



**Politecnico  
di Torino**

# Politecnico di Torino

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

a.a. 2023/2024

Sessione di Laurea Marzo 2024

## **Sviluppo di rivestimenti compositi a partire da polimeri pre-ceramici funzionalizzati con nanoparticelle inorganiche per potenziali applicazioni antibatteriche**

Relatori:

Cristina Balagna  
Francesca Gattucci

Candidato:

Martina Tetti  
291947

## Sommario

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha riconosciuto la resistenza agli antibiotici come una delle principali minacce globali alla salute pubblica, sviluppata da ormai numerosi ceppi di batteri, virus e funghi. Lo sviluppo di trattamenti e terapie antivirali per contrastare le infezioni causate dai cosiddetti *superbugs*, non riesce a stare al passo con l'evoluzione di questi agenti patogeni, spesso accelerata da un uso eccessivo e improprio di antibiotici, avvenuto nel corso degli ultimi decenni. Contemporaneamente, i nanomateriali hanno acquistato un ruolo sempre più importante dal punto di vista delle strategie antivirali e nella realizzazione di composti o superfici antimicrobiche. Tra di essi, numerosi studi hanno evidenziato il forte potere antibatterico e antivirale delle nanoparticelle d'argento.

Questo lavoro di tesi mira a sviluppare e studiare un rivestimento composito antibatterico ottenuto a partire da un precursore polimerico della silice, il Durazane 1800, funzionalizzato con nanoparticelle di silice ( $n\text{SiO}_2$ ) decorate con nanoparticelle di argento (AgNPs).

Le prime fasi del lavoro si sono concentrate sulla sintesi delle nanoparticelle di silice decorate con AgNPs sfruttando un processo sol-gel in ambiente basico a partire da tetraetile ortosilicato (TEOS), un tipico agente reticolante nei polimeri di silicone e nitrato di argento ( $\text{AgNO}_3$ ).

Le nanopolveri così ottenute sono state analizzate da un punto di vista chimico-fisico e antibatterico per confermare la formazione delle nanoparticelle sia di silice che di Ag.

La seconda metà della tesi si è focalizzata sullo sviluppo del rivestimento composito. Il precursore della silice Durazane 1800 è stato miscelato con le nanopolveri di silice decorate con AgNPs. La soluzione è stata depositata su un substrato di vetro e lasciato sotto cappa a temperatura ambiente affinché il precursore reagisse fino alla sua trasformazione in silice.

I rivestimenti così ottenuti sono stati studiati tramite tecniche di analisi morfologica, composizionale e test antibatterici. Mentre le prime due hanno rivelato che anche il coating era caratterizzato dalla presenza di  $n\text{SiO}_2$  e AgNPs, i risultati del test antibatterico non hanno mostrato un evidente effetto.

Ulteriori studi e indagini sono necessari per migliorare la deposizioni dei rivestimenti in modo da generare l'effetto antibatterico desiderato, per valutare il comportamento del coating su altri tipi di substrato e per stabilire se le proprietà strutturali del rivestimento impediscono agli ioni argento di diffondere attraverso la matrice in cui sono dispersi.

## Abstract

The World Health Organization (WHO) has recognized antibiotic resistance as one of the major global threats to public health. This resistance has developed in numerous strains of bacteria, viruses, and fungi. Unfortunately, the development of antiviral treatments and therapies to combat infections caused by these so-called “superbugs” is struggling to keep pace with the evolution of these pathogens, often accelerated by the excessive and improper use of antibiotics over the last few decades. Simultaneously, nanomaterials have gained increasing importance in terms of antiviral strategies and in the creation of antimicrobial compounds or surfaces. Among these materials, numerous studies have highlighted the strong antibacterial and antiviral properties of silver nanoparticles.

The focus of this thesis work is to develop and study an antibacterial composite coating derived from a silica polymer precursor, Durazane 1800, which is functionalized with silica nanoparticles ( $n\text{SiO}_2$ ) decorated with silver nanoparticles (AgNPs).

The initial stages of the work focused on the synthesis of silica nanoparticles decorated with AgNPs using a sol-gel process in a basic environment starting from tetraethyl orthosilicate (TEOS), a typical cross-linking agent in silicone polymers, and silver nitrate ( $\text{AgNO}_3$ ).

The resulting nanopowders were chemically and physically analyzed to confirm the formation of both silica and silver nanoparticles.

The second half of the thesis focused on developing the composite coating. The Durazane 1800 silica precursor was mixed with the silica nanopowders decorated with AgNPs. The solution was deposited onto a glass substrate and left under a hood at room temperature until the precursor transformed into silica. The coatings obtained were studied using morphological and compositional analysis techniques, and antibacterial tests. While the first two methods revealed that the coating was also characterized by the presence of  $n\text{SiO}_2$  and AgNPs, the results of the antibacterial test did not show a clear effect.

Further studies and investigations are necessary to improve the deposition of the coatings to generate the desired antibacterial effect, to evaluate the behavior of the coating on different types of substrates and to determine whether the structural properties of the coating prevent the diffusion of silver ions from diffusing through the matrix in which they are dispersed.



# Indice

1	Le contaminazioni batteriche: il problema della resistenza agli antibiotici.....	6
2	Le Nanoparticelle d'Argento .....	11
2.1	Proprietà antibatteriche e Meccanismi d'azione .....	11
2.2	Applicazioni delle AgNPs .....	15
3	Rivestimenti Compositi con Nanoparticelle d'Argento.....	20
3.1	Rivestimenti compositi a partire da polimeri pre-ceramici .....	21
4	Materiali e Metodi.....	25
4.1	Nanoparticelle di SiO <sub>2</sub> decorate con AgNPs .....	25
4.1.1	Sintesi delle nanoparticelle di silice (nSiO <sub>2</sub> ).....	25
4.1.2	Sintesi delle nanoparticelle di silice funzionalizzate con AgNPs (nSiO <sub>2</sub> -AgNPs) 26	
4.2	Rivestimenti di silice funzionalizzati da nSiO <sub>2</sub> -AgNPs.....	27
4.2.1	Durazane 1800.....	28
4.2.2	Realizzazione dei rivestimenti .....	28
4.3	Tecniche di caratterizzazione .....	29
4.4	Test Antibatterici .....	29
5	Risultati.....	32
5.1	Nanoparticelle di silice decorate con AgNPs .....	32
5.1.1	Analisi morfologica e composizionale.....	33
5.1.2	Analisi strutturale .....	36
5.1.3	Test Antibatterici .....	37
5.2	Rivestimenti di silice funzionalizzati con nSiO <sub>2</sub> -AgNPs.....	38
5.2.1	Analisi morfologica e composizionale.....	39
5.2.2	Analisi strutturale .....	42
5.2.3	Test Antibatterici .....	43
6	Conclusioni e Sviluppi Futuri .....	46
	Bibliografia.....	48

# 1 Le contaminazioni batteriche: il problema della resistenza agli antibiotici

A partire dalla scoperta della penicillina nel 1928, il progresso scientifico ha portato la salute globale a migliorare in modo significativo negli anni. Allo stesso tempo, in questi ultimi decenni si è osservato che organismi come i batteri, sono diventati sempre più resistenti agli antibiotici [1]. La resistenza antimicrobica (*Antimicrobial Resistance* AMR) si verifica quando i microrganismi non rispondono più agli antibiotici utilizzati come trattamento delle infezioni da essi causate e ai quali erano precedentemente sensibili [2]. Nel momento in cui batteri, virus o più in generale, i microbi, sviluppano una resistenza ai farmaci, le conseguenti infezioni diventano più difficili o impossibili da trattare, accompagnate dal rischio di diffusione di gravi malattie infettive e di morte [2]. La resistenza ai farmaci antimicrobici, nello specifico agli antibiotici, si sta verificando in tutte le parti del mondo [3]. Nonostante la resistenza agli antibiotici sia un evento del tutto naturale, questo fenomeno è accelerato dall'uso eccessivo e improprio di antibiotici; inoltre, lo sviluppo tecnologico ha permesso di rendere più veloci e fruibili gli spostamenti tra paesi diversi e l'aumento dei viaggi intercontinentali ha contribuito a rafforzare la resistenza ai farmaci di questi agenti patogeni [4].

Le infezioni causate da microrganismi resistenti rendono le conseguenti malattie più lunghe, con aumenti della mortalità (soprattutto tra gli anziani), con degenze in ospedale prolungate e con un notevole aumento dei costi, che colpisce molti settori e ha un forte impatto complessivo nella società, in quanto causa forti perdite economiche, conseguenti alla ridotta produttività non solo dei pazienti ospedalieri, ma anche degli animali, con maggiori costi di cura [3]. Infatti, in passato le infezioni batteriche erano associate principalmente agli ospedali e alle strutture assistenziali, ma negli ultimi decenni queste si sono diffuse nella comunità più ampia [4]. Inoltre, nel tempo di un decennio (tra il 2000 e il 2010), il consumo umano di antibiotici nel mondo è aumentato di quasi il 40%, arrivando ad un aumento del 65% nel 2015 [1]. Oltre a ciò, l'uso massiccio degli antibiotici in agricoltura, soprattutto nel bestiame, è un dato preoccupante. Si stima che, solo sul bestiame siano state utilizzate in tutto il mondo circa 63 mila tonnellate di antibiotici (probabilmente più del consumo totale umano) e solo negli Stati Uniti, oltre il 70% degli antibiotici (in peso) viene venduto per uso animale rispetto a quello venduto per uso umano [4].

La resistenza agli antibiotici di ceppi di batteri, virus e funghi (chiamati in generale anche *superbugs*) è considerata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) come una delle 10 principali minacce globali alla salute pubblica che l'umanità dovrà affrontare [5]. L'OMS stima che nel 2019, le infezioni resistenti ai farmaci abbiano contribuito a causare 4,95 milioni di decessi a livello globale e si pensa che possano raggiungere i 10 milioni all'anno entro il 2050, se non si interviene drasticamente [4]. La pandemia di COVID-19 ha mostrato alla comunità globale l'inadeguata aderenza alle misure standard di controllo delle infezioni con l'aumento della domanda di accesso all'assistenza sanitaria e di spazi ospedalieri di degenza durante l'emergenza pandemica, insieme alla fornitura disorganizzata dei servizi [5].

I batteri sono organismi complessi che ricevono e trasferiscono il DNA ad alta frequenza e ad un costo ridotto o nullo, e l'uso di un antibiotico ha un impatto minimo sul trasferimento del DNA batterico; allo stesso tempo la sua presenza può invece attivare meccanismi resistenti di nuova acquisizione [6]. Si possono infatti distinguere due tipologie di resistenza: naturale e acquisita [7]. La prima è relativa a quei ceppi di batteri che sono di natura resistenti a delle precise classi di antibiotici, ancor prima che questi vengano prescritti e utilizzati come terapia

(resistenza naturale intrinseca) [8]. La resistenza naturale nei batteri può allo stesso tempo essere indotta dall'attivazione di geni a seguito dell'esposizione a determinate quantità di antibiotici (resistenza naturale indotta) [9].

Per quanto riguarda invece il secondo tipo di resistenza (resistenza acquisita), si distinguono due processi: il trasferimento genico verticale e il trasferimento genico orizzontale. Entrambi sono in grado di indurre una mutazione durante la replicazione del DNA cellulare, quest'ultima verrà trasferita alle cellule figlie e così via. In Fig.1 è mostrato come i ceppi mutanti trasferiscono la mutazione alla progenie attraverso la via verticale [7]. Diversamente, il trasferimento orizzontale è suddiviso in tre fasi: trasformazione, trasduzione e coniugazione (Fig. 1). Nella prima fase, il batterio ricevente assorbe il DNA extracellulare del donatore; nella trasduzione, il DNA del donatore infetta il batterio ricevente e infine nella coniugazione, il batterio donatore trasferisce il DNA mutato al batterio ricevente mediante un accoppiamento [10]. In questo modo il gene resistente viene trasferito dal batterio resistente agli antibiotici a quello inizialmente non resistente.

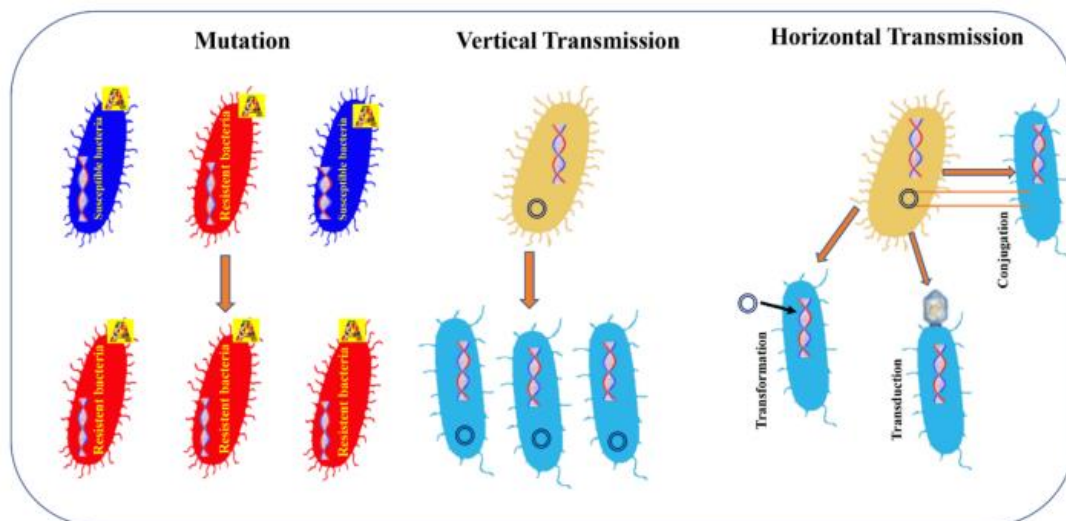


Figura 1: Schema dei processi di trasferimento genico verticale e orizzontale [2].

Un altro aspetto molto importante è che, ancor prima che l'uomo iniziasse ad abusare degli antibiotici, numerosi studi clinici hanno dimostrato chiaramente che le terapie antibiotiche e antimicrobiche da sole, sono spesso insufficienti per curare completamente le cosiddette infezioni associate alla formazione del biofilm [11].

I batteri sono in grado di produrre una propria matrice tridimensionale, espellendo diverse sostanze polimeriche, in grado di legarsi saldamente alla superficie sottostante; questa matrice, nel corso del tempo, raggiunge una massa critica e induce una reazione infiammatoria [12].

La formazione del biofilm si sviluppa in quattro fasi principali: attaccamento reversibile, attaccamento irreversibile, crescita e differenziazione, e disseminazione (Fig. 2) [13].

All'interno del biofilm, ai batteri vengono conferiti numerosi vantaggi di sopravvivenza. Innanzitutto, i batteri al suo interno sono più protetti dalle cellule del sistema immunitario dell'ospite e ciò può innescare una risposta infiammatoria più intensa [14]; questi forti stress a cui è sottoposto il biofilm, spesso vanno a vantaggio dei batteri in quanto promuovono la lisi delle cellule dell'organismo ospite e il successivo rilascio di nutrienti per i microbi [15].

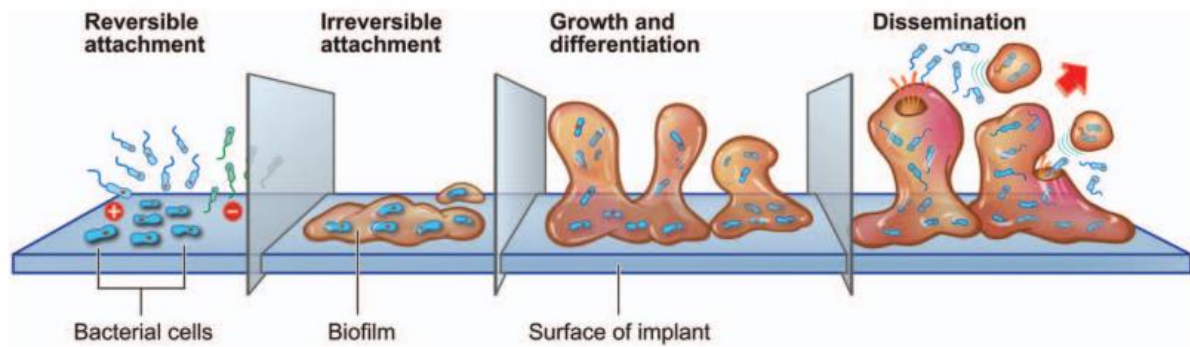


Figura 2: Fasi dello sviluppo del biofilm batterico [11].

I biofilm proteggono i microrganismi dai cambiamenti ambientali e impediscono l'accesso, non solo delle cellule immunitarie, ma anche degli antibiotici [16]. Infatti, la resistenza agli antibiotici è causata da una serie di fattori, tra cui la scarsa o inefficace penetrazione e diffusione degli antibiotici nel biofilm. Un'altra teoria è che, l'adesione ai polisaccaridi e alle proteine della matrice renda gli antibiotici biologicamente più inattivi o che non riescano a raggiungere le concentrazioni necessarie per un'efficace eradicazione batterica [17]. Inoltre, poiché spesso i componenti del biofilm continuano ad esistere anche dopo l'inattivazione o la morte dei batteri, la matrice residua potrebbe rendere più facile la colonizzazione di altri batteri in futuro, con gravi implicazioni [18].

Esistono anche altri vantaggi legati al metabolismo cooperativo dei batteri basato su complessi segnali intercellulari.

Il quorum sensing (QS) è la principale modalità di comunicazione di una popolazione di batteri, che regolano l'espressione genica in risposta a certi stimoli o segnali. I batteri sensibili al QS producono e rilasciano molecole chiamate "autoinduttori", la cui concentrazione aumenta in funzione della densità cellulare [19]. I geni coinvolti nella segnalazione del quorum, inoltre, vengono sfruttati per regolare la formazione del biofilm [20].

La composizione dei biofilm e la capacità comunicativa di alcuni ceppi di batteri è un ulteriore problematica che si aggiunge a quelle precedentemente citate nel debellare, attraverso l'uso di farmaci antibiotici, queste particolari patologie.

Per i pazienti ospedalizzati, l'infezione da ceppi batterici multi-resistenti rappresenta un problema serio [2]. Tra i numerosi agenti patogeni che sono coinvolti nelle infezioni croniche, i più noti sono lo *Staphylococcus aureus*, il batterio *Klebsiella pneumoniae* e infine l'*Escherichia coli*.

Lo *S. aureus* è un batterio Gram-positivo che può provocare sia lievi infezioni sia infezioni pericolose per la vita del paziente. La patologia associata può interessare la pelle o i tessuti molli, può causare endocardite batterica ed infezioni pleuropolmonari [21]. Questo microrganismo è altamente contagioso e capace di indurre infezioni croniche di lunga durata. Secondo l'OMS, la resistenza agli antibiotici dello *S. aureus* rappresenta una grave minaccia per la salute umana [3]. Diversi suoi ceppi sono stati riconosciuti come i principali agenti patogeni delle infezioni acquisite in ospedale e sono considerati agenti ad alta priorità poiché, senza soluzioni terapeutiche e di contenimento efficaci, potrebbero causare infezioni gravi impossibili da controllare in tutto il mondo [22]. Le malattie associate, essendo generalmente difficili da trattare, negli anni hanno portato all'utilizzo di diverse classi di antibiotici; tutto ciò ha contribuito alla comparsa e alla diffusione di nuove varianti [23].



Il batterio *K. Pneumoniae* (Gram-negativo) può causare diversi tipi di infezioni ospedaliere o acquisite in normali ambienti comuni, tra cui quelle del tratto urinario, la polmonite, l'ascesso epatico, le infezioni post-chirurgia e le infezioni del flusso sanguigno, quest'ultime soprattutto nei pazienti immunocompromessi [24]. Poiché questi batteri non si diffondono nell'aria, per contrarre un'infezione da *Klebsiella* è necessario il contatto da persona a persona [25]. Come per lo *S. aureus*, anche questo patogeno è diventato altamente resistente agli antibiotici.

L'*E. coli* è il batterio più diffuso nel tratto gastrointestinale dell'uomo. Vive in associazione reciprocamente vantaggiosa con gli organismi ospiti e raramente causa malattie ma, allo stesso tempo, è uno degli agenti patogeni umani e animali più comuni poiché è responsabile di un ampio spettro di malattie. È responsabile di circa l'80% dei casi di infezioni del tratto urinario e negli ultimi anni è stato osservato un aumento significativo di ceppi multi-resistenti [26]. Rispetto ai due precedenti batteri, l'*E. coli* viene molto utilizzato in ambito di ricerca in quanto tra le sue caratteristiche peculiari ci sono: la facilità di manipolazione, la disponibilità della sequenza completa del suo genoma e la sua capacità di sopravvivere e proliferare sia in condizioni aerobiche che anaerobiche [26].

Al fine di ridurre l'aumento della resistenza batterica agli antibiotici, sono stati condotti vari studi per sviluppare nuovi materiali e nuovi agenti antibatterici per trattare e prevenire la crescita di questi patogeni.

