modo favoriscono la polimerizzazione delle molecole di anilina

a loro legate. Questo dato è confermato da Lindfors e Ivaska [28] che hanno verificato che le aniline N-sostituite hanno velocità di polimerizzazione iniziale maggiore dell'anilina; la velocità decresce poi nelle N-sostituite, mentre nell'anilina aumenta.

Si sa che le polianiline variano dal bianco/giallo della leucoemeraldina (forma totalmente ridotta), al verde-blu dell'emeraldina (forma più stabile), al blu-porpora della pernigranilina (forma totalmente ossidata).

Nel nostro caso la conservazione delle soluzioni, chiuse con parafilm, alla luce ed a temperatura ambiente, non evita l'interazione con l'ossigeno atmosferico. Si potrebbe pensare quindi alla formazione di pernigranilina. Bisogna però tenere conto del fatto che si sta lavorando con aniline N-sostituite: in questo caso il sostituito alchilsilossanico potrebbe ostacolare la polimerizzazione in pernigranilina.

È stato osservato che la maggioranza degli ICP (politiofeni e polianiline in particolare) in metanolo danno colorazione rossa. Questo potrebbe spiegare la presenza del rosso acceso, invece del porpora tipico della pernigranilina.

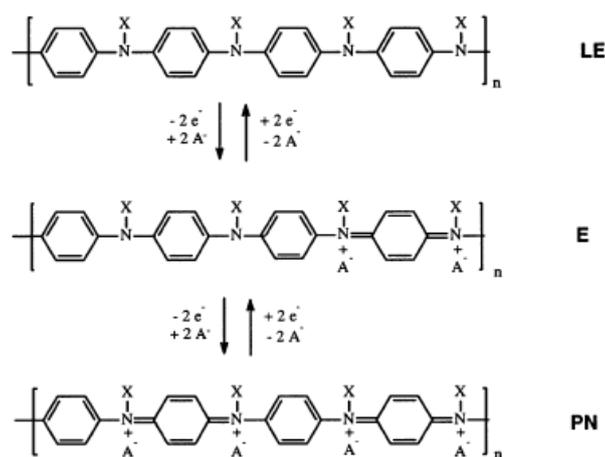


Figura 89 Meccanismo redox di aniline N-sostituite in soluzione con un contro ione (A^-). LE leucoemeraldina; E smeraldina, PN pernigranilina

La velocità di colorazione delle soluzioni sia di pirrolo che di pirroloTMS conferma la capacità di polimerizzare superiore all'anilina, visto che è noto che aumentando la coniugazione aumenta l'assorbimento nel visibile. Inoltre gli oligomeri in soluzione non aggregano e i campioni pur aumentando l'intensità del colore rimangono limpidi molto più a lungo. Questo è dovuto al fatto che le soluzioni sono maggiormente stabili perché nel pirrolo è principalmente la porzione organica che interagisce e reticola, mentre i silani (responsabili nell'anilina degli aggregati a diversa solubilità che rimangono in sospensione) condensano molto più lentamente.

Le scarse variazioni colorimetriche dell'ottilsilano, preso come riferimento, concordano con quanto ci si aspettava: non essendoci in questo caso la possibilità di una cross-polimerizzazione tra catene laterali aromatiche, non si osservano sostanziali cambiamenti di aspetto nel visibile. Le catene alchiliche non interagiscono tra loro, non possono oligomerizzare e non variano quindi l'assorbimento della soluzione. Solo a soluzione molto invecchiata si può notare un'opalescenza, dovuta però alla condensazione dei silos sani.

3.9.2 Spettroscopia UV-Vis delle soluzioni di organosilano

Dopo aver effettuato un'osservazione attenta della variazione dei colori delle soluzioni in analisi, si è passati a valutare i risultati ottenuti con la spettroscopia UV-Visibile.

