

Politecnico di Torino Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica A.A. 2022/2023 Sessione di Laurea Dicembre 2023

Sviluppo di rivestimenti compositi da precursori polimerici preceramici contenenti nanoparticelle di argento per applicazioni antibatteriche

Development of composite coatings from preceramic polymeric precursors containing silver nanoparticles for antibacterial applications

Relatore: Dott.ssa Cristina Balagna Co-relatore: Prof.ssa Monica Ferraris Candidato: Nicolas Angeloro 282452

Abstract

The ability to develop and deposit coatings makes it possible to functionalize different surfaces, improving and enriching the properties of the materials. By using polymeric ceramic precursors it's possible to obtain coatings that in turn can be functionalized by means of nanoparticles.

The aim of this work is to evaluate the possibility of functionalizing preceramic polymeric precursors by doping them with silver nanoparticles (AgNPs) in order to obtain a composite coating with antibacterial properties. The silica matrix of the composite coating was obtained from the preceramic polymers PHPS (perhydropolysilazane in solution with dibutylether) and Durazane. As far as the antibacterial action is concerned, isolation by centrifugation of silver nanoparticles in aqueous sodium citrate solution was initially attempted; however, given the difficulty encountered in the extraction, the option of synthesizing the AgNPs in solution with the aim of mixing them with the polymer precursors was then evaluated. However, after synthesizing the nanoparticles into acetone by photochemical reduction, poor compatibility in mixing with PHPS and Durazane was found. Silver nanoparticles were then synthesized from silver nitrate using tannic acid (TA) as a reducing and stabilizing agent, whose efficacy was increased by maintaining the solution at a basic pH; They were then filtered and dispersed in acetone and then mixed with the precursors. The resulting mixture was then deposited manually using a stretcher bar (to obtain coatings with a controlled thickness) on soda-lime glass and cotton substrates.

Morphological and compositional characterizations were carried out by UV-visible spectrophotometry, FE-SEM (scanning field emission electron microscopy), EDS (energy dispersive spectroscopy) and XRD (X-ray diffraction). Antibacterial properties were evaluated by inhibition halo testing using the bacterium S. epidermidis. This work represents a preliminary study for the realization of an antibacterial composite coating starting from preceramic polymers and further investigations are therefore needed.

Riassunto

La possibilità di sviluppare e depositare rivestimenti consente di funzionalizzare diverse superfici, migliorando e arricchendo le proprietà dei materiali. I precursori ceramici di tipo polimerico consentono di ottenere rivestimenti che a loro volta possono essere funzionalizzati mediante nanoparticelle.

Lo scopo di questo lavoro è valutare la possibilità di funzionalizzare precursori preceramici polimerici dopandoli con nanoparticelle di argento (AgNPs) al fine di ottenere un rivestimento composito con proprietà antibatteriche. La matrice in silice del rivestimento composito è stata ottenuta dai polimeri preceramici PHPS (peridropolisilazano in soluzione con dibutiletere) e Durazane. Per quanto riguarda l'azione antibatterica, inizialmente è stato tentato l'isolamento tramite centrifugazione di nanoparticelle d'argento in soluzione acquosa di citrato di sodio; data però la difficoltà riscontrata nell'estrazione, è stata poi valutata l'opzione di sintetizzare le AgNPs in soluzione con l'obiettivo di miscelarle con i precursori polimerici. Tuttavia, dopo aver sintetizzato le nanoparticelle in acetone tramite riduzione fotochimica, si è riscontrata una scarsa compatibilità nella miscelazione con PHPS e Durazane. Sono state quindi sintetizzate le nanoparticelle d'argento a partire da nitrato d'argento utilizzando come agente riducente e stabilizzante l'acido tannico (TA), la cui efficacia è stata incrementata mantenendo la soluzione a pH basico; sono state successivamente filtrate e disperse in acetone e poi miscelate con i precursori. La miscela ottenuta è stata poi depositata manualmente utilizzando una barretta stendifilm (in modo da ottenere dei rivestimenti con uno spessore controllato) su substrati di vetro soda-lime e cotone.

Le caratterizzazioni morfologiche e composizionali sono state effettuate mediante spettrofotometria UV-visibile, FE-SEM (microscopia elettronica a scansione ad emissione di campo), EDS (spettroscopia a dispersione di energia) e XRD (diffrazione di raggi X). Le proprietà antibatteriche sono state invece valutate mediante il test dell'alone di inibizione utilizzando il batterio S. Epidermidis. Questo lavoro rappresenta uno studio preliminare per la realizzazione di un rivestimento composito antibatterico a partire da polimeri preceramici e sono quindi necessarie ulteriori indagini.

Sommario

1.	I	Introduzione e scopo del lavoro						
2.	P	Nanoparticelle d'argento						
3.	F	Rives	stime	enti compositi ceramici con AgNPs	12			
4.	F	Rives	stime	enti ceramici da precursori polimerici	14			
5.	Γ	Mate	eriali	and Metodi	16			
	5.1	•	I Sub	ostrati	16			
	5.2	•	ll riv	estimento	17			
	5	5.2.2	2.	Dispersione di nanoparticelle in soluzione acquosa	18			
	5	5.2.3	8.	Sintesi nanoparticelle con riduzione fotochimica	19			
	5	5.2.4	l.	Sintesi nanoparticelle con acido tannico	22			
	5.3	•	Real	izzazione del coating	24			
	5	5.3.1		Deposizione del coating	24			
	5	5.3.2	2.	Irraggiamento UV	25			
	5.4	•	Cara	tterizzazione morfologica	26			
	5.5	•	Test	antibatterici	26			
6.	F	Risul	tati e	e discussione	27			
	6.1	•	Nano	oparticelle in soluzione acquosa	27			
	6.2	•	Sinte	esi nanoparticelle con riduzione fotochimica	27			
	6	5.2.1		Spettroscopia UV-visibile	27			
	6.3	•	Sinte	esi di nanoparticelle in acido tannico	28			
	6	5.3.1		Spettroscopia UV-visibile	29			
	6	5.3.2	2.	Diffrazione a raggi X (XRD)	37			
	6	5.3.3	8.	Spettroscopia per dispersione di energia (EDS)	39			
	6	5.3.4	l.	Microscopia elettronica a scansione con sorgente ad emissione di campo (FESEM)	42			
	6	5.3.5	5.	Test dell'alone di inibizione (Halo Test)	47			
7.	C	Conc	lusio	oni	48			
8.	E	Bibli	ograf	fia	50			

1. Introduzione e scopo del lavoro

I batteri e i virus sono tra le cause principali di patologie a livello globale e le infezioni che producono sono tra le prime cause di morte al mondo.

Infatti, la diffusione di batteri resistenti agli antibiotici e la difficoltà di eradicare colonie batteriche in alcuni ambienti, rendono necessarie misure atte a prevenire l'adesione batterica, attraverso l'uso di superfici batteriostatiche o antibatteriche.

A causa dell'insorgenza di batteri, funghi e microbi resistenti agli antibiotici e alla difficoltà nello sviluppare nuovi antibiotici per combattere l'antibiotico-resistenza, si è pensato ad un approccio preventivo per contrastare tali infezioni, utilizzando materiali che siano antibatterici. L'argento è noto per le sue proprietà antibatteriche, ma presenta delle limitazioni riguardo all'utilizzo come metallo. Infatti, allo stato metallico, può risultare citotossico, superando la soglia di tossicità, ha un costo elevato, non è chimicamente stabile e non è duraturo. L'uso delle nanoparticelle risolve questo problema, diminuendo costi, tossicità e aumentando la reattività.

In tale ambito rientra questo lavoro di tesi, il cui obiettivo è la creazione di rivestimenti compositi e nanostrutturati, per conferire proprietà antibatteriche/antivirali ai materiali in alternativa alla tecnica del co-sputtering, impiegando l'argento in forma di nanoparticelle.

Le nanoparticelle d'argento sono state scelte in virtù delle loro proprietà antibatteriche, batteriostatiche, in quanto gli ioni rilasciati in ambiente acquoso interagiscono con le membrane batteriche danneggiandole, e antivirali, per la loro elevata reattività a contatto con le membrane virali. Le dimensioni ridotte sono state scelte per accrescere gli effetti dell'argento, grazie al maggior rapporto superficie/volume delle nanoparticelle. Inizialmente, sono state impiegate nanoparticelle d'argento del diametro di 10nm già sintetizzate e disperse in una soluzione acquosa di citrato di sodio. Successivamente, sono state sintetizzate a partire dal nitrato d'argento in soluzione con trattamento UV. Infine, sono state ottenute partendo dal nitrato d'argento in una soluzione tampone con l'acido tannico. Si è scelto di realizzare un rivestimento composito in cui disperderle, per aumentarne la durata, controllare la cinetica di rilascio degli ioni Ag+, e creare una struttura più stabile. È stato scelto un rivestimento ceramico, in quanto garantisce resistenza meccanica e all'usura, inerzia chimica e resistenza al calore. Tra i tanti metodi di realizzazione, questo consente di ottenere un rivestimento a basse temperature.

Il rivestimento è stato ottenuto a partire da precursori silanici, quali PHPS (periidropolisilazano in soluzione con dibutiletere) e Durazane. Questi precursori, a contatto con aria e umidità si trasformano in silice.

Per quanto riguarda l'azione antibatterica, inizialmente è stato tentato l'isolamento tramite centrifugazione di nanoparticelle d'argento in soluzione acquosa di citrato di sodio; data però la difficoltà riscontrata nell'estrazione, è stata poi valutata l'opzione di sintetizzare le AgNPs in soluzione con l'obiettivo di miscelarle con i precursori polimerici. Tuttavia, dopo aver sintetizzato le nanoparticelle in acetone tramite riduzione fotochimica, si è riscontrata una scarsa compatibilità nella miscelazione con PHPS e Durazane. Sono state quindi sintetizzate le nanoparticelle d'argento a partire da nitrato d'argento utilizzando come agente riducente e stabilizzante l'acido tannico (TA), la cui efficacia è stata incrementata mantenendo la soluzione a pH basico; sono state successivamente filtrate e disperse in acetone e poi

miscelate con i precursori. La miscela ottenuta è stata poi depositata manualmente utilizzando una barretta stendifilm (in modo da ottenere dei rivestimenti con uno spessore controllato) su substrati di vetro soda-lime e cotone.

Le caratterizzazioni morfologiche e composizionali sono state effettuate mediante spettrofotometria UV-visibile, FE-SEM (microscopia elettronica a scansione ad emissione di campo), EDS (spettroscopia a dispersione di energia) e XRD (diffrazione di raggi X). Le proprietà antibatteriche sono state, invece, valutate mediante il test dell'alone di inibizione utilizzando il batterio S. Epidermidis. Questo lavoro rappresenta uno studio preliminare per la realizzazione di un rivestimento composito antibatterico a partire da polimeri preceramici e sono, quindi, necessarie ulteriori indagini.

2. Nanoparticelle d'argento

L'argento è stato storicamente utilizzato in diverse forme come agente antibatterico, da solo o in combinazione con altre tecnologie. Esso è stato studiato per sfruttare la sua capacità di inibire la crescita batterica incorporandolo come nitrato d'argento o sulfadiazina d'argento in medicazioni per trattare ustioni e ulcere, negli imballaggi alimentari per prevenire la contaminazione, negli elettrodomestici, e in diverse applicazioni in ambito industriale. Tuttavia, l'uso estensivo su superfici è stato limitato dall'alto costo della materia prima. Ma, con l'emergere delle nanotecnologie, l'esplorazione delle capacità antibatteriche delle AgNPs è stata una scelta immediata [1].