Tra le innovative soluzioni high-tech, quelle basate sull'utilizzo di nanomateriali potrebbero essere una delle strategie potenzialmente efficaci contro batteri, virus e funghi. Le loro singolari proprietà hanno rivoluzionato una varietà di tecnologie e settori, incluso l'ambito medico, proprio perché hanno dimensioni paragonabili alle biomolecole e alle strutture intracellulari batteriche di interesse. Rispetto agli antibiotici tradizionali, i nanomateriali possono indurre con meno probabilità fenomeni di resistenza antimicrobica ed essere in grado di aggirare i meccanismi di difesa esistenti.

Le nanoparticelle d'argento (AgNPs), i materiali a base di silice e i materiali a base di ossidi metallici sono diventati nuove potenziali terapie antibatteriche.

Tra questi materiali, le nanoparticelle d'argento sembrano essere la soluzione più emergente, in quanto caratterizzate da proprietà antibatteriche [27]. Inoltre, le AgNPs potrebbero essere combinate con nanomateriali a base polimerica, che permettono lo sviluppo di una varietà di prodotti terapeutici grazie alla loro ottima biocompatibilità e biodegradabilità [28].



## 2 Le Nanoparticelle d'Argento

Rispetto alla loro controparte alla macro-scala, grazie alle loro singolari caratteristiche e proprietà, i nanomateriali guadagnano sempre più importanza come nuove strategie antivirali e antibatteriche. In particolare, le nanoparticelle d'argento (AgNPs) recentemente si stanno dimostrando efficaci anche contro un'ampia gamma di virus, oltre ad essere caratterizzate da un forte potere antibatterico, come già noto da anni.

### 2.1 Proprietà antibatteriche e Meccanismi d'azione

In generale, l'attività antimicrobica di una certa sostanza o composto è quella capacità di inattivare permanentemente l'attività di un agente patogeno o di alterarne morfologicamente la struttura [29].

L'argento metallico, essendo carico positivamente, tende a reagire con biomolecole cariche negativamente, come le proteine che compongono la membrana cellulare e le basi del DNA. Per inibire la crescita batterica, le NPs metalliche sfruttano diversi fenomeni (Fig. 3).

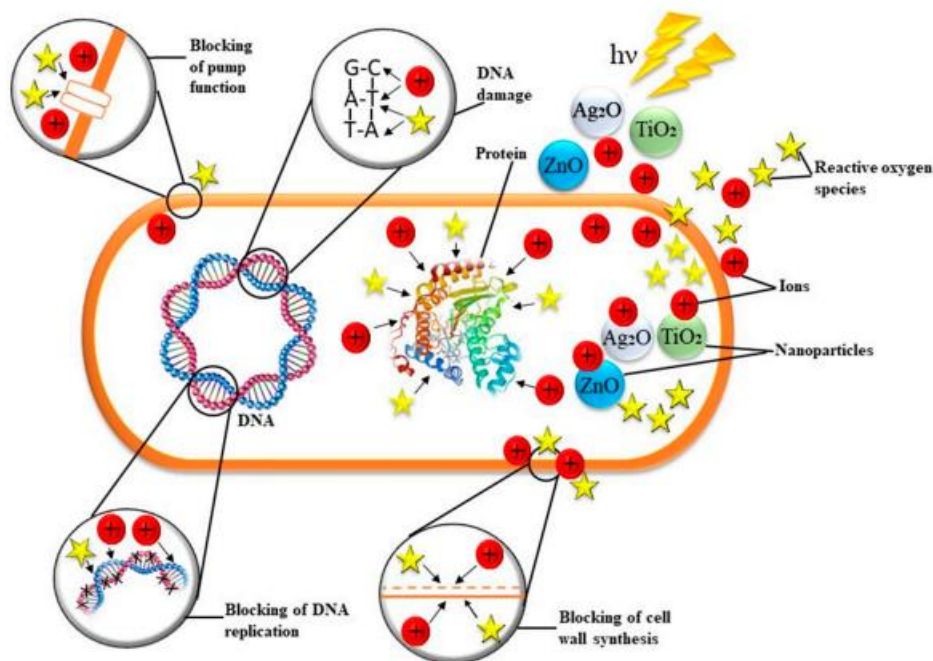


Figura 3: Effetti delle NPs sui biofilm batterici [28].

Tra queste rientrano anche le AgNPs. Tuttavia, i loro meccanismi antimicrobici non sono ancora del tutto compresi. Tra le varie ipotesi, un possibile meccanismo d'azione potrebbe essere associato al rilascio costante di ioni argento [30]. Gli ioni argento possono avere vari effetti sui batteri, elencati schematicamente di seguito.

1. Interazione con la membrana cellulare:

Gli ioni argento si legano facilmente alla parete cellulare e alla membrana citoplasmatica grazie ad interazioni di natura elettrostatica [31], [32], [33]. Quando si diffondono nella parete cellulare, possono alterare la struttura della membrana a causa

delle loro dimensioni nanometriche [34]. Questa alterazione può portare alla denaturazione della membrana citoplasmatica e alla successiva lisi cellulare.

2. Effetti sulla duplicazione del DNA:

L'interazione degli ioni argento con macromolecole biologiche, come enzimi e DNA, si basa sulla scarica di elettroni o sulla generazione di radicali liberi [30].

Quando gli ioni argento vengono assorbiti dalle cellule batteriche, generano specie reattive dell'ossigeno, che disattivano l'azione degli enzimi respiratori (stress ossidativo). Lo zolfo e il fosfato sono componenti essenziali nel DNA e possono interagire con le AgNPs. Questa interazione può causare problemi nella replicazione del DNA e nella riproduzione cellulare dei batteri [30].

3. Inibizione della sintesi proteica:

Gli ioni argento inibiscono la sintesi proteica attraverso la denaturazione del ribosoma, causando il malfunzionamento delle proteine e delle strutture cellulari del batterio [35], [36].

4. Coinvolgimento nella trasduzione del segnale batterico:

Le AgNPs sono anche coinvolte nella trasduzione del segnale batterico. L'interruzione della trasduzione del segnale può accompagnare l'apoptosi cellulare e la cessazione della moltiplicazione cellulare [31], [37].

Uno studio condotto da *Noronha et al.* ha evidenziato che l'assorbimento delle AgNPs è cruciale per sfruttarne l'effetto antibatterico [38]. Questo è stato dimostrato su una varietà di batteri Gram-positivi e Gram-negativi.

Le AgNPs sono state ampiamente studiate per il loro efficace utilizzo contro i patogeni Gram-positivi e Gram-negativi [39]. L'efficienza antimicrobica degli AgNPs risulta maggiore nei confronti dei batteri Gram-negativi rispetto ai Gram-positivi [40]. I batteri Gram-negativi presentano una spessa parete di lipopolisaccaridi (LPS) e uno sottile strato di peptidoglicani. Al contrario, i batteri Gram-positivi hanno una parete cellulare con un sottile strato di LPS e uno spesso strato di peptidoglicani. Questa struttura a parete spessa nei batteri Gram-positivi riduce la penetrazione delle AgNPs nelle cellule [40].

L'efficacia delle AgNPs è stata dimostrata su alcuni batteri che presentavano un antibiotico-resistenza a molti farmaci (*multidrug resistance* – MDR), tra cui l'*E. coli*, la *Salmonella typhimurium*, lo *S. epidermidis*, lo *S. aureus* e la *Pseudomonas aeruginosa* [41].

*Taraszkiewicz et al.* ha esaminato l'attività delle AgNPs contro i batteri *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* ed *E. coli*, dimostrando di essere attive contro questi ceppi di batteri e osservando un effetto antibatterico maggiore verso l'*E. coli* [42].

Le nanoparticelle rivestono un ruolo fondamentale come agente antibatterico grazie alle loro caratteristiche. Tra queste, la dimensione, che si colloca nel range di 1-100 nm, consente alle AgNPs di penetrare efficacemente nei batteri [43], [44], [45], [46]. Questa dimensione compatta consente alle nanoparticelle di esibire proprietà uniche, tra cui un eccellente rapporto volume-superficie. Inoltre, la forma delle nanoparticelle influisce significativamente sul loro potenziale antimicrobico. *Burda et al.* hanno dimostrato che tanto più piccola è la dimensione della nanoparticella, tanto maggiore è la sua capacità di penetrare nei batteri. In particolare, le AgNPs sintetizzate in forma sferica mostrano un'elevata attività antimicrobica. Questo è stato

verificato testando le nanoparticelle contro l'*E. coli* e lo *S. aureus*, osservando che il primo è più suscettibile al trattamento con l'argento [47].

La forma delle nanoparticelle è un fattore altrettanto cruciale. I cambiamenti morfologici possono influenzare l'effetto antibatterico [48], [49], [50], [51]. Ad esempio, le AgNPs con forme bastoncellari e sferiche possiedono solidi effetti antibatterici [52]. Anche *Cheon et al.* hanno dimostrato che l'interazione delle AgNPs con batteri, virus e funghi dipende dalla loro forma, sottolineando l'importanza di questa caratteristica. Le nanoparticelle sono state sintetizzate in tre diverse forme: sferica, discoidale e triangolare. L'effetto battericida massimo è stato osservato con l'utilizzo delle AgNPs sferiche, seguite da quelle discoidali e triangolari. Questa differenza potrebbe essere correlata all'area superficiale diversa delle nanoparticelle, che a sua volta influisce sul rilascio di ioni argento [53]. In altri studi, si è osservato al microscopio elettronico come la distruzione della membrana cellulare del batterio *E. coli*, a seguito di un trattamento con AgNPs, fosse diversa al variare della loro forma [41], [53].

Un'analisi più approfondita delle differenze nell'effetto antimicrobico delle AgNPs in base alla loro forma è stata condotta da *Alshareef* e collaboratori. Nel suo studio, ha sintetizzato AgNPs sia in forma sferica che ottaedrica [52]. I risultati hanno rivelato che le AgNPs ottaedriche manifestano un effetto battericida, mentre quelle di forma sferica mostrano un effetto batteriostatico, suggerendo ancora una volta che la forma delle nanoparticelle influisce sull'efficacia antimicrobica.

L'attività antibatterica e il meccanismo degli AgNPs possono essere ulteriormente influenzati dallo stato di dissoluzione nei mezzi di esposizione.

Le caratteristiche intrinseche delle AgNPs e il mezzo circostante in cui sono immerse sono fattori che influenzano l'efficienza di dissoluzione [54]. La presenza di componenti organici e inorganici nei mezzi di sospensione influenza le proprietà di dissoluzione delle AgNPs, portando all'aggregazione delle particelle o alla complessazione degli ioni argento.

Uno studio recente ha dimostrato che le AgNPs rilasciano ioni d'argento più rapidamente in una soluzione acida rispetto ad una soluzione neutra [55].

Uno studio recente dimostra che le AgNPs rilasciano ioni argento più velocemente in una soluzione acida che in una soluzione neutra [55]. Questi differenti comportamenti di dissoluzione possono essere modulati mediante l'utilizzo dei cosiddetti agenti di copertura, che modificano le superfici delle AgNPs [38].

In sintesi, le AgNPs rappresentano una promettente opzione per combattere gli agenti patogeni, ma la loro efficacia dipende dall'interazione specifica con le diverse strutture cellulari dei batteri.

Tuttavia, è necessario ricordare che gli effetti battericidi assomigliano piuttosto frequentemente a quelli legati alla citotossicità negli eucarioti; di conseguenza, la maggior parte dei farmaci battericidi efficaci sono altrettanto tossici per le cellule umane [56].

In generale, le nanoparticelle metalliche possono avere un ruolo fondamentale contro la formazione della principale barriera dei batteri.

Il biofilm batterico è un ambiente eterogeneo in termini di proprietà fisico-chimiche; è una struttura composta da numerose molecole polimeriche che trasportano una certa carica elettrica [57]. La presenza di acido uronico, piruvato legato a ioni metallici, acido carbossilico, fosfato residuo e occasionalmente solfato fa acquisire alla matrice di biofilm una carica prevalentemente negativa [58], [59]. Questa barriera può essere anche vista come un filtro

tridimensionale in grado di rimuovere nanoparticelle, composti organici e ioni. Come già discusso precedentemente, i microrganismi racchiusi nei biofilm sono naturalmente più resistenti al trattamento antibatterico e alle risposte immunologiche dell'ospite [13]. Ridurre o impedire completamente l'adesione del biofilm (tecnica passiva) e l'utilizzo di trattamenti antimicrobici (strategia attiva) sono due dei possibili modi per combattere la formazione di biofilm indesiderati.

L'utilizzo delle NPs nelle terapie contro i batteri che producono biofilm prevede un'interazione con la struttura target in tre fasi (Fig. 4):

1. migrazione delle particelle in prossimità del biofilm;
2. adesione alla superficie del biofilm;
3. penetrazione nel biofilm.

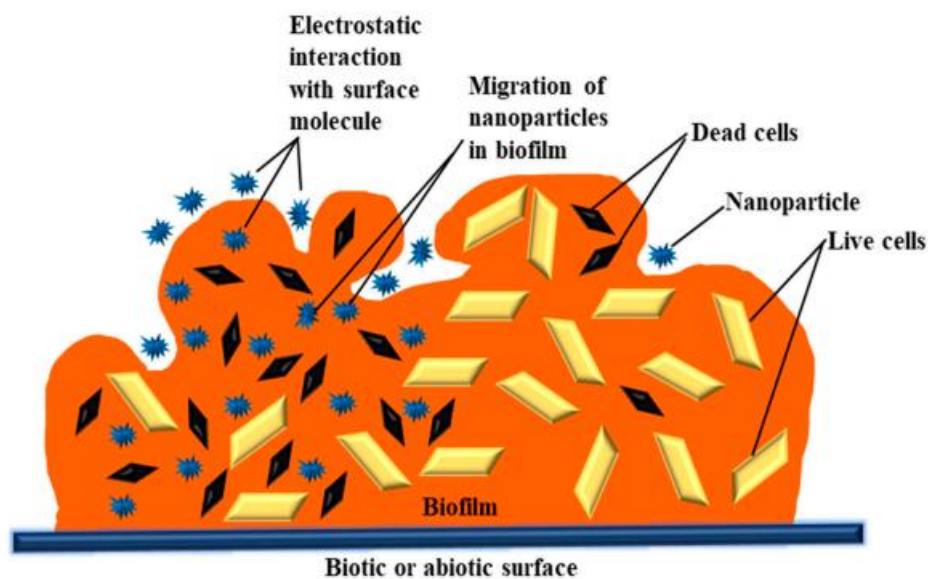


Figura 4: Interazioni fisico-chimiche tra NPs e biofilm [28].

Ogni fase è influenzata da una serie di fattori, tra cui l'ambiente, il biofilm stesso e le caratteristiche fisico-chimiche delle NPs [28]. Tra le numerose interazioni fisico-chimiche che potrebbero influenzare il primo attacco delle NPs alla superficie più esterna dei biofilm ci sono sicuramente quelle elettrostatiche. Le forze elettrostatiche consentono alla matrice batterica caricata negativamente di interagire con ioni metallici carichi positivamente o con molecole organiche [60], [61]. Dopo che le particelle aderiscono con successo alla superficie del biofilm, diversi studi hanno dimostrato che il fenomeno principale della penetrazione delle NPs all'interno della matrice sia di diffusione e che quest'ultima può essere influenzata dalla dimensione dei pori del biofilm, dall'esistenza di canali per l'acqua, dalla carica delle NPs e dal tipo di biofilm [62], [63].

La nanotecnologia ha aperto le porte a nuove tecniche innovative di somministrazione dei farmaci. Si potrebbe pensare di utilizzare dei nanovettori progettati per impedire al principio attivo di diventare enzimaticamente inattivo o di aderire alla matrice del biofilm o ad altri componenti attorno al sito di infezione del biofilm, in quanto l'immobilizzazione di agenti antibatterici e antibiofilm nei nanomateriali può aumentarne la potenza antibatterica [64], [65]. Non è ancora ben chiaro come i biofilm batterici e le AgNPs interagiscano tra di loro. *Barros et al.* hanno trattato delle colture di batteri con delle AgNPs di diametro tra i 5 – 150 nm e hanno osservato la presenza di aggregati di nanoparticelle in parti di biofilm distaccato [66]. Lo studio

ha evidenziato che la durata dell'esposizione alle NPs ha influenzato il distacco del biofilm, con un distacco della biomassa considerevolmente inferiore dopo il trattamento per periodi di 8 – 24 ore rispetto all'esposizione iniziale [66]. Le ragioni di questo effetto non erano del tutto evidenti e il risultato è stato solo parzialmente attribuito all'aggregazione delle NPs a causa delle variazioni nella forza ionica, delle interazioni del biofilm con altre sostanze chimiche e del trasporto ritardato di ioni e particelle d'argento all'interno della matrice. La combinazione di antibiotici convenzionali e di AgNPs potrebbe migliorare ulteriormente l'effetto di distacco del biofilm e l'efficacia antibatterica del trattamento [67].

Anche nel caso di interazioni con i virus, i meccanismi di azione sembrano dipendere dal tipo di sintesi delle nanoparticelle, dalla loro dimensione, dalla forma e dalle funzionalizzazioni superficiali. Il principale meccanismo di azione delle AgNPs è quello della interazione fisica diretta con la particella virale in circolo o con la particella virale legata alla cellula, che può causare un'inattivazione della stessa o un'alterazione morfologica del virione (ovvero una particella virale matura racchiusa nel suo capsido); un altro meccanismo è legato alla loro capacità di inibire le prime fasi della replicazione virale, più precisamente quelle in cui si sta formando il legame tra virus e cellula o la fase di penetrazione del virus nell'organismo ospite [29]. Altri studi hanno dimostrato la capacità delle AgNPs di danneggiare le glicoproteine e le proteine strutturali del capsido, componenti virali cruciali per la sopravvivenza di quest'ultimi [68], [69].

Le AgNPs sono anche in grado di inibire la formazione del legame cellula-virus interagendo transitoriamente con i recettori del virus, oppure di competere con il virus, legandosi ai recettori cellulari per evitare l'attaccamento del virus alla membrana cellulare; questo tipo di meccanismo blocca sia la fusione dell'involucro virale con la membrana delle cellule sia l'endocitosi mediata da recettori [70]. Questi nanomateriali possono avere anche un'attività virucida indiretta, in quanto si possono usare come barriera fisica per bloccare l'ingresso dei batteri nelle cellule bersaglio, ciò nonostante, poiché le nanoparticelle e i virus devono essere contemporaneamente presenti sulla superficie dell'organismo ospite, elevate quantità delle AgNPs possono causare un potenziale effetto tossico indesiderato [71].

## **2.2 Applicazioni delle AgNPs**

Le proprietà antibatteriche delle nanoparticelle d'argento, insieme alla capacità di prevenire infezioni, hanno attirato grande interesse in molti settori, come quello per il trattamento delle acque e dell'aria, dalla produzione di dispositivi di protezione individuale (DPI), agli imballaggi alimentari sempre più sicuri, passando per l'industria tessile fino al campo biomedico, quest'ultimo, uno dei settori in più rapida crescita (Fig.5).

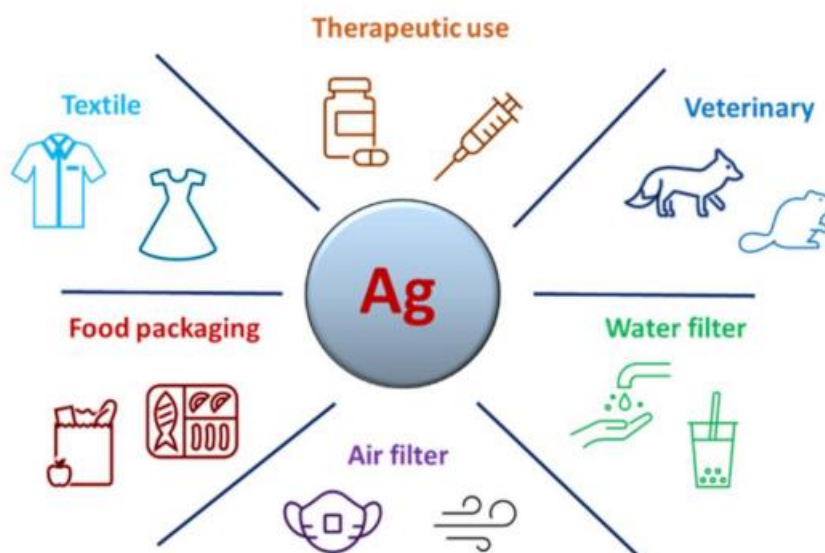


Figura 5: Principali potenziali applicazioni delle AgNPs [29].