La figura 90 mostra l'andamento progressivo degli spettri UV della soluzione di AnilinaTMS concentrata nel corso del mese di monitoraggio. Data la numerosità degli spettri ne sono stati riportati, come avverrà per gli altri campioni, solamente alcuni ad intervalli di tempo più o meno regolari. Lo spettro del giorno 1 mostra una larga banda di assorbimento tra i 210 e 330 nm circa; il segnale è totalmente saturo e di conseguenza non si può indicare il massimo di assorbimento. Per valutare questo assorbimento si vedrà la soluzione diluita. Il primo giorno non sono presenti altri assorbimenti. Il campione concentrato dopo una settimana inizia ad avere un assorbimento a 498 nm. Questo segnale, presumibilmente dovuto all'aumento della protonazione della catena di polianilina, aumenta di intensità con il progredire del monitoraggio a conferma della graduale polimerizzazione in atto. Infatti man mano che ci si allontana dal tempo zero cominciano a formarsi catene e trattandosi di anilina N-sostituita aumenteranno le unità chinoidi protonate [28] o in alternativa la protonazione dell'azoto dovuta a legami idrogeno con un'altra molecola di anilina TMS. Aumentando inoltre il periodo di esposizione a condizione ambiente, progredirà anche l'ossidazione, provocando transizione da emeraldina a pernigranilina, forma totalmente ossidata, maggiormente ricca quindi di cariche positive e chinoni.

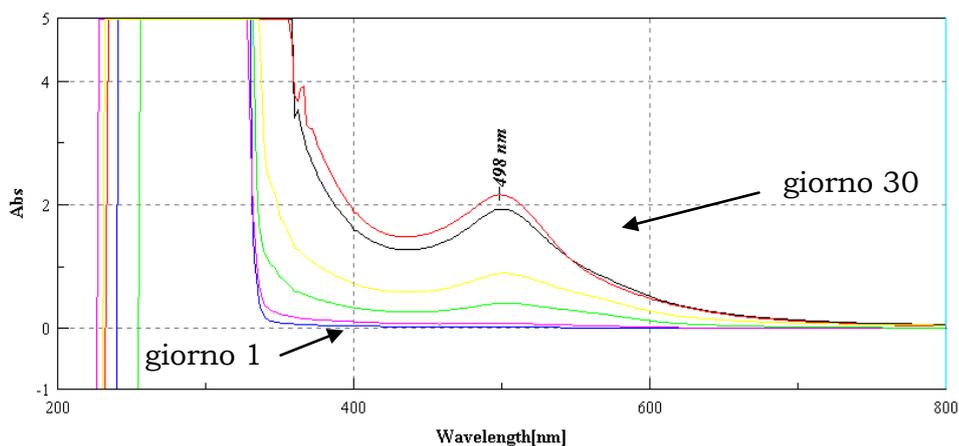


Figura 91 Spettri UV della soluzione concentrata di anilinaTMS

La figura 91 mostra gli spettri UV visibile relativi alla soluzione di AnilinaTMS diluita. Nella regione tra 210 e 330 nm in cui nella soluzione concentrata il segnale saturava, sono qui visibili due picchi di assorbimento. Come per il picco a 498 nm del campione non diluito, anche in questo caso l'intensità dei segnali aumenta con il tempo. Il picco a 248 nm è dovuto alla transizione $\pi \rightarrow \pi^*$ degli anelli benzenoidi; parallelamente aumenta il segnale a 296 nm dovuto secondo MacDiarmid alla pernigranilina. Lo spostamento verso stati di ossidazione maggiori fa presupporre da letteratura [29] uno slittamento dell'assorbimento a lunghezze d'onda minori. In effetti si può osservare un leggero *blue shift* della λ_{\max} di entrambe i picchi (fig. 91).

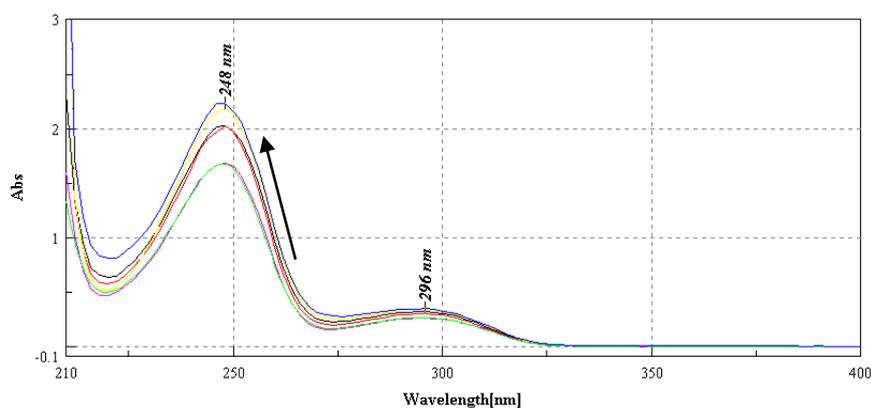


Figura 91 Spettri UV dell'anilinaTMS soluzione diluita

Ci si aspetta che gli spettri dell'anilina abbiano andamento paragonabile a quelli dell'anilinaTMS fatta salva un'eventuale influenza del sostituente. La soluzione di anilina concentrata (fig. 92) non mostra inizialmente nessun assorbimento eccetto che nella zona tra 210 e 330 nm in cui il segnale è saturo, così come avviene per l'anilinaTMS. Si può ugualmente notare un

