

DIPARTIMENTO DI CHIMICA



**DELL'UNIVERSITA' DEGLI STUDI
DI FERRARA**

**ATTIVITA' FOTOCATALITICA
DI CAMPIONI Italvernici Srl**

Rapporto tecnico

Maggio 2006

Le prove di fotoattività sono state eseguite su aria addizionata con NO_x (NO+NO₂) in modo tale da simulare un plausibile grado di inquinamento atmosferico. La quantità di NO_x era di 0.6 ppm di cui 45% NO₂ e 55 % NO.

Le misure di NO_x, iniziali e a diversi tempi di irradiazione sono state eseguite usando una metodologia analitica basata sulla chemiluminescenza. Il campione in esame è posto in una camera di vetro Pyrex di 3 litri, attraverso la quale viene fatto fluire il gas di alimentazione a $5 \pm 10\%$ litri/min. Per l'illuminazione del campione è stata impiegata una lampada Vitalux della Osram.

La procedura sperimentale comprende:

- la misura della concentrazione iniziale degli ossidi di azoto prima di entrare nel reattore fotochimico (C_a);
- La concentrazione in uscita dal reattore fotochimico (C_b)

La procedura sopra riportata va ripetuta per le diverse situazioni sperimentali possibili:

- 1- in assenza del campione nel reattore, al buio
- 2- in presenza del campione nel reattore, al buio
- 3- in presenza del campione nel reattore, sotto irradiazione

Nel primo caso vengono verificate eventuali perdite dell'impianto; nel secondo caso, viene verificata l'entità dell'adsorbimento degli ossidi di azoto sulla superficie del campione.

Il calcolo percentuale della foto-conversione degli ossidi di azoto è quindi calcolabile da:

$$(\%) = [(C_a - C_b) / C_a] \times 100$$

per diversi tempi di reazione. I risultati sono riportati nelle tabelle seguenti comprendenti anche prove al buio che dimostrano un adsorbimento in assenza di illuminazione. Tale adsorbimento è principalmente dovuto a NO₂ poiché il contributo dell'adsorbimento di NO, esaminato separatamente, non è significativo. L'adsorbimento al buio di NO₂ risulta diverso per i diversi campioni analizzati poiché tale adsorbimento risponde all'area effettiva del campione.

NOTE

Dei diversi campioni esaminati, solo i campioni M (Aloe/110), P (Malva/140) e Q (Felce/150) presentano una elevata attività fotocatalitica.

I rimanenti campioni presentano scarsa attività che è in gran parte dovuta a fenomeni di adsorbimento, specialmente riguardante NO₂.

Campioni Esaminati

| Campione | Denominazione |
|-----------------|----------------------|
| M | ALOE/110 |
| N | EDERA/120 |
| O | ERICA/130 |
| P | MALVA/140 |
| Q | FELCE/150 |

Nelle Tabelle seguenti vengono riportati in dettaglio i risultati ottenuti.

PROVE CON IRRADIAZIONE

Campione M

| TEMPO (min) (luce) | NO_x (%) | NO₂ (%) | NO (%) |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| 10 | 43.4 | 23.4 | 53.7 |
| 30 | 72.4 | 50.0 | 86.1 |
| 60 | 89.6 | 77.3 | 97.2 |

Campione N

| TEMPO (min) (luce) | NO_x (%) | NO₂ (%) | NO (%) |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| 10 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | 3.2 | 3.5 | 2.5 |
| 60 | 8.1 | 4.5 | 10.0 |

Campione O

| TEMPO (min) (luce) | NO_x (%) | NO₂ (%) | NO (%) |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| 10 | 1.7 | 0 | 2.6 |
| 30 | 3.4 | 0.5 | 5.3 |
| 60 | 6.8 | 1.5 | 10.5 |

| |
|-------------------|
| Campione P |
|-------------------|

| TEMPO (min) (luce) | NO_x (%) | NO₂ (%) | NO (%) |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| 10 | 40.6 | 28.6 | 46.5 |
| 30 | 64.1 | 47.6 | 72.1 |
| 60 | 89.1 | 76.2 | 95.3 |

| |
|-------------------|
| Campione Q |
|-------------------|

| TEMPO (min) (luce) | NO_x (%) | NO₂ (%) | NO (%) |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| 10 | 15.0 | 3.5 | 28.1 |
| 30 | 46.7 | 21.4 | 68.8 |
| 60 | 70.0 | 42.8 | 93.8 |

