



**Politecnico
di Torino**

Politecnico di Torino

Corso di Laurea Magistrale in
Ingegneria Biomedica

A.a. 2021/2022

Sessione di Laurea Dicembre 2022

**Sviluppo di rivestimenti di silice a
partire da precursori polimerici e
contenenti nanoparticelle di argento
con proprietà antibatteriche**

Relatore:

Prof.ssa Cristina Balagna

Correlatore:

Prof.ssa Monica Ferraris

Candidato:

Francesca Gattucci

289348

Sommario

Data la crescente preoccupazione legata alle infezioni batteriche, virali e ai superbugs, la realizzazione di materiali e superfici antimicrobiche ha guadagnato sempre maggiore interesse durante gli anni. Attraverso la nanotecnologia, sono stati sviluppati diverse tecnologie e processi per conferire proprietà antibatteriche ai materiali. In particolare, le nanoparticelle d'argento sono attualmente utilizzate in moltissimi settori come potenti agenti antimicrobici.

In questo lavoro di tesi, è stato sviluppato e studiato un rivestimento composito con matrice di silice, partendo da un precursore polimerico, il peridropolisilazano (PHPS, in soluzione con dibutiletere), con disperse all'interno delle nanoparticelle di argento in modo da conferire proprietà antibatteriche al substrato. Dopo una valutazione preliminare sulle cinetiche di trasformazione del PHPS in silice, le nanoparticelle di argento sono state sintetizzate *in situ* direttamente nel precursore polimerico. In particolare, una soluzione di nitrato di argento, acetone e fotopolimerizzatore è stata miscelata con il precursore PHPS e sottoposta a un trattamento con raggi UV per 30 minuti. In seguito, la soluzione è stata depositata su substrati di diversa natura (acciaio inossidabile (AISI 304), vetro soda-lime, cotone), e mantenuta all'aria a temperatura ambiente per 24h in modo da fare avvenire la reazione di trasformazione da PHPS a silice.

Il rivestimento è stato caratterizzato dal punto di vista morfologico, composizionale e strutturale tramite microscopia a scansione elettronica (SEM), spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR), spettrometria per dispersione di energia (EDS), diffrazione raggi X (XRD) e spettroscopia UV-visibile (UV-vis). L'attività antibatterica del coating è stata poi valutata tramite test di alone di inibizione con batteri *S. Epidermidis* e test di conta delle unità formanti colonie (CFU).

L'analisi FTIR ha confermato la trasformazione del precursore polimerico in silice mentre la presenza delle nanoparticelle di argento è stata confermata dalle analisi UV-vis con il relativo picco visibile a circa 424nm e dalle analisi XRD.

La realizzazione di un rivestimento composito antibatterico a partire da precursori polimerici a temperature ambiente permette di conferire proprietà antibatteriche ai materiali anche termosensibili. Essendo uno studio iniziale, alcuni aspetti quali durata, adesione e proprietà meccaniche del rivestimento saranno verificati in futuro.

Abstract

The development of antimicrobial materials and surfaces has gained interest over the years, because of the concern related to bacterial and viral infections and superbugs. Several technologies and process for conferring antibacterial properties to materials have been developed thanks to nanotechnology. In particular, silver nanoparticles are currently used in many sectors as powerful antimicrobial agents.

In this thesis work, a composite coating was developed and studied, composed of a silica matrix obtained from a polymeric precursor, perhydropolysilazane (PHPS, in solution with dibutyl ether), with dispersed silver nanoparticles in order to confer antibacterial properties to the substrate. After a preliminary evaluation of the transformation's kinetics of PHPS in silica, silver nanoparticles were synthesized *in situ*, directly into the polymeric precursor. Specifically, a solution containing silver nitrate, acetone and photopolymerizer was mixed with the PHPS precursor and subjected to a UV treatment for 30 minutes. Subsequently, the solution was deposited on substrates of different nature (stainless steel (AISI 304), soda-lime glass, cotton), and kept at the air at room temperature for 24 hours for occurring the transformation reaction from PHPS to silica.

The coating was morphologically characterized by means of morphological, compositional, and structural analysis such as scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), energy dispersion spectrometry (EDS), X-ray diffraction (XRD) and UV-visible spectroscopy (UV-vis). The antibacterial activity of the coating was then evaluated through the inhibition halo test with *S. Epidermidis* bacteria and the dilution test with the count of colony-forming units (CFUs).

FTIR analysis confirmed the complete transformation of the polymeric precursor into silica while the presence of silver nanoparticles was confirmed by UV-vis analysis with the relative peak visible at about 424nm and by XRD analysis.

The development of an antibacterial composite coating starting from a polymeric precursor at room temperature allows to confer antibacterial properties also to heat-sensitive materials. Since this is an early study, some aspects of the coating, included durability, adhesion and mechanical properties will be evaluated in the future.

Indice

1. <i>Introduzione e scopo del lavoro</i>	6
2. <i>Il problema delle contaminazioni batteriche</i>	8
3. <i>Le Nanoparticelle d'Argento</i>	12
3.1. L'argento e le sue proprietà antibatteriche.....	12
3.2. I meccanismi di azione delle AgNPs	13
3.3. Le applicazioni delle AgNPs.....	16
3.4. Sintesi delle nanoparticelle d'argento	18
4. <i>I rivestimenti compositi contenenti nanoparticelle di argento</i>	21
4.1. Rivestimento composito a partire da precursori polimerici	22
5. <i>La sintesi del rivestimento: peridropolisilazano e le nanoparticelle d'argento</i>	25
6. <i>Materiali e metodi</i>	27
6.1. I substrati.....	27
6.2. Il rivestimento	29
6.3. Realizzazione del coating.....	32
6.3.1. Aumento della viscosità della soluzione	32
6.3.2. Deposizione del coating	34
6.3.3. Irraggiamento UV.....	35
6.4. Caratterizzazione morfologica e composizionale	37
6.5. Test antibatterici.....	38
6.6. Prove di rilascio ionico in acqua	39
7. <i>Risultati</i>	40
7.1. Rivestimento di silice a partire dal precursore polimerico peridropolisilazano (PHPS)	40
7.1.1. Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR)	40
7.1.2. Spettrometria per dispersione di energia (EDS).....	45
7.1.3. Microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM)	50
7.2. Caratterizzazione composizionale, strutturale e morfologica del rivestimento composito di PHPS e nanoparticelle d'argento	54
7.2.1. Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR)	54
7.2.2. Spettroscopia UV visibile.....	58
7.2.3. Diffrazione a raggi X (XRD).....	65
7.2.4. Spettrometria per dispersione di energia (EDS).....	67
7.2.5. Microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM)	69
7.2.6. Test dell'alone di inibizione	71
7.2.7. Test di rilascio ionico in acqua	73
8. <i>Conclusioni</i>	75
<i>Bibliografia</i>	77

1. Introduzione e scopo del lavoro

Le infezioni batteriche e virali sono un problema che non solo affligge il settore sanitario, nel quale la loro insorgenza è facilitata dalla presenza di soggetti già debilitati, ma che può condizionare anche la vita quotidiana, come è stato appunto dimostrato dalla recente pandemia COVID-19.

Data la crescente diffusione dei *superbugs*, ceppi di batteri, virus e funghi resistenti a diversi tipi di antibiotici, e l'impossibilità di debellare le colonie batteriche nei biofilm con l'uso di soli farmaci, diventa necessario trovare una soluzione di tipo preventivo, ovvero ridurre la possibilità di entrare in contatto con gli agenti patogeni o limitare la vitalità dei microorganismi.

Lo scopo di questo lavoro di tesi, realizzato con il gruppo di ricerca GLANCE del DISAT del Politecnico di Torino, è stato incentrato sullo sviluppo di un rivestimento composito costituito da una matrice di silice e nanoparticelle di argento con proprietà antibatteriche utilizzando un approccio alternativo alla tecnica del co-sputtering, ampiamente studiata dal gruppo di ricerca. Il rivestimento è stato ottenuto a partire da un precursore polimerico della silice, il peridropolisilazano in cui sono state sintetizzate direttamente le nanoparticelle di argento da nitrato di argento. Il peridropolisilazano (PHPS) è in soluzione con il dibutiletere, ed è in grado di trasformarsi in silice in presenza di vapori di ammoniaca o di un'alta percentuale di umidità, o più lentamente, all'aria.

Come agente antibatterico è stato scelto l'argento, in forma nanometrica; le nanoparticelle d'argento hanno dimostrato negli anni delle eccellenti proprietà antibatteriche e antivirali e una potente reattività grazie alle loro dimensioni e quindi dal loro elevato rapporto superficie/volume, di gran lunga superiore all'argento in bulk. I meccanismi di azione delle nanoparticelle sono molteplici e sono legati sia al rilascio di ioni d'argento, sia all'azione diretta delle stesse nanoparticelle.

Le nanoparticelle d'argento (AgNPs) sono state inglobate nella matrice realizzando una sintesi fotochimica *in situ* sfruttando la luce UV. Data l'impossibilità di solubilizzare direttamente il nitrato d'argento (AgNO_3) nel dibutiletere, è stata sintetizzata una soluzione di acetone, AgNO_3 e fotopolimerizzatore, poi miscelata con il precursore polimerico.

Il rivestimento è stato caratterizzato dal punto di vista morfologico, composizionale e strutturale tramite microscopia a scansione elettronica ad emissione di campo (FE-SEM), spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR), spettrometria per dispersione di energia (EDS), diffrazione raggi X (XRD) e spettroscopia UV-visibile (UV-vis). L'analisi FTIR ha confermato la trasformazione del precursore polimerico in silice mentre la presenza delle nanoparticelle di argento è stata confermata dalle analisi UV-vis con il relativo picco visibile a circa 424nm e dalle analisi XRD.

L'attività antibatterica del coating è stata valutata tramite test di diffusione batterica su piastra di Agar con batteri *S. Epidermidis*, e tramite test di rilascio ionico in acqua, in modo da determinare la concentrazione di ioni argento che dal rivestimento diffondono in soluzione nel tempo.

2. Il problema delle contaminazioni batteriche

Le infezioni contratte in ambito sanitario dovute a batteri, funghi, virus o altri patogeni rappresentano un problema molto importante e mai completamente superato. Le contaminazioni batteriche possono causare numerose patologie spesso debilitanti o addirittura mortali. Basti pensare allo *Staphylococcus aureus*, un batterio diffusissimo in particolare nelle strutture nosocomiali che può causare endocardite infettiva, di infezioni alla pelle e ai tessuti molli e che risulta essere il patogeno più comune nelle infezioni del sito chirurgico (SSI), ascessi cutanei e cellulite purulenta [1].

I fattori di rischio sono principalmente correlati alle condizioni del paziente, ovvero età, presenza di patologie pregresse e immunodepressione; i fattori estrinseci più rilevanti sono la presenza di cateteri urinari o di intubazioni e di ferite post-intervento, ovvero tutto ciò che fisicamente facilita l'ingresso dei batteri nell'organismo [2].

Una complicanza frequente nei pazienti con mobilità ridotta sono le piaghe da decubito (lesioni della pelle e dei tessuti sottostanti causate dalla compressione prolungata di un tessuto molle tra una sporgenza ossea sottostante e una superficie esterna di appoggio); anch'esse sono spesso correlate all'insorgenza di infezioni batteriche che possono causare cellulite, ascessi, osteomielite e batteriemia; quest'ultima in particolare è una complicanza rara ma può portare a una mortalità significativa [3]. L'incidenza di questa patologia è molto rilevante nelle persone ricoverate nei reparti ospedalieri per eventi acuti (dallo 0,4 al 38% dei casi), nelle residenze sanitarie assistenziali, RSA (dal 2,2 al 23,9%) e nell'assistenza domiciliare (da 0 al 17%) e si associa a una grave complessità del quadro clinico del malato. [4]

Le infezioni da batteri e funghi sono molto diffuse sotto forma di sovrainfezioni batteriche in pazienti già fortemente provati da infezioni virali: l'incidenza è dello 0,5% nei pazienti più giovani e del 2,5% nei pazienti più anziani nel caso di soggetti affetti da polmonite virale [5]. Le infezioni secondarie costituiscono delle complicazioni che possono portare a un aumento della mortalità. Con l'avvento della pandemia da Covid 19, e con il conseguente aumento di pazienti affetti da polmonite di origine virale e pazienti a lunga degenza o sottoposti a intubazione, il problema delle infezioni batteriche è diventato sempre più rilevante [6]; è stato

riportato che il 50% di pazienti deceduti a causa della malattia da Coronavirus 2019 presentavano una concomitante infezione secondaria di origine batterica [7].

L'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) e il Centro per la prevenzione e il controllo delle malattie (CDC) hanno espresso seria preoccupazione per il continuo aumento dell'incidenza di infezioni correlate all'assistenza sanitaria e il contemporaneo sviluppo della multifarmaco-resistenza tra i batteri; la crisi scaturita dalla farmaco-resistenza è uno dei problemi più gravi per ciò che concerne l'assistenza sanitaria [8]. Sono infatti sempre più diffusi i *superbugs*, che nel 2019 hanno causato 1,27 milioni di morti e che nello stesso anno hanno contribuito ad altri 4,95 milioni di decessi [9]. L'utilizzo smodato che si è fatto nel tempo degli antibiotici per combattere le infezioni batteriche ha portato i batteri a sviluppare questa proprietà, frutto dell'evoluzione non solo dello *Staphylococcus aureus*, batterio noto per essere molto difficile da debellare, ma anche di altri numerosi batteri sia gram positivi che gram negativi [10] che hanno potenziato la capacità di resistere di fronte al mezzo che più abbiamo utilizzato contro di loro, ovvero gli antibiotici.

In realtà, la definizione di antimicrobicoresistenza (AMR, Antimicrobial resistance) come processo causato dall'uso eccessivo di antibiotici è insoddisfacente poiché è noto da tempo che l'AMR si verifica naturalmente nel tempo attraverso meccanismi distinti; in altre parole, l'uso eccessivo di antibiotici nell'uomo e negli animali determina un'accelerazione di questo processo naturale, favorendone così il potenziamento e la diffusione. È possibile distinguere due tipi di resistenza: la resistenza naturale, che può essere ulteriormente classificata in intrinseca e indotta, e la resistenza acquisita. La resistenza intrinseca si ha quando le specie batteriche sono naturalmente resistenti a determinate classi di antibiotici ed è indipendente dalla precedente esposizione agli antibiotici, quella indotta può essere causata dall'attivazione di geni a seguito dell'esposizione a quantità cliniche di antibiotici. La resistenza acquisita, invece, può avvenire attraverso due distinti processi: il trasferimento genico verticale e quello orizzontale [11]. In figura 1 è rappresentata una schematizzazione dei due processi sovraccitati.

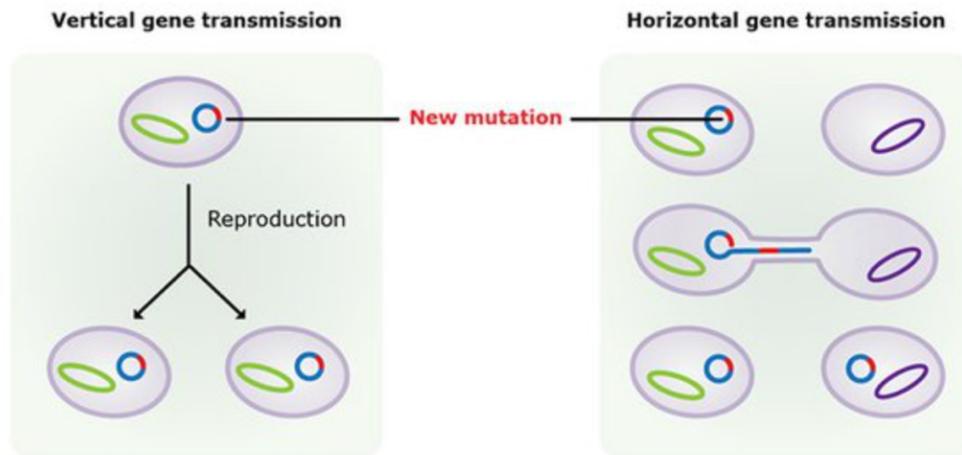


Figura 1: Schematizzazione del processo di trasferimento genico verticale e orizzontale [13]

Tale fenomeno si inserisce in un contesto particolarmente favorevole alla proliferazione batterica e alle infezioni; il cambiamento climatico e il conseguente aumento delle temperature sono fattori chiave nella diffusione delle infezioni batteriche. Infatti, la temperatura è intimamente legata ai processi batterici e alle infezioni: il trasferimento genico orizzontale, uno dei principali meccanismi per l'acquisizione della resistenza agli antibiotici, aumenta con l'innalzamento delle temperature così come il tasso di crescita batterica [12].

Vi sono prove significative che i tassi di infezione batterica siano associati all'aumento della temperatura: uno studio internazionale realizzato su 22 città ha rilevato che la distanza dall'equatore e i fattori socioeconomici sono entrambi associati al rischio di batteriemia Gram-negativi [14]. Un altro studio ha rilevato che umidità, precipitazioni mensili e temperatura sono fattori correlati con i tassi di infezioni del sangue da Gram-negativi nei pazienti ospedalizzati [15].

Per quanto riguarda invece l'AMR, è stato rilevato che l'aumento della temperatura locale e della densità di popolazione portano a un aumento dei tassi di resistenza agli antibiotici [16]. In particolare, la relazione fra temperatura e densità di popolazione e incremento delle infezioni è vera per i patogeni onnipresenti *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* [16]. *MacFadden et al.* hanno scoperto che l'aumento della resistenza agli antibiotici è associato alla temperatura media minima, [16] un valore che è in aumento a causa dei cambiamenti climatici [17].

Anche grazie alle nanotecnologie, lo sviluppo di nuovi materiali, rivestimenti e processi ha portato un approccio di natura preventiva, alla lotta contro le infezioni batteriche e le batteriemie in modo da evitarne l'insorgenza così da non dover poi ricorrere a inefficaci terapie antibiotiche tradizionali. Le nanoparticelle metalliche (già ampiamente studiate) possono essere utilizzate per superare i meccanismi di resistenza dei batteri ai farmaci. Le nanoparticelle possono venire utilizzate da sole o incorporate nei materiali da funzionalizzare o in rivestimenti compositi. Questo renderebbe possibile anche bypassare le tradizionali tecniche di sterilizzazione e decontaminazione, molte delle quali sono utilizzabili solo con determinate tipologie di materiali, sono molto costose e richiedono l'utilizzo di agenti altamente inquinanti spesso dannosi per la salute dell'uomo e per l'ambiente [18].

3. Le Nanoparticelle d'Argento

3.1. L'argento e le sue proprietà antibatteriche

Le proprietà antibatteriche dell'argento sono note sin dall'antichità. Ippocrate ed Erodoto ci hanno lasciato numerose testimonianze dell'utilizzo dell'argento come mezzo terapeutico e come materiale per i recipienti destinati alla conservazione di vino e acqua; più recentemente, i pionieri alla conquista degli Stati Uniti occidentali e quelli nell'entroterra australiano, si proteggevano dai contaminanti presenti nell'acqua immergendovi delle monete d'argento. Secondo alcuni, è proprio dall'argento che deriva l'espressione "sangue blu" per definire gli appartenenti ai ceti sociali più elevati: infatti, la causa della colorazione bluastra della pelle tipica degli aristocratici sarebbe stata l'argiria, dovuta alla contaminazione da parte delle posate d'argento, realizzate in modo da mantenere il cibo libero da germi e batteri.

Pur essendo stato utilizzato sotto forma di fogli durante la Prima Guerra Mondiale per guarire le infezioni dei feriti e nella sua forma colloidale come medicinale, con l'avvento degli antibiotici all'inizio del '900 il suo uso è stato abbandonato nella medicina classica.

Ha ricominciato a riscuotere molto interesse recentemente, in risposta all'allarmante aumento del fenomeno dell'antibiotico-resistenza. Il segreto delle sue proprietà risiederebbe nell'azione degli ioni d'argento che, liberati dal metallo, interferiscono con l'attività delle cellule batteriche tramite diversi meccanismi (figura 2).

In primo luogo, essi causano la rottura della membrana cellulare: avendo una grande affinità con i gruppi tioli, le proteine di membrana contenenti gruppi sulfidrici fungono da siti di legame per gli ioni d'argento, causando l'inattivazione delle stesse proteine e compromettendo così la funzionalità e l'integrità della membrana [19]. Gli ioni agiscono anche all'interno: penetrando dalla membrana, causano la defosforilazione delle proteine invertendo il processo alla base dell'attività enzimatica batterica, ovvero la fosforilazione; è stato inoltre dimostrato che l'argento è in grado di bloccare la catena di respirazione delle cellule batteriche (ostacolando il trasferimento di elettroni, costringendo quindi l'ossigeno ad agire come accettore di elettroni e

provocando di conseguenza la produzione di specie ROS, come radicali superossidi e radicali idrossilici) e il processo di duplicazione del DNA, legandosi alle basi azotate [20].

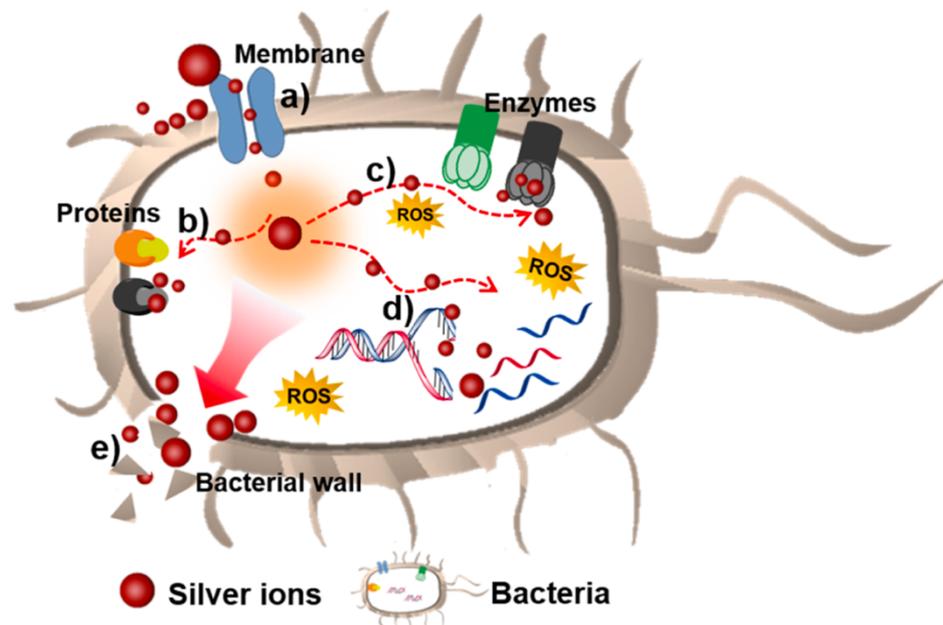


Figura 2: Illustrazione schematica dei meccanismi antibatterici degli ioni d'argento: (a) penetrazione nella membrana batterica, (b) defosforilazione delle proteine, (c) distruzione della catena respiratoria, (d) interruzione della replicazione del DNA, (e) distruzione della membrana [20]

Realizzare rivestimenti interamente in argento non sarebbe tuttavia sostenibile economicamente, dato il prezzo del metallo, e nemmeno totalmente vantaggioso; infatti l'argento, se assunto in grandi quantità, può provocare reazioni avverse, quali l'argirismo di cui uno dei sintomi più evidenti è la già citata colorazione grigio-bluastro della pelle e delle mucose [21].

3.2. I meccanismi di azione delle AgNPs

Con lo sviluppo della ricerca negli ultimi anni orientato alle nanotecnologie e ai nanomateriali, un grande interesse è stato suscitato in particolar modo dalle nanoparticelle metalliche; tra queste, le nanoparticelle d'argento permettono di sfruttare le proprietà antimicrobiche di questo metallo mantenendo la concentrazione più bassa rispetto a coating interamente in argento [21].

La nanodimensione del materiale determina caratteristiche fisico-chimiche specifiche diverse da quelle dei materiali sfusi o delle particelle più grandi. Questo effetto è principalmente attribuito all'elevato rapporto superficie-volume, che si traduce in una maggiore reattività. In particolare, le nanoparticelle d'argento, essendo più reattive, attraversano le membrane cellulari, si depositano a livello intracellulare e causano la disfunzione delle cellule [22]. Queste nanoparticelle sono in grado di arrestare la crescita e la moltiplicazione di molti batteri - tra cui il *Bacillus Cereus*, *Staphylococcus Aureus*, *Citrobacter Koseri*, *Salmonella Typhii*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Escherichia Coli*, *Klebsiella Pneumonia*, *Vibrio Parahaemolyticus* e del fungo *Candida Albicans* - rilasciando Ag/Ag^+ che si legano alle biomolecole presenti all'interno delle cellule microbiche; infatti, date le loro ridotte dimensioni, sono in grado di penetrare all'interno delle cellule attraverso la membrana cellulare e di diffondersi in esse alterandone il funzionamento [23].

