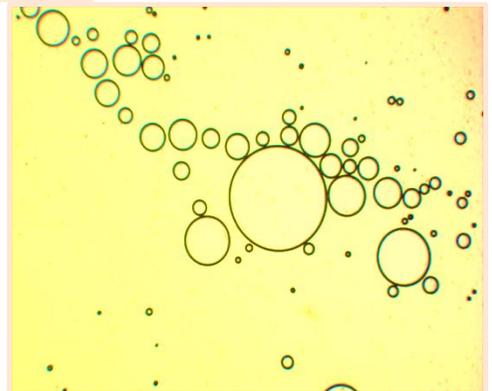
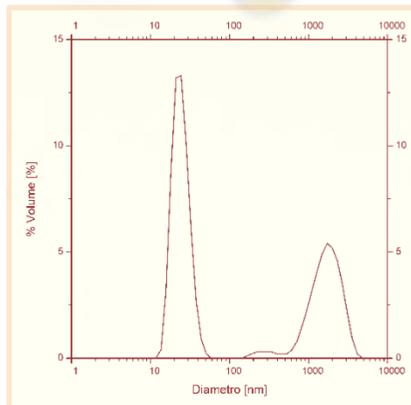


Studio delle condizioni operative per la produzione di emulsioni O/W per uso zootecnico



Giuseppe Adinolfi



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SALERNO

Dipartimento di Ingegneria Industriale

Corso di Laurea in Ingegneria Chimica

**Studio delle condizioni operative
per la produzione di emulsioni O/W
per uso zootecnico**

Tesi in

Principi di Ingegneria Chimica

Relatori:

Prof. Ing. Gaetano Lamberti

Ing. Sara Cascone

Candidato:

Adinolfi Giuseppe

Matricola: 0612200972

Anno Accademico 2016/2017

Ai miei nonni.

Questo testo è stato stampato in proprio, in Times New Roman

La data prevista per la discussione della tesi è il 21/02/2018

Fisciano, 14/02/2018

Sommario

Sommario	I
Indice delle figure	V
Indice delle tabelle	IX
Abstract	XI
Introduzione.....	1
1.1 Le emulsioni: Caratteristiche generali	2
1.1.1 Definizione di emulsione _____	2
1.1.2 Dimensione delle gocce _____	3
1.2 Stabilità e fenomeni di destabilizzazione.....	5
1.2.1 Stabilità _____	6
1.2.2 Ostwald ripening _____	7
1.2.3 Flocculazione _____	8
1.2.4 Coalescenza _____	9
1.2.5 Parziale coalescenza e inversione di fase _____	10
1.2.6 Creaming/Sedimentazione _____	11
1.3 Stabilizzazione di un'emulsione	12
1.3.1 I tensioattivi _____	12

1.4 Campi di applicazione	15
1.4.1 Emulsionanti per uso alimentare _____	15
1.4.2 Emulsionanti per uso zootecnico _____	16
1.5 Metodi di preparazione	17
1.5.1 Generalità _____	17
1.5.2 Omogeneizzazione ad ultrasuoni _____	17
1.5.3 Omogeneizzazione ad alti shear _____	18
1.6 Tecniche di caratterizzazione di un'emulsione	19
1.6.1 Microscopia _____	19
1.6.2 Light scattering _____	20
1.6.3 Torbidità _____	21
1.7 Obiettivi	22
Materiali, apparecchiature e metodi.....	23
2.1 Materiali utilizzati.....	24
2.1.1 Le due fasi: ricetta dell'emulsione _____	24
2.1.2 Tensioattivi: Geronol – Tween 20 _____	25
2.1.3 MCFA _____	26
2.2 Apparecchiature utilizzate per la preparazione	27
2.2.1 Omogeneizzatore ad ultrasuoni _____	27
2.2.2 Omogeneizzatore ad alti shear _____	28
2.3 Strumenti utilizzati per la caratterizzazione delle emulsioni	28
2.3.1 Nefelometro _____	29
2.3.2 Nano zeta-sizer _____	30
2.4 Metodi di preparazione delle emulsioni.....	32

