



**Politecnico
di Torino**

Politecnico di Torino

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

A.a. 2023/2024

Sessione di Laurea Ottobre 2024

**Sviluppo di rivestimenti compositi a partire
da polimeri pre-ceramici funzionalizzati con
nanoparticelle d'argento sintetizzate tramite
riduzione chimica per potenziali applicazioni
antibatteriche**

Relatori:

Cristina Balagna

Francesca Gattucci

Candidato:

Ivan Sanavia

304922

Sommario

Negli anni recenti, l'incremento delle infezioni causate da batteri multi-resistenti, dovute anche all'uso inappropriato degli antibiotici, ha catturato l'attenzione della comunità scientifica, mostrando un interesse crescente nel tempo per risolvere il problema. In questo ambito, sono stati sviluppati diversi processi e tecnologie mirati a conferire proprietà antibatteriche ai materiali. Tra queste innovazioni, le nanoparticelle d'argento si distinguono come potenti agenti antimicrobici potenzialmente applicabili in svariati settori.

In questo progetto di tesi, è stato sviluppato e studiato un rivestimento composito costituito da un precursore polimerico della silice (Durazane 1800) come matrice e funzionalizzato con nanoparticelle d'argento (AgNPs) per applicazioni antimicrobiche. Il rivestimento è stato depositato su vetrini in sodalime, su cotone ed infine su campioni di allumina tramite il metodo della deposizione a goccia e stendifilm. Diversi approcci sono stati eseguiti per sintetizzare le nanoparticelle d'argento da incorporare all'interno della matrice per rendere il rivestimento antibatterico. Le nanoparticelle sono state inizialmente sintetizzate in una soluzione acquosa con l'acido tannico come agente riducente. Per mantenere un pH basico durante la sintesi, sono state impiegate delle soluzioni di idrossido di sodio e carbonato di potassio. In particolare, la soluzione di acido tannico è stata tamponata a un pH di 8,5 mediante l'aggiunta di carbonato di potassio. Successivamente, la soluzione di acido tannico è stata miscelata con una soluzione acquosa di nitrato d'argento. La soluzione risultante è stata ulteriormente tamponata con una soluzione di idrossido di sodio, mantenendo il pH a 8,5. Le nanoparticelle ottenute sono state successivamente centrifugate e disperse in acetone, poiché il Durazane non è solubile in acqua. In seguito, si è deciso di aggiungere nano cariche di silice ($n\text{SiO}_2$) in quanto esse possono rendere la soluzione più viscosa e migliorare la deposizione. Il rivestimento è stato caratterizzato dal punto di vista morfologico, composizionale e strutturale tramite microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM) e spettrometria per dispersione di energia (EDS), spettroscopia UV-visibile (UV-Vis) e diffrazione a raggi X (XRD). Un ulteriore approccio ha previsto lo studio della sintesi delle nanoparticelle attraverso l'utilizzo del solvente dimetilformammide

(DMF) in sostituzione dell'acqua e il PVP come principale agente riducente e come agente capping, per migliorare la dispersione delle AgNPs nel Durazane.

Le caratterizzazioni su alcuni rivestimenti così ottenuti (UV-vis, XRD, FESEM ed EDS) hanno mostrato l'avvenuta funzionalizzazione della matrice con le nanoparticelle e la loro buona dispersione all'interno. Tuttavia, i risultati del test tramite test di alone di inibizione con batteri *S. epidermidis* non hanno evidenziato un'efficacia antibatterica.

Ulteriori studi ed indagini sono quindi necessari per migliorare la sintesi delle nanoparticelle d'argento e la deposizione dei rivestimenti per generare l'effetto antibatterico desiderato.

Abstract

In recent years, the increase in infections caused by multi-resistant bacteria, partly due to the inappropriate use of antibiotics, has captured the attention of the scientific community, showing a growing interest over time in solving the problem. In this context, various processes and technologies have been developed to impart antibacterial properties to materials. Among these innovations, silver nanoparticles stand out as powerful antimicrobial agents currently used in various sectors.

In this thesis project, a composite coating was developed and studied, consisting of a silica polymer precursor (Durazane 1800) as the matrix, functionalized with silver nanoparticles (AgNPs) for antimicrobial applications. The coating was deposited on soda-lime glass slides, cotton, and alumina samples using the drop-casting and spin-coating methods. Various approaches were undertaken to synthesize the silver nanoparticles to be incorporated into the matrix to make the coating antibacterial. The nanoparticles were initially synthesized in water, which acted as the solvent, using tannic acid as the reducing agent. To maintain a basic pH during synthesis, sodium hydroxide and potassium carbonate solutions were used. Specifically, the tannic acid solution was buffered to a pH of 8.5 by adding potassium carbonate. Subsequently, the tannic acid solution was mixed with an aqueous solution of silver nitrate. The resulting mixture was further buffered with a sodium hydroxide solution, maintaining the pH at 8.5. The obtained nanoparticles were then centrifuged and dispersed in acetone, as Durazane is not water-soluble. Following this, silica nanoparticles ($n\text{SiO}_2$) were added as they can increase the viscosity of the solution and improve deposition. The coating was characterized from a morphological, compositional, and structural point of view using field emission scanning electron microscopy (FESEM) and energy-dispersive spectroscopy (EDS), UV-visible spectroscopy (UV-vis), and X-ray diffraction (XRD). Another approach involved studying the synthesis of nanoparticles using dimethylformamide (DMF) as the solvent instead of water, and PVP as the main reducing and capping agent to improve the dispersion of AgNPs in Durazane.

Characterizations on some of the resulting coatings (UV-vis, XRD, FESEM, and EDS) showed successful functionalization of the matrix with nanoparticles and their good

dispersion within. However, results from the inhibition zone test with *S. Epidermidis* bacteria did not show antibacterial effectiveness.

Further studies and investigations are therefore needed to improve the synthesis of silver nanoparticles and the deposition of coatings to generate the desired antibacterial effect.

Indice

1. Le contaminazioni batteriche.....	8
2. Le Nanoparticelle d'Argento	12
2.1 L'azione delle AgNPs	13
2.2 Applicazione delle nanoparticelle d'argento	15
2.3 Sintesi delle nanoparticelle d'argento	17
3. Rivestimenti contenenti nanoparticelle d'argento	19
3.1 Rivestimenti a partire da polimeri	20
4. Il ruolo della dimetilformammide e dell'acido tannico	22
5. Materiali e metodi.....	25
5.2 Coating contenente AgNPs sintetizzate tramite riduzione con acido tannico ...	26
5.2.1 Realizzazione del coating	26
5.2.2 Deposizione del coating	29
5.3 Coating contenente AgNPs sintetizzate tramite riduzione con DMF e PVP	30
5.3.1 Realizzazione del coating	30
5.3.2 Deposizione del coating	33
5.4 Il rivestimento con DMF e utilizzo di evaporatore	33
5.4.1 Utilizzo evaporatore e realizzazione del coating	33
5.4.2 Deposizione del coating	36
5.5 Caratterizzazione morfologica e composizionale	36
5.6 Test antibatterici	37
6. Risultati.....	39
6.1. Rivestimento di AgNPs sintetizzato tramite riduzione in una soluzione acquosa con acido tannico a partire dal precursore organopolimerico Durazane 1800.....	39
6.1.1. Spettroscopia ultravioletta/visibile (UV)	39
6.1.2 Diffrazione a raggi X (XRD)	41
6.1.3. Spettrometria per dispersione di energia (EDS)	42
6.1.4. Microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM).....	42
6.2. Rivestimento di AgNPs in dimetilformammide (DMF) a partire dal precursore organopolimerico Durazane 1800.....	44
6.2.1. Spettroscopia ultravioletta/visibile (UV)	44

6.2.2. Diffrazione a raggi X (XRD)	46
6.2.3. Microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM) e spettrometria per dispersione di energia (EDS).....	47
6.2.4. Test antibatterico (Test dell'alone di inibizione)	53
6.3. Rivestimento di AgNPs in dimetilformammide (DMF) a partire dal precursore organopolimerico Durazane 1800 con utilizzo di Rotavapor	55
6.3.1. Spettroscopia ultravioletta/visibile (UV)	55
6.3.2. Diffrazione a raggi X (XRD)	59
6.3.3. Microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM).....	60
6.3.4. Spettrometria per dispersione di energia (EDS)	62
7. Conclusioni e Sviluppi futuri.....	65
8. Bibliografia.....	68

1. Le contaminazioni batteriche

Le contaminazioni batteriche rappresentano una seria problematica in vari ambiti, come l'industria alimentare, il settore sanitario e la produzione di dispositivi medici. Tali contaminazioni rappresentano un problema mai completamente risolto, poiché possono essere all'origine di diverse patologie e, in alcuni casi, condurre alla morte. Tra i batteri più diffusi vi è l'*Escherichia coli*, che abitualmente risiede nell'intestino degli esseri umani e degli animali. Tuttavia, esso può evolvere in varianti pericolose, capaci di provocare gravi infezioni. [1] Un altro battere che è molto diffuso è lo *Staphylococcus aureus*, considerato un microrganismo molto interessante che causa molteplici malattie nell'uomo e negli animali. Queste ultime includono infezioni invasive, tossiemie generalizzate e alterazioni della risposta immunitaria dell'ospite. Tuttavia, lo *S. aureus* è generalmente considerato parte della normale flora dei suoi ospiti e si trova tipicamente nelle narici o sulla pelle di un ospite. Solo in seguito a una lesione o alterazione della normale architettura cutanea si verifica un'infezione invasiva. Durante questa infezione invasiva, la risposta immunitaria dell'ospite può essere alterata dai vari antigeni prodotti dall'organismo. [2]

Ovviamente i fattori di rischio per il paziente sono correlati alla sua salute; infatti, pazienti con un sistema immunitario indebolito (immunodepressi o con malattie croniche) possono essere molto più esposti alle infezioni batteriche. Inoltre, l'essere soggetti ad interventi medici invasivi, aumenta in modo esponenziale la possibilità di contrarre infezioni batteriche.

Le infezioni batteriche possono esprimersi anche come sovrainfezioni batteriche, e in questo caso possono rappresentare un rischio significativo per i pazienti già afflitti, per esempio, da infezioni virali. Infatti, in pazienti colpiti da gravi infezioni virali come l'influenza, il COVID-19 o altre patologie virali, la compromissione del sistema immunitario può aprire la strada a infezioni batteriche opportunistiche. Con la pandemia da COVID-19, e con il conseguente aumento di pazienti affetti da polmonite di origine virale e pazienti a lunga degenza, i quali sottoposti anche a trattamenti ospedalieri invasivi, il problema delle infezioni batteriche è diventato sempre più importante. È stato verificato, da uno studio condotto in Colombia durante il 2020, che il 49.6% dei 399 pazienti ricoverati per COVID-19 nell'ospedale di Medellin, era soggetto a sovrainfezioni

batteriche, con 16 agenti diversi identificati sul numero totale. È emerso che le variabili con la più forte associazione con la superinfezione batterica sono state la malattia polmonare, l'encefalopatia, la ventilazione meccanica, la degenza ospedaliera e il trattamento con steroidi. [3]

L'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) e il CDC (Centro Prevenzione e Controllo delle malattie) hanno manifestato forte preoccupazione riguardo all'incremento costante delle infezioni legate all'assistenza sanitaria e alla crescente resistenza multidrug dei batteri. La crisi derivante dalla resistenza ai farmaci rappresenta uno dei più gravi problemi per quanto riguarda la sanità. [4] La resistenza agli antibiotici prevalente in una varietà di microbioti, compresi gli agenti patogeni umani e animali, è il risultato dell'ampio uso di antibiotici nella medicina umana e veterinaria. La questione attuale risiede in quali misure possano essere adottate per limitarla e contenerla. È evidente che è importante ridurre al minimo l'uso estensivo di antibiotici, che alla fine porta alla selezione dei corrispondenti meccanismi di resistenza. [5] Questi patogeni batterici emergenti multi-resistenti ai farmaci, sono noti come "superbug". Ogni anno in Italia muoiono 15mila persone per infezioni che non si riescono a curare a causa della resistenza dei superbug ai farmaci. Erano 11mila nel 2015. [6] Il Rapporto annuale dell'ECDC (Centro Europeo per la Prevenzione e il Controllo delle Malattie) dice che "a fronte nel decennio scorso di un una riduzione di circa il 20% dell'uso degli antibiotici, segnala che la sezione delle resistenze si è aggravata". [6] Siamo di fronte ad un problema, quindi, molto serio.

Il problema dell'antibiotico-resistenza è rappresentato dalla resistenza acquisita che si instaura nel momento in cui batteri precedentemente sensibili a un particolare antibiotico sviluppano insensibilità nei suoi confronti, in seguito a mutazioni cromosomiche (resistenza cromosomica) o ad acquisizione di materiale genetico derivante da popolazioni batteriche correlate o meno a quella ricevente (resistenza trasferibile). [7]

La diffusione di mutazioni cromosomiche avviene attraverso trasmissione verticale e indipendentemente dalla presenza dell'antibiotico.

Il fenomeno della resistenza trasferibile è invece più significativo e prevede la dislocazione di geni batterici in grado di conferire resistenza; tale trasferimento genico è mediato da plasmidi, integroni e trasposoni e può avvenire tra DNA cromosomiale ed

extra-cromosomiale nell'ambito di batteri della stessa specie e non (trasmissione orizzontale), grazie ai processi di trasformazione, coniugazione e trasduzione [7] [8]. Questi consentono ai batteri che li ricevono di sviluppare la capacità di attuare uno o più modi per resistere all'azione degli antibiotici, permettendo loro di difendersi dall'effetto antibatterico. Questi metodi possono essere categorizzati in base al processo biochimico coinvolto e includono la capacità di alterare la struttura molecolare dell'antibiotico, di impedire il suo raggiungimento ai siti bersaglio, di modificare o proteggere i siti bersaglio, o di sostituire/bypassare i siti bersaglio (Figura 1). [9]

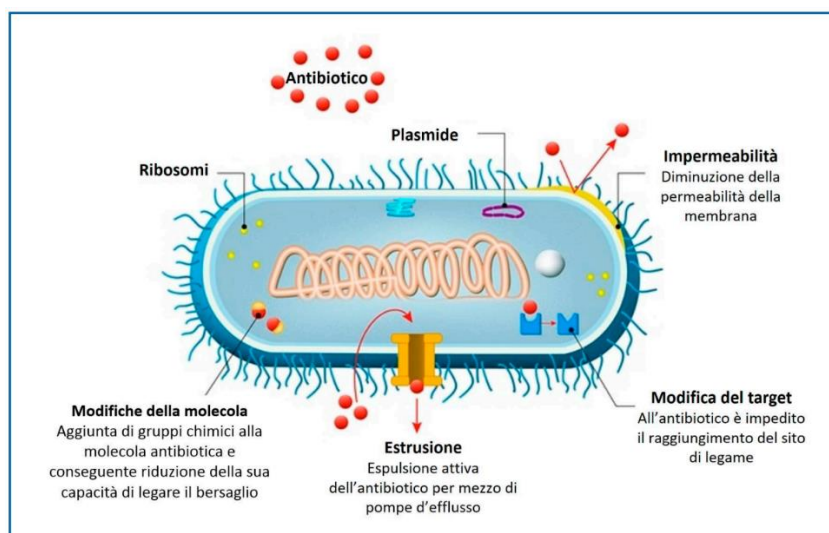


Figura 1: Meccanismi di resistenza agli antibiotici [9]

L'inattivazione della molecola antibiotica può avvenire attraverso l'apporto di alterazioni chimiche o per mezzo della distruzione vera e propria della molecola. La produzione di enzimi in grado di apportare alterazioni chimiche a livello dell'antibiotico è un meccanismo di resistenza diffuso sia nei batteri Gram-negativi che in quelli Gram-positivi. Invece, attraverso la diminuzione della permeabilità della membrana o l'espulsione attiva dell'antibiotico per mezzo di pompe d'efflusso, la cellula batterica è in grado di precludere alla molecola antibiotica il raggiungimento del sito target.

Altresì proteggendo il sito target, la cellula batterica impedisce all'antibiotico di raggiungere il sito di legame. La protezione consiste generalmente nella rimozione

dell'antibiotico dal sito di legame o nella produzione di proteine specifiche in grado di competere per lo stesso sito di legame della molecola antibiotica, che ne impediscano quindi l'interazione permettendo al batterio di sopravvivere. Infine, la sostituzione del sito target consiste nello sviluppare nuove strutture in grado di svolgere funzioni biochimiche simili a quelle del target dell'antibiotico, con il vantaggio di non essere sensibili ad esso. Inoltre, attraverso una sovrapproduzione del bersaglio, la cellula batterica è in grado di sopravvivere in presenza della molecola antibiotica [10].

L'antibiotico-resistenza è un'emergenza di dimensioni mondiali che non può più essere ignorata né sottovalutata, proprio per questo si sono sviluppate anche nanotecnologie. Ci si è rivolti alla ricerca di nuovi materiali, di rivestimenti e di strategie, di natura preventiva, per combattere infezioni batteriche e le batteriemie. Questi approcci mirano a prevenire il loro sviluppo, eliminando la necessità di ricorrere a terapie antibiotiche tradizionali che potrebbero risultare inefficaci. Le nanoparticelle, grazie alle loro proprietà uniche, hanno un ruolo significativo nella lotta contro i batteri. In particolare, creare rivestimenti di esse permette di ottenere una barriera fisica e chimica contro l'adesione e la crescita batterica. [11]

2. Le Nanoparticelle d'Argento

Per quanto possa apparire sorprendente, non si tratta di una scoperta recente; l'argento è stato impiegato come agente antibatterico per diversi secoli. Dai Romani che lo utilizzavano come recipiente per mantenere l'acqua potabile, al Medioevo dove veniva utilizzato per curare ferite scoperte ed abrasioni, passando per i Greci ed i Persiani che utilizzavano questo materiale come contenitore per isolare cibi e farmaci.

La grave situazione in cui ci si trova, relativa alla resistenza antimicrobica, ha riportato una forte attenzione su questo materiale, il quale è ampiamente utilizzato in molteplici applicazioni battericide. [12].

Ma quale è il reale effetto dell'argento? Esso esercita la sua azione contro i batteri attraverso diversi meccanismi.

Uno dei meccanismi principali è legato alla sua capacità di danneggiare le membrane cellulari dei batteri, quindi agendo dall'esterno, riesce a compromettere la loro integrità strutturale, causando la perdita del contenuto cellulare essenziale, portando ad una probabile morte batterica. [13]

Inoltre, l'argento può inibire il metabolismo batterico interferendo con i processi di respirazione cellulare e il trasporto degli ioni attraverso le membrane cellulari, bloccando la capacità dei batteri di ottenere energia e di svolgere le funzioni vitali necessarie per la sopravvivenza e la crescita. Agendo all'interno l'argento può legarsi anche a componenti cellulari cruciali come il DNA, gli enzimi e le proteine, interferendo con le loro funzioni e causando danni genetici o impedendo la normale attività metabolica. [13] [14]

Ci sono anche dei contro però nell'utilizzo di dispositivi interamente d'argento. Ovviamente il costo sarebbe decisamente elevato dato il prezzo del metallo stesso, inoltre il troppo utilizzo d'argento può risultare tossico, questo fenomeno è noto come argiria.