Un'altra importantissima proprietà delle nanoparticelle d'argento è la loro capacità di azione all'interno dei biofilm. Infatti, un ulteriore problema nel trattamento delle infezioni batteriche sorge al momento della formazione della spessa matrice formata prevalentemente da polisaccaridi, ma anche da proteine e materiale genetico, chiamata biofilm: questa protegge i batteri dagli antibiotici e al tempo stesso li isola, permettendo loro di sviluppare una resistenza a condizioni estreme, quali carenza di ossigeno e di nutrienti; costretti a un metabolismo molto lento, i batteri assimilano poco le sostanze esterne, aumentando l'inefficacia della terapia antibiotica [24]. Nel biofilm si verificano più frequentemente delle mutazioni del genoma batterico, rendendo la popolazione batterica molto più variegata e quindi meno suscettibile ai trattamenti farmacologici [25]. I batteri, per di più, sono in grado di comunicare tra loro attraverso il quorum sensing: questo processo, che avviene tramite la produzione di molecole segnale, permette loro di modulare la loro attività metabolica in funzione dell'entità della popolazione batterica presente nel biofilm e, conseguentemente, di coordinare le attività di produzione della matrice e di aumentare la virulenza [26].

È stato recentemente dimostrato che le nanoparticelle d'argento nel caso degli *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*, batteri che costituiscono la causa più comune delle infezioni nosocomiali correlate all'utilizzo di cateteri, sono in grado di agire contro la popolazione batterica del biofilm non solo secondo i meccanismi d'azione già precedentemente descritti, ma anche andando a inibire il quorum sensing, come è raffigurato in figura 3 [27].

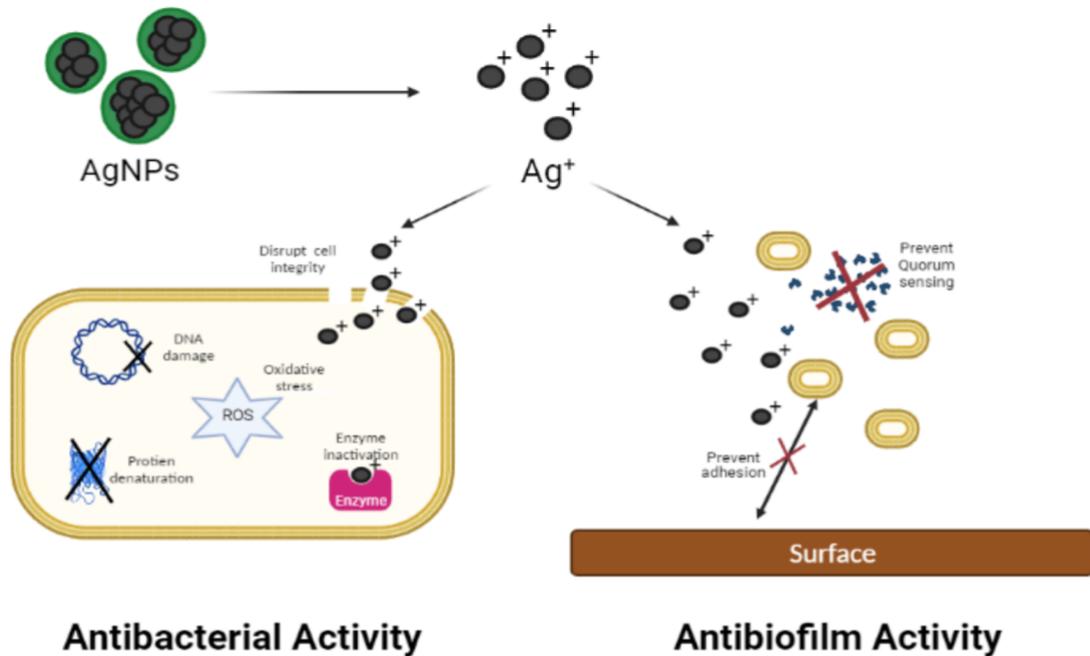


Figura 3: Schematizzazione delle attività antibatteriche e antibiofilm delle AgNPs [27]

Le nanoparticelle d'argento hanno dimostrato di avere anche un potenziale d'azione contro le infezioni di natura virale: queste si sviluppano grazie alla trasmissione di materiale genetico dal virus alle cellule dell'organismo ospite, che, riproducendosi, causano la replicazione degli acidi nucleici virali. In realtà, i meccanismi dell'azione antivirale delle nanoparticelle d'argento non sono ancora completamente chiari agli studiosi; ciò che si può affermare con certezza, però, è che le loro proprietà virucide sono correlate alle loro dimensioni. È stato evidenziato come AgNPs di diametro inferiore a 25 nm sono in grado di inibire il processo di replicazione dell'arenavirus, mentre nanoparticelle con diametro compreso tra 7 e 20 nm sono efficaci contro il virus dell'herpes simplex (HSV) di tipo 1 e 2 e contro il virus della parainfluenza umana di tipo 3. Un risultato molto importante è stato ottenuto contro il virus HIV: le nanoparticelle sono in grado di aderire al capsido del virus impedendo la trasmissione di acidi nucleici nelle cellule dell'organismo ospite [28].

Sono stati ottenuti dei risultati molto incoraggianti anche contro il Coronavirus SARS-CoV-2: *Balagna C. et al* hanno depositato un coating composito di silice e nanocluster d'argento in grado di avere un effetto virucida efficientissimo [29].

3.3. Le applicazioni delle AgNPs

Date le loro importanti proprietà battericide e fungicide, le nanoparticelle d'argento hanno un ampio spettro di utilizzo. Per esempio, nella disinfezione dell'acqua: i metodi tradizionali, come la clorazione, risultano spesso inefficaci e modificano le proprietà dell'acqua, quali gusto e odore. L'argento, invece, potrebbe essere utilizzato come agente antimicrobico: una bassa concentrazione di argento nell'acqua potabile secondo la US Environmental Protection Agency (EPA) e l'OMS, cioè $< 0,1$ mg/L, è sicura e il metallo in forma nanocristallina, da solo o in composti, potrebbe essere utilizzato per ottimizzare il processo di filtrazione. Infatti, filtri per l'acqua funzionalizzati con AgNPs si sono dimostrati efficaci nella rimozione e disattivazione dei microbi utilizzando la combinazione dei meccanismi di disinfezione e di filtrazione fisica: il loro utilizzo ha portato alla completa rimozione del patogeno *C. Parvum* mediante filtrazione [30]. Lo stesso discorso vale per il campo della filtrazione dell'aria: la qualità dell'aria viene migliorata utilizzando le AgNPs incorporate in vari materiali di supporto senza compromettere l'efficienza di filtrazione dell'aria [31][32].

Le nanoparticelle d'argento hanno dimostrato una rilevante efficacia anche nel caso delle infezioni correlate all'assistenza. Sono state, infatti, efficacemente utilizzate nei cateteri per migliorare l'attività antimicrobica e hanno dimostrato zero trombogenicità [33]. Le AgNPs, inglobate in una matrice polimerica, hanno inoltre dimostrato una notevole capacità nella riduzione dell'adesione di microorganismi alla superficie trattata, impedendo la formazione di biofilm: un rivestimento di questo tipo sulle superfici interne ed esterne dei cateteri evita la formazione di biofilm e mostra un'ottima attività antimicrobica in un'ampia gamma di studi in vitro [34]. Uno dei microrganismi patogeni che più frequentemente causa infezioni all'interno del corpo umano è la *Candida albicans*, un fungo commensale che è naturalmente presente sulla pelle, nel cavo orale e nel tratto vaginale e gastrointestinale. Le tradizionali contromisure che includono diversi metodi fisici e chimici antimicotici hanno dimostrato di avere un'efficacia limitata a causa dello sviluppo della farmaco-resistenza tra le specie di *Candida*. Inoltre, l'uso di alte dosi di agenti antimicotici causa danni irreparabili agli organi umani vitali come reni e

fegato. Per superare questi problemi, le nanoparticelle d'argento vengono utilizzate per controllare la formazione di biofilm sulla superficie dei cateteri [35]. Sempre per combattere il problema legato all'antibiotico-resistenza, le nanoparticelle d'argento sono state incorporate in idrogeli a base di chitosano utilizzati come medicazioni per aiutare la guarigione delle ferite. Gli idrogeli, contenendo una considerevole quantità di acqua, aderiscono alla ferita e anche con una bassa concentrazione di argento hanno dimostrato una considerevole attività antibatterica *S. aureus*, *P. aeruginosa* ed *E. coli* [36].

Anche le industrie tessili stanno cambiando e adottando nuove tecnologie, non solo nella lavorazione dei tessuti, ma anche nell'uso di agenti antimicrobici per evitare la contaminazione batterica; infatti, rendere un tessuto antibatterico vuol dire anche aumentarne la qualità e la durata. Da non sottovalutare è anche il fatto che spesso sono i tessuti a essere il veicolo di trasmissione di numerose infezioni batteriche, specialmente in ambito ospedaliero, essendo a contatto con la pelle [37]. La scelta delle AgNPs è preferibile rispetto ai tradizionali agenti antimicrobici come i sali metallici, composti di ammonio quaternario e triclosan, in quanto non macchiano i tessuti. In questo campo, per esempio, sono state realizzate delle poliammine pretrattate al plasma rivestite con nanoparticelle d'argento. Esse sono state studiate per l'attività antimicrobica e per l'effetto dell'invecchiamento, e hanno mostrato una notevole attività antibatterica sia nel breve che nel lungo periodo [38].

Un altro settore in cui le nanoparticelle si stanno rivelando un ottimo agente antimicrobico è quello alimentare. Le frequenti infezioni batteriche di origine alimentare stanno stimolando la ricerca di nuovi metodi per inibire la contaminazione microbica degli alimenti nella fase di preparazione, di trasporto e di conservazione. Per queste ragioni, è fondamentale ottimizzare le tecnologie di confezionamento antimicrobiche. A tale scopo, sono stati sintetizzati degli imballaggi a basso costo e rispettosi dell'ambiente contenenti AgNPs per la conservazione delle verdure; è stato osservato che la durata di conservazione delle verdure aumenta senza ridurre i valori nutrizionali [39]; gli stessi promettenti risultati sono stati ottenuti da *Cozmata et al.* che hanno incorporato nanocompositi Ag/TiO₂ in film di polietilene ad alta densità (HDP-P) destinati al confezionamento del pane; hanno riscontrato un'augmentata durata di conservazione e una migliore sicurezza dal punto di vista delle contaminazioni microbiologiche del prodotto rispetto alle confezioni tradizionali [40].

Per ovviare ai problemi legati alle contaminazioni batteriche nel settore che si trova a monte della filiera alimentare, ovvero l'allevamento, le nanoparticelle d'argento sarebbero un ottimo disinfettante per sostituire i metodi di disinfezione tradizionale. L'utilizzo di prodotti aggressivi come la formaldeide, una sostanza altamente tossica e cancerogena, potrebbe essere abbandonato in favore dei nanomateriali per un allevamento più sicuro e sostenibile [41]. In figura 4 è presente una schematizzazione delle applicazioni delle nanoparticelle d'argento.

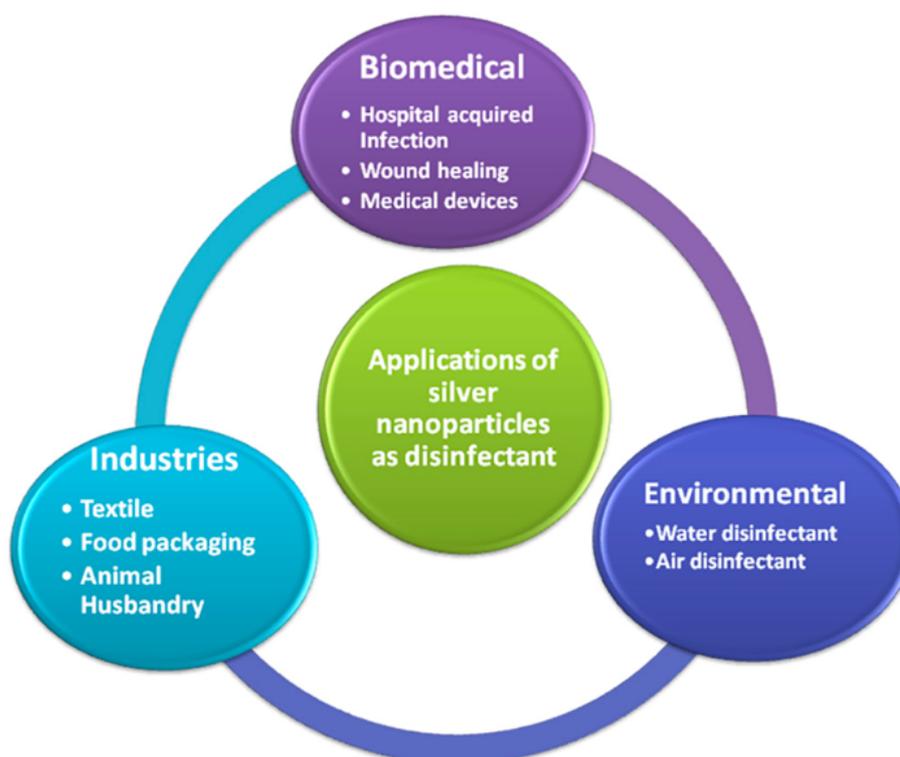


Figura 4: Le applicazioni delle nanoparticelle d'argento[41]

3.4. Sintesi delle nanoparticelle d'argento

I processi di sintesi delle nanoparticelle metalliche possono essere raggruppati in due categorie: top-down e bottom-up. Nei metodi top-down, che sono principalmente di natura fisica, il materiale bulk viene scolpito in modo da ottenere un materiale delle dimensioni desiderate: viene solitamente effettuata un'evaporazione o un'ablazione laser del materiale massivo. I metodi bottom-up si basano invece sulla promozione dell'aggregazione di atomi e molecole fino ad arrivare alla sintesi delle nanoparticelle; questi metodi sono basati sulla riduzione di ioni metallici in atomi neutri e sulla loro successiva aggregazione (figura 5). La riduzione può

avvenire per via chimica oppure fotochimica, sonochimica, elettrochimica o biologica; con questi sistemi si ha il vantaggio di poter controllare le strutture primarie delle nanoparticelle, come la dimensione, la forma e la composizione. La sintesi di NPs bottom-up si sviluppa seguendo due fasi: nucleazione, ovvero la formazione di atomi di metallo in seguito alla riduzione, e la crescita, ovvero l'aggregazione degli atomi. L'aggregazione deve essere controllata, in quanto si deve evitare un eccessivo prolungamento della fase che potrebbe portare a un ritorno al materiale massivo; per questo motivo, spesso vengono utilizzati degli agenti stabilizzanti che, disponendosi attorno alla superficie delle nanoparticelle, le incapsulano e le stabilizzano.

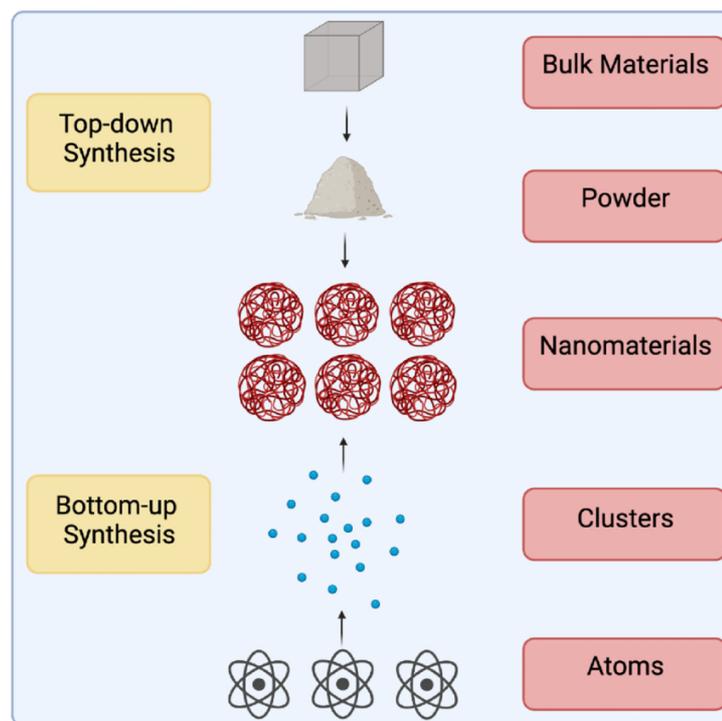


Figura 5: Rappresentazione dei metodi top-down e bottom-up [42]

La sintesi fisica consiste nell'ottenimento di AgNPs da materiali in bulk utilizzando forze di natura fisica. L'assenza di agenti stabilizzanti nel processo può facilitare l'agglomerazione delle nanoparticelle; di conseguenza, evitare questo fenomeno rappresenta una sfida significativa. Un altro limite della sintesi fisica è il fatto che richiede una fonte di energia esterna, che deve essere generata da apparecchiature sofisticate, in grado di veicolarla adeguatamente ai fini del processo.

Le sintesi chimica e biologica invece partono dai singoli atomi e molecole e li assemblano in nanostrutture più grandi fino a produrre le nanoparticelle. Il processo parte da un sale precursore che viene ridotto e segue due step fondamentali: nucleazione e crescita. L'uso di sostanze chimiche aggressive nella sintesi chimica però comporta una limitazione nelle applicazioni mediche delle nanoparticelle. Per superare i limiti legati ai processi di sintesi chimica, la sintesi biologica è stata introdotta come metodo alternativo. È stato riportato che la maggior parte dei biopolimeri utilizzati nella sintesi di AgNPs (fucoïdan, chitosano, acido ascorbico, levan, cellulosa, polifenoli e polipeptidi) svolgono il duplice ruolo di agente riducente e stabilizzante. Un sottile strato di biopolimeri ricopre la superficie delle AgNPs, rendendo la superficie modificata più biocompatibile, le nanoparticelle più facilmente assorbibili intracellularmente (molto utile per la somministrazione di farmaci) e più a lungo stabili [43].

Tra i processi di natura chimica, quello fotochimico ha riscontrato un notevole successo grazie al maggiore controllo, in particolare temporale, offerto da questa tecnica: essa consiste nell'espore delle soluzioni contenenti precursori metallici alla luce visibile o ultravioletta. Rispetto ad altri metodi è molto vantaggioso in quanto non contempla l'utilizzo di composti tossici o strumentazioni particolarmente costose, né tantomeno di personale altamente qualificato, essendo molto semplice da eseguire. Inoltre, non richiede particolari condizioni ambientali, in quanto può essere semplicemente attuato a temperatura e a pressione ambiente.

I reagenti in questo metodo sono il precursore dell'argento (solitamente un sale, in particolare il nitrato d'argento), l'agente riducente e, talvolta, l'agente stabilizzante. Il processo fotochimico inizia con la riduzione del precursore metallico, da n^+ valenza (Mn^+) al suo stato di valenza zero (M^0); gli atomi ridotti formano centri di nucleazione che successivamente crescono e si aggregano per dare origine a nanoparticelle metalliche.

La radiazione ultravioletta si trova fra la luce visibile e le radiazioni ionizzanti; la sua lunghezza d'onda varia da 100 nm a 400 nm e può essere suddivisa in tre gruppi: UV-A (315–400 nm), UV-B (290–315 nm) e UV-C (100–290 nm); le sorgenti utilizzate per la luce UV sono principalmente lampade a mercurio e diodi e l'irraggiamento avviene all'interno di fotoreattori. L'uso di un fotopolimerizzatore migliora l'assorbimento della luce da parte del mezzo di reazione; la luce UV causa la generazione di radicali liberi che sono poi coinvolti nel processo di formazione delle nanoparticelle metalliche [44].

4. I rivestimenti compositi contenenti nanoparticelle di argento

Sviluppare dei rivestimenti compositi con nanoparticelle d'argento è un metodo molto efficace per ottenere un potente effetto antibatterico durevole nel tempo. La matrice che incorpora le AgNPs ha un ruolo fondamentale, quello di agente di ritenzione, in grado di prolungare l'azione battericida delle nanoparticelle impedendone la dispersione nell'ambiente circostante.

Degli impianti ortopedici sono stati rivestiti con coating a base di titanio e nanotubi di ossido di titanio (il titanio e l'ossido di titanio sono spesso usati in questo settore grazie alla loro eccellente biocompatibilità) e nanoparticelle d'argento in modo da impedire lo sviluppo di biofilm sulla superficie delle protesi, inconveniente che spesso pregiudica la stabilità dell'impianto e ne causa la successiva espiazione: in entrambi i casi l'attività antibatterica è risultata eccellente e prolungata nel tempo, grazie all'azione di ritenzione svolta dalla matrice [45].

In sostituzione alle iniezioni di ingenti quantità di antibiotici subito dopo il posizionamento di impianti dentali, per prevenire la sedimentazione batterica e la formazione di biofilm sulla superficie dell'impianto, *Pwlowski et al.* hanno sviluppato un rivestimento composito in Chitosano, Eudragit E 100 e nanoparticelle d'argento in grado di inibire la formazione di colonie batteriche. In un ambiente fortemente suscettibile alla crescita batterica come la bocca, è necessario un rilascio prolungato nel tempo dell'agente antimicrobico, e questo è stato reso possibile dalla presenza del chitosano che, modificato con il copolimero Eudragit E 100, riesce a diluire nel tempo il rilascio delle nanoparticelle d'argento [46].

In virtù degli effetti benefici dell'utilizzo di un coating composito, le nanoparticelle d'argento sono state inglobate in una matrice di silice, un materiale dall'ottima stabilità meccanica, chimica e termica. Un rivestimento in silice con nanocluster d'argento, ottenuto con la tecnica del co-sputtering, è stato brevettato da *Ferraris M. et al.* [47]; oltre a essere adatto ad una grande quantità di substrati e quindi a molte applicazioni, ha mostrato una notevole attività antibatterica contro lo *Staphylococcus Aureus* e un'eccellente efficacia contro il Coronavirus SARS-CoV-2 [29][48].

4.1. Rivestimento composito a partire da precursori polimerici

Dati i promettenti risultati ottenuti dal rivestimento composito costituito da matrice di silice e nanoclusters di argento ottenuto via co-sputtering, si è deciso per questo lavoro di tesi di sviluppare un rivestimento analogo con una tecnica alternativa. Il rivestimento è stato ottenuto a partire da un precursore polimerico della silice, il peridropolisilazano, in cui sono state sintetizzate direttamente le nanoparticelle di argento da nitrato di argento. I polisilazani sono polimeri costituiti dall'alternanza di atomi di silicio e di azoto (figura 6); possono essere classificati in inorganici (peridropolisilazani) o organici (organopolisilazani o polycarbosilazani). Sono da anni oggetto di studi molto promettenti su materiali ceramici avanzati [49].

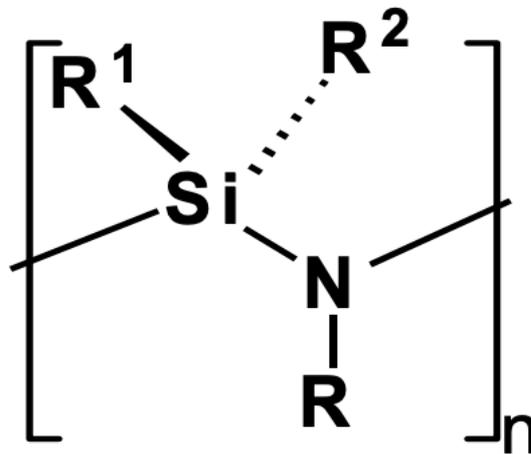


Figura 6: Unità monomerica dei polisilazani [48]

Il peridropolisilazano (PHPS) è un polimero inorganico composto da legami Si–N con gruppi terminali Si–H, spesso utilizzato come precursore di Si₃N₄ [50]. Il PHPS ha da tempo attirato molta attenzione come precursore della silice. *Matsuo et al.* hanno rivestito wafer di silicio con soluzioni PHPS, seguito da trattamento termico a 450 °C, ottenendo film sottili di silice, con densità, indici di rifrazione, resistività elettriche e costanti dielettriche (4.2) molto simili a quelle del vetro di silice. È anche possibile però trasformare il PHPS in silice a temperature più basse (300–350 °C) aggiungendo catalizzatori in soluzioni di PHPS [51], oppure ottenere la conversione dei film di PHPS in rivestimenti di silice sospendendo i rivestimenti PHPS depositati su vari liquidi a temperatura ambiente. Gli spettri di assorbimento infrarosso dei rivestimenti hanno indicato che la trasformazione da PHPS a silice è favorita dall'esposizione

a vapori acidi e, in particolare, a vapori basici come quelli di soluzioni di acqua e ammoniaca [52].

Analizzando i picchi delle bande di assorbimento FTIR dei legami Si-OH e O-H (che nel caso di silice derivata da PHPS sono risultati di minore entità) e valutando la resistenza meccanica in acqua portata a 80°C [50], i rivestimenti di silice derivati da PHPS sono risultati densi e meccanicamente duri contrariamente ai rivestimenti di gel di silice alcossido-derivati [48].