2.4.1 Preparazione dei campioni _____	32
2.5 Metodi di caratterizzazione	32
2.5.1 Dynamic lighth scattering (DLS) _____	33
2.5.2 Torbidità _____	34
2.6 Metodi di analisi sperimentale	34
2.6.1 Design of experiments _____	35
2.6.2 Secondo set sperimentale _____	39
2.7 Energia dell'omogeneizzatore ad alti shear	40
2.7.1 Calcolo dell'energia meccanica trasferita dall'omogeneizzatore ad alti shear al fluido _____	40
Risultati e discussione	43
3.1 Calcolo energia fornita al fluido dall'omogeneizzatore ad alti shear	44
3.2 Analisi dei dati: generalità e considerazioni	45
3.2.1 I tensioattivi: dimensioni micellari minime _____	45
3.2.2 Analisi PSD _____	46
3.3 Analisi sperimentale: Set Sperimentali	47
3.3.1 Primo set sperimentale _____	47
3.3.2 Secondo set sperimentale _____	51
3.3 Stabilità delle emulsioni	55
3.3.1 Stabilità delle emulsioni prodotte _____	55
Conclusioni	57
4.1 Conclusioni	58
Bibliografia	61

Indice delle figure

Figura 1 Foto di un'emulsione O/W con ingrandimento 4x scattata al microscopio ottico. Sono ben evidenti gocce di dimensioni differenti.....	3
Figura 2 Media, mediana e moda su generica distribuzione monodispersa.....	5
Figura 3 Schema dei possibili fenomeni di destabilizzazione di un'emulsione [1].	6
Figura 4 Schema del fenomeno di Ostwald Ripening.	8
Figura 5 Schema del fenomeno di coalescenza. In alto una coalescenza omogenea, in basso una coalescenza eterogenea.	10
Figura 6 Rappresentazione schematica del fenomeno di "creaming". (I) il sistema è nelle condizioni iniziali (unica fase); (II) il sistema ad un tempo intermedio (tre fasi); (III) il sistema nelle condizioni finali (due fasi).	11
Figura 7 (a) Molecole di tensioattivo singole. (b) Struttura micellare sferica.	13
Figura 8 La figura mostra la diversa tipologia di "testa" di un tensioattivo e il tipo di carica in essa contenuta.	14
Figura 9 Schema delle diverse proprietà tensioattive in relazione all'HLB del surfactante.	15
Figura 10 Schema di produzione di un'emulsione con metodo ad alti shear. Si nota il passaggio di strutture micellari grandi attraverso l'impeller dell'omogeneizzatore, riducendo in tal modo il diametro delle micelle [Emulsion Formation- Homogenization-13,14 November 2008-Amherst,MA-Jochen Weiss]......	19
Figura 11 Struttura generale del surfactante Tween20	25
Figura 12 Struttura generale del surfactante Geronol	26
Figura 13 Omogeneizzatore ad ultrasuoni VCX 130 PB 130 W, 20 kHz, Sonics & Materials Inc.....	27
Figura 14 Omogeneizzatore ad alti shear, OV5 Velp Scientifica e relativo impeller mod: A0000032-VSS2FMR2 utilizzato e montato su agitatore OV5-Velp Scientifica	28
Figura 15 Schema di funzionamento semplificato di un nefelometro	29
Figura 16 Nefelometro PCE-TUM 20 e relative soluzioni per la calibrazione (0NTU - 100NTU).....	30