DIPARTIMENTO DI CHIMICA



**DELL'UNIVERSITA' DEGLI STUDI
DI FERRARA**

**ATTIVITA' FOTOCATALITICA
DI CAMPIONI Italvernici Srl**

**Integrazione del Rapporto tecnico inviato nel mese di Maggio relativo
ai campioni
ALOE/110, MALVA/140, FELCE/150**

Giugno 2006

Ad integrazione della relazione inviata nel mese di maggio si inviano i grafici relativi ai campioni che presentano attività fotocatalitica M (ALOE/110), P (MALVA/140), Q (FELCE/150).
Vengono riportate le percentuali di abbattimento calcolate secondo la formula:

$$(\%) = [(C_a - C_b) / C_a] \times 100$$

dove C_a è la concentrazione iniziale e C_b sono le concentrazioni ai diversi tempi. Le concentrazioni iniziali (C_a) erano rispettivamente:

$$\text{NO}_x = 0.6 \text{ ppm}$$

$$\text{NO}_2 = 0.25 \text{ ppm}$$

$$\text{NO} = 0.35 \text{ ppm}$$

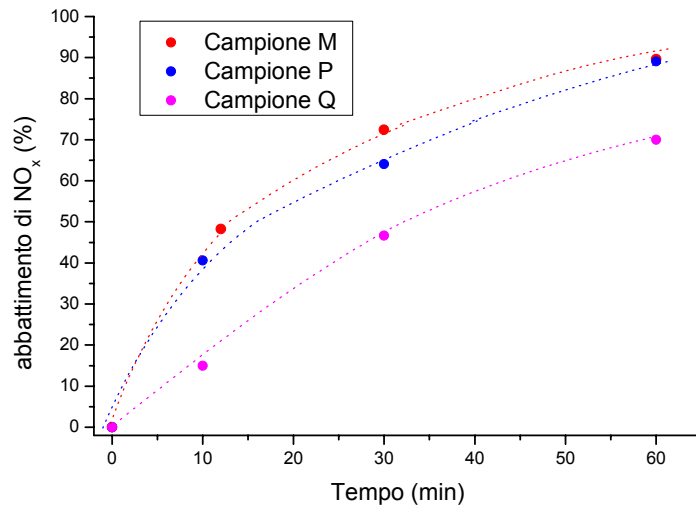


Fig. 1

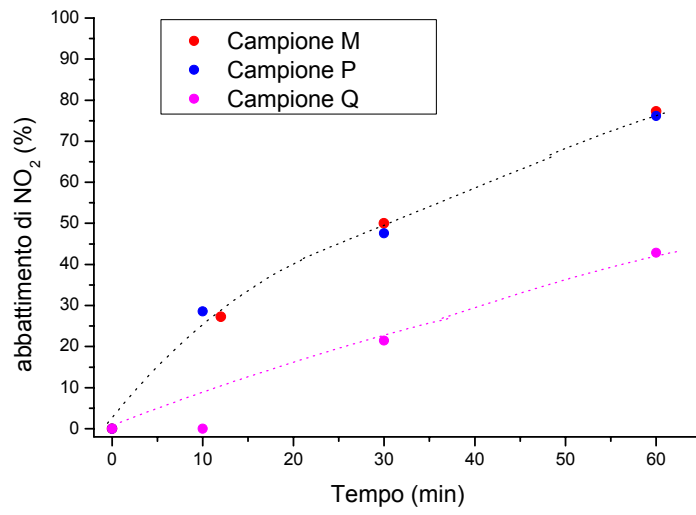


Fig. 2

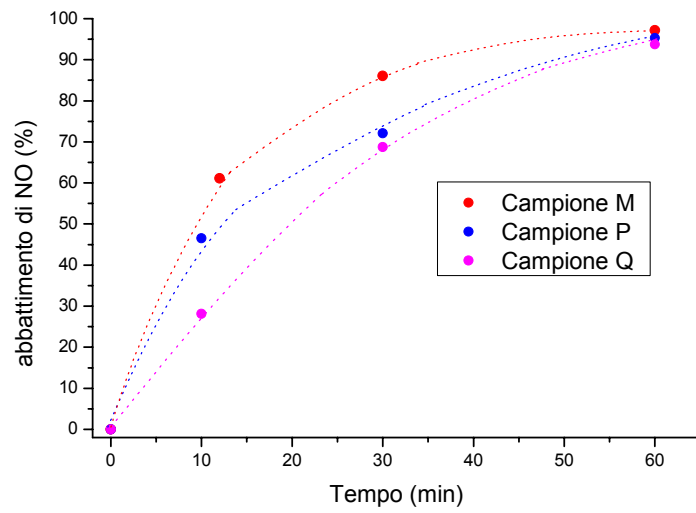


Fig. 3



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FERRARA

Sezione di **MICROBIOLOGIA**

Via Luigi Borsari 46 – 44100 FERRARA
Tel: 0532 291395-291397 Fax: 0532 247618 Partita IVA: 00434690384

Relazione sull'attività antibatterica
di vernici fornite da Italvernici S.r.l.