Considerata la promettente possibilità di ottenere la conversione in silice a basse temperature a partire dal peridropolisilazano, film di peridropolisilazano e di poliorganosilazani sono stati depositati e studiati a temperature comprese tra la temperatura ambiente e circa 150°C [53]. I risultati delle analisi ATR-FTIR hanno mostrato chiaramente che una rapida polimerizzazione richiede la presenza di un'atmosfera con l'80% di umidità relativa e l'introduzione di un agente indurente catalitico come l'ammoniaca o un'ammina (figura 7).

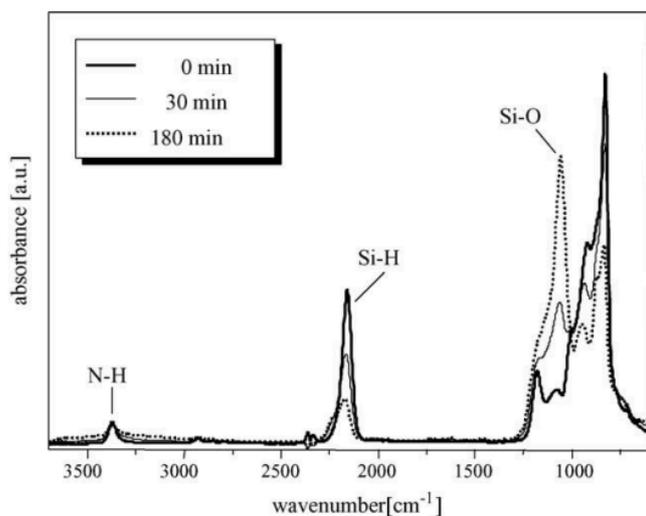


Figura 7: Spettro FTIR della trasformazione PHPS-Silice dopo diversi tempi di curing a 50°C e al 90% di umidità relativa. [48]

Il meccanismo di trasformazione da PHPS in silice, schematizzato in figura 8, in atmosfera umida è basato principalmente su reazioni di idrolisi dei legami Si-H e Si-N e su reazioni di condensazione con la successiva formazione di legami Si-O-Si.

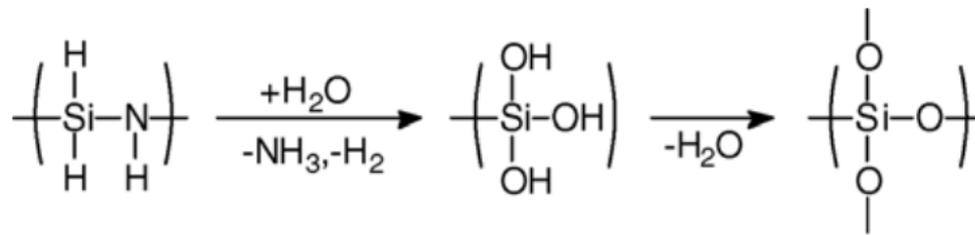


Figura 8: schematizzazione della reazione da PHPS a silice in atmosfera con un'umidità relativa dell'80%. [51]

Il fatto che la conversione in silice sia possibile senza raggiungere alte temperature, ma semplicemente utilizzando vapori di ammoniaca o un'atmosfera umida come catalizzatori, riveste una grande importanza per lo scopo del nostro lavoro; è una tecnica molto versatile, in quanto non richiede di sottoporre i substrati ad alte temperature, opzione che impedirebbe le applicazioni su materiali termosensibili.

5. La sintesi del rivestimento: peridropolisilazano e le nanoparticelle d'argento

Date le sue eccellenti proprietà meccaniche, termiche e chimiche, la silice è stata utilizzata come matrice per la realizzazione di coating funzionalizzati con nanoparticelle. In particolare, il PHPS ha suscitato una crescente attenzione negli anni grazie alla possibilità di trasformarlo in silice a temperatura ambiente; disperdere le nanoparticelle all'interno di una soluzione di PHPS, depositare la soluzione e lasciare agire la trasformazione peridropolisilazano-silice, sarebbe un metodo efficiente, semplice, versatile per ottenere dei rivestimenti con ottime proprietà.

È stato per esempio ottenuto da *Kiyofumi Katagiri et al.* un coating in grado di schermare gli infrarossi composto da una matrice in silice e nanoparticelle di ossido di indio-stagno. È stato possibile miscelare PHPS e ITO-NPs idrofobizzate e disperse in esano in seguito alla loro sintesi; la soluzione di peridrosilazano utilizzata era in dibutiletere, dato che il PHPS è solubile in vari solventi organici non polari. Successivamente, il PHPS è stato trasformato in silice ad alta densità utilizzando un processo a bassa temperatura (<100 °C) [54].

La sintesi di nanoparticelle d'argento in solventi organici è un problema affrontato da numerosi studiosi; i metodi tradizionali, infatti, portano alla sintesi di nanoparticelle d'argento in acqua o solventi polari in quanto molti precursori dell'argento e gli agenti riducenti sono solubili in acqua. Per realizzare dei coating, i solventi organici risultano più idonei grazie alla loro tensione superficiale e viscosità [55]. Per la sintesi diretta in solventi organici, sono stati usati con successo agenti di estrazione che hanno permesso di ottenere sospensioni di nanoparticelle d'argento in cherosene [56].

L'acetone è già stato utilizzato nella sintesi delle nanoparticelle d'argento. Per esempio, *Ramveer S. et al.* [57] hanno eseguito con successo la sintesi biologica usando come agente riducente l'estratto di *Celasia Cristata* delle AgNPs in diversi solventi, tra cui appunto l'acetone.

Per quanto riguarda invece la sintesi fotochimica in acetone, *Won Keun S. et al.* hanno realizzato delle fibre di acetato di cellulosa contenenti nanoparticelle d'argento tramite elettrospinning. A partire da una soluzione di acetato di cellulosa e nitrato d'argento in un solvente composto da acetone e acqua (80/20, w/w), sono state ottenute delle nanofibre che, successivamente

all'irraggiamento con luce UV, hanno mostrato la presenza di nanocluster di argento sulla loro superficie in grado di conferire alle fibre un'eccellente attività antibatterica [58].

Sintetizzare le nanoparticelle in acetone e poi disperderle all'interno della soluzione di PHPS oppure miscelare la soluzione di acetone e AgNO₃ con l'NN 120-20, depositare il coating e ottenere la sintesi di AgNPs attraverso l'irraggiamento UV potrebbe dunque essere una soluzione efficace e promettente.

6. Materiali e metodi

6.1. I substrati

I materiali utilizzati nella prima fase di sperimentazione sono stati AISI 304, vetro soda-lime e cotone, in modo da poter testare il rivestimento su uno spettro molto ampio di possibili substrati.

L'AISI 304 è un acciaio inox austenitico amagnetico, composto da un basso tenore di carbonio (circa lo 0,05%), da un tenore di cromo tra il 18% e il 20% e di nichel tra l'8% e l'11% (tabella 1). L'acciaio 304, insieme all'AISI 316, sono spesso usati per costruire i macchinari professionali impiegati nell'industria alimentare.

Tabella 1: Composizione chimica dell'AISI 304 [59]

Composizione chimica dell'AISI 304						
Valore massimo						
C	Mn	Si	Cr	Ni	P	S
0.08%	2.0%	1.0%	11.0-18.0%	8.0-10.5%	0.04%	0.03%
Valore tipico						
C	Mn	Si	Cr	Ni	P	S
0.04%	0%	0%	18.1%	8.0%	0%	0%

Il soda-lime è il tipo di vetro più diffuso, utilizzato per finestre e contenitori di vetro (bottiglie e barattoli) per bevande, cibo e molti articoli di prima necessità. Alcuni involucri per imballaggi di prodotti da forno sono realizzati in questo tipo di materiale, piuttosto che affidarsi al più comune vetro borosilicato. Il vetro soda-lime rappresenta circa il 90% del vetro lavorato. La sua composizione chimica è riportata nella tabella 2.

Tabella 2: Composizione chimica del vetro soda-lime [60]

Composizione chimica del vetro soda-lime			
SiO ₂	NaO ₂	CaO	Altro
70%	15%	9%	6%

Il cotone è una fibra tessile, ricavata dalla bambagia che avvolge i semi delle piante del genere *Gossypium*; la composizione chimica media di questa fibra è riportata nella tabella 3.

Tabella 3: composizione chimica della fibra di cotone [61]

Composizione chimica del cotone	
Cellulosa	93,50%
Carboidrati	0,18%
Zuccheri	0,04%
Sostanze azotate	0,17%
Cere	0,73%
Pectine	1,20%
Sostanze idrosolubili	3,07%
Acidi organici	0,20%
Ceneri	0,86%

6.2. Il rivestimento

Per la sintesi del rivestimento è stato scelto il peridropolisilazano, (PHPS), un polimero inorganico composto da legami Si–N con gruppi terminali Si–H come precursore della silice (figura 9). Il PHPS è stato utilizzato in una soluzione di etere dibutilico (20% (w/w), NN120-20) prodotta da DurXtreme.

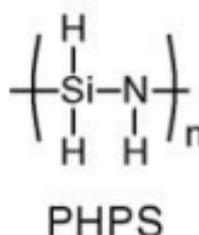


Figura 9: Struttura chimica del peridropolisilazano [52]

Nelle sperimentazioni preliminari la soluzione polimerica NN 120-20 (PHPS) è stata depositata per mezzo di una pipetta e mantenuta in presenza di vapori basici per 4 e 8 ore e all'aria a temperatura ambiente per 24 ore. I vapori di ammoniaca sono stati prodotti dal riscaldamento a 80°C di una soluzione acquosa di ammoniaca (concentrazione 1M).

Le nanoparticelle d'argento inizialmente sono state sintetizzate via processo fotochimico a partire da nitrato di argento. Nelle prime prove effettuate, si è cercato di solubilizzare il nitrato d'argento direttamente nella soluzione di PHPS. L'AgNO₃ è diventato di colore marrone scuro (in quanto entra a contatto con il solvente organico della soluzione polimerica) ed è precipitato nel caso di tutte le concentrazioni testate (0,3%, 0,5% e 1%). Data la mancata solubilizzazione del nitrato e quindi l'assenza di ioni Ag⁺ in soluzione, si presume che la sintesi fotochimica delle nanoparticelle non sia attuabile. I risultati delle analisi successivamente riportati hanno confermato l'impossibilità di procedere in questa direzione. L'AgNO₃ è infatti un sale, molto solubile in acqua, mentre il solvente della soluzione di PHPS è l'etere dibutilico. Come suggerito dallo studio di *Kiyofumi Katagiri et al* [53], è possibile disperdere le nanoparticelle all'interno della matrice di silice derivata dal PHPS solo se si disperdono prima in un solvente organico non polare.

Un'altra strategia da adottare è quella di solubilizzare il nitrato d'argento in un solvente miscibile con quello della soluzione di PHPS. L'etere dibutilico è altamente miscibile con il benzene e l'acetone; data la limitata solubilità dell'AgNO₃ nel benzene, è stato scelto come

solvente l'acetone. È stata quindi preparata una soluzione di acetone, nitrato d'argento e Darocur 1173, un fotopolimerizzatore liquido molto efficiente prodotto da Ciba Specialty Chemicals Inc. particolarmente indicato per la realizzazione di coating grazie alla sua bassa tendenza all'ingiallimento. La solubilizzazione del sale d'argento è stata ottenuta tramite stirring.

La soluzione di nitrato di argento e acetone è stata ottenuta ad una concentrazione di AgNO_3 pari allo 0,44% (il limite di solubilità del sale d'argento in acetone). Tale soluzione è stata successivamente miscelata a quella di PHPS variando la proporzione in massa (0.5:1, 0,75:1, 1:1, 2:1).

Mantenendo la proporzione in massa di acetone/ AgNO_3 /fotopolimerizzatore:PHPS a 0.5:1, 0.75:1 1:1, la miscelazione ha sempre avuto esito positivo: la soluzione ottenuta ha sempre presentato un colore scuro e omogeneo, confermando l'avvenuta dispersione del nitrato d'argento nel PHPS come è possibile vedere in figura 10.



Figura 10: soluzione di acetone, AgNO_3 , fotopolimerizzatore e PHPS

Andando invece ad aumentare la soluzione di acetone/ AgNO_3 /fotopolimerizzatore rispetto alla soluzione di PHPS a 1.5:1 e 2:1, si verificava la separazione tra le due soluzioni.

Avendo quindi stabilito la massima concentrazione di nitrato d'argento raggiungibile nella soluzione finale (0,22%), si è poi proceduto con la deposizione della soluzione e l'irraggiamento UV.

In tabella 4 vediamo una sintesi delle soluzioni utilizzate su cui sono state poi eseguite le analisi riportate nel Capitolo 3.

Tabella 4: Composizione soluzioni utilizzate

Concentrazione AgNO ₃ nella soluzione di acetone/fotopolimerizzatore	Quantità soluzione (in % in massa rispetto alla quantità di PHPS)	Concentrazione AgNO ₃ nella soluzione finale	Nome Soluzione
-	-	1%	PHPSAgNO₃1
0,44%	50%	0,15%	PHPSAg0,5
0,44%	75%	0,19%	PHPSAg0,75
0,44%	100%	0,22%	PHPSAg1

6.3. Realizzazione del coating

6.3.1. Aumento della viscosità della soluzione

La soluzione di PHPS miscelata con la soluzione di acetone/nitrato d'argento/fotopolimerizzatore presentava una viscosità molto bassa per essere depositata in modo controllato. Per evitare questo inconveniente, è stato utilizzato un evaporatore rotante, detto anche rotavapor; lo strumento utilizzato è il Bibby Scientific RE300 Rotary Evaporator (figura 11).



Figura 11: immagine del Bibby Scientific RE300 Rotary Evaporator (o rotavapor) utilizzato

Questo strumento è utilizzato comunemente per separare i solventi da una soluzione di un composto d'interesse, tramite evaporazione a bassa pressione. Esso è costituito da sei elementi principali:

- un pallone di evaporazione contenente la soluzione da evaporare
- un bagno termostatico, in cui si immerge il pallone di evaporazione per mantenere la soluzione alla temperatura opportuna

- un meccanismo motorizzato, in grado di mettere in rotazione il pallone di evaporazione
- un condensatore verticale o inclinato che provvede ad abbattere il grosso dei vapori sviluppatisi
- un pallone di raccolta per i solventi condensati
- una pompa a membrana che genera il vuoto

I palloni, il condensatore e gli elementi di raccordo fra questi sono realizzati in vetro e, una volta montato, il sistema montato deve garantire una perfetta tenuta del vuoto.

L'applicazione di un'opportuna depressione abbassa la temperatura di ebollizione del solvente, permettendo la sua evaporazione a una temperatura molto più bassa rispetto a quella necessaria lavorando a pressione atmosferica. La rotazione del pallone di evaporazione fa depositare un sottile strato di soluzione sulla superficie di vetro, facilitando l'evaporazione del solvente; il pallone di evaporazione può anche essere riscaldato tramite bagno termostatico velocizzando, in questo modo, la separazione solvente-soluto. I vapori del solvente si allontanano e, incontrando la superficie del condensatore, opportunamente raffreddata, condensano e vengono raccolti in gocce nel pallone di raccolta. Il condensatore più comune è quello a serpentina, in cui circola acqua fredda o una soluzione refrigerata [62].

Inizialmente il rotavapor è stato utilizzato solo con PHPS, ma dato che il processo causava l'evaporazione del solvente, l'etere dibutilico, la miscelazione con la soluzione di acetone è risultata poi non attuabile. È stato quindi deciso di applicare il medesimo processo sulla soluzione PHPS/acetone/AgNO₃/fotopolimerizzatore.

6.3.2. Deposizione del coating

Una volta prodotta una soluzione più viscosa, il coating è stato depositato su vetrini soda-lime utilizzando uno stendifilm manuale (figura 12), in modo da ottenere dei rivestimenti omogenei, con uno spessore di 50 μm . Successivamente, i risultati delle analisi sono stati confrontati con quelli ottenuti dalla deposizione di gocce di soluzione.



Figura 12: immagine dello stendifilm manuale utilizzato

Data l'estrema volatilità dell'acetone (la cui temperatura di ebollizione è 50°C), una viscosità adeguata alla stesura con barretta stendifilm e alla deposizione a goccia della soluzione è stata ottenuta dopo circa 4 minuti. Nelle figure 13 e 14 è possibile notare la differenza tra le tre deposizioni testate.

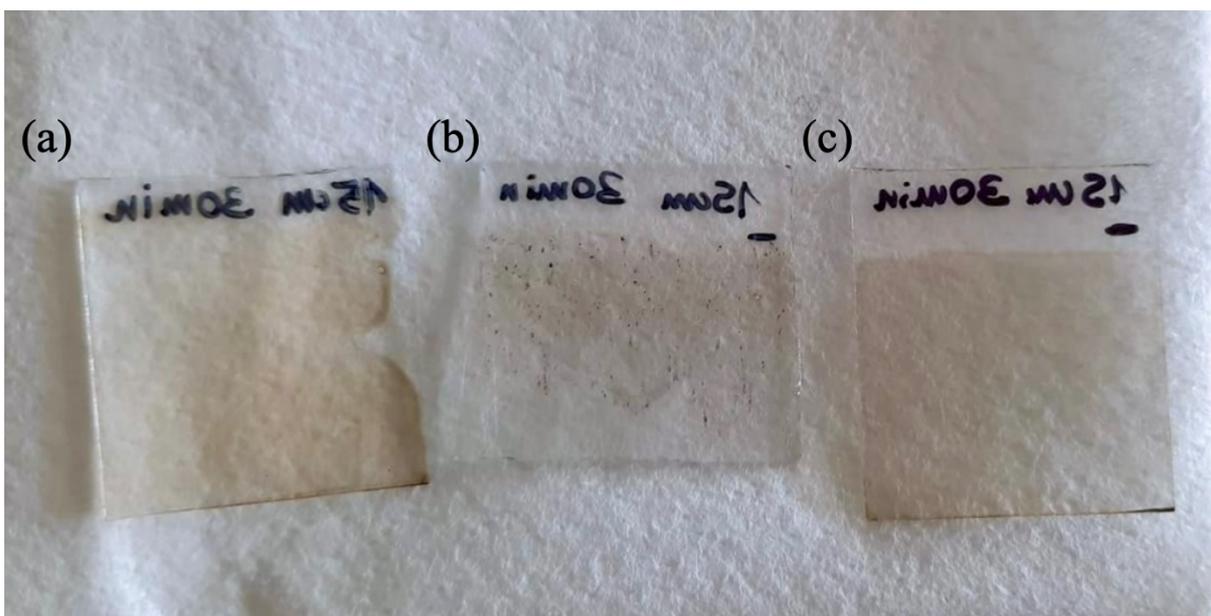


Figura 13: (a) deposizione con stendifilm della soluzione senza utilizzo del rotavapor, (b) deposizione con stendifilm di PHPS sottoposta a evaporazione del solvente e poi miscelata alla soluzione di acetone/ AgNO_3 /fotopolimerizzatore, (c) deposizione della soluzione PHPS/acetone/ AgNO_3 /fotopolimerizzatore e poi mantenuta nell'evaporatore rotante per 4 minuti

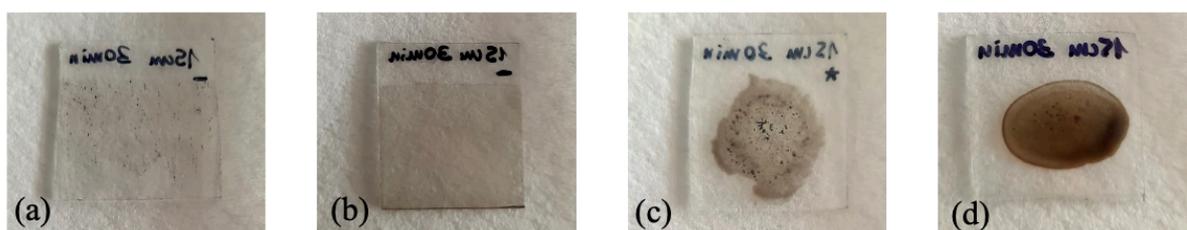


Figura 14: (a) deposizione con stendifilm di PHPS sottoposta a evaporazione del solvente e poi miscelata alla soluzione di acetone, (b) deposizione con stendifilm della soluzione miscelata e poi mantenuta nell'evaporatore rotante per 4 minuti, (c) deposizione a goccia di PHPS sottoposta a evaporazione del solvente e poi miscelata alla soluzione di acetone, (d) deposizione a goccia della soluzione miscelata e poi mantenuta nell'evaporatore rotante per 4 minuti

6.3.3. Irraggiamento UV

Per la sintesi delle nanoparticelle d'argento è stata utilizzata la camera UV della serie ECE di DYMAX (figura 15), con una potenza di $195,507 \text{ mW/cm}^2$. I tempi di esposizione testati sono stati di 30 e 45 minuti. Durante l'irraggiamento, l'insufflaggio di azoto è stato mantenuto costante.



Figura 15: foto della camera UV serie ECE utilizzata per il processo di sintesi delle nanoparticelle d'argento

6.4. Caratterizzazione morfologica e composizionale

Al fine di valutare la corretta trasformazione del PHPS in silice, i campioni ottenuti sono stati sottoposti a spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR), per valutare il processo di trasformazione in quanto permette di vedere chiaramente la formazione di legami Si-O, e successivamente a spettrometria per dispersione di energia (EDS) per controllare la presenza di Si sui substrati; per indagare la morfologia del rivestimento ottenuto è stata utilizzata la microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM).

Per verificare la sintesi delle nanoparticelle d'argento, le tecniche d'analisi utilizzate sono state in primo luogo la spettroscopia UV-visibile (UV-vis), una delle tecniche più utilizzate per il controllo della sintesi di nanoparticelle metalliche in quanto rileva la risonanza plasmonica di superficie localizzata tipica delle nanoparticelle, analizzando un range di lunghezze d'onda compreso tra 700 e 200 nm; è stata poi utilizzata la diffrazione a raggi X (XRD) in quanto permette di rilevare la presenza di fasi cristalline, e quindi di individuare la presenza di nanoclusters metallici nel coating e di una matrice completamente amorfa o cristallina e la spettrometria per dispersione di energia (EDS) per controllare la presenza di argento nel rivestimento. Come per il rivestimento ottenuto dall'utilizzo del solo PHPS, la caratterizzazione morfologica è stata effettuata tramite microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM), confrontando il rivestimento ottenuto dalla deposizione del solo PHPS con quello

La Tabella 5 riassume le tecniche di analisi impiegate, ed evidenzia per ciascuna il materiale utilizzato come substrato e il coating analizzato.

Tabella 5: Tecniche di analisi utilizzate e coating testati sui relativi substrati

Tecnica di analisi	Substrato	Coating	
FTIR	AISI 304	PHPS	
	Vetro soda-lime	PHPS	SiO ₂ +AgNPs

FESEM-EDS	AISI 304	PHPS	
	Vetro soda-lime	PHPS	SiO ₂ +AgNPs
	Cotone	PHPS	
UV-vis	Vetro soda-lime	SiO ₂ +AgNPs	
XRD	Vetro soda-lime	PHPS	SiO ₂ +AgNPs

Il coating SiO₂+AgNPs al quale si riferisce la tabella 5 è il coating ottenuto dalla fotopolimerizzazione della soluzione di PHPS/acetone/AgNO₃/fotopolimerizzatore tramite irraggiamento UV.

6.5. Test antibatterici

La valutazione dell'attività antibatterica del rivestimento SiO₂+AgNPs è stata effettuata tramite test dell'alone di inibizione (NCCLS M2-A9); in questo si valuta qualitativamente l'eventuale formazione di un alone privo di batteri nell'intorno del campione incubato a contatto con il ceppo batterico.

Il test è stato effettuato usando il ceppo batterico *Staphylococcus epidermidis*, un batterio non patogeno naturalmente presente sulla pelle.

In breve, viene preparata una soluzione batterica in brodo nutriente contenente una quantità di batteri predefinita in base all'indice di McFarland, usato come riferimento per raggiungere la giusta torbidità della sospensione batterica (0,5) corrispondente a una determinata concentrazione di cellule batteriche per volume di sospensione (circa 10⁸ CFU - unità formanti colonie - su ml).

Tale soluzione batterica viene poi omogeneamente distribuita su una piastra di agar Mueller Hinton e i campioni vengono posizionati in modo che la superficie rivestita sia rivolta verso la piastra e quindi a contatto con essa.

Dopo 24/ 48 ore di incubazione a 35°C è possibile stabilire se il rivestimento ha prodotto un'azione antibatterica osservando l'eventuale comparsa di una zona di inibizione, cioè priva di batteri, intorno e sotto al campione.