Figura 17 Nano zeta-sizer [1212]	31
Figura 18 Schema di funzionamento DLS [13]	34
Figura 19 Schermata dell'applicativo Matlab R2017a che sintetizza il flow chart del One Stage Model	36
Figura 20 Schermata dell'applicativo Matlab R2017a (MBC) durante la progettazione del design sperimentale (SET1)	37
Figura 21 Area degli esperimenti secondo il modello RSM-Box-Behnken a tre fattori. I tre livelli sono indicati da (-1,0,1) mentre i fattori sono indicati con le lettere (A,B,C). Notare come i punti sperimentali sono 13 [15].	37
Figura 22 Set sperimentale a 3 fattori (3 livelli per ogni fattore) progettato con Classical Design in applicativo Matlab R2017a	38
Figura 23 Grafico Tempo-Temperatura ottenuto attraverso l'analisi dei dati ricavati dall'esperimento esplicito al capitolo 2.7.1	44
Figura 24 Grafico Diametro-%Volume dei campioni formati da fase acquosa e tensioattivo.	46
Figura 25 A sx: Curva %Volume-Diametro. A dx: Grafico curva cumulativa della curva %Volume-Diametro. E' indicato il valore di "plateau" considerato come risposta del sistema ed identificato dalla lettera Y.	47
Figura 26 A dx: Grafico Energia/Volume ottenuto con metodo di produzione ad ultrasuoni. A sx: Grafico Energia/Volume ottenuto con metodo di produzione ad alti shear.....	48
Figura 27 A sx: Grafico Y(X1) per metodo di omogeneizzazione ad ultrasuoni. A dx: Grafico Y(X1) per metodo di omogeneizzazione ad alti shear.....	49
Figura 28 A sx: Grafico Y(X2) per metodo di omogeneizzazione ad ultrasuoni. A dx: Grafico Y(X2) per metodo di omogeneizzazione ad alti shear.....	50
Figura 29 A sx: Grafico Y(X3) per metodo di omogeneizzazione ad ultrasuoni. A dx: Grafico Y(X3) per metodo di omogeneizzazione ad alti shear.....	51
Figura 30 A dx: Grafico Energia/Volume ottenuto con metodo di produzione ad ultrasuoni. A sx: Grafico Energia/Volume ottenuto con metodo di produzione ad alti shear.....	53
Figura 31 Campioni di emulsioni a confronto. Sx: Campione di emulsione prodotto con metodo ad ultrasuoni. L'emulsione appena prodotta si presenta limpida. Dx: Campione di emulsione prodotto con metodo ad ultrasuoni. L'emulsione prodotta presenta una torbidità elevata.	53
Figura 32 A sx: Grafico Y(X1) per metodo di omogeneizzazione ad ultrasuoni. A dx: Grafico Y(X3) per metodo di omogeneizzazione ad alti shear.....	54
Figura 33 A sx: Grafico Y(X1) per metodo di omogeneizzazione ad ultrasuoni. A dx: Grafico Y(X3) per metodo di omogeneizzazione ad alti shear.....	54
Figura 34 Sedimenti della fase acquosa precipitati sul fondo della provetta corning utilizzata per la conservazione dei campioni.	56

Figura 35 Emulsioni prodotte con metodo ad ultrasuoni. Da notare come la separazione di fase è più spinta all'aumentare del quantitativo di MCFA aggiunto (il quantitativo di MCFA aumenta da sinistra verso destra). 56

Indice delle tabelle

Tabella 1 Materie prime e relative percentuali in peso della ricetta utilizzata per la preparazione della fase acquosa (ricetta fornita da Farmer)	24
Tabella 2 Materie prime e relative percentuali in peso della ricetta utilizzata per la preparazione della fase oleosa (ricetta fornita da Farmer)	24
Tabella 3 Caratteristiche generali di Geronol e Tween20	26
Tabella 4 Schema riassuntivo del primo set sperimentale (SET1). In tabella sono riportati i livelli considerati e i rispettivi valori (variabili)	38
Tabella 5 Quantità di base per la preparazione di ogni campione	39
Tabella 6 Set sperimentale 1 e relative quantità di tensioattivo ed MCFA utilizzate per ogni campione. Il rapporto olio/tensioattivo è tenuto sempre costante a 2:1	39
Tabella 7 Schema riassuntivo del secondo set sperimentale (SET2). In tabella sono riportati i livelli considerati e i rispettivi valori (variabili)	40
Tabella 8 Set sperimentale 2 e relative quantità in grammi di Tensioattivo ed MCFA utilizzati per ogni campione	40
Tabella 9 Risultati di energia fornita per unità di volume e di torbidità per entrambi i metodi di preparazione utilizzati.	48
Tabella 10 Risultati di energia fornita per unità di volume e di torbidità per entrambi i metodi di preparazione utilizzati durante la prima prova della seconda fase sperimentale.	52
Tabella 11 Risultati di energia fornita per unità di volume e di torbidità per entrambi i metodi di preparazione utilizzati durante la seconda prova della seconda fase sperimentale.	52

