



UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ DE ȘTIINȚĂ ȘI TEHNOLOGIE

POLITEHNICA BUCUREȘTI

Facultatea de Inginerie Chimică și Biotehnologie

Departament de Știință și Ingineria Materialelor Oxidice și Nanomaterialelor

Nanoparticule de Ag funcționalizate pentru protecții antimicrobiene și antifungice

REZUMAT

Conducator:

Prof. Dr. Ing. Ecaterina ANDRONESCU

Doctorand:: Liliana MARINESCU

București 2024

Contents

I.	INTRODUCERE.....	6
I.1	Obiectivele tezei de doctorat.....	6
II.	GENERALITĂȚI PRIVIND NANOPARTICULELE.....	8
II.1	Generalități despre nanomateriale, nanoparticule, nanotehnologie.....	8
II.2	Caracterizarea nanoparticulelor și aplicațiile acestora.....	10
II.3	Rute de sinteză pentru nanoparticule.....	12
II.4	Metode de funcționalizare a suprafețelor cu rolul fixării nanoparticulelor.....	20
II.5	Biodegradabilitatea și starea diverselor suprafețe în condițiile poluării excesive.....	23
II.6	Metode curente de protejarea a suprafețelor biodegradate.....	31
II.7	Materiale, compuși chimici utilizați pentru protecția suprafețelor.....	32
III.	PARTEA ORIGINALĂ.....	35
III.1	Materiale și Metode.....	35
III.1.1	Materiale.....	35
III.2	Sinteze pe cale chimică a nanoparticulelor de argint.....	35
III.2.1	Date generale despre sinteza pe cale chimică.....	35
III.3	Sinteza de reducere la temperatura mediului ambiant.....	36
III.4	Sinteza realizată la temperatura mediului ambiant prin metoda Dong.....	38
III.5	Sinteza AgNPs la temperatură.....	39
III.5.1	Sinteza de reducere realizată la temperatura de 70°C.....	39
III.5.2	Sinteza solvotermală a AgNPs.....	40
III.6	Analiza efectului antimicrobian.....	42
III.6.1	Microorganisme utilizate.....	42
III.6.2	Inhibarea creșterii.....	42
III.6.3	Concentrația minimă inhibitoare (test CMI).....	43
III.6.4	Inhibarea dezvoltării biofilmului.....	43
III.7	Rezultate și discuții.....	44
III.7.1	Caracterizarea nanoparticulelor obținute prin sintezele chimice.....	44
III.8	Sinteza pe cale chimică la temperatură.....	53
III.8.1	Analiza DLS pentru probe obținute prin sinteza la temperatură.....	56
III.8.2	Analiza DLS repetată la 8 luni pentru probele obținute pe cale solvotermală.....	58

III.8.3	Analiza TEM pentru probele obținute prin sinteza la temperatură.....	59
III.8.4	Activitatea antimicrobiană.....	63
IV.	APLICAREA NANOPARTICULELOR DE ARGINT SINTETIZATE PE DIVERSE SUBSTRATURI DE PIATRĂ NATURALĂ CU ROL DE PROTECȚIE ANTIMICROBIANĂ, ANTIFUNGICĂ.....	74
IV.1	Materiale și metode.....	74
IV.1.1	Materiale.....	74
IV.1.2	Metode.....	78
IV.1.3	Pregătirea probelor din piatră naturală în vederea aplicării tratamentelor.....	80
IV.2	Analiza efectului antibiofilm.....	80
IV.2.1	Protocolul pentru analiza efectului antibiofilm.....	80
IV.3	Rezultate și investigații.....	81
IV.3.1	Difracția de raze X.....	81
IV.3.2	Rezultate tratament pe diverse suprafețe piatră naturală tratate cu agent de cuplare 3APTES	84
IV.3.3	Rezultate tratament pe diverse suprafețe piatră naturală tratate cu amestec agent de cuplare 3APTES și alcool izopropilic.....	94
IV.3.4	Rezultate tratamente pe diverse suprafețe din piatră naturală tratate cu agent de cuplare 3 MPTMS și amestec agent de cuplare 3MPTMS, alcool izopropilic și apă.....	96
IV.3.5	Rezultate tratamente pe diverse suprafețe din piatră naturală tratate cu agent de cuplare Coat O Sil T-cure și amestec agent de cuplare Coat O Sil T-cure, IPA și apă.....	99
IV.3.6	Imagini FTIR map pentru substraturile tratate cu agenți de cuplare 100% sau amestec.....	101
IV.4	Caracterizarea suprafețelor tratate cu agenți de cuplare prin microscopia de baleiaj (SEM)	105
IV.5	Tratarea substraturilor din piatră naturală cu nanoparticule de argint (AgNPs).....	108
IV.5.1	Caracterizarea suprafețelor tratate cu AgNPs prin analiza SEM.....	108
IV.5.2	Caracterizarea suprafețelor tratate cu AgNPs prin analiza UV-Vis.....	110
IV.6	Caracterizarea antimicrobiană a suprafețelor tratate cu AgNps.....	112
IV.6.1	Activitatea antimicrobiană a AgNps pe substraturile de piatră naturală tratate cu agent de cuplare 3 MPTMS 100%.....	113
IV.6.2	Activitatea antimicrobiană a AgNps pe substraturile de piatră naturală tratate cu agent de cuplare Coat O Sil T-cure 100%.....	116
IV.6.3	Activitatea antimicrobiană a AgNPs pe substraturile de piatră naturală tratate cu amestec format din agent de cuplare Coat O Sil T-cure 50% și alcool izopropilic (IPA) 50%.....	118

IV.6.4	Activitatea antimicrobiană a AgNPs pe substraturile de piatră naturală tratate cu 3APTES comparativ cu tratarea 3APTES și iodura de metil (CH ₃ I).....	120
IV.6.5	Activitatea antibiofilm a AgNPs aplicate pe substraturile de piatră naturală tratate cu agenți de cuplare și expuse la exterior timp de 3 luni.....	123
V.	CONCLUZII GENERALE ȘI CONTRIBUȚII ORIGINALE.....	127
VI.	PERSPECTIVE.....	131
VII.	LISTA PUBLICAȚIILOR.....	133
VII.1	Articole ISI.....	133
VII.2	Participare la Conferințe Naționale (susținere orală).....	133
VII.3	Participare la Conferințe Naționale (postere).....	134
VII.4	Premii.....	134
VII.5	Cereri de Brevet.....	135
VII.6	Proiecte de cercetare - membru în echipă.....	135
VII.7	Alte publicații.....	135
VIII.	INDEX FIGURI.....	147

În prezentul rezumat a fost pastrat integral cuprinsul și numerotarea tabelelor și figurilor conform cu teza originală.

I. INTRODUCERE

I.1 Obiectivele tezei de doctorat

Scopul lucrării este de a studia diferențele fizico chimice și biologice între AgNPs obținute prin sinteza chimică la temperatura mediului ambiant și la temperaturi ridicate și de a selecta acele AgNPs ce pot fi utilizate pentru protecții antimicrobiene. În cadrul aceleiași teze s-a urmărit influența atât a substratului tratat cu diverși agenți de cuplare și în concentrații variate cât și influența prezenței nanoparticulelor de argint cu specificații diferite și concentrații variate. Utilizarea mai multor tipuri de substraturi de piatră naturală a avut ca scop analizarea efectului antimicrobian al AgNPs utilizate cu acest scop, și influența agenților de cuplare asupra substraturilor tratate. Se vor face analize comparative între substraturi tratate cu agenți de cuplare cu biocid și substraturi tratate cu agenți de cuplare și diverse AgNPs pentru a observa eficacitatea și a pune în evidență care dintre aceste materiale pot constitui produse ce acționează eficient, în cantitate mica și cu acțiune toxică diminuată împotriva mediului și factorului uman[1-3]. Aceste analize vor conduce la concluzii dacă agenții de cuplare (silanizare) au o influență atât a substratului tratat cât și a nanoparticulelor de argint folosite, dacă anumite specificații ale nanoparticulelor de argint conduc la o eficacitate mai bună împotriva formării biofilmelor și dacă anumite tipuri de substrat necesita un tratament special diferit de cele analizate.

II. GENERALITĂȚI PRIVIND NANOPARTICULELE

II.1 Generalități despre nanomateriale, nanoparticule, nanotehnologie

Nanotehnologia este știința care se ocupă cu obținerea de dimensiuni nano ale particulelor și prin controlul formelor, aceasta poate conduce la obținerea de noi materiale cu proprietăți unice, îmbunătățite[4, 5]. Este cunoscut că, nanomaterialele sunt produse cu caracteristici diferite de produsul la scară macro[6-8]. Cunoscută ca noua frontieră, nanotehnologia generează produse noi, cu efecte încurajatoare și cu un impact major atât în sănătate cât și în mediul înconjurător[9, 10]. NPs sunt caracterizate printr-o energie de suprafață foarte mare, deci capacitatea de contact mărită în raport cu volumul aceasta explică faptul că au proprietăți distincte [5, 11-13], o reactivitate crescută și efecte cuantice unice, configurând proprietăți și funcționalități noi. Ca rezultat, nanomaterialele au atras atenția și au găsit aplicații în numeroase domenii[7]. Proprietățile unice ale nanoparticulelor, inclusiv raportul mare

suprafață-volum, efectul antimicrobian, reactivitatea controlată oferă o serie de avantaje, comparative cu proprietățile aceluiași material la scară macro[14].

Domeniul nanoparticulelor a atras atenția prin varietatea de aplicații în diferite domenii, și proprietățile unice cum ar fi rezistența sporită, activitate catalitică, proprietăți optice, activitate antimicrobiană, reactivitate mărită. Activitatea catalitică a nanoparticulelor se datorează dimensiunii și structurii nanoparticulelor care prezintă o suprafață mai mare în raport cu volumul lor ceea ce conduce la o capacitate de adsorbție mai mare a substanțelor chimice și facilitează interacțiunea cu moleculele reactante[5, 15].

Prezența nanomaterialelor în viața noastră se concretizează prin aportul benefic atât în sănătate prin aplicațiile multiple ale acestora în medicină, cât și în electronică, în cosmetică, în industria de alimentară, în industria auto, în sistemele de livrare de apă potabilă aducând rezultate importante, o mai mare eficiență în acțiunea acestora, mai multă capacitate de stocare. Cu toate acestea, este important să se continue cercetarea, găsirea unor metode de obținere, de replicare, acelor produse cu caracteristici îmbunătățite[10]. Este necesar o continuă cercetare a nanomaterialelor care să conducă la produse inovatoare în acest domeniu[10, 16-18]. Nanoparticulele prin proprietățile îmbunătățite ale acestora pot fi o soluție la problemele actuale privind poluarea și lipsa de resurse[19, 20]. Nanoparticulele prin proprietățile specifice, personalizate conduc la materiale mai puternice, mai durabile și constituie o promisiune a materialelor inovatoare[9, 21].

II.2 Caracterizarea nanoparticulelor și aplicațiile acestora

Proprietățile distincte ale nanoparticulelor conduc la folosirea acestora în domeniul electronicii ca senzori, catalizatori sau a produselor cu efect antibacterian. Efectul plasmonic ale nanoparticulelor metalice prezintă fenomenul de rezonanță plasmonică ce constă în interacțiunea dintre câmpul electromagnetic incident și electronii liberi de pe suprafața nanoparticulelor. Rezonanța plasmonică ce poate provoca absorbția și dispersia selectivă funcție de dimensiunea, forma și compoziția nanoparticulelor pot conduce la proprietăți ca fluorescență și fosforescență [15, 22].

Nanoparticulele au puncte de topire și fierbere mai scăzute în comparație cu materialele la scară macro. Acest lucru conduce la topire, vaporizare mai ușoară la temperaturi mai scăzute[23]. Nanomaterialele au condus la progrese în producția de materiale compozite cu performanțe ridicate, materiale ușoare și acoperiri cu funcționalitate îmbunătățită[1, 6, 14, 24].

În știința materialelor nanomaterialele sunt încorporate în amestecuri cu rolul de a îmbunătăți proprietățile compozitelor[25, 26].

Activitatea antimicrobiană a NPs, în special, a nanoparticulelor de argint a condus la utilizarea acestora în diverse domenii ca medicină, biologie, biochimie, electronică, industrie[27]. Activitatea antimicrobiană a nanoparticulelor este un fenomen complex cu un mecanism încă neelucidat de acțiune asupra microorganismelor, însă este foarte important de menționat că acțiunea nanoparticulelor asupra microorganismelor, eficacitatea acestora depinde de forma, dimensiunea, sistemul în care acționează acestea[28-30].

II.3 Rute de sinteză pentru nanoparticule

Metodele cele mai des-întâlnite pentru obținerea nanoparticulelor de argint sunt metodele fizice, chimice, biologice sau combinație dintre acestea. Fiecare dintre sintezele menționate oferă avantaje unice în ceea ce privește controlul asupra dimensiunii, formei, stabilității nanoparticulelor [9].

Sinteza chimică a nanoparticulelor de argint are particularități în funcție de reducătorii folosiți, condițiile fizice ale sistemului, concentrațiile precursorilor. Sinteza nanoparticulelor de argint (AgNPs) este relativ simplă, durata de desfășurare a proceselor chimice sunt relative scurte și nu este costisitoare. Cea mai întâlnită metodă pentru sintetizarea nanoparticulelor de Ag este sinteza în fază lichidă a cărei etape pot fi controlate astfel încât să conducă la obținerea anumitor dimensiuni și forme de nanoparticule. Reducerea chimică, a dispersiilor coloidale stabile în apă sau solvent organici, cu agenți reducători organici sau anorganici este una dintre metodel des întâlnite, fiind și una dintre metodele cu un proces relative simplu de obținere dar și economic.

Modificarea dimensiunii și formei nanoparticulelor pot conduce la obținerea unor proprietăți însemnate ale nanoparticulelor. Studiul mecanismului și activității antibacteriene a ionilor de argint și nanoparticulelor de argint au arătat că această proprietate este influențată puternic de condițiile de reacție, de cinetica de interacție a ionilor de metal cu agenții reducători și procesul de adsorbție a agentului stabilizator cu nanoparticulele de metal[31]. În aceasta lucrare se va urmări influența componentilor de reacție asupra proprietăților fizico-chimice. Dimensiunea și forma nanoparticulelor sunt strict dependente de timpul individual de sinteză, ex. sinteza formării nucleelor nanoparticulelor, temperature mediului de reacție și timpul de creștere a acestora.