Le nanoparticelle d'argento causano meno tossicità per la salute umana ma sono altamente tossiche per i microrganismi. Per questo motivo, le nanoparticelle d'argento hanno trovato buone applicazioni nel campo biomedico, antimicrobico, catalitico, della salute umana e del risanamento ambientale, ecc. Le nanoparticelle d'argento sono ampiamente utilizzate per applicazioni biomediche come antimicrobici, per biorilevamento ed etichettatura, per le separazioni biomagnetiche, per la somministrazione di farmaci, per l'imaging, nel cemento osseo, ed in numerose terapie. Le nanoparticelle d'argento, grazie alle loro eccellenti proprietà ottiche ed elettroniche, sono materiali catalitici promettenti per varie applicazioni. Alcune applicazioni riguardano i catalizzatori automobilistici, le membrane, le celle a combustibile, i fotocatalizzatori, i propellenti, i rivestimenti antigraffio, le ceramiche strutturali e le celle solari, la degradazione dei coloranti organici.

Le nanoparticelle d'argento hanno anche applicazioni nella protezione della salute umana. Sono utilizzate in lozioni per la protezione solare, rossetti, creme per la pelle, unguenti per la protezione dai raggi UV e creme e dentifrici nell'industria cosmetica. Le applicazioni delle nanoparticelle d'argento possono essere sfruttate anche nel biorisanamento ambientale. Le nanoparticelle d'argento si sono rivelate molto efficaci nella disinfezione dell'aria, nella disinfezione dell'acqua e nella disinfezione delle superfici [2].

Le AgNPs sono definite come un nanomateriale perché presentano tutte le dimensioni inferiori a 100 nm. Queste hanno mostrato migliori proprietà e una maggiore superficie (rapporto areavolume) rispetto all'argento nella sua forma sfusa. Su scala nanometrica, questo materiale presenta proprietà elettriche, ottiche e catalitiche uniche, che hanno portato allo studio e alla fabbricazione di prodotti per la somministrazione mirata di farmaci, la diagnosi, il rilevamento e l'imaging. Tuttavia, è l'eccezionale attività antibatterica esibita dalle AgNPs che ha attirato l'attenzione di ricercatori e industrie. Le AgNPs hanno mostrato attività antimicrobica contro una varietà di microrganismi infettivi e patogeni, inclusi batteri Gram positivi, Gram negativi e multiresistenti. Per tale ragione, si è pensato di realizzare nanoparticelle d'argento che sfruttassero queste sue proprietà. Infatti, le dimensioni nanometriche delle nanoparticelle aumentano il rapporto superficie/volume amplificandone l'effetto [3].

L'attività antibatterica aumentata dell'argento su scala nanometrica è stata molto utile nelle aree mediche e sanitarie, dove è stata studiata l'incorporazione di AgNPs in centinaia di prodotti, tra cui strumenti chirurgici, e per la manipolazione di alimenti, abbigliamento, cosmetici, prodotti dentali, cateteri e medicazioni. Il potenziale delle AgNPs come agente antibatterico è legato ai loro meccanismi d'azione, che colpiscono i microrganismi in più siti contemporaneamente dando loro la capacità di uccidere vari tipi di batteri [4].

Attualmente, le ricerche per lo sviluppo di nuovi antibiotici sono complicate; richiedono anni di studio sull'efficacia e sulla sicurezza degli agenti, impiegando elevate quantità di tempo e risorse, mentre le infezioni causate da microrganismi multiresistenti continuano a crescere e a causare decessi in tutto il mondo. Le AgNPs, insieme ad altri nanomateriali, sono state studiate per cercare nuovi agenti che possano aiutare a prevenire le infezioni dei microrganismi patogeni, senza favorire la comparsa di nuove resistenze [5]. Poiché le infezioni causate da microrganismi resistenti agli antibiotici sono una fonte di preoccupazione globale, le AgNPs si presentano come un'ottima alternativa in quanto possono essere applicate per prevenire le infezioni causate da questi microrganismi, decontaminare le forniture mediche e persino combattere le infezioni in corso. Come alternativa agli antibiotici, questa applicazione è stata ampiamente studiata negli ultimi anni con l'obiettivo di sviluppare nuovi prodotti battericidi per trattamenti di decontaminazione o infezione sfruttando le conoscenze già consolidate sulla loro efficacia anche nei confronti di organismi multiresistenti [6].

L'attenzione ottenuta dalle AgNPs si riflette nei dati di elevata domanda e di investimento nella ricerca ad esse correlata. Negli ultimi 15 anni, il mercato delle AgNPs è cresciuto costantemente, con una produzione stimata di oltre 500 tonnellate di nanoparticelle all'anno per soddisfare le richieste delle diverse industrie [7].

Tuttavia, uno dei fattori da considerare è la tossicità che le nanoparticelle potrebbero avere per la salute umana e ambientale, dato che la loro dimensione, che può essere considerata il loro principale vantaggio, è anche ciò che conferisce loro la possibilità di superare le barriere di difesa negli organismi, essendo in grado di indurre effetti tossici da lievi a cronici dopo il loro accumulo.

Dunque, una soluzione sempre più studiata è la creazione di superfici antibatteriche o batteriostatiche, che impediscano l'adesione batterica o inibiscano i batteri adesi, per evitare la formazione di biofilm. Alcune di queste tecniche includono la creazione di superfici idrofobiche, altre si concentrano, da diverso tempo, sull'impiego di nanoparticelle metalliche, tra cui spicca l'argento, per le loro ottime proprietà antibatteriche. Tali nanoparticelle possono essere utilizzate direttamente sulle superfici, inglobate nel materiale da utilizzare, oppure, poste in rivestimento sopra il materiale, in modo da regolare la cinetica di rilascio per ottenere effetti differenti. L'utilizzo di rivestimenti compositi consentirebbe di rendere antibatterica una superfice, evitando sterilizzazioni e trattamenti costosi, nocivi per l'uomo, inquinanti o dannosi per molti materiali, estendendone l'impiego ad altri normalmente esclusi.

Le nanoparticelle possono essere impiegate in vari modi, disperse in soluzioni, applicate direttamente sui substrati di interesse, oppure utilizzate in rivestimenti.

Film d'argento o film microstrutturati d'argento sono stati polverizzati su diversi substrati per conferire proprietà antibatteriche. Tuttavia, l'argento metallico puro ha una bassa stabilità meccanica e chimica quando è depositato direttamente su una superficie; pertanto, è solitamente incorporato in polimeri o vetri per ottenere rivestimenti antibatterici stabili. Il principale svantaggio dei rivestimenti disponibili è che generalmente non hanno un'elevata stabilità meccanica e termica e la loro durata è limitata [8].

Alcuni di questi rivestimenti richiedono trattamenti ad alta temperatura per rivestire l'intero substrato, ciò ha ridotto l'applicabilità su diversi substrati, come quelli polimerici. Inoltre, i rivestimenti antibatterici a base polimerica mostrano una minore stabilità meccanica rispetto a quelli a base inorganica. Dunque, l'obiettivo cardine in questo campo è quello di fornire un rivestimento antibatterico adatto ad un'ampia gamma di substrati, con caratteristiche meccaniche e termiche resistenti all'usura e con proprietà antibatteriche durature per lunghi periodi di tempo e intervalli di temperatura [9].

La cinetica di rilascio degli ioni Ag+ varia in base alla tecnologia utilizzata. L'uso di un rivestimento previene il rilascio immediato degli ioni, favorendo un rilascio più graduale e duraturo. Inoltre, i rivestimenti contribuiscono a mantenere una concentrazione media degli ioni più costante, evitando picchi di concentrazioni che possono risultare citotossici. Infatti, un altro problema dell'utilizzo dell'argento puro è la citotossicità per elevate concentrazioni, tale effetto può essere prevenuto utilizzando rivestimenti polimerici [10].

L'affinità tra le nanoparticelle e le superfici dell'ambiente con cui vengono a contatto hanno una profonda influenza nel determinare il destino, il trasporto e l'esposizione dei nanomateriali. L'affinità delle nanoparticelle per varie superfici è anche responsabile dell'etero-aggregazione delle nanoparticelle da parte di sostanze differenti, dell'auto-aggregazione tra nanoparticelle della stessa specie e della compatibilità delle nanoparticelle con le superfici biotiche, determinando la biodisponibilità e l'assorbimento. Le superfici delle nanoparticelle prodotte possono essere modificate con rivestimenti superficiali polimerici che stabilizzano le particelle attraverso fenomeni sterici e/o legati alla carica [11]. La stabilizzazione sterica, composta da un contributo osmotico e da un contributo elastico, è in genere più robusta della sola stabilizzazione di carica nel prevenire l'aggregazione in un dato intervallo di valori di pH e di forza ionica (IS). Il contributo osmotico è radicato nella riduzione dell'entropia che si verifica quando gli strati di rivestimento polimerico idrofilo su due superfici in avvicinamento si compenetrano. L'adsorbimento di specie cariche ad alto peso molecolare può fornire stabilizzazione elettrosterica, che include una repulsione aggiuntiva dovuta all'interazione elettrostatica tra i polimeri carichi compenetranti. La stabilizzazione sterica ed elettrosterica può essere ingegnerizzata in nanoparticelle o verificarsi spontaneamente quando specie polimeriche in sistemi naturali o fisiologici si assorbono sulle superfici delle particelle [12].

Nonostante i forti effetti antimicrobici, le AgNPs possono avere un effetto citotossico sulle cellule danneggiando le membrane, influenzando la produzione di ATP e la replicazione del DNA, alterando l'espressione genica e ossidando i compartimenti biologici a causa della produzione di specie reattive dell'ossigeno. Questo effetto si verifica, soprattutto, quando le AgNPs sono staccate dalla superficie. Per prevenire ciò, lo strato di AgNPs può essere rivestito con uno strato sottile di vario genere. Questo film protettivo può migliorare l'adesione del rivestimento, consentendo la diffusione di ioni Ag+, ma impedendo il contatto diretto tra le AgNPs e l'ambiente circostante. Il rivestimento risultante dovrebbe possedere proprietà antimicrobiche e, grazie ad una migliore adesione al substrato, anche una bassa tossicità per le cellule umane [13].

La preparazione di materiali antimicrobici basati sul rivestimento del substrato con uno strato di AgNPs o sulla loro combinazione con altri rivestimenti è stata descritta in numerosi studi. Ad esempio, sono stati effettuati rivestimenti di carte con chitosano/agar-AgNPs, o di polidopamina/chitosano/AgNPs del catetere urinario e delle superfici in titanio. Studi simili sono

stati effettuati per tessuti per o carta per materiali di imballaggio alimentare. Altre potenziali applicazioni in medicina sono state segnalate per le superfici antibatteriche degli impianti in titanio, del catetere urinario o per il trattamento dell'onicomicosi. Inoltre, sono stati anche effettuati rivestimenti sui tessuti delle mascherine chirurgiche [14].

I rivestimenti metallici lisci e metallici con NPs possono essere preparati con vari metodi. I metodi possono esser divisi in due categorie, i metodi fisici, tra cui lo sputtering è il più utilizzato, e i metodi chimici, che si basano su reazioni e coinvolgono solventi e agenti stabilizzanti.

Le strutture a sandwich o multistrato sono uno degli esempi principali di nanocompositi polimerici antibatterici con argento. Tali rivestimenti sono in genere costituiti da AgNPs rivestiti con un sottile strato superiore di polimero (in genere da diversi nanometri a decine di nanometri) che fissa le AgNPs su un materiale di substrato e funge da barriera di diffusione per il rilascio degli ioni Ag+. Le AgNPs possono essere depositate su un substrato mediante immersione in una soluzione colloidale di AgNPs, seguita da essiccazione, riduzione salina o metodi fisici, come l'evaporazione, lo sputtering o l'uso di fonti di aggregazione gassosa di AgNPs. I metodi fisici di deposizione di AgNPs sulle superfici, garantiscono un'elevata purezza di AgNPs e possono essere facilmente combinati con altre tecniche di deposizione a bassa pressione utilizzate per la deposizione di matrici polimeriche. Al fine di facilitare l'adesione delle AgNPs su un substrato, viene utilizzato uno strato inferiore aggiuntivo (spesso un film polimerico al plasma) come interfaccia tra il substrato e le AgNPs.