Abstract

In this work have been oil-in-water emulsions based on vitamins and fatty acids for zootechnical use produced and characterized. The main objective was to optimize the operating parameters for the production process. An ultrasonic emulsification process and a high shear homogenization process were used in order to produce emulsions containing large quantities of micelles with an average nanometer diameter. Another objective was to increase, compared to the initial recipe provided by Farmer spa, (the research project partner company) the fat content of the final emulsion and decrease the amount of Tween20 in the mixture of surfactants. The raw materials such as aqueous phase, oil phase, surfactants (Etoxylated sorbitan monolaurate (Tween 20) and Glico-polyethylene glyceryl-monoricinoleate (Geronol)) and medium chain fatty acids (MCFA) were supplied by Farmer spa

The analytical techniques used in this work are the analysis of the samples using the Zeta-Sizer, the analysis to the nephelometer and a visual analysis to evaluate the stability of the emulsions in terms of phase separation. Therefore, a first experimental set was defined through the DOE of Box-Behnken using the Matlab application. Although the number of experiments has been significantly reduced, the information has allowed us to understand the dynamics of the emulsification process and the interactions between the operating conditions such as time, the ratio of the Tween20 / Geronol surfactant mixture and the quantity of MCFA added to the basic formula.

Data from the first experimental set showed interesting but not fully satisfactory results. In particular, it has been concluded that samples containing a mixture of surfactants with a greater amount of Tween20 (Twe.20 / Ger 75:25) have a better diameter distribution (particularly in the ultrasonic production method) and a plateau of the highest

cumulative curve with respect to the other samples containing a lower amount of the Tween20. It has been noted that the emulsions produced with a ratio of surfactants of 50:50 still had satisfactory values. Therefore it was decided to maintain a ratio of surfactants of 50:50 (even if the final quality of the emulsion is slightly lower) in order to decrease the content in Tween20 in the final emulsion. The stirring time (10, 20, 40 seconds) did not show in the first experimental phase appreciable results of the qualitative parameters of the emulsions produced. Therefore, during the second experimental phase, the emulsification times increased to 60 and 90 seconds. The amount of MCFA did not show any appreciable results in terms of PSD, however, a higher phase separation of the samples with a higher quantity of MCFA was found. It was therefore decided to decrease the MCFA content in the samples analyzed in the second experimental set. These values were varied from 0, 750 and 1500mg to 0, 250 and 500mg.

The second experimental set was carried out completely. The information obtained on the data of PSD led to the conclusion that for longer stirring times the quality of the emulsions produced is better, even if the stability over time is not affected appreciably. The amount of MCFA added compared to the basic recipe also does not have any particular influence on the final product in this case. Therefore it is concluded that the use of 750 mg of additional MCFA with respect to the basic recipe is the most appropriate choice according to the objectives of this work.

In conclusion, emulsions produced with greater stirring times produce better results. The amount of Tween20 can be reduced in the surfactant mixture to 50:50 producing results similar to the emulsions containing a content greater than Tween20 although in the latter case the emulsions are more stable and with a better micellar diameter distribution. The MCFA content does not influence the micellar diameter distribution in small quantities but shows a sensitive effect on the stability over time. Important result in industrial terms is that the high shear and ultrasonic method used have for each sample, very similar micellar diameters, with the relevant difference that the high shear method uses a smaller quantity of energy supplied to the system per unit of volume. High shear production is therefore more efficient in terms of energy consumption.

Bibliografia

1. McClements, D.J. (1999) Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques. CRC Press.
2. McClements, D.J. (2007) Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Departement of Food Science, University of Massachusetts, Amherst, MA 01003, USA
3. Bernard P. Binks (1997) Modern Aspects of Emulsions Science.
4. Parker, A., Gunning, P.A., Ng. , K. , and Robins, M.M. (1995) How does xanthan stabilise salad dressing? Food Hydrocolloids, 9:333-342.
5. Rosseau, D.(2000) Fat crystals and emulsion stability: A review. Food Res. Int. 33:3-14.
6. Walstra, P. (2003) Physical Chemistry of Foods. New York, NY.: Marcel Decker.
7. Essam Hebishy, Martin Buffa, et al. (2016) LWT - Food Science and Technology. Ultra high-pressure homogenized emulsions stabilized by sodium caseinate: Effects of protein concentration and pressure on emulsions structure and stability.
8. Laura Lee, Ian T. Norton. (2012) School of Chemical Engineering, University of Birmingham, Edgbaston B15 2TT, UK. Comparing droplet breakup for a high-pressure valve homogeniser and a Microfluidizer for the potential production of food-grade nanoemulsions.
9. Alexander, M. and Dalgleish, D.G. (2006) Dynamic lighth scattering techniques and their applications in food science. Food Biophysics, 1:2-13.
10. S. R. Reddy and H. S. Fogler. (1980) Department of Chemical Engineering, The University of Michigan, Ann Arbor,