În prezenta lucrare se vor analiza atât din punct de vedere fizic cât și microbiologic nanoparticulele de argint rezultate prin diverse metode de reducere chimică realizată la temperatura mediului, la temperatura de 70°C și la temperatura ridicată, în mediu controlat, la presiune constantă prin metoda solvotermală. Se vor analiza atât influența componentelor de reacție asupra formării nanoparticulelor de argint cât și eficiența antibacteriană a acestora. Nanoparticulele de argint (AgNPs) rezultate se vor selecta în funcție de rezultatele obținute la analizele tehnice cât și testele microbiologice și vor fi utilizate pentru testarea activității antimicrobiene pe diverse substraturi aplicate cu rol de protecție și prelungire a rezistenței acestora în timp.

Proprietățile unice ale nanoparticulelor din metal și în special a nanoparticulelor din argint caracterizate prin activități puternic antibacteriene au făcut ca aplicațiile acestora să fie cât mai variate. Efectul antimicrobian și antifungic se datorează atât aspectului, dimensiunilor nanoparticulelor de argint cât și eliberării de ioni de argint care au un efect toxic asupra microorganismelor, inclusiv bacterii, fungi, și viruși[21, 32-35].

II.4 Biodegradabilitatea și starea diverselor suprafețe în condițiile poluării excesive

Suprafețele din piatră naturală sunt vulnerabile la deteriorarea biologică cauzată de colonizarea microorganismelor, cum ar fi algele, mușchii, lichenii. Acest lucru se datorează, în primul rând, structurii poroase a substratului din piatră naturală dar și acțiunii neglijente a omului.

Procesul de biodeteriorare este definit conform standard EN15898 un proces nedorit în care proprietățile unui material sunt modificate din cauza activității diferitelor microorganisme [36-39]. Procesul de deteriorare sau alterarea pietrelor naturale este un ciclu continuu de dezintegrare și reconstrucție, datorat efectelor naturale ce depind de factorii intrinseci și extrinseci. Factorii externi, temperatura, poluarea, umiditatea sunt extrinseci, factorii precum distrugerea, tratarea necorespunzătoare a suprafețelor din piatră naturală, poluarea, toți acești factori contribuie la biodegradarea materialelor [40, 41].

Rocile din piatră naturală cu porozitate mare, cu o suprafață rugoasă, cu structură carbonatică sau cele ce nu se pot prelucra fin rezultând suprafețe lustruite, sunt cele mai supuse biocolonizării. Rocile sedimentare, cu structură carbonatică (calcar, travertin) sau carbonatice silicioase (ardezie, cuarțit, șisturi, anumite formațiuni calcaroase), cele metamorfice cu conținut carbonatic ridicat (marmură, onix, aragonit, cuarțit, etc) sunt cele

mai des întâlnite în zona de construcții, amenajări decorative, etc. Efectul prezenței microorganismelor pe suprafețele afectate conduc la diverse modificări ale acestora și chiar a structurii interne fie prin decolorarea suprafeței sau fisurarea suprafețelor, exfolierea până la dezintegrarea acestora sau creșterea retenției de apă.

Utilizarea nanoparticulelor în procesul de conservare, protecție a pietrelor naturale este una dintre marile realizări ale nanotehnologiei. Utilizarea proprietăților nanoparticulelor au permis adaptarea acestor materiale atât pentru substraturi cât și funcțiile pe care trebuie să le îndeplinească[42, 43]. Utilizarea nanoparticulelor metalice și a oxidului de metal, sau combinația dintre ele în proiectarea nanocompozitelor, a condus la dezvoltarea de noi tratamente de consolidare, hidrofobizare sau biocide. Studii recente au evaluat prezența amestecului de consolidați hidrofobizanți și biocide în prevenirea creșterii biologice pe substraturi de piatră naturală[5, 44].

NPs constituie o alternativă îmbunătățită și cu un nivel de toxicitate redus. Cu toate acestea, analizele și studiile arată că este posibil ca anumite nanoparticule să prezinte un nivel mai ridicat de toxicitate, însă studiile privind acumulările în apele curgătoare sau la nivelul solului încă nu sunt concludente. Din acest motiv se recomandă folosirea acestora cu precauție și în cantități cât mai mici[45].

III. PARTEA ORIGINALĂ

III.1 Rute de sinteze pe cale chimică a nanoparticulelor de argint

Sinteza pe cale chimică la temperatura normală constă în reducerea sării de argint, utilizând agenți reducători. Procedeul de sinteză chimică impune doi agenți reducători ca citratul tri sodic ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), agent cu caracter mediu reducător și un agent reducător puternic respectiv borohidrura de sodiu (NaBH_4).

III.2 Sinteza de reducere la temperatura mediului ambiant

Sinteza pe cale chimică cu agenți reducători, la temperatura mediului ambiant a condus, prin variația volumului de agent reducător puternic (NaBH_4) la obținerea mai multor tipuri de soluții de nanoparticule de argint (AgNPs) predominant culoare albastru (**Error! Reference source not found.**)[46]. Variația volumului de agent reducător puternic (NaBH_4) are ca scop stabilirea unui raport optim între agenții reducători în vederea obținerii unor AgNPs ce pot fi ulterior aplicate ca protecții antimicrobiene.

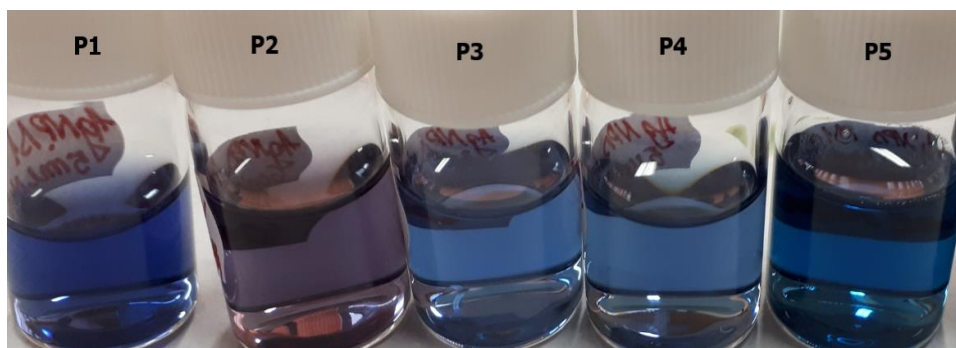


Figura 1 Diferite suspensii de AgNPs obținute prin metoda chimică, la temperatura mediului ambiant alese pentru testări P1 și P4 probe cu concentrație molară 0,06 M ; P3 și P5 probe cu concentrație molară 0,1M; P2 probă cu concentrație molară 0,5 M

III.3 Sinteza realizată la temperatura mediului ambiant prin metoda Dong

Sinteza Dong a urmărit obținerea nanoparticulelor de formă triunghiulară cunoscând faptul că acestea se caracterizează printr-o eficacitate antibacteriană crescută datorită capacității ridicate de penetrare a peretelui celulelor bacteriene[31, 47].

Proba obținută prezintă o colorație roșu maroniu indicând prezența nanoparticulelor de argint a căror dimensiuni este estimată în jur de 20-40 nm[48]. pH –ul soluției obținute este 8 iar concentrația obținută este 300 ppm.

III.4 Sinteza AgNPs la temperatură

III.4.1 Sinteza de reducere realizată la temperatura de 70°C

Sinteza realizată la temperatură se deosebește de primele două sinteze atât prin cantitățile de precursori folosiți cât și prin condițiile de reacție. Prin variația agentului reducător NaBH_4 pe parcursul reacție de sinteză s-a urmărit obținerea AgNps cu activitate antimicrobiană.

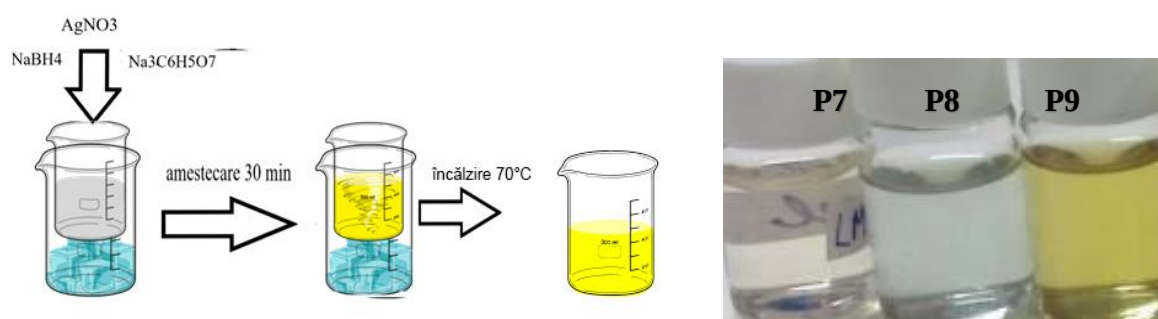


Figura 2 Schema obținerii soluțiilor de AgNPs la temperatură

III.4.2 Sinteza solvotermală a AgNPs

Sinteza solvotermală este o metodă precisă de obținere a nanoparticulelor, factorul temperatură permite un control precis asupra dimensiunii, formelor și distribuției acestora. Metoda folosește drept agent reducător polietilen glicol iar ca agent de protecție polivinilpirolidona (Figura 3). Spre deosebire de sintezele anterioare procedeul solvotermal este considerat o reacție heterogenă în prezența solvenților și sub acțiunea presiunii și temperaturii reactanții care datorită condițiilor speciale reactanții își măresc solubilitatea și astfel crește viteza de nucleație[49, 50].

Metoda solvotermală are câteva avantaje față de reducerea chimică clasică [51, 52]. [53, 54]. Reacția prin metoda solvotermală a fost realizată la diverse temperaturi pentru a urmări dacă se obțin modificări ale aspectului, formei, și dimensiunilor nanoparticulelor de Ag și dacă există o anumită limită de temperatură la care nanoparticule de argint pot suferi modificări semnificative.

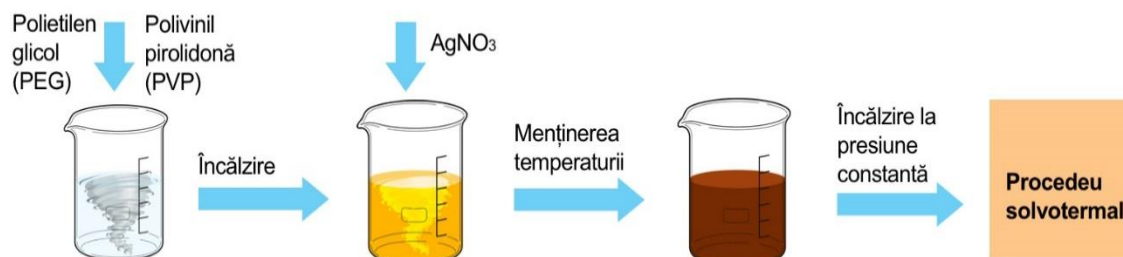


Figura 3 Schema obținerii soluțiilor de AgNPs prin metoda solvothermală

Probele rezultate prin metoda solvothermală la temperatură și timpi diferiți prezintă un aspect cu o colorație variată de la galben-roșiatic până la brun închis (Figura 4) caracterizate prin vâscozitate mai mare în comparație cu cele două metode folosite anterior[52, 53, 55], pH-ul soluțiilor este în jur de 9 iar concentrația este de 1000 ppm. Probele obținute la temperatura ridicată, în ambele cazuri, au fost codate de la P10-P14.



Figura 4 Aspectul soluțiilor de AgNPs obținute prin metoda solvothermală

III.5 Analiza efectului antimicrobian

III.5.1 Caracterizarea nanoparticulelor obținute prin sintezele chimice

Analiza UV-Vis pentru probele obținute prin sinteza chimică la temperatura mediului ambiant (P1-P5) (Figura 5) au condus la confirmarea prezenței nanoparticulelor de argint, fiecare sinteză prezentând particularitățile sale funcție de modul în care a fost condus procesul de reacție. Rezultatele UV-VIS pentru sinteza realizată la temperatura camerei (metoda I) confirmă prezența nanoparticulelor de argint. Fiecare probă în acest caz este caracterizată de două sau trei maxime situate în jurul valorilor de 330-340 nm, 400-420 nm respectiv 600-800 nm.

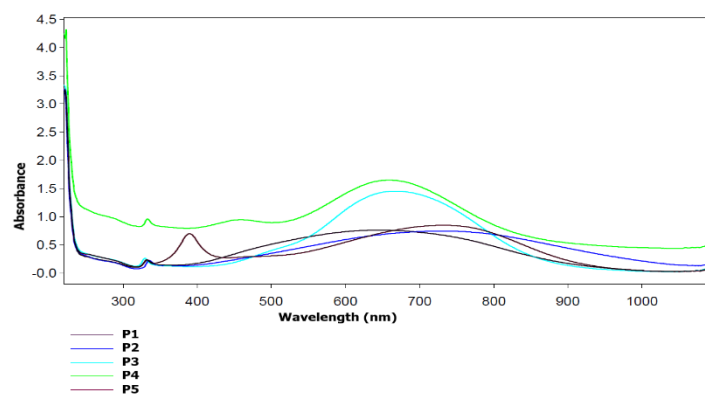


Figura 5 UV-VIS pentru probele cu AgNPs obținute la temperatura mediului ambiant

III.5.1.1 Analiza DLS (Dynamic Light Scattering)

Analiza comparativă a rezultatelor obținute la analiza DLS pentru sinteza efectuată la temperatura camerei conduce la obținerea de informații asupra stabilității soluțiilor de nanoparticule cât și dimensiunilor acestora. Pentru probele P1-P5 a căror sinteză este identică diferind doar volumul adăugat de reducător puternic, borohidrua de sodiu (NaBH_4), constatăm că potențialul zeta (ζ) al nanoparticulelor formate este mai mare decât valoarea -30 mV ceea ce confirmă stabilitatea acestora.

În cazul sintezei de tip Dong proba P6 prezintă o distribuție relativ uniformă cu dimensiuni ale nanoparticulelor în jur de 30-40 nm. Agentul reducător cu caracter mediu (citratul tri-sodic) conduce la formarea unui număr restrâns de nanoparticule ce se pot grupa formând clustere. În acest caz citratul tri-sodic are rol atât de agent reducător cât și de agent de protecție[18, 56-60].