6.6. Prove di rilascio ionico in acqua

L'attività antibatterica del rivestimento dipende anche dagli ioni d'argento liberati. Per questo motivo è stato effettuato un test di rilascio ionico in acqua a temperatura ambiente. Sono stati quindi preparati dei campioni rivestiti di dimensioni $1 \times 1 \text{ cm}^2$, poi immersi in 30 ml di acqua deionizzata e lasciati a temperatura ambiente per diversi intervalli di tempo: 3 ore, 1 giorno, 3 giorni, 7 giorni e 14 giorni. Al termine di ogni lasso temporale, la soluzione è stata prelevata ed è stata determinata la concentrazione degli ioni Ag^+ in soluzione tramite spettrofotometria (Hanna instrument). La prova viene ripetuta tre volte per ogni intervallo di tempo testato.

7. Risultati

Il rivestimento composito con matrice di silice e nanoparticelle di argento è stato ottenuto dalla deposizione a goccia e tramite stendifilm manuale dalle soluzioni di PHPS, Acetone, AgNO₃ e fotopolimerizzatore le cui composizioni sono riportate nella tabella 4.

Prove e caratterizzazioni preliminari sono state condotte per ottimizzare il processo di trasformazione precursore polimerico-silice; si è poi proceduto con la verifica dell'avvenuta sintesi delle nanoparticelle d'argento tramite le prove e le analisi successivamente riportate.

7.1. Rivestimento di silice a partire dal precursore polimerico peridropolisilazano (PHPS)

In questa fase della sperimentazione, è stata seguita la trasformazione del peridropolisilazano in silice con l'ausilio di varie tecniche d'analisi.

7.1.1. Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR)

I campioni rivestiti di AISI 304, vetro soda-lime e cotone sono stati analizzati tramite spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier in assorbimento (ATR-FTIR), in modo da verificare la trasformazione del peridropolisilazano in silice esaminando lo spettro IR del coating e, allo stesso tempo, determinare la procedura più efficace per facilitare il processo.

Sono state testate le seguenti condizioni:

- Tempo zero;
- Esposizione a vapori basici per 8 ore;
- Permanenza all'aria per 24 ore.

Data la difficoltà riscontrata nel distinguere lo spettro del cotone dallo spettro del PHPS, dovuta al fatto che le fibre si impregnano della soluzione polimerica, queste analisi sono state poi effettuate solo su campioni di AISI 304 e vetro soda-lime.

Come è già stato evidenziato da *Bauer et al.* [53], la trasformazione del peridropolisilazano in silice può essere seguita tramite spettroscopia a infrarosso verificando la progressiva crescita e successiva unione dei due picchi compresi tra 1250 cm^{-1} e 1000 cm^{-1} appartenenti allo spettro del peridropolisilazano con la comparsa di un picco a banda larga circa 1025 cm^{-1} , corrispondente allo stretching asimmetrico del legame Si-O. In figura 16 è possibile vedere la trasformazione del polimero nel tempo esposto al 90% di umidità.

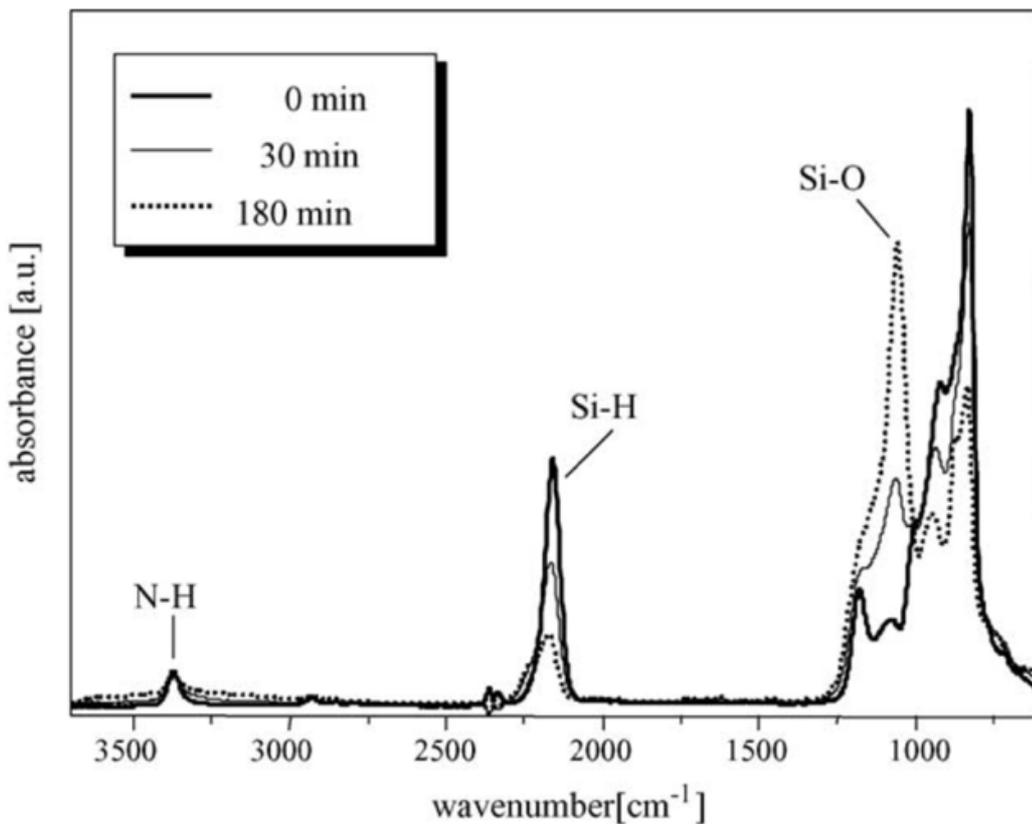


Figura 96: Spettro FTIR della trasformazione PHPS-Silice dopo diversi tempi di curing a 50°C e al 90% di umidità relativa. [52]

In primo luogo, è stata verificata la trasformazione PHPS-Silice in presenza di vapori basici con 8 ore di esposizione. Come si evince dagli spettri ottenuti dai campioni di AISI 304 e di vetro soda-lime, i vapori basici sono in grado di catalizzare la trasformazione.

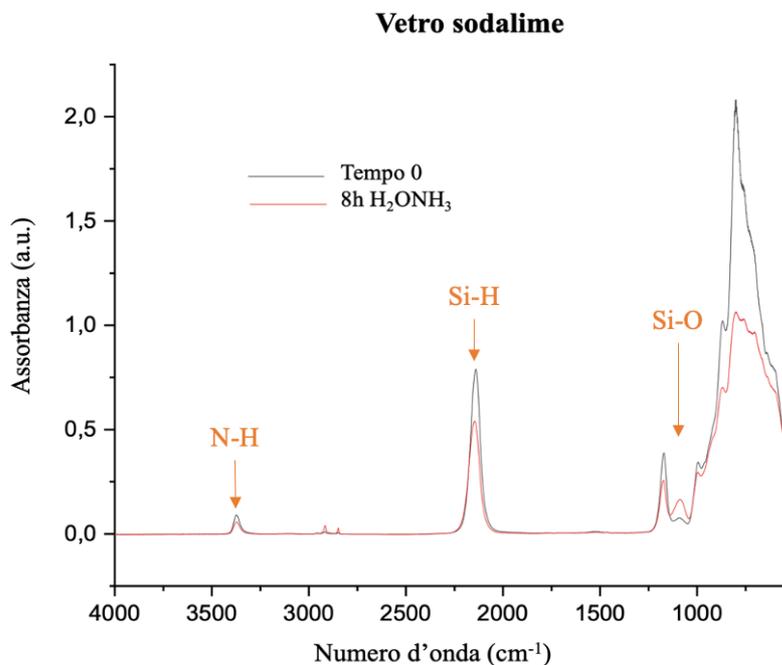


Figura 17: Spettro FTIR del rivestimento in PHPS su vetro soda-lime al tempo 0 e dopo 8 ore di esposizione a vapori basici

In figura 17 sono riportati gli spettri FTIR ottenuto dalle deposizioni su vetro soda-lime; l'esposizione per 8 ore a vapori basici ha provocato un cambiamento nella curva relativa allo spettro FTIR del rivestimento, in particolare nella zona compresa tra i numeri d'onda 1250 e 1000 cm⁻¹, causando la comparsa di un secondo picco più prossimo a 1000 cm⁻¹.

Questi risultati sono stati poi confrontati con quelli dati dalla permanenza all'aria per 24 ore del coating realizzato sul substrato di AISI 304, in modo da verificare la possibilità di poter ottenere lo stesso risultato senza applicare ulteriori procedure.

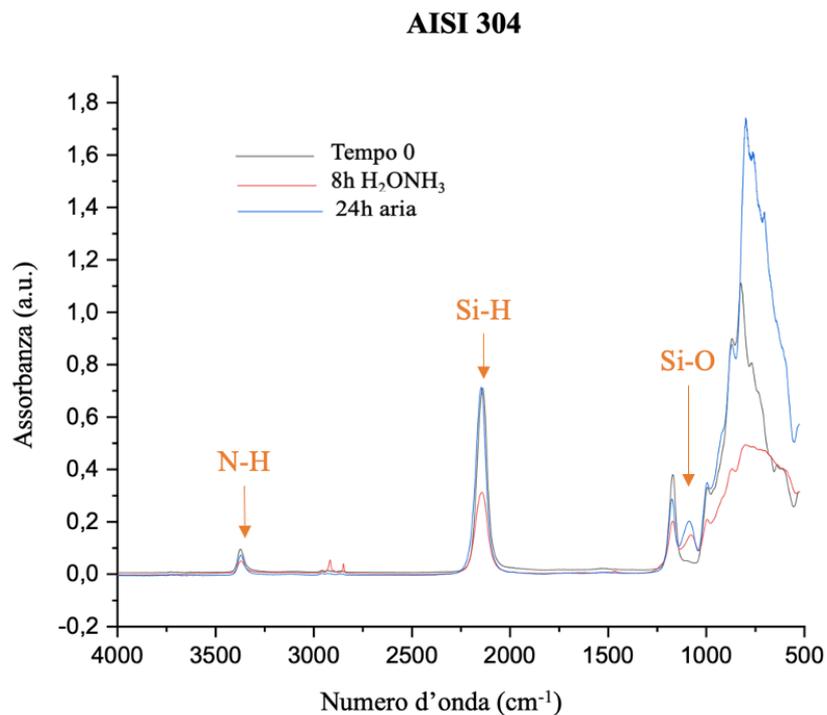


Figura 18: Spettro FTIR del rivestimento in PHPS su AISI 304 al tempo 0, dopo 8 ore di esposizione a vapori basici e dopo 24 ore di esposizione all'aria

Come si può vedere in figura 18, il rivestimento depositato su AISI 304 dopo 24 ore di permanenza all'aria mostra uno spettro con un trend molto simile a quello ottenuto dopo 8 ore di esposizione a vapori basici. Sulla base di questo risultato abbiamo scelto per le successive sperimentazioni riguardanti la sintesi delle nanoparticelle d'argento all'interno della matrice di PHPS di lasciare i campioni all'aria.

A conferma dei risultati ottenuti, è stata effettuata un'analisi Real-Time FTIR-ATR su un campione di vetro soda-lime rivestito da PHPS.

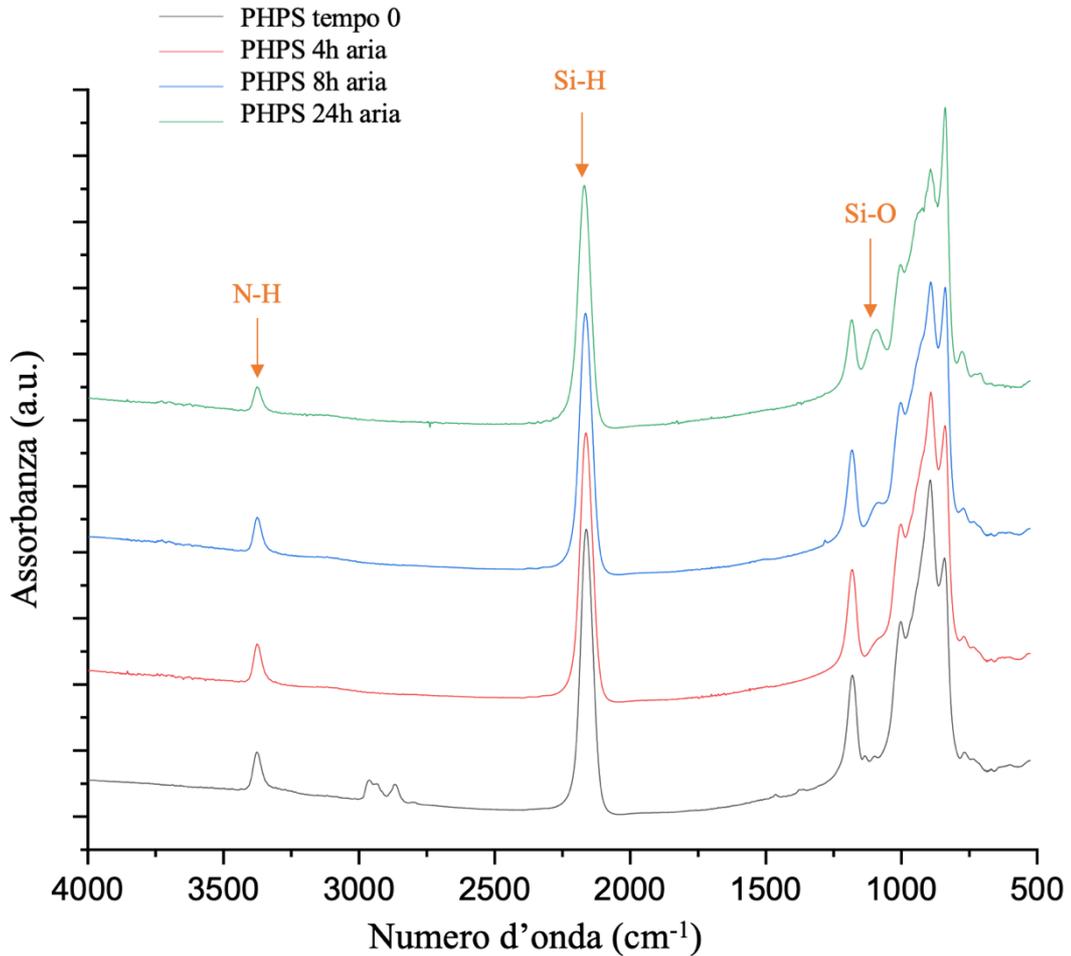


Figura 19: Spettro FTIR del rivestimento in PHPS su vetro soda-lime al tempo 0 e dopo 4, 8 e 24 ore all'aria

La trasformazione del PHPS all'aria è seguita nell'arco di 24 ore; in figura 19 è possibile notare come la permanenza a temperatura ambiente all'aria sia in grado di causare la formazione del picco dello stretching asimmetrico del legame Si-O e la diminuzione del picco relativo al legame N-H, quindi di catalizzare la trasformazione in silice del peridropolisilazano.

7.1.2. Spettrometria per dispersione di energia (EDS)

L'analisi elementare dei rivestimenti depositati sui campioni di AISI 304, cotone e vetro sodalime esposti per 4 e 8 ore a vapori basici è stata effettuata tramite EDS per verificare la presenza di silice e ossigeno nel rivestimento. In primo luogo, è stata esaminata la fase intermedia della trasformazione di 8 ore, partendo quindi dall'analisi dei campioni esposti per sole 4 ore ai vapori basici.

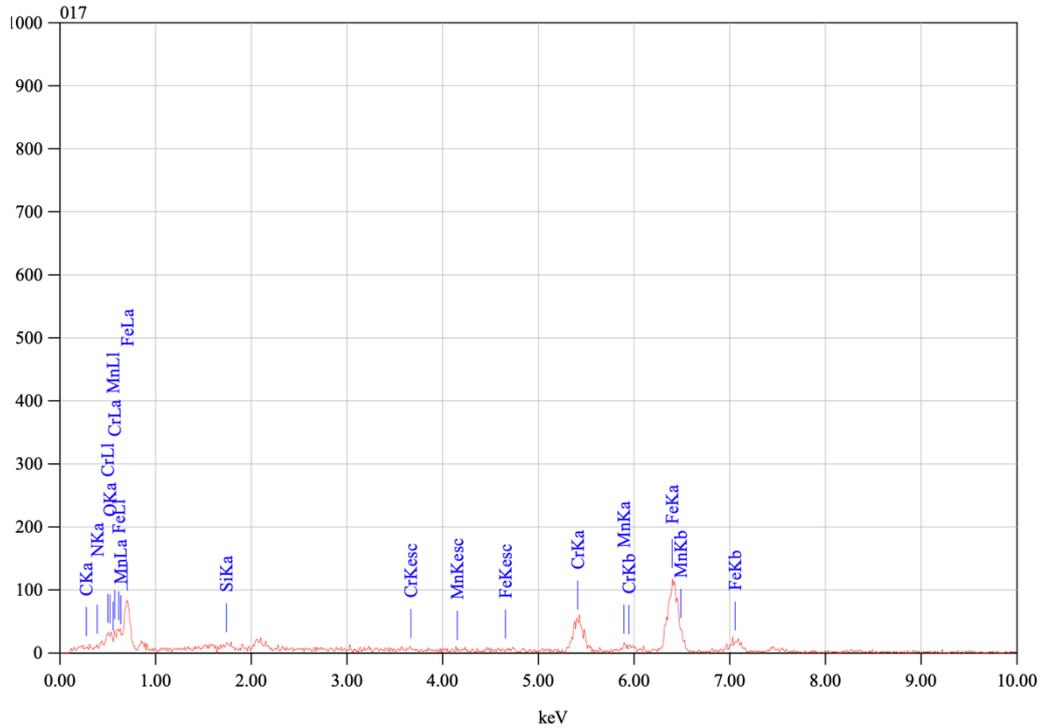


Figura 20: spettro EDS del bianco di AISI 304

Tabella 6: composizione chimica AISI 304

AISI 304						
C	O	N	Si	Cr	Fe	
2,96%	2,30%	2,91%	0,81%	19,14%	71,40%	Media (% atomica)
2,60%	2,66%	3,99%	0,61%	0,97%	0,94%	Deviazione standard

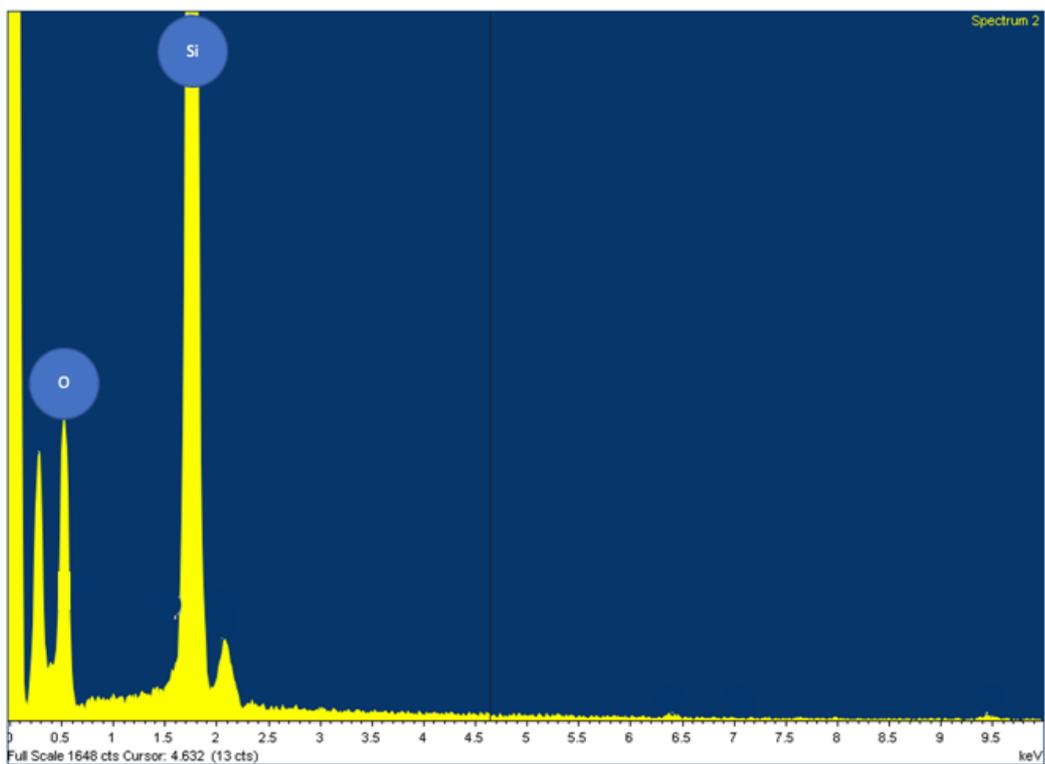


Figura 21: spettro EDS del rivestimento depositato su AISI 304 e lasciato esposto per 4 ore a vapori basici

Tabella 7: composizione rivestimento depositato su AISI 304 ed esposto per 4 ore ai vapori basici

AISI 304 – 4 ore vapori basici		
Elemento	Media (% atomica)	Deviazione Standard
Si	30,33%	23,21%
O	40,57%	17,95%

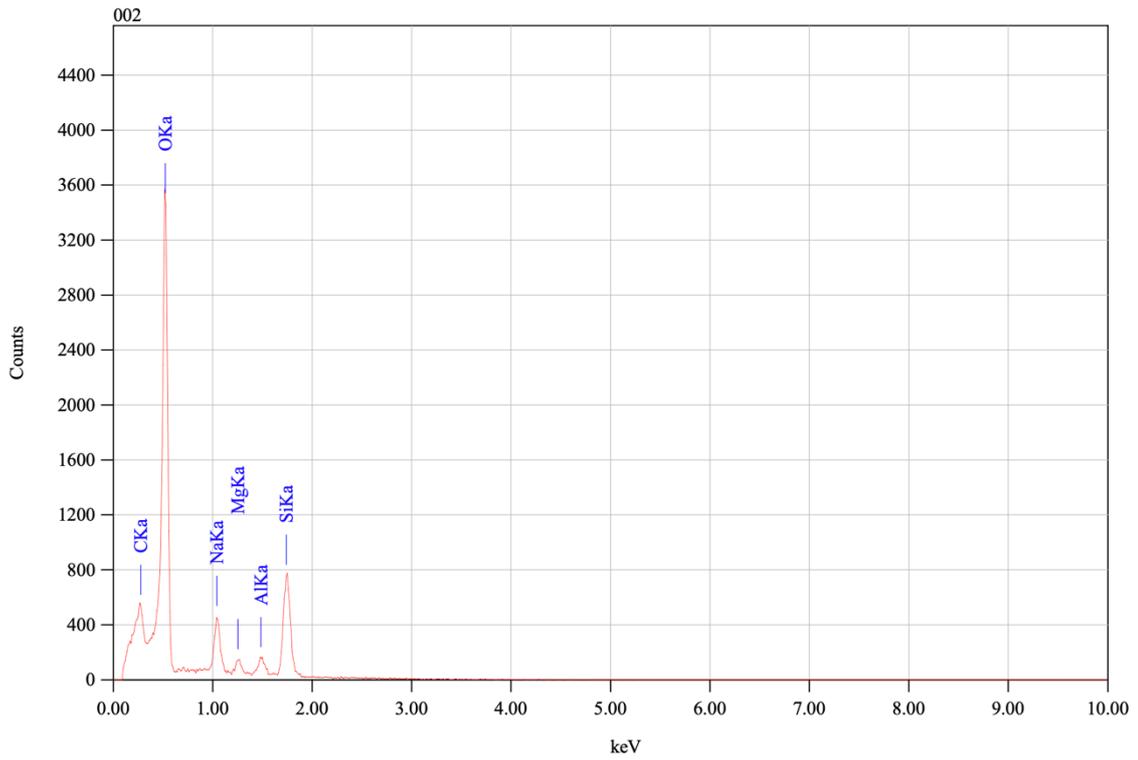


Figura 22: spettro EDS del bianco di vetro soda-lime

Tabella 8: composizione bianco di vetro soda-lime

Vetro soda-lime						
C	O	Na	Mg	Al	Si	
12,86%	71,12%	4,59%	1,09%	1,47%	7,86%	Media (% atomica)
0,97%	0,95%	0,22%	0,11%	0,17%	0,32%	Deviazione standard

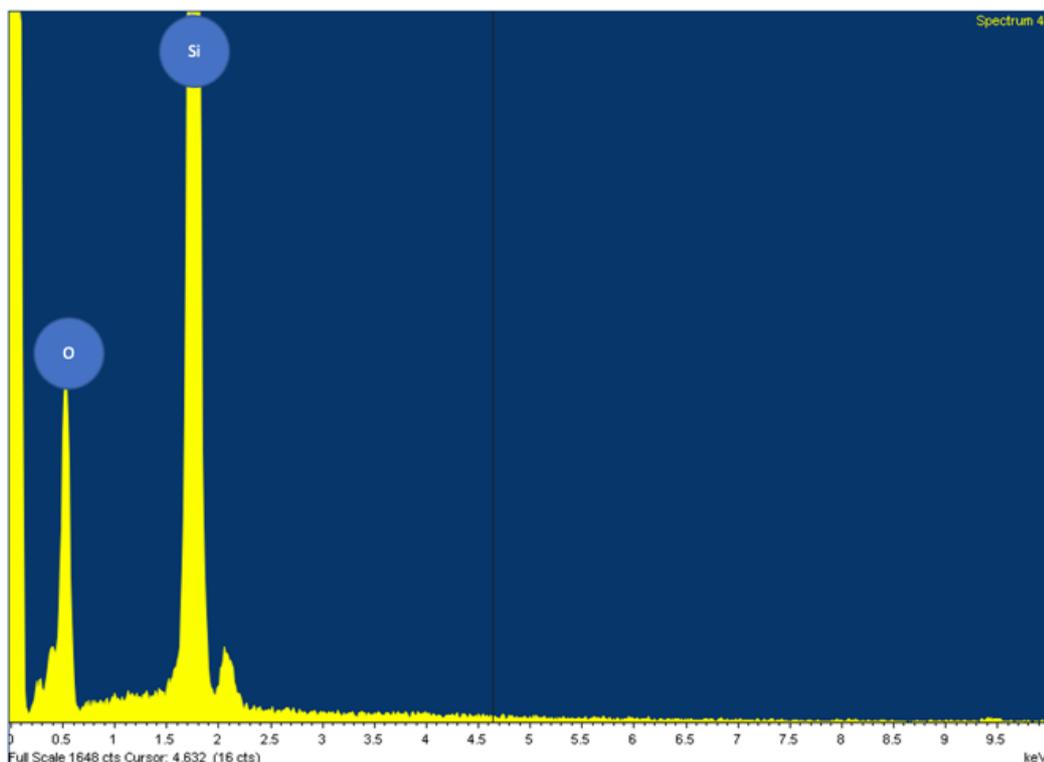


Figura 23: spettro EDS del rivestimento depositato su vetro soda-lime e lasciato esposto per 4 ore a vapori basici

Tabella 9: composizione rivestimento depositato su vetro soda-lime ed esposto per 4 ore a vapori basici

Vetro soda-lime – 4 ore vapori basici		
Elemento	Media (% atomica)	Deviazione Standard
Si	36,31%	7,93%
O	63,69%	7,93%

Considerando gli spettri ottenuti dalle prime analisi EDS (figura 21 e 23, tabella 7 e 9), il rivestimento dopo 4 ore di esposizione risulta principalmente costituito da silicio e ossigeno.