L'argiria è una condizione rara derivante dall'assunzione cronica di prodotti contenenti elevate quantità di argento, che superano le capacità di eliminazione renale ed epatica del corpo. Ciò porta al deposito di granuli di argento nella pelle, nei suoi annessi, nelle mucose e negli organi interni, tra cui occhi, reni, milza, midollo osseo e sistema nervoso centrale. Questo causa la comparsa di una pigmentazione grigio-blu [15].

2.1 L'azione delle AgNPs

Con l'avanzamento della ricerca recente nel campo delle nanotecnologie e dei nanomateriali, c'è stato un crescente interesse soprattutto verso le nanoparticelle metalliche. Tra queste, le nanoparticelle d'argento sono particolarmente interessanti in quanto consentono di sfruttare le proprietà antimicrobiche di questo metallo mantenendo concentrazioni più basse rispetto a rivestimenti completamente composti di argento, evitando di incorrere in spese eccessive e argiria. [16]

L'introduzione delle nanotecnologie ha portato a cambiamenti significativi, con l'emergere di nanoparticelle dotate di funzionalità uniche e proprietà fisico-chimiche dipendenti dalle dimensioni. Le nanoparticelle offrono una vasta gamma di caratteristiche, incluse differenze di forma, dimensione e superficie rispetto al materiale di origine, e vengono impiegate in numerosi ambiti applicativi. [17]

Le nanoparticelle d'argento (AgNPs) in generale manifestano notevoli proprietà antimicrobiche contro una vasta gamma di microrganismi, tra cui batteri, funghi e virus. Grazie allo sviluppo di nanomateriali con dimensioni nanometriche, gli effetti antimicrobici dell'argento sono stati amplificati. Le AgNPs con dimensioni comprese tra 10 e 100 nm hanno dimostrato una notevole attività battericida contro batteri sia gram-positivi che gram-negativi. È ben documentato che le Ag-NPs siano efficaci agenti antimicrobici contro batteri multi-resistenti (MDR) come lo *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA), lo *Streptococcus pyogenes* resistente all'eritromicina, l'*Escherichia coli* resistente all'ampicillina e lo *Staphylococcus aureus* resistente alla vancomicina [18]. Esse, grazie alle loro dimensioni, riescono ad entrare all'interno della membrana cellulare di questi batteri, modificandone il loro meccanismo d'azione.

Un importante aspetto da affrontare è quello del biofilm. Risultati recenti confermano che la formazione del biofilm è un processo di sviluppo multicellulare. È ormai noto che per l'adesione iniziale dei batteri a una superficie sono necessari specifici prodotti genici. Durante questo processo, si attivano decine di nuovi geni mentre altri vengono disattivati, indicando un percorso di differenziazione. La motilità gioca un ruolo cruciale nelle prime fasi della formazione del biofilm. Coordinati da segnali ancora sconosciuti, i batteri utilizzano meccanismi di motilità come i flagelli, la contrazione e lo scivolamento per aggregarsi in ammassi iniziali. La successiva organizzazione del biofilm in strutture

complesse è regolata dallo scambio di segnali chimici tra le cellule, un processo noto come quorum sensing. Tutto ciò porta ad una capacità dei batteri all'interno del biofilm di resistere collettivamente ai trattamenti antimicrobici [19].

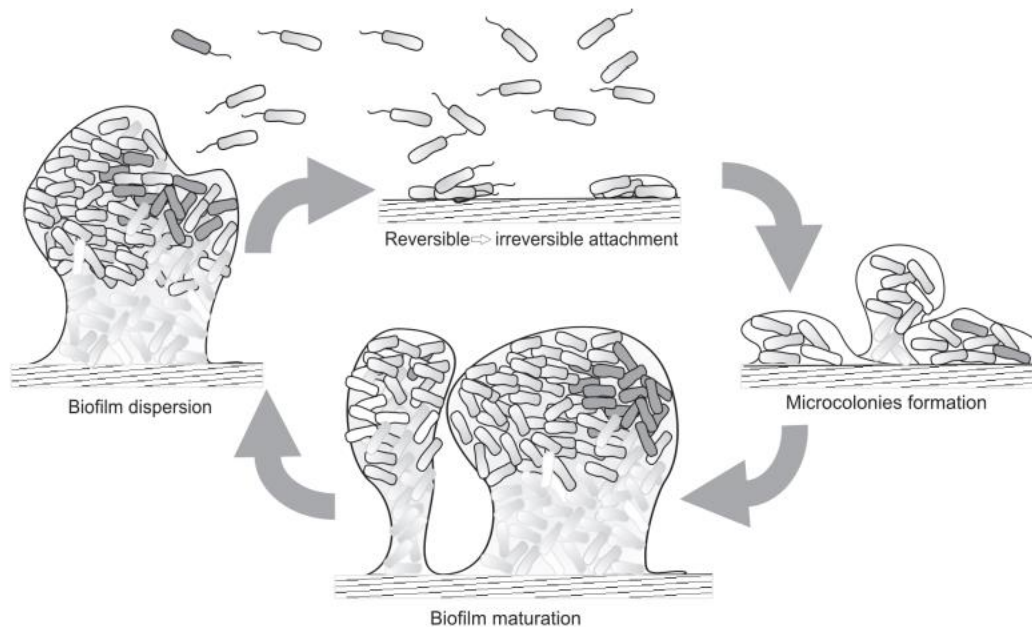


Figura 2: Fasi dello sviluppo del biofilm [20]

L'alta reattività dell'argento e la forte affinità con le proteine, seguite da alterazioni nella struttura delle membrane cellulari batteriche e nucleari, provocano la distruzione e la morte delle cellule. Gli ioni d'argento sono in grado di inibire la replicazione batterica, legando e alterando il DNA batterico attraverso la reazione con il gruppo tiolico delle proteine, seguita dalla condensazione del DNA e dalla conseguente apoptosi [18]. Oltre che con questi meccanismi d'azione, le nanoparticelle possono anche agire sui biofilm, attuando un meccanismo inibitorio sul quorum sensing.

Recentemente si è anche scoperto che le Ag-NPs hanno proprietà anche antivirali. Proprio quest'ultime sono state studiate sul COVID-19, esse possono generare radicali liberi e specie reattive dell'ossigeno (ROS), i quali inducono l'apoptosi e, di conseguenza, impediscono l'infezione virale [21].

2.2 Applicazione delle nanoparticelle d'argento

Le nanoparticelle d'argento trovano applicazioni in una vasta gamma di settori, tra cui: medicina, cosmetica, industria tessile, alimentare, imballaggi e acqua potabile [22].

L'infezione batterica legata ai dispositivi medici rappresenta una sfida persistente per la medicina moderna, poiché sempre più pazienti vengono sottoposti a impianto di tali dispositivi, che offrono superfici e ambienti favorevoli alla colonizzazione batterica, soprattutto cateteri e dispositivi a contatto con pelle, cavo orale tratto vaginale e gastrointestinale. Le nanoparticelle d'argento sono state identificate come un promettente agente antimicrobico non farmacologico, tuttavia, affinché possano essere clinicamente utilizzate, è fondamentale che le nanoparticelle d'argento siano incorporate in modo appropriato nei materiali dei dispositivi medici. Le proprietà umettanti di tali materiali potrebbero rappresentare una sfida, non solo per l'incorporazione delle nanoparticelle di argento idrofile, ma anche per il rilascio degli ioni d'argento attivi [23].

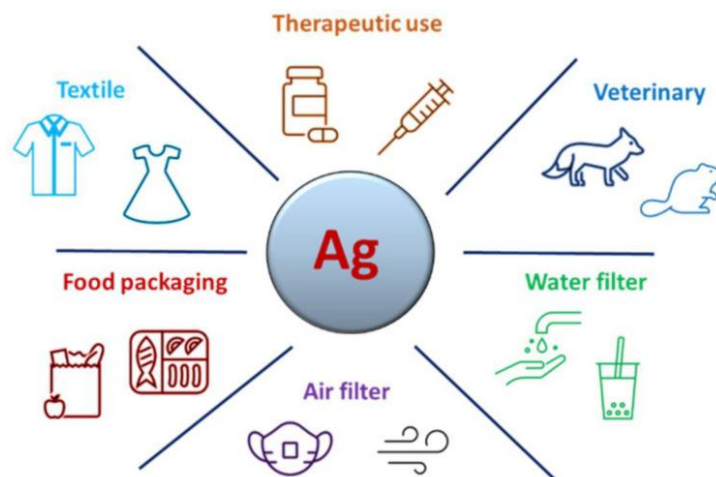


Figura 3: Principali applicazioni potenziali delle AgNPs nel campo della virologia. [24]

Al fine di affrontare la sfida della resistenza agli antibiotici, utilizzati come metodi tradizionali antimicotici, le nanoparticelle d'argento sono state integrate anche in idrogeli a base di chitosano utilizzati per la medicazione. Gli idrogeli, grazie alla loro elevata capacità di trattenere acqua, aderiscono efficacemente alla ferita e, anche con una bassa concentrazione di argento, hanno dimostrato un'elevata attività antibatterica contro *S.aureus*, *P.aeruginosa* ed *E. coli* [25].

L'industria tessile, recentemente, sta adottando delle nuove tecnologie per introdurre agenti antimicrobici all'interno dei loro prodotti. Le nanoparticelle d'argento vengono incorporate nei tessuti durante la produzione per prevenire la crescita di batteri e mantenere la qualità. Trovano un'enorme rilevanza i tessuti clinico/igienici. Dal momento che questi tessuti sono vulnerabili alle contaminazioni microbiche, l'applicazione di finiture antimicrobiche durevoli ai tessuti stessi rappresenta una soluzione efficace per prevenire la trasmissione di agenti patogeni da persona a persona negli ambienti ospedalieri e ridurre l'incidenza di infezioni nosocomiali. Questa strategia è in linea con la crescente necessità globale di ridurre il rischio di infezioni ospedaliere attraverso la produzione sostenibile di abbigliamento ospedaliero antimicrobico, che include grembiuli per il personale medico, camici, pigiami per i pazienti, lenzuola, tende e così via. Uno degli ultimi studi, sviluppa poliammine pretrattate con plasma e rivestite con nanoparticelle d'argento. Questi materiali hanno dimostrato un'eccellente attività antibatterica sia a breve che a lungo termine [26].

Anche il settore relativo agli alimenti e al loro imballaggio e trasporto si sta soffermando molto sulla ricerca e sull'utilizzo di nanoparticelle d'argento da introdurre nei prodotti di confezionamento classici, per rendere questi ultimi antimicrobici. Si è constatato che gli imballaggi alimentari dotati di proprietà antibatteriche hanno la capacità di rilasciare agenti biocidi attivi per migliorare la qualità degli alimenti, prolungare la loro conservazione e prevenire il deterioramento [27].

Per quanto riguarda l'utilizzo delle AgNPs nella produzione di acqua potabile, le nanoparticelle possono essere integrate nei filtri per l'acqua per rimuovere batteri, virus e altri contaminanti microbiologici, contribuendo così a rendere l'acqua sicura per il consumo umano. Inoltre, le AgNPs possono essere utilizzate per prevenire la crescita batterica nell'acqua potabile, riducendo il rischio di contaminazione microbiologica e migliorando la sua qualità complessiva.

2.3 Sintesi delle nanoparticelle d'argento

I materiali di dimensioni nanometriche vengono sintetizzati attraverso una varietà di metodi, ma in generale esistono due approcci principali: la sintesi top-down e la sintesi bottom-up. Nella prima, si parte da materiali di dimensioni maggiori e si procede a ridurli in particelle nanometriche, mentre nella seconda si parte da singoli atomi o molecole per costruire materiali di dimensioni nanometriche su scala più grande.

Nelle metodologie top-down, le nano e micro-strutture sono ottenute scolpendo un blocco di materiale, attraverso tecniche diverse come la litografia, un'ablazione laser del materiale massivo, e il ball milling, una tecnica di macinazione che riduce il materiale in polveri nanometriche.

Per quanto riguarda il metodo bottom-up, si usano dei mattoncini con cui fabbricare le nanostrutture. La sintesi delle nanoparticelle bottom-up procede attraverso due fasi principali: la nucleazione, che comporta la formazione degli atomi metallici mediante riduzione, e la crescita, che consiste nell'aggregazione degli atomi. Il metodo più diffuso nella sintesi chimica delle nanoparticelle è la riduzione chimica tramite l'uso di agenti organici e inorganici, rinomato per la sua semplicità. Gli agenti riducenti comunemente impiegati includono il citrato di sodio, il boroidruro di sodio e il polietilenglicole. Questi agenti sono scelti per la loro capacità di ridurre lo stato di ossidazione da Ag^+ ad Ag^0 , sia in soluzioni acquose che non acquose. Questo processo avviene solitamente in soluzione, dove l'agente riducente dona elettroni agli ioni d'argento, permettendo loro di ridursi a forma di nanoparticelle. La scelta dell'agente riducente e delle sue condizioni di reazione può influenzare le dimensioni, la forma e le proprietà delle nanoparticelle formate. L'introduzione di tali agenti riducenti accelera notevolmente la reazione, generando una grande quantità di nuclei metallici e producendo nanoparticelle estremamente piccole più il riducente è forte. Al contrario, una reazione più lenta può favorire l'agglomerazione delle particelle [28]. Oltre ad avere un agente riducente è altresì importante avere un agente stabilizzante, il quale regola e controlla la reazione. Esso previene l'agglomerazione delle nanoparticelle appena formate, mantenendole separate e disperse quasi uniformemente nella soluzione, questo per conservare le loro dimensioni e le loro proprietà. Inoltre, molti biopolimeri utilizzati come

agenti riducenti nella sintesi delle nanoparticelle , ricoprono anche il ruolo di agenti stabilizzanti (chitosano, acido ascorbico, polifenoli e polipeptidi).

3. Rivestimenti contenenti nanoparticelle d'argento

Le nanoparticelle necessitano di una matrice per essere incorporate, a tal proposito sono stati studiati i materiali compositi, i quali hanno caratteristiche ideali, trattenendo le nanoparticelle evitando che si disperdano. Mantenendo le AgNPs all'interno della matrice, aumenta la durata della funzione antibatterica, allo stesso tempo però la matrice non deve essere troppo spessa da neutralizzare la funzione battericida in superficie né deve essere troppo aggressiva da cambiare le proprietà chimico-fisiche delle nanoparticelle.

Il potenziale dell'utilizzo delle nanoparticelle in ambito chirurgico è straordinario. Le proprietà antibatteriche delle nanoparticelle d'argento trovano applicazione in diversi settori, quali l'urologia, l'implantologia, l'odontoiatria e la cura di ustioni e ferite croniche. L'ampia gamma di materiali disponibili in commercio per la ricostruzione ossea offre molteplici opportunità, tuttavia nella chirurgia delle protesi ossiccolari, attualmente nessun impianto possiede proprietà battericide.

Dallo studio di Magdalena Ziabka et al., basato sulla biocompatibilità di impianti polimerici modificati con nanoparticelle d'argento (AgNPs), dove sono state preparate protesi per l'orecchio medio (otoimpianti) in (poli) acrilonitrile butadiene stirene (ABS) e ABS modificato con nanoparticelle d'argento mediante estrusione e stampaggio a iniezione, si hanno risultati che confermano il possibile utilizzo, con ottimi risultati, delle AgNPs in matrici composite per rendere le superfici antibatteriche. In particolare, i loro studi in vivo hanno evidenziato che l'impiego di protesi in ABS arricchite con nanoparticelle d'argento sono compatibili con il tessuto circostante, garantendo al contempo un'efficace azione antibatterica a lungo termine, senza provocare infiammazioni o reazioni tossiche. L'introduzione di nanoparticelle d'argento accelera il processo di guarigione, rivestendo un ruolo cruciale nella convalescenza post-operatoria dopo la ricostruzione della catena ossicolare. Inoltre, l'aggiunta di nanoparticelle d'argento a concentrazioni ridotte alla matrice polimerica non ha influenzato negativamente le proprietà meccaniche e microstrutturali del materiale. Questi risultati promettenti costituiscono una solida base per ulteriori ricerche [29].

3.1 Rivestimenti a partire da polimeri

Le superfici idrofobiche e superidrofobiche hanno attirato notevole interesse nelle comunità scientifiche e industriali per la loro marcata resistenza all'acqua, che si traduce in proprietà di grande interesse come l'anticorrosione, l'autopulizia, l'antighiaccio, l'antiaderenza, la riduzione del biofouling e gli effetti antimicrobici o di barriera al vapore acqueo, tra gli altri. Di conseguenza, tali superfici offrono un'ampia gamma di applicazioni tecnologiche che spaziano attraverso diversi settori industriali.

La ricerca di matrici polimeriche ad alta resistenza ha portato l'attenzione verso i polisilazani, noti per le loro eccezionali proprietà. I polisilazani (PSZ) sono una classe di polimeri speciali caratterizzati da una struttura contenente atomi di azoto e silicio alternati: $-(\text{SiR}^1\text{R}^2-\text{NR}^3)_n-$, essi possono essere classificati in inorganici (peridropolisilazani) o organici (organopolisilazani).

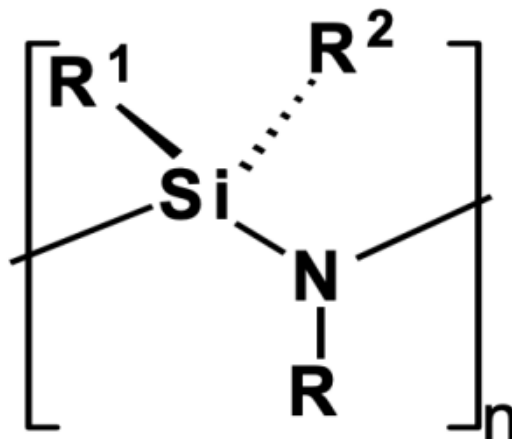


Figura 4: Struttura chimica dei polisilazani [30]

In particolare, gli organopolisilazani (OPSZ) sono PSZ che presentano legami con atomi di carbonio. Grazie alla loro elevata reattività dei gruppi Si-H e N-H, gli OPSZ formano una rete di silice molto densa che migliora notevolmente l'aderenza su diversi substrati come vetro, plastica e metallo. Questi polimeri sono altamente reticolati, combinando ottime proprietà barriera con elevata resistenza meccanica e forte affinità per i substrati metallici. Inoltre, negli OPSZ sviluppati recentemente, è stata raggiunta una

polimerizzazione rapida a temperatura ambiente interagendo con l'umidità ambientale, suscitando un notevole interesse per semplificare il processo di polimerizzazione. Tali polimeri trovano applicazioni in vari settori per applicazioni ad alto valore aggiunto, come l'elettronica, e hanno dimostrato buone proprietà di resistenza alla corrosione [31]. Questi polimeri hanno inoltre la capacità di essere trasformati in ceramici a temperature di circa 1000 °C e sono stati ampiamente impiegati come precursori per la produzione di ceramici a base di carbonitruro di silicio. [32]

La ricerca procede sempre di più verso matrici composite di polimeri, con l'introduzione delle AgNPs all'interno, e proprio per questo motivo l'obiettivo di questa tesi è di inglobare le nanoparticelle all'interno di un polimero, il Durazane 1800, organopolizilazano ancora non molto conosciuto, il quale ha delle proprietà molto interessanti per il nostro scopo.