III.5.1.2 Analiza TEM (microscopie electronică de transmisie)

Analiza TEM pentru probele obținute prin sinteza la temperatura camerei P1-P5 efectuată pentru două probe respectiv P3 și P1 conduce la concluzia că, probele prezintă forme diferite, caracterizate prin anizotropie (Figura 6a,b) cu formarea de structuri cristaline individuale grupate paralel de tip multiply twinned(Figura 6 a)[61]. Formele neregulate au fost confirmate atât de rezultatele la UV- Vis prin poziționarea maximului peak-urilor către valori mai mari de 600 nm și forma curbelor largi corespunzătoare celor două probe analizate (Figura 5).

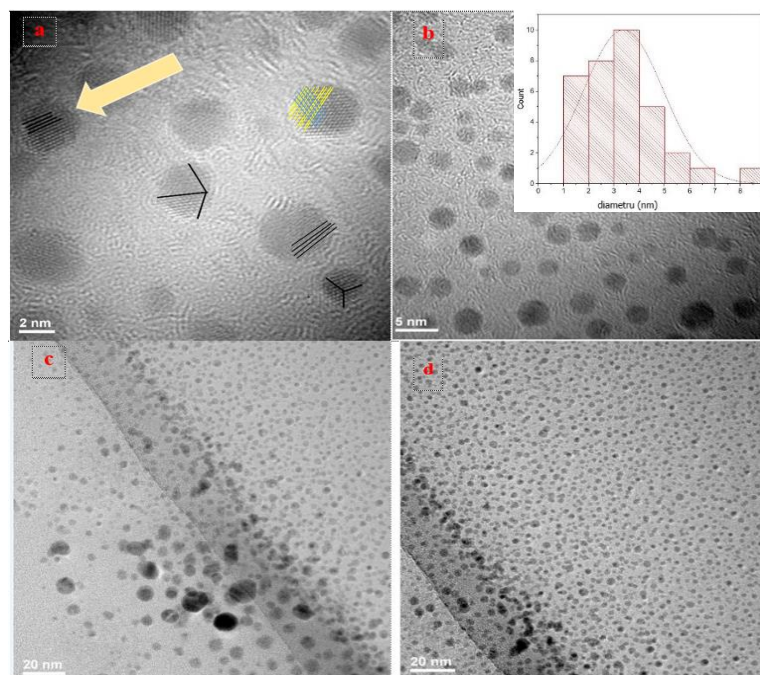


Figura 6 Imagini TEM pentru proba P3 a) imagine TEM reprezentând nanoparticule cu formă sferice b) imagine TEM forma de nanoprticule formă sferică, în partea dreapta histograma reprezentând distribuția nanoparticulelor c-d) nanoparticule cu dimensiuni relativ mici, distribuite uniform și cu ușoară tendința de aglomerare

III.6 Sinteza pe cale chimică la temperatură

Analiza UV-Vis obținute pentru sinteza AgNPs realizată la temperatură de 70°C confirmă prezența nanoparticulelor (Figura 7) pentru probele indicate P7 și P9, cu conținut variabil de agent reducător puternic borohidrura de sodiu (NaBH_4).

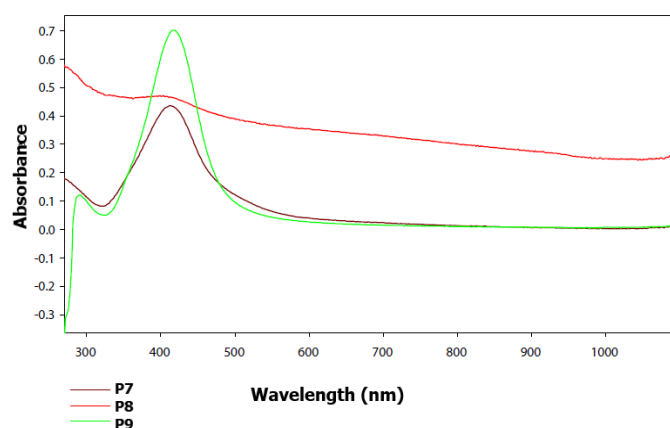


Figura 7 UV-VIS probe obținute la temperatura de 70°C

Prezența nanoparticulelor formate la temperaturi între 200°C-260°C sunt indicate prin graficul (Figura 8) și confirmă faptul că dimensiunile acestora sunt relativ mici, fiind indicate de valorile obținute la UV-Vis (400 nm) iar peak-urile caracteristice acestor valori, pentru probele P 10, P13 și P14, indică prezența mai multor nanoparticule ce au dimensiuni relativ apropiate. Practic, factorii temperatură și presiune pot influența major posibilitatea formării acestora și probabil sunt influențate forma și dimensiunile nanoparticulelor sintetizate [49].

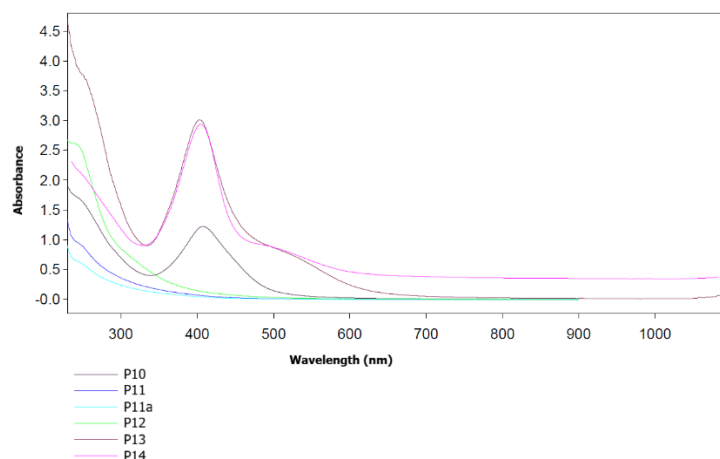


Figura 8 UV-VIS probe obținută prin metoda solvotermală

III.6.1 Analiza DLS pentru probe obținute prin sinteza la temperatură

Imaginile DLS obținute prin analiza probelor sintetizate prin metoda solvotermală indică o polidispersie a nanoparticulelor obținute și, de asemenea, formarea unor clustere cu dimensiuni mai mari de 50 nm.

III.6.2 Analiza TEM pentru probe obținute prin sinteza la temperatură

Pentru probele sintetizate prin metoda solvotermală indică prezența nanoparticulelor cu dimensiuni mari dar și o distribuție de dimensiuni mici ale nanoparticulelor ce au tendința de coalescență sau aglomerare.

Analiza TEM pentru proba P10 confirmă prezența nanoparticulelor de formă sferică (Figura 9) și o distribuție relativ omogenă, cu tendință de aglomerarea a AgNPs.

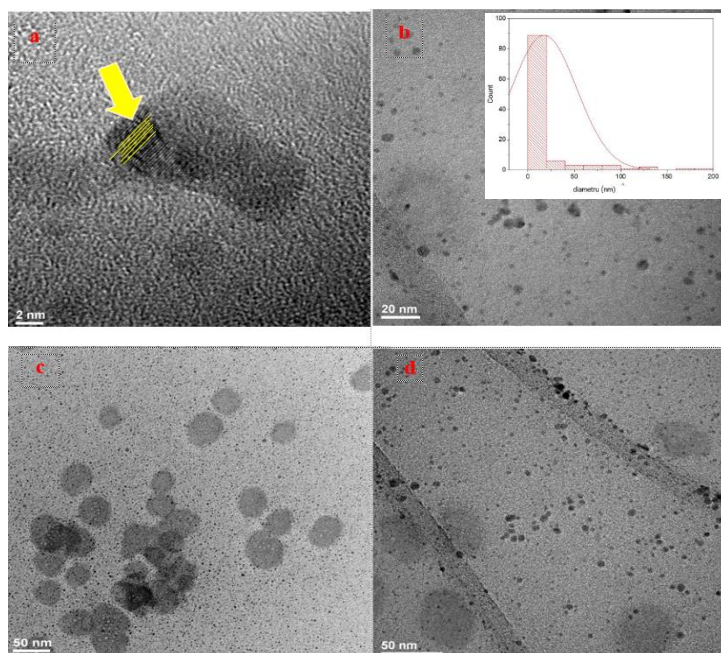


Figura 9 Imagini TEM pentru proba P10 obținută prin sinteza solvotermală a) imagini TEM confirmă formarea planelor de tip multiply twinned b,c,d) Imagini TEM la rezoluții diferite cu nanoparticule de argint ce prezintă tendință de aglomerare; histograma distribuției dimensionale a nanoparticulelor formate

Analiza TEM reprezentând proba P 13 realizată la temperatura cea mai ridicată față de celelalte probe, indică formarea nanoparticulelor cu forme sferice și dimensiuni relative medii dar cu o tendință accentuată de aglomerare și coalescență, indicată prin (Figura 10c).

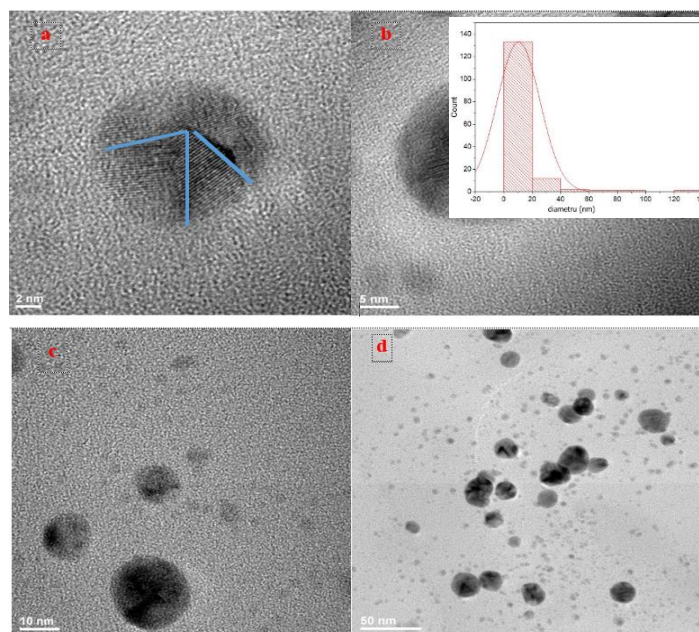


Figura 10 Imagini TEM pentru proba P13 obținută prin sinteza solvotermală la 260°C a) imagini TEM confirmă formarea planelor de tip multiply twinned b,c,d) Imagini TEM la rezoluții diferite a nanoparticulelor de argint cu forma sferică; histograma distribuției dimensionale a nanoparticulelor formate

Analiza TEM a probei P 14 obținută la temperatura de 220°C confirmă prezența nanoparticulelor predominant de formă sferică (Figura 11) confirmată și de valorile obținute la UV-Vis cu peak-ul predominant format în jurul valorii de 400 nm . Acest lucru indică prezența nanoparticulelor de argint de formă sferică coroborat și cu rezultatele obținute prin analiza DLS ce indică la proba P 14 dimensiuni mici ale nanoparticulelor formate.

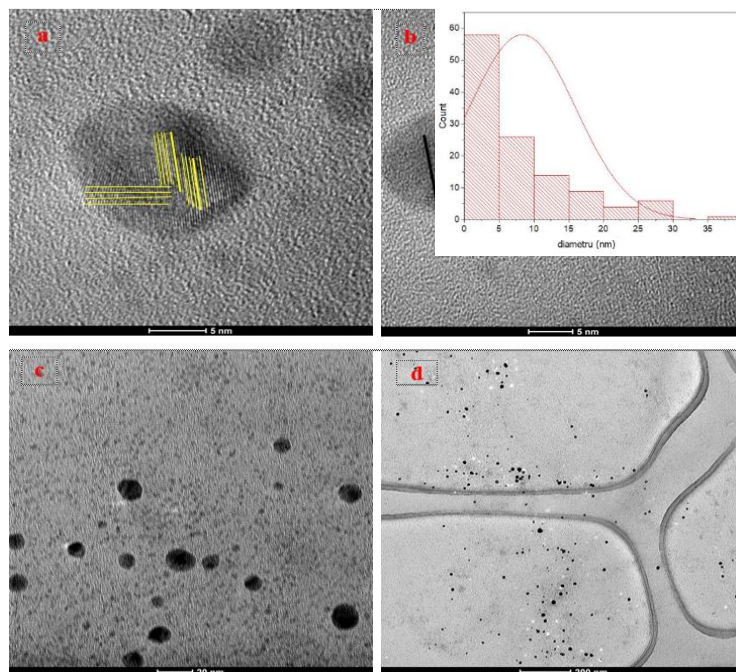


Figura 11 Imagini TEM pentru proba P14 obținută prin sinteza solvotermală a si b) imagini TEM confirmă formarea planelor de tip multiply twinned; c,d) Imagini TEM la rezoluții diferite cu nanoparticule de argint predominant formă sferică ce prezintă tendință de aglomerare

III.6.3 Activitatea antimicrobiană

Activitatea antimicrobiană a fost evaluată prin compararea zonei de inhibiție (zona medie a diametrului inhibiției) la diverse tulpini [35]. Toate probele obținute la temperatura mediului ambiant (Figura 12) se constată că au acțiune puternic antimicrobiană pentru tulpina de *S aureus*. Forma AgNPs obținute prin această metodă și dimensiunile specifice de 1-10 nm determină o activitate antimicrobiană mai bună și o eficacitate împotriva tulpinilor *S aureus*.

Pentru probele de AgNPs obținute la temperatură ridicată se constată o activitate antimicrobiană slabă manifestată prin dezvoltarea unei zone de inhibiție a creșterii (ZOI) reduse . Probele P10 și P13 obținute la temperatura de 200°C respectiv 260° C și care prezintă AgNps formă sferică și dimensiuni ale nanoparticulelor predominant in jur de 20 nm conduc la a o eficiență atibacteriană foarte bună pentru tulpina *S aureus*.

Comparativ cu probele obținute la temperatura mediului ambiant s-a constatat că probele prin metoda solvotermal (P10 și P 13) au confirmat și o activitate antimicrobiană mai bună.