Tuttavia, questo tipo di procedura di deposizione prevede più fasi, il che è, da un punto di vista tecnologico, un fattore limitante. Di conseguenza, sono stati sviluppati approcci alternativi per la produzione di nanocompositi a base di Ag, in cui le nanoparticelle di Ag sono incorporate direttamente nella matrice polimerica in crescita. Questi approcci si basano principalmente su metodi chimici, ma il limite principale di questa tecnica è il limitato controllo sulla dimensione e sulla distribuzione delle NPs nella matrice polimerica [15].

Le applicazioni delle AgNPs come agenti antimicrobici possono essere ulteriormente esplorate combinandole con una matrice fisica. I tessuti sono un terreno fertile per funghi e batteri, date le ottime condizioni di temperatura, disponibilità di nutrienti e umidità. Dunque, i tessuti funzionalizzati con nanoparticelle antimicrobiche sono attivamente studiati, con particolare attenzione alle AgNPs. I tessuti sono stati funzionalizzati con successo con AgNPs utilizzando tecniche di deposizione sia fisica che chimica. Ad esempio, è stato usato lo sputtering magnetico per depositare AgNPs su tessuti in poliimmidi; le AgNPs sono state anche depositate su tessuti di cotone utilizzando l'ablazione laser; un altro metodo utilizzato è stato il dip and dry, basato su reazioni di riduzione superficiale. Tuttavia, la differenza nei coefficienti di dilatazione dello strato metallico e del substrato può portare a difetti superficiali sotto sforzo (crepe, perdita di adesione, ecc.). Le tecniche di deposizione sono anche costose, dispendiose in termini di tempo e limitanti (sottovuoto, numerosi passaggi, sostanze chimiche tossiche, ecc.), il che limita le opzioni di scale-up industriale.

I rivestimenti nanometallico-polimerici offrono un'interessante alternativa ai suddetti tessuti metallizzati. Tali nanocompositi sono preparati tramite approcci ex situ o in situ, in cui le NPs vengono sintetizzate in anticipo e successivamente aggiunte a una matrice polimerica o generate direttamente all'interno del film polimerico. I metodi ex situ includono l'innesto, i processi elettrostatici o poliolici, ma rimangono relativamente difficili da implementare e tendono a causare

l'auto-aggregazione delle NPs. I metodi in situ sono quindi generalmente preferiti e in genere richiedono che la superficie del film polimerico sia trattata con una soluzione di precursori metallici (strato per strato, sol-gel) prima di essere sottoposta a reazioni termiche o di riduzione chimica.

Il rivestimento polimerico si adatta a varie forme tessili, migliora l'adesione tra le NPs e il substrato, compensando le sollecitazioni interne e mantiene le proprietà antimicrobiche delle NPs. Poiché le nanoparticelle sono incorporate all'interno della matrice polimerica, sono protette dalle forze esterne, il che prolunga la durata del tessuto funzionalizzato [16].

Diversi polimeri sono stati utilizzati sia naturali, come chitosano, alginato e acido ialuronico, che artificiali come PCL, PVA, PEG, PTFE, PPLA e PVP.

I rivestimenti polimerici tradizionali presentano inoltre alcuni problemi riguardanti l'adesione al substrato, la durata e la resistenza ad usura e rottura. Per tale ragione, soprattutto per applicazioni più durature si è pensato di impiegare polimeri ceramici che migliorassero la resistenza dei rivestimenti.

3. Rivestimenti compositi ceramici con AgNPs

I rivestimenti ceramici con Ag fanno parte di un'ampia gamma di rivestimenti protettivi e funzionali utilizzati per modificare le proprietà dei materiali di base. In questi rivestimenti, le fasi ceramiche come ossidi, carburi, nitruri e carbonitruri vengono miscelate con argento metallizzato per esaltare le caratteristiche del materiale. Questi rivestimenti hanno attirato una notevole attenzione grazie alla loro vasta gamma di applicazioni. La loro struttura multifase conferisce caratteristiche indipendenti dalle fasi immiscibili del sistema (ceramica o metallica), fornendo molteplici proprietà funzionali, compresi effetti antibatterici, resistenza all'usura e alla corrosione e miglioramento dell'assorbimento della luce. Una delle caratteristiche più interessanti di questi materiali è la possibilità di personalizzarne la funzionalità selezionando il tipo, la distribuzione e le dimensioni appropriate delle fasi costituenti. Un gran numero di tecniche è stato impiegato per produrre rivestimenti ceramici-Ag, compresi i metodi elettrochimici, tecniche di deposizione fisica da vapore (PVD), deposizione chimica da vapore (CVD) e sol-gel.

I film ceramici con nanoparticelle d'argento possono essere suddivisi in cinque classi in base alla natura della matrice: nitruri (N), carburi (C), carbonitruri (CN), film a base di carbonio (diamond like carbon o DLC) e ossidi (derivati principalmente da Al, Si, Ti e Zr) [17].

La varietà delle proprietà di questo gruppo di materiali è principalmente determinata dalla diffusione e dalla crescita delle nanoparticelle d'argento nella matrice e dalla struttura e morfologia dei rivestimenti, che sono quindi un fattore fondamentale nel comportamento dei rivestimenti. Queste caratteristiche sono fortemente influenzate dalle condizioni di produzione, portando una miriade di risultati differenti. L'incorporazione di una fase metallica (Ag) nei film ceramici produce cambiamenti strutturali, morfologici e chimici nella matrice ceramica. Dato che l'argento è un metallo nobile e lo stato metallico è termodinamicamente più stabile rispetto alla maggior parte dei composti d'argento che possono essere prodotti allo stato solido, la formazione di nitruri d'argento, carburi, carbonitruri o anche alcuni tipi di ossidi è molto improbabile. Pertanto, le modificazioni causate dall'argento alla struttura dipendono in gran parte dalla sua quantità, la dimensione delle particelle e la distribuzione all'interno della matrice ceramica, con conseguenti influenze sulla cristallinità, la trama e distribuzione della fase chimica [18].

I rivestimenti ceramici con Ag presentano una combinazione di diversi tipi di fasi, tra cui cristallina, nanocristallina o amorfa. Queste microstrutture differiscono tra le strutture a base di nitruro, carburo, carbonio e ossido e la loro evoluzione con l'incorporazione dell'argento è influenzata principalmente dal loro carattere cristallino.

La natura della matrice (amorfa o cristallina) gioca un ruolo nel meccanismo di crescita delle nanoparticelle d'argento, a causa della distribuzione più omogenea di argento nelle matrici amorfe, come ossidi o film a base di carbonio, in cui la vicinanza del permette loro di crescere per coalescenza. Nelle matrici cristalline, le nanoparticelle d'argento si trovano ai bordi di grano, diminuendo la vicinanza delle nanoparticelle e, di conseguenza, la loro coalescenza [19].

La forza motrice che innesca la mobilità delle nanoparticelle d'argento verso la superficie del rivestimento può essere considerata la sinergia di diverse fonti di energia: (i) potenziale chimico, (ii) energia superficiale, (iii) energia di deformazione e (iv) energia termica. La bassa reattività dell'argento con la matrice impedisce la formazione di legami forti tra la matrice e l'argento,

consentendo la mobilità delle nanoparticelle e aumentandone la segregazione. Questa mobilità è potenziata dalle sollecitazioni di compressione e dalla morfologia dei film [20].

La sollecitazione di compressione si verifica a causa della discrepanza di dilatazione termica tra il substrato e i rivestimenti e fornisce energia di deformazione al sistema, promuovendo così la deformazione plastica dell'argento e stimolando la segregazione indotta dalla deformazione in superficie. La morfologia dei rivestimenti gioca un ruolo cruciale in questo processo in quanto le caratteristiche morfologiche, come i bordi dei grani, i bordi delle colonne e i pori, determinano i percorsi di diffusione per l'aggregazione dell'argento [21].

Le morfologie più comuni nei film ceramici-Ag sono morfologie colonnari e granulari, che possiedono percorsi di diffusione chiari che facilitano la diffusione e la segregazione dell'argento in superficie. L'argento che segrega ai bordi di grano riempie i canali di diffusione, si sposta in spazi più aperti (bordi esterni della colonna) ed esce in superficie del materiale, liberando così lo stress dai film [22].

I rivestimenti ceramici con Ag sono stati studiati per un vasto numero di applicazioni, sfruttando le loro proprietà funzionali, come le proprietà ottiche, sfruttando l'effetto di risonanza plasmonica superficiale delle nanoparticelle d'argento; le proprietà elettriche, dovute alla stabilità chimica e alla conducibilità elettrica dell'argento; le prestazioni meccaniche e tribologiche migliorate, basate sulla natura nanocomposita e le capacità autolubrificanti dell'argento; le proprietà antimicrobiche, incorporando l'argento nanoparticelle in un gran numero di materiali; e le proprietà elettrochimiche, dovute al rilascio di ioni Ag [23].

I rivestimenti ceramici migliorano i materiali del substrato sottostante con biocompatibilità, aumento della resistenza meccanica, della resistenza all'usura, della resistenza a corrosione. Per tali ragioni sono sempre più ricercati in ambito biomedico, in diversi ambiti, tra cui: materiali ortopedici, stent cardiovascolari, superfici antibatteriche, drug delivery, tissue engineering e biosensori [24].

I materiali polimerici a base di silice hanno attirato l'attenzione di molti ricercatori grazie alla loro compatibilità con i tessuti biologici e alle loro promettenti applicazioni in campo medico. I polimeri organici, in generale, godono di un'elevata flessibilità, bassa densità, tenacità e facile formabilità mentre i materiali ceramici possiedono altre eccellenti proprietà meccaniche come un'elevata durezza unita ad una buona resistenza alle alte temperature e ai solventi forti.

Una delle tecniche sperimentate con successo per la realizzazione di un coating composito è quella del co-sputtering, attraverso cui, utilizzando onde in radio frequenza (RF), si riesce a depositare un elevata quantità di particelle su un substrato. Questa tecnica è ampiamente utilizzata per la realizzazione di rivestimenti molto sottili e finemente caratterizzati. È stata anche adottata con successo nella realizzazione di rivestimenti compositi a base di silice con nanoclusters d'argento [25].

Questa tecnica consente di realizzare un rivestimento superficiale su un elevato numero di substrati, in condizioni non estreme, ottenendo film sottili o film microstrutturati sottili. Inoltre, i trattamenti a secco, a differenza di quelli bagnati, sono considerati più ecologici, per il minor consumo di acqua, energia e solventi tossici. Un altro vantaggio è la modifica solo delle caratteristiche superficiali, senza intaccare le proprietà di bulk [26].

4. Rivestimenti ceramici da precursori polimerici

Visti i risultati interessanti ottenuti dai rivestimenti compositi a base di matrice di silice con clusters d'argento realizzati con la tecnica del co-sputtering, il gruppo di studio ha deciso di concentrarsi sulla realizzazione di un rivestimento a base di matrice di silice attraverso tecniche differenti. Infatti, si è scelto di iniziare da precursori polimerici della silice, quali Durazane e PHPS (peridopolisilazano), per inglobare al loro interno le nanoparticelle d'argento sintetizzate prima della realizzazione del rivestimento. L'obiettivo è quello di ottenere un rivestimento uniforme a matrice silicea al cui interno siano presenti nanoparticelle d'argento disperse prima della polimerizzazione del rivestimento.