4. Il ruolo della dimetilformammide e dell'acido tannico

Nel presente progetto di tesi sono stati utilizzati due solventi per la sintesi delle nanoparticelle, prima l'acqua con l'acido tannico come agente riducente e poi la dimetilformammide (DMF).

L'acido tannico è un composto fenolico naturale con abbondanti idrossili fenolici, che si trova nelle piante, in particolare nella corteccia di alcune specie di quercia.

Ha una notevole capacità di ancoraggio e di coordinamento, pertanto, l'acido tannico potrebbe interagire con le membrane polimeriche e dimostrare proprietà estremamente eccellenti nel rivestimento delle membrane per migliorare l'idrofilia delle membrane polimeriche. Esso induce la rapida formazione di nanoparticelle metalliche a temperatura ambiente senza altri tensioattivi o agenti di capping [33].

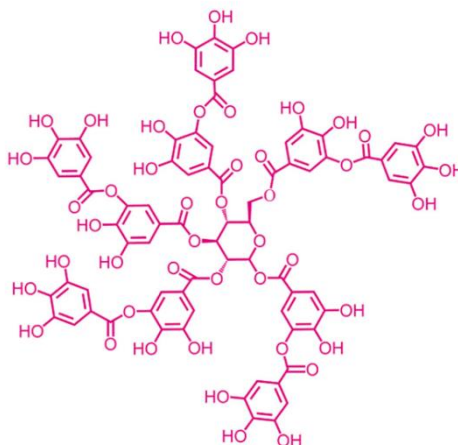


Figura 5: Struttura molecolare dell'acido tannico [34]

Nel nostro caso, il TA svolge il ruolo di stabilizzante, impedendo che le nanoparticelle, si agglomerino, mantenendole disperse, ma è importante soprattutto per la sua funzione di agente riducente; infatti, riduce gli ioni d'argento (Ag^+) a forma di nanoparticelle d'argento (Ag^0).

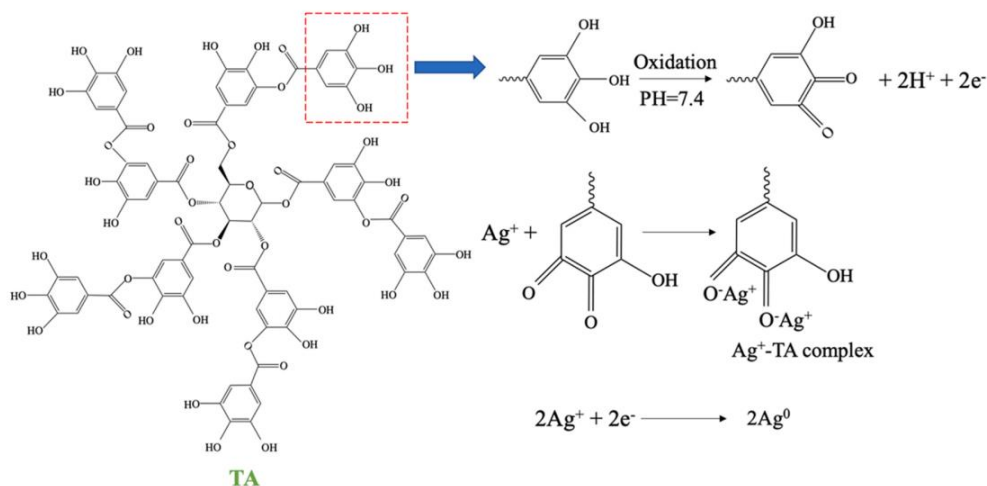


Figura 6: Meccanismo di formazione delle nanoparticelle di Ag, basato sulla riduzione di Ag^+ [33]

La dimetilformammide, invece, è un solvente organico ampiamente utilizzato con diverse proprietà fisiche e chimiche. È una delle ammidi più semplici, è ampiamente impiegata come solvente aprotico e come reagente versatile in svariate tipologie di reazioni. Nella sintesi delle nanoparticelle d'argento, la DMF può essere utilizzata come solvente e agente riducente. La sua alta polarità e la capacità di riduzione dell'argento favoriscono la formazione e la stabilità delle nanoparticelle d'argento. La DMF funge anche da stabilizzante, aiutando a prevenire l'aggregazione delle nanoparticelle durante la sintesi. Questo ruolo è particolarmente importante per controllare la dimensione e la forma delle nanoparticelle d'argento prodotte. La velocità della reazione è notevolmente influenzata dalla temperatura e dal rapporto tra la concentrazione di argento ($[\text{Ag}]$) e quella di APS ($[\text{APS}]$), fattori che incidono anche sulla monodispersità e sulle dimensioni delle particelle nei colloidi. Quando si utilizza una quantità adeguata di APS a elevate temperature, si forma un sottile strato di silice sulla superficie delle particelle, risultato della condensazione catalizzata dall'acido dell'APS. Per quanto riguarda le caratteristiche ottiche delle dispersioni, la banda di assorbimento del plasmone d'argento è spostata verso lunghezze d'onda più elevate nella maggior parte dei casi, a causa dell'alto indice di rifrazione della DMF e del rivestimento di silice sulla superficie [35].

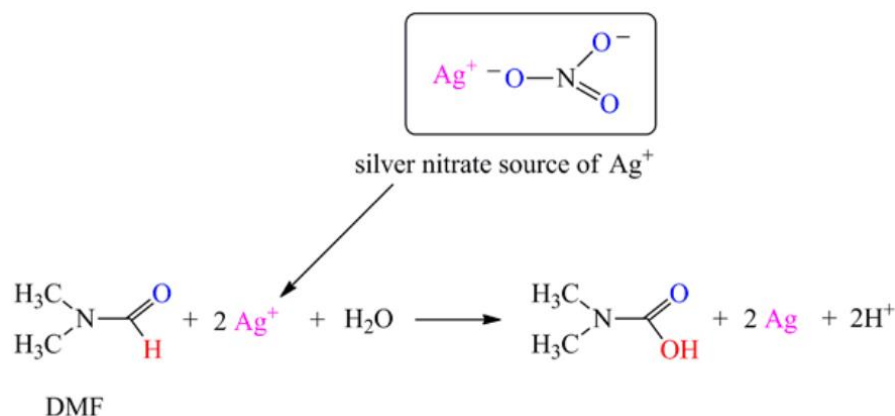


Figura 7: Schema di reazione per la riduzione di Ag^+ utilizzando DMF [36]

Durante la reazione, la dimetilformammide agisce da donatore di elettroni, cedendo gli elettroni necessari per ridurre gli ioni d'argento. Questo processo porta alla formazione di atomi di argento neutro, che possono quindi agglomerarsi per formare nanoparticelle d'argento.

La reazione di riduzione dell'argento da parte della DMF può essere accelerata da diversi fattori, tra cui la temperatura e la concentrazione dei reagenti. Inoltre, la presenza di altri componenti, come agenti stabilizzanti o promotori di reazione, può influenzare la velocità e il rendimento della reazione, così come le proprietà delle nanoparticelle d'argento prodotte. Nella nostra proposta per la sintesi di AgNPs che prevede l'utilizzo della dimetilformammide come solvente organico [44], si è introdotto anche il polivinilpirrolidone (PVP). In particolare, il precursore è sempre il nitrato d'argento (AgNO_3), mentre oltre alla DMF come solvente viene introdotto questo polimero idrosolubile. Con la sola DMF si ha un processo molto più lento e non si ha il controllo della reazione. Infatti, i precursori dell'argento, come il nitrato d'argento, possono comportarsi in modo imprevedibile in acetone, quest'ultimo inoltre è un solvente altamente volatile, il che può portare a variazioni imprevedibili nella concentrazione del reagente e nella temperatura durante la reazione. Ciò può determinare una nucleazione incontrollata e una crescita disomogenea delle nanoparticelle.

5. Materiali e metodi

5.1 I substrati

Per testare i rivestimenti sono stati utilizzati tre substrati diversi, vetrini in soda-lime, del cotone e pezzi di allumina. La loro diversità non solo composizionale ma anche strutturale ha permesso di sperimentare il rivestimento su materiali con caratteristiche estremamente varie.

Il vetro soda-lime è la forma più comune di vetro prodotta. La “soda”, carbonato di sodio (Na_2CO_3), funge da agente flussante, abbassando il punto di fusione della silice, mentre la “calce”, ossido di calcio (CaO), agisce come stabilizzatore della stessa. Questo tipo di vetro è economico, chimicamente stabile, abbastanza duro e altamente lavorabile, poiché può essere riscaldato e rimodellato più volte se necessario. Queste caratteristiche lo rendono adatto per la produzione di una vasta gamma di oggetti in vetro, tra cui lampadine, finestre, bottiglie e opere d'arte. I componenti chimici di questo vetro si possono leggere nella Tabella 1.

Tabella 1: Composizione chimica soda-lime [37]

Composizione chimica del vetro soda-lime				
SiO_2	Na_2O	CaO	MgO	Al_2O_3
73%	15%	7%	4%	1%

Il cotone è una fibra naturale che cresce nei semi del cotone, una pianta della famiglia delle Malvaceae, principalmente del genere *Gossypium*. È una delle fibre naturali più utilizzate al mondo e ha una lunga storia di utilizzo nell'abbigliamento, nella produzione tessile e in molte altre applicazioni. La fibra del cotone si presenta come una struttura nastriforme con avvolgimenti frequenti e uniformi a spirale. Le caratteristiche principali del cotone includono la sua morbidezza, la traspirabilità e la capacità di assorbire l'umidità, rendendolo confortevole da indossare.

La composizione chimica media del cotone è riportata nella Tabella 2.

Tabella 2: Composizione chimica cotone [38]

Composizione chimica cotone	
Cellulosa	88,0-96,5%
Proteine	1,0-1,9%
Cere	0,4-1,2%
Pectine	0,4-1,2%
Sostanze inorganiche	0,7-1,6%
Altre sostanze	0,5-8,0%

L'allumina, ossido di alluminio, è un materiale altamente flessibile e lavorabile, perfetto per una vasta gamma di applicazioni industriali. Le sue proprietà chiave includono la resistenza agli acidi e un eccellente isolamento termico ed elettrico.

La sua formula chimica è Al_2O_3 , ed è ottenuta principalmente dall'estrazione delle bauxiti o attraverso processi chimici. Le sue applicazioni principali includono la produzione di ceramiche, laterizi e materiali refrattari, ma trova impiego anche nei settori elettronico e meccanico. [39]

5.2 Coating contenente AgNPs sintetizzate tramite riduzione con acido tannico

5.2.1 Realizzazione del coating

Per la sintesi del rivestimento è stato scelto un organopolisilazano, il Durazane 1800, sviluppato e commercializzato dalla società Merck KGaA in Germania. Si presenta come una resina polisilazanica liquida a bassa viscosità, priva di solventi, con un aspetto trasparente e incolore, occasionalmente con tracce gialle. Tra le sue caratteristiche rilevanti, si evidenziano la densità, che varia tra 0,950 e 1,050 g/cm³ a 25 °C, e la viscosità, che si situa tra 10 e 40 cP a 20 °C [40]. Inoltre, il Durazane 1800 presenta eccellenti proprietà di adesione, durezza, idrofobicità e capacità di formare una barriera protettiva. È in grado di essere applicato su una vasta gamma di substrati, inclusi metalli, vetro e ceramica. Grazie a queste caratteristiche, il Durazane 1800 trova impiego in

diverse applicazioni industriali, in particolare come rivestimento ad alta temperatura per proteggere i metalli dalla corrosione.

Il polimero è composto da una struttura a spina dorsale di silicio e azoto, la quale è funzionalizzata con vari gruppi laterali, come idrogeno, metile e vinile [41]. La presenza di gruppi laterali organici determina una lieve riduzione della reattività complessiva del polimero.

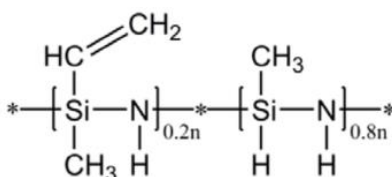


Figura 8: Struttura molecolare Durazane 1800 [42]

In condizioni ambientali, le reazioni di reticolazione principali coinvolgono l'idrolisi e la policondensazione. Il gruppo funzionale $\equiv\text{Si-NH-Si}\equiv$ reagisce con molecole di acqua o ossigeno, producendo gruppi silanolo che poi polimerizzano in polisilossano tramite policondensazione. [42] Tipicamente, la polimerizzazione è avviata da iniziatori radicali, che consentono una riduzione della temperatura o del tempo necessari per la polimerizzazione. Successivamente, la pirolisi avviene a temperature superiori a 500 °C, generando un materiale ceramico pirolizzato con una notevole stabilità alle alte temperature. Tuttavia, la reazione del Durazane 1800 con l'ossigeno porta alla formazione di una scaglia passivante di SiO_2 -, la quale ostacola la completa eliminazione di C e N. [43]

Per la sintesi delle nanoparticelle d'argento siamo partiti da una soluzione acquosa di nitrato d'argento 0.05 M (0.09 g in 10 mL), una soluzione acquosa di acido tannico 0.0006 M (0.01 g in 10 mL), una di carbonato di potassio 0.1 M (0.69 g in 50 mL), ed una di idrossido di sodio 0.1 M (0.02 g in 50 mL).

La soluzione di acido tannico e quella di AgNO_3 sono state inizialmente messe in Orbital shaker per 30 minuti. L' Orbital shaker è uno strumento di laboratorio utilizzato per mescolare, agitare o miscelare campioni liquidi in contenitori chiusi, in particolare permette una miscelazione uniforme dei campioni, garantendo che tutti i componenti

siano ben mescolati. Successivamente la soluzione di TA è stata tamponata con la soluzione di K_2CO_3 fino al pH di 8.5. Il carbonato di potassio è una base alcalina, quindi aumenta il pH di una soluzione quando viene disciolto in acqua. Quando il carbonato di potassio si dissocia in soluzione acquosa, rilascia ioni idrossido (OH^-) che reagiscono con l'acqua per aumentare la concentrazione di ioni idrossido, alzando così il pH della soluzione.

Una volta alzato il pH fino al valore desiderato, viene miscelata la soluzione di $AgNO_3$ insieme a quella appena tamponata. Anche qui si va a tamponare con la soluzione di $NaOH$ fino al pH di 8.5.

Per tamponare le soluzioni è stato utilizzato il piaccmetro portatile, strumento utilizzato per misurare il grado di acidità o alcalinità di una soluzione.

La soluzione risultante è stata lasciata per 24h nello shaker orbitale, questo ha portato alla formazione delle nanoparticelle d'argento.

Le nanoparticelle sintetizzate sono state prese, messe nelle falcon e centrifugate a 120000 rpm per circa un'ora in soluzione con acetone, il quale separa nettamente le due fasi presenti.



Figura 9: centrifuga con falcon contenenti le soluzioni

In contemporanea sono stati puliti dei pezzi di allumina tramite acetone e poi con l'aiuto del bagnetto ad ultrasuoni, che sono stati poi utilizzati come substrati dove depositare il rivestimento ricco di AgNPs.

Per ottimizzare la dispersione delle nanoparticelle in soluzione, queste sono state sottoposte a un processo di rimozione dell'acetone precedentemente utilizzato, sostituito con una nuova quantità, seguito da un trattamento con il vortex.

Con l'utilizzo della bilancia sotto cappa, si è creata una soluzione di 1 g di durazane e 1 g di AgNPs in acetone, agitata successivamente in vortex per mantenere la dispersione delle nanoparticelle.

Questa prima soluzione è stata successivamente rivisitata aggiungendo nanocariche di silice, $n\text{SiO}_2$, in quanto la soluzione era troppo liquida e difficile da depositare, ma soprattutto in fase di analisi FESEM/EDS non si notavano nanoparticelle d'argento. L'aggiunta delle nanocariche aumenta infatti la viscosità della soluzione, rendendola più facilmente depositabile, inoltre, sono biocompatibili ed aiutano a favorire la biocompatibilità della soluzione generale.

5.2.2 Deposizione del coating

Una volta prodotta la soluzione di AgNPs e Durazane, si è passati alla deposizione.

La deposizione è sempre fatta sotto cappa per evitare contaminazione e dispersione di soluzioni in luoghi comuni, in particolare la prima soluzione priva di nano cariche di silice è stata depositata a goccia, con semplice pipetta, sull'allumina pulita, lasciata poi ad asciugare. Il risultato lo si può vedere in Figura 10.



Figura 10: deposizione a goccia di soluzione AgNPs sintetizzate in una soluzione acquosa con TA + Durazane su pezzi di allumina e lasciati in forno a 400° C per 24h

La soluzione con nanocariche di silice invece è stata depositata su vetrini soda-lime sia a con il metodo semplice a goccia sia con l'utilizzo di uno stendifilm manuale.

L'utilizzo dello stendifilm permette di ottenere dei rivestimenti omogenei, con uno spessore di circa 50 μm , ma soprattutto evita la formazione di bolle e cricche date dall'asciugatura del metodo a goccia.

5.3 Coating contenente AgNPs sintetizzate tramite riduzione con DMF e PVP

5.3.1 Realizzazione del coating

Il polivinilpirrolidone (PVP) può assumere diversi ruoli nella sintesi delle nanoparticelle, agendo come stabilizzatore di superficie, modificatore di crescita, disperdente e agente riducente. È un polimero voluminoso, non tossico [45] e non ionico [46], contenente gruppi funzionali C=O, C-N e CH₂. [47] È ampiamente impiegato nella sintesi di nanoparticelle (NP). La struttura molecolare del PVP include una componente altamente idrofila (la parte pirrolidone) e un considerevole gruppo idrofobico (il gruppo alchilico). La sua compatibilità con l'acqua e molti solventi non acquosi è dovuta al gruppo amidico altamente polare all'interno dell'anello pirrolidone e ai gruppi metilenici e metinici apolari nella sua spina dorsale. svolge un ruolo cruciale come stabilizzatore, impedendo

l'aggregazione delle NP grazie alle forze repulsive generate dalle sue catene di carbonio idrofobe che si estendono nei solventi e interagiscono tra loro (effetto di ostacolo sterico). In alcuni casi, le distanze interparticellari ottenute sono così allungate che il PVP può essere considerato un "disperdente", in quanto mantiene le NP ben separate. [48] [49]

Il PVP agisce spesso come agente di controllo della forma nelle sintesi di nanoparticelle, promuovendo la crescita di facce cristalline specifiche mentre ne ostacola altre. Ad esempio, in soluzioni di polioli, il PVP si lega fortemente alle facce {100} dell'argento (Ag), facilitando la crescita lungo le direzioni $\langle 111 \rangle$ e permettendo la formazione di nanofili di Ag. Questo è stato confermato anche attraverso l'utilizzo dei metodi della teoria funzionale della densità (DFT) da Saidi et al. [50].