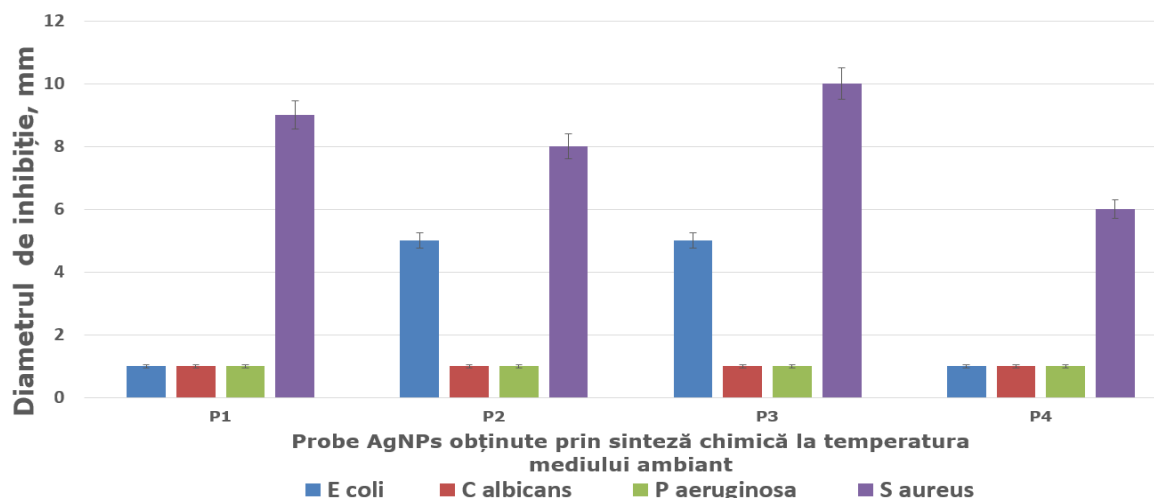


Figura 12 Diametrul zonei de inhibiție a creșterii microorganismelor, după cultivarea pe medii solide în prezența suspensiilor de NPs obținute prin metoda chimică la temperatura mediului ambiant

Activitatea antibiofilm confirmă faptul că probele obținute prin metoda solvotermală au activitate antibacteriană mai crescută comparativ cu probele obținute la temperatura camerei pentru bacteriile Gram-pozitive și Gram-negative (Figura 13). Forma anizotropă și dimensiunile relativ mici ale nanoparticulelor obținute la temperatura mediului ambiant, comparativ cu cele obținute prin metoda solvotermal, contribuie la îmbunătățirea activității antimicrobiene a acestora. De menționat că probele P10-P13 obținute pe cale solvotermală au înregistrat dimensiuni ale nanoparticulelor cu valori ale diametrelor peste 50 nm și este posibil ca atât la dimensiuni mai mari ale nanoparticulelor de argint mecanismul de atac asupra microorganismelor să fie relativ eficient[19].

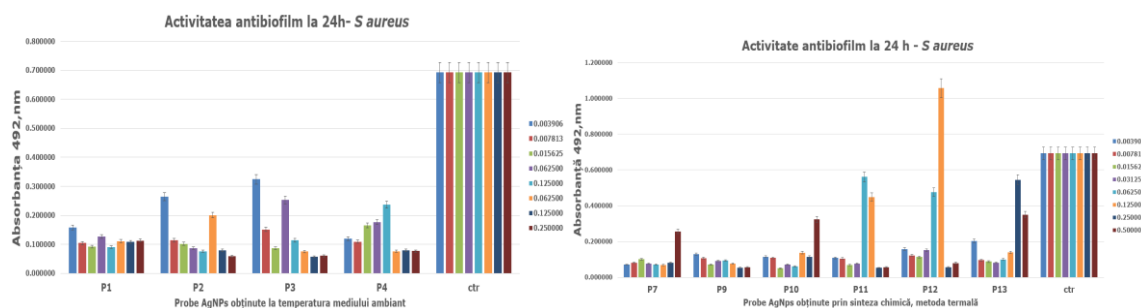
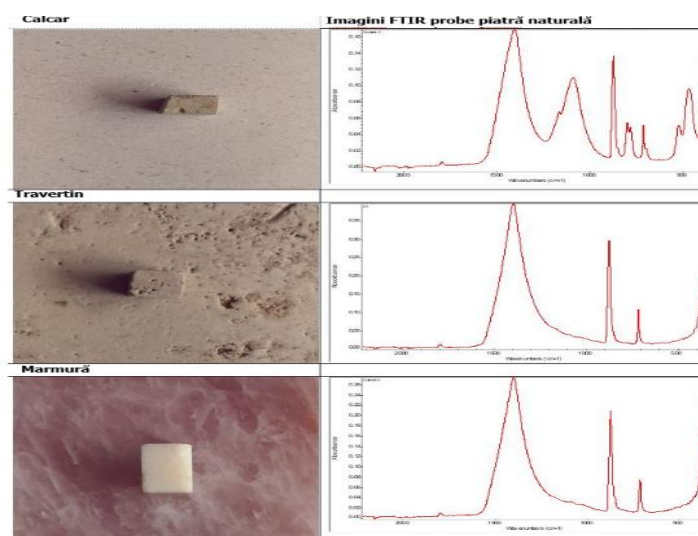


Figura 13 Reprezentarea grafică a valorilor Abs 492 nm ce ilustrează activitatea antibiofilm la *S. aureus* cultivat timp de 24 h în mediu lichid în prezența diferitelor concentrații ale AgNPs obținute prin sinteza la temperatura camerei și sinteza solvotermală.

IV. APLICAREA NANOPARTICULELOR DE ARGINT SINTETIZATE PE DIVERSE SUBSTRATURI DE PIATRĂ NATURALĂ CU ROL DE PROTECȚIE ANTIMICROBIANĂ, ANTIFUNGICĂ

În vederea testării nanoparticulelor de argint descrise la prima parte experimentală s-au folosit, ca substraturi pentru testele de protecție, diverse tipuri de piatră naturală ca exemplu, marmura, travertin, calcar (Tabel 1). La testări s-au fost folosit acele tipuri de piatră naturală care se folosesc în mod uzual, în construcții, finisaje preponderent rocile calcaroase de tip sedimentar și metamorfic[43].

Tabel 1 tipuri de substraturi folosite la metoda de impregnare



Probele de piatră naturală au fost impregnate cu agenți de cuplare iar procedeul de impregnare cu agenți de cuplare s-a realizat folosind produși de silanizare cu grupe reactive de tip thiol (mercaptan) (-SH) și cu grupe reactive de tip amino (-NH₂). Procedeul de impregnare descris anterior constă în impregnarea suprafețelor cu agenții de cuplare ce au rolul de a lega, în cazul nostru, nanoparticule de argint pe suprafața ce urmează să fie tratată. Grupele libere de silanoli pot forma legături covalente cu nanoparticulele de argint și se pot dispune într-un singur strat sau multistrat (Figura 14).

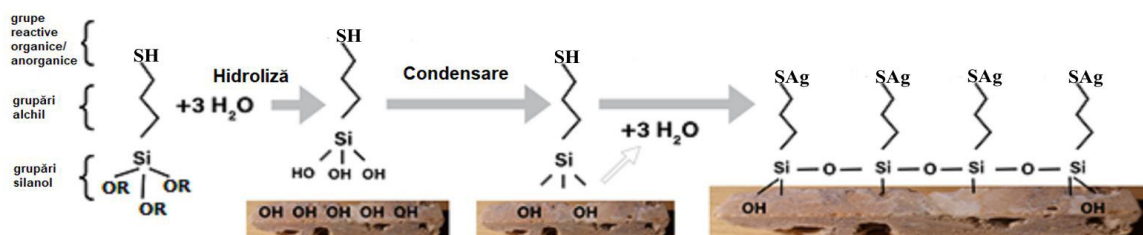


Figura 14 Schema generală prin care AgNPs sunt adsorbite pe substraturile tratate

IV.1 Rezultate și investigații

IV.1.1 Difrakția de raze X

Analiza de difracție XRD (pentru fiecare probă de piatră naturală) a condus la rezultatele prezentate (Figura 15). Structura cristalină a celor trei tipuri de probe din piatră naturală indică prezența calcitului, specific pentru compoziția unor astfel de roci sedimentare, carbonatice.

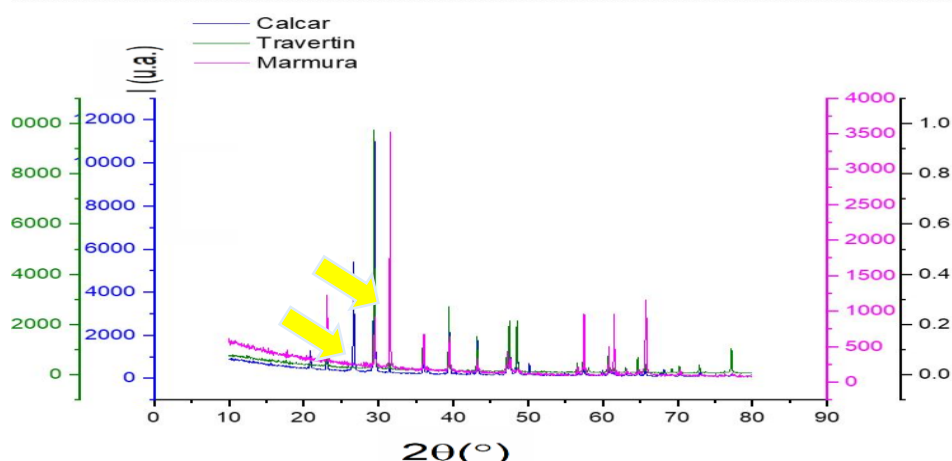


Figura 15 Analiza difracție raze X pentru probele de piatră naturală calcar, marmura, travertin

IV.1.2 Rezultate tratament pe diverse suprafețe piatră naturală tratate cu agent de cuplare 3APTES

În cazul tratării suprafeței din calcar cu concentrații diferite a agentului de cuplare se constată prezența frecvenței de vibrație în jurul valorii de $1090\text{--}1020\text{ cm}^{-1}$ indicând prezența grupării amino primare ($-\text{NH}_2$)

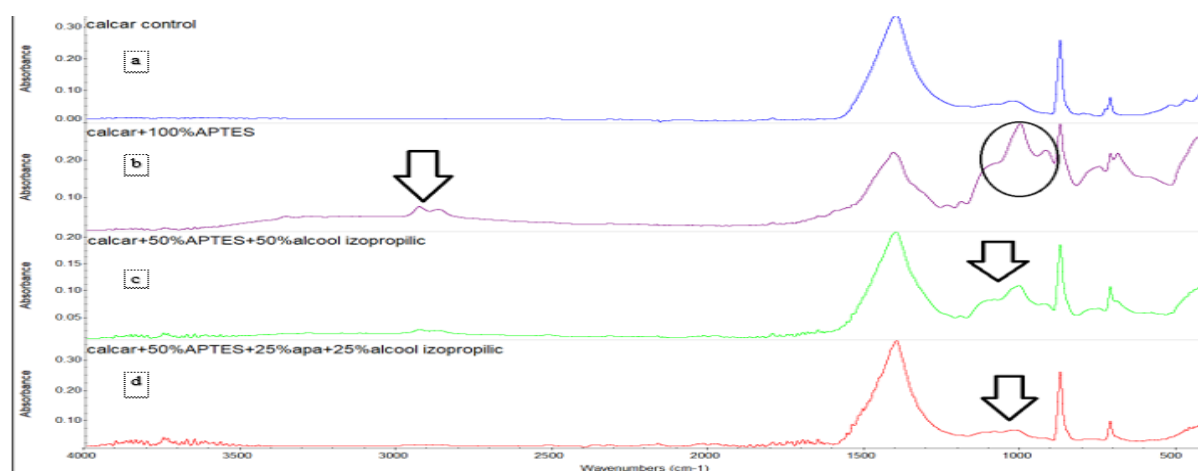


Figura 16 Imagini FTIR realizate pe probe din calcar tratate cu APTES și amestec

IV.1.3 Rezultate tratamente pe diverse suprafețe din piatră naturală tratate cu agent de cuplare 3 MPTMS și amestec agent de cuplare 3MPTMS, alcool izopropilic și apă

În tratamentul substraturilor de travertin cu amestec de 3MPTMS și alcool izopropilic respectiv amestec cu alcool izopropilic și apă imaginile FTIR nu indică nicio diferență acest lucru confirmă faptul că pe un strat poros adsorbția amestecurilor este mai puțin influențată de prezenței apei în aceasta proporție (Figura 17).

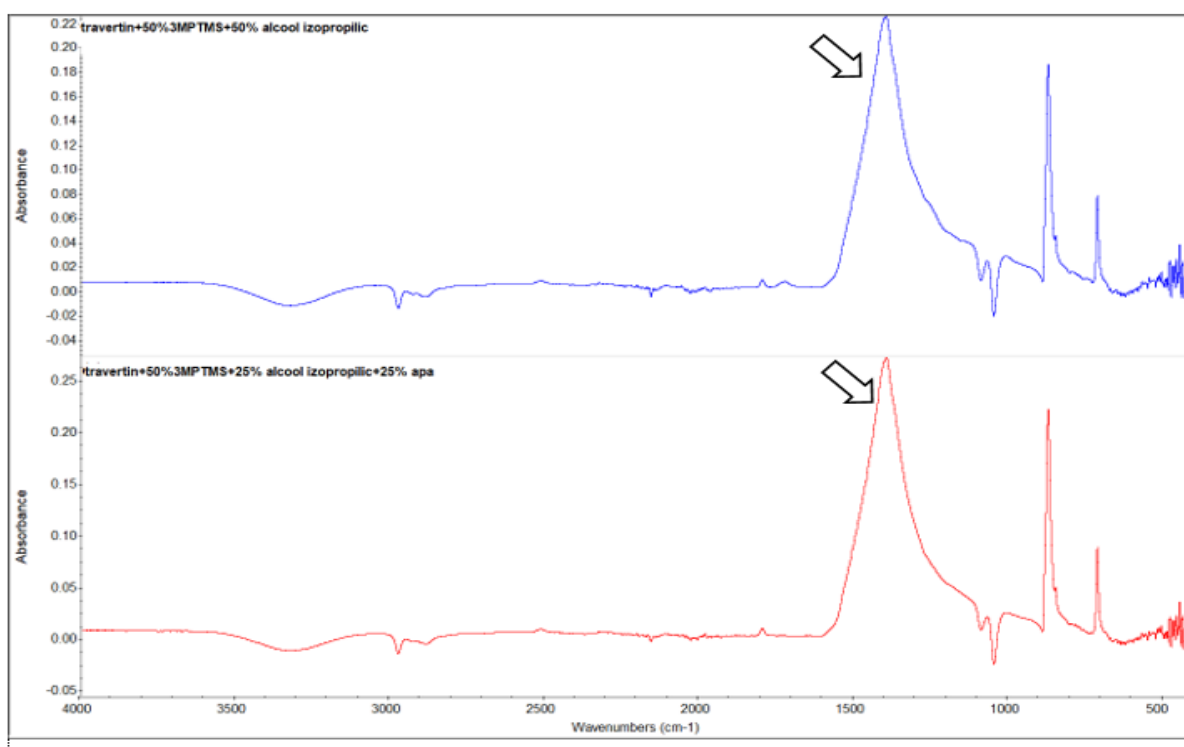


Figura 17 Imagini FTIR comparative tratament travertin cu amestec 3MPTMS și alcool izopropilic și apă

IV.1.4 Imagini FTIR map pentru substraturile tratate cu agenți de cuplare 100% sau amestec

Imaginile FTIR map pentru substraturi tratate cu agenții de cuplare de tip 3MPTMS și Coat OSil T cure sunt analizate comparativ, funcție de tipurile de substraturi pe care sunt aplicate. În cazul tratamentului cu 100% 3MPTMS și amestec de 3 MPTMS 50% cu 50% alcool izopropilic (IPA) se observă că indiferent de substrat se confirmă prezența grupărilor de tip thiol ($710\text{--}685\text{ cm}^{-1}$ sau $705\text{--}570\text{ cm}^{-1}$).