accrescimento dell'assorbimento a circa 404 nm, assente il primo giorno e via via più intenso fino a raggiungere il suo massimo a circa 1.3 unità di assorbanza percentuale.

La lunghezza d'onda del picco in questo caso ha uno spostamento considerevole, di circa 100 nm, rispetto al picco della soluzione concentrata di anilinaTMS. Si può ipotizzare che il *red shift* dell'anilinaTMS sia dovuto alla presenza del sostituente. Se così fosse anche i picchi della soluzione diluita di anilina dovrebbero trovarsi a λ minori rispetto alla corrispondente soluzione di anilinaTMS.

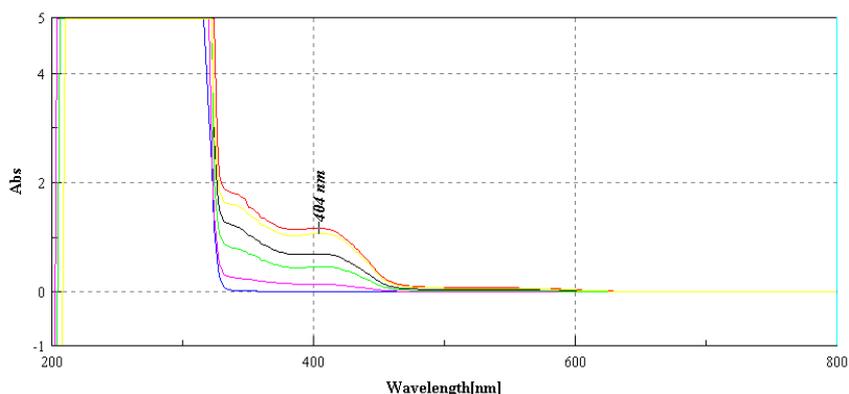


Figura 92 Monitoraggio UV della soluzione di anilina concentrata

Questo è quello che in effetti si verifica osservando la figura 93, in cui i picchi a 232 e 286 nm, dovuti ancora una volta alle transizioni $\pi \rightarrow \pi^*$, sono anch'essi a lunghezze d'onda minori che nell'anilinaTMS. Il risultato dell'effetto del sostituente è facilmente deducibile dalla figura 94 che mostra la sovrapposizione degli spettri di assorbimento delle due soluzioni diluite.