Come già precedentemente trattato, in ambito sanitario, le AgNPs potrebbero essere utilizzate per il trattamento di diverse malattie e infezioni. Tuttavia, nonostante la loro attività antibatterica sia stata dimostrata contro numerosi patogeni, la maggior parte degli studi si ferma ai risultati ottenuti in vitro. La mancanza di test in vivo e l'assenza di studi clinici evidenziano che il campo terapeutico/profilattico non è attualmente la principale potenziale applicazione di questi nanomateriali, soprattutto se si tiene conto della loro citotossicità. Attualmente, tra le varie problematiche, l'assenza di metodi per raccogliere le nanoparticelle o per riciclare e riutilizzare il prodotto al fine di ridurre gli sprechi limita notevolmente l'uso di AgNPs nelle strategie di prevenzione delle malattie virali e batteriche. D'altra parte, degli importanti sviluppi legati alla prevenzione delle infezioni batteriche sono stati raggiunti con l'utilizzo di queste tecnologie.

Poiché alcuni batteri e virus possono essere trasmessi indirettamente attraverso il contatto con superfici contaminate, prima ancora dei trattamenti per la cura di infezioni batteriche e virali, si può ridurre il rischio di trasmissione con lo sviluppo di superfici auto-decontaminanti, antibatteriche e antivirali. *Jan Hodek et al.* hanno testato dei rivestimenti protettivi ibridi di AgNPs, preparati con il metodo sol-gel, contro diversi virus e ceppi di batteri [72]. I coating sono stati depositati su substrati come vetro e poli-metilmetacrilato (PMMA). Gli autori hanno osservato che il rivestimento era caratterizzato da una attività virucida e antibatterica, dimostrandone il potenziale per fornire protezione antimicrobica su superfici e materiali in ambienti sanitari. Nella loro ricerca, *Li et al.* hanno sperimentato l'applicazione delle AgNPs, sintetizzate da nitrato d'argento e biossido di titanio ( $\text{TiO}_2$ ), per rivestire maschere facciali [73]. I risultati hanno dimostrato che queste maschere rivestite, quando esposte ai ceppi batterici di *E. coli* e *S. aureus*, sono state in grado di inibire la crescita delle colonie. Questi risultati sono estremamente promettenti, poiché le maschere facciali potenziate con AgNPs potrebbero contribuire a prevenire infezioni, soprattutto in ambienti come gli ospedali, dove la presenza di microrganismi patogeni è elevata [47].

Un'altra potenziale applicazione è sicuramente quella del trattamento delle acque. In termini di purificazione e filtrazione, è sempre stato fondamentale rendere l'acqua limpida e



potabile. Può capitare che durante i controlli di routine sulla qualità dell'acqua presente nei bacini/serbatoi idrici, venga riscontrata la presenza di batteri come gli *enterococchi*, l'*Escherichia coli* e i *batteri coliformi* [74]. Diversi studi hanno sfruttato le AgNPs combinate con altri materiali specifici per sviluppare sistemi innovativi dal punto di vista dell'effetto antibatterico, e che, allo stesso tempo, siano in grado di non modificare le proprietà fisiche e chimiche dell'acqua. Queste applicazioni potrebbero avere un impatto enorme sulla salute umana, poiché, se si riuscisse a ridurre al minimo il rilascio delle nanoparticelle, consentirebbero di ottenere acqua pura e disinfettata con sistemi che non contaminano né inquinano l'ambiente. *Lukhele et al.* hanno sintetizzato dei poliuretani impregnati con AgNPs per testarne la capacità di eliminare i batteri presenti nell'acqua potabile contaminata [74]. I risultati hanno chiaramente dimostrato che questa modifica del polimero conferisce al sistema proprietà antibatteriche, dimostrandosi efficace contro il batterio *E. coli*.

Oltre alla trasmissione degli agenti patogeni attraverso un mezzo come l'acqua, i virus, batteri e funghi possono rimanere nell'aria per lungo tempo ed essere trasmessi ad un ospite attraverso l'inalazione. Inoltre, l'umidità nei sistemi di riscaldamento, ventilazione e condizionamento dell'aria e l'accumulo di polvere creano un ambiente favorevole alla proliferazione di quest'ultimi [75]. Attualmente, la maggior parte dei moderni filtri antiparticolato ad alta efficienza (HEPA) limitano solo la trasmissione di virus e batteri, ma non inibiscono completamente la proliferazione di batteri e funghi e non sono in grado di inattivare le cellule infette presenti sulla superficie o nella struttura porosa del filtro [29].

*Ju et al.* hanno progettato un filtro multistrato con diversi gradi di porosità caratterizzato da una membrana nanoporosa caricata con AgNPs [76]. La struttura del filtro, che combina le proprietà antimicrobiche dell'AgNPs e la porosità delle nanofibre che compongono lo stesso, aumenta la possibilità di intrappolare e inattivare microrganismi con eccellenti prestazioni di purificazione dell'aria.

Per quanto riguarda le applicazioni nell'industria tessile, al di là della recente pandemia, la maggiore richiesta di tessuti antivirali e antibatterici arriva proprio dal settore sanitario, dove pazienti e lavoratori sono esposti all'elevato rischio di contrarre infezioni [77]. Infatti, tutti i tessuti generalmente utilizzati negli ospedali e nelle cliniche o a diretto contatto con i pazienti (bende o DPI), sono veicolo di trasmissione di differenti agenti patogeni. Oltre agli ambienti sanitari, altre principali applicazioni riguardano luoghi affollati e ambienti con un certo rischio di infezioni, come i trasporti pubblici, le aule degli asili nido e gli uffici pubblici. In generale, i processi per conferire proprietà antivirali e antibatteriche ai tessuti tramite l'utilizzo delle AgNPs prevedono l'aggiunta delle stesse direttamente nella soluzione polimerica che prende parte alla fase di filatura o attraverso l'impregnazione del tessuto stesso in una soluzione ricca di NPs.

Successivamente alla pandemia di COVID-19, molte aziende tessili di moda hanno deciso di investire nello sviluppo di prodotti tessili con attività antibatterica e protezione antivirale, per soddisfare la domanda e le esigenze dei consumatori. In particolare, un'azienda italiana specializzata in tessuti di alta gamma per camicie, ha sviluppato una nuova tecnologia chiamata *ViroFormula™* (Albini Group [78]), adatta alla produzione di camicie, giacche e pantaloni, ma anche di maschere, camici e qualsiasi altro indumento. Questa tecnologia è stata industrializzata sulla base della tecnologia *Viroblock* (formulata dalla azienda svizzera HeiQ [79]), che permette di conferire proprietà antimicrobiche e antivirali ai tessuti, sfruttando l'azione sinergica delle AgNPs e di vescicole fosfolipidiche, in grado di distruggere l'involucro

dei virus, impedendone la replicazione. Questo sistema è stato testato contro diversi tipi di virus influenzali (tra cui il SARS-CoV-2, mostrandone una riduzione del 99,99%), e le sue proprietà sono rimaste invariate dopo 30 lavaggi a 60 °C [79].

Infine, le AgNPs vengono generalmente utilizzate nell'industria alimentare incorporandole in matrici polimeriche di pellicole o contenitori per alimenti, per ridurre il rischio di contaminazione di batteri e funghi [80]. Gli imballaggi con applicazioni nanotecnologiche presentano migliori proprietà fisico-chimiche, ridotte caratteristiche idrofile e migliore biodegradabilità [81]. Un vantaggio significativo delle AgNPs è la loro facile incorporazione in diversi materiali, come plastica e tessuti. Inoltre, mantengono la loro attività antibatterica in situ, a differenza degli agenti antimicrobici tradizionali che potrebbero risultare più instabili nel tempo [81].

Uno studio condotto da *Emamifar et al.* ha esaminato l'effetto delle confezioni impregnate con AgNPs e ossido di zinco (ZnO) sul batterio *Lactobacillus plantarum* nel succo d'arancia [82]. Hanno osservato che il batterio veniva inibito quando il prodotto veniva conservato a 4°C. In particolare, le AgNPs hanno dimostrato una maggiore attività antimicrobica, rispetto alle nanoparticelle di ZnO, nei succhi conservati fino a 112 giorni. In un altro studio, *Fernández et al.* hanno conservato fette di melone fresco in film a base di cellulosa incorporati con AgNPs sferiche (diametri compresi tra 5 e 35 nm) [83]. Rispetto ai film di controllo (senza nanoparticelle), le pellicole contenenti le AgNPs hanno mostrato una riduzione della crescita di lieviti, batteri mesofili e psicrofili sulla superficie del melone.

Tuttavia, nonostante i vantaggi legati all'impiego delle AgNPs, un possibile vincolo nel loro uso in tutte quelle applicazioni legate all'industria alimentare, è la loro migrazione negli alimenti confezionati, che potrebbe comportare potenziali problemi di tossicità [84].



### 3 Rivestimenti Compositi con Nanoparticelle d'Argento

Per poter massimizzare i vantaggi legati all'utilizzo delle AgNPs e allo stesso tempo ridurre tutti i rischi legati alla loro citotossicità, al loro rilascio e accumulo, si sfruttano dei processi in grado di incapsularle in dei substrati secondari di altri materiali. I rivestimenti compositi con nanoparticelle d'argento sono utili in quanto permettono di proteggere le stesse dall'ambiente esterno (e viceversa), minimizzando i fenomeni di corrosione, la loro dispersione involontaria e aumentando la durata nel tempo del loro effetto antimicrobico. La combinazione delle proprietà delle AgNPs e del substrato scelto (organico o inorganico) può portare a differenti effetti e risultati; perciò, è necessario conoscere e saper controllare il profilo di rilascio degli ioni argento.

Effettivamente, alcuni studi hanno evidenziato che, quando dei nanomateriali vengono incapsulati in dei composti organici come collagene, gelatina o chitosano, l'attività antivirale ha un effetto molto più prolungato nel tempo grazie al lento rilascio di ioni [85]. Ad esempio, è stato formulato un idrogel a base di lignina e alcol polivinilico, sintetizzando le AgNPs in situ [86]. Questo sistema ha dimostrato un'elevata attività antimicrobica contro batteri come *E. coli* e lo *S. aureus*, con quasi il 100% dei batteri uccisi dopo 10 ore di trattamento. Ulteriori studi sono stati condotti sviluppando idrogel a base di chitosano o amido e AgNPs, evidenziando ulteriormente che questo tipo di funzionalizzazione permette di ottenere un effetto antibatterico più duraturo [87], [88], [89].

Gli idrogel contenenti nanoparticelle d'argento potrebbero non essere adatti come rivestimenti, poiché, pur mostrando un'elevata attività antimicrobica, la loro struttura gelatinosa potrebbe non fornire la stabilità e la durata richieste per funzionare come rivestimenti di superfici esterne.

Negli ultimi anni, i rivestimenti polimerici, insieme ai compositi e nanocompositi polimerici, sono diventati protagonisti in diverse applicazioni e settori. Questi materiali hanno numerosi vantaggi, principalmente legati alla loro versatilità e alla loro ampia gamma di proprietà. Inoltre, la maggior parte dei processi e delle tecniche di rivestimento sono spesso a basso costo, facilmente scalabili a livello industriale e facilmente implementabili. I nanocompositi polimerici sono caratterizzati da una maggiore resistenza all'usura (barriera meccanica e fisica), da un'elevata biocompatibilità e da buone proprietà anticorrosive tali da aver trovato largo utilizzo anche nel campo dello sviluppo di superfici antibatteriche.

*Atay et al.* hanno sviluppato un rivestimento antibatterico a matrice polimerica combinando le proprietà chimico-fisiche e meccaniche dei poliuretani con le proprietà antimicrobiche delle nanoparticelle d'argento [90]. I coating sono stati realizzati a partire da una soluzione di poliuretano in cui vengono aggiunte le AgNPs, pre-sintetizzate tramite una reazione di riduzione. La polimerizzazione è avvenuta mediante l'aggiunta di un agente di reticolazione in soluzione. È stato valutato come variava l'effetto antibatterico dei rivestimenti in base alla concentrazione di AgNPs nei campioni. Le tecniche spettroscopiche hanno rivelato un'elevata presenza di agglomerati di AgNPs dispersi nella matrice dei rivestimenti. Inoltre, maggiore è la quantità di nanoparticelle, maggiori sono i fenomeni di aggregazione. Tutti i campioni testati hanno dimostrato un'efficace attività antimicrobica contro lo *S. aureus* ed *E. coli*, persino da parte del rivestimento funzionalizzato con la concentrazione più bassa di AgNPs. La presenza di AgNPs non ha alterato la fase o la struttura del polimero. Tuttavia, i test di rilascio ionico hanno dimostrato la ridotta capacità di diffusione delle AgNPs attraverso la matrice polimerica.

Pertanto, le proprietà antibatteriche derivano principalmente dalle nanoparticelle incapsulate in prossimità della superficie del rivestimento.

A seguito dei promettenti risultati ottenuti da diversi studi, che verranno approfonditi nella sezione 3.1, in questo lavoro di tesi, verrà studiata e utilizzata una particolare classe di polimeri: i polisilazani.

### 3.1 Rivestimenti compositi a partire da polimeri pre-ceramici

I polisilazani sono polimeri la cui struttura è costituita da un'alternanza di atomi di silicio legati a ponte ad atomi di azoto. La struttura è simile a quella dei polisilossani, ma l'ossigeno è sostituito dal gruppo -NR (Fig. 6). La presenza del legame Si-N rende questi polimeri particolarmente reattivi nei confronti dell'idrolisi in presenza di acqua o solventi a base di acidi od alcoli. A partire dagli anni '70, alcuni studiosi hanno iniziato ad utilizzarli come possibili precursori per composti ceramici e nei decenni successivi sono stati sfruttati come precursori polimerici della silice [91]. Al giorno d'oggi, questi polimeri sono principalmente commercializzati per ottenere sia coating di silice amorfa a scopo protettivo sia per ottenere dei composti ceramici. Sono ottimi materiali di rivestimento proprio grazie alla loro forte adesione sul substrato, all'elevata stabilità chimica e termica e all'elevata durezza. Vengono classificati in polisilazani inorganici (peridropolisilazani) e in polisilazani organici (organopolisilazani). I primi hanno come unico sostituente gli atomi di H, un esempio è il peridropolisilazano (PHPS), che può essere trasformato in silice attraverso un trattamento termico a 450 °C oppure in presenza di vapori acidi o basici [92]; nei polisilazani organici invece gli atomi di silicio sono legati a sostituenti idrocarburici, anch'essi precursori della silice, come nel caso del Durazane (le cui proprietà verranno approfondite nel Capitolo 4), e che possono essere depositati su differenti tipi di substrati (legno, metallo, plastica, vetro, ceramica ecc.).

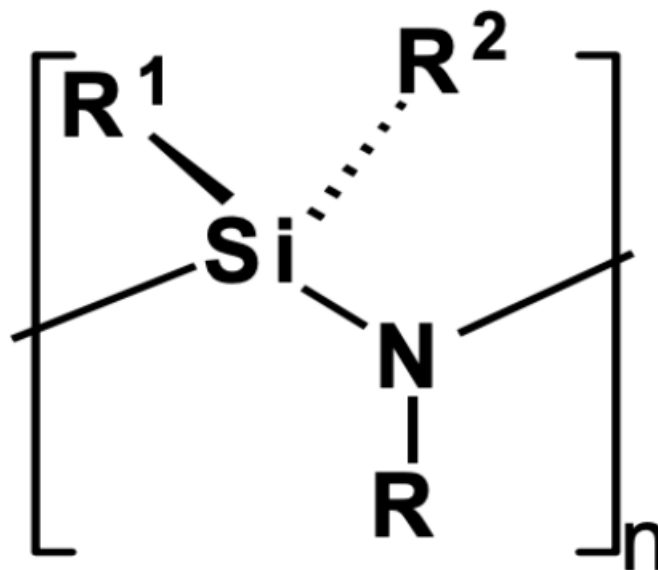


Figura 6: Struttura chimica dei polisilazani [91].

Nello studio condotto da *Bakumov et al.* è stato sintetizzato un coating ceramico funzionalizzato con AgNPs ottenuto a partire da un polisilazano commerciale (poli(metilvinil)silazano) [93]. Le nanoparticelle pre-sintetizzate sono state introdotte nella soluzione di polimero, che viene reticolata a circa 290°C e poi sottoposta ad un processo di pirolisi del precursore del polisilazano, a temperature tra 700°C e 1000°C in un tubo di quarzo sotto flusso di ammoniaca e/o azoto. Il processo di sintesi del rivestimento porta alla formazione di piccoli aggregati di AgNPs circondati dalla matrice polimerica. Tuttavia, pur non riuscendo a disperdere le nanoparticelle in modo omogeneo all'interno del rivestimento, i test antibatterici hanno dimostrato una forte attività antibatterica contro l'*Escherichia coli* e lo *Staphylococcus aureus*. Questo coating, pur avendo un effetto battericida, è adatto a rivestire solo tutte quelle superfici in grado di resistere alle elevate temperature raggiunte durante la pirolizzazione del polisilazano (non è adeguato ad applicazioni nell'industria tessile o alimentare).

*Balagna et al.* hanno sviluppato un rivestimento composito antibatterico costituito da nanocluster di argento/silice, depositato con successo sul tessuto Vectran™, mediante la tecnica del co-sputtering a radiofrequenza [94]. Il Vectran™ è una fibra polimerica a base di cristalli liquidi utilizzata come tessuto nei guanti degli astronauti. L'importanza della protezione antibatterica emerge chiaramente dal fatto che diversi studi hanno documentato la presenza di vari tipi di batteri nello spazio e segnalato la loro rapida crescita a bordo di strutture come la stazione spaziale internazionale. Le AgNPs sono state incorporate nella matrice di silice e distribuite uniformemente sulla superficie delle fibre. Il rivestimento, dopo dieci cicli di lavaggio, conserva le sue proprietà senza subire alterazioni significative e ha mostrato proprietà antibatteriche impedendo la crescita di batteri come lo *S. aureus* ed *E. coli*. Inoltre, la deposizione del rivestimento non ha compromesso le proprietà meccaniche del tessuto. Per verificare che la quantità di argento che attraversa la pelle è trascurabile dal punto di vista della sicurezza umana è stato effettuato un test di permeazione cutanea, dando esito positivo sia in caso di guanto intatto che in caso di guanto deteriorato.

Il lavoro svolto da *Luceri et al.* ha sfruttato la tecnica del co-sputtering per depositare sui filtri dell'aria a base di fibra di vetro e polimerici un rivestimento composto da AgNPs incapsulate all'interno di una matrice di silice, e per valutare se fosse caratterizzato da proprietà antibatteriche e antivirali [96]. Il processo di sputtering ha visto l'utilizzo di due catodi, un target di argento e uno di silice. Il coating è stato testato su dei ceppi batterici, *Escherichia Coli* (Gram-negativo) e *Staphylococcus Epidermidis* (Gram-positivo), e sul ceppo di *Coronavirus umano OC43* (HCoV-OC43). Le analisi morfologiche hanno evidenziato la deposizione omogenea del rivestimento, mentre i test di rilascio ionico, della durata di 14 giorni, hanno dimostrato un rilascio graduale degli ioni argento. Il rivestimento nanocomposito di argento e silice è stato depositato con successo sui filtri, mantenendo invariate le prestazioni di filtrazione di quest'ultimi (la porosità del filtro non è stata alterata), pur modificando visibilmente la morfologia superficiale dei substrati. I risultati dei test dell'alone di inibizione hanno confermato che il coating depositato è caratterizzato da un forte potere antibatterico. In particolare, a seconda del tipo di substrato, il meccanismo d'azione delle AgNPs risulta differente: nel caso dei filtri in fibra di vetro l'effetto antibatterico/antivirale era legato al rilascio di ioni argento, mentre quelli a base polimerica sembrano essere in grado di inattivare direttamente le cellule virali [96].

Un altro studio condotto da *Balagna et al.* si è concentrato sulla creazione di rivestimenti compositi antibatterici da applicare sui tessuti di cotone [97]. Questi rivestimenti dovevano

anche essere in grado di resistere a numerosi cicli di lavaggio, che potenzialmente avrebbero potuto ridurre drasticamente le proprietà antimicrobiche del coating. I tessuti di cotone sono stati ricoperti uniformemente da tre tipi di rivestimenti, composti rispettivamente da silice, allumina e matrice di zirconio, sfruttando la tecnica del co-sputtering per incorporare le AgNPs. Dopo 14 giorni, il rilascio di ioni argento dai rivestimenti in acqua distillata è risultato sempre trascurabile. Inoltre, la durabilità delle proprietà antibatteriche è stata valutata sottoponendo i campioni a dieci cicli di lavaggio. Nonostante una perdita di AgNPs incapsulate, i rivestimenti hanno mantenuto il loro effetto antibatterico. I rivestimenti sono stati incubati a contatto con una piastra di batteri di *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. I risultati dei test antibatterici hanno evidenziato la loro capacità di prevenire l'adesione e la proliferazione dell'*E. coli*. Tuttavia, solo i rivestimenti composti dalla matrice di silice hanno impedito la crescita del batterio *P. aeruginosa*; per ottenere lo stesso effetto nel caso dei coating in zirconia e allumina, era necessario funzionalizzarli con una grande quantità di argento. Infine, i tessuti rivestiti sono risultati citocompatibili e ben tollerati dalle cellule del derma e dell'epidermide, come i fibroblasti e i cheratinociti umani. Questo è stato verificato sia simulando il rilascio di composti tossici che seminando direttamente le cellule sulla superficie dei materiali.