În cazul travertinului tratat cu 3MPTMS 100% respectiv amestec 50% 3MPTMS și 50% IPA (Figura 18) se observă variații ale adsorbției pe suprafață în ambele cazuri. Analiza

spectrală (Figura 18) pe substratul de travertin tratat cu 3 MPTMS 100% confirmă prezența legăturilor de tip C-S. Imaginea FTIR map pentru ambele silanizări a confirmat că interacțiunea substratului cu agentul de cuplare care este relativ medie către diminuată. Acest lucru se datorează, în principal, structurii poroase a substratului, caracterizat prin pori deschiși prin care agentul de cuplare este adsorbit relativ puternic de pe suprafața acestuia.

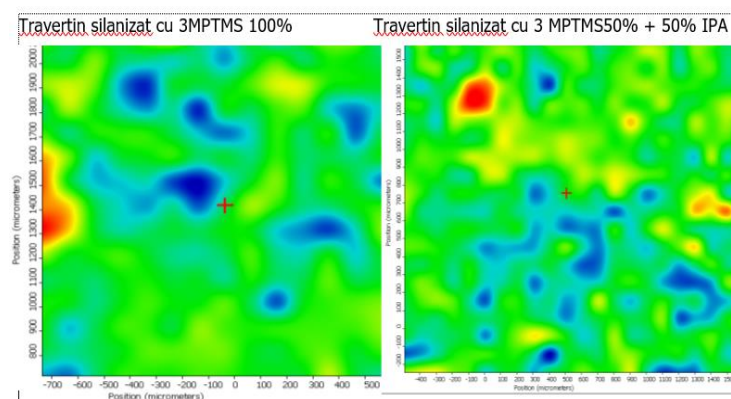


Figura 18 FTIR map comparativ substrat travertin tratat cu a) 100% 3MPTMS; b) 50% 3MPTMS+50% IPA

În cazul substratului de calcar sau marmură se constată o variație mai mică privind adsorbția agentului de cuplare 3MPTMS 100% însă se observa la calcar o adsorbție relativ mai bună în cazul amestecului cu IPA. Acest lucru se datorează structurii omogene a acestora comparativ cu structura travertinului (Figura 19). În cazul substratului de marmură, cu toate că este o structură cristalină compactă, imaginile FTIR map (Figura 20) arată interacțiuni slabă a agentului de silanizare cu substratul caz confirmat și de rezultatul obținut prin imaginile FTIR. Este posibil ca proprietățile fizice ale agentului de silanizare 3 MPTMS să nu corespundă acestui tip de substrat, astfel aderența acestuia să fie diminuată.

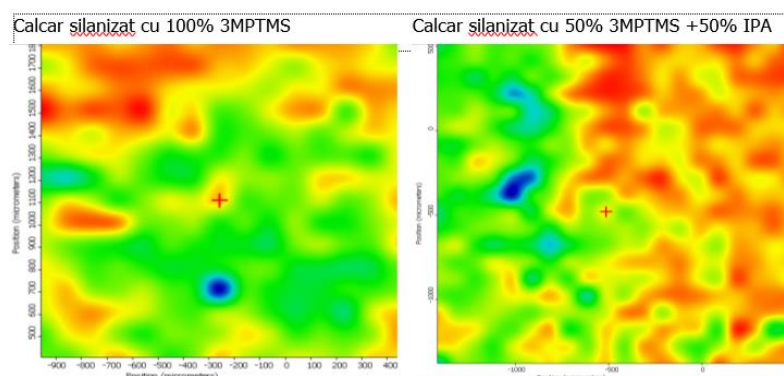


Figura 19 FTIR map comparativ substrat calcar tratat cu a) 100% 3MPTMS; b) 50% 3MPTMS+50% IPA

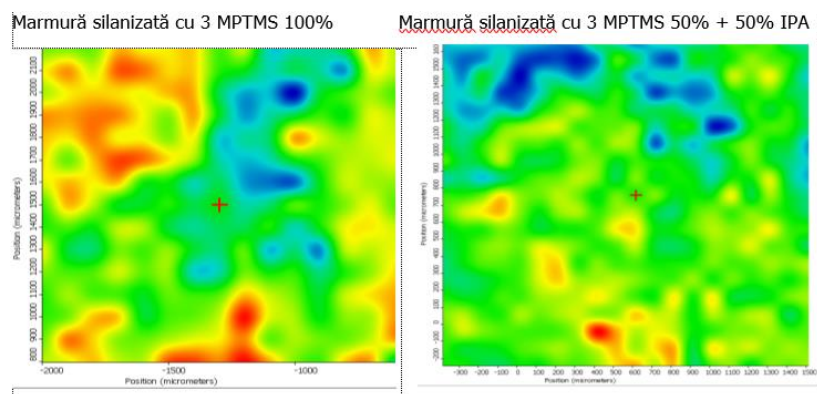


Figura 20 FTIR map comparativ substrat marmură tratată cu a) 100% 3MPTMS; b) 50% 3MPTMS+50% IPA

În cazul calcarului silanizarea atât cu agentul de cuplare de tip Coat O sil 100% cât și în amestec (50% Coat O sil +50% IPA) arată că interacțiunea cu agentul de cuplare este relativ mai bună comparativ cu travertinul (Figura 22). Imaginile FTIR map sunt relativ omogene în cazul substratului din calcar (Figura 22) comparativ cu substratul din travertin (Figura 21).

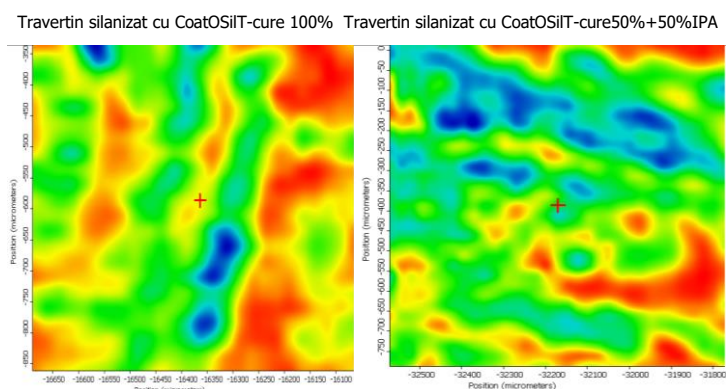


Figura 21 FTIR map comparativ substrat travertin tratat cu a) 100% Coat O Sil; b) 50% Coat O Sil+50% IPA

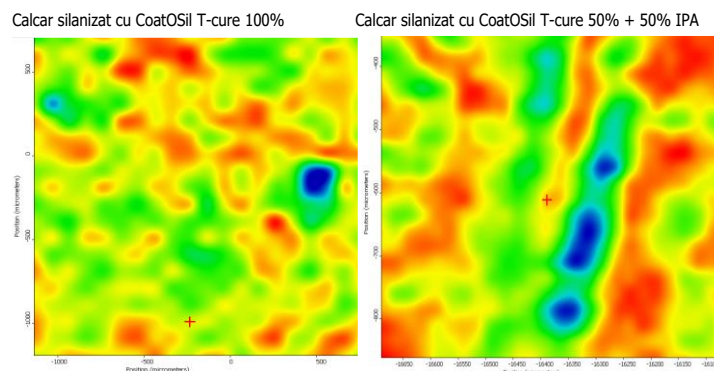


Figura 22 FTIR map comparativ substrat calcar tratat cu a) 100% CoatOSil; b) 50% Coat O Sil+50% IPA

IV.2 Caracterizarea suprafețelor tratate cu agenți de cuplare prin microscopia de baleiaj (SEM)

Imaginile SEM comparative ne oferă indiciu privind modul de silanizare a suprafețelor indiferent de structura acestora. Imaginile SEM (*Figura 23*) ne indică formarea unei pelicule pe suprafața substraturilor tratate formând un strat compact. Comparativ cu imaginile SEM (*Figura 24, Figura 25*) ce reprezintă agenții de cuplare cu grupe tiol și care confirmă silanizarea suprafețelor prin închiderea parțială a microfisurilor și porilor, lasând astfel substratul să ”respire”.

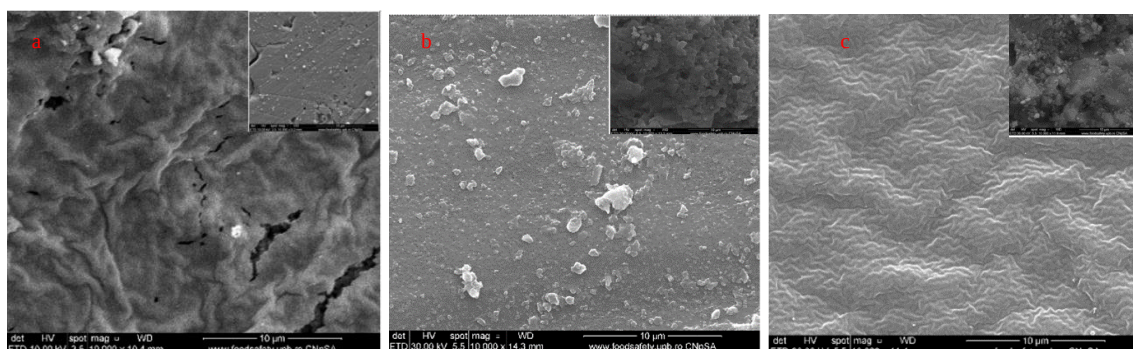


Figura 23 Imagini SEM cu agent de silanizare 3 amino propiltrietoxi silan (3APTES) pe diverse suprafețe comparativ cu substraturile control a) travertin; b) calcar; c) marmura

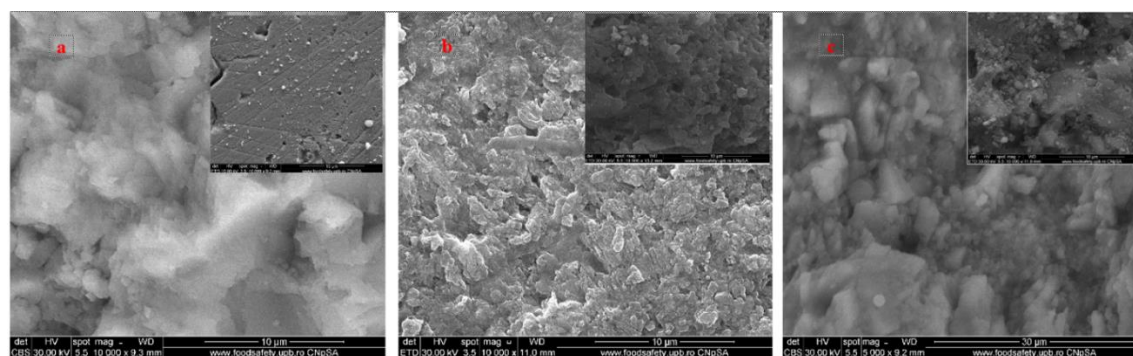


Figura 24 Imagini SEM reprezentând aspect comparativ cu control și substraturi tratate cu agent de cuplare 3MPTMS; a)travertin; b) calcar; c) marmură

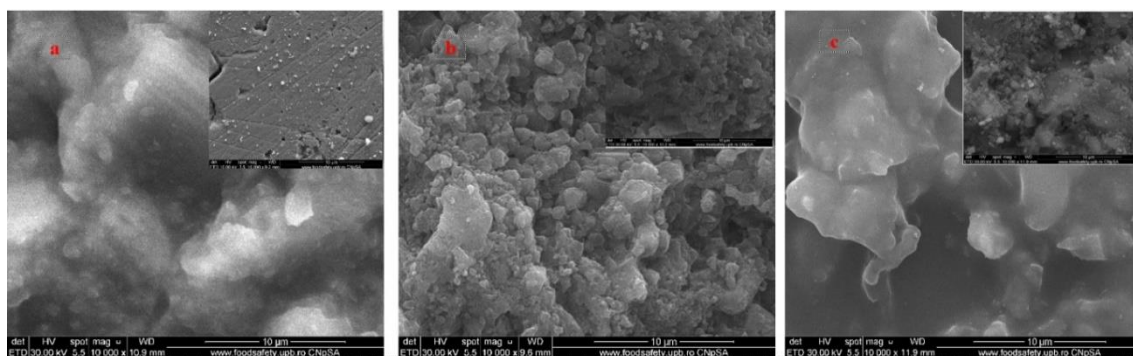


Figura 25 Imagini SEM reprezentând aspect comparativ substraturi tratate cu agent de cuplare Coat O Sil T-cure; a) travertin; b) calcar; c) marmură

IV.3 Tratarea substraturilor din piatră naturală cu nanoparticule de argint (AgNPs)

IV.3.1 Caracterizarea suprafețelor tratate cu AgNPs prin analiza SEM

Prezența AgNPs a fost pusă în evidență prin analiza BSED realizată pe suprafețele din piatră naturală tratate cu agenții de cuplare de tip 3 MPTMS (Figura 26).