I polisilazani sono precursori polimerici costituiti da una catena alternata di atomi di silicio e azoto, sono divisi in organici (organopolisilazani) e inorganici (peridropolisilazani).

La silice gode di eccellenti proprietà di trasparenza ottica, isolamento, antiabrasione, inerzia chimica ed è ampiamente utilizzata come materiale di rivestimento per protezione da corrosione, usura e barriera contro i gas. La domanda sempre crescente ha portato alla ricerca di metodi di preparazione efficienti ed economici. Infatti, ad oggi, i metodi di preparazione principali sono deposizione fisica di vapori (PVD), deposizione chimica di vapori (CVD) e deposizione di layer atomici. In questo scenario si inseriscono i precursori polimerici, che risultano molto promettenti nel superare gli attuali limiti di sintesi dei rivestimenti in silice, in quanto il loro utilizzo porta ad un processo economico e facilmente scalabile.

Il PHPS (peridropolisilazano) è un polimero inorganico composto da una catena principale di atomi Si-N legati tra loro, con gruppi terminali Si-H, altamente reattivi. Il PHPS può dar vita a rivestimenti densi in silice amorfa attraverso trattamenti ad alta temperatura. Difatti, i primi rivestimenti sono stati ottenuti con trattamenti termici ad alte temperature [27].

La reazione principale di conversione in silice è l'idrolisi dei gruppi Si-H e Si-N con la conseguente condensazione in Si-OH, per formare i legami Si-O-Si.

Tuttavia, le alte temperature impiegate limitano molto l'applicazione dei rivestimenti a materiali termicamente più sensibili, per tale ragione la ricerca si è indirizzata sulla realizzazione di processi a temperature inferiori, principalmente secondo due direzioni: l'utilizzo di irraggiamento UV nel vuoto e l'impiego di catalizzatori. L'utilizzo di UV converte rapidamente il PHPS in silice attraverso una reazione di foto-ossidazione a temperatura ambiente, ma questa tecnica risulta poco scalabile. Pertanto, il processo più selezionato è stato l'utilizzo di processi catalitici. I metodi catalitici possono essere divisi in ambientali esterni, come i vapori basici di ammoniaca o di soluzioni acquose, e interni, come catalizzatori mescolati con il PHPS.

Infatti, sono stati ottenuti rivestimenti in silice densi e resistenti a temperature inferiori (95°C), utilizzando un'atmosfera controllata con un'umidità relativa dell'80% e un agente catalitico come un'ammina o un perossido [28].

Diversi test sono stati effettuati a temperatura ambiente, variando le condizioni di pH e i vapori a cui sono stati sottoposti i rivestimenti. I risultati hanno dimostrato come un pH basico e un ambiente umido favoriscano la conversione del PHPS in silice anche a temperatura ambiente, ottenendo risultati promettenti [29].

Questi risultati suggeriscono la possibilità di realizzare rivestimenti in modo semplice e veloce, senza la necessità di attrezzatura sofisticata, personale altamente specializzato e costi elevati. In più, permette il rivestimento su materiali termicamente sensibili, aumentandone l'utilizzo su un range elevato di substrati. Per tali ragioni, in questo lavoro si è deciso di partire dai precursori polimerici della silice per provare a sintetizzare dei rivestimenti su substrati differenti, col fine di conferir loro proprietà antibatteriche.

5. Materiali and Metodi

5.1. I Substrati

I substrati utilizzati sono vetrini soda-lime e cotone, in modo da simulare due applicazioni molto diverse fra loro.

Il soda-lime, detto anche vetro-sodico-calcico è il tipo di vetro più diffuso, impiegato per vetri e contenitori (barattoli e bottiglie). Esso rappresenta circa il 90% del vetro prodotto. Il vetro soda-lime è relativamente economico, chimicamente stabile, ragionevolmente duro ed estremamente lavorabile. Poiché può essere risistemato e rifuso numerose volte, è ideale per il riciclaggio del vetro. Rispetto ai vetri con sola silice pura, vengono aggiunte altre sostanze per facilitare la lavorazione, tra cui la "soda" o carbonato di sodio (Na₂CO₃). Per garantire una migliore resistenza chimica è aggiunto l'ossido di calcio (CaO). Vengono anche aggiunti ossido di magnesio (MgO) e allumina (Al₂O₃) per migliorare la durabilità. Il vetro soda lime contiene circa il 70-74% in peso di silice. Il vetro soda-lime è diviso tecnicamente in vetro utilizzato per finestre, chiamato vetro piano e vetro per contenitori, chiamato vetro contenitore. I due tipi si differenziano per applicazione, metodo di produzione (processo flottante per finestre, soffiaggio e pressatura per contenitori) e composizione chimica. La composizione chimica è riportata nella tabella 1.

Tabella 1: Composizione chimica del vetro soda-lime

Composizione chimica del vetro soda-lime					
SiO ₂	NaO ₂	CaO	Altro		
70%	14%	10%	6%		

Il cotone è una fibra tessile vegetale, ricavata dalla bambagia, che avvolge i semi delle piante del genere Gossypium. La sua tessitura è nota fin dalla preistoria e, ad oggi, è il tessuto in fibra naturale più utilizzato nell'abbigliamento ed è la maggiore coltura agricola non alimentare. La fibra del cotone appare nastriforme con avvolgimenti a spirale che sono frequenti e regolari nelle fibre di buona qualità. Osservato in sezione trasversale il filamento risulta diviso in quattro parti: la cuticola, membrana esterna sottilissima di natura non cellulosica; la parete primaria, formata da fini fibrille di cellulosa che si intersecano fra loro; la parete secondaria, composta di cellulosa e da fibrille avvolte a spirale e il lumen che è un canale vuoto posto nella parte centrale della fibra (di natura non cellulosica) e di forma stretta. La sua composizione è costituita per l'85% da cellulosa, per il 10% da acqua e per il restante 5% da altre sostanze (proteine, grassi cerosi, polisaccaridi, sali minerali). La proprietà fondamentale del cotone è rappresentata dalla marcata tenacità (resistenza alla rottura quando viene applicata una forza nel senso della lunghezza della fibra) grazie alla sua cristallinità, specialmente in ambiente umido, dove la forza delle fibre di cotone cresce fino al 15%. La sua elasticità è invece scarsa, anche se superiore a quella di tutte le altre fibre vegetali. L'ottima igroscopicità (cioè la capacità di assorbire prontamente le molecole d'acqua presenti nell'ambiente circostante) si unisce a una media coibenza (conducibilità termica). La composizione chimica è riportata nella tabella 2 [30].

Tabella 2: Composizione chimica della fibra di cotone

Composizione chimica del cotone					
Cellulosa Acqua Altre sostanze					
85%	10%	5%			

5.2. Il rivestimento

5.2.1. Precursori polimerici

Per la sintesi dei rivestimenti sono stati scelti due precursori polimerici: il PHPS (peridropolisilazano in soluzione con dibutiletere) e il Durazane, come precursori della silice. Essi sono polimeri inorganici, composti da legami Si-N, con gruppi terminali Si-H e, per quanto riguarda il Durazane, anche Si-CH₃. Il PHPS utilizzato, prodotto da Merck, era in soluzione con di-n-butiletere (20 %w/w). Il Durazane utilizzato è prodotto da Merck, con nome commerciale di Durazane 1800. Le soluzioni polimeriche sono state depositate per mezzo di una pipetta e tenute sotto cappa per 24h. In figura 1 e 2 vengono mostrate le strutture chimiche del PHPS e del Durazane.



Figura 1: Struttura chimica PHPS.



Figura 2: Struttura chimica del Durazane.

5.2.2. Dispersione di nanoparticelle in soluzione acquosa

La dispersione di nanoparticelle d'argento (AgNPs) utilizzata, prodotta da Sigma-Aldrich, era in soluzione acquosa (0,02 mg/ml), con citrato di sodio come stabilizzante. La dimensione media delle particelle era di 10nm con un picco di assorbimento relativo alla risonanza plasmonica di superficie compreso tra 380 nm e 405 nm. Nelle sperimentazioni iniziali si è provato ad isolare le nanoparticelle d'argento dalla soluzione acquosa di citrato di sodio tramite centrifugazione. Sono stati effettuati diversi tentativi con una quantità di soluzione pari a 0,5 ml. Si è proceduto a centrifugare, con una velocità pari a 11500 rpm, per tempi crescenti (15, 20, 25 e 30 minuti), per far separare le due fasi ed estrarre le AgNPs con una pipetta.

Dopo l'estrazione della soluzione con le nanoparticelle, queste sono state miscelate con acetone, con un rapporto di 1:1 rispetto alla soluzione iniziale. In seguito, per disperderle nell'acetone, sono sottoposte ad un bagno in ultrasuoni, della durata di 5 min.

Considerata la bassa dispersione delle nanoparticelle nell'acetone, si è dapprima provato a disperdere le nanoparticelle centrifugate in etanolo (o alcol etilico) al posto dell'acetone, con rapporto 1:1, rispetto alla soluzione iniziale (5ml). Vista la presenza di citrato di sodio residuo nella soluzione, che reagiva con il PHPS, si è altresì provato ad eliminarlo, mettendo la soluzione estratta di AgNPs, per 10min a 150°C in stufa, per poi disperdere le NPs sia in acetone che etanolo. Le soluzioni sperimentate sono riportate nella tabella 3. Infine, sono miscelate con una quantità pari di PHPS (0,5ml) e depositate tramite barretta stendifilm (con spessore controllato) su vetrini soda-lime. I vetrini sono stati puliti attraverso un bagno di 5min in ultrasuoni con acetone, per evitare contaminazioni.

Quantità	Centrifuga	Stufa	Dispersione		Bagno	
soluzione	11500rpm	150°C	acetone	Dispersione	US	PHPS
NPs (ml)	(min)	(min)	(ml)	ETOH (ml)	(min)	(ml)
0,5	15	0	0,5	0	5	0,5
0,5	15	0	0	0	5	0,5
0,5	25	0	0	0,5	5	0,5
0,5	20	0	0,5	0	5	0,5
0,5	25	10	0,6	0	5	0,6
0,5	25	10	0	0,332	5	0,332

Tabella 3: Soluzioni sperimentate

5.2.3. Sintesi nanoparticelle con riduzione fotochimica

Successivamente è stata valutata l'opzione di sintetizzare le AgNPs in soluzione con l'obiettivo di miscelarle con i precursori polimerici. Quindi, le nanoparticelle sono state sintetizzate a partire dal nitrato d'argento, AgNO₃ in acetone tramite riduzione fotochimica. L'acetone è stato utilizzato come solvente in quanto è un solvente del Durazane 1800 ed è molto miscibile con l'etere dibutilico. È stata sintetizzata una soluzione di nitrato d'argento in acetone solubilizzando 0,03g di sale in 7 g di solvente (con una concentrazione di AgNO₃ pari allo 0,44%, ovvero il limite di solubilità del nitrato d'argento in acetone) alla quale è stato poi aggiunto il fotopolimerizzatore Darocur 1173 (prodotto da Ciba Specialty Chemicals Inc.), nella stessa quantità del nitrato d'argento. La soluzione è stata miscelata sullo stirrer per 30 min, e, in seguito, è stata sottoposta a irraggiamento UV per 10 e 20 min ad una potenza di 195,507 mW/cm2. La miscelazione ha ottenuto esito positivo, presentando un colore scuro e omogeneo, confermando la dispersione del nitrato nel polimero. Quando la soluzione. Dopo la fotopolimerizzazione, la soluzione rimanente è stata miscelata con 2,1g di PHPS, in rapporto 1:1, depositata su vetrino a goccia. Il PHPS reagisce molto velocemente con la soluzione di acetone e il risultato finale è una polvere grigia, difficilmente analizzabile all'UV-vis.