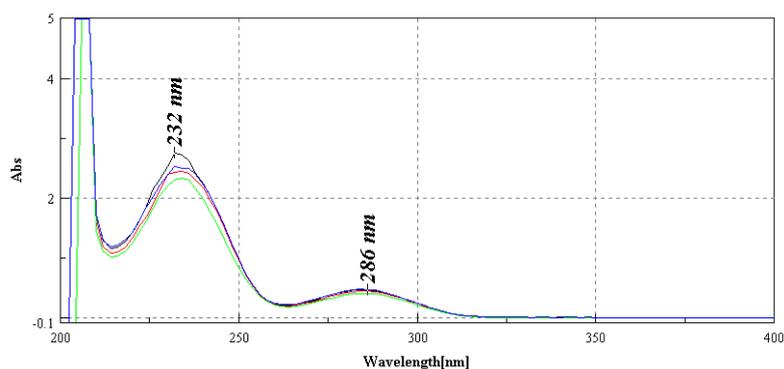


Figura 93 Spettri di assorbimento UV della soluzione di anilina diluita

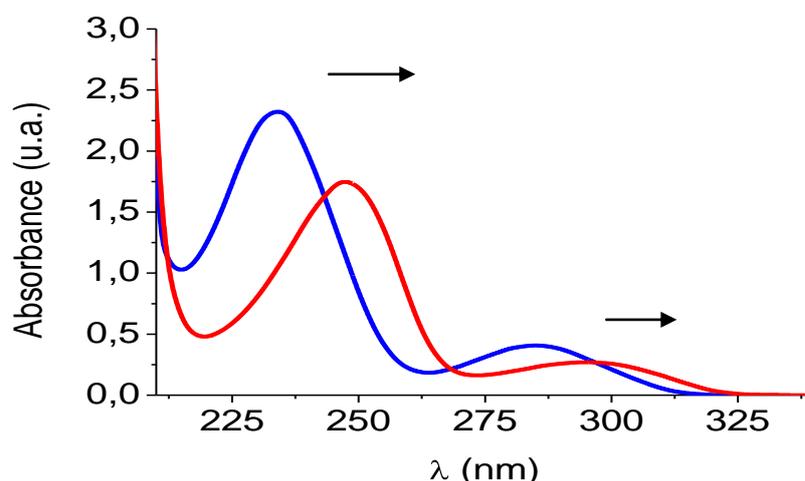


Figura 94 Sovrapposizione degli spettri delle soluzioni diluite di anilina (in blu) e anilinaTMS (in rosso)

Dal monitoraggio delle soluzioni di pirrolo e pirroloTMS si evince, analogamente a quanto succede per l'anilina, un incremento progressivo dell'intensità dei segnali.

Anche in questo caso i segnali a 458 e 484 nm ed a 436 e 460 nm, rispettivamente delle soluzioni concentrate del pirroloTMS e del pirrolo, sono dovuti all'aumento dei cationi del pirrolo e di conseguenza della lunghezza della catena polimerica. Diversamente che nei campioni di anilinaTMS, nello spettro del pirroloTMS si riesce a distinguere un picco indicativo della presenza di oligomeri in soluzione, picco che cade a 588 nm e che non compare nello spettro relativo al pirrolo non sostituito. Questo dato sembra sostenere l'ipotesi che il sostituito propiltrimetossisilosanico dia una maggiore stabilità agli oligomeri; inoltre ha un effetto batocromo rispetto all'assorbimento del campione di pirrolo poiché si ha un *red shift* della λ_{max} di circa 20 nm.

