



# STUDIO DELLE CONDIZIONI OPERATIVE NELLA PRODUZIONE DI LIPOSOMI CON MIXER COASSIALE

Antonio Ventola

## Abstract

I liposomi rappresentano strutture vescicolari di dimensioni ridotte, in grado di racchiudere e trasportare principi attivi o altre sostanze. La comprensione delle proprietà fisiche di tali sistemi risulta essenziale per ottimizzarne le applicazioni. La produzione è stata realizzata utilizzando lecitina di soia ed etanolo, con estrazione della fosfatidilcolina e impiegando un mixer a getto coassiale. Nel presente lavoro di tesi è stato analizzato l'effetto delle condizioni operative (portata di etanolo, portata d'acqua e concentrazione di fosfatidilcolina) sulle proprietà dei liposomi, valutando quattro diverse risposte sperimentali: *Z-Average*, PDI, Picco Principale, *Z-Potential*. Per ottimizzare il piano sperimentale, si è adottato un *Box-Behnken Design*, riducendo il numero di prove rispetto a un disegno *full factorial*. Le misurazioni effettuate mediante *Zetasizer* hanno permesso di estrapolare i dati necessari alla costruzione di modelli predittivi per le risposte. I risultati modellistici, ottenuti conducendo un'analisi monovariata e ricorrendo ad un approccio *Top-down*, hanno evidenziato che lo *Z-Average*, nel range di parametri analizzato, dipende esclusivamente dalla portata interna e dalla concentrazione e che questa influenza fortemente lo *Z-Potential*; in linea generale, la portata d'acqua si è rivelata la variabile con il minor impatto sulle risposte. Per poter poi produrre liposomi piccoli, soffermando l'attenzione su *Z-Average*, occorre muoversi nell'intorno di basse concentrazioni di fosfatidilcolina e alti valori di portata interna. Invece, per dar luogo a liposomi stabili in termini di *Z-Potential*, è necessario condurre esperimenti utilizzando un'elevata concentrazione. Infine, attraverso un'analisi multivariata, è stata valutata la correlazione tra le diverse variabili dipendenti, rilevando una forte associazione tra il Picco Principale e *Z-Average*, oltre a una correlazione complessivamente significativa tra tutte le risposte. Questi risultati forniscono un quadro dettagliato delle relazioni tra le variabili in gioco e costituiscono un importante riferimento per l'ottimizzazione dei processi di produzione dei liposomi.

---

<sup>1</sup> Relatori: Prof. Ing. Diego Caccavo, Prof. Ing. Gaetano Lamberti, Ing. Luca Broegg

## 5. Conclusioni

I liposomi rappresentano strutture vescicolari di dimensioni ridotte, caratterizzate dalla presenza di uno o più doppi strati fosfolipidici che delimitano un compartimento interno di natura acquosa. Questa peculiare organizzazione consente loro di mantenersi in sospensione in un mezzo acquoso mentre racchiudono e trasportano principi attivi o altre sostanze. La comprensione delle proprietà fisiche di tali sistemi risulta essenziale per ottimizzarne le applicazioni, in quanto tali caratteristiche influenzano direttamente la loro stabilità, biodisponibilità ed efficacia. La produzione dei liposomi è stata realizzata utilizzando lecitina di soia ed etanolo, con estrazione della fosfatidilcolina, componente principale della fase fosfolipidica. Nel presente lavoro di tesi è stato analizzato l'effetto delle condizioni operative sulle proprietà dei liposomi, valutando quattro diverse risposte sperimentali: *Z-Average*, PDI, Picco Principale, *Z-Potential*. A tal fine, sono state considerate tre variabili indipendenti, ciascuna delle quali è stata studiata a 3 distinti livelli, determinando così una variazione controllata dei parametri di processo: portata di etanolo, portata d'acqua e concentrazione di fosfatidilcolina. La produzione dei liposomi è stata realizzata impiegando un mixer a getto coassiale, una tecnologia avanzata che consente di ottenere produzione altamente controllate attraverso un processo di miscelazione estremamente efficiente tra le fasi coinvolte. Per l'ottimizzazione del piano sperimentale, si è adottato un *Box-Behnken Design*, il quale consente di ridurre il numero di prove rispetto a un disegno *full factorial*, garantendo al contempo informazioni statisticamente significative e utili all'analisi. Le misurazioni effettuate mediante *Zetasizer* hanno permesso di estrapolare i dati necessari alla costruzione di modelli predittivi per ciascuna delle risposte analizzate, fornendo una base solida per eventuali approfondimenti e considerazioni future. Nell'ottica di voler conseguire tale scopo, è stata intrapresa inizialmente un'analisi monovariata utilizzando un approccio *top-down*: partendo da una panoramica più complessa e articolata, è stato possibile elaborare in conclusione un modello capace di adattarsi alle specifiche esigenze di ogni singola risposta. Una successiva analisi multivariata infine ha consentito di esaminare l'influenza delle variabili indipendenti sulle risposte, valutate però simultaneamente, e di evidenziarne anche la loro interdipendenza reciproca. I risultati modellistici ottenuti hanno evidenziato, ad esempio, che lo *Z-Average*, nel range di parametri analizzato, dipende esclusivamente dalla portata interna e dalla concentrazione e che questa influenza fortemente lo *Z-Potential*; inoltre, in linea generale, la portata d'acqua si è rivelata la variabile con il minor impatto sulle risposte esaminate. Per poter poi produrre liposomi piccoli, soffermando l'attenzione su *Z-Average*, occorre muoversi nell'intorno di basse concentrazioni di fosfatidilcolina e alti valori di portata interna. Invece, per

dar luogo a liposomi stabili in termini di *Z-Potential* (alto nel suo valore assoluto), è necessario condurre esperimenti utilizzando un'elevata concentrazione.