Quindi, si è provato ad aumentare le quantità, partendo da 0,04g di nitrato d'argento, a cui sono stati aggiunti 10g di acetone (rapporto 0,03:7) e 0,04g di fotopolimerizzatore. La soluzione è stata mescolata per 40 minuti con stirring magnetico, e, dopo, sotto lampada UV per 15 e 20 minuti. Infine, viene mescolata con PHPS in rapporto 1:1 e depositata su vetro soda-lime. In seguito, partendo da una quantità iniziale di 0,04g di nitrato di argento, si aumenta la quantità di acetone per migliorare la solubilità, aggiungendone 16g. Viene, anche, incrementato il tempo di esposizione a 25 minuti. Si segue la stessa procedura fatta in precedenza, aggiungendo 2,72g di PHPS dopo la polimerizzazione, ottenendo risultati analoghi. Quindi, si prova ad aggiungere il PHPS alla soluzione prima della fotopolimerizzazione. Si ottiene così una soluzione molto viscosa, che diventa una polvere nera, non depositabile. Quindi si provano PHPS e Durazane in soluzione con acetone, aumentando il tempo sotto lampada a 45 min, per confrontare il comportamento dei due precursori. Il Durazane reagisce in maniera più controllata. Le soluzioni provate sono descritte nella Tabella 4.

	Composizione soluzioni utilizzate con acetone e PHPS						
				Potenza			
			Lampada UV	lampada			
AgNO3 (g)	acetone (g)	Darocur (g)	(min)	(mW/cm2)	PHPS (g)		
					1:1 aggiunto dopo		
0,03	7	0,03	10	195,507	lampada (2,1 g di PHPS)		
					1:1 aggiunto dopo		
0,03	7	0,03	20	195,507	lampada (2,1 g di PHPS)		
					1:1 aggiunto dopo		
0,04	10	0,04	15	195,507	lampada		
					1:1 aggiunto dopo		
0,04	10	0,04	20	195,507	lampada		
					1:1 aggiunto dopo		
					lampada (2,72 g di		
0,043	16	0,04	25	195,507	PHPS)		
					1:1 aggiunto prima (3 g)		
					e dopo messo sotto		
0,04	16	0,04	25	195,507	lampada UV		
					1:1 aggiunto dopo		
0,04	16	0,04	45	195,507	lampada UV (2,6 g)		
					Durazane (2,6 g) 1:1		
					aggiunto dopo lampada		
0,04	16	0,04	45	195,507	UV		

Tabella 4: Soluzioni utilizzate con l'acetone.

A questo punto, si è deciso di utilizzare il Durazane come precursore polimerico; pertanto, l'acetone viene sostituito dall'acetato di etile, in cui il Durazane è solubile. Si parte con 0,5g di nitrato d'argento, miscelati con 2,5g di acetato di etile, si incrementa la quantità di nitrato d'argento a 0,1g, miscelandola con 5g di acetato di etile e pari quantità di Darocur. Il Durazane viene aggiunto in quantità pari a 2,5g (rapporto 1:0,5) prima della fotopolimerizzazione. Si provano intervalli di tempo crescenti (30 e 45min) e la soluzione finale viene correttamente depositata. Si fanno ulteriori esperimenti con maggiori quantità di acetato di etile, a pari quantità di nitrato (con rapporto 0,1:8). Le soluzioni sperimentate sono riportate nella Tabella 5.

	Composizioni soluzioni con acetato di etile e Durazane						
AgNO3 (g)				Potenza	Durazane		
	Acetato di etile	Darocur (g)	Lampada UV	lampada			
	(g)		(min)	(mW/cm2)			
					aggiunto 2,5 g		
					(1:0,5) prima		
					uniti e poi		
0,0992	5,0292	0,0919	30 min	195,507	lampada UV		
					aggiunto 2,5 g		
					(1:0,5) prima		
					uniti e poi		
0,0992	5,0292	0,0919	45 min	195,507	lampada UV		
					aggiunto 0,75 g		
					(1:0,5) prima		
					uniti e poi		
0,0944	8,0078	0,0945	30 min	195,507	lampada UV		
					aggiunto 0,75 g		
					(1:0,5) prima		
					uniti e poi		
0,0944	8,0078	0,0945	45 min	195,507	lampada UV		
					aggiunto 0,75 g		
					(1:0,5) prima		
					lampada UV e		
					poi aggiunto		
0,0944	8,0078	0,0945	45	195,507	Durazane		

Tabella 5: Soluzioni con acetato di etile e Durazane.

Visti i risultati, si prova a utilizzare l'acetato di etile con il PHPS, aggiungendolo prima o dopo la fotopolimerizzazione con lampada UV. Viene utilizzato 1g di nitrato d'argento, mantenendo il rapporto 0,1:8 con l'acetato di etile. Le prove vengono effettuate per intervalli diversi (30, 45 e 60 min). La soluzione si riesce a depositare per effettuare i test. La analisi rivelano picchi modesti per tutte le tipologie citate. Inoltre, il rivestimento è fragile e poco stabile, riscontrando una scarsa compatibilità nella miscelazione con PHPS e Durazane. Nella tabella 6 vengono riportate le composizioni utilizzate.

Tabella 6: Soluzioni con acetato di eti	le e PHPS
-----------------------------------------	-----------

	Composizioni soluzioni con acetato di etile e PHPS							
AgNO3 (g)				Potenza	PHPS (g)			
	Acetato di etile	Darocur (g)	Lampada UV	lampada				
			(min)	(mW/cm2)				
					1:1 aggiunto			
					prima e poi			
0,1131	8,3139	0,1118	30 min	195,507	lampada UV			
					1:1 aggiunto			
					prima e poi			
0,1131	8,3139	0,1118	45 min	195,507	lampada UV			
					1:1 aggiunto			
0,1131	8,3139	0,1118	20 min	195,507	dopo lampada			
					1:1 aggiunto			
0,0541	4,1286	0,0549	1h	195,507	dopo lampada			

5.2.4. Sintesi nanoparticelle con acido tannico

È stato quindi deciso di cambiare metodo, sintetizzando le nanoparticelle d'argento a partire da nitrato d'argento utilizzando come agente riducente e stabilizzante l'acido tannico (TA), la cui efficacia è stata incrementata mantenendo la soluzione a pH basico; sono state successivamente filtrate e disperse in acetone e poi miscelate con i precursori.

I primi esperimenti sono stati effettuati realizzando soluzioni di 10ml di acido tannico, sciogliendo 0,01g di acido tannico in polvere, per ottenere una concentrazione di 1mg/ml (con una molarità pari a 0,0006M). Sono state realizzate anche soluzioni di 10ml di AgNO₃ con concentrazione pari a 0,005M. Le due soluzioni sono state sintetizzate a 37°C e miscelate per 30 minuti. Successivamente, la soluzione di acido tannico è stata unita a quella di nitrato d'argento e mantenuta a 37°C per 5 e 30 minuti. In seguito, sono state analizzate all'UV-vis per valutare la presenza di nanoparticelle d'argento.

Quindi si è deciso di procedere con l'esperimento, tamponando la soluzione di acido tannico prima di mescolarla con quella di nitrato d'argento e tamponare anche la soluzione risultante per mantenere un pH basico. Pertanto, con le stesse quantità, prima si è tamponata la soluzione di TA con carbonato di potassio (K₂CO₃ a 0,1M) fino ad ottenere un pH pari ad 8,5; in seguito è stata tamponata la soluzione finale con idrossido di sodio (NaOH a 0,1M) fino ad ottenere un pH di 8,5. La soluzione è stata centrifugata per 10min a 12000rpm e sottoposta ad analisi UV [31].

Per aumentare il numero e la dimensione delle nanoparticelle prodotte si è aumentato il tempo di agitazione della soluzione totale a 24h a 37°C, poi sottoposta a centrifuga per 1h e ad analisi UV-vis. La centrifugazione serve per estrarre il maggior numero di particelle, separandole dal mezzo acquoso, per analizzarle al FESEM.

Le nanoparticelle ottenute vengono trasferite in acetone attraverso una serie di lavaggi, che prevedono centrifugazioni di 15 minuti. Le AgNPs vengono disperse con l'aiuto di un miscelatore a vortice e successivamente la soluzione viene aggiunta a 1g di PHPS con rapporto 1:1. La soluzione viene depositata con una barretta stendifilm per ottenere un rivestimento con spessore controllato. Il rivestimento viene analizzato attraverso analisi UV-visibile e si notano dei picchi modesti. Quindi si prova a rifare la stessa procedura sintetizzando le nanoparticelle non più a 37°C per 24h ma ad 80°C, in modo da aumentarne dimensione e quantità, ma le nanoparticelle risultano troppo difficile da separare attraverso centrifugazione. Dopo i lavaggi con acetone, le nanoparticelle vengono unite al PHPS con rapporto di 1:2, quindi 1g di AgNPs e 2g di PHPS, e depositate. Le composizioni sono riportate nella tabella 7.

AgNO3	Acido	Soluzione	Miscelazione	Acetone	PHPS
(g)	Tannico	tampone		(g)	(g)
	(g)				
0,009	0,01	No	5 min	-	-
0,009	0,01	No	30 min	-	-
0,09	0,01	No	1 h	-	-
0,09	0,01	Si	1 h	-	-
0,09	0,01	Si	24 h	1	1
0,09	0,01	Si	24 h a 80°	1	2

Tabella 7: S	Soluzioni	preliminari	con	acido	tannico.
--------------	-----------	-------------	-----	-------	----------

Si prova a miscelare le AgNPs anche con acetato di etile, per poi utilizzare il Durazane, ma risultano non miscibili, dunque si sceglie di utilizzare l'acetone. Si effettuano diversi test, mantenendo il rapporto 2:1 tra NPs e precursori polimerici, impiegando sia PHPS che Durazane, usando il Vortex e provando ad essiccare le NPs, ma quest'ultima rende le particelle inutilizzabili.

Per ottenere risultati migliori si sceglie di ultrafiltrare la soluzione di AgNPs, al posto di effettuare i lavaggi con acetone, in modo da ottenere delle AgNPs più concentrate. Le nanoparticelle vengono disperse in acetone e in seguito mescolate coi precursori polimerici nei rapporti di 1:1 e 1:2. Inoltre, si prova ad utilizzare anche delle nanocariche di silice, quando le nanoparticelle vengono miscelate con il polimero, per aumentare la porosità della matrice silicea e favorire una maggiore dispersione delle nanoparticelle. La soluzione è stata depositata su vetro sodalime tramite barretta stendifilm e su cotone, per effettuare le analisi e i test antibatterici. Infine, si opta per il rapporto 1:1 perché quello con risultati migliori. Le composizioni sono riportate nella tabella 8.

AgNO3	Acido	Miscelazione	Acetone	PHPS	Durazane
(g)	Tannico		(g)	(g)	(g)
	(g)				
0,09	0,01	24 h	0,5	1	
0,09	0,01	24 h	0,5		1
0,09	0,01	24 h a 80°C	0,5	1	
0,09	0,01	24 h a 80°C	0,5		1
0,09	0,01	24 h	0,5	1	
0,09	0,01	24 h	0,5		1
0,09	0,01	24 h	1	1	
0,09	0,01	24 h	1		1

Tabella 8: Nuove soluzioni con acido tannico.

5.3. Realizzazione del coating

5.3.1. Deposizione del coating

Le soluzioni ottenute con PHPS e Durazane sono state depositate dapprima a goccia e, in seguito, utilizzando uno stendifilm manuale su vetrini soda-lime. La deposizione su vetrini è stata effettuata per tutte e tre le tipologie di sintesi. Una volta ottenuta una soluzione sufficientemente viscosa, il coating è stato depositato su vetrini soda-lime utilizzando uno stendifilm manuale (figura 3), in modo da ottenere dei rivestimenti omogenei, con uno spessore di 50 micron. I risultati delle analisi sono stati confrontati con quelli ottenuti dalla deposizione a goccia.