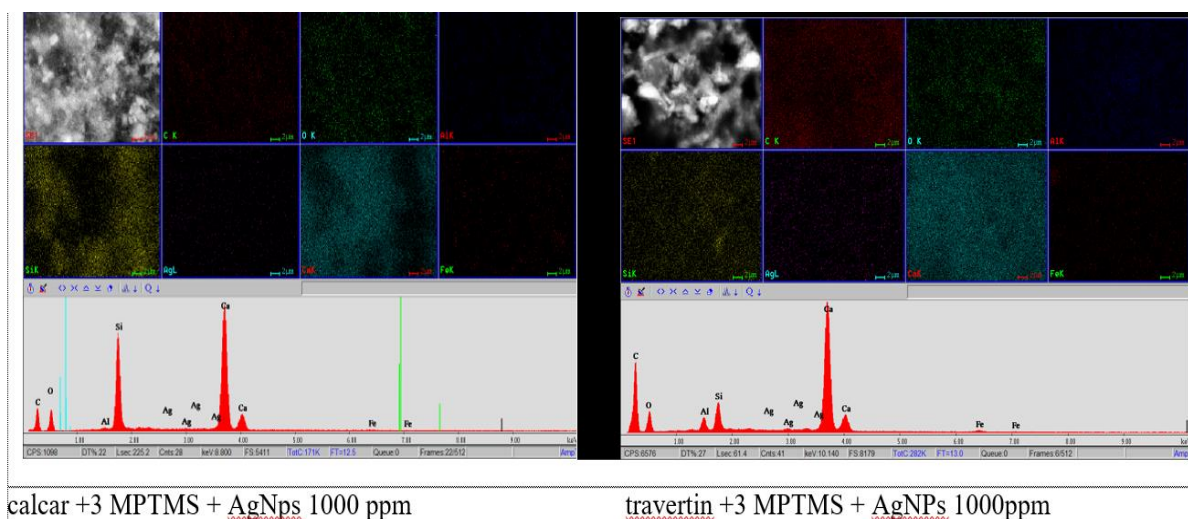


Figura 26 Imagini de electroni secundari (BSED) și imagini în suprafața a intensității relative a radiației X caracteristice principalelor elemente chimice detectate de analiza EDS.

IV.3.2 Caracterizarea suprafețelor tratate cu AgNPs prin analiza UV-Vis

Analiza UV-Vis a soluțiilor de AgNPs (Figura 27) folosite la tratarea suprafețelor din piatră naturală pentru a pune în evidență dacă AgNPs au fost adsorbite pe suprafața constă în adăugarea în soluția respectivă a mostrelor din piatră naturală, fiecare mostră este impregnată în prealabil cu un agent de cuplare 3APTES, 3MPTMS sau CoatOSil.

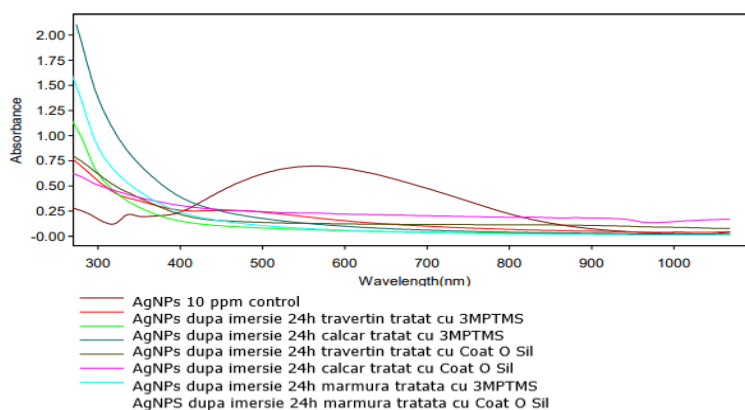


Figura 27 Grafic UV-VIS pentru soluțiile de AgNPs 10 ppm în care au fost imersate probe din piatră naturală tratate cu agenți de cuplare

IV.4 Caracterizarea antimicrobiană a suprafețelor tratate cu AgNps

IV.4.1 Activitatea antimicrobiană a AgNps pe substraturile de piatră naturală tratate cu agent de cuplare 3 MPTMS 100%

În cazul tratării substraturilor din piatră naturală cu agentul de cuplare 3MPTMS se analizează eficacitatea AgNps asupra unei tulpini de *Bacillus subtilis* pentru variantele în care concentrațiile de AgNps sunt de 10 ppm și de 1000 ppm (Figura 28). S-a ales pentru testare specia *B subtilis* pentru că este un microorganism procariot ubicuitar, sporulat, cu o rezistență crescută la factorii de mediu, ce colonizează inclusiv suprafețele din piatră naturală și poate contribui la biodeteriorarea acestora.

În cazul substratului de calcar se observă că tratamentul cu 3 MPTMS și AgNps, indiferent de concentrația acestora, confirmă o aderență scăzută a celulelor de *B subtilis* de ordinul 3-4 unități logaritmice față de proba control.

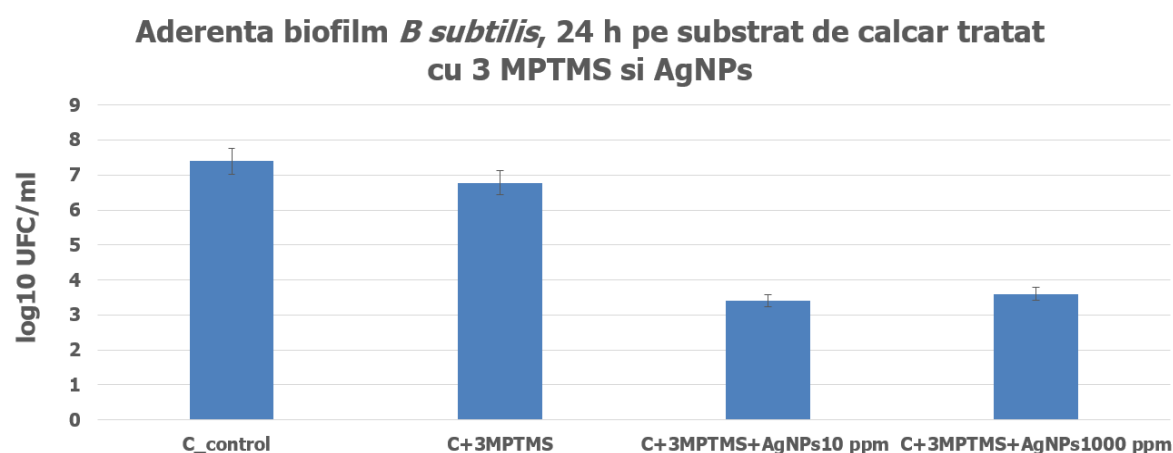


Figura 28 Grafic reprezentând aderența biofilmului *B subtilis* pe substrat din piatră naturală calcar (C) netrată (control) și tratament cu agent de cuplare 3MPTMS și AgNps de 10 și 1000 ppm

În ceea ce privește tratamentul substratului de marmură cu agent de cuplare 3MPTMS și AgNps 10 ppm respectiv 1000ppm (Figura 29) s-a înregistrat o diminuare a dezvoltării biofilmului *B subtilis* cu 2,8 unități log pentru proba tratată cu AgNps 1000 ppm comparativ cu proba control. În cazul tratării substratului cu AgNps 10ppm adsorbția agentului de cuplare de pe suprafața substratului conduce la o diminuare a efectului de fixare a nanoparticulelor pe suprafață și, deci se înregistrează valori scăzute ale eficienței acestor nanoparticule.

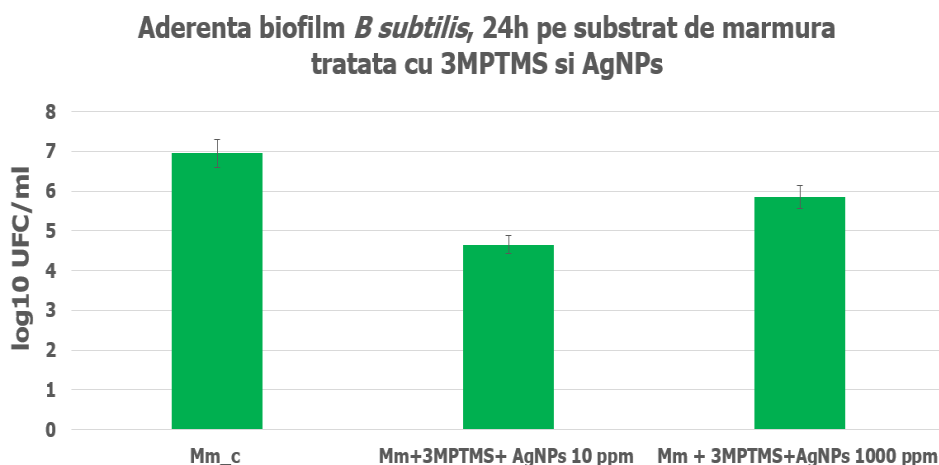


Figura 29 Grafic reprezentând aderența și formarea biofilmului *B subtilis* pe substrat de marmură tratat cu 3MPTMS100%

IV.4.2 Activitatea antimicrobiană a AgNps pe substraturile de piatră naturală tratate cu agent de cuplare Coat O Sil T-cure 100%

În cazul tratamentului substraturilor din piatră naturală calcar și travertin cu agent de cuplare Coat O Sil și AgNps 10 ppm respectiv 1000 ppm (Figura 30) s-a observat, în cazul substratului de calcar, că rezultatele sunt asemănătoare pentru tratamentul cu AgNPs 10 ppm și 1000 ppm. Se observă o scădere a dezvoltării biofilmului *B subtilis* în jur de 4,5 unități logaritmice, la tratarea cu AgNPs 1000 ppm respectiv 4 unități log în cazul tratării cu AgNPs 10 ppm (Figura 30). Este posibil ca dimensiunea și forma nanoparticulelor de la AgNPs 1000 ppm să fie mai eficiente pe substratul de calcar comparativ cu cel de travertin (**Error! Reference source not found.**).

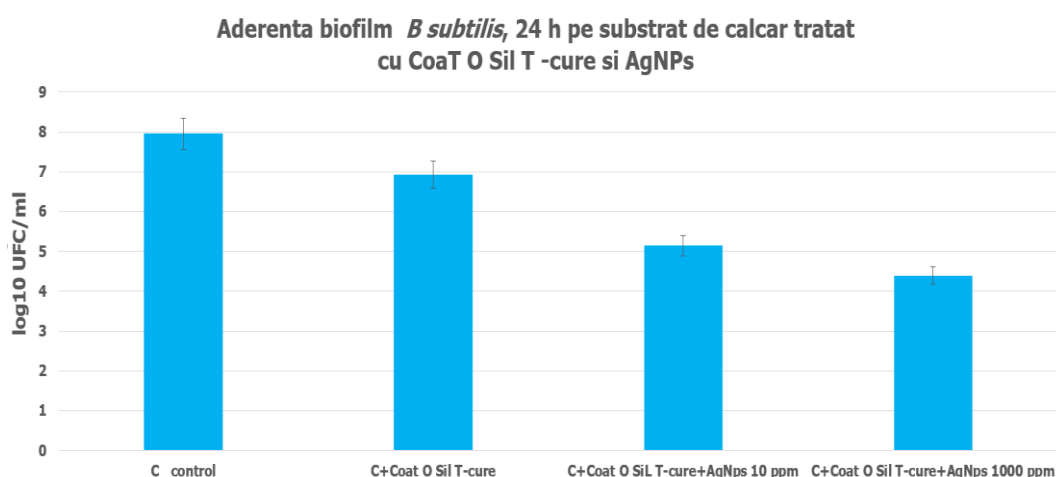


Figura 30 Grafic ce ilustrează aderența și formarea biofilmului de *B subtilis* pe substrat de calcar tratat cu 100% Coat O Sil și AgNPs concentrații de 10 și 1000 ppm

IV.4.3 Activitatea antimicrobiană a AgNPs pe substraturile de piatră naturală tratate cu amestec format din agent de cuplare Coat O Sil T-cure 50% și alcool izopropilic (IPA) 50%

Tratamentul realizat cu amestec Coat O Sil 50% + alcool izopropilic (IPA) 50% (Figura 31) pe substrat de calcar a condus la rezultate privind influența prezenței alcoolului izopropilic în amestec. Comparativ cu proba control de calcar și cea tratată cu 100% agent de cuplare CoatO sil (Figura 31) prezența alcoolului izopropilic face ca aderența biofilmului să fie diminuată cu 3 unități logaritmice față de 2 unități pe care le înregistrează proba tratată cu 100% Coat O Sil.

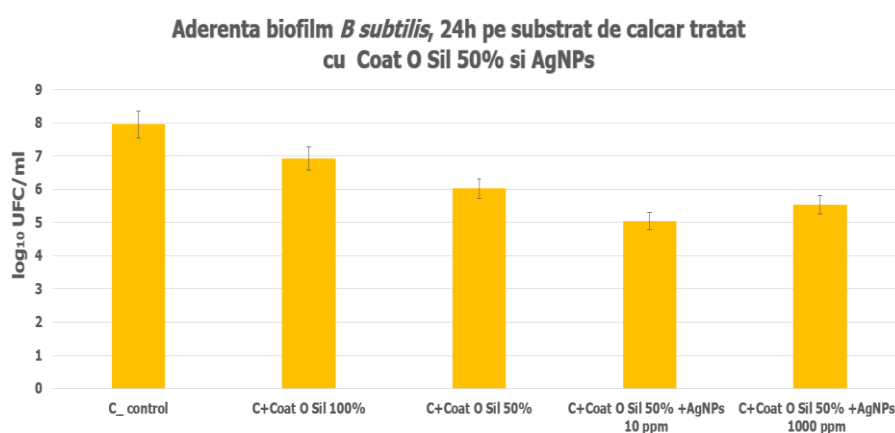


Figura 31 Grafic ce ilustrează capacitatea de aderență și fomarea biofilmului *B subtilis* pe substrat de calcar tratat cu 50% Coat O Sil și AgNPs concentrații de 10 și 1000 ppm

Tratamentul realizat cu amestec Coat O Sil 50% + alcool izopropilic (IPA) 50% (Figura 32) pe substrat de travertin a condus la rezultate diferite comparativ cu cele obținute la tratatrea substratului cu 100% Coat O Sil. Astfel, prezența alcoolului izopropilic face ca aderența biofilmului să fie diminuată cu 3 unități logaritmice la proba tratată cu AgNps 10 ppm și cu 3,5 unități logaritmice la proba tratată cu AgNPs 1000 ppm proba tratată cu 100% Coat O Sil.