Passiamo quindi all'analisi del rivestimento ottenuto dalla deposizione della soluzione di PHPS esposta per 8 ore ai vapori basici della soluzione acquosa di ammoniacca.

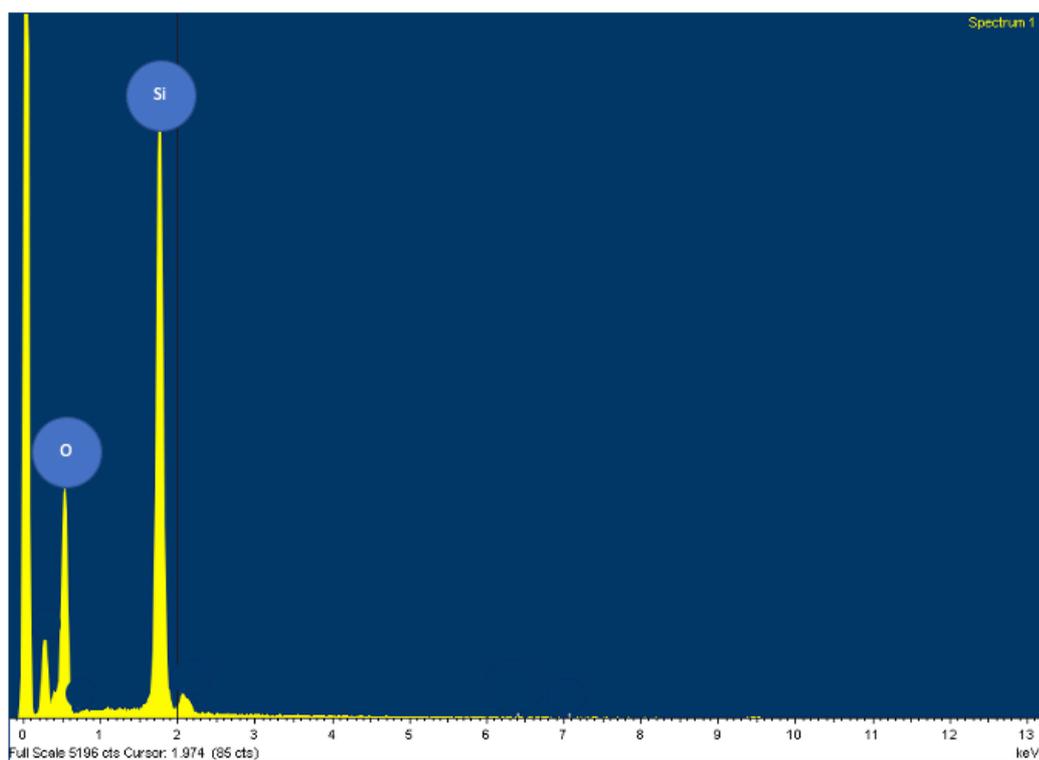


Figura 24: spettro EDS del rivestimento depositato su AISI 304 e lasciato esposto per 8 ore a vapori basici

Tabella 10: composizione rivestimento depositato su AISI 304 ed esposto per 8 ore a vapori basici

AISI 304 – 8 ore vapori basici		
Elemento	Media (% atomica)	Deviazione Standard
Si	13,86%	7,71%
O	67,44%	1,09%

Sebbene l'EDS sia poco affidabile per un'analisi quantitativa dell'ossigeno, in figura 24 e in tabella 10 si può comunque notare un considerevole aumento dell'ossigeno rispetto al silicio nel coating in seguito all'aumento del tempo di esposizione ai vapori basici.

Tutte le misurazioni sono comunque affette da un'elevata deviazione standard probabilmente a causa della deposizione non controllata della soluzione di PHPS per mezzo di una pipetta.

7.1.3. Microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM)

Le morfologie dei rivestimenti ottenuti con il solo precursore polimerico, depositati sui campioni di AISI 304, cotone e vetro soda-lime ed esposti per 4 e 8 ore a vapori basici, sono state osservate attraverso la tecnica FESEM. In seguito nelle figure si riportano le micrografie relative ai vari rivestimenti ottenuti.

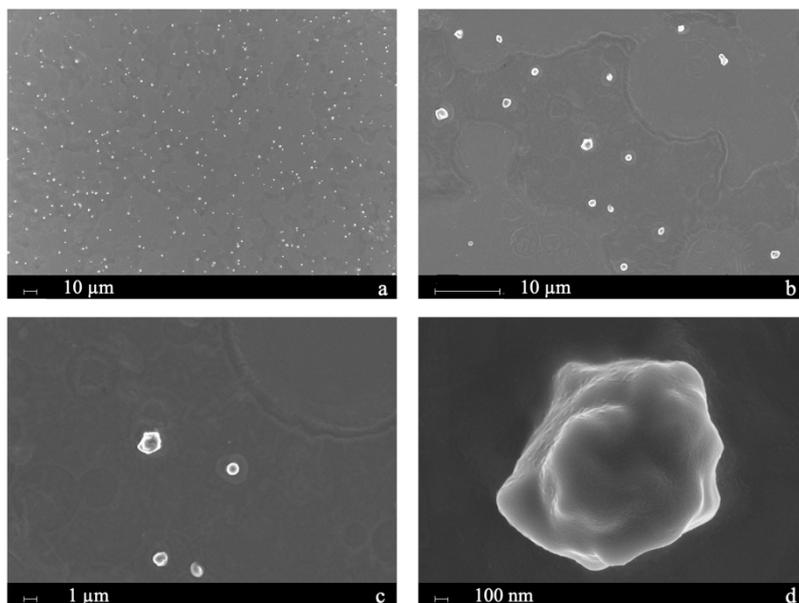


Figura 25: micrografia FESEM dei rivestimenti ottenuti su AISI 304 dopo 4 ore a vapori basici a diversi ingrandimenti: a) 1.00kX, b) 5.00kX, c) 10.00kX, d) 100.00kX

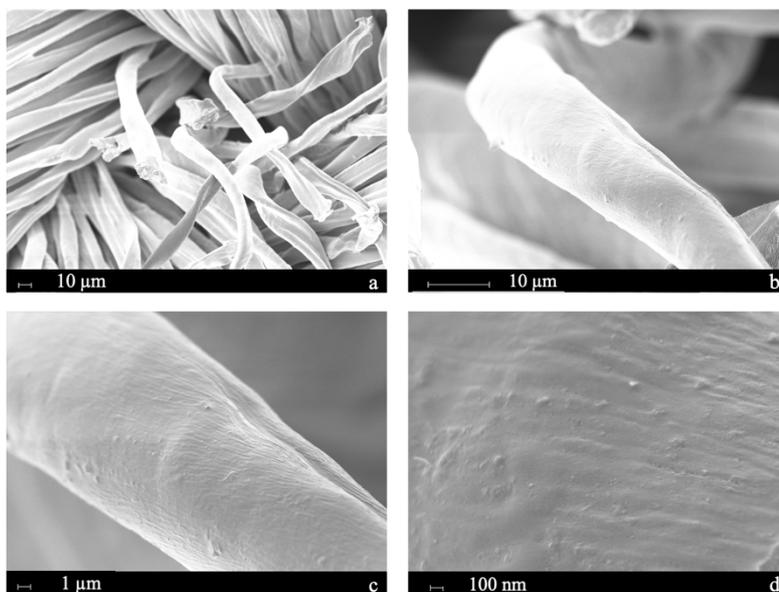


Figura 26: micrografia FESEM dei rivestimenti ottenuti su cotone dopo 4 ore a vapori basici a diversi ingrandimenti: a) 1.00kX, b) 5.00kX, c) 10.00kX, d) 100.00kX

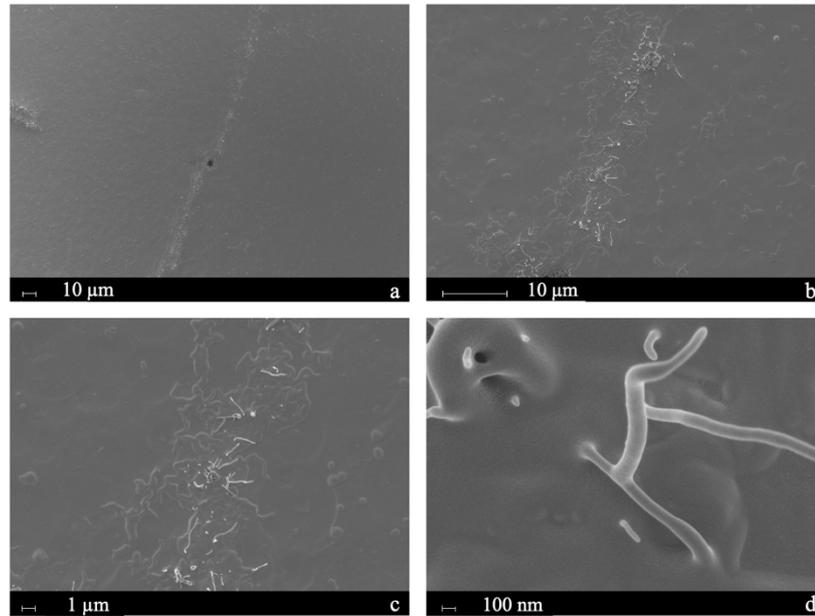


Figura 27: micrografia FESEM dei rivestimenti ottenuti su vetro soda-lime dopo 4 ore a vapori basici a diversi ingrandimenti: a) 1.00kX, b) 5.00kX, c) 10.00kX, d) 100.00kX

Come è possibile vedere in figura 25, 26 e 27, nessun rivestimento mostra ancora la tipica morfologia dei coating in silice. È stato però dimostrato che nelle fasi iniziali della trasformazione PHPS-silice avviene la formazione di microdomini di silice dalle dimensioni dell'ordine delle centinaia di nanometri [52], che sono visibili nella figura 8 relativa al coating realizzato su AISI 304.

Le micrografie riportate nelle figure 28-30 riguardano i campioni sottoposti a un trattamento di 8 ore su vapori basici. Dopo il processo di esposizione di 8 ore i microdomini presenti sulla superficie dei campioni dovrebbero presentarsi più numerosi e di dimensione maggiore.

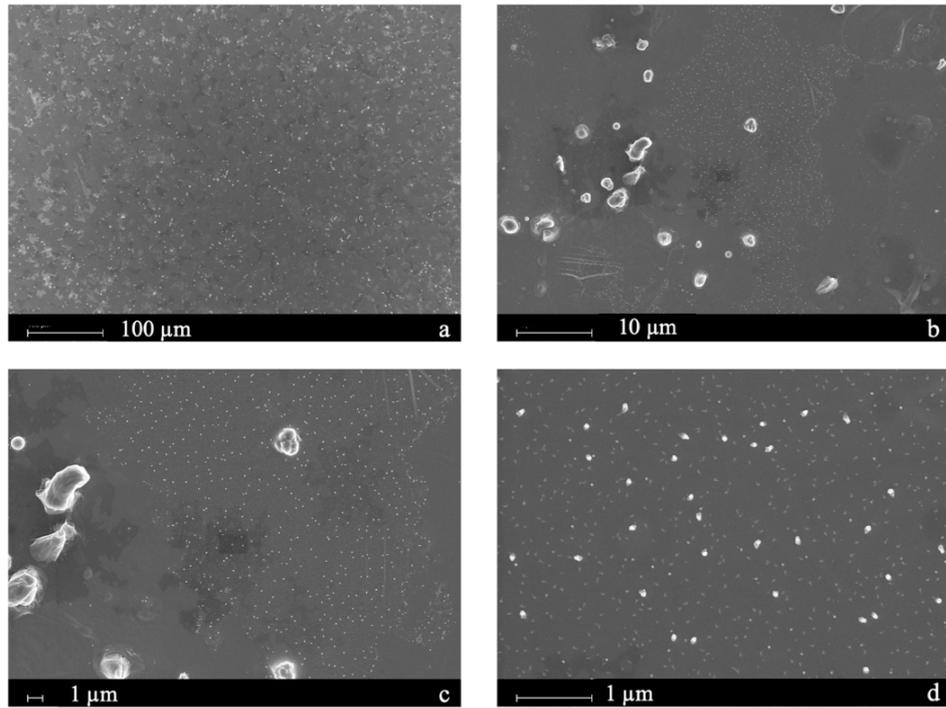


Figura 28: micrografia FESEM dei rivestimenti ottenuti dopo 8 ore su AISI 304 a diversi ingrandimenti: a) 500X, b) 5.00kX, c) 10.00kX, d) 50.00kX

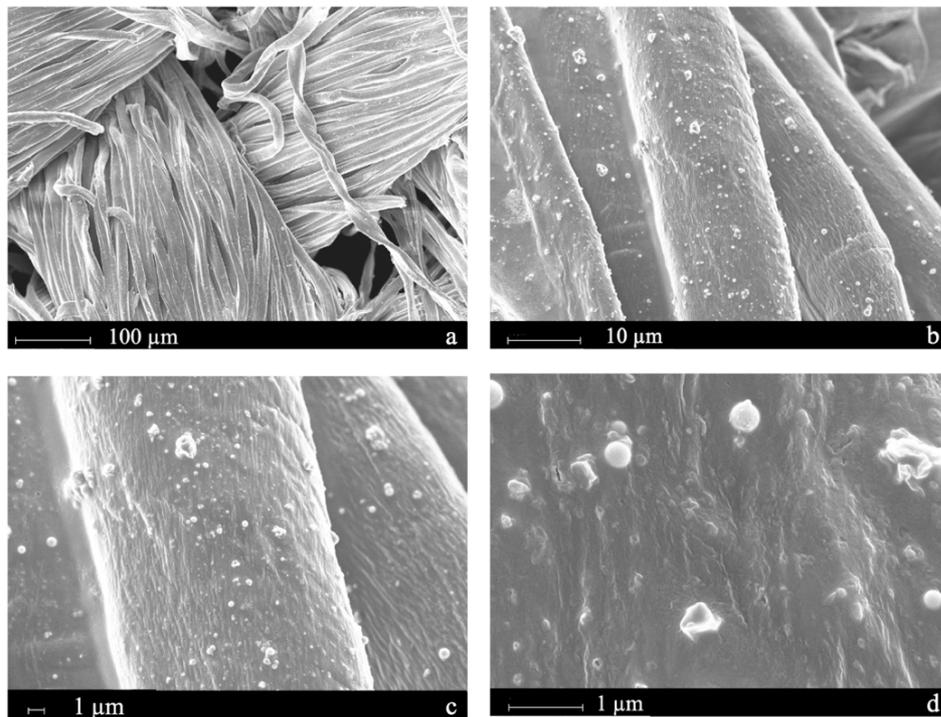


Figura 29: micrografia FESEM dei rivestimenti ottenuti su cotone dopo 8 ore a vapori basici a diversi ingrandimenti: a) 500X, b) 5.00kX, c) 10.00kX, d) 50.00kX

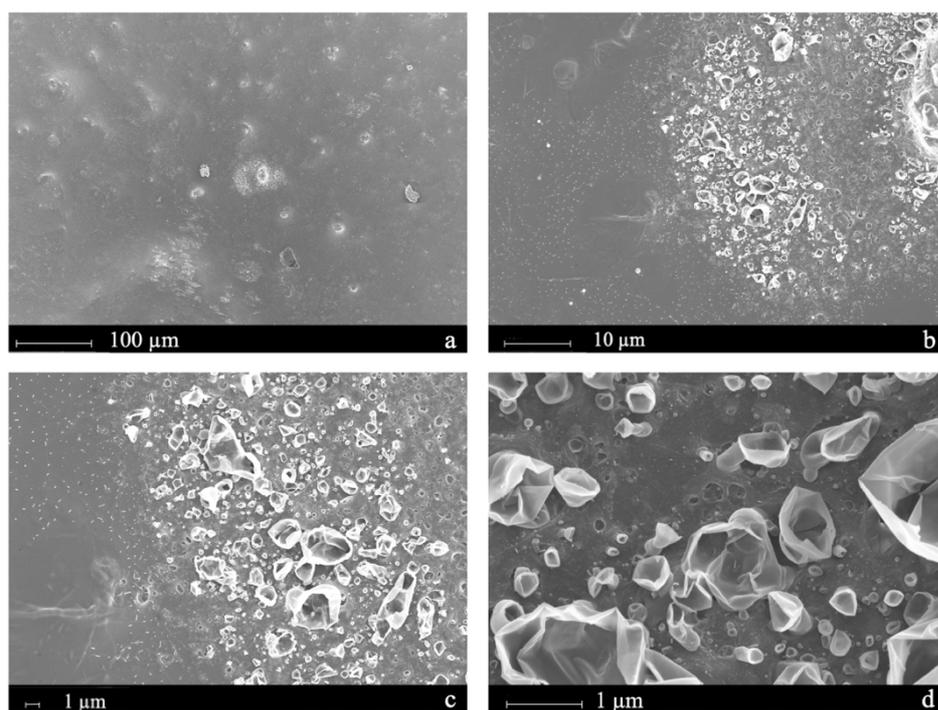


Figura 30: micrografia FESEM dei rivestimenti ottenuti su vetro soda-lime dopo 8 ore a vapori basici a diversi ingrandimenti: a) 500X, b) 5.00kX, c) 10.00kX, d) 50.00kX

Dalle immagini riportate si nota infatti la presenza sulla loro superficie dei campioni di clusters di silice di dimensioni che raggiungono e, in alcuni casi, superano il micron, confermando dunque il proseguimento della trasformazione in silice del peridropolisilazano all'aumento del tempo di esposizione ai vapori basici della soluzione di ammoniacca.

7.2. Caratterizzazione composizionale, strutturale e morfologica del rivestimento composito di PHPS e nanoparticelle d'argento

La sintesi del rivestimento composito con le nanoparticelle di argento immerse nella matrice di silice ha previsto una serie di prove preliminari riportate nel capitolo relativo materiali e metodi; le soluzioni testate in questa fase della sperimentazione sono riportate in tabella 5.

È stata infatti testata l'efficacia della procedura di sintesi fotochimica utilizzando una soluzione di PHPS, nitrato d'argento e fotopolimerizzatore (utilizzato sempre nella stessa quantità del sale d'argento) e successivamente utilizzando l'acetone come solvente per l'AgNO₃ e il fotopolimerizzatore per ottenere una soluzione miscelabile con il dibutiletere e il PHPS.

7.3.1. Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR)

L'analisi ATR-FTIR è stata utilizzata per verificare che la sintesi fotochimica delle nanoparticelle d'argento non inficiasse nella trasformazione del PHPS in silice e, allo stesso tempo, testare l'effetto della luce UV sul PHPS, in quanto potrebbe fungere da catalizzatore nella reazione PHPS-silice [63]. In primo luogo, è stato testato l'effetto della luce UV per 30 minuti di irraggiamento ad una potenza di 195,507 mW/cm².

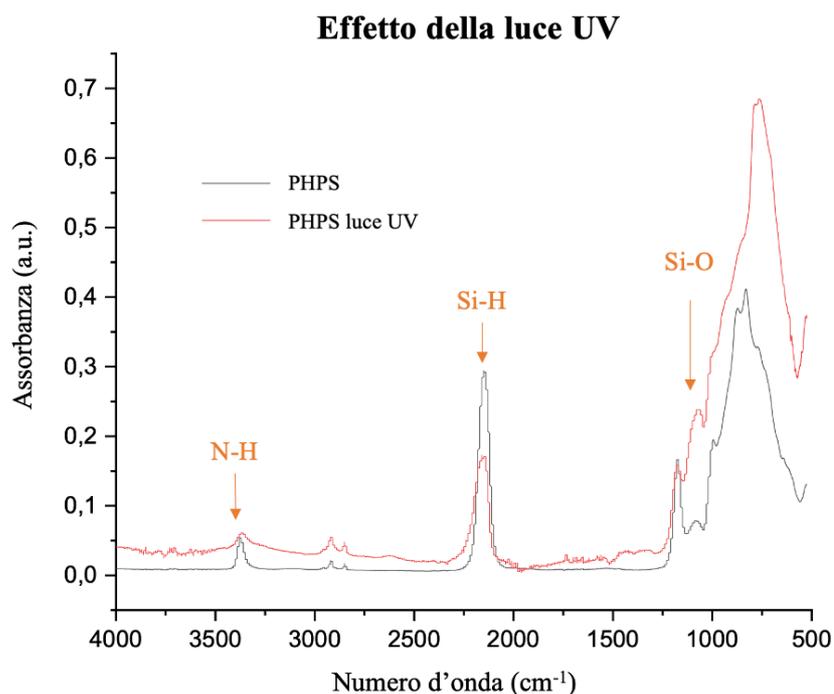


Figura 31: Spettro FTIR del rivestimento in PHPS su vetro soda-lime

Com'è possibile vedere in figura 31 i due spettri mostrano curve diverse con soli 30 minuti di irraggiamento UV, in particolare nella zona compresa tra i numeri d'onda 1500 e 1000 cm^{-1} . Andando a vedere i picchi presenti in questo intervallo, è possibile riscontrare delle similitudini con la trasformazione descritta in figura 1, confermando quindi il ruolo di catalizzatore della luce UV nel processo di trasformazione PHPS-silice.

La stessa trasformazione è stata seguita tramite le analisi ATR-FTIR in presenza della soluzione di acetone, nitrato d'argento e fotopolimerizzatore. Sono stati ottenuti gli spettri dei rivestimenti ottenuti da PHPSAg0,5 e PHPSAg1 per verificare la presenza di eventuali differenze nei processi di trasformazione nei casi limite, dalla concentrazione più bassa di AgNO_3 in soluzione, alla più alta.