Figura 3: Stendifilm utilizzato.

Le soluzioni con le nanoparticelle ottenute con l'acido tannico sono state anche depositate a goccia su quadratini di cotone del lato di 1cm.

In figura 4 sono riportati alcuni campioni con rivestimenti su vetro e cotone.



Figura 4: Rivestimenti effettuati su vetro e su cotone.

5.3.2. Irraggiamento UV

Per la sintesi delle nanoparticelle d'argento tramite riduzione fotochimica è stata utilizzata la camera UV DYMAX (figura 5), con una potenza di 195,507 mW/cm². Durante l'irraggiamento, è stato mantenuto invariato l'insufflaggio di azoto.



Figura 5: Camera UV serie ECE utilizzata per la sintesi delle nanoparticelle.

5.4. Caratterizzazione morfologica

Per verificare la presenza delle nanoparticelle d'argento e la loro corretta sintesi sono state utilizzate diverse tecniche di analisi, tra cui la spettroscopia UV-visibile (UV-vis), tecnica molto utilizzata per il controllo della presenza di nanoparticelle metalliche, poiché capace di rilevare la risonanza plasmonica di superficie localizzata tipica delle nanoparticelle, analizzando un range di lunghezza d'onda compreso tra 900 e 200 nm; in seguito è stata utilizzata la diffrazione a raggi X (XRD), in quanto permette di rilevare la presenza di fasi cristalline eventualmente presenti, localizzando nanoclusters metallici nel rivestimento, e anche di matrici completamente amorfe o cristalline; infine, è stata impiegata la spettroscopia per dispersione di energia (EDS) per controllare la presenza di argento nel rivestimento. Inoltre, la caratterizzazione morfologica è stata effettuata tramite microscopia elettronica a scansione con sorgente ad emissione di campo (FESEM).

5.5. Test antibatterici

I test antibatterici sono stati effettuati attraverso il test dell'alone di inibizione (NCCLS M2-A9), in quanto esso valuta qualitativamente la formazione di un alone senza batteri intorno al campione incubato in una piastra a contatto con la colonia batterica. Il test viene effettuato con il ceppo batterico S. Epidermidis, batterio non patogeno di classe I.

La soluzione batterica per creare la colonia viene preparata partendo da un brodo nutriente con una quantità di batteri definita in base all'indice di McFarland, usato come unità di misura della torbidità di una sospensione batterica, correlata ad una precisa concentrazione di batteri per volume di sospensione. Nel caso specifico è stato scelto un indice di McFarland di 0,5, pari a circa 10^8 CFU (unità formanti colonie) per ml. La soluzione batterica viene distribuita omogeneamente su una piastra di agar Mueller Hinton e i campioni posti con la superfice rivestita a contatto con la piastra. Sulle piastre vengono posti i vetrini e i pezzi di cotone rivestiti, per poi essere incubati a 35°C. Si effettuano i controlli a 24h, 48h e 72h per valutare l'eventuale comparsa di un alone di inibizione intorno al campione.

6. Risultati e discussione

Il rivestimento composito con matrice di silice e nanoparticelle d'argento è stato ottenuto attraverso deposizione a goccia e barretta stendifilm manuale dalle soluzioni di PHPS o Durazane. Sono state condotte delle prove e caratterizzazioni preliminari per verificare la riuscita del processo di sintesi delle nanoparticelle e ottimizzare il processo, successivamente si è verificata la presenza delle nanoparticelle nel rivestimento siliceo.

6.1. Nanoparticelle in soluzione acquosa

Nella fase iniziale sono stati preparati i rivestimenti di PHPS contenenti le nanoparticelle che erano disperse in soluzione acquosa.

Tuttavia, sia per l'impossibilità di ottenere un rivestimento omogeneo, dato che si trasformava in polvere, una volta asciugatosi, che per la scarsa miscibilità di nanoparticelle e precursore, non è stato possibile effettuare delle analisi.

6.2. Sintesi nanoparticelle con riduzione fotochimica

È stata verificata l'efficacia della sintesi fotochimica delle nanoparticelle d'argento a partire da nitrato d'argento, acetone (usato come solvente) e fotopolimerizzatore (in rapporto 1:1 con il nitrato) e la successiva unione con PHPS e Durazane per la realizzazione del rivestimento.

Le nanoparticelle sintetizzate con riduzione fotochimica sono state analizzate con analisi UV-visibile.

6.2.1. Spettroscopia UV-visibile

Prima sono stati ottenuti gli spettri UV-vis del rivestimento in Durazane con la soluzione di nanoparticelle sintetizzate in acetone tramite luce UV insieme al precursore ceramico. Il rivestimento si presentava di colore scuro non uniforme. Come si vede in figura 6, non è possibile notare il picco tipico della risonanza plasmonica di superficie delle nanoparticelle d'argento intorno a 420 nm, ma si nota il picco relativo all'acetone intorno a 300nm.



Figura 6: Spettro UV-vis del rivestimento in Durazane su vetro soda-lime con nanoparticelle sintetizzate nel precursore ceramico.

Successivamente è stato analizzato il rivestimento in Durazane con le nanoparticelle d'argento sintetizzate prima di essere mescolate con il polimero. In questo caso è possibile vedere il picco tipico delle nanoparticelle d'argento intorno a 420nm, come mostrato in figura 7. Tuttavia, il rivestimento non risultava omogeneo né stabile.



Figura 7: Spettroscopia UV-vis del rivestimento in Durazane con nanoparticelle sintetizzate prima di essere mescolate.

6.3. Sintesi di nanoparticelle in acido tannico

L'ultimo metodo provato è stata la sintesi delle nanoparticelle in acido tannico. Le nanoparticelle sono state sintetizzate variando le caratteristiche di sintesi per ottenere la resa più elevata; quindi, sono state sottoposte ad analisi UV-vis per verificarne la presenza in soluzione. In un secondo momento si è proceduto a mescolarle con i precursori per depositarle, creando dei rivestimenti su vetri soda-lime e su cotone. I campioni sono stati sottoposti ad analisi UV-vis, XRD ed EDS per confermare la presenza delle nanoparticelle nel rivestimento e ad analisi FESEM per valutarne la morfologia e composizione.

6.3.1. Spettroscopia UV-visibile

Dopo i primi processi di sintesi delle nanoparticelle in acido tannico, le prime verifiche effettuate sono state sull'effettiva presenza delle nanoparticelle dopo il processo di sintesi. Pertanto, si è proceduto ad analizzare i campioni tramite UV-vis, verificando la presenza delle nanoparticelle nelle diverse condizioni. La prima verifica è stata fatta sulle nanoparticelle sintetizzate con soluzione non basica. Come si vede nella figura 8, non è presente alcun picco che possa essere riferito alle nanoparticelle d'argento.



Figura 8: Spettroscopia UV-vis nanoparticelle sintetizzate in pH non basico.

Successivamente si è provveduto a sintetizzare le nanoparticelle regolando il pH ad un valore basico di 8,5. Come si nota dalla figura 9, vi è una netta differenza con lo spettro ottenuto in precedenza. È possibile verificare l'avvenuta sintesi delle nanoparticelle e la loro presenza in soluzione, grazie al loro picco caratteristico intorno a 420 nm.



Figura 9:Spettroscopia UV-vis nanoparticelle sintetizzate a pH basico, con picco a 420nm visibile.

Partendo dal successo della sintesi a pH controllato, è stato deciso di aumentare il tempo di sintesi a 24h, per ottenere un numero più elevato di nanoparticelle d'argento. Come si può vedere nella figura 10, dopo 24h, il picco nella spettroscopia UV diventa ancora più netto e marcato, indicando un aumento nella concentrazione di nanoparticelle d'argento.



Figura 10: Spettroscopia UV-vis nanoparticelle d'argento sintetizzate per 24h.

Inoltre, è stata sperimentata la sintesi per 24h, aumentando la temperatura da 37°C a 80°C. Il risultato dell'analisi UV-vis ha dato riscontro positivo, come visibile in figura 11. Nonostante ciò, le nanoparticelle erano più difficili da estrarre ed utilizzare.



Figura 11: Spettroscopia UV-vis nanoparticelle d'argento sintetizzate a 80°C.

Lo step successivo è stato quello di disperdere le nanoparticelle nell'acetone attraverso tre cicli di lavaggio tramite centrifugazione, per poi poterle mescolare con PHPS e Durazane. È stata valutata la presenza delle nanoparticelle nell'acetone. La loro presenza viene confermata dalla spettroscopia in figura 12.



Figura 12: Spettroscopia UV-visibile nanoparticelle disperse in acetone.

Per confronto sono state anche disperse nell'acetone le nanoparticelle sintetizzate a 80°C, attraverso la stessa procedura. I risultati sono mostrati in figura 13. Come si nota, si ottengono risultati inferiori rispetto alle nanoparticelle sintetizzate a 37°.



Figura 13:Spettroscopia UV-vis nanoparticelle sintetizzate a 80°C, disperse in acetone.

In seguito, entrambe le dispersioni sono state miscelate con 1g di PHPS e Durazane (in rapporto 0,5:1) attraverso l'uso del Vortex e successivamente depositate su vetrini soda-lime con barretta stendifilm per ulteriori analisi. Come si evince dalle figure 14 e 15 le nanoparticelle sintetizzate a 37°C risultano più presenti e meglio distribuite rispetto a quelle sintetizzate a 80°C. Inoltre, dal Durazane si ottiene un rivestimento più omogeneo e stabile rispetto al PHPS. In figura 11 sono stati analizzati i rivestimenti in Durazane ed in figura 12 i rivestimenti in PHPS.



Figura 14:Spettroscopia UV-vis rivestimenti Durazane.



Figura 15:Spettroscopia UV-vis rivestimenti PHPS

Le nanoparticelle miscelate coi polimeri sono state depositate anche a goccia per un ulteriore confronto, come si può vedere in figura 16. Risulta evidente come le nanoparticelle risultino più compatibili con il Durazane che con il PHPS e che la sintesi a 37°C produca risultati migliori.



Figura 16:Spettroscopia UV-vis rivestimenti a goccia.

Visti i risultati, si è deciso che il metodo migliore per la sintesi delle NPs fosse a 37°C per 24h. Dunque, sono stati effettuati nuovi esperimenti per depositare rivestimenti ed analizzarli. In figura 17 viene mostrata la spettroscopia delle NPs sintetizzate ed in figura 18 la spettroscopia dopo la dispersione in acetone.



Figura 17:Spettroscopia UV-vis NPs sintetizzate.



Figura 18:Spettroscopia UV-vis NPs sintetizzate e disperse in acetone.

Quindi si è deciso di mescolarle con le NPs e di depositarle. Tuttavia, le nanoparticelle si disperdevano con difficoltà e ne risultava una quantità modesta all'interno dei rivestimenti, come mostrato dalle spettroscopie in figura 19.



Figura 19:Spettroscopie UV-vis dei rivestimenti con NPs.

Successivamente si è deciso di sintetizzare nuovamente le NPs per poi miscelarle con 1g di precursori cambiando il rapporto da 0,5:1 ad 1:1, per aumentarne la quantità. In figura 20 si possono vedere le spettroscopie delle NPs prima e dopo la dispersione in acetone. I risultati preliminari dimostrano un lieve miglioramento delle quantità rilevate attraverso spettroscopia, come verificabile in figura 21.



Figura 20:Spettroscopie UV-vis NPs prima e dopo dispersione in acetone.



Figura 21: Spettroscopie UV-vis rivestimenti ceramici con NPs.