Ferrara, 10/07/06

Dalla società Italvernici srl, con sede in via Puntale 90, 56038 Ponsacco (Pisa), abbiamo ricevuto una serie di lastre di alluminio verniciate con vernici contenenti nano TiO_2 e contrassegnate con le lettere M, N, O, P, Q, allo scopo di determinarne l'attività antibatterica.

I risultati contenuti in questa relazione si riferiscono all'indagine dell'efficacia antibatterica delle 5 vernici M, N, O, P, Q nei confronti del ceppo batterico *Escherichia coli* (ATCC 10536). Sono state compiute 2 analisi per ogni vernice.

PROCEDURA SPERIMENTALE

1. SISTEMA DI SAGGIO

1.1 Microrganismi

Identificazione

E' stato utilizzato il seguente ceppo test:

Escherichia coli (ATCC 10536)

Centro di provenienza

I ceppi provengono dal Dipartimento di Medicina Sperimentale e Diagnostica, Sezione di Microbiologia, dell'Università di Ferrara.

2. TERRENI CULTURALI E REAGENTI

2.1 Tryptone Soya Agar (TSA)

2.2 Diluente

Triptone, digestione
pancreatica di caseina 1.0 g
NaCl 8.5 g
Acqua distillata q.b. 1000 ml

2.3 Acqua dura

L'acqua dura è costituita da:

Soluzione A 6.00 ml
Soluzione B 8.00 ml
Acqua distillata sterile q.b. 1000 ml

La soluzione A è costituita da:

MgCl₂ anidro 19.84 g
CaCl₂ 46.24 g
Acqua distillata q.b. 1000 ml
sterilizzata attraverso un filtro di 0.45 µm.

La soluzione B è costituita da:

NaHCO₃ 35.02 g
Acqua distillata 1000 ml
sterilizzata attraverso un filtro di 0.45 µm.

2.4 Sostanza interferente

La sostanza interferente utilizzata è stata preparata ad una concentrazione 10 volte maggiore rispetto alla concentrazione finale.

Albumina bovina 0.3%
Albumina bovina 3 g
Acqua distillata 100 ml
sterilizzata attraverso un filtro di 0.45 µm.

3. APPARECCHIATURA

- Stufa per la sterilizzazione a secco
- Autoclave a vapore
- Termostato
- pHmetro
- Agitatore Vortex
- Cronometro
- Micropipette
- Tamponi sterili
- Lampada UV

4. DISEGNO SPERIMENTALE

4.1 Campioni testati

Le vernici testate, poste su lastrina di alluminio, sono state contrassegnate con le lettere M-N-O-P-Q e corrispondono alle pitture indicate di seguito:

- vernice M, corrispondente alla pittura ALOE/110
- vernice N, corrispondente alla pittura EDERA/120
- vernice O, corrispondente alla pittura ERICA/130
- vernice P, corrispondente alla pittura MALVA/140
- vernice Q, corrispondente alla pittura FELCE/150

4.2 Temperatura del test

Il test è stato eseguito a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.3 Tempi di contatto

E' stato utilizzato il seguente tempo di contatto:

3 ore, in condizioni di irradiazione UVA.

4.4 Sostanze interferenti

E' stata utilizzata come sostanza interferente una soluzione di albumina bovina alla concentrazione finale dello 0.3%.

5. ESECUZIONE DEL SAGGIO

5.1 Saggio vero e proprio

Preparazione della sospensione test

1 ml di sospensione batterica, avente concentrazione compresa nell'intervallo 1.5×10^8 - 5.0×10^8 ufc/ml, è stata addizionata ad 1 ml di sostanze interferenti, ottenendo la sospensione test. 0.05 ml di sospensione test sono stati posti sui tasselli preventivamente trattati con vernice di controllo e vernice antibatterica. I supporti, posti all'interno di piastre Petri di vetro, sono stati sottoposti ad irraggiamento UVA a 37°C per un tempo pari a 3 ore. Al termine, si è provveduto a strofinare le superfici dei tasselli con tamponi sterili. Il tampone è stato quindi immerso in una provetta contenente 2 ml di terreno nutritizio (LB) e sottoposto ad agitazione. E' stata quindi valutata la carica batterica della sospensione così ottenuta (rappresentante la carica batterica residua su ogni tassello) attraverso opportune diluizioni e la semina in doppio per inclusione in piastre di agar. Dopo 12-16 ore di incubazione a 37°C, è stato registrato il numero di unità formanti colonia / piastra per ogni diluizione e si è risaliti alla carica batterica presente sui tasselli dopo il trattamento; è stato quindi calcolato il valore di **Nc** e **Nt**.