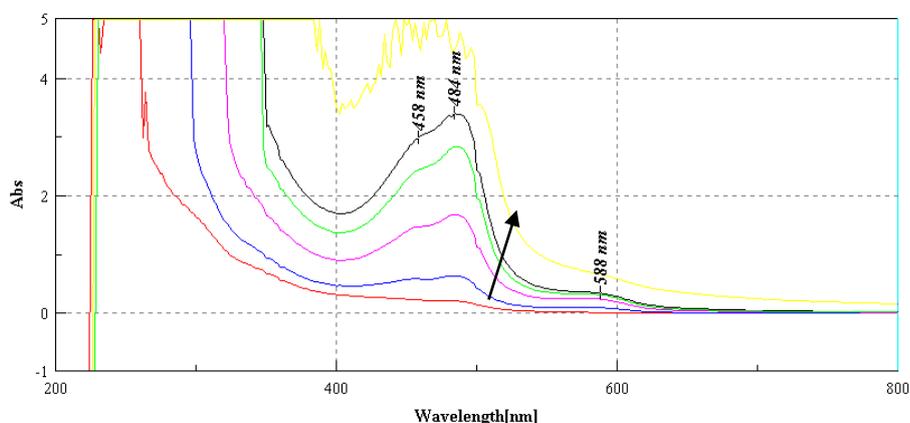


Figura 95 Spettri UV del pirroloTMS campione concentrato

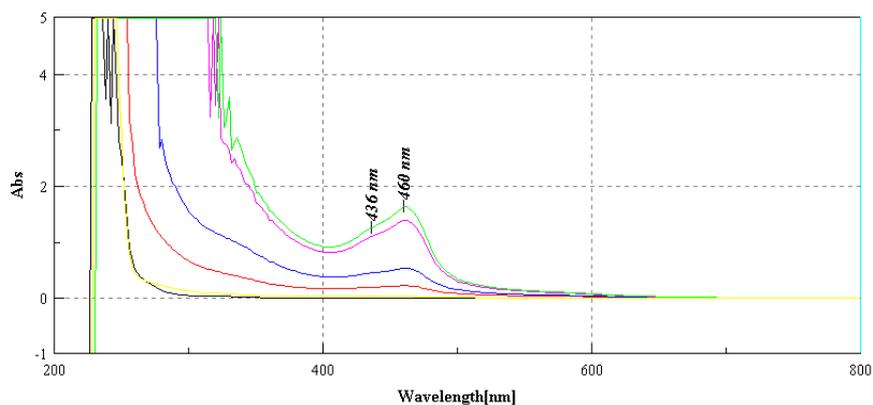


Figura 96 Spettri UV del pirrolo campione concentrato

Negli spettri delle soluzioni diluite sia del pirroloTMS che del pirrolo si vedono i segnali delle transizioni $\pi \rightarrow \pi^*$ caratteristici degli anelli aromatici a 244 nm e 292 nm. Nel primo caso i picchi crescono molto velocemente e si staccano maggiormente dalla linea di base mentre nel caso del pirrolo l'accrescimento è piuttosto lento e i segnali sono allargati e poco risolti. Questa osservazione fa pensare che la polimerizzazione avvenga più velocemente per il pirrolo sostituito. Ciò potrebbe essere dovuto ad un orientamento preferenziale grazie alla preventiva interazione tra gruppi silossanici.

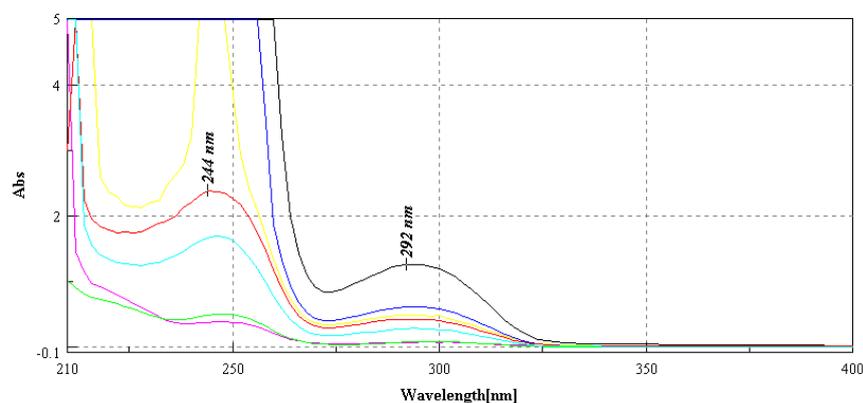


Figura 97 Monitoraggio UV della soluzione di pirroloTMS diluita 1:2000

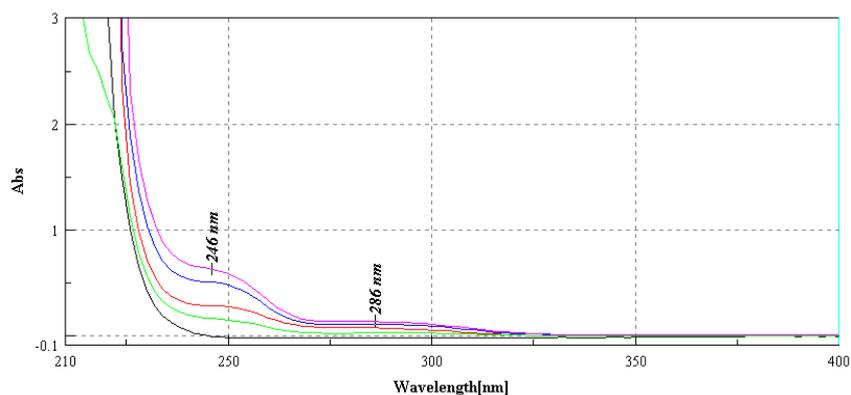


Figura 98 Monitoraggio UV della soluzione di pirrolo diluita 1:2000

Infine si è preso in considerazione l'ottiltrimetossisilano: lo scopo di questo monitoraggio era verificare che gli assorbimenti degli altri campioni fossero dovuti alle transizioni legate agli anelli aromatici. Se ciò fosse vero, negli spettri delle soluzioni di ottiTMS non dovrebbero comparire dei picchi. In fatti sia nella soluzione concentrata che nella diluita si ha una linea di base piatta e non si vedono assorbimenti.

I due spettri finali della figura 100 assumono andamento anomalo perché dopo circa due settimane di monitoraggio la soluzione si intorbida a causa di un probabile inizio di condensazione dei silossani.