Quindi si è deciso di provare ad aggiungere alle NPs delle nanocariche di silice (SiO2) per rendere il rivestimento poroso e migliorare la diffusione delle NPs. I risultati preliminari hanno mostrato una migliorata compatibilità e diffusione, responsabili di una presenza più netta dei picchi nelle spettroscopie realizzate. La spettroscopia preliminare realizzata su un rivestimento di Durazane è visibile in figura 22.



Figura 22: Spettroscopia UV-vis rivestimento in Durazane con NPs e nanocariche.

Pertanto, sono stati depositati ulteriori rivestimenti in PHPS e Durazane, sia a goccia che con barretta stendifilm per valutarne la presenza di nanoparticelle d'argento. In figura 23 è possibile vedere la spettroscopia dei rivestimenti in PHPS sia a goccia che con barretta; nel caso della barretta il picco risulta più netto e definito. In figura 24 è rappresentata la spettroscopia dei rivestimenti in Durazane. Da tali rivestimenti si evince un effetto positivo preliminare delle nanocariche sulla distribuzione delle nanoparticelle.



Figura 23:Spettroscopia UV-vis rivestimenti PHPS.



Figura 24:Spettroscopia UV-vis rivestimenti Durazane.

In generale si può affermare che il Durazane dimostra in tutte le prove una migliore compatibilità con le NPs ed una maggiore stabilità del rivestimento.

6.3.2. Diffrazione a raggi X (XRD)

Per confermare l'eventuale presenza di nanoparticelle d'argento nei rivestimenti realizzati sono state eseguite delle analisi XRD sui campioni.

La prima prova è stata effettuata su un campione di Durazane con NPs in rapporto 0,5:1, depositato con barretta stendifilm su vetro soda-lime.



Figura 25: Spettro XRD del rivestimento in Durazane con NPs in rapporto 0,5:1 su vetro soda lime.



Figura 26: Pattern argento nell'analisi XRD.

Analizzando la figura 25, si può notare come non vi siano picchi riconoscibili relativi alle nanoparticelle d'argento che dovrebbero essere riconoscibili per gli angoli 38,12°,44,28° e 77,47°, corrispondenti ai piani della struttura cristallina CFC dell'argento, come mostrato nella figura 26. Al contrario, è ben riconoscibile la presenza della silice nell'intervallo 15-25°.

Questa analisi, insieme alle altre effettuate hanno portato alla decisione di aumentare il contenuto di AgNPs, incrementando il rapporto a 1:1 e provando anche ad utilizzare delle nanocariche.

Quindi è stato analizzato un campione vetro soda-lime con rivestimento di Durazane con AgNPs in rapporto 1:1 e nanocariche.



Figura 27: Spettro XRD del rivestimento in Durazane con NPs in rapporto 1:1, con aggiunta di nanocariche, su vetro soda lime.



Figura 28: Picchi riscontrati relativi all'argento nello spettro XRD.

Com'è possibile notare nelle figure 27 e 28, a differenza dello spettro XRD ottenuto dall'analisi precedente, si notano chiaramente dei picchi relativi all'argento. In particolare, oltre alla zona relativa alla silice, è possibile notare la presenza di due picchi non trascurabili a 38° e 44°, che testimoniano la presenza di clusters d'argento. La differenza nella morfologia degli spettri è ben visibile.

6.3.3. Spettroscopia per dispersione di energia (EDS)

È stata, altresì, effettuata l'analisi elementale di campioni con NPs e di alcuni rivestimenti depositati su vetro soda-lime e cotone attraverso EDS per verificare la presenza di argento nel rivestimento. È stata effettuata un'analisi su un campione in vetro rivestito con NPs ricavate attraverso la reazione con l'acido tannico. In particolare, si è voluto verificare che l'aumento dei tempi di reazione a 24h, con temperatura di 37°C, producesse un aumento delle NPs presenti, confermando, così, i dati ottenuti con la spettroscopia UV-vis. Come si nota in figura 29, il picco relativo all'Ag risulta chiaramente visibile nell'immagine. Il rame presente è dovuto al campione utilizzato, necessario per questo tipo di analisi. In tabella 9 sono riportati gli elementi principali riscontrati.





Figura 29 Spettroscopia EDS campione vetro soda lime.

Tabella 9: Percentuale elementi rilevati da analisi EDS.

Elemento	Weight %	Atomic %
С	32,93	70,81
0	8,57	13,83
Ag	53,23	12,74
Cu	4,15	1,69

In seguito, è stata effettuata l'analisi EDS anche dei rivestimenti di Durazane ottenuti su vetri soda lime e cotone per ottenere l'analisi qualitativa delle specie presenti. Sono stati valutati i rivestimenti su vetri depositati attraverso barretta stendifilm. In figura 30 si possono notare la presenza sia di silicio (Si), che di Ag, in quantità modeste, in quanto lo strumento analizza soltanto le porzioni più superficiali del rivestimento. In tabella 10 sono riportati gli elementi rilevati.





Figura 30: Spettroscopia EDS rivestimento Durazane su soda lime.

Elemento	Weight %	Atomic %
С	32,14 %	45,00 %
0	32,32 %	33,98 %
Si	34,94 %	20,93 %
Ag	0,60 %	0,09 %

Tabella 10: Elementi rilevati da analisi EDS.

Nella figura 31 è riportata l'analisi EDS di un rivestimento su un substrato di cotone. La tabella 11 mostra gli elementi rilevati.



Electron Image 1



Figura 31: Spettroscopia EDS rivestimento Durazane su cotone.

Elemento	Weight %	Atomic %
С	32,14 %	64,08 %
0	32,32 %	32,88 %
Si	34,94 %	2,69 %
Ag	1,25 %	0,17 %

Tabella 11: Elementi rilevati da analisi EDS.

Tuttavia, l'EDS non è lo strumento ideale per un'analisi quantitativa, quanto piuttosto per un'analisi qualitativa iniziale per valutare l'eventuale presenza di Ag nel coating. Inoltre, il sistema di deposizione e la struttura dei rivestimenti ottenuti non consentono di avere risultati molto validi per questo tipo di analisi, che analizza soprattutto i primi strati superficiali; pertanto, si è deciso di proseguire con altre analisi per ottenere dati più accurati.

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

Per verificare la formazione di nanoclusters d'argento sui campioni e per osservare le morfologie dei rivestimenti ottenuti dai precursori polimerici depositati su campioni vetro soda-lime e cotone e è stata impiegata la tecnica FESEM. Vengono riportati i vari rivestimenti ottenuti.

Le prime analisi sono state effettuate su campioni di carbonio su cui sono state depositate a goccia le NPs sintetizzate con acido tannico per 24h a 37°C.



Figura 32: Micrografia FESEM NPs depositate su campione di carbonio con ingrandimento 250.00 kX.



Figura 33: Micrografia FESEM NPs depositate su campione di carbonio con ingrandimento 100.00 kX.



Figura 34: Micrografia FESEM NPs depositate su campione di carbonio con ingrandimento 100.00 kX.

Come si può notare dalle figure 32 e 33 sono presenti diversi clusters di NPs di argento dal diametro medio sull'ordine delle decine di nanometri. Sono anche presenti clusters più grandi di dimensione dell'ordine delle centinaia di nanometri, come in figura 34.

Successivamente, si è passati alle analisi dei rivestimenti in Durazane, depositati a goccia su vetri soda-lime, in quanto sono risultati i più stabili e i più promettenti.

I primi rivestimenti analizzati sono quelli con rapporto 0,5:1 tra soluzione di NPs in acetone e precursore ceramico.



Figura 35: Micrografia FESEM rivestimento di Durazane a goccia su vetro soda lime a diversi ingrandimenti: a) 500 X, b) 100 kX, c) 500 kX, d) 25.00 kX, e) 75.00 kX, f) 150.00 kX.



Figura 36: Micrografia FESEM rivestimento di Durazane a goccia su vetro soda lime a diversi ingrandimenti: a) 10.00 kX, b) 75.00 kX, c) 25.00 kX, d) 150.00 kX.

Nelle figure 35 e 36 si può notare la struttura compatta, omogenea e priva di porosità del Durazane, con la presenza in superficie di possibili clusters di argento della dimensione dell'ordine delle decine di nanometri. Nella figura 37 si può notare il dettaglio della struttura ottenuto in cross-section.



Figura 37: Micrografia FESEM rivestimento di Durazane a goccia su vetro soda lime in cross-section a 501X.

Lo step successivo è stato l'analisi dei rivestimenti di Durazane e PHPS su cotone e vetro soda-lime con le NPs miscelate in rapporto 1:1, per valutare se fosse aumentata la quantità di argento, di conseguenza, ci fosse una presenza maggiore di clusters.



Figura 38: Micrografia FESEM rivestimento di Durazane a goccia su cotone con AgNPs in rapporto 1:1, a diversi ingrandimenti: a) 100 X, b) 5.00 kX, c) 120.42 kX.



Figura 39: Micrografia FESEM rivestimento di PHPS a goccia su cotone con AgNPs in rapporto 1:1, a diversi ingrandimenti: a) 100 X, b) 5.00 kX.

Dalle figure 38 e 39 è possibile notare un incremento dei clusters presenti rispetto ai campioni analizzati in precedenza.

Infine, vengono analizzati i rivestimenti di Durazane con le NPs in rapporto 1:1 e l'aggiunta di nanocariche su cotone e vetro soda-lime, per vedere se la loro presenza aumenti la porosità dei rivestimenti e, dunque, porti ad un maggior numero di clusters d'argento.



Figura 40: Micrografia FESEM rivestimento di Durazane a goccia su cotone con AgNPs in rapporto 1:1 e nanocariche di silice, a diversi ingrandimenti: a) 100 X, b) 5.00 kX, c) 35.00 kX.



Figura 41:Micrografia FESEM rivestimento di Durazane con barretta stendifilm su vetro soda-lime con AgNPs in rapporto 1:1 e nanocariche di silice, a diversi ingrandimenti: a) 10.00 kX, b) 100.00 kX, c) 150.00 kX.

Dalle figure 40 e 41 si nota la maggiore porosità del rivestimento e una presenza incrementata di clusters. Tuttavia, nei rivestimenti ottenuti, proprio per la presenza delle nanocariche di silice, diventa difficile distinguere la presenza di AgNPs.

6.3.5. Test dell'alone di inibizione (Halo Test)

Le caratteristiche antibatteriche dei substrati, dovuti alle nanoparticelle, sono state analizzate attraverso l'analisi dell'alone di inibizione nei confronti del ceppo batterico di S. Epidermidis.

Le prove sono state condotte sui campioni di vetro soda-lime e cotone, su cui sono stati depositati i rivestimenti di Durazane e PHPS con le AgNPs, in rapporto 1:1, con e senza le nanocariche.



Figura 42: Test dell'alone di inibizione dei rivestimenti su vetro soda lime e cotone: a) AgNPs con PHPS, b) AgNPs con nanosilice e Durazane, c) AgNPs con Durazane, d) AgNPs con Durazane, PHPS e Durazane con nanosilice.

Come si può evincere dalla figura 42, nessuno dei campioni ha dimostrato attività antibatterica sul ceppo selezionato, né su cotone a goccia, né su vetro soda-lime, con barretta stendifilm. La crescita batterica è stata valutata dopo 24, 48 e 72h in incubatore a 35°C. Si può affermare che il rivestimento non abbia azione antibatterica rilevante.

I motivi più plausibili sono da cercare nella struttura caratteristica dei film di silice, che sono densi e poco porosi, non lasciando, quindi, modo alle nanoparticelle di essere rilasciate nell'ambiente circostante.