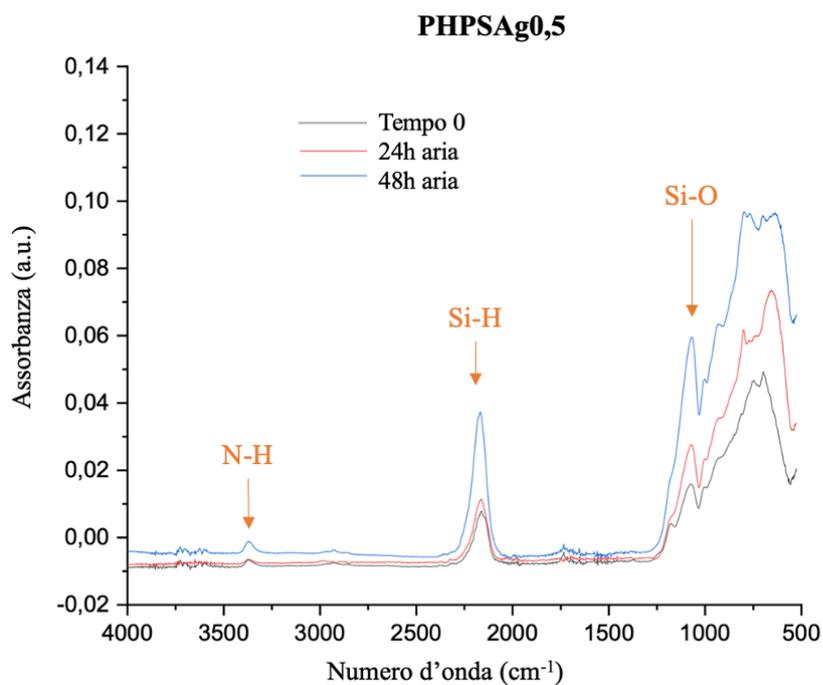


Figura 32: Spettro FTIR del rivestimento in PHPSAg0,5 su vetro soda-lime appena irraggiato per 30 minuti a 195,507 mW/cm² e lasciato all'aria per 24 e 48 ore

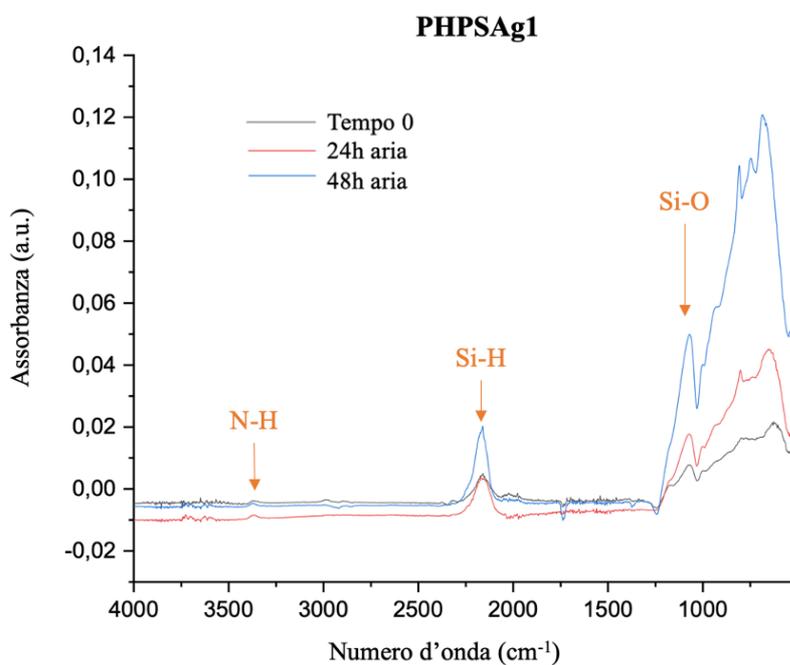


Figura 33: Spettro FTIR del rivestimento in PHPSAg1 su vetro soda-lime appena irraggiato per 30 minuti a 195,507 mW/cm² e lasciato all'aria per 24 e 48 ore

Nelle figure 32 e 33 è ben visibile, sempre tra 1500 e 1000 cm^{-1} , la formazione del picco relativo allo stretching asimmetrico del legame Si-O; la trasformazione in silice non è quindi in nessun modo influenzata dalla presenza delle nanoparticelle d'argento ed è invece aiutata dall'irraggiamento alla luce UV.

7.2.2. Spettroscopia UV visibile

Inizialmente sono stati ottenuti gli spettri UV-vis della soluzione PHPSAgNO₃1 in cui il nitrato è stato disperso all'interno del polimero PHPS. Questo campione da una prima analisi visiva non presentava un colore omogeneo e il nitrato d'argento al suo interno tendeva a concentrarsi sul fondo del becher in cui era contenuta la soluzione.

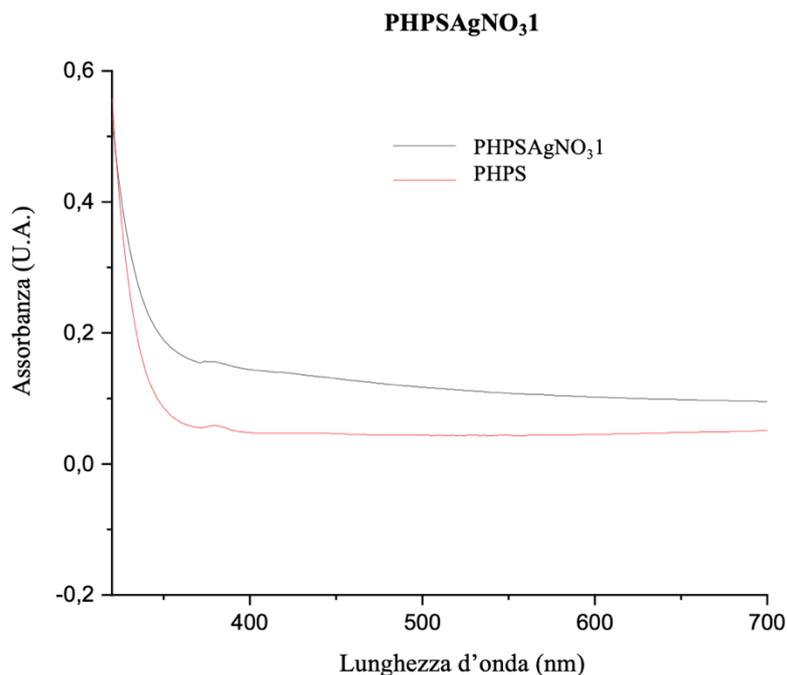


Figura 34: Spettro UV-visibile del rivestimento in PHPSAgNO₃1 su vetro soda-lime appena irraggiato per 15 minuti alla potenza di 195,507 mW/cm²

È possibile vedere in figura 34 come l'irraggiamento UV per 15 minuti alla potenza di 195,507 mW/cm² non ha avuto effetto sul campione. Infatti, lo spettro PHPSAgNO₃1 è praticamente identico a quello del PHPS senza la presenza del picco intorno a 424 nm corrispondente alla risonanza plasmonica di superficie delle nanoparticelle d'argento [64].

In seguito, sono state testate le soluzioni PHPSAg0,5, PHPSAg0,75 e PHPSAg1, ottenute miscelando AgNO_3 in acetone e aggiungendo la soluzione nel polimero PHPS e poi sottoposte a irraggiamento UV. Considerata la bassa concentrazione del nitrato d'argento presente in queste soluzioni (0,15%, 0,19%, 0,22%), sono stati massimizzati i parametri del processo d'irraggiamento, ovvero il tempo e la potenza (30 e 195,507 mW/cm^2). Le soluzioni sono state depositate tramite barretta stendifilm ottenendo dei rivestimenti dallo spessore di 50 μm .

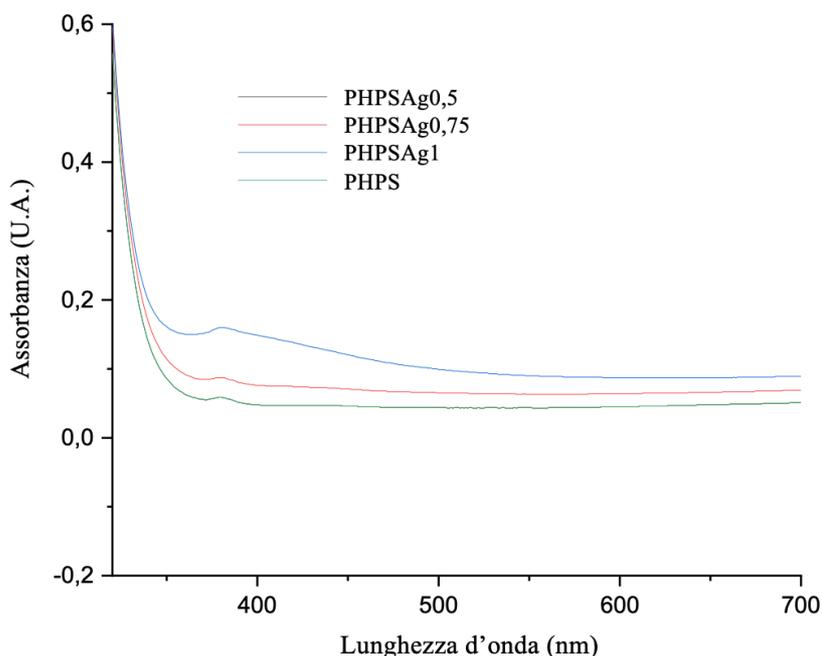


Figura 35: Spettro UV-visibile dei rivestimenti in PHPS, PHPSAg0,5, PHPSAg0,75 e PHPSAg1 su vetro soda-lime appena irraggiato per 30 minuti alla potenza di 195,507 mW/cm^2

Le soluzioni PHPSAg0,75 e PHPSAg1 sembrano essere più promettenti rispetto alla soluzione PHPSAg0,5 il cui spettro si sovrappone perfettamente a quello del solo PHPS (figura 35). Data comunque la piccola entità del picco compreso tra 350 e 400 nm, si è optato per allungare i tempi di esposizione fino a 45 minuti e depositare le soluzioni anche sottoforma di goccia in modo da ottenere dei rivestimenti più spessi.

Per quanto riguarda la soluzione PHPSAg0,75, sono state effettuate deposizioni con stendifilm manuale dallo spessore di 50 μm e a goccia e irraggiate per 30 e 45 minuti. e gli spettri ottenuti sono riportati nelle figure 36 e 37.

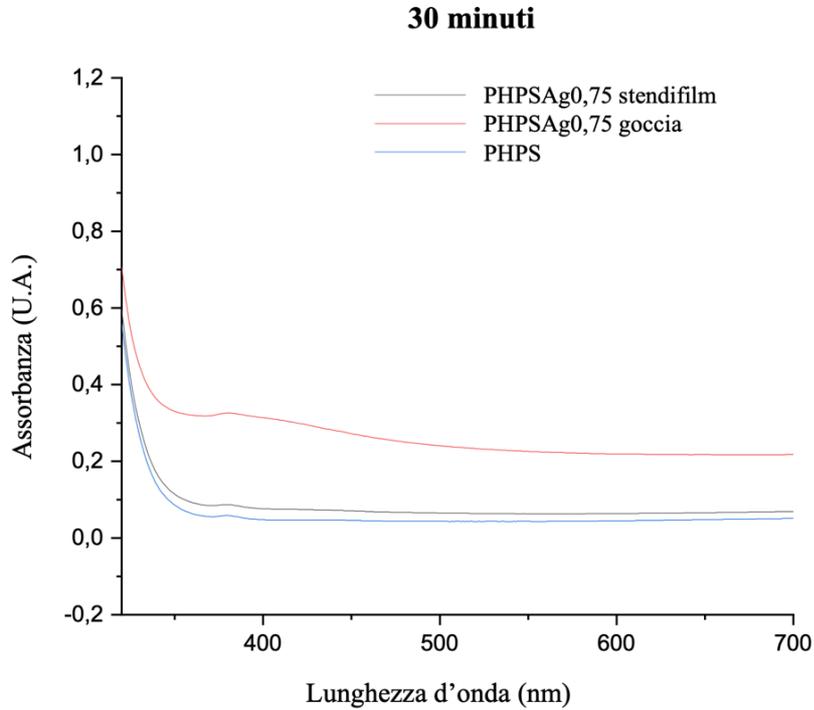


Figura 36: Spettro UV-visibile del rivestimento in PHPSAg0,75 su vetro soda-lime per 30 minuti alla potenza di 195,507 mW/cm^2

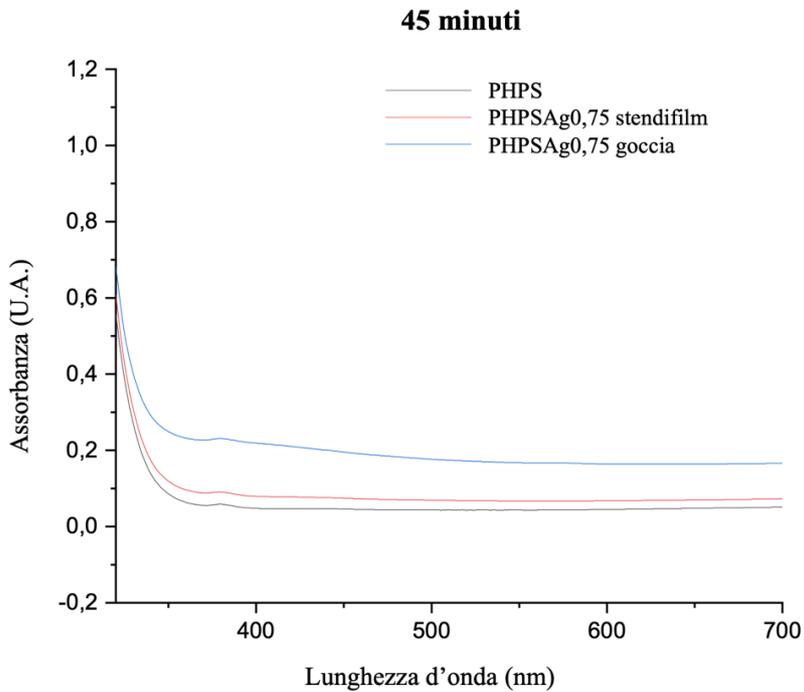


Figura 37: Spettro UV-visibile del rivestimento in PHPSAg0,75 su vetro soda-lime per 45 minuti alla potenza di 195,507 mW/cm^2

In nessuno spettro si evidenzia la presenza di un vero e proprio picco intorno ai 400nm, anche se sicuramente le deposizioni a goccia mostrano un'assorbanza più elevata rispetto a quelle effettuate con lo stendifilm manuale.

Le stesse analisi sono state effettuate sulle deposizioni ottenute dalla soluzione PHPSAg1 (figure 38 e 39). Sono state mantenute le stesse condizioni precedentemente descritte per quanto riguarda il processo di irraggiamento UV.

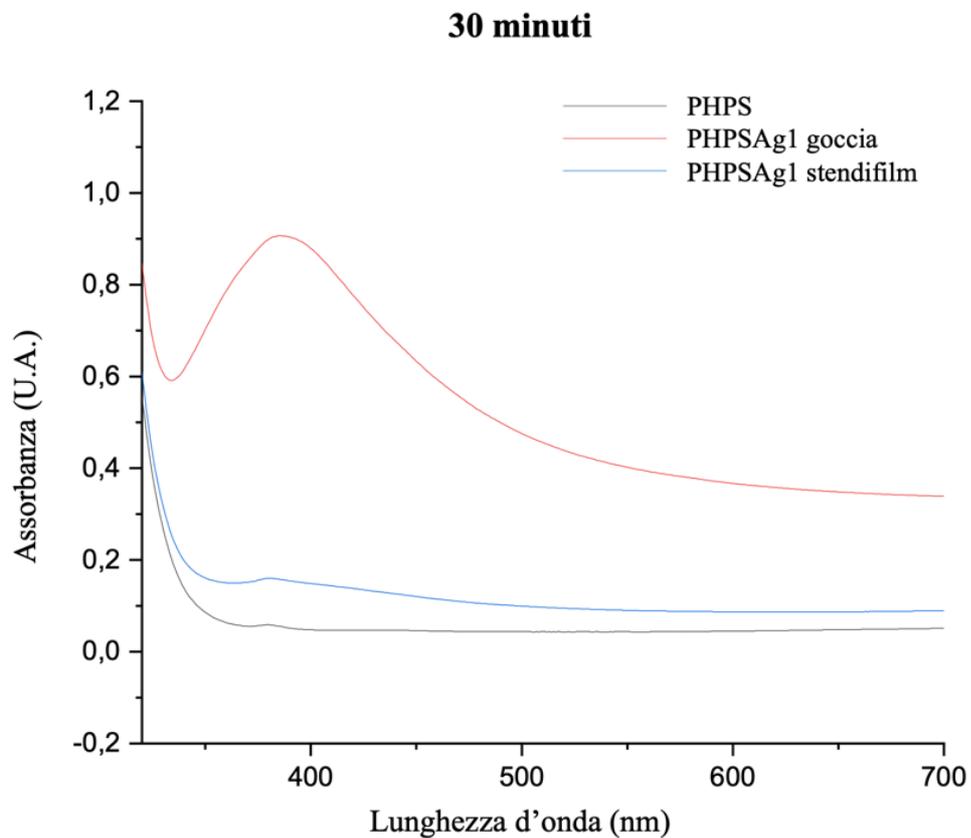


Figura 38: Spettro UV-visibile del rivestimento in PHPSAg1 su vetro soda-lime per 30 minuti alla potenza di 195,507 mW/cm²

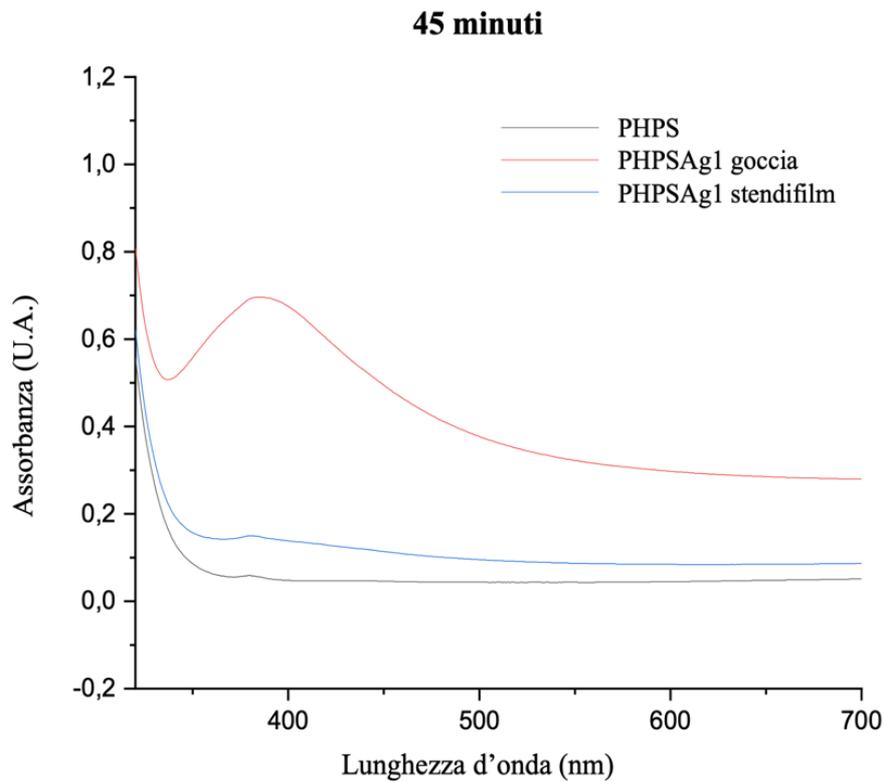


Figura 39: Spettro UV-visibile del rivestimento in PHPSAg1 su vetro soda-lime per 45 minuti alla potenza di 195,507 mW/cm²

Come si può vedere sia in figura 38 sia in figura 39, nel rivestimento a goccia è ben visibile la presenza di un picco intorno a 400 nm, indice della formazione delle nanoparticelle d'argento. La soluzione PHPSAg1 è stata quindi poi scelta per le successive indagini, in modo da riuscire a confermare o meno la formazione delle nanoparticelle d'argento e testare l'efficacia antibatterica del rivestimento.

Per poter scegliere il tempo ottimale di irraggiamento, sono stati confrontati gli spettri ottenuti dai rivestimenti a goccia relativi ai tempi di esposizione di 30 e 45 minuti.

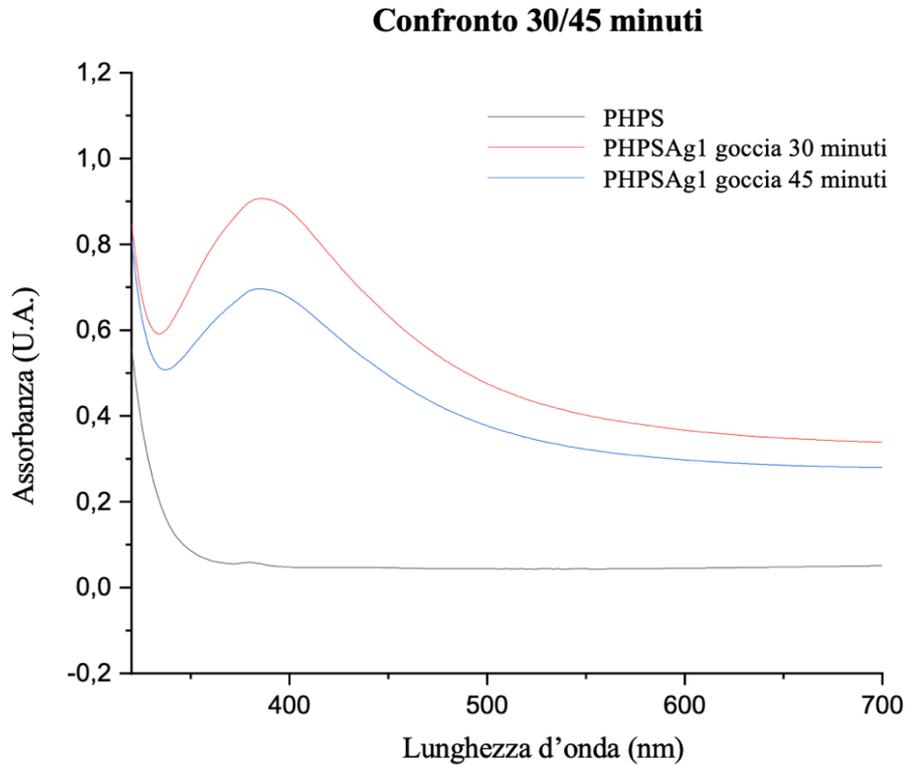


Figura 40: Spettri UV-visibile del rivestimento in PHPSAg1 su vetro soda-lime per 30 e 45 minuti alla potenza di 195,507 mW/cm²

Considerati i risultati ottenuti dall'ultimo confronto in figura 40, il tempo ottimale di esposizione per la sintesi delle nanoparticelle è risultato essere di 30 minuti. Su questo rivestimento sono state poi successivamente eseguite ulteriori analisi.

Tutti i rivestimenti testati sono stati depositati dopo l'utilizzo del rotavapor. Si è voluto però procedere a una verifica confrontando le deposizioni a goccia della soluzione PHPSAg1, irraggiate entrambe per 30 minuti alla potenza di $195,507 \text{ mW/cm}^2$ prima e dopo un utilizzo di 4 minuti del rotavapor in modo da indagare gli effetti del rotavapor sulla sintesi delle nanoparticelle d'argento. In figura 41 è ben visibile che senza il processo di evaporazione del solvente la sintesi delle nanoparticelle d'argento non avviene.

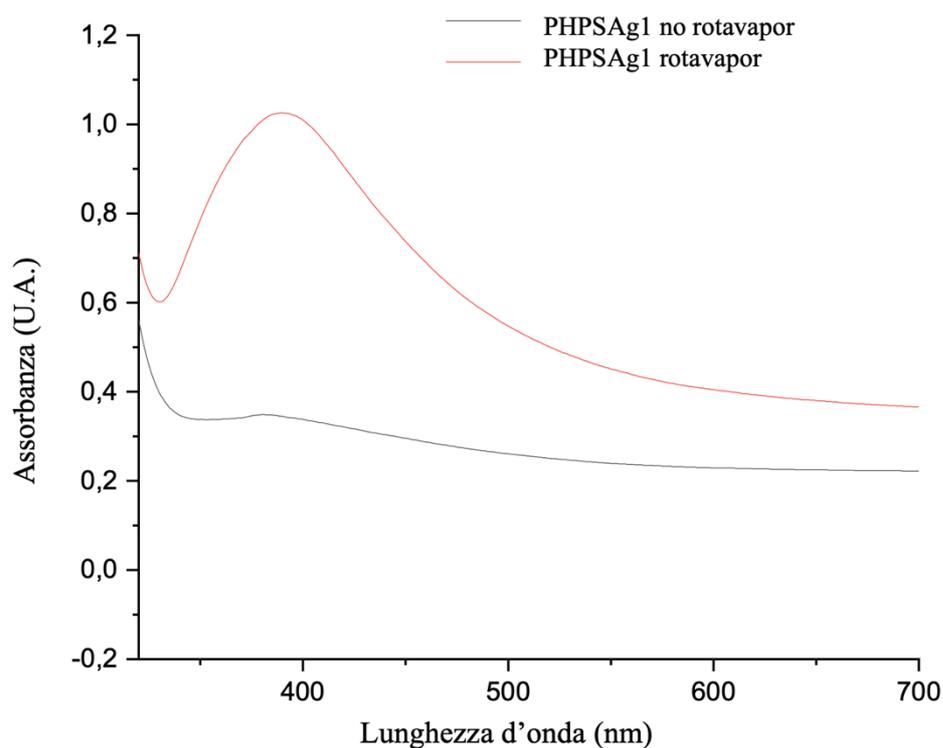


Figura 41: Spettri UV-visibile dei rivestimenti in PHPSAg1 su vetro sodalime irraggiati per 30 minuti alla potenza di $195,507 \text{ mW/cm}^2$

7.2.3. Diffrazione a raggi X (XRD)

Per confermare la presenza di nanoparticelle d'argento all'interno del rivestimento a goccia ottenuto dalla soluzione PHPSAg1 e irraggiato per 30 minuti è stata eseguita un'analisi XRD.