Le condizioni che consentono il controllo della forma nei sistemi PVP sono ampiamente discusse, tenendo conto della classe del materiale considerato. Il PVP è anche descritto come un blando riduttore, poiché le sue estremità sono terminate da gruppi ossidrilici. Un'altra caratteristica importante del PVP è la presenza di ossigeni carbonilici che possono legarsi alle molecole di solvente attraverso legami idrogeno. Il PVP è un polimero estremamente stabile, con proprietà fisico-chimiche inerti in una vasta gamma di valori di pH. La sua stabilità e versatilità lo rendono un componente prezioso in molteplici processi di sintesi e manipolazione di nanoparticelle [51].

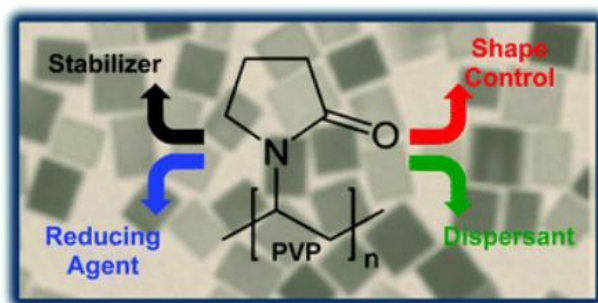


Figura 11: Struttura chimica PVP [50]

Per questa sintesi di AgNPs si parte da due soluzioni, una super concentrata di AgNO_3 in acqua (10 M) ed una di PVP in DMF (2mM di PVP in 10 ml di DMF). La soluzione super concentrata di nitrato d'argento è stata creata prendendo circa 34 g di AgNO_3 e 20 mL di acqua, mentre la soluzione di PVP e DMF è stata sintetizzata mettendo 0.8 g in soluzione

con 10 mL di dimetilformammide, si conclude usando o il vortex o il processo dello stirring per far avvenire la completa solubilizzazione. Una volta ottenute le due soluzioni tramite pipetta sono stati messi 20 μ L di soluzione di AgNO_3 nella soluzione di PVP e DMF. La reazione avviene praticamente istantaneamente e lo si può notare dal colore della soluzione che cambia. Più la concentrazione del PVP sarà alta, più il colore della soluzione sarà scuro.

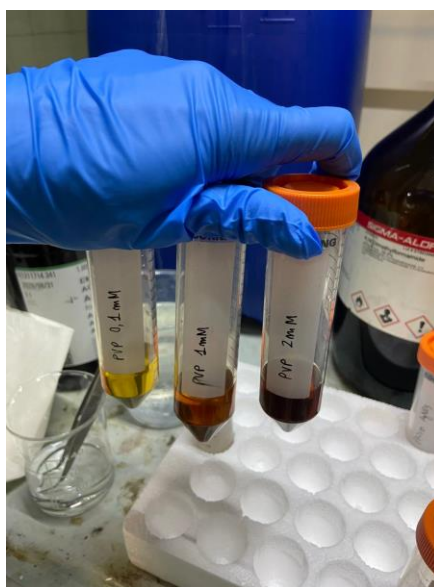


Figura 12: Soluzioni di AgNO_3 in DMF e PVP, a diverse concentrazioni di PVP, nella più chiara è presente il PVP alla concentrazione di 0.1 mM, quella intermedia è alla concentrazione di 1 mM, mentre quella più scura è alla concentrazione di 2 mM.

5.3.2 Deposizione del coating

Per quanto riguarda la deposizione di questa soluzione data da questo processo di sintesi, si sono utilizzati due substrati diversi: i vetri in soda-lime ed il cotone.

Per quanto riguarda i vetri si sono utilizzate le due deposizioni viste in precedenza, attraverso la deposizione a goccia ed attraverso la deposizione e conseguente stesura della soluzione con stendifilm.

Per quanto riguarda il cotone, invece, si è deciso di tagliare dei quadrati e di immergerli nella soluzione di nanoparticelle d'argento, per poi estrarli e lasciarli ad asciugare per una notte.

5.4 Il rivestimento con DMF e utilizzo di evaporatore

5.4.1 Utilizzo evaporatore e realizzazione del coating

Per migliorare i risultati ottenuti dai due metodi precedenti si è pensato di utilizzare un rotavapor (evaporatore rotante) per il processo di sintesi del coating.

Il rotavapor è uno strumento da laboratorio utilizzato per far evaporare solventi da una soluzione, generalmente sottovuoto e con la possibilità di mandare il processo a temperature desiderate.



Figura 13: Rotavapor utilizzato per la sperimentazione

L'evaporatore rotante è costituito da sei elementi:

- un pallone di evaporazione, in cui viene inserita la soluzione da evaporare;
- un bagno termostatico, in cui si immerge il pallone di evaporazione per mantenere la soluzione alla temperatura opportuna;
- un meccanismo per mettere in rotazione il pallone di evaporazione con una speciale guarnizione di tenuta del vuoto;
- un condensatore, per abbattere la maggior parte dei vapori che si sviluppano durante il processo;
- una pompa a vuoto, generalmente di tipo a membrana;
- un pallone di raccolta per i solventi condensati.

I palloni, il condensatore e gli elementi di raccordo fra questi sono realizzati in vetro, e tutto il sistema, una volta montato deve garantire una perfetta tenuta del vuoto [52].

Il funzionamento prevede: preparazione della soluzione da inserire nel pallone di evaporazione; montaggio del palloncino sul braccio di sostegno; azionamento della pompa a vuoto e conseguente formazione del vuoto all'interno del palloncino rotante; possibile messa in atto del riscaldamento; evaporazione, più facilitata dalla rotazione del palloncino; raccolta in un contenitore (altro palloncino) del solvente evaporato, poi refrigerato per farlo tornare liquido; recupero del soluto concentrato rimuovendo il palloncino principale.



Figura 14: palloncino di evaporazione in rotazione

In questo processo di ottimizzazione della sintesi delle AgNPs, abbiamo inserito nel palloncino di evaporazione la nostra soluzione di AgNPs + Durazane + PVP, realizzata precedentemente, ed in una prima fase abbiamo azionato il rotavapor senza riscaldamento, per poi lasciarlo in lavorazione per circa 35 minuti. In un secondo momento, abbiamo provato anche, con una nuova soluzione, a riscaldare il palloncino rotante ad una temperatura costante di 50° C grazie ad un bollitore e a dell'acqua. Questo esperimento in riscaldamento è stato fatto inizialmente per 50 minuti per poi riprovarlo su una soluzione nuova per circa due ore.



Figura 15: utilizzo di acqua e bollitore per riscaldare e mantenere a T costante il palloncino

5.4.2 Deposizione del coating

La soluzione appare diversa in base alla via scelta di sperimentazione, più viscosa e povera del solvente, la DMF, più la soluzione è stata riscaldata. In tutti e tre i casi, comunque, le soluzioni ottenute sono state depositate sotto cappa sia con il semplice metodo a goccia con l'utilizzo di una pipetta, sia con l'utilizzo dello stendifilm.

5.5 Caratterizzazione morfologica e composizionale

Per valutare la sintesi delle nanoparticelle d'argento, una delle tecniche d'analisi principali utilizzate è la spettroscopia UV-visibile (UV-vis). Questa tecnica è ampiamente impiegata nel controllo della sintesi di nanoparticelle metalliche poiché consente di rilevare la risonanza plasmonica di superficie localizzata caratteristica delle nanoparticelle. La spettroscopia UV-vis misura l'assorbanza della luce in un range di lunghezze d'onda compreso tra 700 e 200 nm.



Figura 16: spettrofotometro UV-visibile

Un altro metodo utilizzato per verificare la presenza di Ag e quindi di nanoparticelle è stata la diffrazione a raggi X (XRD), che attraverso la comparazione, attraverso uno

specifico software, dei pattern di diffrazione ottenuti con database di strutture cristalline note, riesce ad identificare le fasi cristalline presenti in un campione.

Gli ultimi due metodi di caratterizzazione sono un po' più specifici, e sono il FESEM e l'EDS. Il primo è uno strumento da laboratorio molto potente per l'analisi di superfici e per studiare la loro morfologia in scala microscopica, utilizza un fascio di elettroni ad emissione di campo per ottenere immagini ad alta risoluzione. L'EDS, invece, è molto utile per rilevare la presenza di Ag all'interno di un'area specifica, essa si affida alla spettroscopia a dispersione di energia.

5.6 Test antibatterici

La valutazione di antibattericità è stata effettuata solamente sul coating di AgNPs e Durazane su vetrino soda-lime, utilizzando test dell'alone di inibizione (NCCLS M2-A9), metodo utilizzato per valutare qualitativamente la presenza di un'eventuale zona priva di batteri attorno a un campione incubato a contatto con un ceppo batterico.

Per questo test è stato utilizzato la colonia del ceppo batterico *Staphylococcus epidermidis*, batterio molto comune. Per preparare la soluzione si è agito ovviamente sotto cappa biologica, si è preparata una soluzione nutriente contenente una concentrazione prefissata di batteri, raggiunta grazie al densitometro di McFarland, che permette di raggiungere il valore corretto di batteri nel brodo per volume di sospensione (circa 10⁸ CFU - unità formanti colonie - su ml).

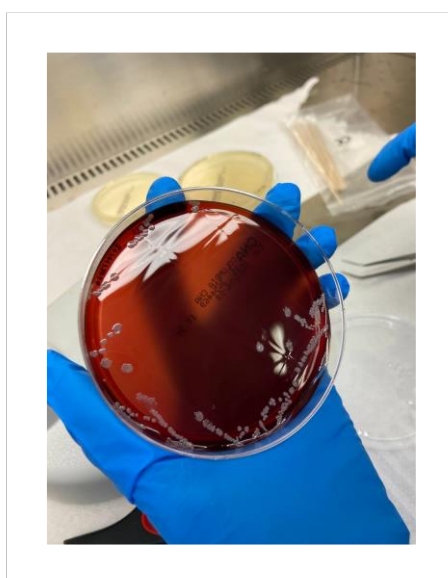


Figura 17: colonia di batteri *Staphylococcus epidermidis*

Questa soluzione appena creata è stata depositata su una piastra di agar Mueller Hinton, in maniera omogenea seguendo movimenti prefissati, infine I campioni sono disposti in modo tale che la superficie rivestita sia orientata verso la piastra, garantendo così il contatto diretto tra le due superfici.

Dopo un periodo di incubazione di 24/48 ore a 35°C, è valutabile se il rivestimento ha esercitato un'azione antibatterica osservando la possibile formazione di una zona di inibizione, più precisamente un alone, attorno al campione.

6. Risultati

6.1. Rivestimento di AgNPs sintetizzato tramite riduzione in una soluzione acquosa con acido tannico a partire dal precursore organopolimerico Durazane 1800

A questo punto della sperimentazione si è andati ad analizzare il rivestimento di Durazane, funzionalizzato con AgNPs sintetizzate in una soluzione acquosa con acido tannico come agente riducente, depositato a goccia sul vetrino di soda-lime.

6.1.1. Spettroscopia ultravioletta/visibile (UV)

La prima prova che ci siamo apprestati ad eseguire per rilevare la presenza di Ag è quella della spettroscopia UV-vis.

Prima è stata effettuata una rilevazione in assorbanza su di un semplice campione di AgNPs, senza l'introduzione del polimero, per vedere dove fosse realmente il picco dell'argento, e quindi, dove dovrebbe essere in ogni misurazione se la formazione di nanoparticelle d'argento sarebbe riuscita.

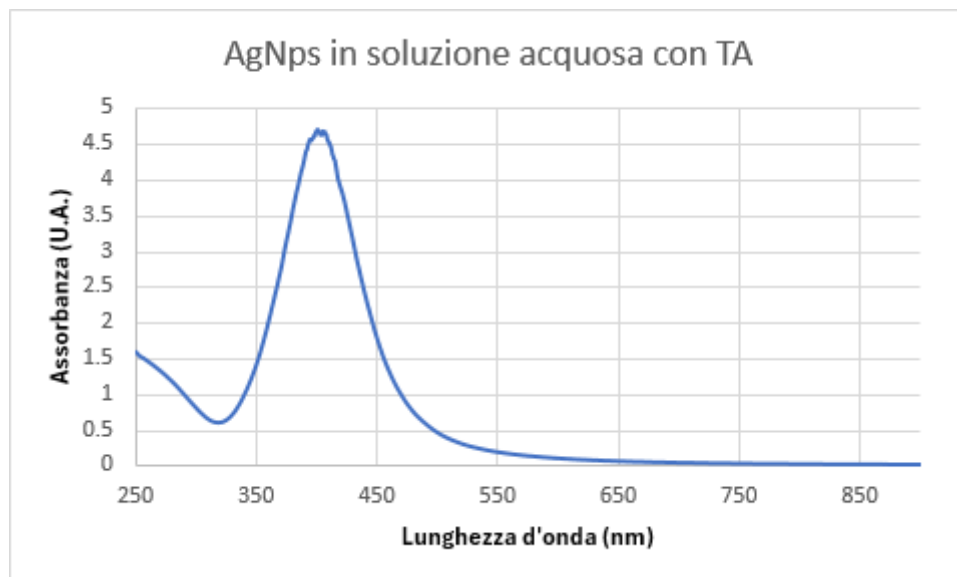


Figura 18: Spettro UV-Vis delle AgNPs sintetizzate in una soluzione acquosa con TA

Da questa misurazione (Figura 18) si nota un picco a circa 400 nm, tipico proprio dell'Ag. A seguire sono state effettuate misurazioni sui campioni di AgNPs ottenute da una soluzione acquosa con TA + Durazane, e sullo stesso rivestimento ma con l'aggiunta di nanocariche di silice nSiO₂. Per quanto riguarda lo spettro UV-vis del secondo rivestimento appena citato, su vetrino soda-lime della figura 20, si nota che l'assorbanza intorno a 400 nm è così elevata da mandare lo spettro in saturazione.

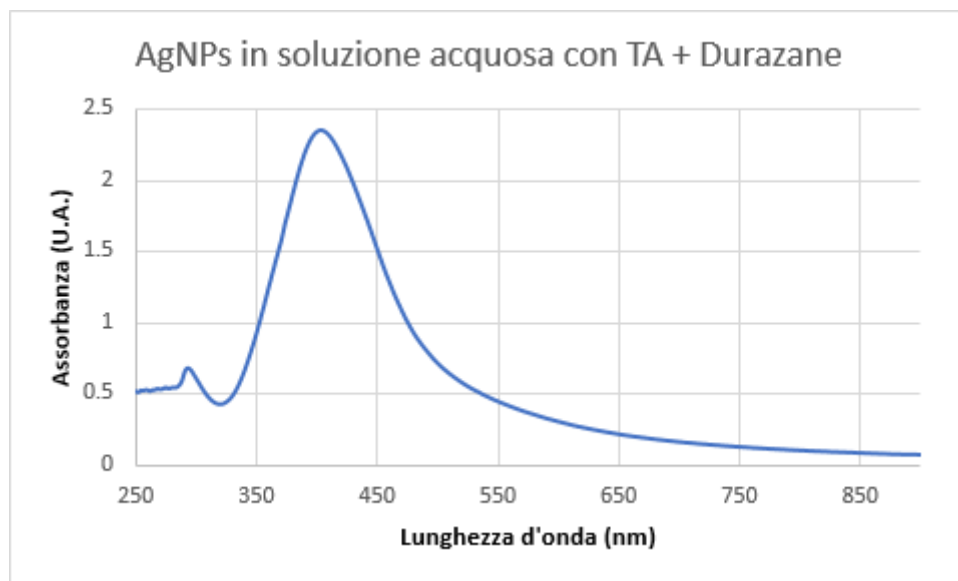


Figura 19: Spettro UV-vis del rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNPs sintetizzate in una soluzione acquosa con TA

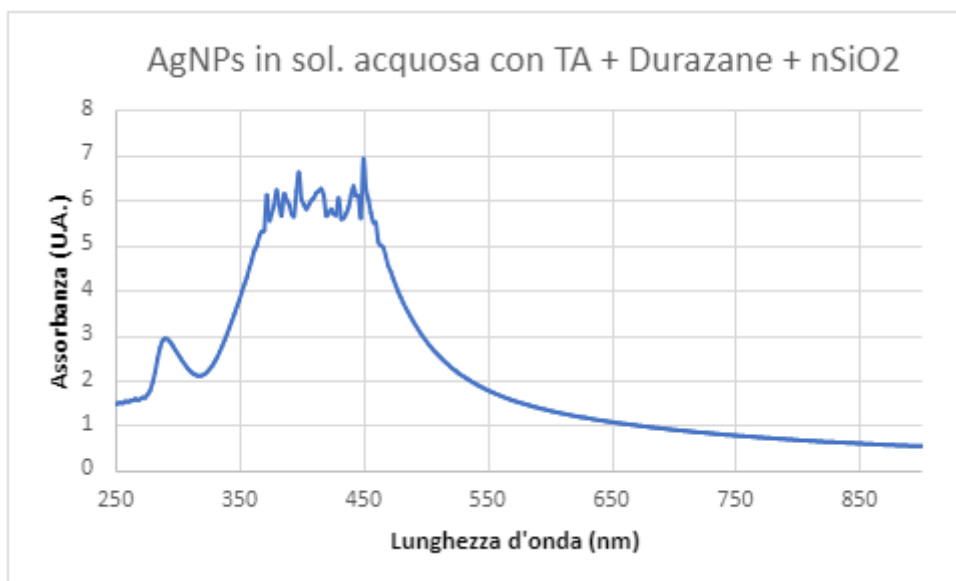


Figura 20: Spettro UV-vis del rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNPs sintetizzate in una soluzione acquosa con TA e nano cariche di silice su vetrino soda-lime

6.1.2 Diffrazione a raggi X (XRD)

Per verificare la presenza di argento nella sintesi che è risultata migliore (quella con l'aggiunta di nano cariche di silice), si è andati a fare un'analisi XRD.