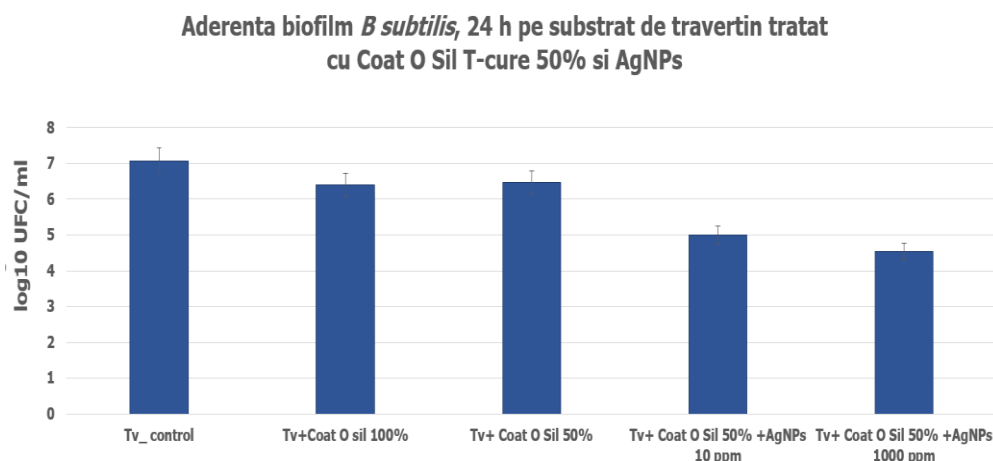


Figura 32 Grafic ce ilustrează capacitatea de aderență și formarea biofilmului *B subtilis* pe substrat de travertin tratat cu 50% Coat O Sil și AgNPs concentrații de 10 și 1000 ppm

IV.4.4 Activitatea antimicrobiană a AgNPs pe substraturile de piatră naturală tratate cu 3APTES comparativ cu tratarea 3APTES și iodura de metil (CH₃I)

Tratamentul substraturilor din piatră naturală cu un amestec format din 3APTES (agent de cuplare) și iodura de metil (CH₃I) prin care se urmărește tratarea cu compuși cuaternari de amoniu ce au rolul de produs biocid [62, 63]. Graficul (Figura 33) confirmă în prima etapă că amestecul 3APTES și iodura de metil au eficacitate înregistrând scăderea valorilor aderenței biofilm cu 2 unități logaritmice față de proba control.

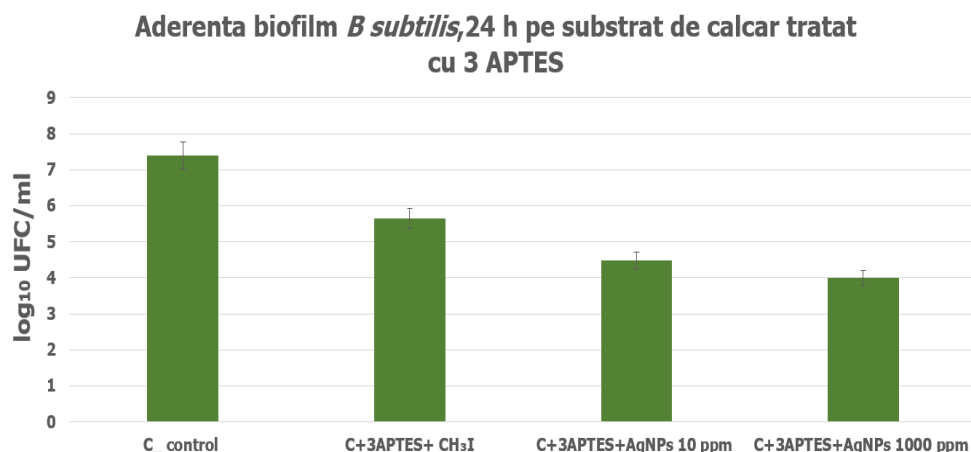


Figura 33 Grafic comparativ reprezentând aderența și formarea biofilmului *B subtilis* pe substrat de calcar tratat cu 3APTES și CH₃I respective 3APTES și AgNPs

IV.4.5 Activitatea antibiofilm a AgNPs aplicate pe substraturile de piatră naturală tratate cu agenți de cuplare și expuse la exterior timp de 3 luni

Tratarea substraturilor de piatră naturală cu agenții de cuplare 3 MPTMS și Coat O Sil și AgNPs urmată de expunerea acestora la exterior a urmărit determinarea rezistenței AgNPs în condiții exterioare. Astfel, materialele tratate cu AgNPs și agenții de cuplare evaluate anterior

au fost menținuți la exterior timp de 3 luni, și ulterior a fost evaluat din nou efectul lor antibiofilm, utilizând ca model tulpina *B subtilis*. Rezultatele obținute prin determinarea formării biofilmului *B subtilis*, la probele expuse la exterior, comparativ cu datele probelor obținute în laborator sunt expuse în grafice.

Analiza substratului de travertin tratat cu 3MPTMS și AgNPs expus la exterior din grafic (Figura 34) rezultă că datele sunt asemănătoare cu probele obținute și analizate anterior în laborator, imediat după tratament. Atât AgNPs 10 ppm cât și AgNPs 1000 ppm au arătat o scădere a aderenței biofilmului de aprox 1,5-1,8 unități logaritmice (Figura 34).

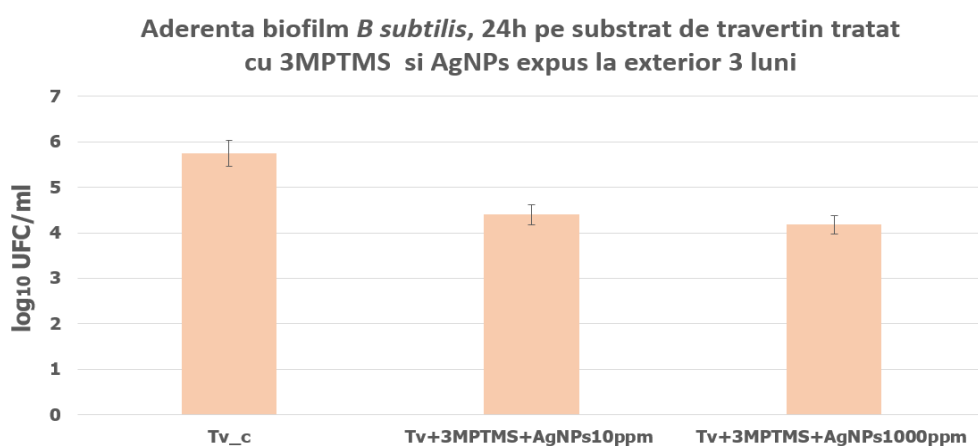


Figura 34 Grafic ce ilustrează aderența și formarea biofilmului *B subtilis* pe substrat de travertin tratat cu 3MPTMS și expus la exterior timp de 3 luni

Tratamentul substraturilor de piatră naturală cu agentul de cuplare Coat O Sil și expuse la exterior a condus la rezultate comparative (Figura 35) privind aderența biofilmului indiferent de concentrația AgNPs (Figura 35) și substratul tratat. Este posibil ca agentul de cuplare în ambele cazuri să adere pe suprafața tratată și să permită AgNPs să se fixeze corespunzător, indiferent de concentrația AgNPs și chiar de tipul de substrat. Prin urmare, studiile efectuate sugerează că acoperirile efectuate pe esantioanele de piatră naturală testate sunt stabile pentru cel puțin 3 luni, din punct de vedere al eficienței antimicrobiene și antibiofilm.

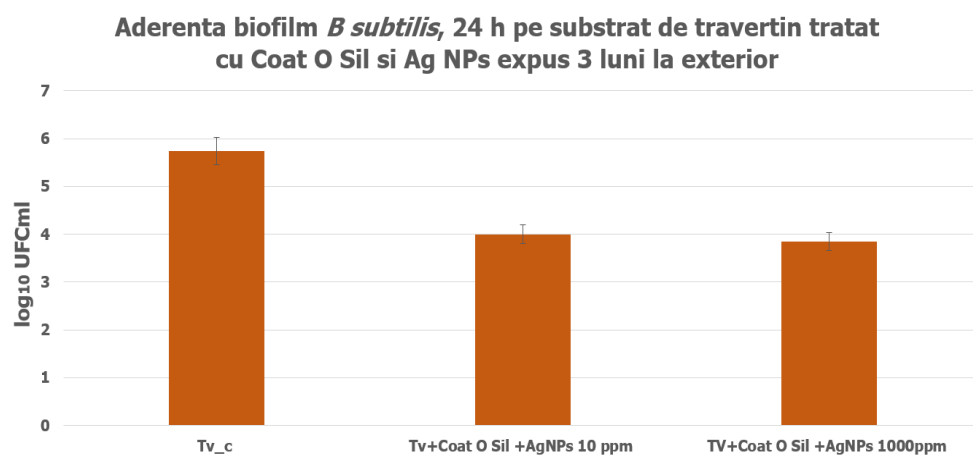


Figura 35 Grafic ce ilustrează aderența și formarea biofilmului *B subtilis* pe substrat de travertin tratat cu Coat O Sil și expus la exterior timp de 3 luni

V. CONCLUZII GENERALE

Sintezele chimice aplicate pentru obținerea AgNPs au condus la obținerea unor nanoparticule cu specificații diferite, morfologie diferită.

Sinteza chimică prin reducere de obținere AgNPs la temperatura mediului ambiant realizată prin variația agentului reducător borohidru de sodiu a condus la stabilirea unui raport optim între cei doi reducători în care se pot obține NPs cu dimensiuni de până la 10 nm și cu stabilitate în timp.

Sinteza pe cale chimică la temperatura mediului ambiant deși este ușor de aplicat, este mai puțin costisitoare ca timp și energie conduce la o anizotropie a AgNPs obținute pe când sinteza prin metoda solvotermală conduce la formarea de AgNPs cu forme sferice.

Sinteza prin metoda solvotermală cu obținere de AgNPs a confirmat că în intervalul de temperatură 200°C-220°C menținută în palier timp de 1-2h poate să conducă la formarea de NPs cu forme sferice și dimensiuni ale NPs ce nu depășesc valori mai mari de 10 nm.

Studiul activității antimicrobiene pentru toate variantele de sinteze au condus la rezultatul final că AgNPs obținute prin metoda solvotermal prezintă o activitate mai bună împotriva tuturor organismelor testate comparativ suspensiile de AgNPs obținute la temperatura mediului ambiant care prezintă activitate antimicrobiană împotriva organismelor gram pozitive *S aureus*.

Agentul de cuplare de tip 3APTES realizează o peliculă pe substratul tratat, indiferent de gradul de porozitate al acestuia, pe când ceilalți agenți de cuplare sunt parțial adsorbiți de pe

suprafață, păstrând aspectul substratului, comparativ cu proba etalon. Agenții de cuplare de tip 3 MPTMS și Coat O sil T cure pot fi recomandați în tratarea suprafețelor de patrimoniu deoarece aceștia nu modifică aspectul substratului.

Analizând agentul de cuplare de tip 3 MPTMS pe structurile mediu poroase acesta este mai puternic adsorbit și ar putea fi folosit într-o combinație directă cu AgNPs astfel încât procedeul de aplicare să fie mai rapid, și în același timp adsorbția la nivelul substratului să permită și pătrunderea AgNPs în structura internă a substratului. Acest lucru poate fi folosit, în special la tratamentele unde se încearcă chiar îndepărtarea biofilmului, agentul de cuplare fiind în acest caz și un transportor al nanoparticulelor cu acțiune antimicrobiană.

Analiza, prin comparație, a agentului de funcționalizare de tip Coat O Sil cu concentrație de 100% respectiv 50% în amestec cu alcool izopropilic aplicat pe substraturile de travertin și calcar conduce la concluzia că un produs cu o structură de polimer, vâscozitate mare, cum este cazul agentului de cuplare Coat O Sil fie utilizat cu 100% substanță activă sau în diluție ajută la fixarea AgNPs cu dimensiuni mari. Acest lucru ar putea conduce la ideea că putem fixa anumite nanoparticule cu dimensiuni mari a căror specificație antibacteriană este foarte bună și, astfel putem obține rezultate satisfăcătoare privind activitatea antimicrobiană.

Structurile poroase pot avea o adsorbție a agenților de cuplare de la suprafața substratului și încetinesc fixarea corespunzătoare a nanoparticulelor. Acest lucru poate fi evitat prin alegerea corespunzătoare a agenților de cuplare funcție de natura substratului. Natura substratului influențează modul de aderare a agentului de cuplare pe suprafața și determină o fixare mai bună sau medie a nanoparticulelor.

Activitatea antimicrobiană a AgNPs cu concentrația de 10 ppm fixate pe toate tipurile de piatră naturală este asemănătoare cu activitatea antimicrobiană a probelor obținute prin metoda solvothermală. Astfel, putem alege din punct de vedere economic, AgNPs cu concentrația de 10 ppm.

Analizele comparative realizate între agenții de cuplare diferiți au fost realizate pentru a stabili optimul privind tipul de agent de cuplare potrivit pentru un anumit tip de substrat de piatră naturală.

VI. PERSPECTIVE

Se va continua cercetarea privind alegerea potrivită a agentului de cuplare și mixarea cu nanoparticule de argint sau amestecuri de nanoparticule care dau un efect sinergic asupra suprafețelor tratate.

Se va continua activitatea de cercetare cu analiza substraturilor cu biofilm, în special pe substraturi ce provin de la monumentele istorice, clădiri ce trebuie curățate, îndepărtate straturile de biofilm și realizarea de protecție împotriva formării biofilmului

Se va continua cercetarea cu contaminarea probelor cu diverse tulpini sau biofilme prelevate de pe diverse substraturi expuse la exterior și apoi tratate cu AgNPs pentru a observa eficacitatea nanoparticulelor deja studiate.

Se va continua cercetarea comparativa folosind agenți de cuplare bi-modali sau chiar multi-modali pentru a fi identificați care dintre agenții de cuplare se răspund caracteristicilor substraturilor tratate și , astfel asigură un maximum de eficacitate în sistemul agent de cuplare –nanoparticule.