Infine, attraverso un'analisi multivariata, è stata valutata la correlazione tra le diverse variabili dipendenti, rilevando una forte associazione tra il Picco Principale e *Z-Average*, oltre a una correlazione complessivamente significativa tra tutte le risposte, con coefficienti mai inferiori a 0.44. Questi risultati forniscono un quadro dettagliato delle relazioni tra le variabili in gioco e costituiscono un importante riferimento per l'ottimizzazione dei processi di produzione dei liposomi.

## Bibliografia

1. Mypersonaltrainer, T., *Liposomi*. 2020: <https://www.mypersonaltrainer.it/fisiologia/liposomi.html>.
2. Barba, A.A., et al., *Lipid Delivery Systems for Nucleic-Acid-Based-Drugs: From Production to Clinical Applications*. Pharmaceutics, 2019. **11**(8): p. 360.
3. Panalytical, M., *Size: What is the z-average?* [https://www.malvernpanalytical.com/en/learn/knowledge-center/faqs/faq0015averagediameter#:~:text=The%20z%20average%20is%20the,dynamic%20light%20scattering%20\(DLS\)](https://www.malvernpanalytical.com/en/learn/knowledge-center/faqs/faq0015averagediameter#:~:text=The%20z%20average%20is%20the,dynamic%20light%20scattering%20(DLS)).
4. Microtrac. *Misura del potenziale zeta*. n.d. [cited 2025 25/03/2025]; Available from: <https://www.microtrac.it/it/prodotti/potenziale-zeta/>.
5. Schwendener, R.A., *Liposomes in biology and medicine*. Bio-Applications of Nanoparticles, 2007: p. 117-128.
6. A., L., et al., *Preparation, Characterization and Applications of Liposomes: State of the Art*. Journal of Colloid Science and Biotechnology, 2012. **1**: p. 147–168.
7. Trucillo, P., R. Campardelli, and E. Reverchon, *Liposomes: From Bangham to Supercritical Fluids*. Processes, 2020.
8. Lim, J.-M., et al., *Ultra-High Throughput Synthesis of Nanoparticles with Homogeneous Size Distribution Using a Coaxial Turbulent Jet Mixer*. 2014.
9. De Caro, C., *Characterization of a coaxial injection mixer for continuous production of nanoparticles*, in *Industrial Engineering*. 2023, Università degli studi di Salerno. p. 92.
10. Céréal, R. *Lecitina di soia: cos'è e a cosa serve*. s.d.; Available from: <https://www.cereal.it/blog/dieta-e-alimentazione/lecitina-di-soia-cose-e-a-cosa-serve/>.
11. Science, I. *Scheda Informativa sui gas: Etanolo*. s.d.; Available from: <https://ionscience.com/it/schede-informative-sul-gas/rilevamento-etanolo/>.
12. Bochicchio, S., et al., *Design and production of hybrid nanoparticles with polymeric-lipid shell-core structures: conventional and next-generation approaches*. RSC Advances, 2018. **8**(60): p. 34614-34624.
13. Unifi, D.d.C. *Guida pratica di utilizzo Zetasizer Pro Red Lab*. 2024; Available from: [www.chim.unifi.it](http://www.chim.unifi.it).
14. Ceitec Nano, M.E.L.K.T.N. *ZetaSizer Ultra - Malvern (ZETASIZER)*. Available from: <https://nano.ceitec.cz/zetasizer-ultra-malvern-zetasizer/>.
15. Caccavo, D., G. Lamberti, and A.A. Barba, *Coaxial Injection Mixer for the Continuous Production of Nanoparticles*. Chemical Engineering Transactions, 2023. **100**: p. 301-306.
16. Kechagias, J.D. and N. Vidakis, *Parametric optimization of material extrusion 3D printing process: an assessment of Box-Behnken vs. full-factorial experimental approach*. The International Journal of Advanced Manufacturing Technology **2022**. Vol. **121**: p. 3163–3172.
17. Marrone, E., *Analisi dei parametri del processo di granulazione di HPMC*, in *Dipartimento di Ingegneria Industriale*. 2019, Università degli studi di Salerno
18. Allan Ouko, d. *Adjusted R-Squared: A Clear Explanation with Examples*. 2024; Available from: <https://www.datacamp.com/tutorial/adjusted-r-squared>.
19. Wikipedia. *Akaike information criterion*. 2025; Available from: [https://en.wikipedia.org/wiki/Akaike\\_information\\_criterion](https://en.wikipedia.org/wiki/Akaike_information_criterion).
20. Press. 2024, Sas Institute Inc.: <https://www.jsp.com/support/help/en/18.1/index.shtml#page/jmp/press.shtml>.
21. Solazzi, G.B., *Development of algorithms for tomographic data processing*, in *Facoltà di Ingegneria, Ingegneria Meccanica* 2023, Università Politecnica Delle Marche.