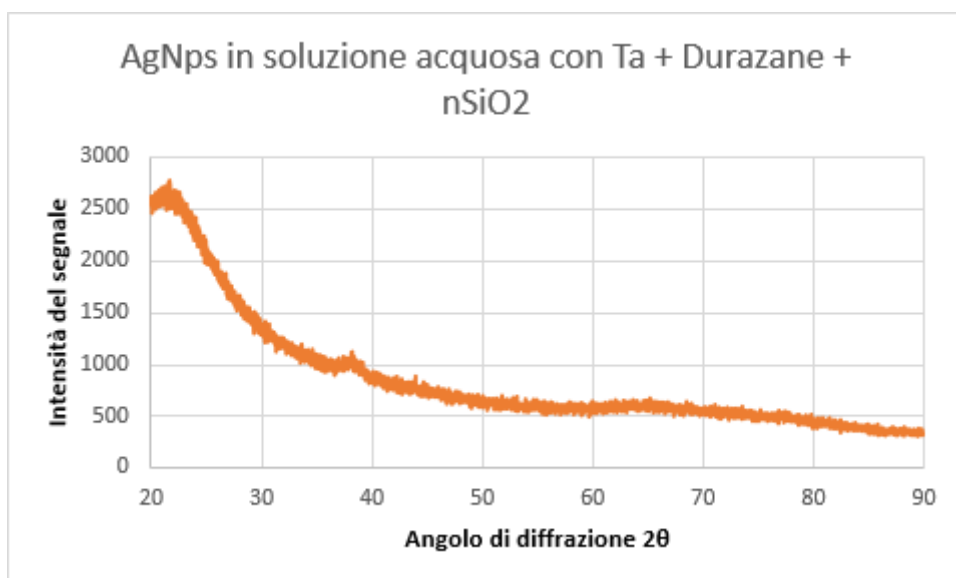


Figura 21: Spettro XRD del rivestimento a goccia di Durazane funzionalizzato con AgNPs sintetizzate in una soluzione acquosa con TA e nano cariche di silice, depositato su vetrino soda-lime

Si può notare un picco di diffrazione a circa 38° , sapendo che i picchi di diffrazione osservati a $2\theta = 38,116^\circ, 44,277^\circ, 64,426^\circ, 77,472^\circ$ e $81,536^\circ$ corrispondono ai picchi caratteristici dei piani (1 1 1), (2 0 0), (2 1 1), (3 1 1) e (2 2 2), rispettivamente, ed indicano la struttura cristallina cubica a facce centrate dell'argento [53], si può ipotizzare che il picco individuato sia relativo a quello che stiamo cercando. Nonostante il picco non sia eclatante, si può prendere per buono in quanto più è basso il picco, minore è la dimensione delle nanoparticelle. Quindi un picco basso come quello trovato può essere sinonimo di nanoparticelle d'argento.

6.1.3. Spettrometria per dispersione di energia (EDS)

Per verificare la presenza di argento nel rivestimento è stata effettuata una misurazione tramite EDS.

Tabella 3: Composizione rivestimento di Durazane con AgNps sintetizzate in una soluzione acquosa con Acido Tannico e aggiunta di nSiO₂, depositato su vetrini di soda-lime

AgNps in soluzione acquosa con Acido Tannico + Durazane con aggiunta di nSiO ₂ su vetrini di soda-lime		
Elemento	Media (% Atomica)	Deviazione standard
O	44,47667	0,526244557
Si	54,99	0,495681349
Ag	0,536667	0,040414519

In generale, la presenza di argento nell'intervallo del 0,5-5% in massa atomica può essere sufficiente per conferire proprietà antibatteriche al rivestimento. In questo caso la percentuale è circa dello 0,5%, come si evince dalla Tabella 3, il che significa che è presente una quantità di argento sufficiente a rendere il nostro rivestimento antibatterico, condizione necessaria ma non sufficiente in quanto l'antimicrobicità è dettata da un insieme di caratteristiche.

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

La morfologia dei rivestimenti ottenuti sull'allumina e sul soda-lime è stata analizzata molto attentamente attraverso la tecnica FESEM. In particolare, sono stati visti i

rivestimenti di Durazane funzionalizzati con le AgNPs, sintetizzate con l'utilizzo del TA come agente riducente, sui campioni di allumina ed i rivestimenti con l'aggiunta di nano cariche di silice sui vetri di soda-lime.

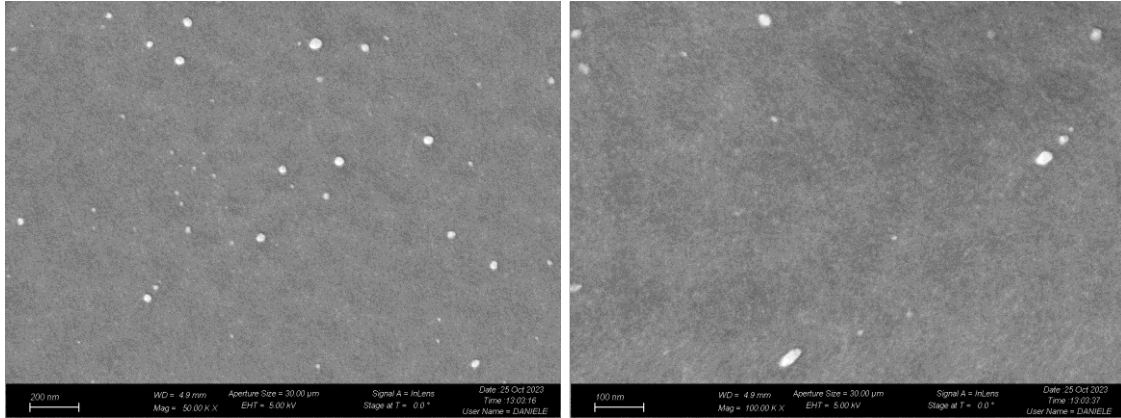


Figura 22: micrografia FESEM dei rivestimenti ottenuti su campioni di allumina senza la presenza di nano cariche di silice a diversi ingrandimenti: a sx 50.00 kX, a destra 100.00 kX

Da queste rilevazioni possiamo intuire che le nanoparticelle d'argento potrebbero essere quelle visibili in figura, ma allo stesso tempo il FESEM non ci dà la sicurezza che siano esattamente AgNPs.

Per quanto riguarda i campioni con aggiunta di nano cariche di silice, dal rivestimento si possono notare morfologie diverse.

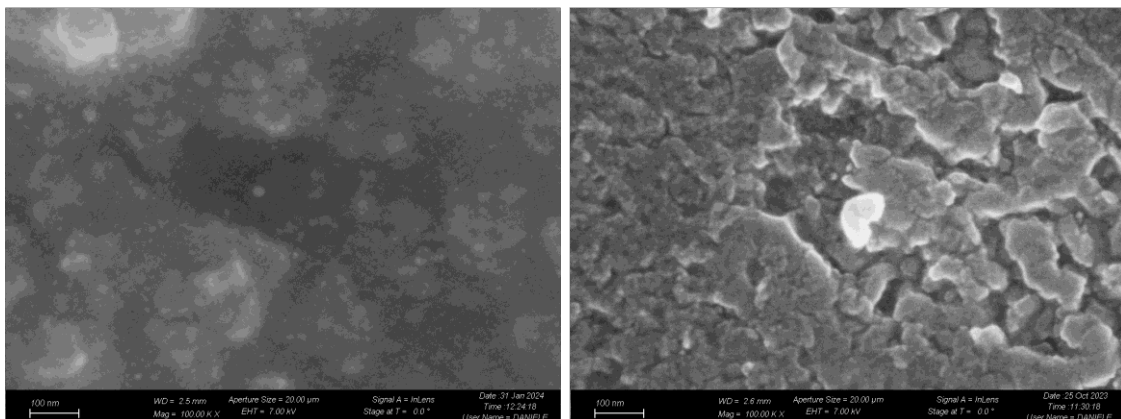


Figura 23: micrografia FESEM dei rivestimenti ottenuti su vetri di soda-lime con l'aggiunta di nano cariche di silice a 100.00 kX

La prima cosa che si può vedere è che non si notano forme rappresentanti le nanoparticelle così esplicite come nel caso precedente, ma invece si notano delle possibili AgNPs al di sotto di uno strato di polimero e non in superficie. Questo ci ha portato ad introdurre metodi alternativi per ridurre il polimero per far emergere maggiormente la presenza e di conseguenza l'azione delle nanoparticelle d'argento.

6.2. Rivestimento di AgNPs in dimetilformammide (DMF) a partire dal precursore organopolimerico Durazane 1800

6.2.1. Spettroscopia ultravioletta/visibile (UV)

Prima di caratterizzare il rivestimento, abbiamo caratterizzato i due bianchi con la sola DMF e con AgNPs sintetizzate in DMF senza Durazane per visualizzare i picchi di queste sostanze.

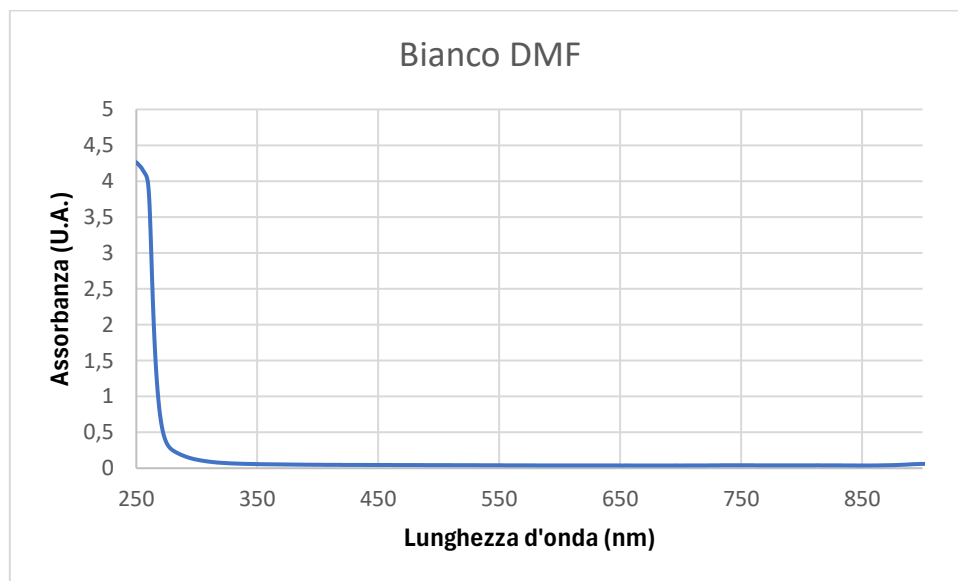


Figura 24: Spettro UV-vis del rivestimento di sola DMF, depositato su soda-lime

Da questo spettro si nota un grafico piatto per tutta la lunghezza d'onda, ad eccezione di un picco in corrispondenza di 250 nm.

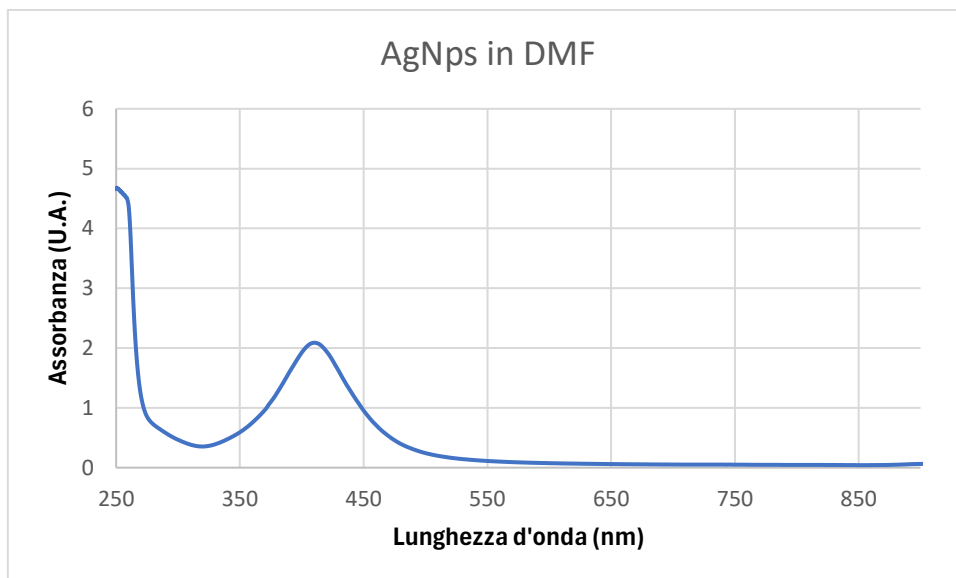


Figura 25: Spettro UV-vis delle AgNPs in DMF

Nel grafico in Figura 25, invece, si può notare il classico picco dell'argento intorno ai 400/420 nm, a sostegno del fatto che le nanoparticelle sono presenti.

Passando all'analisi del rivestimento di AgNPs in DMF e Durazane sono state effettuate tre prove su tre diversi campioni ottenuti su vetrini di soda-lime. Di seguito il grafico del risultato migliore:

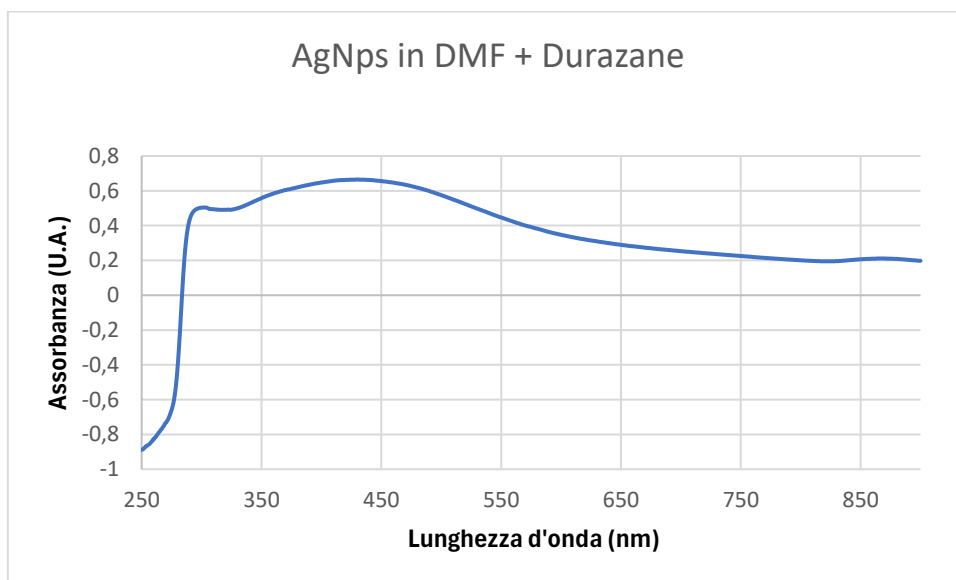


Figura 26: Spettro UV-vis del rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNPs in DMF, depositato su soda-lime

Il grafico non presenta un picco netto relativo all'argento, ma presenta una leggera collinetta, comunque ipotizzabile relativa all'Ag, niente a che vedere però con il bianco AgNPs in DMF. È ipotizzabile quindi che il Durazane incida molto sulle nanoparticelle d'argento, mascherandole o comunque evitandone la formazione di un gran numero.

6.2.2. Diffrazione a raggi X (XRD)

L'analisi per diffrazione a raggi X è stata eseguita invece solo su di un campione, ma anche sotto sopra, per verificare se nella parte a contatto con il vetro soda-lime ci sia un maggior numero di particelle rispetto alla superficie esterna del rivestimento.

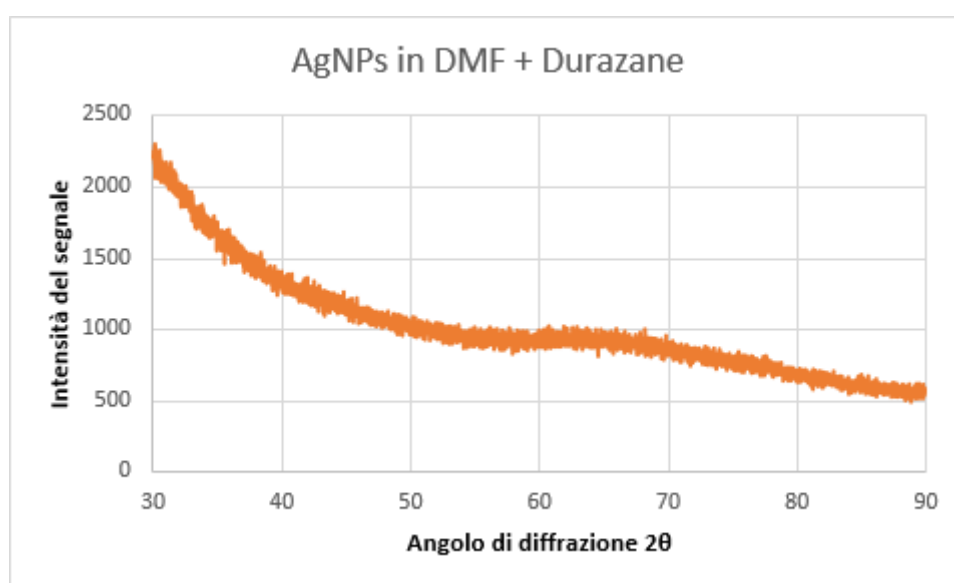


Figura 27: Spettro XRD del rivestimento a goccia di Durazane funzionalizzato con AgNPs sintetizzate in DMF, depositato su vetrino soda-lime

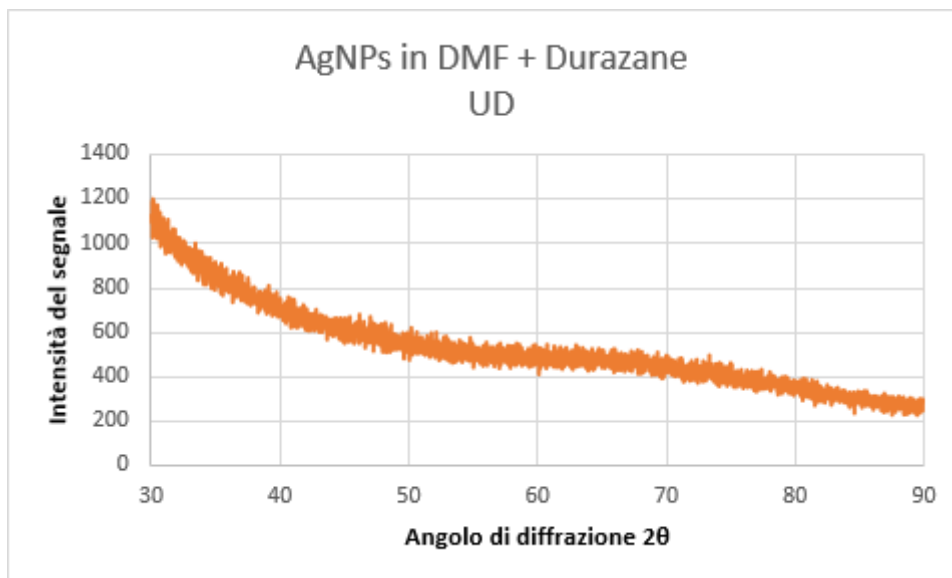


Figura 28: Spettro XRD del rivestimento sotto sopra a goccia di Durazane funzionalizzato con AgNPs sintetizzate in DMF, depositato su vetrino soda-lime

Per quanto concerne queste ultime analisi non si notano risultati evidenti relativi alla presenza di argento nel rivestimento: non si rilevano, infatti, picchi definiti ai valori $2\theta = 38,116^\circ, 44,277^\circ, 64,426^\circ, 77,472^\circ$ e $81,536^\circ$. Si può solo notare un leggero innalzamento della curva a circa 64° nella prima analisi del campione.