- Michigan 48109. Emulsion Stability: Determination from Turbidity.
11. Fernando Leal-Calderon, Véronique Shmitt, Jérôme Bibette (2007) Emulsion Science Basic Principles 2nd Edition
 12. Sito ufficiale Malvern – www.malvern.com
 13. Dr. Gunther Crolly, Fritsch GmbH, Milling and Sizing-Dynamic Light Scattering (DLS)
 14. Box GEP, Benhken DW. Technometrics 1960;2:195
 15. <http://www.weibull.com/hotwire/issue130/hottopics130.htm>
-

I ringraziamenti non possono che essere anzitutto rivolti al Prof. Gaetano Lamberti per avermi dato la possibilità di lavorare con il suo gruppo di ricerca, per aver messo a mia disposizione la sua professionalità e le sue affermate conoscenze nel settore dell'Ingegneria Chimica.

Ringrazio l'ingegnere Sara Cascone per avermi seguito, supportato e sopportato durante questo percorso. Vorrei inoltre ringraziarla per la sua estrema comprensione dei miei momenti difficili e per i quintali di pazienza avuti con me.

Ringrazio mio padre per il suo instancabile senso del dovere, per aver fatto migliaia e migliaia di chilometri. Tanta strada fatta per permettermi di vivere, crescere, sbagliare e studiare in tutta tranquillità. Grazie per esserti sacrificato per me, per permettermi di raggiungere i miei obiettivi.

Ringrazio mia mamma, mia fan accanita, per non aver mancato mai una mattina di svegliarsi prima di me e farmi trovare tutto pronto, colazione inclusa e permettermi di affrontare un'altra giornata di università in tutta comodità: un principe! Grazie per esserti preoccupata (anche fin troppo) per ogni ostacolo che ho affrontato, per ogni esame che ho fatto, per avermi sostenuto in ogni momento. Infine, grazie per avermi permesso di scegliere in totale autonomia il mio percorso di studi e di vita, sostenendo ogni mia scelta.

Ed infine, beh gli amici... Ringrazio tutte le persone che anche per un caffè hanno condiviso con me questo lungo percorso. Le persone con cui ho condiviso gioie, dolori, pensieri. I miei colleghi di laboratorio Dario e Paolo. Soprattutto ringrazio Anna, Manuela, Gianfranco, Chiara, Luigi, Valentina, Imma e Giulia per esserci stati chi più chi meno nei miei momenti peggiori, per aver condiviso con me questo "infinito" percorso ma soprattutto grazie per tutti i momenti trascorsi insieme durante le lunghe giornate affrontate nella giungla universitaria!

Ringrazio Pasquale e gli chiedo scusa per i miei perenni ritardi (cinque minuti e sto lì!), per le giornate trascorse insieme, per essermi stato vicino in un momento delicatissimo della mia vita. Ci aspetta una piscina privata a Cuba, drink, occhiali da sole e tante ragazze! Ahaha.

Ringrazio Pietro, un amico "trovato" per caso ma che ha preso un posto importante nella mia vita. Grazie per avermi ascoltato,

consigliato e sopportato. Grazie per aver condiviso con me l'esperienza d'esser single! Ahahah.

L'amico di sempre, Vincenzo. Beh ti ho già ringraziato tante e tante volte quindi nessun ringraziamento per te ma ho solo da dirti "Prepara le valige, si parte per l'Oriente!"

Vorrei ringraziare infine me stesso, per aver creduto nelle mie capacità, per aver perseverato anche quando l'intenzione di mollare è stata forte, per aver perseguito i miei obiettivi e averli raggiunti, per essere stato sempre me stesso, per aver dato tutto ciò che potevo ad ogni persona o occasione.

- Ogni traguardo non è mai un punto di arrivo ma sempre un punto di partenza! Urlando contro il cielo dico che: Il meglio deve ancora venire! -