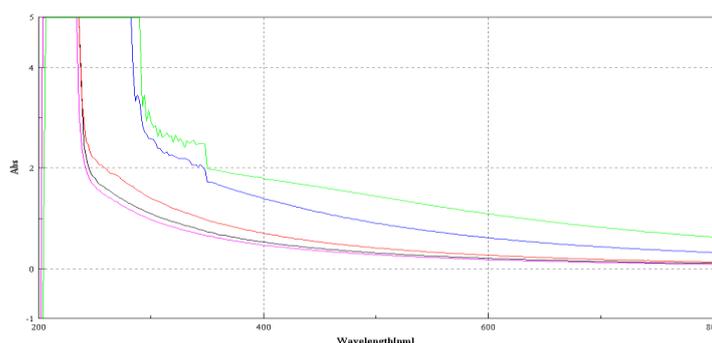


Figura 99 Spettri UV della soluzione di ottiTMS concentrata

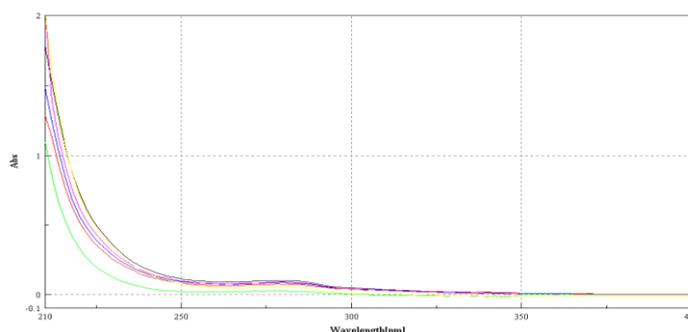


Figura 100 Spettri UV della soluzione di ottiTMS diluita 1:2000

Per il campione non aromatico concentrato si ha un allargamento della banda iniziale satura, così come per tutti gli altri campioni concentrati. Si pensa che questo progressivo spostamento sia dovuto alla polimerizzazione della parte silossanica della molecola. La figura 101 mostra la sovrapposizione degli spettri di anilina TMS, pirroloTMS e ottiTMS al giorno 15 così da sottolineare l'assenza degli assorbimenti nell'ultimo caso.

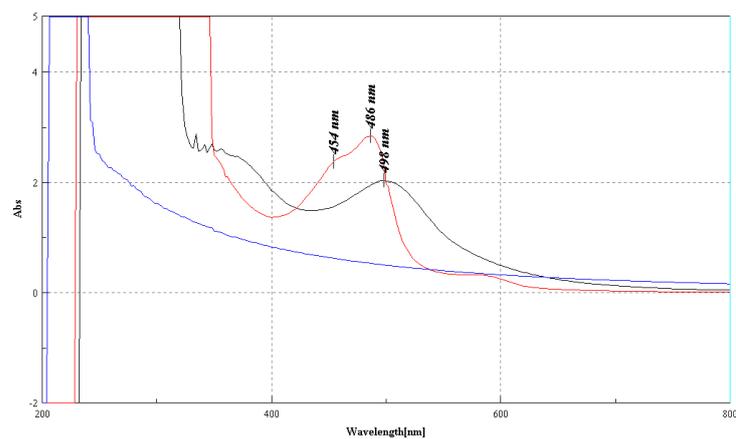


Figura 101 Spettri di AnilinaTMS (in nero), PirroloTMS (in rosso) e OttilTMS (in blu) acquisiti al 15° giorno di monitoraggio

3.10 Conclusioni e sviluppi futuri

Il metodo di *screening* messo a punto tramite spettroscopia DRIFT ha permesso, non avendo tecniche migliori a disposizione, di avere informazioni almeno sulla presenza e sulla risposta di un buon numero di molecole su diversi metalli. I monomeri come monocomponenti sono nella maggioranza dei casi discretamente osservabili. Si riesce a discriminare film preparati da poco da quelli che sono stati esposti all'ambiente. La tecnica si rivela invece molto meno utile per le miscele binarie e ternarie nelle quali individuare i singoli componenti risulta impossibile nella maggioranza dei casi.