6.2.3. Microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo (FESEM) e spettrometria per dispersione di energia (EDS)

Le analisi al FESEM e all'EDS sono state eseguite praticamente insieme, andando ad analizzare punti relativi alle immagini della microscopia elettronica a scansione con sorgente a emissione di campo per rilevarne gli elementi presenti in maniera pressochè puntuale.

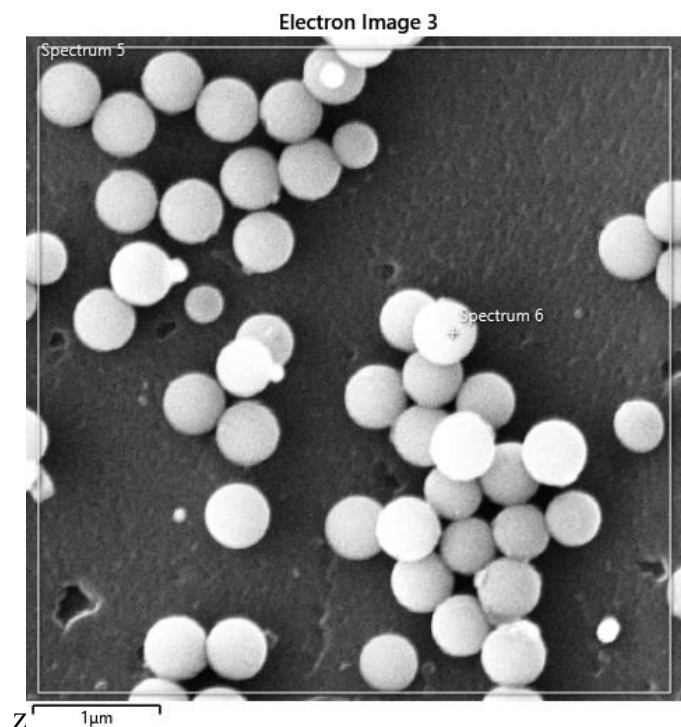


Figura 29: micrografia FESEM dei rivestimenti ottenuti con Durazane funzionalizzato con AgNPs in DMF, depositati su vetrini soda-lime

Da questa immagine si notano microparticelle, probabilmente assimilabili alla silice; infatti, la percentuale di argento è molto bassa, ed inoltre le AgNPs avrebbero dimensioni notevolmente ridotte in confronto a queste particelle di circa 0,5 μm. Le nanoparticelle d'argento si dovrebbero andare a ricercare più in profondità, anche a contatto con le microparticelle di silice.

Tabella 4: Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF, depositato su vetrini di soda-lime, riferita allo spettro 5

AgNps in DMF Durazane su vetrini di soda-lime	
Spettro 5	
Elemento	Media (% Atomica)
C	35,61
O	31,09
Si	33,04
Ag	0,26

Tabella 5: Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF, depositato su vetrini di soda-lime, riferita allo spettro 6

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime	
Spettro 6	
Elemento	Media (% Atomica)
C	31,27
O	45,93
Si	22,34
Ag	0,46

Per l'analisi EDS la percentuale d'argento è molto bassa, sinonimo del fatto che l'argento, nelle aree di spettro selezionate, è poco presente, nonché quasi nullo. E' necessaria una percentuale di circa 0,5 % atomica per rendere la superficie appetibile ad essere antibatterica.

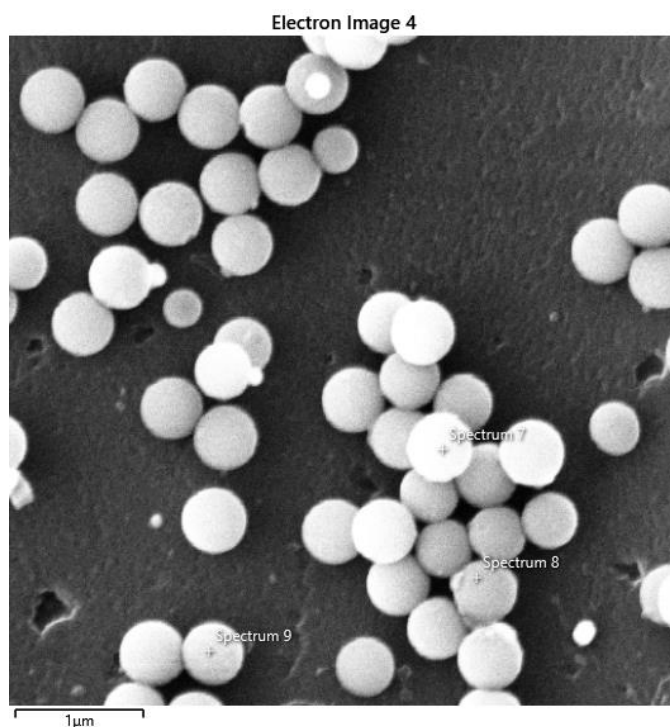


Figura 30: micrografia FESEM dei rivestimenti ottenuti con Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF, depositati su vetrini soda-lime

L'analisi è stata eseguita allo stesso ingrandimento dell'immagine precedente, cercando di andare a catturare le microparticelle di silice che presentassero sulla superficie delle escrescenze assimilabili all'attaccatura di nanoparticelle.

Tabella 6: Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF, su vetrini di soda-lime, riferita allo spettro 7

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime	
Spettro 7	
Elemento	Media (% Atomica)
C	27,44
O	49,81
Si	21,94
Ag	0,82

Tabella 7: Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF su vetrini di soda-lime, riferita allo spettro 8

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime	
Spettro 8	
Elemento	Media (% Atomica)
C	25,75
O	46,13
Si	27,39
Ag	0,72

Tabella 8: Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF su vetrini di soda-lime, riferita allo spettro 9

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime	
Spettro 9	
Elemento	Media (% Atomica)
C	34,08
O	43,61

Si	21,75
Ag	0,55

Selezionando questi spettri, infatti, sono state trovate delle percentuali in massa atomica maggiori rispetto agli spettri 5 e 6 presi precedentemente, ipotizzando quindi che i piccoli agglomerati vicini alle grandi sfere possono essere AgNPs.

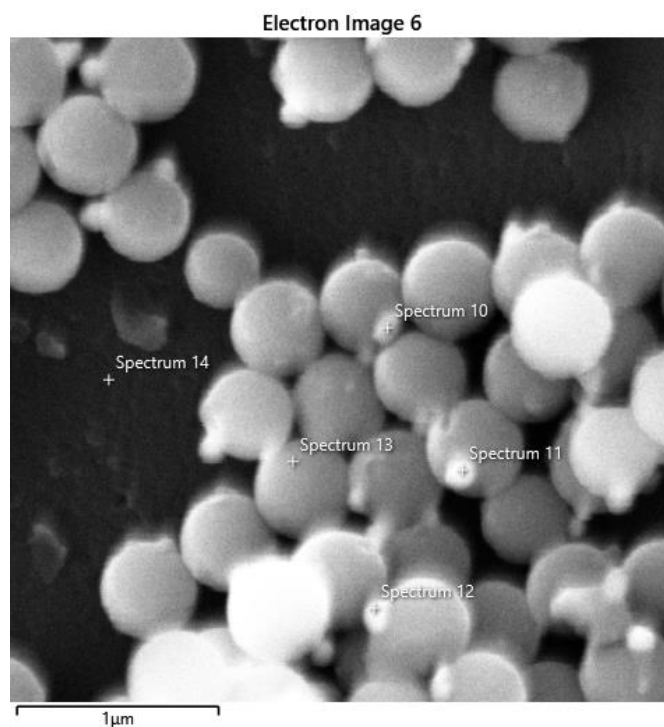


Figura 31: micrografia FESEM dei rivestimenti ottenuti con Durazane funzionalizzato con AgNPs in DMF, su vetrini soda-lime

Nell'ultima analisi, si è andati ad ingrandire ancor di più ad ingrandire con lo zoom, ne risente infatti l'immagine che ne accusa una leggera vibrazione. Con questo ingrandimento però siamo riusciti ad analizzare attraverso spettri più precisi zone di maggiore interesse come gli agglomerati presenti sopra le microparticelle.

Tabella 9: Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF su vetrini di soda-lime riferito allo spettro 10

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime Spettro 10	
Elemento	Media (% Atomica)
Si	28,28
Ag	3,21

Tabella 10: Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF su vetrini di soda-lime riferito allo spettro 11

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime Spettro 11	
Elemento	Media (% Atomica)
Si	25,13
Ag	3,00

Tabella 11: Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF su vetrini di soda-lime riferito allo spettro 12

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime Spettro 12	
Elemento	Media (% Atomica)
Si	26,66
Ag	2,09

Tabella 12: Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF su vetrini di soda-lime riferito allo spettro 13

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime Spettro 13	
Elemento	Media (% Atomica)
Si	45,16

Ag	1,36
-----------	-------------

Tabella 13: Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF su vetrini di soda-lime riferito allo spettro 14

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime	
Spettro 14	
Elemento	Media (% Atomica)
Si	70,68
Ag	0

Come si evince dai risultati presentati nelle tabelle, l'argento è presente in un'ottima percentuale, raggiungendo un valore di 3,21 in percentuale atomica, eccezion fatta per lo spettro 14, il quale non è stato preso su nessuna microparticella o agglomerato ma sullo "sfondo" costituito dal solo polimero.

6.2.4. Test antibatterico (Test dell'alone di inibizione)

I risultati incoraggianti dell'EDS ha portato il processo di analisi delle caratteristiche dei campioni verso i test antibatterici, in quanto la percentuale d'argento trovata indicava la presenza di AgNPs nel rivestimento.

La valutazione del comportamento antibatterico dei substrati è stata condotta tramite l'analisi dell'area di inibizione nei confronti del batterio *S. Epidermidis*.

Le prove sono state effettuate su campioni di vetro soda-lime su cui è stata depositata la soluzione AgNPs in DMF + Durazane tramite deposizione a goccia manuale ed i risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti sul bianco di vetro soda-lime.



Figura 32: campioni ricoperti da batteri dopo 24h. NO alone

Come si può vedere in figura n, non si nota attività antibatterica dopo 24h in incubatore a 35°C, si sono aspettate quindi ulteriori 24h.

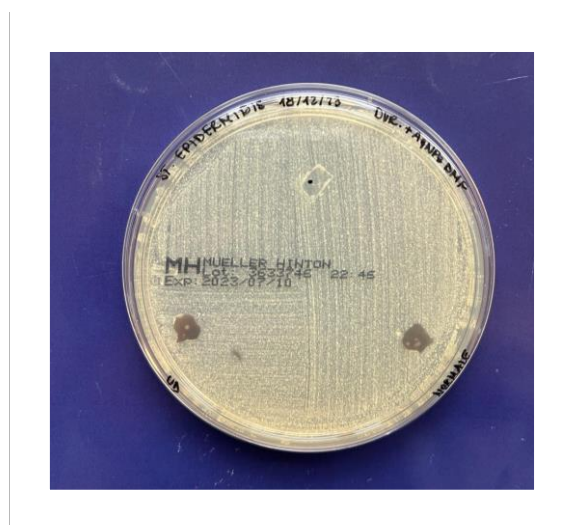


Figura 33: campioni ricoperti da batteri dopo 48h. NO alone

Tutti i campioni hanno mostrato un comportamento identico al controllo (vetro soda-lime bianco) anche dopo 48h in incubatore a 35°C (Figura 33); di conseguenza, il rivestimento non ha manifestato un'efficace azione antibatterica.

La mancanza di attività antibatterica potrebbe essere attribuita alle caratteristiche intrinseche del polimero Durazane, notoriamente caratterizzati da una densità elevata e una notevole durezza meccanica. È possibile che il rivestimento non sia in grado di

esporre le nanoparticelle d'argento (AgNPs), coadiuvato dal fatto che la soluzione AgNPs in DMF è troppo liquida, e quindi troppo dispersiva per le nanoparticelle, ed è proprio per questo che si è provato a ridurre il volume del solvente, la DMF, attraverso il rotavapor.

6.3. Rivestimento di AgNPs in dimetilformammide (DMF) a partire dal precursore organopolimerico Durazane 1800 con utilizzo di Rotavapor

Con l'utilizzo del rotavapor si è voluto andare a ridurre il volume di solvente, la DMF, presente nella soluzione di AgNPs e Durazane. Sono state effettuate più prove per ottenere soluzioni finite più o meno dense e pesanti.

La prima prova è stata effettuata non riscaldando il palloncino con all'interno la soluzione, lasciando agire lo strumento per 35 minuti, per poi depositare il rivestimento su vetro soda-lime sia tramite il classico metodo a goccia sia attraverso lo stendifilm manuale per ottenere un rivestimento molto più omogeneo prive di cricche di evaporazione.

La seconda prova invece è stata fatta applicando un riscaldamento costante alla soluzione a 50°C circa per 50 minuti, alla quale corrisponde una buona perdita di peso rispetto alla soluzione iniziale.

La terza ed ultima prova consiste, infine, in un riscaldamento costante a 50°C per 2h. In questo esperimento si nota un'esigua perdita di peso, corrispondente a tutta la quantità di DMF utilizzata per la sintesi della soluzione (10 mL).

6.3.1. Spettroscopia ultravioletta/visibile (UV)

Per ogni esperimento sono state eseguite due prove per due campioni diversi ottenuti nello stesso modo. Vengono riportati solo i grafici che hanno prodotto risultati migliori tra i due.

La prima analisi riguarda l'UV-vis relativa ai rivestimenti ottenuti dall'azione del rotavapor non riscaldato per 35 minuti, sia con deposizione a goccia sia con stendifilm manuale.

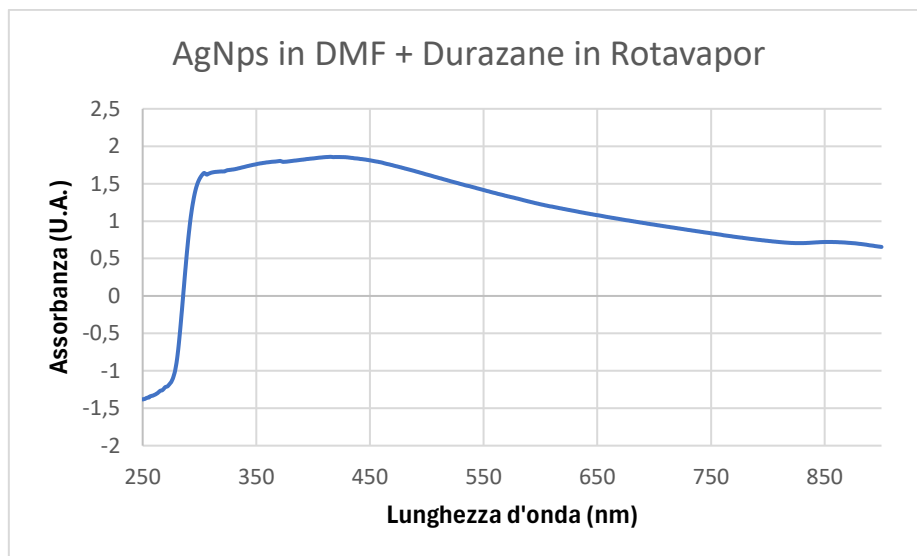


Figura 34: Spettro UV-vis del rivestimento AgNPs in DMF a partire dal polimero Durazane, con utilizzo di rotavapor non riscaldato, su soda-lime

Dall'analisi di questo campione si può notare un grafico con un leggero innalzamento a circa 420 nm, il che fa pensare ad una piccola presenza di Ag.

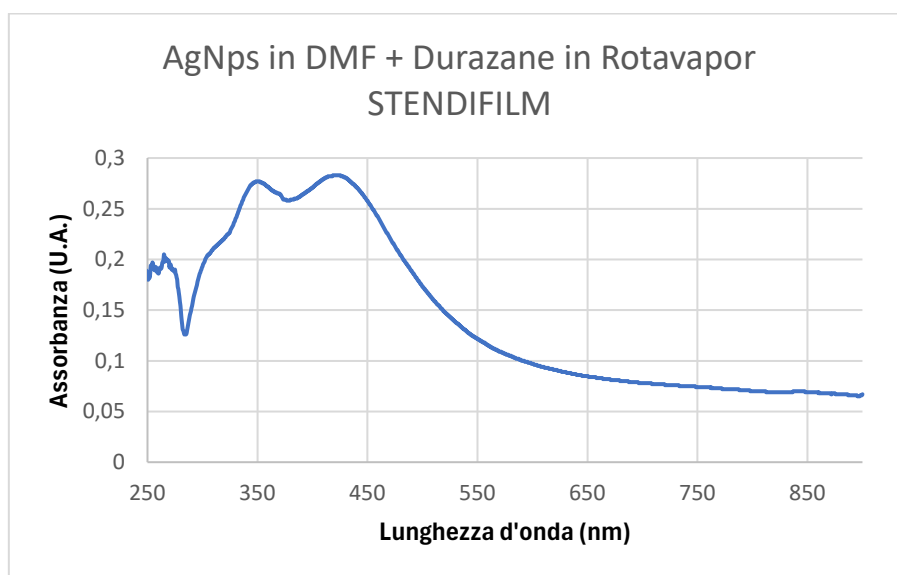


Figura 35: Spettro UV-vis del rivestimento AgNPs in DMF a partire dal polimero Durazane, con utilizzo di rotavapor non riscaldato, su soda-lime tramite deposizione con stendifilm manuale

Passiamo quindi alle prove con il rotavapor riscaldato per circa un'ora ed andiamo ad analizzare le differenze rispetto ai grafici precedenti.