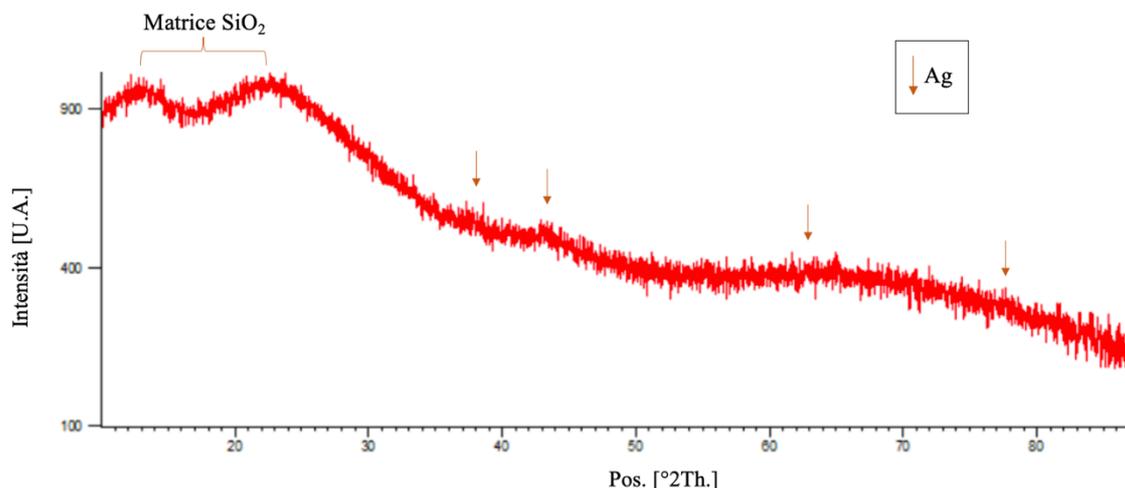


Figura 42: Spettro XRD (angolo radente) del rivestimento a goccia in PHPSAg1 su vetro soda-lime irraggiato per 30 minuti alla potenza di $195,507 \text{ mW/cm}^2$

È possibile riconoscere nello spettro in figura 42, l'alone amorfo della silice nell'intervallo $2\theta=15\text{-}25^\circ$. Per quanto riguarda invece le nanoparticelle d'argento, i picchi relativi alla sintesi delle AgNPs sono $2\theta= 38.116^\circ, 44.277^\circ, 64.426^\circ, 77.472^\circ$ corrispondenti ai piani (1 1 1), (2 0 0), (2 1 1), (3 1 1) e (2 2 2), relativi alla struttura cristallina cubica a facce centrate dell'argento [65]. Similmente a quanto riportato da *Lu et al.* [66], anche picchi di minore entità possono essere indice dell'avvenuta sintesi delle AgNPs all'interno della matrice, specialmente se le nanoparticelle ottenute sono di piccole dimensioni (dell'ordine delle decine di nm). Confrontando infatti questo spettro con quello presente in figura 43 ottenuto dall'analisi XRD ad angolo non radente (e quindi a una profondità di penetrazione maggiore, che può arrivare a toccare il substrato), è evidente la differenza nella morfologia dello spettro, che non presenta nessun picco visibile.

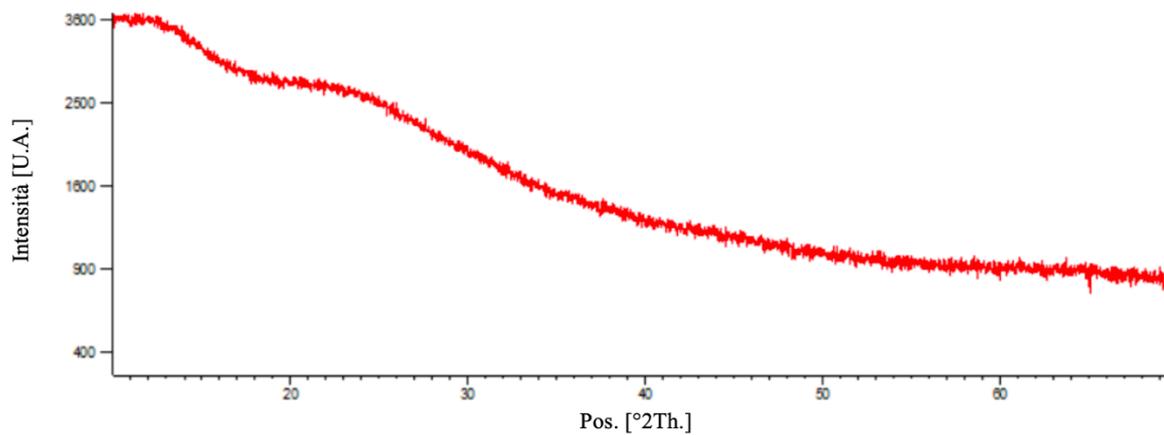


Figura 43: Spettro XRD (angolo non radente) del rivestimento a goccia in PHPSAg1 su vetro soda-lime irraggiato per 30 minuti alla potenza di 195,507 mW/cm²

In modo da paragonare lo spettro del rivestimento composito con quello in PHPS è stata effettuata un'analisi XRD ad angolo radente su un campione rivestito dal solo PHPS e lasciato all'aria per 7 giorni (figura 44).

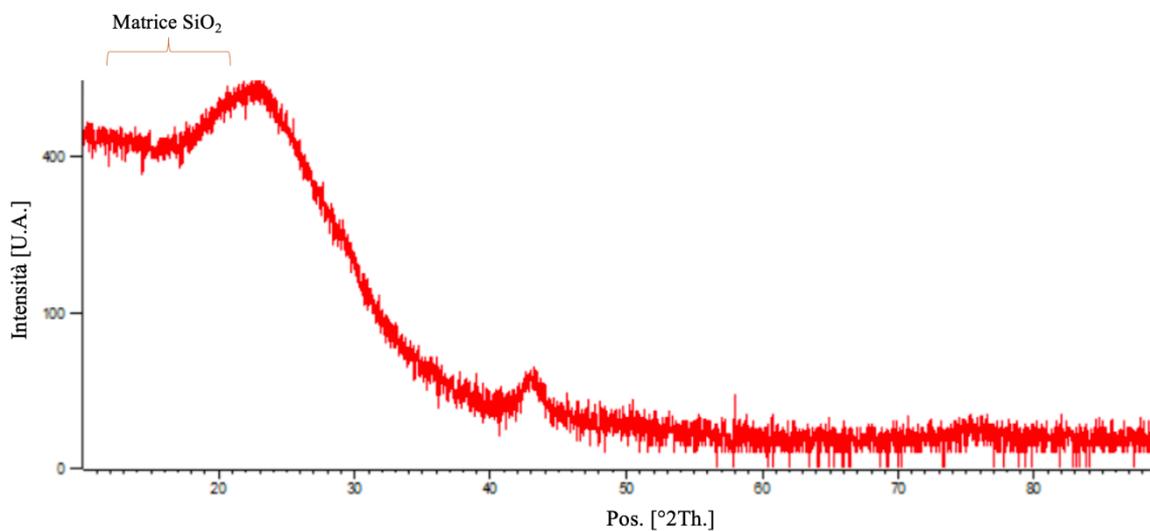


Figura 44: Spettro XRD (angolo non radente) del rivestimento in PHPS

Nello spettro raffigurato in figura 44 è ben visibile l'alone amorfo della silice nell'intervallo $2\theta=15-25^\circ$ ed è presente un picco a $2\theta=43^\circ$, spesso riscontrabile nelle superfici in silice.

7.2.4. Spettrometria per dispersione di energia (EDS)

Per quantificare la presenza di argento nel rivestimento è stata eseguita un'analisi elementare tramite spettrometria per dispersione di energia (EDS) sulla deposizione a goccia della soluzione PHPSAg1 irradiata per 30 minuti con luce UV.

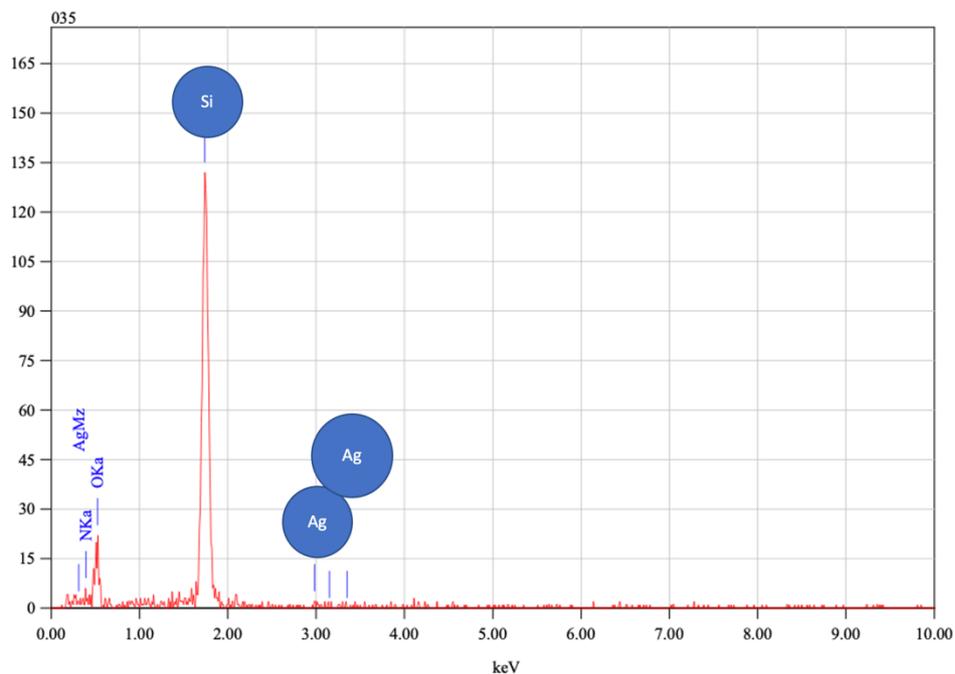


Figura 45: spettro EDS del rivestimento a goccia di PHPSAg1 depositato su vetro soda-lime e irradiato per 30 minuti a $195,507 \text{ mW/cm}^2$

Tabella 11: composizione rivestimento a goccia di PHPSAg1 depositato su vetro soda-lime e irradiato per 30 minuti

PHPSAg1 deposizione a goccia – irraggiamento 30 minuti a $195,507 \text{ mW/m}^2$		
Elemento	Media (% atomica)	Deviazione standard
Si	43,22%	6,90%
O	47,44%	9,21%
Ag	0,46%	0,12%

Com'è possibile vedere in figura 45 e nella tabella 11, nel rivestimento oltre a silicio e ossigeno è presente l'argento, ad una concentrazione atomica coerente con la bassa concentrazione di nitrato d'argento solubilizzato nella soluzione PHPSAg1. L'alta deviazione standard da cui è affetta la misurazione è probabilmente dovuta alla dispersione non omogenea delle AgNPs nel rivestimento.

7.2.5. Microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM)

Per verificare la presenza di nanoclusters d'argento nel rivestimento è stata effettuata un'analisi morfologica tramite microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM). Il rivestimento ottenuto dalla deposizione a goccia su vetro soda-lime della soluzione PHPSAg1 e irraggiata per 30 minuti alla potenza di $195,507 \text{ mW/cm}^2$ è stato confrontato con quello ottenuto dalla deposizione tramite barretta stendifilm e sottoposto a irraggiamento UV alle stesse condizioni.

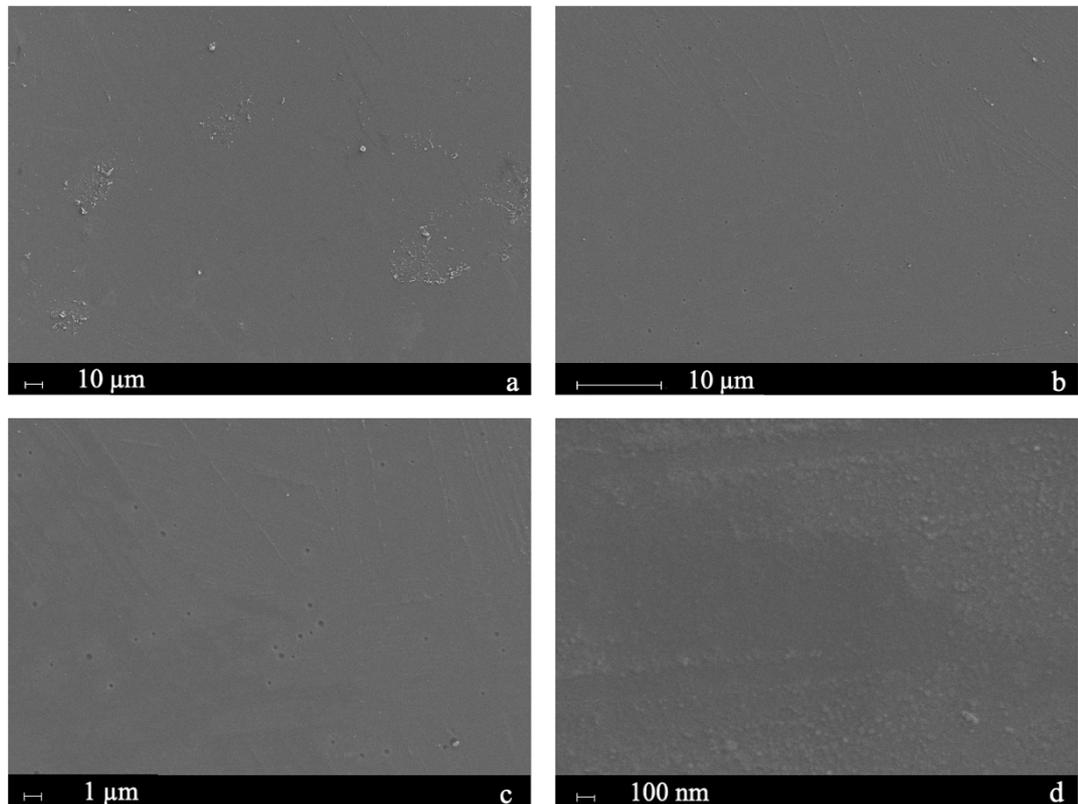


Figura 46: micrografia FESEM del rivestimento di PHPS ottenuto su vetro soda-lime dopo un irraggiamento di 30 minuti a $195,507 \text{ mW/cm}^2$ a diversi ingrandimenti: a) 1.00kX, b) 5.00kX, c) 10.00kX, d) 100.00kX

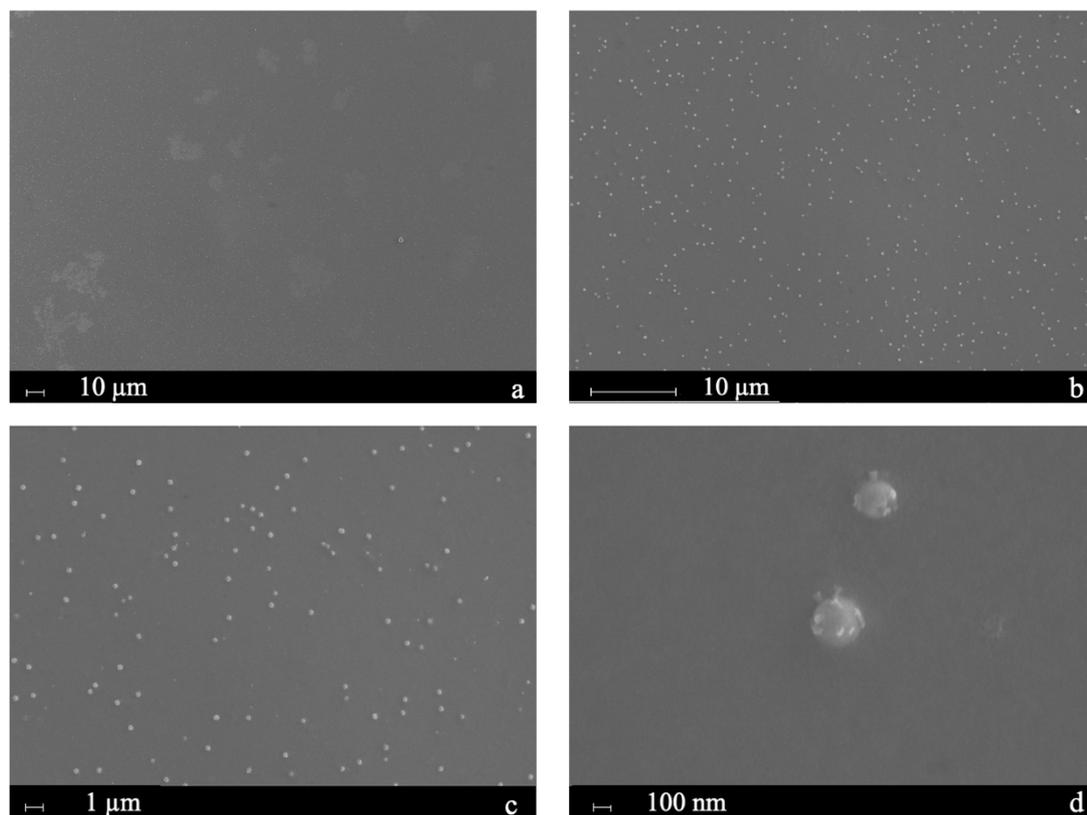


Figura 47: micrografia FESEM del rivestimento di PHPSAg1 a goccia ottenuto su vetro soda-lime dopo un irraggiamento di 30 minuti a $195,507 \text{ mW/cm}^2$ a diversi ingrandimenti: a) 1.00kX, b) 5.00kX, c) 10.00kX, d) 100.00kX

Come si può vedere in figura 46 e 47, i due rivestimenti appaiono notevolmente diversi: quello ottenuto da PHPS appare omogeneo e privo di porosità, mostrando la tipica morfologia dei rivestimenti in silice ottenuti da peridropolisilazano [53], mentre quello a goccia mostra sulla sua superficie la presenza di clusters di dimensione dell'ordine delle centinaia di nanometri. Non è tuttavia possibile presumere che questi siano dei nanoclusters d'argento, in quanto il contenuto di argento nel rivestimento risulta troppo basso anche dalle analisi EDS per poter confermare una distribuzione così omogenea di nanoparticelle d'argento. Bisogna sicuramente effettuare approfondimenti sul processo di polimerizzazione del PHPS in presenza di altre sostanze chimiche come appunto l'acetone.

7.2.6. Test dell'alone di inibizione

Il comportamento antibatterico conferito ai substrati è stato analizzato attraverso una valutazione dell'alone di inibizione nei confronti della specie batterica di *S. Epidermidis*.

Le prime prove sono state effettuate su campioni di vetro soda-lime su cui è stata depositata la soluzione PHPSAg1 tramite stendifilm manuale e sottoposta a 30 minuti di irraggiamento UV e i risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti sul bianco di vetro soda-lime.

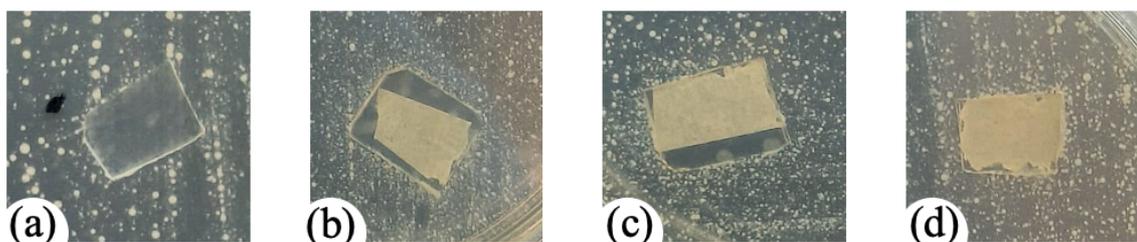


Figura 48: (a) bianco di vetro soda-lime dopo 24h, (b), (c), (d) vetro soda-lime rivestito con PHPSAg1 con stendifilm manuale e irraggiata per 30 minuti dopo 24h in incubatore a 35°C

Come si può vedere in figura 48, nessuno dei campioni rivestiti ha dato evidenza di attività antibatterica sullo *S. Epidermidis*. Si è dunque passati ad un'analisi più approfondita, per testare il comportamento antibatterico dei campioni rivestiti non solo tramite barretta stendifilm, ma anche con deposizione a goccia, confrontando i risultati con il bianco di vetro soda-lime e con un rivestimento ottenuto dal solo PHPS. La crescita batterica è stata valutata dopo 24 e 48 ore in incubatore a 35°C.

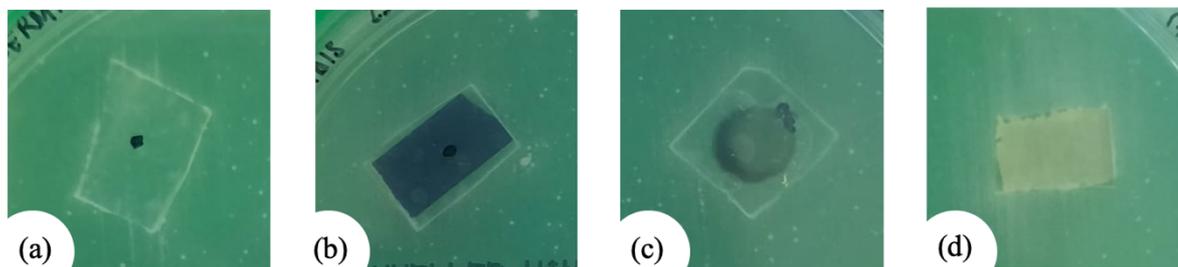


Figura 49: (a) bianco di vetro soda-lime, (b) rivestimento di solo PHPS, (c) rivestimento a goccia di PHPSAg1 dopo 30 minuti di irraggiamento, (d) rivestimento con barretta stendifilm di PHPSAg1 dopo 30 minuti di irraggiamento, dopo 24h in incubatore a 35°C.

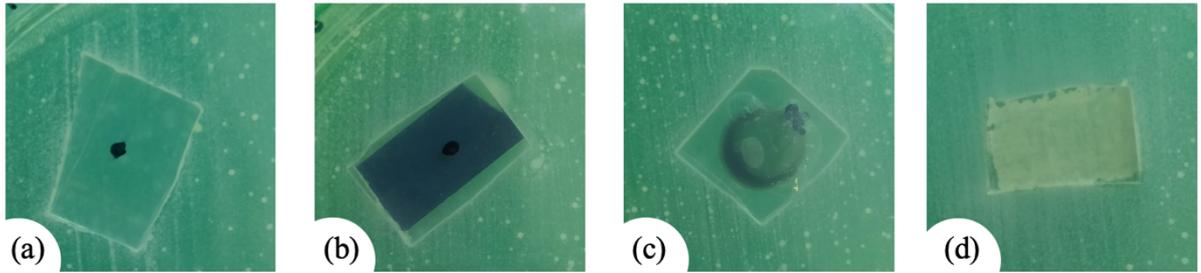


Figura 50: (a) bianco di vetro soda-lime, (b) rivestimento di solo PHPS, (c) rivestimento a goccia di PHPSAg1 dopo 30 minuti di irraggiamento, (d) rivestimento con barretta stendifilm di PHPSAg1 dopo 30 minuti di irraggiamento, dopo 48h in incubatore a 35°C.

Tutti i campioni non hanno mostrato un comportamento diverso rispetto a quello di controllo (vetro soda-lime bianco) (figura 49 e 50); il rivestimento non ha quindi mostrato un'azione antibatterica efficace.

Il motivo dell'assenza di attività antibatterica potrebbe risiedere nelle proprietà che contraddistinguono i film di silice derivati da peridropolisilazano, notoriamente molto densi e meccanicamente duri [52]. Il rivestimento potrebbe non essere in grado di rilasciare le AgNPs; questo è stato ulteriormente indagato svolgendo un test di rilascio ionico in acqua i cui risultati sono stati riportati nel paragrafo sottostante.

7.2.7. Test di rilascio ionico in acqua

È stato effettuato il test di rilascio ionico in acqua per indagare le cinetiche di rilascio del coating realizzato. Il test dell'alone di inibizione è stato effettuato su un periodo di tempo massimo di 48 ore, mentre il rivestimento realizzato potrebbe necessitare di un tempo maggiore per dare inizio alla sua azione antibatterica. Il test di rilascio ionico in acqua è stato infatti realizzato su un periodo di tempo di 21 giorni.