6. CALCOLO ED ESPRESSIONE DEI RISULTATI

6.1 Saggio vero e proprio

I valori di Nc e Nt sono stati calcolati utilizzando la seguente equazione:

$$N_c (N_t) = \log [\text{carica batterica residua su lastrina, espressa come ufc/ml}]$$

6.2 Attività antimicrobica

L'attività antimicrobica è stata espressa in 2 modi:

1) mediante il parametro ME che indica la differenza tra i logaritmi della carica batterica dei controlli e dei trattati, calcolata secondo la seguente formula:

$$ME = N_c - N_t$$

2) mediante la riduzione percentuale della carica batterica dopo trattamento UVA, rispetto ai controlli:

$$[\text{carica batterica trattati (Ufc/ml)} / \text{carica batterica controlli (Ufc/ml)} \times 100] - 1$$

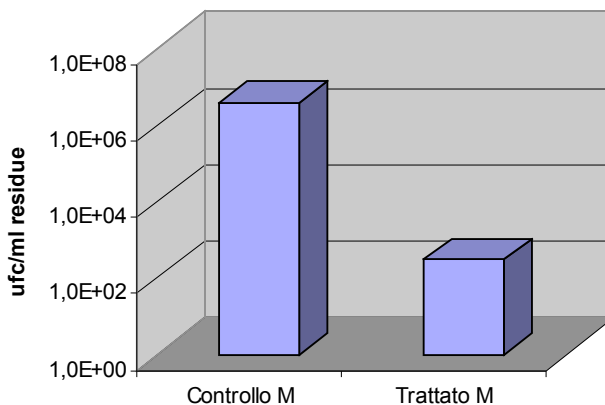
RISULTATI

I risultati riportati nella seguente tabella e nel grafico derivano dalla media dei risultati ottenuti da almeno 2 esperimenti per ogni vernice.

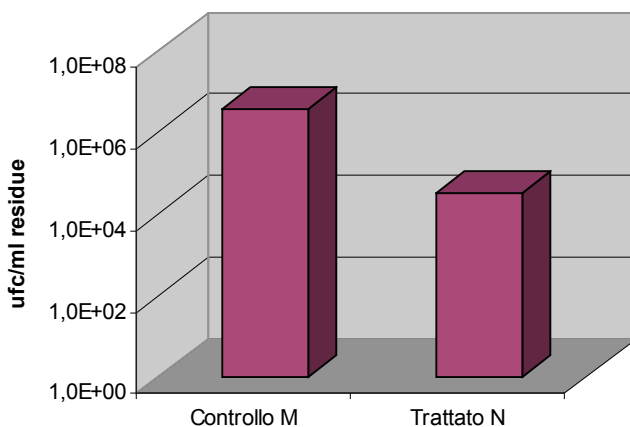
| Vernici al nano TiO ₂ VS E. coli | Vernici | | | | |
|---|---|---|---|--|---|
| | M (controllo M) | N (controllo M) | O (controllo M) | P (controllo M) | Q (controllo Q) |
| Ufc/ml di E.coli residue su lastrina dopo irraggiamento UVA (3h) | 3.03x10 ² (3.95x10 ⁶) | 3.26x10 ⁴ (3.95x10 ⁶) | 6.41x10 ⁴ (3.95x10 ⁶) | 4.79x10 ² (3.95x10 ⁶)* | 1.58x10 ² (6.36x10 ⁶) |
| Riduzione percentuale | - 100% | - 99% | - 98% | - 100% | - 100% |
| Riduzione logaritmica (ME) | 4.07 | 2.69 | 2.53 | 4.22 | 4.19 |