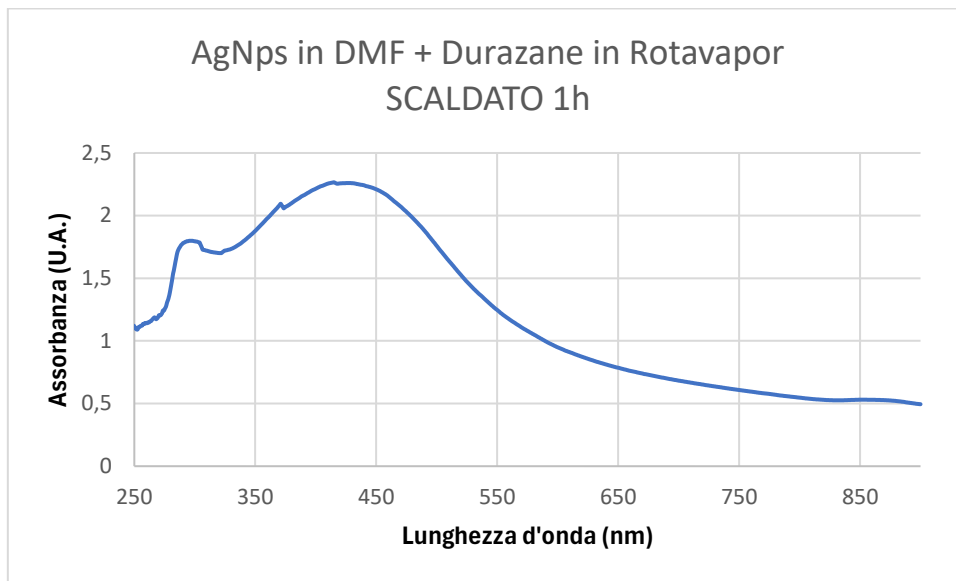


Figura 36: Spettro UV-vis del campione 1 del rivestimento AgNPs in DMF a partire dal polimero Durazane, con utilizzo di rotavapor riscaldato per 1h, su soda-lime

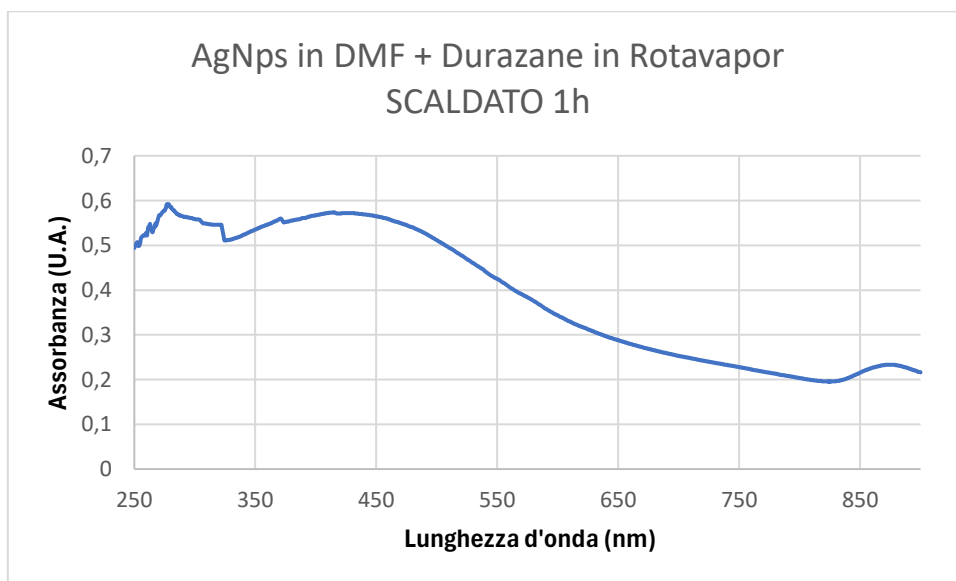


Figura 37: Spettro UV-vis del campione 2 del rivestimento AgNPs in DMF a partire dal polimero Durazane, con utilizzo di rotavapor riscaldato per 1h, su soda-lime

Il grafico risultante dall'analisi del campione 1 risulta nettamente migliore di quello del campione 2, infatti si nota un bel picco corrispondente alla presenza dell'argento. Il grafico del campione 2, invece, non sembra troppo pulito e non ha un innalzamento così netto a 420 nm, probabilmente dato dal fatto che il rivestimento non è stato depositato in

maniera uniforme, e successivamente, ha anche subito l'effetto delle cricche di evaporazione.

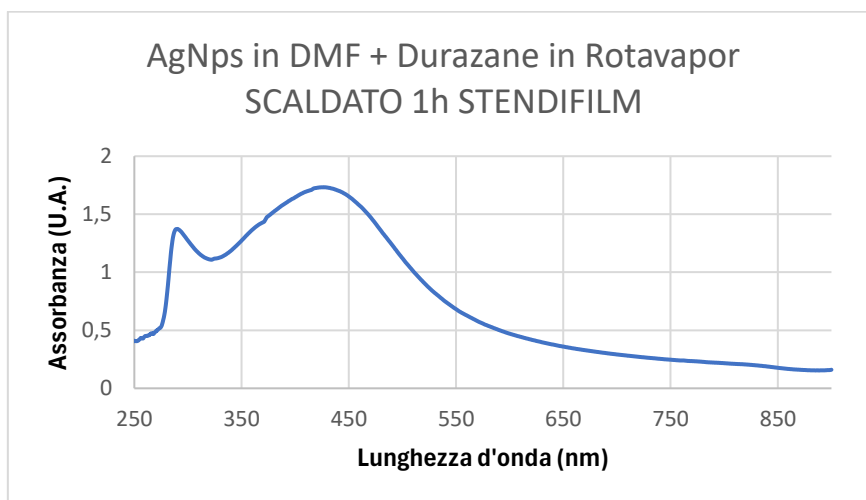


Figura 38: Spettro UV-vis del rivestimento AgNPs in DMF a partire dal polimero Durazane, con utilizzo di rotavapor riscaldato per 1h, su soda-lime tramite deposizione con stendifilm manuale

Riducendo il peso, anche se solo di una piccola percentuale, l'analisi UV-vis risulta migliore, manifestando un picco a 420 nm.

Successivamente si è passati alle prove sui campioni, la quale soluzione di rivestimento è stata lasciata in rotavapor riscaldato per 2h.

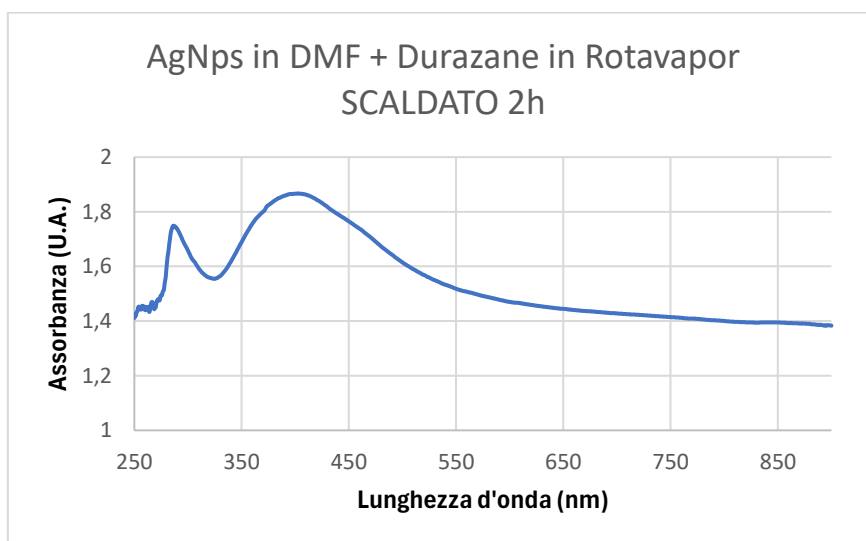


Figura 39: Spettro UV-vis del rivestimento AgNPs in DMF a partire dal polimero Durazane, con utilizzo di rotavapor riscaldato per 2h, su soda-lime

Il grafico risulta molto pulito e si riconosce il picco dell'Ag, contrariamente a quelli ottenuti dalle analisi su altri campioni, i quali non indicano una presenza netta dell'argento come il campione precedente, forse a causa anche qui del rivestimento non uniforme.

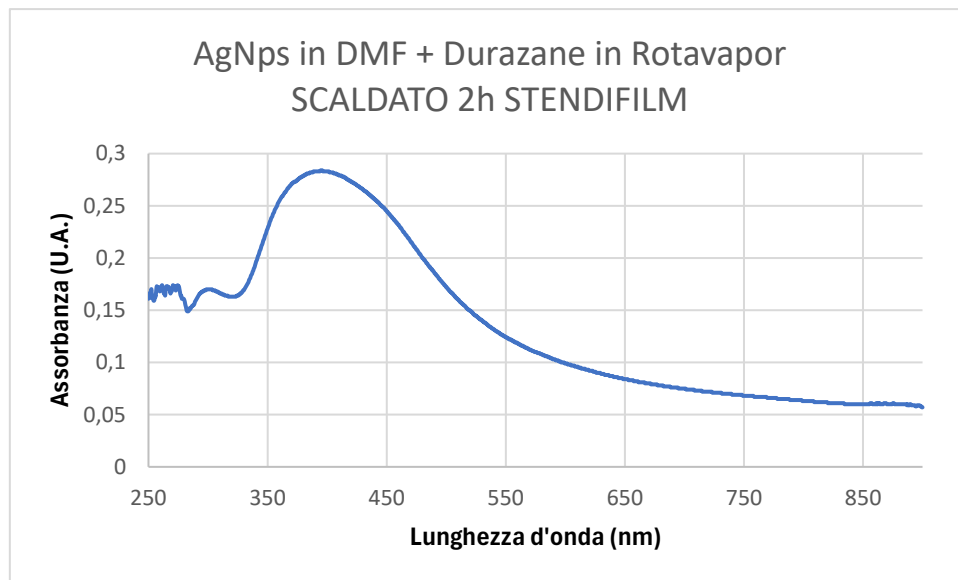


Figura 40: Spettro UV-vis del campione 1 del rivestimento AgNPs in DMF a partire dal polimero Durazane, con utilizzo di rotavapor riscaldato per 2h, su soda-lime tramite deposizione con stendifilm manuale

I grafici ottenuti dai rivestimento depositati con stendifilm manuale presentano picchi larghi a circa 400 nm, forse non sono stretti e alti dal momento che le AgNPs sono uniformi sulla superficie e non concentrate.

I grafici ottenuti dall'UV-vis dei campioni passati in rotavapor per 2h risultano comunque essere i migliori.

6.3.2. Diffrazione a raggi X (XRD)

L'analisi per XRD è stata effettuata unicamente sul rivestimento di AgNPs in DMF + Durazane, passato in rotavapor per 2h per ridurre il volume di solvente presente, depositato con stendifilm su vetrino soda-lime. Questo perché i risultati migliori UV-vis li abbiamo ottenuti sulla soluzione sintetizzata con utilizzo di rotavapor scaldato per più ore.

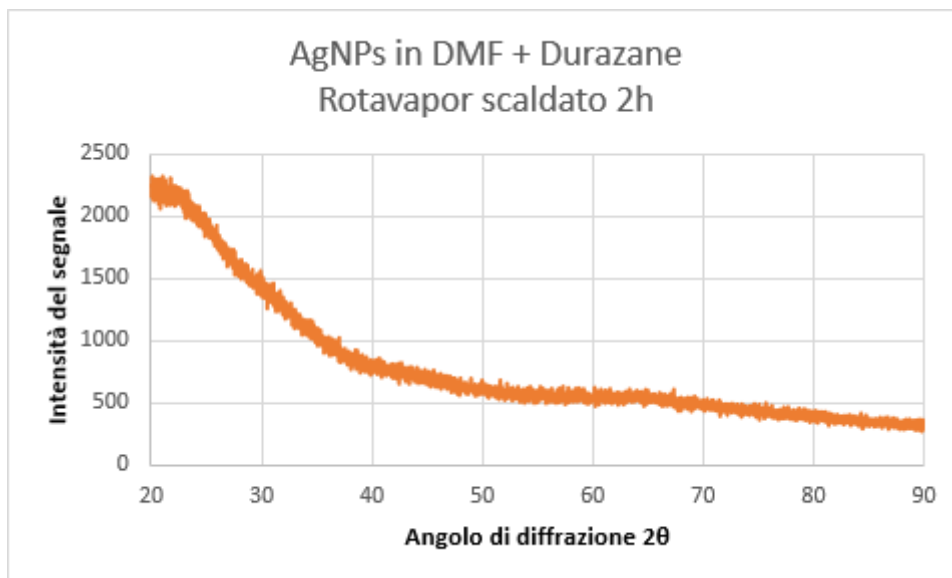


Figura 41: Spettro XRD del rivestimento steso con stendifilm manuale su vetrino soda-lime delle AgNPs sintetizzate in DMF con Durazane,, passato in rotavapor per 2h

Questa analisi è risultata però negativa, non si notano infatti, particolari picchi o innalzamenti nel grafico relativi alla presenza di Ag nel rivestimento.

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

Per quanto riguarda le immagini al FESEM, sono state anch'esse ricavate dall'analisi del campione precedentemente visto all'XRD, esso però è stato visto inclinandolo a massimo per vederlo in cross section.

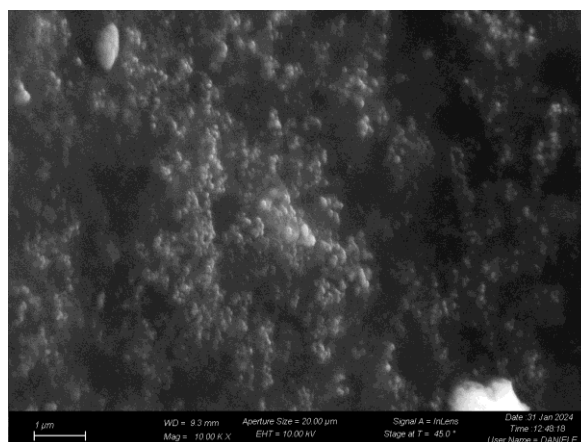


Figura 42: micrografia FESEM dei rivestimenti di Durazane funzionalizzato con AgNPs in DMF in rotavapor riscaldato per 2h, su vetrini soda-lime con deposizione stendifilm. Ingrandimento 10.00 kX

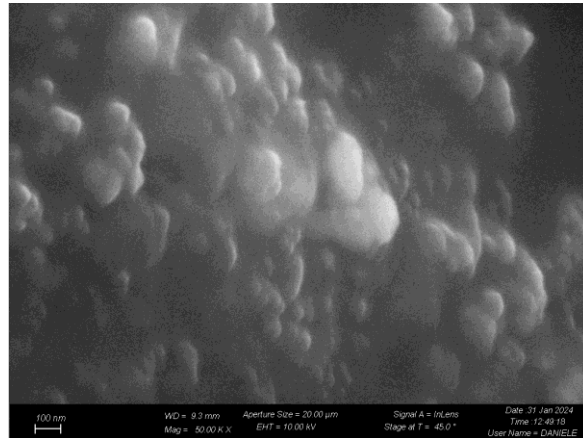


Figura 43: micrografia FESEM dei rivestimenti di Durazane funzionalizzato con AgNPs in DMF in rotavapor riscaldato per 2h ,su vetri soda-lime con deposizione stendifilm. Ingrandimento 50.00 kX

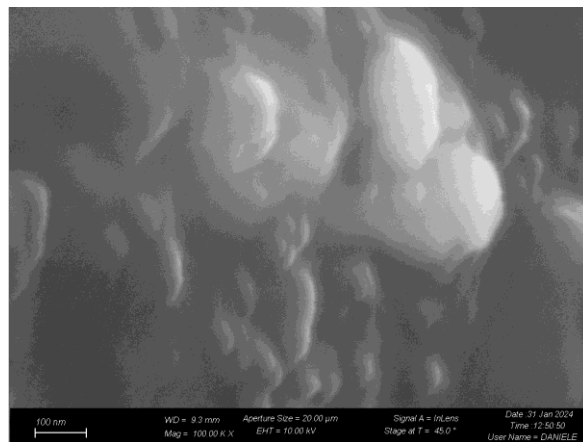


Figura 44: micrografia FESEM dei rivestimenti Durazane funzionalizzato con AgNPs in DMF in rotavapor riscaldato per 2h, su vetri soda-lime con deposizione stendifilm. Ingrandimento 100.00 kX

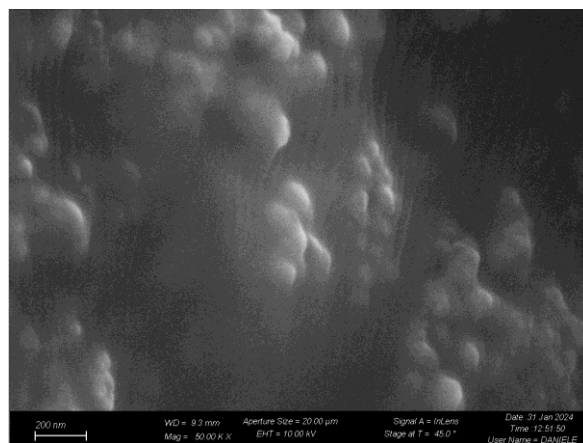


Figura 45: micrografia FESEM dei rivestimenti Durazane funzionalizzato con AgNPs in DMF in rotavapor riscaldato per 2h, su vetrini soda-lime con deposizione stendifilm. Ingrandimento 50.00 Kx

Dalle immagini al FESEM si possono notare, grazie ai diversi ingrandimenti, che sono presenti nanoparticelle, e che le più luminose possono essere riconducibili a nanoparticelle d'argento o, meglio, agglomerati di quest'ultime.

6.3.4. Spettrometria per dispersione di energia (EDS)

L'analisi EDS è stata eseguita in un secondo momento sullo stesso campione per poter verificare se le nanoparticelle catturate dalle immagini al FESEM fossero realmente d'argento.

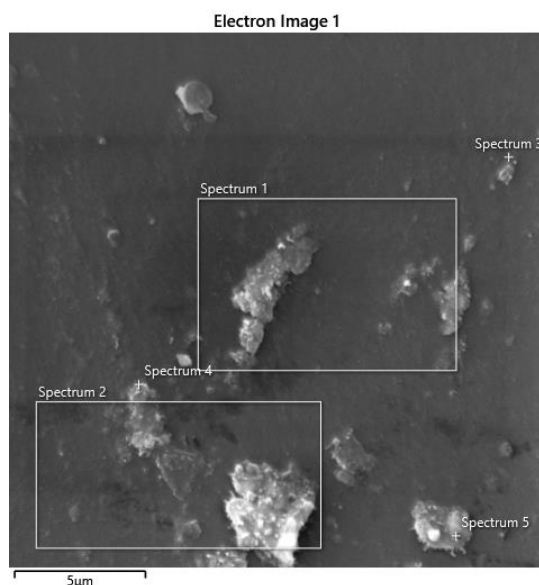


Figura 46: EDS dei rivestimenti di Durazane funzionalizzato con AgNPs in DMF in rotavapor riscaldato per 2h, su vetrini soda-lime con deposizione stendifilm in cross-section.