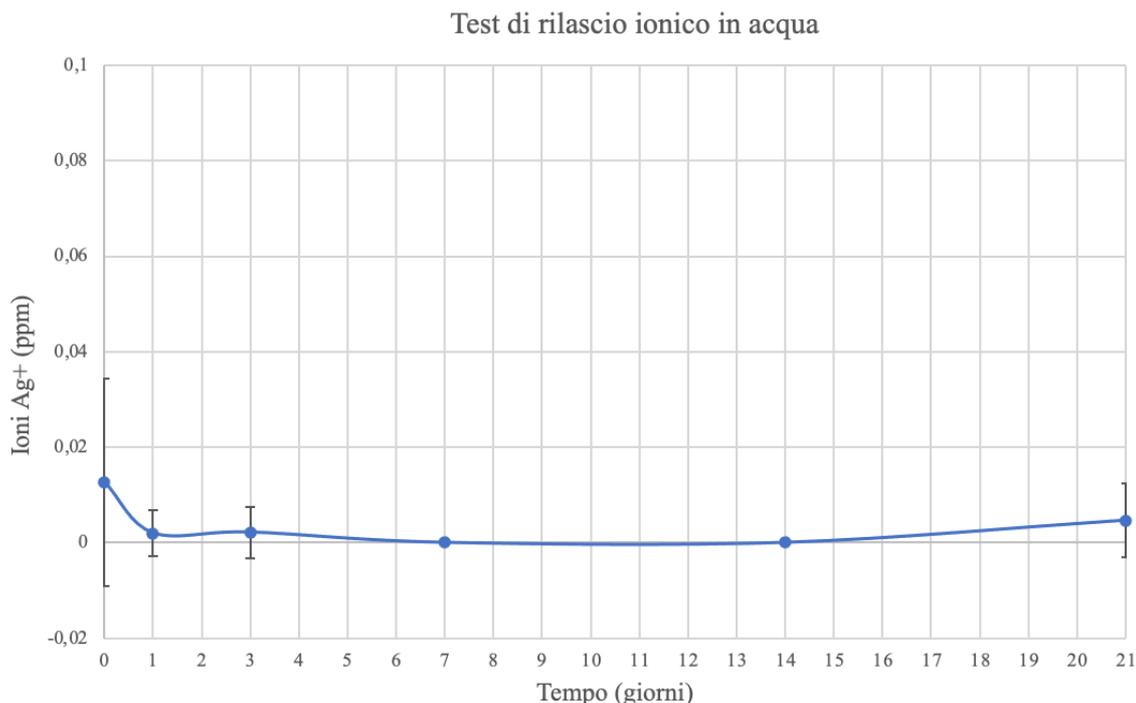


Figura 51: Curva di rilascio di ioni d'argento in acqua del coating ottenuto da PHPSAg1 e depositato tramite stendifilm manuale

Come si può vedere in figura 51, il coating in 21 giorni non rilascia ioni d'argento, responsabili dell'azione antibatterica. Questo spiega l'inefficacia del rivestimento nel test dell'alone di inibizione contro lo *Staphylococcus Epidermidis* e il mancato innesco dell'azione antibatterica potrebbe essere correlato all'elevata densità (com'è stato dimostrato anche dalle analisi al FESEM) e durezza meccanica che contraddistinguono i coating in silice derivati da PHPS oppure alla bassa concentrazione di argento nel rivestimento depositato [52].

8. Conclusioni

In questo lavoro di tesi è stato sviluppato un rivestimento nanostrutturato composito, ispirato a quello brevettato dal gruppo di ricerca della Prof.ssa Ferraris, costituito da nanoparticelle d'argento disperse in una matrice di silice ottenuta da un precursore polimerico, il peridropolisilazano (PHPS). Le deposizioni sono state effettuate su AISI 304, vetro soda-lime e cotone in modo da testare il rivestimento su uno spettro molto ampio di substrati.

Nelle fasi preliminari dello studio è stata controllata la trasformazione del PHPS in silice, in modo da poter scegliere le condizioni ottimali per catalizzare il processo. I risultati ottenuti dalle analisi di spettroscopia FTIR, EDS e della microscopia FESEM hanno mostrato la possibilità di ottenere silice dal PHPS in presenza di vapori basici e, più lentamente, all'aria.

È stata poi realizzata la sintesi fotochimica *in situ* con luce UV delle nanoparticelle d'argento a partire da nitrato d'argento. Tramite le analisi di spettroscopia UV-visibile effettuate, è stato possibile scegliere la soluzione di PHPS, acetone e nitrato d'argento adatta alla sintesi delle AgNPs (quella ottenuta dalla miscelazione di 1g di PHPS e 1g di soluzione di acetone/AgNO₃/fotopolimerizzatore e ottimizzare i parametri del processo (tempo di esposizione, 30 minuti e potenza, 195,507 mW/cm²). Le analisi XRD e EDS hanno confermato la presenza di nanoparticelle d'argento nel rivestimento in caso di deposizione di una goccia sul substrato. Per quanto riguarda la deposizione tramite barretta stendifilm invece non è stata evidenziata la sintesi di nanoparticelle d'argento.

La sintesi di un rivestimento in silice a partire da un precursore polimerico a temperatura ambiente e soprattutto la riuscita sintesi fotochimica delle nanoparticelle d'argento all'interno della soluzione polimerica di PHPS sono risultati molto promettenti; entrambi i processi sono molto semplici da realizzare e non necessitano di condizioni diverse rispetto a quelle ambientali né di apparecchiature costose o di personale altamente qualificato.

Tuttavia, i test eseguiti per valutare l'azione antibatterica del rivestimento non hanno avuto esito positivo: il test dell'alone di inibizione ha mostrato l'inefficacia del coating composito contro lo *Staphylococcus Epidermidis* e infatti il test di rilascio ionico in acqua non ha evidenziato alcuna attività di rilascio di ioni d'argento. Il mancato innesco dell'azione antibatterica potrebbe essere correlato all'elevata densità e durezza meccanica che

contraddistinguono i coating in silice derivati da PHPS oppure alla bassa concentrazione di argento nel rivestimento depositato. Un possibile percorso sperimentale potrebbe rivelarsi quello di aumentare il contenuto di argento del rivestimento in quantità tale da attivare un'azione antibatterica efficace.

In ogni caso, per chiarire le cause dell'assenza di attività antibatterica del coating riscontrata nel presente studio e stabilire l'esistenza o meno di una correlazione tra le proprietà meccaniche del rivestimento e l'attività di rilascio e di diffusione delle nanoparticelle attraverso la matrice di silice sono necessarie ulteriori indagini.

Bibliografia

- [1] S. Y. C. Tong, J. S. Davis, E. Eichenberger, T. L. Holland, e V. G. Fowler, «Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management», *Clin Microbiol Rev*, vol. 28, fasc. 3, pp. 603–661, lug. 2015, doi: 10.1128/CMR.00134-14.
- [2] E. Ferreira, E. Pina, M. Sousa-Uva, e A. Sousa-Uva, «Risk factors for health care–associated infections: From better knowledge to better prevention», *American Journal of Infection Control*, vol. 45, fasc. 10, pp. e103–e107, ott. 2017, doi: 10.1016/j.ajic.2017.03.036.
- [3] E. Espejo *et al.*, «Bacteremia associated with pressure ulcers: a prospective cohort study», *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, vol. 37, fasc. 5, pp. 969–975, mag. 2018, doi: 10.1007/s10096-018-3216-8.
- [4] , [Online]. Disponibile su: <https://www.gavazzeni.it/malattie/piaghe-decubito-lesioni-pressione> (ultima visita 27/11/2022)
- [5] D. S. Chertow e M. J. Memoli, «Bacterial Coinfection in Influenza: A Grand Rounds Review», *JAMA*, vol. 309, fasc. 3, p. 275, gen. 2013, doi: 10.1001/jama.2012.194139.
- [6] P. Zhou, Z. Liu, Y. Chen, Y. Xiao, X. Huang, e X.-G. Fan, «Bacterial and fungal infections in COVID-19 patients: A matter of concern», *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 41, fasc. 9, pp. 1124–1125, set. 2020, doi: 10.1017/ice.2020.156.
- [7] F. Zhou *et al.*, «Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study», *The Lancet*, vol. 395, fasc. 10229, pp. 1054–1062, mar. 2020, doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
- [8] P. V. Baptista *et al.*, «Nano-Strategies to Fight Multidrug Resistant Bacteria—“A Battle of the Titans”», *Front. Microbiol.*, vol. 9, p. 1441, lug. 2018, doi: 10.3389/fmicb.2018.01441.
- [9] C. J. Murray *et al.*, «Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis», *The Lancet*, vol. 399, fasc. 10325, pp. 629–655, feb. 2022, doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
- [10] S. H. MacVane, «Antimicrobial Resistance in the Intensive Care Unit: A Focus on Gram-Negative Bacterial Infections», *J Intensive Care Med*, vol. 32, fasc. 1, pp. 25–37, gen. 2017, doi: 10.1177/0885066615619895.
- [11] G. Mancuso, A. Midiri, E. Gerace, e C. Biondo, «Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens», *Pathogens*, vol. 10, fasc. 10, p. 1310, ott. 2021, doi: 10.3390/pathogens10101310.
- [12] J. PietikÄŕinen, M. Pettersson, e E. BÄŕth, «Comparison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates», *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 52, fasc. 1, pp. 49–58, mar. 2005, doi: 10.1016/j.femsec.2004.10.002.
- [13] «Black widow virus results from evolution, not genetic engineering», [Online]. Disponibile su: <https://evolution.berkeley.edu/evo-news/black-widow-virus-results-from-evolution-not-genetic-engineering/> (ultima visita 27/11/2022)
- [14] D. Fisman *et al.*, «Geographical Variability in the Likelihood of Bloodstream Infections Due to Gram-Negative Bacteria: Correlation with Proximity to the Equator and Health Care Expenditure», *PLoS ONE*, vol. 9, fasc. 12, p. e114548, dic. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0114548.
- [15] M. R. Eber, M. Shardell, M. L. Schweizer, R. Laxminarayan, e E. N. Perencevich, «Seasonal and Temperature-Associated Increases in Gram-Negative Bacterial Bloodstream Infections among Hospitalized Patients», *PLoS ONE*, vol. 6, fasc. 9, p. e25298, set. 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0025298.
- [16] D. R. MacFadden, S. F. McGough, D. Fisman, M. Santillana, e J. S. Brownstein,

- «Antibiotic resistance increases with local temperature», *Nature Clim Change*, vol. 8, fasc. 6, pp. 510–514, giu. 2018, doi: 10.1038/s41558-018-0161-6.
- [17] J. P. Burnham, «Climate change and antibiotic resistance: a deadly combination», *Therapeutic Advances in Infection*, vol. 8, p. 204993612199137, gen. 2021, doi: 10.1177/2049936121991374.
- [18] J. G. Solon e S. Killeen, «Decontamination and sterilization», *Surgery (Oxford)*, vol. 33, fasc. 11, pp. 572–578, nov. 2015, doi: 10.1016/j.mpsur.2015.08.006.
- [19] J. R. Morones *et al.*, «The bactericidal effect of silver nanoparticles», *Nanotechnology*, vol. 16, fasc. 10, pp. 2346–2353, ott. 2005, doi: 10.1088/0957-4484/16/10/059.
- [20] Z. Xu, C. Zhang, X. Wang, e D. Liu, «Release Strategies of Silver Ions from Materials for Bacterial Killing», *ACS Appl. Bio Mater.*, vol. 4, fasc. 5, pp. 3985–3999, mag. 2021, doi: 10.1021/acsbm.0c01485.
- [21] C. Beer, R. Foldbjerg, Y. Hayashi, D. S. Sutherland, e H. Autrup, «Toxicity of silver nanoparticles—Nanoparticle or silver ion?», *Toxicology Letters*, vol. 208, fasc. 3, pp. 286–292, feb. 2012, doi: 10.1016/j.toxlet.2011.11.002.
- [22] C. G. A. Das *et al.*, «Antibacterial activity of silver nanoparticles (biosynthesis): A short review on recent advances», *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 27, p. 101593, ago. 2020, doi: 10.1016/j.bcab.2020.101593.
- [23] K. S. Siddiqi, A. Husen, e R. A. K. Rao, «A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties», *J Nanobiotechnol*, vol. 16, fasc. 1, p. 14, dic. 2018, doi: 10.1186/s12951-018-0334-5.
- [24] P. S. Stewart e J. William Costerton, «Antibiotic resistance of bacteria in biofilms», *The Lancet*, vol. 358, fasc. 9276, pp. 135–138, lug. 2001, doi: 10.1016/S0140-6736(01)05321-1.
- [25] S. Molin e T. Tolker-Nielsen, «Gene transfer occurs with enhanced efficiency in biofilms and induces enhanced stabilisation of the biofilm structure», *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 14, fasc. 3, pp. 255–261, giu. 2003, doi: 10.1016/S0958-1669(03)00036-3.
- [26] R. V. Sionov e D. Steinberg, «Targeting the Holy Triangle of Quorum Sensing, Biofilm Formation, and Antibiotic Resistance in Pathogenic Bacteria», *Microorganisms*, vol. 10, fasc. 6, p. 1239, giu. 2022, doi: 10.3390/microorganisms10061239.
- [27] N. S. Swidan, Y. A. Hashem, W. F. Elkhatib, e M. A. Yassien, «Antibiofilm activity of green synthesized silver nanoparticles against biofilm associated enterococcal urinary pathogens», *Sci Rep*, vol. 12, fasc. 1, p. 3869, mar. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-07831-y.
- [28] S. Nakamura *et al.*, «Synthesis and Application of Silver Nanoparticles (Ag NPs) for the Prevention of Infection in Healthcare Workers», *IJMS*, vol. 20, fasc. 15, p. 3620, lug. 2019, doi: 10.3390/ijms20153620.
- [29] C. Balagna, S. Perero, E. Percivalle, E. V. Nepita, e M. Ferraris, «Virucidal effect against coronavirus SARS-CoV-2 of a silver nanocluster/silica composite sputtered coating», *Open Ceramics*, vol. 1, p. 100006, mag. 2020, doi: 10.1016/j.oceram.2020.100006.
- [30] L. S. Abebe, Y.-H. Su, R. L. Guerrant, N. S. Swami, e J. A. Smith, «Point-of-Use Removal of *Cryptosporidium parvum* from Water: Independent Effects of Disinfection by Silver Nanoparticles and Silver Ions and by Physical Filtration in Ceramic Porous Media», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, fasc. 21, pp. 12958–12967, nov. 2015, doi: 10.1021/acs.est.5b02183.
- [31] L. Calderón *et al.*, «Release of airborne particles and Ag and Zn compounds from nanotechnology-enabled consumer sprays: Implications for inhalation exposure», *Atmospheric Environment*, vol. 155, pp. 85–96, apr. 2017, doi: 10.1016/j.atmosenv.2017.02.016.
- [32] S. M. Patil, S. P. Deshmukh, A. G. Dhodamani, K. V. More, e S. D. Delekar, «Different Strategies for Modification of Titanium Dioxide as Heterogeneous Catalyst in Chemical Transformations», *COC*, vol. 21, fasc. 9, pp. 821–833, mar. 2017, doi:

10.2174/1385272820666161013151816.

- [33] K. N. J. Stevens *et al.*, «The relationship between the antimicrobial effect of catheter coatings containing silver nanoparticles and the coagulation of contacting blood», *Biomaterials*, vol. 30, fasc. 22, pp. 3682–3690, ago. 2009, doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.03.054.
- [34] U. Samuel e J. P. Guggenbichler, «Prevention of catheter-related infections: the potential of a new nano-silver impregnated catheter», *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 23, pp. 75–78, mar. 2004, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2003.12.004.
- [35] S. Hamid, S. Zainab, R. Faryal, e N. Ali, «Deterrence in metabolic and biofilms forming activity of *Candida* species by mycogenic silver nanoparticles», *J Appl Biomed*, vol. 15, fasc. 4, pp. 249–255, nov. 2017, doi: 10.1016/j.jab.2017.02.003.
- [36] S. McMahan *et al.*, «Poly(ethylene glycol)-Based Hyperbranched Polymer from RAFT and Its Application as a Silver-Sulfadiazine-Loaded Antibacterial Hydrogel in Wound Care», *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 8, fasc. 40, pp. 26648–26656, ott. 2016, doi: 10.1021/acsami.6b11371.
- [37] A. K. Yetisen *et al.*, «Nanotechnology in Textiles», *ACS Nano*, vol. 10, fasc. 3, pp. 3042–3068, mar. 2016, doi: 10.1021/acs.nano.5b08176.
- [38] A. Zille *et al.*, «Size and Aging Effects on Antimicrobial Efficiency of Silver Nanoparticles Coated on Polyamide Fabrics Activated by Atmospheric DBD Plasma», *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 7, fasc. 25, pp. 13731–13744, lug. 2015, doi: 10.1021/acsami.5b04340.
- [39] M. Singh e T. Sahareen, «Investigation of cellulosic packets impregnated with silver nanoparticles for enhancing shelf-life of vegetables», *LWT*, vol. 86, pp. 116–122, dic. 2017, doi: 10.1016/j.lwt.2017.07.056.
- [40] A. Mihaly Cozmuta *et al.*, «Active Packaging System Based on Ag/TiO₂ Nanocomposite Used for Extending the Shelf Life of Bread. Chemical and Microbiological Investigations: ACTIVE PACKAGING SYSTEM BASED ON Ag/TiO₂ NANOCOMPOSITE», *Packag. Technol. Sci.*, vol. 28, fasc. 4, pp. 271–284, apr. 2015, doi: 10.1002/pts.2103.
- [41] S. P. Deshmukh, S. M. Patil, S. B. Mullani, e S. D. Delekar, «Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review», *Materials Science and Engineering: C*, vol. 97, pp. 954–965, apr. 2019, doi: 10.1016/j.msec.2018.12.102.
- [42] M. Huston, M. DeBella, M. DiBella, e A. Gupta, «Green Synthesis of Nanomaterials», *Nanomaterials*, vol. 11, fasc. 8, p. 2130, ago. 2021, doi: 10.3390/nano11082130.
- [43] A. Naganthran *et al.*, «Synthesis, Characterization and Biomedical Application of Silver Nanoparticles», *Materials*, vol. 15, fasc. 2, p. 427, gen. 2022, doi: 10.3390/ma15020427.
- [44] N. Jara *et al.*, «Photochemical Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles—A Review», *Molecules*, vol. 26, fasc. 15, p. 4585, lug. 2021, doi: 10.3390/molecules26154585.
- [45] A. Pugazhendhi *et al.*, «Organic and inorganic nanomaterial coatings for the prevention of microbial growth and infections on biotic and abiotic surfaces», *Surface and Coatings Technology*, vol. 425, p. 127739, nov. 2021, doi: 10.1016/j.surfcoat.2021.127739.
- [46] Ł. Pawłowski, M. Bartmański, A. Mielewczyk-Gryń, B. M. Cieślík, G. Gajowiec, e A. Zieliński, «Electrophoretically Deposited Chitosan/Eudragit E 100/AgNPs Composite Coatings on Titanium Substrate as a Silver Release System», *Materials*, vol. 14, fasc. 16, p. 4533, ago. 2021, doi: 10.3390/ma14164533.
- [47] M. Ferraris, S. Perero, M. Miola, S. Ferraris, E. Verné, e J. Morgiel, «Silver nanocluster–silica composite coatings with antibacterial properties», *Materials Chemistry and Physics*, vol. 120, fasc. 1, pp. 123–126, mar. 2010, doi: 10.1016/j.matchemphys.2009.10.034.
- [48] WO2019/082001
- [49] E. Kroke, Y.-L. Li, C. Konetschny, E. Lecomte, C. Fasel, e R. Riedel, «Silazane derived

ceramics and related materials», *Materials Science and Engineering: R: Reports*, vol. 26, fasc. 4–6, pp. 97–199, apr. 2000, doi: 10.1016/S0927-796X(00)00008-5.

[50] H. Kozuka, M. Fujita, e S. Tamoto, «Polysilazane as the source of silica: the formation of dense silica coatings at room temperature and the new route to organic–inorganic hybrids», *J Sol-Gel Sci Technol*, vol. 48, fasc. 1–2, pp. 148–155, nov. 2008, doi: 10.1007/s10971-008-1793-1.

[51] Matsuo, H., and K. Yamada, «Topics on Coating. Ceramic Coating Capable Low-Temperature Formation Using Inorganic Polysilazane».

[52] T. Kubo, E. Tadaoka, e H. Kozuka, «Formation of silica coating films from spin-on polysilazane at room temperature and their stability in hot water», *J. Mater. Res.*, vol. 19, fasc. 2, pp. 635–642, feb. 2004, doi: 10.1557/jmr.2004.19.2.635.

[53] F. Bauer *et al.*, «Preparation of moisture curable polysilazane coatings», *Progress in Organic Coatings*, vol. 53, fasc. 3, pp. 183–190, lug. 2005, doi: 10.1016/j.porgcoat.2005.02.006.

[54] K. Katagiri, R. Takabatake, e K. Inumaru, «Robust Infrared-Shielding Coating Films Prepared Using Perhydropolysilazane and Hydrophobized Indium Tin Oxide Nanoparticles with Tuned Surface Plasmon Resonance», *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 5, fasc. 20, pp. 10240–10245, ott. 2013, doi: 10.1021/am403011t.

[55] Y.-W. Wang, T.-H. Yang, W.-S. Yang, T.-W. Cheng, W.-Y. Chiu, e T.-M. Don, «Improved stability and film formability of oil-based silver nanoparticle suspensions by addition of polystyrene», *Materials Chemistry and Physics*, vol. 282, p. 125930, apr. 2022, doi: 10.1016/j.matchemphys.2022.125930.

[56] H. Shi, X. Fu, X. Zhou, e Z. Hu, «Preparation of Organic Fluid Containing Ag Nanoparticles with Extractant Cyanex 301», *Journal of Dispersion Science and Technology*, vol. 26, fasc. 3, pp. 315–319, mag. 2005, doi: 10.1081/DIS-200049591.

[57] R. Singh e N. Kumar, «Biogenic Synthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs) using *Celosia cristata* L. Leaves Extract and Their Antimicrobial Activity against Otorhinolaryngological Isolated Pathogen», *IJPSDR*, vol. 11, fasc. 06, nov. 2019, doi: 10.25004/IJPSDR.2019.110610.

[58] W. K. Son, J. H. Youk, e W. H. Park, «Antimicrobial cellulose acetate nanofibers containing silver nanoparticles», *Carbohydrate Polymers*, vol. 65, fasc. 4, pp. 430–434, set. 2006, doi: 10.1016/j.carbpol.2006.01.037.

[59] «SCHEDA TECNICA ACCIAIO AISI 304», [Online]. Disponibile su: <https://www.sidermariotti.it/acciaio-inox/austenitici/304.html> (ultima visita 27/11/2022)

[60] «All About Soda Lime Glass - Composition and Properties», [Online]. Disponibile su: <https://www.thomasnet.com/articles/plant-facility-equipment/soda-lime-glass/> (ultima visita 27/11/2022)

[61] M. Periolatto, F. Ferrero, C. Vineis, A. Varesano, e G. Gozzelino, «Novel Antimicrobial Agents and Processes for Textile Applications», in *Antibacterial Agents*, R. N. Kumavath, A c. di InTech, 2017. doi: 10.5772/intechopen.68423.

[62] «L'EVAPORATORE ROTANTE E IL PROCESSO DI EVAPORAZIONE DELLE SOSTANZE CHIMICHE», [Online]. Disponibile su: <https://www.geass.com/levaporatore-rotante-e-il-processo-di-evaporazione-delle-sostanze-chimiche/> (ultima visita 27/11/2022)

[63] K. Kinashi, S. Nakamura, Y. Ono, K. Ishida, e Y. Ueda, «Reverse photochromism of spiropyran in silica», *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, vol. 213, fasc. 2–3, pp. 136–140, giu. 2010, doi: 10.1016/j.jphotochem.2010.05.012.

[64] Advanced Materials Research Lab., Department of Physics, College of Science, University of Sulaimani, Qlyasan Street, Sulaimani, Kurdistan Regional Government-Iraq e S. B. Aziz, «Investigation of Metallic Silver Nanoparticles through UV-Vis and Optical

Micrograph Techniques», *Int. J. Electrochem. Sci.*, pp. 363–373, gen. 2017, doi: 10.20964/2017.01.22.

[65] X. Huang, D. Wang, L. Hu, J. Song, e Y. Chen, «Preparation of a novel antibacterial coating precursor and its antibacterial mechanism», *Applied Surface Science*, vol. 465, pp. 478–485, gen. 2019, doi: 10.1016/j.apsusc.2018.09.160.

[66] Z. Lu, M. Meng, Y. Jiang, e J. Xie, «UV-assisted in situ synthesis of silver nanoparticles on silk fibers for antibacterial applications», *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 447, pp. 1–7, apr. 2014, doi: 10.1016/j.colsurfa.2014.01.064.