* il controllo P ha un valore pari a **3.25x10³**

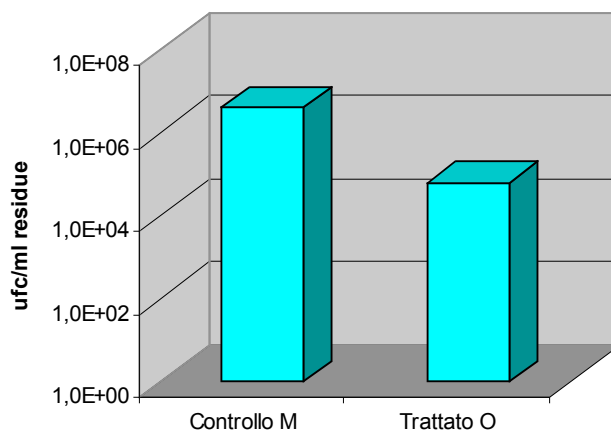
Campione M



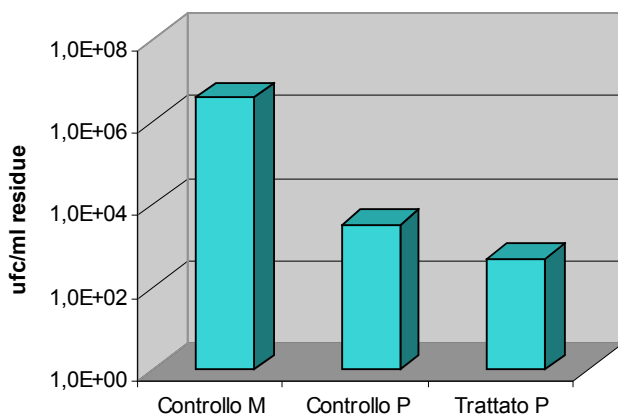
Campione N



Campione O



Campione P



Campione Q

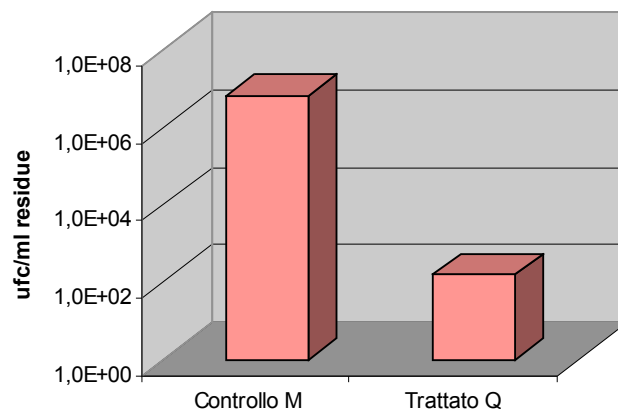


Figura 1. Grafici logaritmici della riduzione di vitalità di E. coli a contatto con la vernice trattata con nano TiO₂, a confronto con la vitalità di pari quantità di E. coli posto a contatto, per gli stessi tempi, con la vernice di controllo priva di nano TiO₂. I tempi di contatto sono di 3 ore, sotto irraggiamento UVA.

Si specifica quanto segue:

Per ciò che riguarda le vernici N-O-P i controlli sono esterni, vale a dire che come controlli sono stati utilizzati i controlli M, non disponendo dei controlli corrispondenti alle vernici citate. Per quanto riguarda la vernice P, i risultati non sono da attribuire unicamente all'azione del nano TiO₂ ma anche a quella della calce contenuta nella vernice. Infatti anche i controlli forniti hanno esplicitato una evidente azione battericida tale da non poter discriminare tra l'azione della calce e quella del TiO₂. Per poter dare una valutazione dell'apporto battericida del nano TiO₂ è necessario ridisegnare gli esperimenti e lavorare con concentrazioni batteriche più elevate.

CONCLUSIONI

Alla luce dei risultati ottenuti, è possibile concludere che tutte le vernici testate esplicano elevata attività battericida nei confronti di E. coli. Le vernici M e Q hanno dato i risultati migliori con una riduzione logaritmica di vitalità superiore a 4. Questo effetto è da imputare interamente al nano TiO₂ contenuto nelle vernici. Per quanto riguarda la vernice P, come già detto, l'effetto battericida del nano TiO₂ subisce l'interferenza dell'effetto battericida della calce, contenuta anche nella vernice di controllo. Di conseguenza si può concludere che la vernice P è battericida per un effetto combinato di calce e nano TiO₂. Infine le vernici N ed O hanno dimostrato un'importante attività battericida anche se è da notare che si sono utilizzati controlli esterni, cioè la loro attività anti-E. coli è stata confrontata con i risultati ottenuti con la vernice di controllo del campione M. Per una misura più precisa è necessario disporre di vernici di controllo N e O che abbiano composizione di base identica alle rispettive vernici "trattate" (cioè includenti nano TiO₂) e che differiscano da queste ultime unicamente per l'assenza di nano TiO₂.

Dr. Giacomo Carrà

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Diagnostica

Sezione di Microbiologia

Università degli Studi di Ferrara

Prof. Alfredo Corallini

Cattedra di Microbiologia

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Diagnostica

Sezione di Microbiologia

Università degli Studi di Ferrara

Ferrara, 10/07/2006