Alla luce di questi ultimi studi, portati avanti dal gruppo di ricerca GLANCE del Dipartimento di Scienza Applicata e Tecnologia (DISAT) del Politecnico di Torino, questo lavoro di tesi mira a sviluppare un rivestimento composito ottenuto a partire da un precursore polimerico della silice in cui sono state incorporate delle nanoparticelle di silice ( $n\text{SiO}_2$ ) decorate con nanoparticelle d'argento (AgNPs), sfruttando una tecnica di sintesi alternativa a quella del co-sputtering e potenzialmente adatta a rivestire qualsiasi tipo di substrato.





## 4 Materiali e Metodi

### 4.1 Nanoparticelle di SiO<sub>2</sub> decorate con AgNPs

I materiali utilizzati nella sintesi delle nanoparticelle di silice funzionalizzate con AgNPs e la corrispondente quantità utilizzata nei processi di sintesi sono riportati nella Tab.1.

Tabella 1: Materiali utilizzati nella sintesi delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs.

Nome Composto	Quantità Utilizzata
Ortosilicato Tetraetile (TEOS)	11,2 mL
Nitrato d'Argento (AgNO <sub>3</sub> )	1,47 g
Alcol Etilico (EtOH)	123 mL
Idrossido di Ammonio 33% (NH <sub>4</sub> OH)	17 mL
Acqua bidistillata milli-Q (H <sub>2</sub> O)	46 mL

L'Ortosilicato Tetraetile (TEOS) è una molecola tetraedrica ed un composto chimico costituito da quattro gruppi etilici legati allo ione SiO<sub>4</sub><sup>4-</sup>. Tra le sue varie applicazioni, il TEOS viene utilizzato principalmente come agente reticolante dei silicani. In particolare, verrà sfruttata la proprietà di questo composto che gli permette di convertirsi facilmente in biossido di silicio (comunemente chiamata silice - SiO<sub>2</sub>) attraverso una reazione di idrolisi, formando legami Si-O-Si. Questa reazione è un esempio di processo sol-gel. Il TEOS non è miscibile in acqua, perciò è necessaria la presenza di un secondo solvente come l'alcol etilico.

Il nitrato d'argento è il sale di argento dell'acido nitrico. A temperatura ambiente, si presenta come una polvere cristallina incolore, altamente solubile in acqua (la solubilità varia la variare della temperatura) e in etanolo. È un composto inorganico altamente reattivo. Infatti, può reagire con molti sali per precipitare composti di argento. L'AgNO<sub>3</sub> viene usato come reagente di partenza per la formazione di nanoparticelle d'argento in differenti processi. È noto per la sua attività battericida e cauterizzante e per prevenire o curare le infezioni batteriche.

L'idrossido di ammonio (NH<sub>4</sub>OH) è stato utilizzato come catalizzatore, mentre l'alcool etilico (EtOH) e l'acqua bidistillata Milli-Q (H<sub>2</sub>O) sono stati usati come solventi nella sintesi delle nSiO<sub>2</sub> tramite processo sol-gel in ambiente basico. Il processo di sintesi utilizzato è stato ripreso e opportunamente adattato a questo lavoro da un precedente studio condotto da *Miola et al.*, dove veniva ottimizzato un processo sol-gel per la realizzazione di nanoparticelle di biovetro dopate con boro e rame per altre applicazioni [98].

#### 4.1.1 Sintesi delle nanoparticelle di silice (nSiO<sub>2</sub>)

La sintesi delle nanoparticelle di biossido di silicio (nSiO<sub>2</sub>) coinvolge l'uso del tetraetile ortosilicato (TEOS) come precursore della silice e una soluzione contenente NH<sub>4</sub>OH (catalizzatore/gelificante basico), etanolo e acqua bidistillata. In breve, si procede alla preparazione di due soluzioni distinte. La prima è composta da 11,2 mL di TEOS e 93 mL di etanolo, e viene mescolata sotto agitazione per circa 30 minuti (Soluzione 1). Poiché i precursori

come il TEOS sono immiscibili in acqua, si è scelto di discioglierlo in un solvente organico come l'EtOH, in modo da omogeneizzare la soluzione che parteciperà nelle fasi successive al processo sol-gel. La seconda soluzione contiene 30 mL di EtOH, 17 ml di NH<sub>4</sub>OH e 46 mL di H<sub>2</sub>O, anch'essa lasciata in agitazione per 30 minuti (Soluzione 2). Il passaggio successivo consiste nel versare la Soluzione 2 nella Soluzione 1 e miscelarne il contenuto per un ulteriore mezz'ora (Soluzione 3). La presenza di acqua in soluzione permette di ottenere la produzione di un sol, liberando ulteriore etanolo attraverso una reazione di idrolisi. Successivamente, la formazione di specie idrolizzate, attiva delle reazioni di policondensazione che portano alla gelificazione in ambiente basico della silice (grazie alla presenza di NH<sub>4</sub>OH). Concluso il tempo di miscelazione, la Soluzione 3 viene centrifugata per circa 5 minuti a 7000 rpm. Prima di asciugare le nanoparticelle di silice è necessario rimuovere dalla soluzione quasi tutto il surnatante. L'essiccazione delle polveri avviene in stufa alle temperatura di 60°C per circa 48 h.

Tabella 2: Composizione delle soluzioni che partecipano alla sintesi delle nSiO<sub>2</sub>.

	Soluzione 1	Soluzione 2
<b>TEOS</b>	11,2 mL	-
<b>EtOH</b>	93 mL	30 ml
<b>NH<sub>4</sub>OH (33%)</b>	-	17 ml
<b>H<sub>2</sub>O</b>	-	46 ml

#### 4.1.2 Sintesi delle nanoparticelle di silice funzionalizzate con AgNPs (nSiO<sub>2</sub>-AgNPs)

Dopo aver ottenuto delle nanopolveri di silice pura, sono state sintetizzate nanoparticelle a base di silice decorate con AgNPs, introducendo l'argento a partire dal Nitrato di Argento (AgNO<sub>3</sub>).

Nel processo di sintesi delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs, sono stati seguiti due protocolli distinti. Una parte delle polveri è stata sottoposta a centrifugazione per valutare se ciò potesse (a) ridurre i fenomeni di aggregazione durante la sintesi e (b) favorire una maggiore presenza di argento sulla superficie delle nanoparticelle di silice (Protocollo 1), rispetto a quelle non sottoposte a centrifugazione (Protocollo 2).

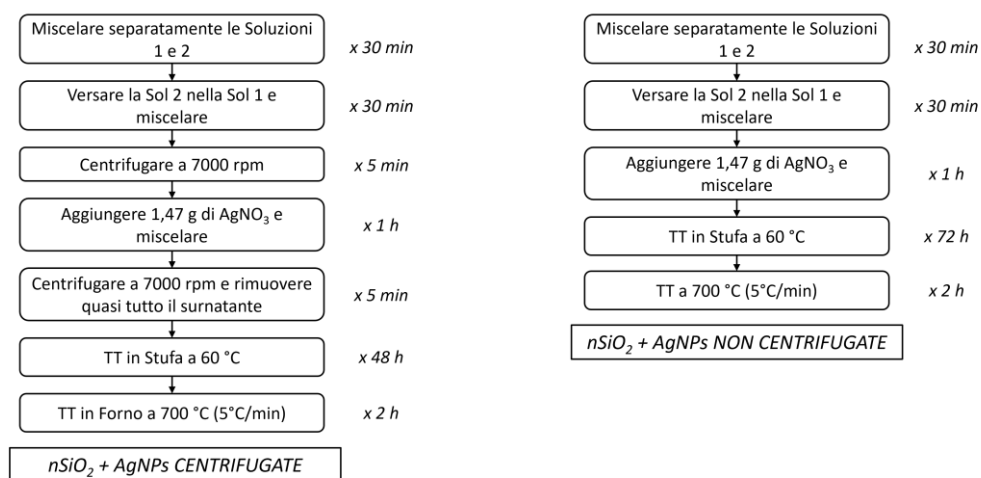


Figura 7: A sinistra processo di sintesi delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate (Protocollo 1); a destra processo di sintesi delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate (Protocollo 2).

Nella Fig.7 vengono schematicamente riportati i passaggi caratteristici dei due protocolli di sintesi descritti nel dettaglio in seguito.

- *Protocollo 1 (nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate)*

Vengono preparati due becher distinti contenenti le due soluzioni preparate in precedenza e lasciate in agitazione per 30 min. Successivamente, la Soluzione 2 viene versata nella Soluzione 1 come parte del processo sol-gel, che si conclude dopo una miscelazione di 30 minuti. Prima di procedere è necessario centrifugare il tutto per circa 5 minuti a 7000 rpm. A questo punto, si aggiungono 1,47 g di AgNO<sub>3</sub> alla soluzione così ottenuta (Soluzione 3). Per solubilizzare il nitrato d'argento la soluzione deve essere nuovamente posta sotto agitazione per 1 ora. Dopo un ulteriore passaggio in centrifuga a 7000 rpm per 5 minuti, viene rimosso quasi tutto il surnatante. Il passaggio successivo consiste in un trattamento termico in stufa alla temperatura di 60°C per circa 48 ore. Questo trattamento serve per far evaporare tutto il solvente che non è stato rimosso dalla soluzione, contenuta all'interno di una Falcon chiusa da un foglio di alluminio opportunamente bucato.

Infine, le polveri essiccate, vengono poste all'interno di un contenitore in allumina e lasciate per 2 ore in forno a 700°C, con rampa di temperatura di 5°C/min (fase di calcinazione). Durante il processo di calcificazione, l'AgNO<sub>3</sub> si decompone sulla superficie della nanosilice (nucleazione delle AgNPs).

- *Protocollo 2 (nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate)*

Nel protocollo 2, si procede sempre portando a termine il processo sol-gel. Successivamente, 1,47 g di AgNO<sub>3</sub> vengono aggiunti alla soluzione in cui è avvenuta la gelificazione della silice, e la soluzione viene posta sotto agitazione per 1 ora. Rispetto al caso precedente, questa soluzione non segue alcun passaggio di centrifugazione e il surnatante non deve esserne rimosso. L'essiccazione delle polveri avviene in stufa alla temperatura di 60°C per circa 72 ore (è necessario che evapori tutta la fase liquida della soluzione che non è stata rimossa), coprendo il becher con un foglio bucato di alluminio. Il processo si conclude con la nucleazione delle nanoparticelle d'argento, ottenuta attraverso un trattamento termico in forno a 700°C per 2 ore.

## **4.2 Rivestimenti di silice funzionalizzati da nSiO<sub>2</sub>-AgNPs**

Il rivestimento composito che si vuole ottenere è caratterizzato da una matrice composta da un polimero polisilazano preceramico disponibile in commercio (Durazane 1800), in cui vengono disperse le nanopolveri di nSiO<sub>2</sub>-AgNPs, precedentemente ottenute. Dopo la sintesi, il coating è stato depositato su dei substrati di vetro soda-lime. Sono stati preparati tre diverse tipologie di campioni: nel primo, il rivestimento è funzionalizzato con la sola nSiO<sub>2</sub>, mentre negli altri due sono state disperse rispettivamente le polveri di nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate e le polveri di nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate. Nella Tab.3 è possibile osservare le quantità dei reagenti utilizzate durante il processo.

Tabella 3: Materiali utilizzati nella sintesi dei rivestimenti.

Nome Composto	Quantità Utilizzata
Durazane 1800	3 g
nSiO <sub>2</sub>	0,33 g
nSiO <sub>2</sub> -AgNPs centrifugate	0,33 g
nSiO <sub>2</sub> -AgNPs non centrifugate	0,33 g

#### 4.2.1 Durazane 1800

Il Durazane 1800 (Merck KGaA) è un organopolisilazano (OPSZ). In particolare, è una resina polisilazanica liquida, caratterizzata da bassa viscosità e assenza di solventi [99]. Può rivestire differenti substrati, tra cui metalli, vetri e ceramici. Infatti, le sue buone proprietà di adesione, durezza, idrorepellenza e di barriera, lo rendono particolarmente utile nei rivestimenti di substrati metallici, offrendo vantaggi come la protezione da graffi, da ossidazione ad alte temperature, e dalla corrosione. Il polisilazano, come si vede in Fig.8, ha una catena principale composta di silicio e azoto funzionalizzata con gruppi laterali idrogeno, metilici (CH<sub>3</sub>) e vinilici (CH=CH<sub>2</sub>). Il Durazane può essere mescolato a freddo con qualsiasi altra resina o composto senza che si verificano reazioni chimiche tra i reagenti. La reticolazione del polimero avviene principalmente attraverso reazioni di idrolisi e policondensazione, con la formazione di gruppi silanolo. Inoltre, la reazione di reticolazione può avvenire in atmosfera inerte o in aria, e le proprietà del rivestimento finale dipenderanno in parte da questa scelta. La trasformazione in silice del polimero avviene anche quando riscaldato a temperature superiori a 450°C. La trasformazione in silice mediante il processo di curing indotto da calore ha il vantaggio di rilasciare gli atomi di carbonio, azoto e idrogeno. La reattività di questo polisilazano è ridotta dalla presenza di sostituenti organici.

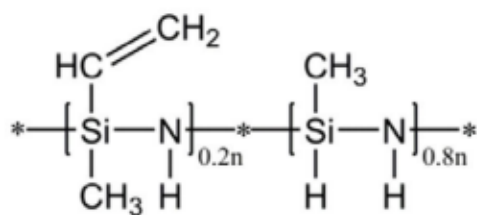


Figura 8: Struttura molecolare del Durazane 1800 [100].

#### 4.2.2 Realizzazione dei rivestimenti

La sintesi dei rivestimenti segue un semplice processo di miscelazione. Nel corso di questo processo partecipano solo due reagenti: il Durazane 1800 e ciascuna delle tre tipologie di nanopolveri realizzate nelle precedenti fasi dello studio (nSiO<sub>2</sub> pura, nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate, nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate). Il protocollo di sintesi dei tre rivestimenti ottenuti è riportato di seguito. Per ciascuna variante di nanopolveri si segue la seguente procedura:

1. Pesatura del Durazane: si prende una provetta e si pesa 1 g di Durazane 1800;
2. Aggiunta delle nanoparticelle: si aggiungono 0,33 g di una delle tre tipologie di nanopolveri (corrispondente al 33% in peso);
3. Miscelazione manuale: si mescola manualmente la soluzione fino a raggiungere un certo livello di omogeneità della stessa (con tempi non superiori ai 30 minuti).

La deposizione dei rivestimenti sui substrati di vetro Soda-Lime è stata effettuata utilizzando una pipetta Pasteur. Successivamente, i vetrini sono stati lasciati riposare all'aria per circa 72 ore, al fine di completare la reticolazione del polimero. Da questo processo si ottengono rispettivamente un coating di  $n\text{SiO}_2$  (nel testo *Dur-nSiO<sub>2</sub>*), un coating di  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  centrifugate (nel testo *Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs C*) e un coating di  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  non centrifugate (nel testo *Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs NC*).

### 4.3 Tecniche di caratterizzazione

Uno degli obiettivi di questo studio è quello di valutare se i campioni ottenuti (nanopolveri e rivestimenti) presentassero o meno determinate caratteristiche e proprietà. In particolare, si vuole valutare se il processo di sintesi descritto nella Sezione 4.1 ha effettivamente prodotto delle NPs di  $\text{SiO}_2$  e, quando richiesto, se si è verificata la formazione delle nanoparticelle d'argento sulla loro superficie. Per quanto riguarda i rivestimenti, si vuole esaminare se le nanoparticelle di silice sono presenti e intatte nella matrice polimerica, e se, come nel caso precedente, sono decorate con argento.

Le tecniche di analisi e caratterizzazione utilizzate su tutti i campioni sono le seguenti:

1. **Microscopia Elettronica a Scansione con Sorgente a Emissione di campo (FESEM):** impiegata per indagare la morfologia superficiale delle NPs e dei rivestimenti;
2. **Spettrometria per Dispersione di Energia (EDS):** strumento di analisi composizionale utilizzato per verificare la presenza di argento nei campioni;
3. **Diffrazione a raggi X (XRD):** permette di fare un'analisi strutturale dei campioni per determinare se l'argento presente è in forma ionica o cristallina.

### 4.4 Test Antibatterici

Per valutare l'attività antibatterica, prima della  $n\text{SiO}_2$  decorata con AgNPs e successivamente dei rivestimenti, è stato eseguito un test dell'alone di inibizione (NCCLS M2-A9) [101]. In questo test, si valuta qualitativamente la formazione di un'area priva di batteri attorno al campione a contatto con un certo ceppo batterico. In questo lavoro di tesi, il ceppo batterico utilizzato è lo *Staphylococcus epidermidis*.

Per effettuare il test viene preparato un brodo batterico con un indice di torbidità McFarland pari a 0.5, che corrisponde ad una specifica concentrazione di batteri per volume di sospensione (circa 108 unità formanti colonie (CFU) per ml). La soluzione batterica viene uniformemente distribuita su una piastra di Agar Mueller-Hinton. Una volta che le colonie batteriche sono cresciute sulla piastra, vengono posizionati i campioni. Per la valutazione delle nanopolveri

sono stati preparati dei pellet mediante l'utilizzo di una pressa. Per quanto riguarda i rivestimenti, la parte di vetrino rivestita viene posizionata in contatto con la piastra. La piastra viene quindi posta in incubatore alla temperatura di 37°C. Infine, dopo 24 e 48 ore, si valuta se l'effetto antimicrobico dei campioni è tale da formare un alone privo di batteri.

La valutazione del potere antimicrobico delle nanopolveri è stata condotta su tre campioni. Il primo campione, ovvero il controllo, è composto da nSiO<sub>2</sub> pura. Il secondo campione è costituito da nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate e il terzo campione da nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate. Per quanto riguarda i test antibatterici dei rivestimenti sono stati preparati altrettanti tre campioni. Il campione di controllo è il substrato rivestito da *Dur-nSiO<sub>2</sub>*, il secondo è il vetrino su cui è stato depositato il coating di *Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs C*, mentre il terzo è il campione rivestito con *Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs NC*.



## 5 Risultati

### 5.1 Nanoparticelle di silice decorate con AgNPs

Al termine del processo di sintesi, le nanoparticelle di silice ottenute si presentano sotto forma di nanopolveri (Fig.9). Dopo il trattamento termico in stufa, queste polveri, precedentemente contenute in un becher, si compattano in uno o più blocchi (vedi Fig.9a). Per separarle adeguatamente, si utilizzano un pestello e un mortaio. La Fig.9b mostra le nanopolveri una volta che sono state schiacciate e suddivise in grani più piccoli. Le nanoparticelle sono caratterizzate da una colorazione bianca (probabilmente legata alla loro trasformazione in ceramico).

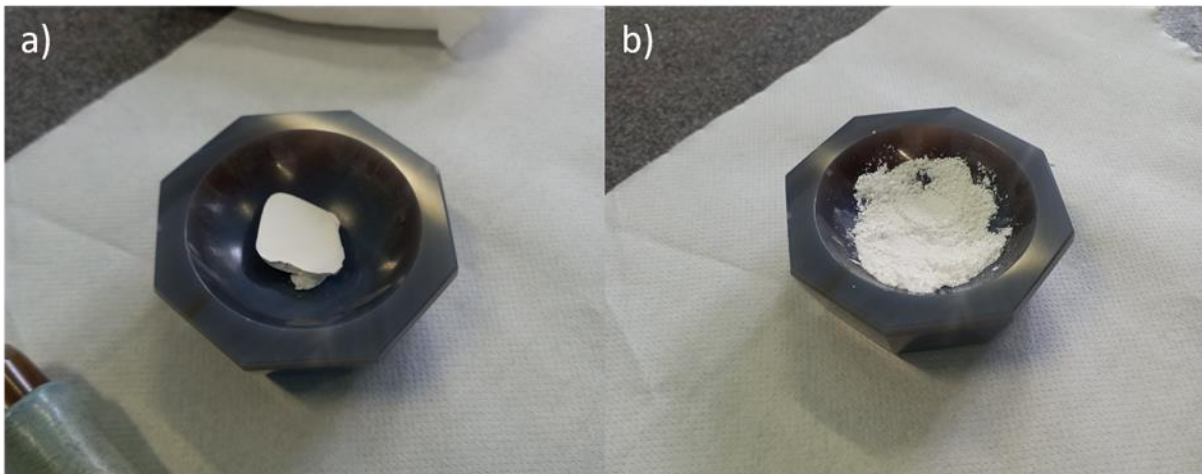


Figura 9: (a) blocco di  $n\text{SiO}_2$  dopo l'essiccazione in stufa, (b) nanopolveri di  $\text{SiO}_2$  separate con pestello e mortaio.