Lo studio parallelo tra le soluzioni di rivestimento ed il film steso su metallo si è rivelato proficuo: è stato possibile evidenziare come già in soluzione si formino oligomeri con discreta velocità di concatenamento che vanno incontro ad ossidazione progressiva. Si ha infatti un aumento dell'intensità del colore delle soluzioni e dell'assorbimento imputato agli oligomeri, ma non uno *schift* né un cambio di colore, quindi non si ha un aumento della lunghezza della catena, ma un aumento della concentrazione di oligomeri. Questa osservazione è importante per capire le modalità di formazione del film: non saranno presumibilmente singoli monomeri organosilatici ad adsorbirsi e poi legarsi alla superficie del metallo, ma già oligomeri.

L'analisi in RAIRS ha avuto il notevole vantaggio, rispetto al campionamento DRIFTS già noto, di poter analizzare il film nel suo spessore. In questo modo si riesce ad avere un'idea della distribuzione dei legami silossanici e della dinamica di formazione della catena. Si ha in sostanza la conferma della formazione di un film più compatto in profondità con terminali non idrolizzati in superficie e della contemporanea reticolazione tra aniline.

È possibile osservare inoltre quale sia l'interazione tra il film e le differenti superfici metalliche: le leghe di alluminio 2024 e 6082 si rivelano essere i substrati migliori per adesione e compattezza del film, mentre il ferro si è osservato non essere facile al rivestimento sia con anilinaTMS sia con pirroloTMS, come già era intuibile dallo screening DRIFTS.

Lo zinco, contrariamente a quanto ci si aspettava da studi precedenti che accoppiavano zinco e organosilani non semiconduttori, sembra essere promettente come metallo da rivestire con polianilina e polipirrolo, meritando ulteriori indagini.

Gli obiettivi così raggiunti hanno portato all'idea di caratterizzare in futuro altri metalli rivestiti con anilinaTMS. In particolare si pensa di prendere nuovamente in considerazione il magnesio, i cui risultati non sono stati confortanti ad una prima indagine.

La spettroscopia UV sarà ulteriormente sfruttata nell'indagine per ottimizzare le soluzioni di rivestimento di partenza: si è già cominciato ad effettuare prove variando pH e percentuale di acqua. Risultati parziali indicano che la polianilina TMS sembri comportarsi come l'anilina e cioè aumenti l'oligomerizzazione al diminuire del pH.

Da questo progetto si è sviluppato poi un nuovo filone di ricerca che mirerà a sintetizzare diversi monomeri per le successive prove di rivestimento e corrosione, operando modifiche sulla molecola eterociclica base di polipirroloTMS e sperimentando inoltre altri etero cicli aromatici.

BIBLIOGRAFIA

- 1 R. Cozzi, P. Protti, T. Ruaro, "Analisi chimica strumentale – Metodi ottici ", 1997, Ed. Zanichelli
- 2 W.D. Perkins, *Fourier Transform-Infrared Spectroscopy ". Part I: Instrumentation*, 1986, Journal of Chemical Education 63, A5
- 3 *Appunti sullo stato solido cristallino*, Dipartimento di Chimica Generale, Università degli Studi di Pavia, Dispensa I.S.U., 1987
- 4 J.W. Shell, *X-ray and crystallographic applications in pharmaceutical research II. Quantitative X-ray diffraction*, J Pharm Sci, 1963, 52, 24-29
- 5 A. Stuetz, M. Grassberger, J.G. Meingassner, *Pimecrolimus (Elidel, SDZ ASM 981) - Preclinical pharmacologic profile and skin selectivity*, Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery, 2001, 20 (4), 233-241
- 6 T. Zuberbier, S. Chong, K. Grunow, S. Guhl, P. Welker, M. Grassberger, B.M. Henz, *The ascomycin macrolactam pimecrolimus (Elidel, SDZ ASM 981) is a potent inhibitor of mediator release from human dermal mast cells and peripheral blood basophils*, Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2001, 108 (2), 275-280
- 7 J.M. Spergel, *Pimecrolimus cream in the management of patients with atopic eczema*, Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology (2009), 2 85-93.
- 8 P. Gisondi , C. N. Ellis, G. Girolomoni, *Pimecrolimus in dermatology: atopic dermatitis and beyond*, International Journal of Clinical Practice, 2005, 59(8), 969-974
- 9 S. Weissenbacher , J. Merkl, B. Hildebrandt, *Pimecrolimus cream 1% for papulopustular rosacea: a randomized vehicle-controlled double-blind trial*, British Journal of Dermatology, 2006, 156 (4), 728-732
- 10 Tlacuilo-Parra, E. Guevara-Gutiérrez, F.Gutiérrez-Murillo, A.Soto-Ortiz, F.Barba-Gómez, M. Hernández-Torres, M. Salazar-Páramo, *Pimecrolimus 1% cream for the treatment of discoid lupus erythematosus*, Rheumatology, 2005, 44 (12), 1564-1568(5)
- 11 A review of pimecrolimus in treatment of vitiligo. Linchuang Pifuke Zazhi (2008), 37(7), 483-484. CODEN: LPZAEH ISSN:1000-4963. AN 2009:686261 CAPLUS
- 12 T. Passeron, J. Lacour, E. Fontas, J. Ortonne, *Treatment of Oral Erosive Lichen Planus With 1% Pimecrolimus Cream. A Double-blind, Randomized, Prospective Trial With Measurement of Pimecrolimus Levels in the Blood*, Arch Dermatol., 2007, 143(4), 472-476.
- 13 A.A. Lonsdale-Eccles, S. Velangi, *Topical pimecrolimus in the treatment of genital lichen planus: a prospective case series*, British Journal of Dermatology, 2005, 153 (2), 390-394