7. Conclusioni

L'obiettivo di questa tesi è stato lo sviluppo di un rivestimento composito nanostrutturato, a partire da precursori polimerici, quali PHPS e Durazane, con nanoparticelle d'argento disperse nella matrice di silice. Il fine era la creazione di un rivestimento con proprietà antibatteriche, dovute al rilascio di ioni Ag+, utilizzabile su diversi substrati, ragione per cui le deposizioni sono state realizzate su cotone e vetro soda-lime.

La prima fase è stata la miscelazione di nanoparticelle, già sintetizzate, disperse in una soluzione acquosa con citrato di sodio, con i precursori polimerici per provare ad ottenere un rivestimento. Tuttavia, tale operazione si è rivelata complessa e poco realizzabile, vista la scarsa compatibilità tra le due soluzioni. Pertanto, si è provato a disperdere le nanoparticelle d'argento nell'acetone, estraendole dalla soluzione iniziale, ma ciò non ha consentito di ottenere un numero di particelle d'argento sufficienti e rivestimenti non erano omogenei.

Di conseguenza si è deciso di sintetizzare le nanoparticelle attraverso sintesi fotochimica con luce UV a partire da nitrato d'argento. Le nanoparticelle sono state sintetizzate diverse volte, in modo da ottimizzare i parametri di sintesi, in seguito sono state mescolate con i precursori polimerici. Tramite le analisi UV-vis si è visto come la scelta migliore fosse quella di miscelare 0,04g di nitrato d'argento con pari quantità di fotopolimerizzatore e 16g di acetone, per poi esporli alla luce UV per 30 minuti. Le analisi hanno confermato la riuscita della sintesi delle nanoparticelle. Nonostante ciò, è rimasta la difficoltà di miscelazione coi precursori, nei vari rapporti provati (1, 2), e la loro deposizione sia a goccia che attraverso barretta stendifilm. Dunque, si è anche provato a sintetizzare le nanoparticelle direttamente coi precursori, attraverso lo stesso processo, ma non sono stati ottenuti risultati migliori. Infatti, i rivestimenti risultavano fragili, non uniformi e non evidenziavano la presenza di elevate quantità di NPs. Le analisi UV-vis hanno confermato tali conclusioni.

Ciò ha portato a provare un'ulteriore strada, sintetizzando le nanoparticelle con l'acido tannico, con l'obiettivo di ottenere quantità più elevate, per poi miscelarle con i precursori.

La prima fase è stata dedicata alla scelta dei parametri migliori di sintesi, testando varie opzioni e avvalendosi delle analisi spettroscopiche UV-visibile, XRD, EDS e della miscroscopia FESEM. I parametri migliori per la sintesi sono stati scelti con la sintesi di NPs da nitrato d'argento e acido tannico per tempi di 24h a temperatura di 37°C, in soluzione basica ottenuta con soluzioni tampone. Le analisi effettuate hanno mostrato che questa procedura fosse la migliore per ottenere il numero maggiore di nanoparticelle. Quindi, si è passati alla realizzazione dei rivestimenti, disperdendo le nanoparticelle in acetone e mescolandole con i precursori. SI è partiti da un rapporto di 0,5:1 per poi arrivare al rapporto di 1:1, necessario per ottenere una quantità di clusters d'argento rilevabile nei rivestimenti. Soprattutto grazie all'analisi XRD ed EDS, infatti, era stata notata la bassa quantità di nanoclusters nei rivestimenti. Tali rivestimenti sono stati realizzati sia a goccia, che con barretta stendifilm per valutare l'efficacia della deposizione. Infine, individuato il problema della bassa porosità dei rivestimenti, grazie alle microscopie FESEM, si è provveduto ad aumentare la porosità di clusters rilevati, ma tramite la microscopia FESEM si notava una difficoltà nell'individuazione dei clusters, viste le dimensioni simili delle nanocariche.

L'ultimo passaggio è stato eseguire i test per valutare l'azione antibatterica dei rivestimenti ottenuti. Tali test non hanno dato riscontro positivo nell'inibire la formazione di colonie da parte del batterio S. Epidermidis.

La sintesi delle nanoparticelle con l'acido tannico si è rivelata un processo molto semplice da eseguire a temperatura ambiente e non necessita di condizioni particolari o attrezzatura sofisticata, in più l'acido tannico, a differenza di altri reagenti, non è inquinante. La sintesi ha dato risultati molto promettenti. Tuttavia, è stata riscontrata la difficoltà della dispersione delle nanoparticelle nella matrice silicea. Infatti, la mancata riuscita dei test antibatterici è probabilmente correlata alla bassa porosità e all'elevata densità dei coating in silice, che non permette il rilascio di ioni Ag+, o alla concentrazione insufficiente di argento nel rivestimento.

Le possibili azioni future potrebbero concentrarsi sull'ulteriore aumento della quantità di argento nei rivestimenti, partendo dalla sintesi riuscita attraverso l'acido tannico.

Ad ogni modo, la priorità dovrebbe essere verificare la capacità del rivestimento di rilasciare ioni argento, provando ad aumentare la porosità del rivestimento, per valutare l'idoneità del rivestimento al rilascio e alla diffusione di nanoparticelle attraverso la matrice silicea.

Pertanto, partendo dal successo della sintesi delle nanoparticelle con l'acido tannico realizzata in questo studio, sono necessarie ulteriori indagini in merito ai precursori e alle caratteristiche del rivestimento ottenibile.

8. Bibliografia

[1] Bruna T., Maldonado-Bravo F., Jara P., Caro N. Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. Int J Mol Sci. 2021 Jul 4;22(13):7202.

[2] Agrawal S; Bhatt M.; Rai S. K.; Bhatt A.; Dangwal P.; and Kumar Agrawal P. K. Silver nanoparticles and its potential applications: A review. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2018; 7(2): 930-937.

[3] Silva L.P., Silveira A.P., Bonatto C.C., Reis I.G., Milreu P.V. Nanostructures for Antimicrobial Therapy: Nanostructures in Therapeutic Medicine Series. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands: 2017. Silver Nanoparticles as Antimicrobial Agents: Past, Present, and Future; pp. 577–596.

[4] Baker C., Pradhan A., Pakstis L., Pochan Darrin J., Shah S. Ismat. Synthesis and Antibacterial Properties of Silver Nanoparticles. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, Volume 5, Number 2, February 2005, pp. 244-249(6).

[5] Yaqoob A.A., Ahmad H., Parveen T., Ahmad A., Oves M., Ismail I.M.I., Qari H.A., Umar K., Mohamad Ibrahim M.N. Recent Advances in Metal Decorated Nanomaterials and Their Various Biological Applications: A Review. Front. Chem. 2020; 8:341.

[6] Siddiqi K.S., Husen A., Rao R.A.K. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. J. Nanobiotechnol. 2018; 16:1–28.

[7] Yaqoob A.A., Umar K., Ibrahim M.N.M. Silver nanoparticles: Various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—A review. Appl. Nanosci. 2020; 10:1369–1378.

[8] Ferraris M., Perero S., Miola M., Ferraris S., Gautier G., Maina G., Fucale G., Verné E. Chemical, Mechanical, and Antibacterial Properties of Silver Nanocluster–Silica Composite Coatings Obtained by Sputtering. Advanced Engineering Materials 2010, 12, No. 7.

[9] Ferraris M., Pereroa S., Miola M., Ferraris S., Verné E., Morgiel J. Silver nanocluster–silica composite coatings with antibacterial properties. Materials Chemistry and Physics 120 (2010) 123–126.

[10] Yin IX., Zhang J., Zhao IS., Mei ML., Li Q., Chu CH. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. Int J. Nanomedicine. 2020; 15:2555-2562.

[11] Caruso, F. Nanoengineering of particle surfaces Adv. Mater. 2001, 13 (1) 11–22.

[12] Lin S., Cheng Y., Liu J., Wiesner M. R. Polymeric Coatings on Silver Nanoparticles Hinder Autoaggregation but Enhance Attachment to Uncoated Surfaces. Langmuir 2012, 28, 9, 4178–4186.

[13] Kratochvíl, J.; Kuzminova, A.; Kylián, O. State-of-the-Art, and Perspectives of, Silver/Plasma Polymer Antibacterial Nanocomposites. Antibiotics 2018, 7, 78.

[14] Machková A., Vaňková E., Obrová K., Fürhacker P. Silver nanoparticles with plasma-polymerized hexamethyldisiloxane coating on 3D printed substrates are non-cytotoxic and effective against respiratory pathogens. Front. Microbiol., 10 August 2023. Sec. Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy Volume 14 – 2023.

[15] Kratochvíl, J.; Kuzminova, A.; Kylián, O. State-of-the-Art, and Perspectives of, Silver/Plasma Polymer Antibacterial Nanocomposites. Antibiotics 2018, 7, 78.

[16] Plé, J.; Dabert, M.; Lecoq, H.; Hellé, S.; Ploux, L.; Balan, L. Beilstein J. Nanotechnol. 2023, 14, 95– 109.

[17] Calderon Velasco S., Cavaleiro A., Carvalho S. Functional properties of ceramic-Ag nanocomposite coatings produced by magnetron sputtering. Progress in Materials Science 84 (2016) 158–191.

[18] Manninen N. K.; Ribeiro F.; Escudeiro A.; Polcar T.; Carvalho S.; Cavaleiro A. Influence of Ag content on mechanical and tribological behavior of DLC coatings. Surf. Coat. Technol. 2013; 232:440–6.

[19] Köstenbauer H.; Fontalvo G.; Mitterer C.; Keckes J. Tribological properties of TiN/Ag nanocomposite coatings. Tribol. Lett. 2008 ;30 :53–60.

[20] Manninen N. K. et al 2011 J. Phys. D : Appl. Phys. 44 375501

[21] Mulligan C.P.; Gall D. CrN–Ag self-lubric. hard coatings. Surf. Coat. Technol. 2005; 200:1495–500.

[22] Calderon V.S.; Oliveira J.C.; Evaristo M.; Cavaleiro A.; Carvalho S. Prediction of optimized composition for enhanced mechanical and electrochemical response of Zr–C–N–Ag coatings for medical devices. Appl. Surf. Sci. 2014; 320:570–80.

[23] Siozios A.; Zoubos H.; Pliatsikas N.; Koutsogeorgis D.C.; Vourlias G.; Pavlidou E.; et al. Growth and annealing strategies to control the microstructure of AIN: Ag nanocomposite films for plasmonic applications. Surf Coat Technol 2014; 255:28–36.

[24] Smith J. R.; Lamprou D. A.; Larson C.; Upson S.J. (2022) Biomedical applications of polymer and ceramic coatings: a review of recent developments, Transactions of the IMF, 100:1, 25-35

[25] Irfann M.; Perero S.; Miola M.; Maina G.; Ferri A.; Ferraris M.; Balagna C. Antimicrobial functionalization of cotton fabric with silver nanoclusters/silica composite coating via RF co-sputtering technique. 2017.

[26] Balagna C. et al. Characterization of antibacterical silver nanocluster/silica composite coating on high performance Kevlar textile. Surface and Coatings Technology 321 (2017); 438-447.

[27] Wang W. Y.; et al. Rapid Conversion of Perhydropolysilazane into Thin Silica Coating at Low Temperature. Chinese J. Polym. Sci. 2023,41, 1198-1205.

[28] Bauer F.; Decker U.; Dierdorf A. Preparation of moisture curable polysilazane coatings. Progress in Organic Coatings 53 (2005); 183-190.

[29] Kubo T.; Tadaoka E.; Kozuka H. Formation of sílica coating films from spin-om polysilazane at room temperature and their stability in hot water. J. Mater. Res., Vol 19., No. 2, Feb 2004.

[30] Tribology of Natural Fiber Polymer Composites (Second Edition), 2021.

[31] Kaabipour S.; Hemmati S. Green, sustainable, and room-temperature synthesis of silver nanowires using tannic acid – Kinetic and parametric study. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. Volume 641, 20 May 2022, 128495.