Se va continua cercetarea prin combinarea diverselor tipuri de nanoparticule care să asigure prin prezența lor atât activitatea antimicrobiană cât și auto-curățarea suprafețelor tratate.

Se va continua cercetarea prin analiza comparativă a AgNPs obținute prin sintezele menționate în prezenta lucrare și AgNPs obținut la scară industrială.

VII. LISTA PUBLICAȚIILOR

VII.1 Articole ISI

- ✓ **Liliana Marinescu**, Denisa Fikai, Ovidiu Oprea, Alexandru Marin, Anton Fikai, Ecaterina Andronescu, Alina-Maria Holban, *Optimized Synthesis Approaches of Metal Nanoparticles with Antimicrobial Applications*, Journal of Nanomaterials, vol. 2020, Article ID 6651207, 14 pages, 2020. **(FI 2,986)**
- ✓ **Liliana Marinescu**, Denisa Fikai, Anton Fikai, Ovidiu Oprea, Adrian Ionut Nicoara, Bogdan Stefan Vasile, Laura Boanta, Alexandru Marin, Ecaterina Andronescu, Alina-Maria Holban *Comparative Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Obtained by Wet Chemical Reduction and Solvothermal Methods* Int J Mol Sci 2022 May 26;23(11):5982.doi: 10.3390/ijms23115982. **(FI 5,60)**
- ✓ **Liliana Marinescu**, Ludmila Motelica, Denisa Fikai, Anton Fikai, Ovidiu Cristian Oprea, Ecaterina Andronescu, Alina-Maria Holban *A Two-Step Surface Modification*

Methodology for the Advanced Protection of a Stone Surface, Nanomaterials, DOI: [10.3390/nano14010068](https://doi.org/10.3390/nano14010068), 2023 (FI 5,3)

- ✓ Irina Gheorghe-Barbu, Viorica Maria Corbu, Corneliu Ovidiu Vrancianu, Ioana Cristina Marinas, Marcela Popa, Andreea Stefania Dumbrava, Mihai Nita-Lazar, Ionut Pecete, Andrei Alexandru Muntean, Mircea Ioan Popa, **Liliana Marinescu**, Denisa Ficai, Anton Ficai, Ilda Czobor Barbu *Phenotypic and Genotypic Characterization of Recently Isolated Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii Clinical and Aquatic Strains and Demonstration of Silver Nanoparticle Potency*. Microorganisms **2023**, vol(11), 2439 <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102439> (FI 4,5)
- ✓ Cornelia-Ioana Ilie, Angela Spoiala, Ludmila Motelica, **Liliana Marinescu**, Georgiana Dolete, Doina-Roxana Trusca, Ovidiu Cristian Oprea, Denisa Ficai, Anton Ficai *Decoration of a Glass Surface with Ag NPs Using Thio- Derivates for Environmental Applications*. Coatings 2024, pg 14/issue1//10.3390/coatings14010096 (FI 3,4)
- ✓ **Liliana Marinescu**, Cornelia Ioana Ilie, Denisa Ficai, Anton Ficai, Roxana Trusca, Ecaterina Andronescu, Alina-Maria Holban *Influence of nanotechnology for the treatment and protection of natural stone against biodeterioration*, Buletin Stiinfic UPB (BUL Sci) (in curs de acceptare).

Total FI 21,786 din care FI 13,886 articole cu prim autor

VIII. BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Spoiala, A., et al., *Toward Synthesis-derived applications of silver nanoparticles*. Advanced Materials and Technologies for Environmental Applications, 2020. **5**: p. 337-356.
2. Singh, P. and I. Mijakovic, *Antibacterial effect of silver nanoparticles is stronger if the production host and the targeted pathogen are closely related*. MDPI Biomedicines, 2022. **10**(3): p. 2-16.
3. Xu, L., et al., *Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety*. Theranostics, 2020. **10**(20): p. 8996-9031.
4. Ramsden, J., *Nanotechnology*. 2009: p. 19.
5. Aliofkharzaei, M., *Handbook of nanoparticles*. Springer International Publishing Switzerland, 2015: p. 22.
6. Heinz, H., et al., *Nanoparticle decoration with surfactants: Molecular interactions, assembly, and applications*. Surface Science Reports, 2017. **72**(1): p. 1-58.
7. Lu, K., *Nanoparticulate materials*. 2013 p. 1-21.
8. Bushan, B., *Handbook of nanotechnology*. Springer 2010 **3**: p. 12.
9. Ramanathan, S., et al., 2 - *Nanoparticle synthetic methods: strength and limitations*, in *Nanoparticles in Analytical and Medical Devices*, S.C.B. Gopinath and F. Gang, Editors. 2021, Elsevier. p. 31-43.
10. Sahoo, M., et al., *Nanotechnology: Current applications and future scope in food*. Food Frontiers, 2020. **2**(1): p. 3-22.
11. Santos, C.L., et al., *Nanomaterials with Antimicrobial Properties: Applications in Health Sciences*. Science, technology and education, 2013: p. 143-154.
12. Abbaszadegan, A., et al., *The Effect of Charge at the Surface of Silver Nanoparticles on Antimicrobial Activity against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria: A Preliminary Study*. Journal of Nanomaterials, 2015. **2015**: p. 1-8.
13. Burdusel, A.C., et al., *Biomedical Applications of Silver Nanoparticles: An Up-to-Date Overview*. Nanomaterials (Basel), 2018. **8**(9).
14. NAITO, M., et al., *Nanoparticle Technology Handbook*. 2018: p. 3-34.
15. Bergs, G., et al., *Polarized interference imaging of dense disordered plasmonic nanoparticle arrays for biosensor applications*. Physica Scripta, 2015. **90**(9).
16. Altammar, K.A., *A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges*. Front Microbiol, 2023. **14**: p. 1155622.
17. Yaqoob, A.A., K. Umar, and M.N.M. Ibrahim, *Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—a review*. Applied Nanoscience, 2020. **10**(5): p. 1369-1378.
18. Paladini, F. and M. Pollini, *Antimicrobial Silver Nanoparticles for Wound Healing Application: Progress and Future Trends*. MDPI materials 2019. **12**: p. 2-16.
19. Verma, P. and S.K. Maheshwari, *Applications of Silver nanoparticles in diverse sectors*. Int. J. Nano Dimens, 2019. **10**: p. 18-36.
20. Al-Issai, L., et al., *Use of Nanoparticles for the Disinfection of Desalinated Water*. MDPI Water, 2019. **11**: p. 20.
21. Marinescu, L., et al., *Comparative Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Obtained by Wet Chemical Reduction and Solvothermal Methods*. Int J Mol Sci, 2022. **23**(11): p. 24.
22. Amjadi, M., Z. Abolghasemi-Fakhri, and T. Hallaj, *Carbon dots-silver nanoparticles fluorescence resonance energy transfer system as a novel turn-on fluorescent probe for selective determination of cysteine*. Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry, 2015. **309**: p. 8-14.
23. Uttam, P., et al., *Nanotwinning: Generation, properties, and application*. Materials & Design, 2020. **192**.

24. Sierra-Fernandez, A., et al., *New nanomaterials for applications in conservation and restoration of stony materials: A review*. *Materiales des Construcción*, 2017. **67**: p. 18.
25. Hussain, C.M. and A.K. Mishra, *Nanotechnology in environmental science*. . 2018. **18**: p. 481-495.
26. Menazea, A.A. and M.K. Ahmed, *Synthesis and antibacterial activity of graphene oxide decorated by silver and copper oxide nanoparticles*. *Journal of Molecular Structure*, 2020. **1218**: p. 6.
27. Durán, N., et al., *Potential use of silver nanoparticles on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action*. *J. Braz. Chem. Soc*, 2010. **21**: p. 949-959.
28. Spirescu, V.A., et al., *Inorganic Nanoparticles and Composite Films for Antimicrobial Therapies*. *Int J Mol Sci*, 2021. **22**(9).
29. Balderrama-González, A.S., et al., *Antimicrobial Resistance and Inorganic Nanoparticles*. *Int J Mol Sci*, 2021. **22**(23).
30. Urnukhsaikh, E., et al., *Antibacterial activity and characteristics of silver nanoparticles biosynthesized from *Carduus crispus**. *Sci Rep*, 2021. **11**(1): p. 21047.
31. Khodashenas, B., et al., *Synthesis of silver nanoparticles with different shapes*. *Arabian Journal of Chemistry*, 2014: p. 16.
32. Swolana, D. and R.D. Wojtyczka, *Activity of Silver Nanoparticles against *Staphylococcus spp.** *Int J Mol Sci*, 2022. **23**(8): p. 16.
33. Salleh, A., et al., *The Potential of Silver Nanoparticles for Antiviral and Antibacterial Applications: A Mechanism of Action*. *Nanomaterials (Basel)*, 2020. **10**(8).
34. Shereen, M.A., et al., *COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses*. *J Adv Res*, 2020. **24**: p. 91-98.
35. Dorobantu, L., et al., *Toxicity of silver nanoparticles against bacteria, yeast, and algae*. *Journal of Nanoparticle Research*, 2015. **17**: p. 172.
36. Doehne, E. and C.A. Price, *Stone Conservation An Overview of Current Research*. 2010: p. 4.
37. Pinna, D., *Biofilms and lichens on stone monuments: do they damage or protect?* *Frontiers in Microbiology*, 2014. **5**: p. 3.
38. Marin, E., C. Vaccaro, and M. Leis, *Biotechnology applied to historic stoneworks conservation testing the potential harmfulness of two biological biocides*. *International Journal of Conservation Science*, 2016. **7**: p. 227-238.
39. Zhang, G., et al., *Biochemical reactions and mechanisms involved in the biodeterioration of stone world cultural heritage under the tropical climate conditions*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2019. **143**.
40. Zornoza-Indart, A. and P. Lopez-Arce, *Stone*. Woodhead Publishing Series in Civil and Structural Engineering, 2019: p. 59-88.
41. Rivera, L.E.C., et al., *Origin and control strategies of biofilms in the cultural heritage*. *IntechOpen*, 2018: p. 24.
42. Falk, N.A., *Surfactants as Antimicrobials: A Brief Overview of Microbial Interfacial Chemistry and Surfactant Antimicrobial Activity*. *J Surfactants Deterg*, 2019. **22**(5): p. 1119-1127.
43. Becerra, J., et al., *Nanoparticles Applied to Stone Buildings*. *International Journal of Architectural Heritage*, 2019: p. 16.
44. Bellissima, F., et al., *Antibacterial activity of silver nanoparticles grafted on stone surface*. *Research Gate*, 2013: p. 10.
45. Kumari, R., et al., *Regulation and safety measures for nanotechnology-based agri-products*. 2023. **5**.
46. Dong, P.V., et al., *Chemical synthesis and antibacterial activity of novel-shaped silver nanoparticles*. *Interntional Nano Letters*, 2012: p. 2-9.

47. Pulit-Prociak, J. and M. Banach, *Silver nanoparticles: synthesis through chemical methods in solution and biomedical applications*. Open Chem, 2016 **14**: p. 76-91.
48. Djafari, J., et al., *Exploring the Control in Antibacterial Activity of Silver Triangular Nanoplates by Surface Coating Modulation*. Front Chem, 2018. **6**: p. 677.
49. Aksomaityte, G., M. Poliakoff, and E. Lester, *The production and formulation of silver nanoparticles using continuous hydrothermal synthesis*. Chemical Engineering Science, 2013. **85**: p. 2-10.
50. Weiner, B., S. Suhnholtz, and F.D. Kopinke, *Hydrothermal Conversion of Triclosan-The Role of Activated Carbon as Sorbent and Reactant*. Environmental Science & Technology, 2017. **51**(3): p. 1649-1653.
51. Kim, D., S. Jeong, and JoohoMoon, *Synthesis of silver nanoparticles using the polyol process and the influence of precursor injection*. NANOTECHNOLOGY, 2006. **17**: p. 4019-4024.
52. Liang, H., et al., *Controlled synthesis of uniform silver nanospheres*. J.Phys. Chem 2010. **114**: p. 7427-7431.
53. Lia, J., Q. Wub, and J. Wuc, *Synthesis of nanoparticles via solvothermal and hydrothermal methods*. Handbook of Nanoparticles 2015: p. 28.
54. Fahmy, A., et al., *One-step synthesis of silver nanoparticles embedded with polyethylene glycol as thin films*. Journal of Adhesion Science and Technology, 2016. **31**(13): p. 1422-1440.
55. Zielinska, A., et al., *Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size*. Procedia Chemistry, 2009. **1**: p. 8.
56. Landage, S., A. Wasif, and P. Dhuppe, *Synthesis of nanosilver using chemical reduction methods*. International Journal of Advanced Research in Engineering and Applied Sciences, 2014. **3**: p. 9.
57. Raza, M.A., et al., *Size- and Shape-Dependent Antibacterial Studies of Silver Nanoparticles Synthesized by Wet Chemical Routes*. Nanomaterials, 2016. **6**: p. 15.
58. Javed, R., et al., *Role of capping agents in the application of nanoparticles in biomedicine and environmental remediation: recent trends and future prospects*. Journal of Nanobiotechnology, 2020. **18**(1): p. 172.
59. Atanasova, A., T. Hristova-Vasileva, and R.J.J.o.P.C.S. Todorov, *Influence of the molecular weight and concentration of PVP on the polyol synthesized silver nanoparticles*. Journal of Physics: Conference Series, 2021. **1762**.
60. Tracey, J.I., S. Aziz, and D.M. O'Carroll, *Investigation of the role of polyol molecular weight in the polyol synthesis of silver nanoparticles*. Materials Research Express, 2019. **6**(11): p. 115067.
61. Grzelczak, M., et al., *Silver Ions Direct Twin-Plane Formation during the Overgrowth of Single-Crystal Gold Nanoparticles*. ACS Omega, 2016. **1**(2): p. 177-181.
62. Rajkowska, K., et al., *Quaternary ammonium biocides as antimicrobial agents protecting historical wood and brick*. Acta Biochimica Polonica, 2015. **63**: p. 153-159.
63. Favero-Longo, S.E., et al., *Biocide efficacy and consolidant effect on the mycoflora of historical stuccos in indoor environment*. Journal of Cultural Heritage, 2018. **34**: p. 33-42.