Tabella 14: *Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF ottenuto in rotavapor riscaldato per 2h, su vetrini di soda-lime riferita alla figura 46.*

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime	
Elemento per spettro	Media (% Atomica)
Ag spettro 1	0,05
Ag spettro 2	0,07
Ag spettro 3	0,09
Ag spettro 4	0,08
Ag spettro 5	0,05

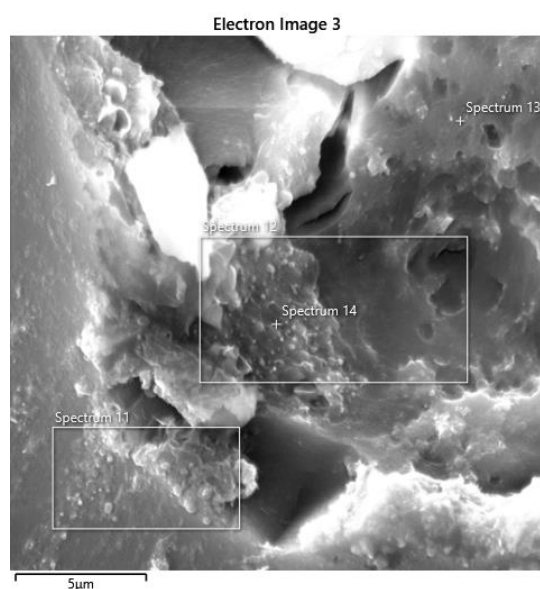


Figura 47: *EDS dei rivestimenti di Durazane funzionalizzato con AgNPs in DMF ottenuto in rotavapor riscaldato per 2h, su vetrini soda-lime con deposizione stendifilm in cross-section.*

Tabella 15: *Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF, su vetrini di soda-lime riferita alla figura 47.*

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime	
Elemento per spettro	Media (% Atomica)
Ag spettro 11	0,04
Ag spettro 12	0,05
Ag spettro 13	0,09
Ag spettro 14	0,01

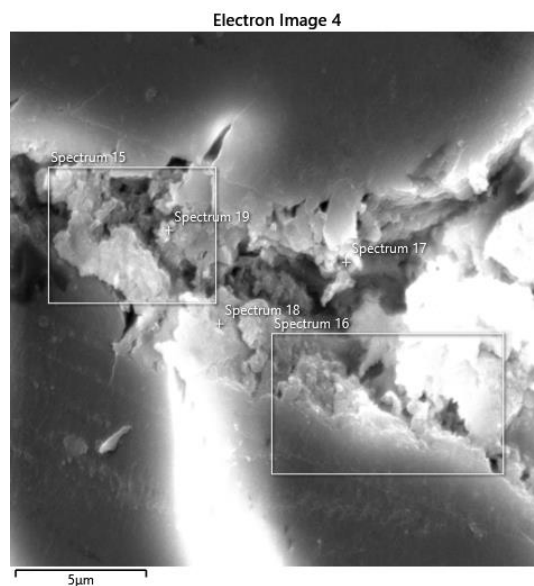


Figura 48: EDS dei rivestimenti di Durazane funzionalizzato con AgNPs in DMF ottenuto in rotavapor riscaldato per 2h, su vetrini soda-lime con deposizione stendifilm in cross-section.

Tabella 14: Composizione rivestimento di Durazane funzionalizzato con AgNps in DMF, su vetrini di soda-lime riferita alla figura 48.

AgNps in DMF + Durazane su vetrini di soda-lime	
Elemento per spettro	Media (% Atomica)
Ag spettro 15	0,05
Ag spettro 16	0,05
Ag spettro 17	0,08
Ag spettro 18	0,07
Ag spettro 19	0,02

Nonostante le prove incoraggianti al FESEM, le analisi all'EDS ci hanno messo in luce la mancata presenza dell'argento sul rivestimento, in quanto la percentuale consona per rendere la superficie antibatterica è intorno allo 0,5%.

Visti i risultati negativi si è pensato di non proseguire con i test antibatterici.

7. Conclusioni e Sviluppi futuri

In questo lavoro di tesi è stata sperimentata la sintesi e lo sviluppo di un rivestimento nanostrutturato composito, composto da nanoparticelle d'argento disperse in un polimero, un organopolisilazano, il Durazane 1800. Le deposizioni di questi substrati sono state effettuate principalmente su vetro soda-lime, ma anche su cotone e superfici di allumina.

La fase iniziale del lavoro si è concentrata sullo sviluppo di un rivestimento ricco di AgNps, sintetizzate per riduzione in una soluzione acquosa con Acido Tannico. I risultati ottenuti dalle analisi XRD, UV, FESEM ed EDS non sono stati incoraggianti; pertanto, si è optato per l'introduzione nel processo di sintesi di nanocariche di silice per rendere la soluzione più viscosa e stabile alla deposizione sui substrati di allumina, sodalime e cotone. Le analisi relative a questo rivestimento hanno prodotto risultati migliori; infatti, l'analisi composizionale tramite EDS mostra una buona percentuale di Ag, pari al 0.53%, ma le immagini al FESEM mostrano come delle possibili AgNps siano presenti al di sotto di uno strato di polimero e non in superficie. Questo ha indotto a considerare approcci alternativi per ridurre il polimero, al fine di evidenziare e potenziare l'efficacia delle nanoparticelle d'argento.

La prima ipotesi è stata l'introduzione della DMF come solvente organico, rimuovendo il passaggio della riduzione in Acido Tannico, con la conseguente introduzione del PVP come agente di controllo della forma nelle sintesi di nanoparticelle. Le analisi tramite spettroscopia UV mettono in luce un picco sui grafici riconducibile alla presenza dell'argento, confermata dall'analisi strutturale per mezzo di XRD e dalle analisi EDS. Proprio quest'ultime hanno portato risultati molto incoraggianti, pari al 2/3% di massa atomica. Il passaggio successivo è stato il test antibatterico per mezzo dell'analisi dell'area di inibizione nei confronti del batterio *S. Epidermidis.*, che ha mostrato l'inefficacia del coating composito, probabilmente in quanto il rivestimento non è in grado di esporre le nanoparticelle d'argento (AgNPs).

Visti i risultati negativi ottenuti, si è pensato di rendere la soluzione maggiormente viscosa, questa volta facendo uso del rotavapor. Attraverso l'impiego del rotavapor, si è inteso ridurre il volume del solvente DMF presente nella soluzione di nanoparticelle di argento (AgNPs) e Durazane. Sono stati condotti diversi esperimenti al fine di ottenere

soluzioni finali con densità e peso variabili, prima mantenendo una temperatura ambiente e poi scaldando la soluzione per facilitare il processo di evaporazione.

I grafici ottenuti mediante spettroscopia UV-vis, in particolare quelli relativi ai rivestimenti sottoposti ad un incremento di temperatura durante il processo di evaporazione, mettono in luce risultati migliori rispetto a quelli ottenuti con altre tecniche.

Le analisi per diffrazione ai raggi X (XRD) non ha prodotto però alcun risultato significativo sulla presenza dell'argento nella struttura.

Le ultime due analisi, condotte tramite microscopia FESEM ed EDS, sono state eseguite sul campione che ha mostrato i risultati migliori nella spettroscopia UV-vis, in sezione trasversale, al fine di verificare la presenza di nanoparticelle all'interno del rivestimento piuttosto che sulla sua superficie, dove le analisi precedenti avevano dato esiti scoraggianti. Grazie ai diversi ingrandimenti della microscopia elettronica, è stato possibile osservare la presenza di nanoparticelle, tra cui alcune particolarmente luminose, che possono essere attribuite a nanoparticelle d'argento o, più probabilmente, a loro agglomerati.

L'analisi per spettroscopia per dispersione di energia però, ha rilevato una bassissima concentrazione di argento sul rivestimento, motivo per il quale non è stato effettuato il test antibatterico.

L'assenza significativa di argento, rilevata attraverso le diverse analisi, suggerisce che il rivestimento, nonostante la quasi completa evaporazione del solvente, non consenta ancora la formazione adeguata di nanoparticelle, né la loro esposizione sulla superficie. Quest'ultimo aspetto è di particolare importanza per conferire al rivestimento proprietà antibatteriche.

Un possibile approccio sperimentale potrebbe consistere nell'aumentare la concentrazione di argento nel rivestimento a livelli superficiali, sufficiente per attivare un'efficace azione antibatterica. Sono necessarie ulteriori indagini per chiarire le cause dell'assenza di attività antibatterica riscontrata nel presente studio.

L'uso di questi rivestimenti presenta però indubbi vantaggi, principalmente derivanti dalla semplicità con cui le condizioni di reazione possono essere ottenute e replicate. Inoltre, questo tipo di rivestimento può essere applicato su una vasta gamma di substrati.

8. Bibliografia

- [1] “*Antibiotic-Resistant Bacteria, Antimicrobial Resistance Genes, and Antibiotic Residue in Food from Animal Sources: One Health Food Safety Concern*”; Qamar, Muhammad Usman; Aatika; Muhammad Ismail Chughtai; Hasan Ejaz; Bi Bi Zainab Mazhari; Basel, 2023.
- [2] “*Staphylococcus aureus infection and disease. Honeyman*”, Allen.; Friedman, Herman; Bendinelli, Mauro.
- [3] “*Bacterial superinfection in adults with COVID-19 hospitalized in two clinics in Medellín-Colombia*”; Cataño-Correa, Juan Carlos; Cardona-Arias, Jaiberth Antonio; Porras Mancilla, Jessica Paola; García, Marcela Tabares; Chen, Robert Jeenchen; PLoS one, 2021.
- [4] “*Nano-Strategies to Fight Multidrug Resistant Bacteria: A Battle of the Titans*”, P. V. Baptista et al, Front. Microbiol, 2018.
- [5] “*Phages against killer superbugs: An enticing strategy against antibiotics-resistant pathogens; Global Excellence in Pharmacology of Infectious Diseases: Australia and Asia*”; Verlaine J. Timms; 2023.
- [6] “*Superbug e resistenza agli antibiotici, il primato dell’Italia*”; Fortune; 2022.
- [7] “*I meccanismi con cui i batteri resistono agli antimicrobici*”, Cambiotti V, Romagnoli P, Sorice A, Sechi P, Cenci-Goga B. Argomenti, 2014.
- [8] “*Microbiologia Farmaceutica*”; Carlone N.; EDISES; 2015.
- [9] “*Antibiotic resistance: causes, consequences, research strategies, and health policies to counteract it*”; Caterina Sbaffi, Elena Olmastroni, Elena Tragni; SEFAP - Servizio di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano.
- [10] “*Mechanisms of Antibiotic Resistance. Microbiology Spectrum*”; Munita JM; Arias CA; 2016.
- [11] “*Decontamination and sterilization*”; J. G. Solon, S. Killeen; Surgery (Oxford); 2015.

- [12] “*Nat. Biotechnol.*”; Gupta A., Silver S.; 1998.
- [13] “*A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties*”; K. S. Siddiqi, A. Husen, R. A. K. Rao; *J Nanobiotechnol*; 2018.
- [14] “*Silver nanoparticles inhibit denitrification by altering the viability and metabolic activity of Pseudomonas stutzeri*”; Lingli Wu, Guangsen Zhu, Xiaoxue Zhang, Youbin Si; 2020.
- [15] “*Argyria - Case report Argiria - Relato de caso*”; André Lencastre, Maria Lobo, Alexandre João; *Anais brasileiros de dermatologia*, 2013.
- [16] “*Antimicrobial activity of nanoparticles: applications in wound healing and infection treatment*”; Guisbiers, Grégory, 2023.
- [17] “*Characteristics and Applications of Silver Nanoparticles*”; Fatima Zivic, Nenad Grujovic, Slobodan Mitrovic, Inam Ul Ahad, Dermot Brabazon, 2017.
- [18] “*Antibacterial activity of silver nanoparticles (biosynthesis): A short review on recent advances*”; C. G. A. Das et al.; *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2020.
- [19] “*Antibiotic resistance of bacteria in biofilms*”; P. S. Stewart, J. William Costerton, *The Lancet*, 2001.
- [20] *Silver nanoparticles as an alternative strategy against bacterial biofilms*; Katarzyna Markowska, Anna M. Grudniak, Krystyna I. Wolska; 2013.
- [21] “*Silver nanoparticles (AgNPs) as a metal nano-therapy: possible mechanisms of antiviral action against COVID-19*”, Najlaa S. Al-Radadi, Ahmed M. Abu-Dief, 2022.
- [22] “*Silver nanoparticles properties, characterization and applications*”, Welles, Audrey E., 2010.
- [23] “*In situ formation of antimicrobial silver nanoparticles and the impregnation of hydrophobic polycaprolactone matrix for antimicrobial medical device applications*”, Tran, Phong A., Hocking, Dianna M., O'Connor, Andrea J.; *Materials Science & Engineering C*, 2015.

- [24] “*Silver Nanoparticles: Review of Antiviral Properties, Mechanism of Action and Applications*”; A. Luceri, R. Francese, D. Lembo, M. Ferraris, C. Balagna, *Microorganisms*, 2023.
- [25] “*Poly(ethylene glycol)-Based Hyperbranched Polymer from RAFT and Its Application as a Silver-Sulfadiazine-Loaded Antibacterial Hydrogel in Wound Care*”; S. McMahon et al.; *ACS Appl. Mater. Interfaces*; 2016.
- [26] “*Size and Aging Effects on Antimicrobial Efficiency of Silver Nanoparticles Coated on Polyamide Fabrics Activated by Atmospheric DBD Plasma*”; Zille A., Fernandes M.; Francesko A., Tzanov T., Fernandes M., Oliveira R., Almeida L., Amorim T., Carneiro N., Esteves F., Souto P.; *ACS applied materials & interfaces*, 2015.
- [27] “*A review of silver nanoparticles in food packaging technologies: Regulation, methods, properties, migration, and future challenges*”, Istiqola Arsi, Syafiuddin Achmad; *Journal of the Chinese Chemical Society (Taipei)*; 2020.
- [28] “*Synthesis, Characterization and Biomedical Application of Silver Nanoparticles*”, Naganthran Ashwini, Verasoundarapandian Gayathiri; Khalid Farah Eryssa, Masarudin Mas Jaffri, Zulkharnain Azham, Nawawi Norazah Mohammad, Karim Murni, Che Abdullah Che Azurahaman, Ahmad Siti Aqlima; *Materials*; 2022.
- [29] “*Biocompatible nanocomposite implant with silver nanoparticles for otology—In vivo evaluation*”, Ziabką Magdalena, Menaszek Elżbieta, Tarasiuk Jacek, Wroński, Sebastian; *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*; 2018.
- [30] “*Silazane derived ceramics and related materials.*”; E. Kroke, Y.-L. Li, C. Konetschny, E. Lecomte, C. Fasel, and R. Riedel;
- [31] “*Highly Hydrophobic Organic Coatings Based on Organopolysilazanes and Silica Nanoparticles: Evaluation of Environmental Degradation*”; Pérez-Gandarillas Lucía, Aragón Daniel, Manteca Carmen, Gonzalez-Barriuso Marina, Soriano Laura, Casas Abraham, Yedra Angel; *Coatings (Basel)*; 2023.
- [32] WO2019/082001
- [33] “*PVDF microfiltration membranes modified with AgNPs/tannic acid for efficient separation of oil and water emulsions*”; Zhang Yuxin, Duan Xiaofei, Tan Boren, Jiang

Yuchen, Wang Yong, Qi Tao; Colloids and surfaces. A, Physicochemical and engineering aspects; 2022.

[34] “*Applications of tannic acid in membrane technologies: A review*”; Wentao Yan, Mengqi Shi, Chenxi Dong, Lifen Liu, Congjie Gao; 2020.

[35] “*Formation and stabilization of silver nanoparticles through reduction by N,Ndimethylformamide*”; I. Pastoriza-Santos, L.M. Liz-Marzán, Langmuir, 1999.

[36] “*Study on metal decorated oxidized multiwalled carbon nanotube (MWCNT) - epoxy adhesive for thermal conductivity applications*”; Amit Kumar Singh, Bishnu Panda, Smita Mohanty, Manoj Kumar Gupta; 2017.

[37] “*Laser Micromachining for Transparent Materials*”; S.M. Karazi, K.Y. Benyounis; in Reference Module in Materials Science and Materials Engineering; 2017.

[38] “*Chemical Composition and Characterization of Cotton Fibers*”; Yongliang Liu; 2018.

[39]<https://www.mineral.it/allumina/#:~:text=L'allumina%20%C3%A8%20l'ossido,%C3%A8%20Al2O3>.

[40] “*technical datasheet 214049 Durazane ® 1800.*”; M. Kgaas.

[41] “*Crosslinking behavior of UV-cured polyorganosilazane as polymer-derived ceramic precursor in ambient and nitrogen atmosphere*”; Qazzazie-Hauser Afnan, Honnef Kirsten, Hanemann Thomas; Polymers; 2021.

[42] “*Evaluation of mechanical properties and hydrophobicity of room-temperature, moisture-curable polysilazane coatings*”; Zhan Ying, Grottenmüller Ralf, Li Wei, Javaid Farhan, Riedel Ralf; Journal of applied polymer science; 2021.

[43] “*In Situ Generated β -Yb₂Si₂O₇ Containing Coatings for Steel Protection in Extreme Combustion Environments*”; M. Lenz Leite, A. Viard, D. Galusek, and G. Motz; “Adv Mater Interfaces; 2021.

[44] “*Statistical optimization of polysilazane-derived ceramic: Electrospinning with and without organic polymer as a spinning aid for manufacturing thinner fibers*”; Heloisa Ramlow, Cintia Marangoni, Günter Motz, Ricardo Antonio Francisco Machado; 2022.

- [45] “*Studies on colloidal stability of PVP-coated LSMO nanoparticles for magnetic fluid hyperthermia*”; S. V. Jadhav, D. S. Nikam, V. M. Khot, N. D. Thorat, M. R. Phadatare, R. S. Ningthoujam, A. B. Salunkhe and S. H. Pawar, *New J. Chem.*; 2013.
- [46] “*Imparting functionality to a metal-organic framework material by controlled nanoparticle encapsulation*”; G. Lu, S. Li, Z. Guo, O. K. Farha, B. G. Hauser, X. Qi, Y. Wang, X. Wang, S. Han, X. Liu, J. S. DuChene, H. Zhang, Q. Zhang, X. Chen, J. Ma, S. C. J. Loo, W. D. Wei, Y. Yang, J. T. Hupp and F. Huo, *Nat. Chem.*; 2012.
- [47] “*Bimetallic catalysts: Requirements for stabilizing PVP removal depend on the surface composition*”; H. Ziaei-Azad and N. Semagina; *Appl. Catal; A-Gen.*; 2014.
- [48] “*Self-organized monolayer of nanosized ceria colloids stabilized by poly(vinylpyrrolidone)*”, R. Si, Y.-W. Zhang, L.-P. You and C.-H. Yan; *J. Phys. Chem. B*; 2006.
- [49] “*Atomistic Simulations of Coating of Silver Nanoparticles with Poly(vinylpyrrolidone) Oligomers: Effect of Oligomer Chain Length*”, A. Kyrchenko, O. M. Korsun, I. I. Gabin, S. M. Kovalenko and O. N. Kalugin; *J. Phys. Chem. C*; 2015.
- [50] “*Binding of Polyvinylpyrrolidone to Ag Surfaces: Insight into a Structure-Directing Agent from Dispersion-Corrected Density Functional Theory*”; W. A. Saidi, H. Feng and K. A. Fichthorn; *J. Phys. Chem. C*; 2013.
- [51] “*Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis*”; Koczur Kallum M., Mourdikoudis Stefanos, Polavarapu Lakshminarayana, Skrabalak Sara E.; *Dalton transactions: an international journal of inorganic chemistry*; 2015.
- [52] <https://www.geass.com/levaporatore-rotante-e-il-processo-di-evaporazione-delle-sostanze-chimiche/>
- [53] “*Preparation of a novel antibacterial coating precursor and its antibacterial mechanism*”; Huang Xu; Wang Deren; Hu Leyong; Song Juanjuan; Chen Yiqing; *Applied surface science*; 2019.