Un indicatore qualitativo dell'avvenuta nucleazione delle nanoparticelle d'argento è la colorazione marrone delle nanopolveri (Fig.10). Ad alte temperature, infatti, il nitrato d'argento subisce una decomposizione termica che porta alla formazione di biossido di azoto, ossigeno molecolare e argento metallico; tra i prodotti di reazione è proprio l'argento metallico ad assumere una colorazione che varia tra il grigio e il nero. Le Figure 10a e 10b mostrano rispettivamente le  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  centrifugate e le  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  non centrifugate. È evidente una differenza di tonalità tra le due: le nanoparticelle sottoposte a centrifuga mostrano un marrone più scuro rispetto alle altre.

Per poter fare delle considerazioni sulla differenza nella quantità di argento depositata, la semplice valutazione della colorazione non è sufficiente.



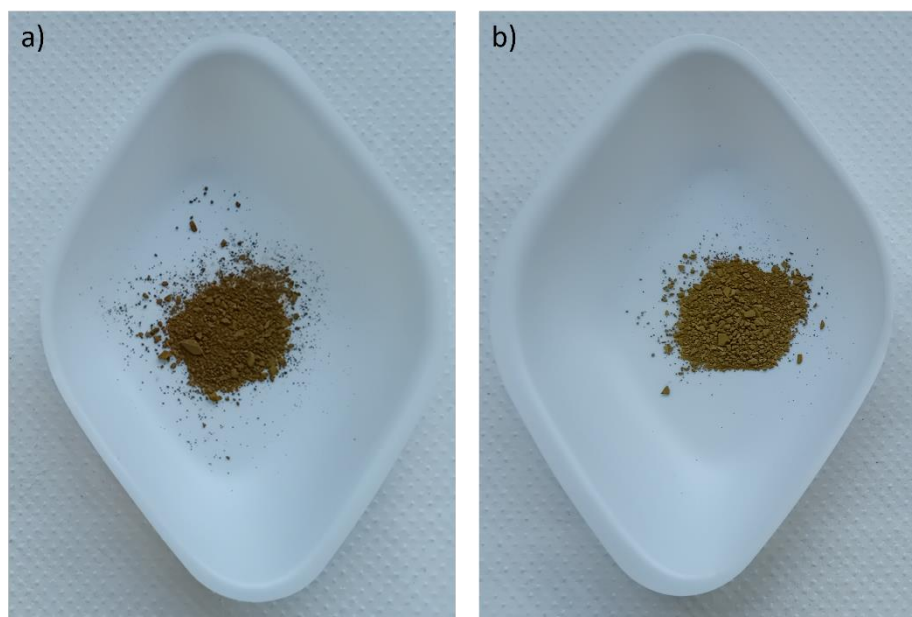


Figura 10: (a) nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate, (b) nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate.

### 5.1.1 Analisi morfologica e composizionale

Le micrografie FESEM relative alle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs sono state riportate in Fig.11 e 12.

Dalle immagini è possibile notare che il protocollo di sintesi descritto precedentemente permette di ottenere delle nSiO<sub>2</sub> sferiche e in una certa misura monodisperse, la maggior parte di diametro compreso tra i 200 e i 300 nm. Nel caso delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate, si osservano ridotti fenomeni di aggregazione (Fig.11a).

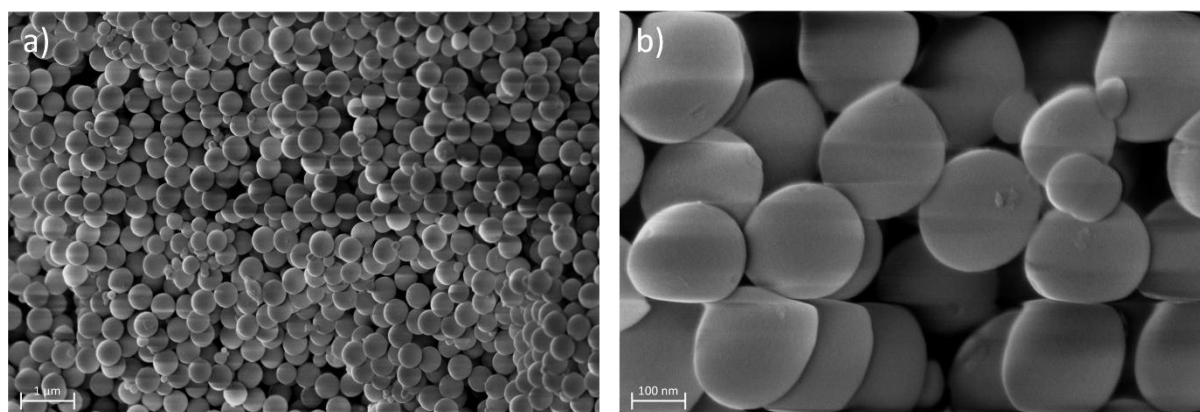


Figura 11: micrografia FESEM delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate (a) 10.00kX, (b) 50.00kX.

Tuttavia, le dimensioni e la forma delle nSiO<sub>2</sub> che non sono state sottoposte a dei passaggi di centrifugazione sono molto simili a quelle mostrate in Fig.12. Anch'esse presentano una scarsa aggregazione e sono relativamente monodisperse, come evidenziato nella Fig.12a.

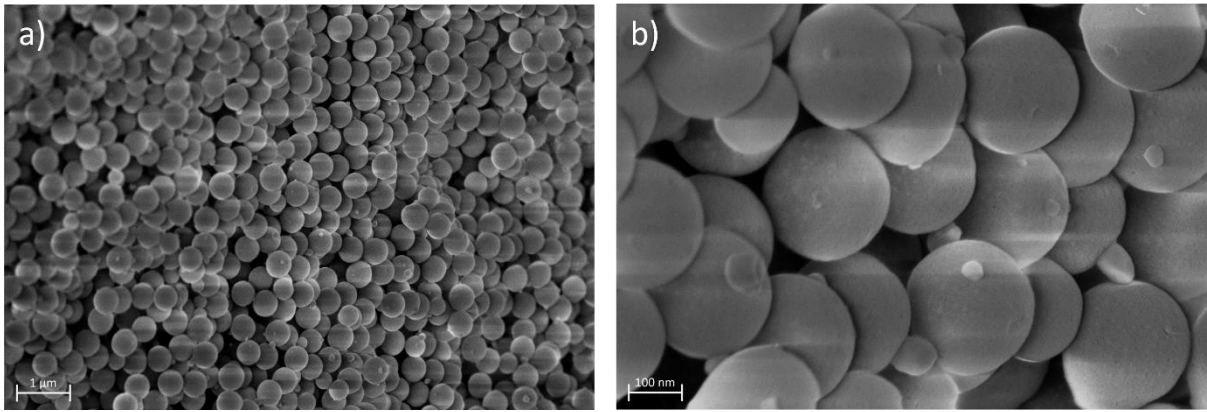


Figura 12: micrografia FESEM delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate (a) 10.00kX, (b) 50.00kX.

Le caratteristiche delle nanoparticelle di silice nSiO<sub>2</sub> ottenute sfruttando il protocollo ottimizzato nello studio di *Miola et al.* presentano un diametro minore rispetto alle nanoparticelle di biovetro, sono meno sferiche e sono meno monodisperse. Questa relazione è sicuramente legata al fatto che maggiore è il diametro, tanto più risulta facile ottenere delle NPs monodisperse [98].

L'analisi delle micrografie non consente di determinare con certezza la presenza o l'assenza dell'argento. Inoltre, nel caso in cui si fosse riusciti a decorare la nSiO<sub>2</sub>, non è nemmeno possibile stabilire se l'argento introdotto sulla loro superficie sia in forma ionica o cristallina. Tuttavia, è noto che le AgNPs possono avere un diametro compreso tra i 20 nm e i 50 nm. Nella Fig.13 sono evidenziate strutture simili a nanoparticelle con dimensioni che rientrano nei range di quelle precedentemente citate. Un'altra osservazione importante è che, nel caso delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate, queste strutture sono presenti in numero maggiore rispetto a quelle centrifugate (Fig.13b). Questo aspetto verrà ulteriormente approfondito nelle successive analisi composizionali.

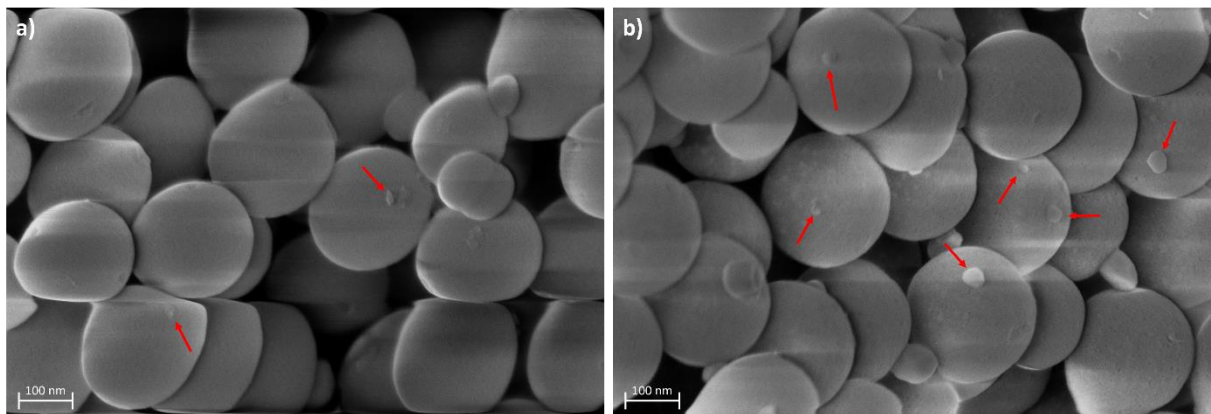


Figura 13: micrografia FESEM a 50.00kX delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs (a) centrifugate, (b) non centrifugate. Le frecce rosse indicano possibili strutture particellari che possono essere ricondotte a AgNPs.

Gli spettri EDS riportano la composizione delle nanopolveri ottenute. Nel caso delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate, i risultati sono riportati nella Tab.4, accompagnata dalla Fig.14, dove si evidenziano le aree del analizzate.

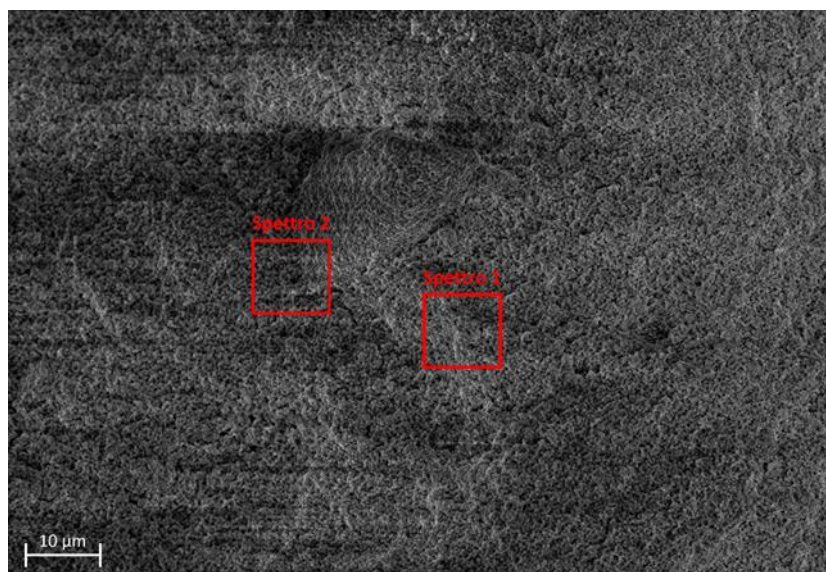


Figura 14: immagine FESEM associata all'analisi EDS delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate. Gli spettri EDS sono stati ottenuti dalle aree analizzate nei riquadri rossi.

L'EDS delle nanopolveri centrifugate rivela i principali componenti di interesse: silicio (Si), argento (Ag) e ossigeno (O). Questi risultati suggeriscono che, coerentemente con la colorazione marrone delle nanoparticelle, il processo di sintesi permette di ottenere quantità di argento depositate sulla superficie della nSiO<sub>2</sub> non trascurabili.

Tabella 4: percentuale atomica del silicio, dell'argento e dell'ossigeno presenti nelle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate (C) e delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate (NC) ottenute dall'analisi EDS.

	% Atomica		
	Si	Ag	O
<b>nSiO<sub>2</sub>-AgNPs C</b>	32,02 ± 0,15	2,64 ± 0,30	65,35 ± 0,15
<b>nSiO<sub>2</sub>-AgNPs NC</b>	31,14 ± 0,01	4,40 ± 0,02	64,47 ± 0,01

Per comodità, nelle tabelle vengono riportati solo Si, Ag e O, ma all'interno del campione sono presenti anche altri elementi come azoto e carbonio, sottoprodotti delle reazioni di idrolisi, di policondensazione (processo sol-gel) e decomposizione termica del nitrato d'argento. I livelli di ossigeno potrebbero non corrispondere ai valori reali. Poiché l'ossigeno è un elemento molto leggero, questo tipo di analisi composizionale potrebbe non essere adeguata per quantificarne la presenza. Tuttavia, è evidente che la presenza di ossigeno nei campioni indichi la formazione di silice e non solo di silicio.



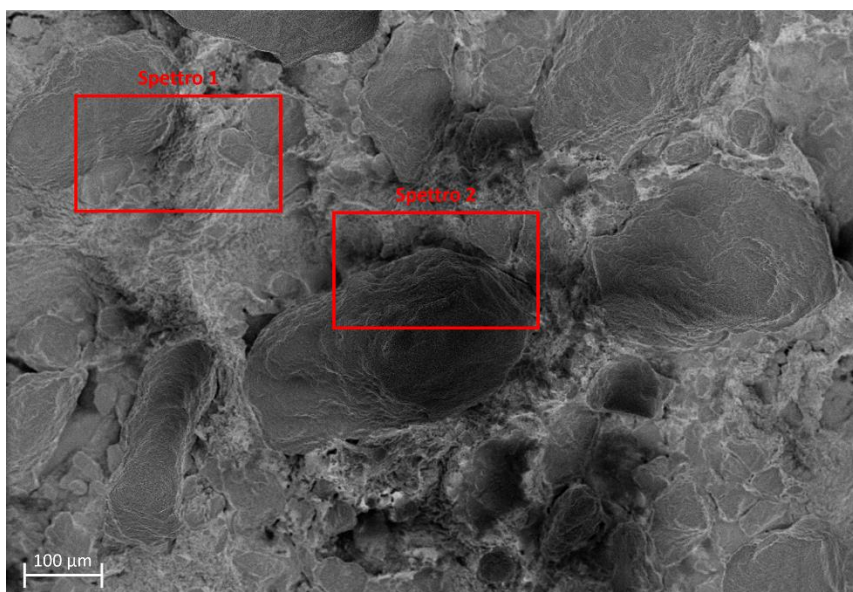


Figura 15: immagine FESEM associata all'analisi EDS delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate. Gli spettri EDS sono stati ottenuti dalle aree analizzate nei riquadri rossi.

La stessa analisi viene fatta anche sulle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate (Fig.15, Tab.4). La quantità di argento risulta essere quasi il doppio rispetto alle nanopolveri che hanno seguito i passaggi di centrifugazione. Questo suggerisce che la colorazione più scura delle nanoparticelle centrifugate non è intrinsecamente correlata ad una maggiore quantità di argento. Si suppone che, nella rimozione del surnatante, sia stato a sua volta rimosso parte del nitrato d'argento disciolto in soluzione; questo potrebbe spiegare perché le nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate presentano una maggiore quantità di nSiO<sub>2</sub> funzionalizzate con argento metallico.

### 5.1.2 Analisi strutturale

La diffrazione a raggi X è una tecnica molto utile per analizzare la struttura e le fasi presenti nei materiali cristallini e identificare la disposizione degli atomi nel cristallo. La presenza di argento nelle nSiO<sub>2</sub> è stata già confermata. Ora si desidera determinare se l'argento si trova in forma ionica o cristallina.

L'argento cristallino presenta un arrangiamento regolare degli atomi all'interno del suo reticolo. Di seguito sono riportati i valori di  $2\theta$  (detti anche angoli di Bragg) relativi alla struttura cristallina cubica a facce centrate dell'argento (Reference code: 01-087-0719) [102]:

1. Piano (111):  $2\theta = 38,262^\circ$ ;
2. Piano (200):  $2\theta = 44,473^\circ$ ;
3. Piano (220):  $2\theta = 64,713^\circ$ ;
4. Piano (311):  $2\theta = 77,741^\circ$ ;
5. Piano (222):  $2\theta = 81,910^\circ$ .

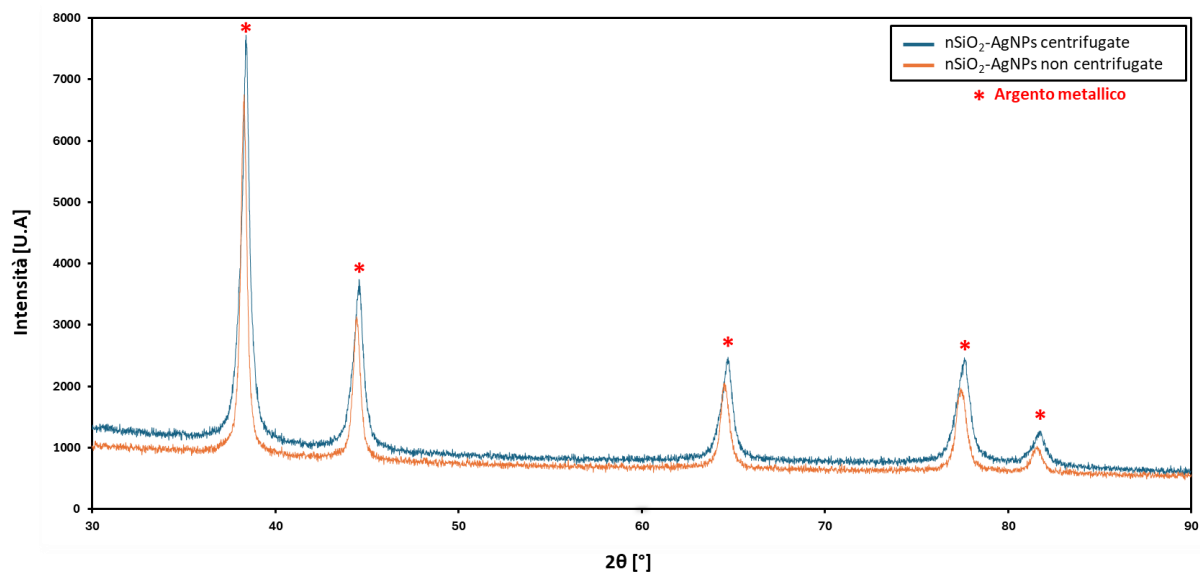


Figura 16: Spettro XRD delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate (curva blu) e delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate (curva arancione).

Nella Fig.16 è illustrato lo spettro delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate e delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate. La presenza di argento in forma cristallina è confermata dalla chiara evidenza dei cinque picchi di Bragg precedentemente menzionati. Ciò dimostra che il protocollo di sintesi è in grado, non solo di portare alla formazione di nSiO<sub>2</sub>, ma di essere ulteriormente in grado di decorarla con AgNPs.

### 5.1.3 Test Antibatterici

Il test dell'alone di inibizione è stato utilizzato per valutare se la presenza di argento all'interno delle nSiO<sub>2</sub> fosse in grado di inibire la crescita del ceppo batterico *S. epidermidis*. La procedura di preparazione dei campioni e l'esecuzione del test sono state precedentemente descritte. I due gruppi di campioni, uno costituito da nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate e l'altro da nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate, sono stati incubati a contatto con la piastra di batteri. Inoltre, è stato incluso un campione contenente solo nSiO<sub>2</sub>, necessario per confrontare eventuali effetti antibatterici.

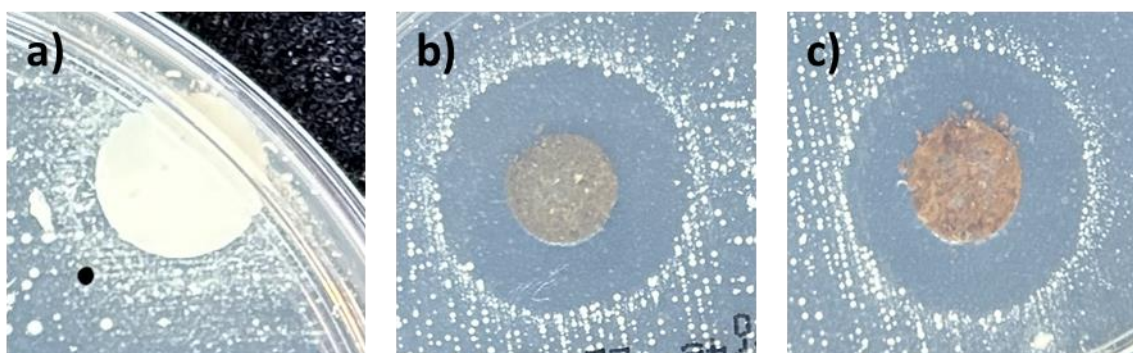


Figura 17: risultati del Test dell'alone Antibatterico dopo 24 h di incubazione a 37°C per (a) nSiO<sub>2</sub> pura, (b) nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate, (c) nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate.