- 14 F.M. Arellano, C.E. Wentworth, A. Arana, C. Fernández, C.F. Paul, *Risk of Lymphoma Following Exposure to Calcineurin Inhibitors and Topical Steroids in Patients with Atopic Dermatitis*, Journal of Investigative Dermatology, 2007, 127, 808–816.
- 15 Benatti O F M, Miranda W G Jr., Muench A. *In vitro and in vivo corrosion of nickel-chromium- and copper-aluminum-based alloys*. J Prosthet Dent 2000;84;360-363.
- 16 Van Ooij W J, Zhu D, Palanivel V, Lamar A, Stacy M. *Overview: the potential of silanes for chromate replacement in metal finishing industries*, Silicon Chemistry 2006;3;11-30.
- 17 Beccaria A M, Chiaruttini L. The inhibitive action of metacryloxypropylmethoxysilane (MAOS) on aluminium corrosion in NaCl solutions. Corrosion Science 1999;41;885-899.
- 18 Hansen D C. *Metal corrosion in the human body: the ultimate bio-corrosion scenario*, The Electrochemical Society Interface 2008.
- 19 Ciéslak-Golonka M, *Toxic and mutagenic effects of chromium (VI): a review*, Polyhedron 1995;15;3667-3689.
- 20 Dayan A D, Paine A J. *Mechanisms of chromium toxicity, carcinogenicity and allergenicity: review of the literature from 1985 to 2000*, Hum Exp Toxicol 2001;20;439-451.
- 21 Federal Highway Administration. Report FHWA-RD-01-156: Corrosion cost and preventive strategies in the United States. McLean, Virginia;2001.
- 22 Sito della Ti.Pi.Ci. S.a.s., documento sulla corrosione: <http://www.tipici.net/corrosione/1Corrosione.pdf>. Ultima consultazione il 21/11/2011.
- 23 Lo K H, Shek C H, Lai J K L. *Recent developments in stainless steels*, Material Science and Engineering R 2009;65;39-104.
- 24 Trueba M, Trasatti S P. *Pyrrole-based silane primer for corrosion protection of commercial Al alloys. Part I: synthesis and spectroscopic characterization*, Progress in Organic Coatings 2009;66;254-264.
- 25 Zhu D (2005) *Corrosion protection of metals by silane surface treatment* [PhD dissertation] University of Cincinnati.
- 26 Guoli L et al. *Fabrication and adhesive properties of thin organosilane films coated on low carbon steel substrates*, Surface & Coatings Technology 2007;201;9571-9578.
- 27 Bertelsen C M, Boerio F J. *Linking mechanical properties of silanes to their chemical structure: an analytical study of γ -GPS solutions and films*, Progress in Organic Coatings 2001;41;239-246
- 28 T. Lindford, A. Ivaska, *Potentiometric and UV-vis characterization of N-substituted polyanilines*, J. Electroanalytical Chemistry 2002, 535, 65-74
- 29 A. G. MacDiarmid et al, *Study of the interconversion of polyaniline oxidation states by optical absorption spectroscopy*, Synthetic Metals, 2004, 146, 1-10