La Fig.17 evidenzia che, dopo 24 h di incubazione a 37°C, intorno ai campioni di nanosilice decorati con AgNPs si è formato un alone di inibizione. Questo indica che la carica antibatterica delle nanopolveri è tale da inibire la crescita dei batteri nelle vicinanze dei campioni stessi. Il gruppo di controllo, privo di agente antibatterico, ha mostrato una crescita di batteri sulla sua superficie, coerentemente con le sue proprietà.

È importante notare che l'azione antibatterica persiste efficacemente anche dopo le 48 ore di incubazione dei campioni con lo *S. Epidermidis*, come illustrato dalla Fig.18. Questi risultati suggeriscono che le nanoparticelle di silice decorate con AgNPs potrebbero essere promettenti nanomateriali per applicazioni antibatteriche.

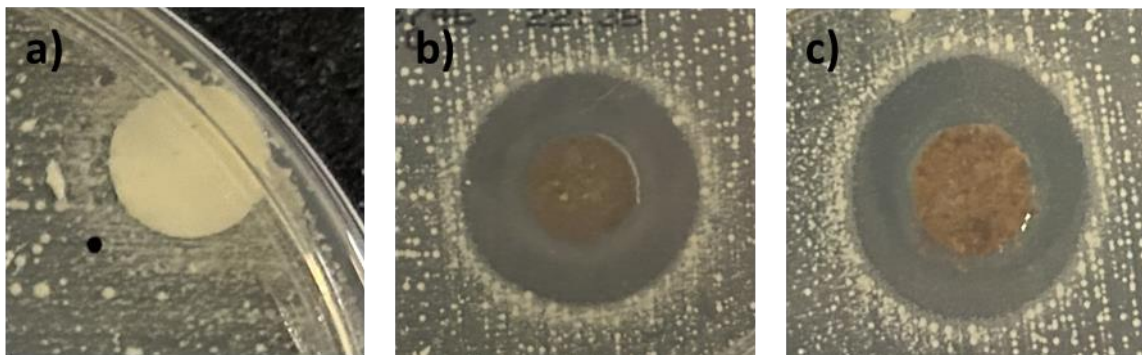


Figura 18: risultati del Test dell'alone Antibatterico dopo 48 h di incubazione a 37°C per (a) nSiO<sub>2</sub> pura, (b) nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate, (c) nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate.

## 5.2 Rivestimenti di silice funzionalizzati con nSiO<sub>2</sub>-AgNPs

La sintesi dei rivestimenti non segue un protocollo complesso come nel caso delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs. Tuttavia, la sfida principale consiste nell'ottenere una miscela finale estremamente omogenea delle nanoparticelle e del polimero pre-ceramico (Durazane 1800), che funge da precursore della silice. È essenziale evitare la dissoluzione o danni alle nSiO<sub>2</sub> e garantire l'incapsulamento efficace delle stesse insieme alle AgNPs, necessarie per conferire l'effetto antibatterico dei rivestimenti. La miscelazione manuale della soluzione ha permesso di raggiungere un livello accettabile di omogeneità, lavorando continuamente per 30 min. I substrati scelti per la deposizione dei rivestimenti sono dei vetri soda-lime. I tre coating ottenuti rispettivamente mescolando il Durazane con nSiO<sub>2</sub> pura, nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate e nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate sono stati depositati a goccia sul substrato.

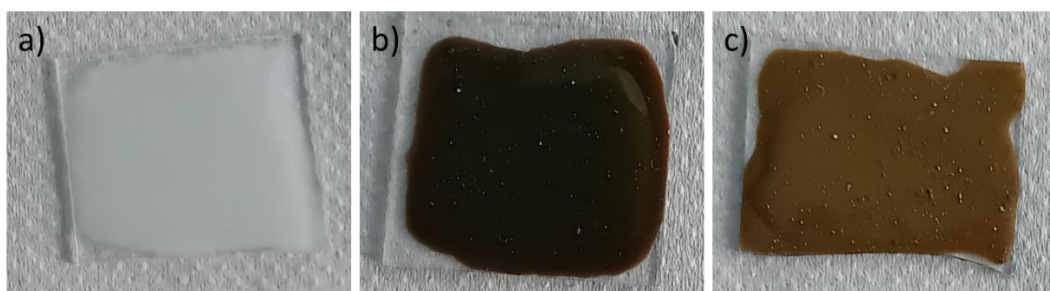


Figura 19: substrati di vetro Soda-Lime rivestiti da silice ottenuta a partire dal precursore pre-ceramico Durazane 1800 funzionalizzato con (a) nSiO<sub>2</sub>, (b) nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate, (c) nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate.

Nella Fig.19 si osserva come appaiono i rivestimenti dopo aver atteso il tempo di trasformazione del Durazane 1800 in una matrice di polisilazano-silice (circa 72 h). È evidente che la differenza di tonalità tra le due tipologie di nanopolveri decorate con Ag si mantiene anche nel caso dei rivestimenti (le  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  centrifugate risultano di un colore marrone più scuro). Tuttavia, a causa dell'utilizzo della pipetta Pasteur, il rivestimento sul substrato non è uniforme su tutta la sua superficie, rendendo necessaria l'ottimizzazione della procedura di deposizione.

### 5.2.1 Analisi morfologica e composizionale

Analizzando le micrografie FESEM riportate nelle Fig.20-21, si nota che le  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  sono state integrate e incorporate in modo efficace nella matrice del rivestimento di silice, risultando ben disperse. Sebbene la forma delle nanoparticelle sembri essere rimasta sferica, il loro diametro mostra un leggero aumento, oscillando tra 400 e 600 nm. Questo fenomeno potrebbe essere attribuito all'interazione tra la nanosilice e la silice derivata dal precursore polimerico.

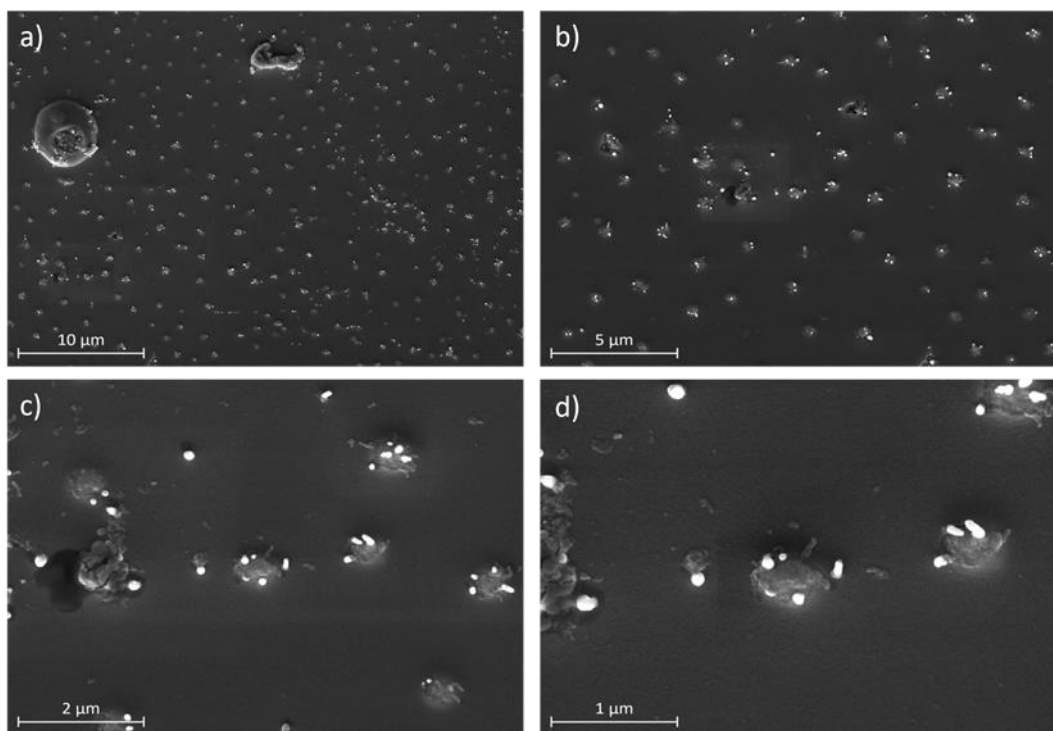


Figura 20: micrografia FESEM delle rivestimenti di silice funzionalizzati con  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  centrifugate (a) 5.00kX, (b) 10.00kX, (c) 30.00kX, (d) 50.00kX.

Confrontando la Fig.20c con la Fig.21c, si nota che la forma e la distribuzione delle  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  non centrifugate disperse nella matrice di polisilazano, sembrano più regolari e omogenee rispetto a quelle centrifugate.



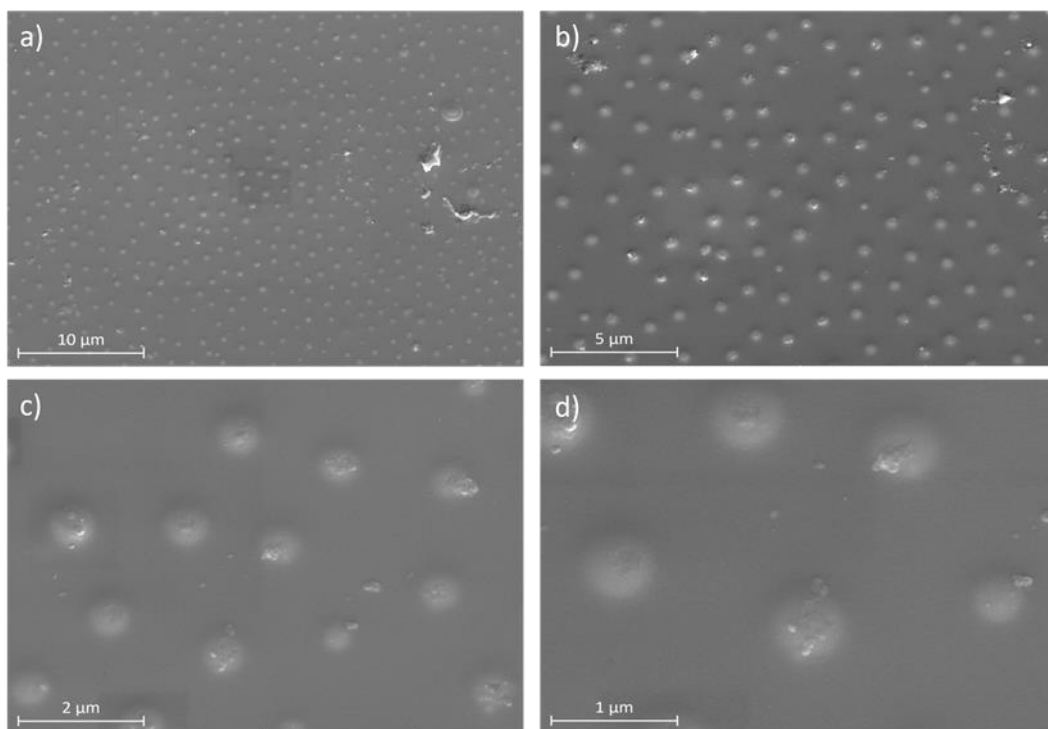


Figura 21: micrografia FESEM delle rivestimenti di silice funzionalizzati con nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate (a) 5.00kX, (b) 10.00kX, (c) 30.00kX, (d) 50.00kX.

Osservando la Fig.22, si evidenzia la presenza di nanoparticelle più brillanti soprattutto nel rivestimento contenente le nanoparticelle centrifugate (Fig.22a).

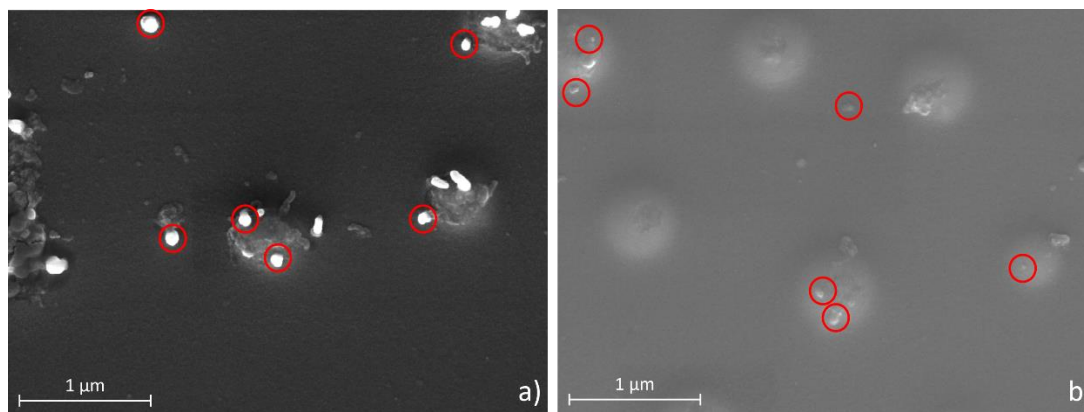


Figura 22: micrografia FESEM a 50.00kX dei rivestimenti di silice ottenuti miscelando il Durazane 1800 con le (a) nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate, (b) nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate. Le circonferenze rosse indicano possibili strutture particellari che possono essere ricondotte a AgNPs.

Per confermare la presenza delle AgNPs osservate in Figura 22, è stata effettuata un'analisi composizionale sia di area che puntuale mediante EDS (Fig.24-25). Inizialmente, è stata valutata la composizione dei rivestimenti di silice funzionalizzati con nSiO<sub>2</sub> pura. La Fig.23 mostra i punti da cui si sono ottenuti gli spettri EDS e nella Tab.5 sono riportati i risultati dell'analisi. È importante notare che nell'analisi non è stato rilevato argento.



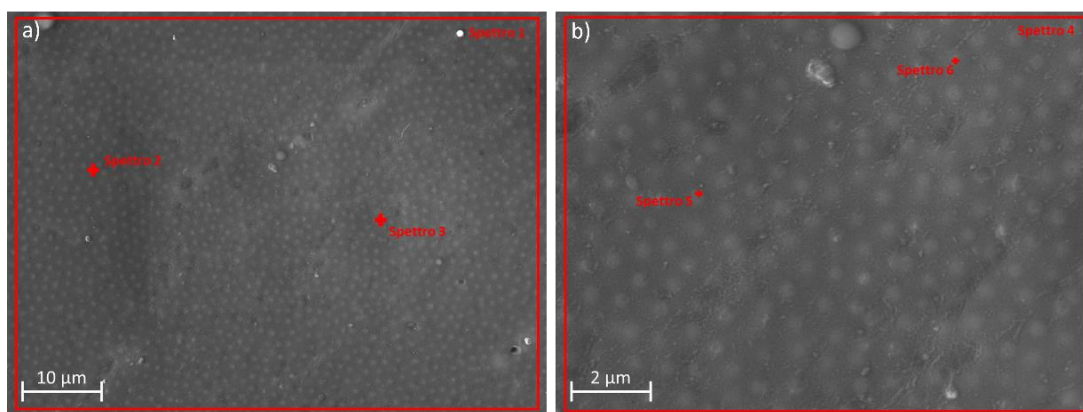


Figura 23: immagine FESEM associata all'analisi EDS dei rivestimenti funzionalizzati con nSiO<sub>2</sub>. Gli spettri EDS sono stati ottenuti dai riquadri e dalle croci rosse.

Tabella 5: percentuale atomica del silicio, dell'argento e dell'ossigeno presenti nei rivestimenti Dur-nSiO<sub>2</sub>, Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate (C) e Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate (NC), ottenute dall'analisi di area EDS.

	% Atomica		
	Si	Ag	O
<b>Dur-nSiO<sub>2</sub></b>	34,73 ± 0,75	0,00 ± 0,00	18,87 ± 1,00
<b>Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs C</b>	33,82 ± 1,70	0,18 ± 0,00	19,67 ± 1,26
<b>Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs NC</b>	58,22	0,41	14,91

Nel caso dei rivestimenti funzionalizzati con nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate e non centrifugate, la Tab.5 indica che l'argento è ancora presente nei rivestimenti. Tuttavia, miscelando solo una piccola parte delle nanopolveri, il tenore di argento risulta minore rispetto alle precedenti analisi EDS.

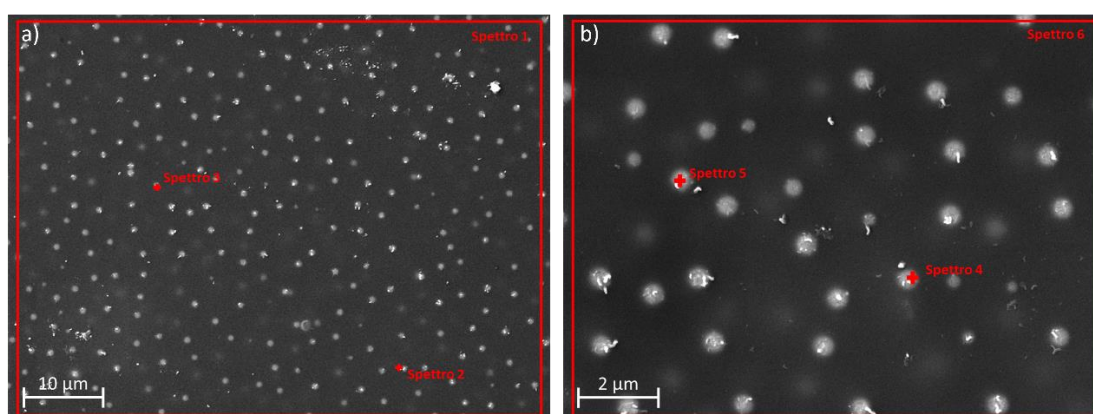


Figura 24: immagini FESEM associate all'analisi EDS dei rivestimenti funzionalizzati con nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate. Gli spettri EDS sono stati ottenuti dai riquadri e dalle croci rosse.

Come precedentemente osservato, i rivestimenti funzionalizzati con nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate contengono una maggiore quantità di argento rispetto all'altra variante (vedi Tab.5-6).

Tabella 6: percentuale atomica dell'argento presente nei rivestimenti Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate (C) e Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate (NC), ottenuta dall'analisi puntuale EDS.

	Ag (% Atomica)	
	Dur-nSiO <sub>2</sub> -AgNPs C	Dur-nSiO <sub>2</sub> -AgNPs NC
<b>Spettro 2</b>	1,36	1,89
<b>Spettro 3</b>	1,01	1,37
<b>Spettro 4</b>	0,95	1,92
<b>Spettro 5</b>	1,09	1,14

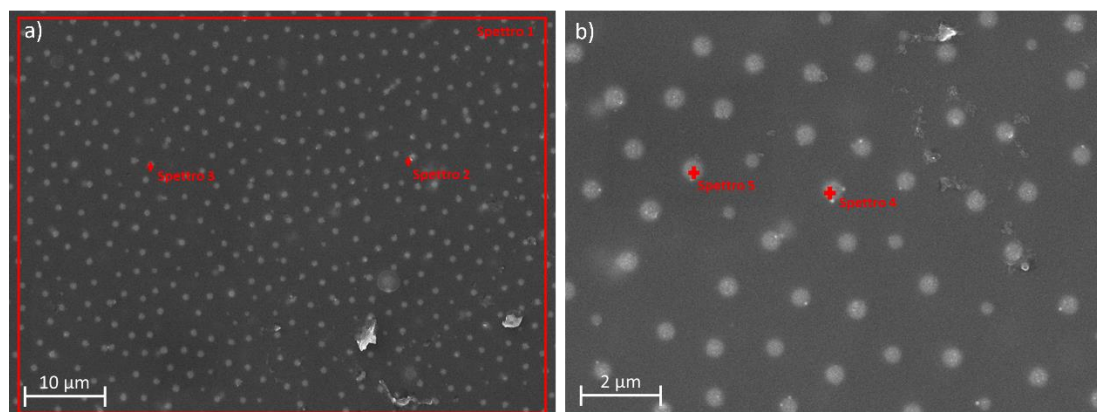


Figura 25: immagine FESEM associata all'analisi EDS dei rivestimenti funzionalizzati con nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate. Gli spettri EDS sono stati ottenuti dai riquadri e dalle croci rosse.

Confrontando questi risultati con il lavoro di *Luceri et al.*, il valor medio della quantità di argento contenuta nei rivestimenti ottenuti con la tecnica del co-sputtering è paragonabile ai valori ottenuti durante questo studio [96]. Nonostante ciò, la deviazione standard risulta più alta. Questa differenza potrebbe derivare dal fatto che il rivestimento depositato tramite co-sputtering si distribuisce in modo più uniforme ed omogeneo.

### 5.2.2 Analisi strutturale

La Fig.26 mostra i risultati dell'analisi dei rivestimenti funzionalizzati con le sole nSiO<sub>2</sub> e con le SiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate e non centrifugate. Sono chiaramente visibili tutti i picchi di Bragg relativi alla presenza di argento metallico nel campione, mentre, coerentemente con la sua struttura, sono assenti nello spettro del rivestimento Dur-nSiO<sub>2</sub>.

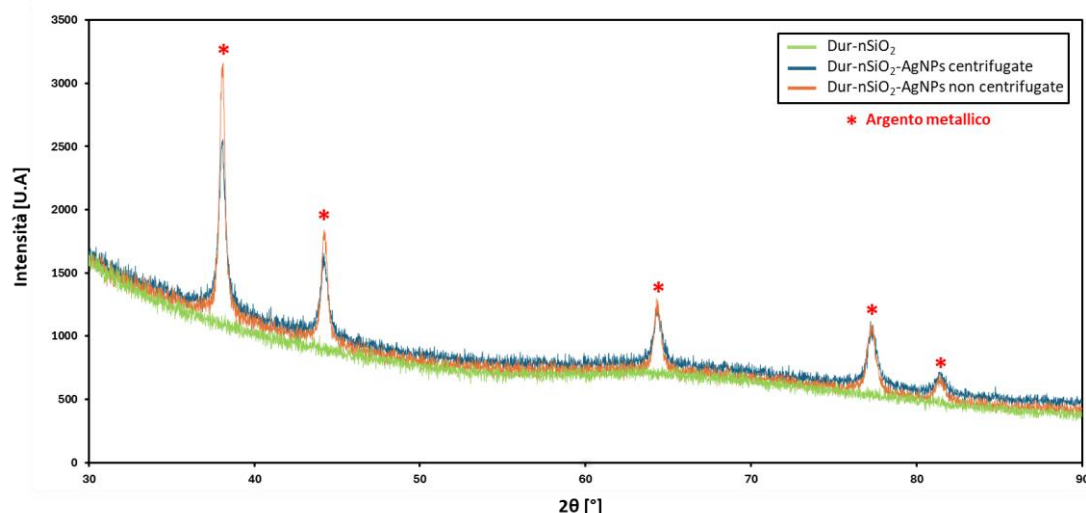


Figura 26: Spettro XRD dei rivestimenti Dur-nSiO<sub>2</sub> (curva verde), Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate (curva blu) e Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate (curva arancione).

La sintesi dei rivestimenti non altera le proprietà delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs; piuttosto, le incorpora senza apportare modifiche o danni alle AgNPs. Il processo di rivestimento non compromette le caratteristiche essenziali delle nanoparticelle d'argento, consentendo alle stesse di mantenere le loro proprietà cristalline e funzionali, importanti per garantire l'efficacia antimicrobica che conferiscono al coating.

### 5.2.3 Test Antibatterici

In linea con i test antibatterici condotti sulle nanopolveri, sono stati preparati due gruppi di campioni per i rivestimenti. Un vetrino è stato rivestito con uno strato di silice funzionalizzata con nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate, mentre su un altro vetrino è stato depositato un rivestimento di silice funzionalizzato con nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate. Come campione di controllo, è stato utilizzato un vetrino rivestito da un coating di silice funzionalizzata con nSiO<sub>2</sub>. Si è prestato attenzione a posizionare solo la parte di substrato rivestito a contatto con la piastra di *S. epidermidis*.

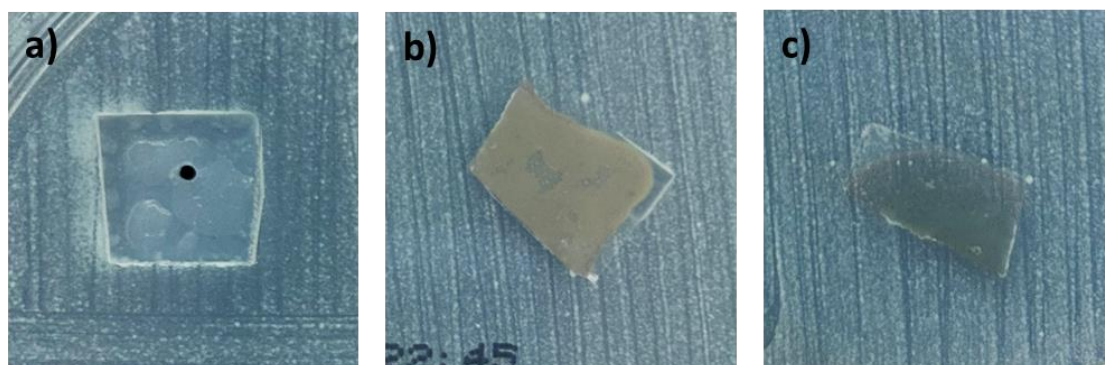


Figura 27: risultati del Test dell'alone Antibatterico dopo 24 h di incubazione a 37 °C per i rivestimenti (a) Dur-nSiO<sub>2</sub>, (b) Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate, (c) Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate.

Dopo 24 h di incubazione a 37°C, non è stato riscontrato nessun effetto antibatterico nei rivestimenti (Fig.27). Le colonie batteriche sono cresciute allo stesso modo sulla superficie di tutti e tre i campioni.

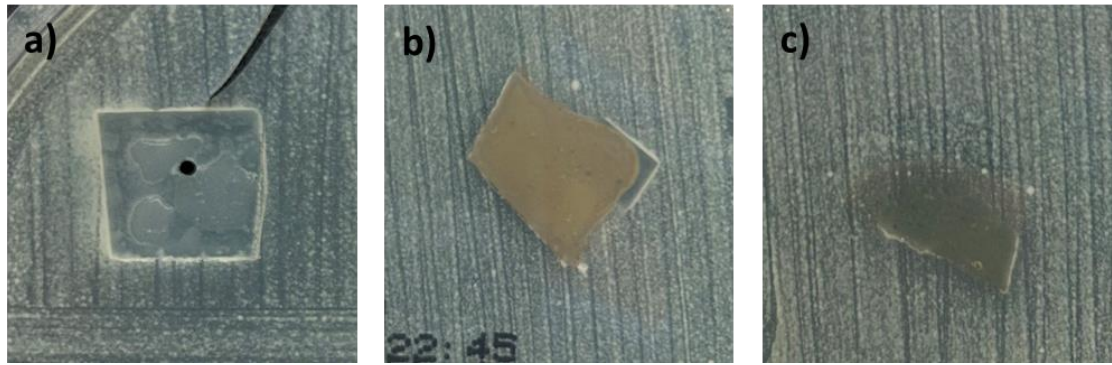


Figura 28: risultati del Test dell'alone Antibatterico dopo 48 h di incubazione a 37°C per i rivestimenti (a) Dur-nSiO<sub>2</sub>, (b) Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs non centrifugate, (c) Dur-nSiO<sub>2</sub>-AgNPs centrifugate.

Anche dopo 48 h di incubazione, la situazione è medesima e non si è formato alcun alone di inibizione attorno ai campioni contenenti AgNPs (Fig.28).

A differenza delle nSiO<sub>2</sub>-AgNPs, le proprietà antibatteriche non sono state mantenute una volta che sono state miscelate con il precursore polimerico della silice. Questo potrebbe essere dovuto ad una quantità di argento presente nei rivestimenti troppo bassa per contrastare la crescita dei batteri o al fatto che gli ioni argento rilasciati dal rivestimento non riescono a diffondere nella matrice e raggiungere la superficie dello stesso. La matrice di polisilazano-silice, pur avendo proprietà meccaniche e di barriera molto elevate, è densa e priva di porosità, il che significa che le AgNPs sono ben protette, ma il rilascio di ioni è prevalentemente confinato all'interno della matrice in cui sono incapsulate.

Per determinare quale delle due ipotesi sia più verosimile, è necessario condurre ulteriori test. Un approccio utile per indagare se il rivestimento rilascia ioni argento è il test di rilascio ionico in acqua. Se il rilascio di ioni in soluzione fosse trascurabile, si può considerare l'opzione di aumentare la porosità della matrice del rivestimento attraverso un trattamento di curing ad alta temperatura e quindi ripetere i test antibatterici. Tuttavia, se il processo di curing rendesse i rivestimenti antibatterici, sarebbe necessario considerare che i coating potrebbero essere depositati solo su materiali in grado di resistere a elevate temperature. Questo potrebbe limitare i vantaggi del rivestimento legati alla sua sintesi e alla sua deposizione (si lavora a temperatura ambiente, pressione atmosferica e senza utilizzare una specifica strumentazione come nel caso del co-sputtering e dell'electrospinning). Un'ulteriore modifica superficiale, nel caso in cui il trattamento di curing avesse successo, potrebbe essere ottenuta localmente tramite l'utilizzo di un laser che riscaldi il campione solo in piccole aree senza penetrare in profondità.



## 6 Conclusioni e Sviluppi Futuri

In questo lavoro di tesi è stato sviluppato un rivestimento composito a partire da un polimero pre-ceramico funzionalizzato con nanoparticelle inorganiche, per potenziali applicazioni antibatteriche. Il rivestimento di silice è stato ottenuto a partire dal Durazane 1800, un polisilazano organico, nel quale sono state disperse delle nanoparticelle di silice decorate con nanoparticelle di argento ( $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$ ).

La prima parte del lavoro è stata dedicata alla sintesi delle  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$ . La nanosilice è stata ottenuta attraverso un processo sol-gel in ambiente basico, utilizzando il tetraetile ortosilicato (TEOS) come precursore,  $\text{NH}_4\text{OH}$  come catalizzatore, ed etanolo e acqua bidistillata come solventi. Successivamente, la soluzione di  $n\text{SiO}_2$  è stata miscelata con il nitrato di argento ( $\text{AgNO}_3$ ), che, dopo i trattamenti termici, si è decomposto sulla superficie delle nanoparticelle di silice. Le  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$ , alla fine del processo si presentano sotto forma di nanopolveri di colore marrone. Durante la sintesi delle  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  sono stati impiegati due protocolli distinti. L'obiettivo era verificare se dalla soluzione di  $n\text{SiO}_2$  e  $\text{AgNO}_3$ , sottoposta a passaggi in centrifuga, fosse possibile ottenere delle nanoparticelle decorate con una maggiore quantità di argento e se tali passaggi potessero ridurre l'aggregazione delle stesse. Le analisi morfologiche hanno confermato che entrambi i protocolli hanno prodotto delle  $n\text{SiO}_2$  di forma sferica e discretamente monodisperse, senza una grande differenza di forma e dimensione tra le  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  centrifugate e quelle non centrifugate. Da questo punto di vista, i protocolli sono risultati indifferenti.

L'analisi composizionale tramite EDS e l'analisi strutturale XRD hanno confermato la presenza di argento in forma cristallina nelle nanopolveri. In particolare, la quantità di argento nelle  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  non centrifugate risultava quasi il doppio rispetto a quella presente nelle  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  centrifugate. Questa differenza può essere attribuita al fatto che nel protocollo delle  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  centrifugate, parte del nitrato d'argento disciolto in soluzione è stato rimosso insieme al surnatante.

Inoltre, il test dell'alone ha evidenziato il potere antibatterico delle nanopolveri contro il ceppo batterico dello *S. epidermidis*.

Nella seconda fase dello studio, si è proceduto con la sintesi dei rivestimenti funzionalizzati con  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$ . Il processo di sintesi si effettua attraverso la semplice miscelazione del precursore della silice, il Durazane 1800, con il 33% in peso delle nanopolveri. La trasformazione del polisilazano in silice è avvenuta all'aria, sotto cappa, a temperatura ambiente e a pressione atmosferica.

Il sottile rivestimento è stato applicato su un substrato di vetro soda-lime utilizzando una pipetta Pasteur, senza bisogno dell'utilizzo di particolari macchinari o di una specifica strumentazione per la deposizione del coating.

L'analisi microscopica dei rivestimenti ha mostrato che le  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  sono state incapsulate nella matrice polimerica senza subire danni significativi, tranne un aumento di diametro. La presenza di  $\text{AgNPs}$  è stata nuovamente confermata dall'analisi composizionale dei rivestimenti. Le differenze in termini di quantità di argento persistono anche nei rivestimenti quando funzionalizzati con  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  centrifugate rispetto a quelli funzionalizzati con  $n\text{SiO}_2\text{-AgNPs}$  non centrifugate.

I risultati dei test antibatterici condotti sui rivestimenti hanno evidenziato che l'effetto battericida, precedentemente osservato nelle nanopolveri, è stato perduto una volta che queste sono state incapsulate nella matrice di silice. Questo fenomeno potrebbe essere attribuito alla natura intrinseca del coating polimerico. Da un lato, il rivestimento di silice protegge le  $n\text{SiO}_2$ -AgNPs dall'ambiente esterno, ma, dall'altro, essendo poco poroso e molto denso, gli ioni argento rilasciati dalle nanoparticelle non riescono a diffondere fino alla superficie a contatto con la piastra di *S. Epidermidis*.

Tuttavia, ci sono sicuramente dei vantaggi legati all'utilizzo di questi rivestimenti, principalmente legati al fatto che le condizioni di reazioni sono molto semplici da ottenere e replicare (temperatura ambiente, pressione atmosferica ecc.). Questo tipo di coating può essere depositato su una vasta gamma di substrati.

Un aspetto da migliorare riguarda la fase di miscelazione del Durazane 1800 con le nanopolveri. Potrebbe essere utile automatizzare il processo utilizzando dei miscelatori automatici disponibili in commercio. La stessa considerazione può essere fatta sulla fase di deposizione, poiché non permette una distribuzione omogenea del coating sul substrato.

Per chiarire l'assenza dell'effetto antibatterico sono necessari ulteriori studi. Ad esempio, un possibile approccio potrebbe essere il test di rilascio ionico, per valutare quanto argento riesca a diffondere attraverso la matrice del rivestimento. Inoltre, si potrebbero ripetere i test antibatterici dopo aver tentato di aumentare la porosità del coating attraverso un trattamento di curing ad alta temperatura. Tuttavia, va considerato che ciò potrebbe limitare l'utilizzo di substrati che non possono resistere a trattamenti termici. Infine, si potrebbe pensare di aumentare la porosità del rivestimento mediante l'utilizzo di un laser, in grado di riscaldare piccole aree della superficie senza raggiungere temperature elevate vicino al substrato su cui è stato depositato il rivestimento.



## Bibliografia

- [1] A. N. Poudel *et al.*, “The economic burden of antibiotic resistance: A systematic review and meta-analysis,” *PLoS One*, vol. 18, no. 5 May, May 2023, doi: 10.1371/journal.pone.0285170.
- [2] G. Mancuso, A. Midiri, E. Gerace, and C. Biondo, “Bacterial antibiotic resistance: the most critical pathogens,” *Pathogens*, vol. 10, no. 10. MDPI, Oct. 01, 2021. doi: 10.3390/pathogens10101310.
- [3] *WHO Library Cataloguing-in-Publication Data Global Action Plan on Antimicrobial Resistance*. 2015. [Online]. Available: [www.paprika-annecy.com](http://www.paprika-annecy.com)
- [4] “TACKLING DRUG-RESISTANT INFECTIONS GLOBALLY: FINAL REPORT AND RECOMMENDATIONS THE REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE CHAIRED BY JIM O’NEILL,” 2016.
- [5] T. R. Walsh, A. C. Gales, R. Laxminarayan, and P. C. Dodd, “Antimicrobial Resistance: Addressing a Global Threat to Humanity,” *PLoS Medicine*, vol. 20, no. 7. Public Library of Science, Jul. 01, 2023. doi: 10.1371/journal.pmed.1004264.
- [6] A. Orlek, M. F. Anjum, A. E. Mather, N. Stoesser, and A. S. Walker, “Factors associated with plasmid antibiotic resistance gene carriage revealed using large-scale multivariable analysis,” *Sci Rep*, vol. 13, no. 1, Dec. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-29530-y.
- [7] W. C. Reygaert, “An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria,” *AIMS Microbiol*, vol. 4, no. 3, pp. 482–501, 2018, doi: 10.3934/microbiol.2018.3.482.
- [8] L. Sandner-Miranda, P. Vinuesa, A. Cravioto, and R. Morales-Espinosa, “The genomic basis of intrinsic and acquired antibiotic resistance in the genus *Serratia*,” *Front Microbiol*, vol. 9, no. MAY, May 2018, doi: 10.3389/fmicb.2018.00828.
- [9] Y. Ben, C. Fu, M. Hu, L. Liu, M. H. Wong, and C. Zheng, “Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review,” *Environmental Research*, vol. 169. Academic Press Inc., pp. 483–493, Feb. 01, 2019. doi: 10.1016/j.envres.2018.11.040.
- [10] D. Sun, K. Jeannot, Y. Xiao, and C. W. Knapp, “Editorial: Horizontal gene transfer mediated bacterial antibiotic resistance,” *Frontiers in Microbiology*, vol. 10, no. AUG. Frontiers Media S.A., 2019. doi: 10.3389/fmicb.2019.01933.
- [11] A. K. Deva, W. P. Adams, and K. Vickery, “The role of bacterial biofilms in device-associated infection,” *Plast Reconstr Surg*, vol. 132, no. 5, pp. 1319–1328, 2013, doi: 10.1097/PRS.0b013e3182a3c105.
- [12] J. William Costerton, “SESSION I: BIOFILMS IN ORTHOPAEDIC INFECTIONS Biofilm Theory Can Guide the Treatment of Device-Related Orthopaedic Infections,” 2005, doi: 10.1097/01.blo.0000175128.44966.d9.



- [13] L. Hall-Stoodley, J. W. Costerton, and P. Stoodley, “Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases,” *Nature Reviews Microbiology*, vol. 2, no. 2. pp. 95–108, Feb. 2004. doi: 10.1038/nrmicro821.
- [14] J. G. Leid, M. E. Shirtliff, J. W. Costerton, and P. Stoodley, “Human leukocytes adhere to, penetrate, and respond to *Staphylococcus aureus* biofilms,” *Infect Immun*, vol. 70, no. 11, pp. 6339–6345, Nov. 2002, doi: 10.1128/IAI.70.11.6339-6345.2002.
- [15] A. J. Jesaitis *et al.*, “Compromised Host Defense on *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms: Characterization of Neutrophil and Biofilm Interactions,” *The Journal of Immunology*, vol. 171, no. 8, pp. 4329–4339, Oct. 2003, doi: 10.4049/jimmunol.171.8.4329.
- [16] C. A. Fux, J. W. Costerton, P. S. Stewart, and P. Stoodley, “Survival strategies of infectious biofilms,” *Trends in Microbiology*, vol. 13, no. 1. pp. 34–40, Jan. 2005. doi: 10.1016/j.tim.2004.11.010.
- [17] V. K. Plakunov, M. V. Zhurina, A. V. Gannesen, S. V. Mart’yanov, and Y. A. Nikolaev, “Antibiofilm Agents: Terminological Ambiguity and Strategy for Search,” *Microbiology (Russian Federation)*, vol. 88, no. 6, pp. 747–750, Nov. 2019, doi: 10.1134/S0026261719060146.
- [18] H. Koo, R. N. Allan, R. P. Howlin, P. Stoodley, and L. Hall-Stoodley, “Targeting microbial biofilms: Current and prospective therapeutic strategies,” *Nature Reviews Microbiology*, vol. 15, no. 12. Nature Publishing Group, pp. 740–755, Dec. 01, 2017. doi: 10.1038/nrmicro.2017.99.
- [19] M. B. Miller and B. L. Bassler, “QUORUM SENSING IN BACTERIA,” 2001. [Online]. Available: [www.annualreviews.org](http://www.annualreviews.org)
- [20] S. Mishra, A. Gupta, V. Upadhye, S. C. Singh, R. P. Sinha, and D. P. Häder, “Therapeutic Strategies against Biofilm Infections,” *Life*, vol. 13, no. 1. MDPI, Jan. 01, 2023. doi: 10.3390/life13010172.
- [21] S. Y. C. Tong, J. S. Davis, E. Eichenberger, T. L. Holland, and V. G. Fowler, “*Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management,” *Clin Microbiol Rev*, vol. 28, no. 3, pp. 603–661, 2015, doi: 10.1128/CMR.00134-14.
- [22] A. Shariati, M. Dadashi, M. T. Moghadam, A. van Belkum, S. Yaslianifard, and D. Darban-Sarokhalil, “Global prevalence and distribution of vancomycin resistant, vancomycin intermediate and heterogeneously vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* clinical isolates: a systematic review and meta-analysis,” *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-69058-z.
- [23] Y. Guo, G. Song, M. Sun, J. Wang, and Y. Wang, “Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*,” *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 10. Frontiers Media S.A., Mar. 17, 2020. doi: 10.3389/fcimb.2020.00107.
- [24] C. Caneiras, L. Lito, J. Melo-Cristino, and A. Duarte, “Community-and hospital-acquired *Klebsiella Pneumoniae* urinary tract infections in Portugal: Virulence and

- antibiotic resistance,” *Microorganisms*, vol. 7, no. 5, May 2019, doi: 10.3390/microorganisms7050138.
- [25] T. M. Young, A. S. Bray, R. K. Nagpal, D. L. Caudell, H. Yadav, and M. A. Zafar, “Animal model to study klebsiella pneumoniae gastrointestinal colonization and host-to-host transmission,” *Infect Immun*, vol. 88, no. 11, Nov. 2020, doi: 10.1128/IAI.00071-20.
- [26] N. Allocati, M. Masulli, M. F. Alexeyev, and C. Di Ilio, “Escherichia coli in Europe: An overview,” *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 10, no. 12. MDPI, pp. 6235–6254, Nov. 25, 2013. doi: 10.3390/ijerph10126235.
- [27] Q. Quach and T. M. Abdel-Fattah, “Silver Nanoparticles Functionalized Nanosilica Grown over Graphene Oxide for Enhancing Antibacterial Effect,” *Nanomaterials*, vol. 12, no. 19, Oct. 2022, doi: 10.3390/nano12193341.
- [28] S. Mishra, A. Gupta, V. Upadhye, S. C. Singh, R. P. Sinha, and D. P. Häder, “Therapeutic Strategies against Biofilm Infections,” *Life*, vol. 13, no. 1. MDPI, Jan. 01, 2023. doi: 10.3390/life13010172.
- [29] A. Luceri, R. Francese, D. Lembo, M. Ferraris, and C. Balagna, “Silver Nanoparticles: Review of Antiviral Properties, Mechanism of Action and Applications,” *Microorganisms*, vol. 11, no. 3. MDPI, Mar. 01, 2023. doi: 10.3390/microorganisms11030629.
- [30] P. R. More, S. Pandit, A. De Filippis, G. Franci, I. Mijakovic, and M. Galdiero, “Silver Nanoparticles: Bactericidal and Mechanistic Approach against Drug Resistant Pathogens,” *Microorganisms*, vol. 11, no. 2. MDPI, Feb. 01, 2023. doi: 10.3390/microorganisms11020369.
- [31] X. Liu *et al.*, “Biosynthesis of silver nanoparticles with antimicrobial and anticancer properties using two novel yeasts,” *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-95262-6.
- [32] S. Shaikh *et al.*, “Mechanistic insights into the antimicrobial actions of metallic nanoparticles and their implications for multidrug resistance,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 10. MDPI AG, May 02, 2019. doi: 10.3390/ijms20102468.
- [33] J. Jin, Y. Wu, L. Liang, Y. Wei, X. Zheng, and Y. Chen, “Altering silver nanoparticles-induced inhibition to bacterial denitrification via visible light by regulating silver transformation and adaptive mechanism under anaerobic conditions,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 452, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.cej.2022.139268.
- [34] C. Liao, Y. Li, and S. C. Tjong, “Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 2. MDPI AG, Jan. 02, 2019. doi: 10.3390/ijms20020449.
- [35] T. C. Dakal, A. Kumar, R. S. Majumdar, and V. Yadav, “Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles,” *Front Microbiol*, vol. 7, no. NOV, Nov. 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.01831.

- [36] R. Arif and R. Uddin, "A review on recent developments in the biosynthesis of silver nanoparticles and its biomedical applications," *Med Devices Sens*, vol. 4, no. 1, Feb. 2021, doi: 10.1002/mds3.10158.
- [37] Y. Qing *et al.*, "Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 13. Dove Medical Press Ltd., pp. 3311–3327, Jun. 05, 2018. doi: 10.2147/IJN.S165125.
- [38] V. T. Noronha *et al.*, "Silver nanoparticles in dentistry," *Dental Materials*, vol. 33, no. 10. Elsevier Inc., pp. 1110–1126, Oct. 01, 2017. doi: 10.1016/j.dental.2017.07.002.
- [39] D. Mukundan, R. Mohankumar, and R. Vasanthakumari, "Comparative study of synthesized silver and gold nanoparticles using leaves extract of *Bauhinia tomentosa* Linn and their anticancer efficacy," *Bulletin of Materials Science*, vol. 40, no. 2, pp. 335–344, Apr. 2017, doi: 10.1007/s12034-017-1376-2.
- [40] T. G. Meikle, B. P. Dyett, J. B. Strachan, J. White, C. J. Drummond, and C. E. Conn, "Preparation, Characterization, and Antimicrobial Activity of Cubosome Encapsulated Metal Nanocrystals," *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 12, no. 6, pp. 6944–6954, Feb. 2020, doi: 10.1021/acsami.9b21783.
- [41] S. Pal, Y. K. Tak, and J. M. Song, "Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*," *Appl Environ Microbiol*, vol. 73, no. 6, pp. 1712–1720, Mar. 2007, doi: 10.1128/AEM.02218-06.
- [42] A. Taraszkiwicz, G. Fila, M. Grinholc, and J. Nakonieczna, "Innovative strategies to overcome biofilm resistance," *BioMed Research International*, vol. 2013. Hindawi Limited, 2013. doi: 10.1155/2013/150653.
- [43] Y. Y. Loo *et al.*, "In Vitro antimicrobial activity of green synthesized silver nanoparticles against selected Gram-negative foodborne pathogens," *Front Microbiol*, vol. 9, no. JUL, Jul. 2018, doi: 10.3389/fmicb.2018.01555.
- [44] T. Bruna, F. Maldonado-Bravo, P. Jara, and N. Caro, "Silver nanoparticles and their antibacterial applications," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 13. MDPI, Jul. 01, 2021. doi: 10.3390/ijms22137202.
- [45] I. X. Yin, J. Zhang, I. S. Zhao, M. L. Mei, Q. Li, and C. H. Chu, "The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 15. Dove Medical Press Ltd., pp. 2555–2562, 2020. doi: 10.2147/IJN.S246764.
- [46] K. Kalwar and D. Shan, "Antimicrobial effect of silver nanoparticles (AgNPs) and their mechanism – A mini review," *Micro and Nano Letters*, vol. 13, no. 3. Institution of Engineering and Technology, pp. 277–280, Mar. 01, 2018. doi: 10.1049/mnl.2017.0648.
- [47] C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, and M. A. El-Sayed, "Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes," *Chemical Reviews*, vol. 105, no. 4. pp. 1025–1102, Apr. 2005. doi: 10.1021/cr030063a.

- [48] M. A. Raza, Z. Kanwal, A. Rauf, A. N. Sabri, S. Riaz, and S. Naseem, "Size- and shape-dependent antibacterial studies of silver nanoparticles synthesized by wet chemical routes," *Nanomaterials*, vol. 6, no. 4, Apr. 2016, doi: 10.3390/nano6040074.
- [49] A. Panáček *et al.*, "Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity," *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 110, no. 33, pp. 16248–16253, Aug. 2006, doi: 10.1021/jp063826h.
- [50] L. A. Tamayo *et al.*, "Release of silver and copper nanoparticles from polyethylene nanocomposites and their penetration into *Listeria monocytogenes*," *Materials Science and Engineering C*, vol. 40, pp. 24–31, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.msec.2014.03.037.
- [51] D. Wu, W. Fan, A. Kishen, J. L. Gutmann, and B. Fan, "Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm," *J Endod*, vol. 40, no. 2, pp. 285–290, Feb. 2014, doi: 10.1016/j.joen.2013.08.022.
- [52] A. Alshareef, K. Laird, and R. B. M. Cross, "Shape-dependent antibacterial activity of silver nanoparticles on *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium* bacterium," *Appl Surf Sci*, vol. 424, pp. 310–315, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.apsusc.2017.03.176.
- [53] J. Y. Cheon, S. J. Kim, Y. H. Rhee, O. H. Kwon, and W. H. Park, "Shape-dependent antimicrobial activities of silver nanoparticles," *Int J Nanomedicine*, vol. 14, pp. 2773–2780, 2019, doi: 10.2147/IJN.S196472.
- [54] R. Shanmuganathan *et al.*, "An enhancement of antimicrobial efficacy of biogenic and ceftriaxone-conjugated silver nanoparticles: green approach," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, no. 11, pp. 10362–10370, Apr. 2018, doi: 10.1007/s11356-017-9367-9.
- [55] J. H. Prestegard, J. A. Cramer, and D. B. Viscio, "Nuclear magnetic resonance determinations of permeation coefficients for maleic acid in phospholipid vesicles," *Biophys J*, vol. 26, no. 3, pp. 575–584, 1979, doi: 10.1016/S0006-3495(79)85272-8.
- [56] Y. W. Baek and Y. J. An, "Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*," *Science of the Total Environment*, vol. 409, no. 8, pp. 1603–1608, Mar. 2011, doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.01.014.
- [57] M. A. Kohanski, D. J. Dwyer, B. Hayete, C. A. Lawrence, and J. J. Collins, "A Common Mechanism of Cellular Death Induced by Bactericidal Antibiotics," *Cell*, vol. 130, no. 5, pp. 797–810, Sep. 2007, doi: 10.1016/j.cell.2007.06.049.
- [58] M. J. Hajipour *et al.*, "Antibacterial properties of nanoparticles," *Trends in Biotechnology*, vol. 30, no. 10, pp. 499–511, Oct. 2012, doi: 10.1016/j.tibtech.2012.06.004.
- [59] I. W. Sutherland, "MINI-REVIEW Biofilm exopolysaccharides : a strong and sticky framework," 2001.
- [60] M. Esparza-Soto and P. Westerhoff, "Biosorption of humic and fulvic acids to live activated sludge biomass," *Water Res*, vol. 37, no. 10, pp. 2301–2310, 2003, doi: 10.1016/S0043-1354(02)00630-9.

- [61] R. Selvakumar, S. Aravindh, A. M. Ashok, and Y. L. Balachandran, “A facile synthesis of silver nanoparticle with SERS and antimicrobial activity using *Bacillus subtilis* exopolysaccharides,” *J Exp Nanosci*, vol. 9, no. 10, pp. 1075–1087, 2014, doi: 10.1080/17458080.2013.778425.
- [62] T. O. Peulen and K. J. Wilkinson, “Diffusion of nanoparticles in a biofilm,” *Environ Sci Technol*, vol. 45, no. 8, pp. 3367–3373, Apr. 2011, doi: 10.1021/es103450g.
- [63] P. S. Stewart, “Diffusion in biofilms,” *Journal of Bacteriology*, vol. 185, no. 5, pp. 1485–1491, Mar. 2003. doi: 10.1128/JB.185.5.1485-1491.2003.
- [64] K. Forier, K. Raemdonck, S. C. De Smedt, J. Demeester, T. Coenye, and K. Braeckmans, “Lipid and polymer nanoparticles for drug delivery to bacterial biofilms,” *Journal of Controlled Release*, vol. 190. Elsevier B.V., pp. 607–623, Sep. 28, 2014. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.03.055.
- [65] C. Li, X. Zhang, X. Huang, X. Wang, G. Liao, and Z. Chen, “Preparation and characterization of flexible nanoliposomes loaded with daptomycin, a novel antibiotic, for topical skin therapy,” *Int J Nanomedicine*, vol. 8, pp. 1285–1292, Mar. 2013, doi: 10.2147/IJN.S41695.
- [66] C. H. N. Barros, S. Fulaz, D. Stanisic, and L. Tasic, “Biogenic nanosilver against multidrug-resistant bacteria (MDRB),” *Antibiotics*, vol. 7, no. 3. MDPI AG, Sep. 01, 2018. doi: 10.3390/antibiotics7030069.
- [67] Z. Chen, H. Ji, C. Liu, W. Bing, Z. Wang, and X. Qu, “A Multinuclear Metal Complex Based DNase-Mimetic Artificial Enzyme: Matrix Cleavage for Combating Bacterial Biofilms,” *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 55, no. 36, pp. 10732–10736, Aug. 2016, doi: 10.1002/anie.201605296.
- [68] D. Xiang *et al.*, “Inhibition of A/Human/Hubei/3/2005 (H3N2) influenza virus infection by silver nanoparticles in vitro and in vivo,” *Int J Nanomedicine*, p. 4103, Oct. 2013, doi: 10.2147/ijn.s53622.
- [69] N. Chen, Y. Zheng, J. Yin, X. Li, and C. Zheng, “Inhibitory effects of silver nanoparticles against adenovirus type 3 in vitro,” *J Virol Methods*, vol. 193, no. 2, pp. 470–477, 2013, doi: 10.1016/j.jviromet.2013.07.020.
- [70] E. Szymańska *et al.*, “Multifunctional tannic acid/silver nanoparticle-based mucoadhesive hydrogel for improved local treatment of HSV infection: In vitro and in vivo studies,” *Int J Mol Sci*, vol. 19, no. 2, Feb. 2018, doi: 10.3390/ijms19020387.
- [71] N. Khandelwal *et al.*, “Silver nanoparticles impair Peste des petits ruminants virus replication,” *Virus Res*, vol. 190, pp. 1–7, Sep. 2014, doi: 10.1016/j.virusres.2014.06.011.
- [72] J. Hodek, V. Zajíčová, I. Lovetinská-Šlamborová, I. Stibor, J. Müllerová, and J. Weber, “Protective hybrid coating containing silver, copper and zinc cations effective against human immunodeficiency virus and other enveloped viruses,” *BMC Microbiol*, vol. 16, no. 1, 2016, doi: 10.1186/s12866-016-0675-x.

- [73] Y. Li, P. Leung, L. Yao, Q. W. Song, and E. Newton, “Antimicrobial effect of surgical masks coated with nanoparticles,” *Journal of Hospital Infection*, vol. 62, no. 1, pp. 58–63, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.jhin.2005.04.015.
- [74] L. Lukhele, R. Krause, B. Mamba, and M. Momba, “Synthesis of silver impregnated carbon nanotubes and cyclodextrin polyurethanes for the disinfection of water,” vol. 36, no. 4, 2010, [Online]. Available: <http://www.wrc.org.za>
- [75] A. Pratsinis, P. Hervella, J. C. Leroux, S. E. Pratsinis, and G. A. Sotiriou, “Toxicity of silver nanoparticles in macrophages,” *Small*, vol. 9, no. 15, pp. 2576–2584, Aug. 2013, doi: 10.1002/sml.201202120.
- [76] Y. Ju *et al.*, “Bumpy structured nanofibrous membrane as a highly efficient air filter with antibacterial and antiviral property,” *Science of the Total Environment*, vol. 777, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.145768.
- [77] Y. Zhang, W. Fan, Y. Sun, W. Chen, and Y. Zhang, “Application of antiviral materials in textiles: A review,” *Nanotechnology Reviews*, vol. 10, no. 1. De Gruyter Open Ltd, pp. 1092–1115, Jan. 01, 2021. doi: 10.1515/ntrev-2021-0072.
- [78] Thomas Mason, “VIROFORMULATM: Wear a Better Future Now.”
- [79] HeiQ Materials AG, “HeiQ Viroblock.”
- [80] M. Carbone, D. T. Donia, G. Sabbatella, and R. Antiochia, “Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging,” *Journal of King Saud University - Science*, vol. 28, no. 4. Elsevier B.V., pp. 273–279, Oct. 01, 2016. doi: 10.1016/j.jksus.2016.05.004.
- [81] A. C. S. Almeida, E. A. N. Franco, F. M. Peixoto, K. L. F. Pessanha, and N. R. Melo, “Aplicação de nanotecnologia em embalagens de alimentos,” *Polimeros*, vol. 25, pp. 89–97, Dec. 2015, doi: 10.1590/0104-1428.2069.
- [82] A. Emamifar, M. Kadivar, M. Shahedi, and S. Solimani-Zad, “Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on reducing pasteurization temperature of orange juice,” *J Food Process Preserv*, vol. 36, no. 2, pp. 104–112, Apr. 2012, doi: 10.1111/j.1745-4549.2011.00558.x.
- [83] A. Fernández, P. Picouet, and E. Lloret, “Cellulose-silver nanoparticle hybrid materials to control spoilage-related microflora in absorbent pads located in trays of fresh-cut melon,” *Int J Food Microbiol*, vol. 142, no. 1–2, pp. 222–228, Aug. 2010, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.001.
- [84] E. O. Simbine, L. da C. Rodrigues, J. Lapa-Guimarães, E. S. Kamimura, C. H. Corassin, and C. A. F. de OLIVEIRA, “Application of silver nanoparticles in food packages: A review,” *Food Science and Technology (Brazil)*, vol. 39, no. 4. Sociedade Brasileira de Ciencia e Tecnologia de Alimentos, SBCTA, pp. 793–802, Oct. 01, 2019. doi: 10.1590/fst.36318.
- [85] R. Ciriminna, Y. Albo, and M. Pagliaro, “New Antivirals and Antibacterials Based on Silver Nanoparticles,” *ChemMedChem*, vol. 15, no. 17. John Wiley and Sons Ltd, pp. 1619–1623, Sep. 03, 2020. doi: 10.1002/cmde.202000390.

- [86] M. Li, X. Jiang, D. Wang, Z. Xu, and M. Yang, “In situ reduction of silver nanoparticles in the lignin based hydrogel for enhanced antibacterial application,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 177, pp. 370–376, May 2019, doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.02.029.
- [87] P. Sacco, A. Travan, M. Borgogna, S. Paoletti, and E. Marsich, “Silver-containing antimicrobial membrane based on chitosan-TPP hydrogel for the treatment of wounds,” *J Mater Sci Mater Med*, vol. 26, no. 3, Mar. 2015, doi: 10.1007/s10856-015-5474-7.
- [88] N. Masood *et al.*, “Silver nanoparticle impregnated chitosan-PEG hydrogel enhances wound healing in diabetes induced rabbits,” *Int J Pharm*, vol. 559, pp. 23–36, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.019.
- [89] P. Orłowski *et al.*, “Tannic acid-modified silver nanoparticles for wound healing: The importance of size,” *Int J Nanomedicine*, vol. 13, pp. 991–1007, Feb. 2018, doi: 10.2147/IJN.S154797.
- [90] H. Y. Atay, I. Yaşa, and E. Çelik, “Antibacterial polymeric coatings with synthesized silver nanoparticles,” *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry*, vol. 45, no. 6, pp. 784–798, 2015, doi: 10.1080/15533174.2013.843561.
- [91] E. Kroke, Y.-L. Li, C. Konetschny, E. Lecomte, C. Fasel, and R. Riedel, “Silazane derived ceramics and related materials.”
- [92] T. Kubo, E. Tadaoka, and H. Kozuka, “Formation of silica coating films from spin-on polysilazane at room temperature and their stability in hot water,” 2004.
- [93] V. Bakumov, K. Gueinzus, C. Hermann, M. Schwarz, and E. Kroke, “Polysilazane-derived antibacterial silver-ceramic nanocomposites,” *J Eur Ceram Soc*, vol. 27, no. 10, pp. 3287–3292, 2007, doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2007.01.004.
- [94] C. Balagna *et al.*, “Antibacterial nanostructured composite coating on high performance Vectran<sup>TM</sup> fabric for aerospace structures,” *Surf Coat Technol*, vol. 373, pp. 47–55, Sep. 2019, doi: 10.1016/j.surfcoat.2019.05.076.
- [95] C. Balagna, R. Francese, S. Perero, D. Lembo, and M. Ferraris, “Nanostructured composite coating endowed with antiviral activity against human respiratory viruses deposited on fibre-based air filters,” *Surf Coat Technol*, vol. 409, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.surfcoat.2021.126873.
- [96] A. Luceri, R. Francese, S. Perero, D. Lembo, M. Ferraris, and C. Balagna, “Antibacterial and Antiviral Activities of Silver Nanocluster/Silica Composite Coatings Deposited onto Air Filters,” *ACS Appl Mater Interfaces*, Jan. 2023, doi: 10.1021/acsami.3c13843.
- [97] A. Luceri *et al.*, “Washing resistant antibacterial composite coatings on cotton textiles,” *Cellulose*, vol. 30, no. 15, pp. 9877–9897, Oct. 2023, doi: 10.1007/s10570-023-05471-7.

- [98] M. Miola, E. Piatti, P. Sartori, and E. Verné, “Sol-gel synthesis of spherical monodispersed bioactive glass nanoparticles co-doped with boron and copper,” *J Non Cryst Solids*, vol. 622, Dec. 2023, doi: 10.1016/j.jnoncrysol.2023.122653.
- [99] Merck KGaA, “Durazane - Innovative Polysilazane Materials.” [Online]. Available: [www.polysilazanes.com](http://www.polysilazanes.com)
- [100] Y. Zhan, R. Grottenmüller, W. Li, F. Javaid, and R. Riedel, “Evaluation of mechanical properties and hydrophobicity of room-temperature, moisture-curable polysilazane coatings,” *J Appl Polym Sci*, vol. 138, no. 21, Jun. 2021, doi: 10.1002/app.50469.
- [101] “NCCLS M2-A9. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 9th Edn, NCCLS, Villanova, PA, USA 2003.”
- [102] A. Owen and G. I. Williams, “Optimum and limiting operating conditions for (3) (4) A low-temperature X-ray camera,” Oxford University Press, 1936.