

**POLITECNICO DI MILANO**  
**Facoltà di Ingegneria dei Sistemi**  
**Corso di Laurea Specialistica in Ingegneria Biomedica**



**Modulazione della struttura e della morfologia di  
coating di Chitosano mediante deposizione catodica**

Relatore: Roberto Chiesa

Correlatori: Luigi De Nardo  
Lina Altomare

Tesi di laurea di:

Tiziana Pensato 734436

Anno accademico 2009-2010

# Sommario

## *Introduzione*

I trattamenti elettrochimici per le modifiche superficiali sono oggetto di molteplici studi e trovano ampia applicazione nel campo biomedicale, per la generazione di superfici con morfologie specifiche. I trattamenti elettrochimici consentono la formazione di depositi ad elevata purezza e spessore uniforme su substrati di forma complessa.

In base al meccanismo chimico che governa la cinetica del processo di elettrodeposizione si possono avere deposizioni di tipo elettroforetico e deposizioni di tipo elettrochimico. Sulla base di questi due meccanismi, si basano tre tipologie di elettrodeposizione:

- *Elettrodeposizione anodica (EDA)*;
- *Elettrodeposizione catodica (EDC)*;
- *Elettrodeposizione elettroforetica (EDE)*.

Questo lavoro di tesi si è occupato della deposizione catodica di chitosano in soluzione acquosa acida. Lo studio è stato condotto applicando la tecnica, per la modifica di superfici di titanio, depositando chitosano in soluzione acquosa acida. Il chitosano è un polimero insolubile in acqua e in solventi organici, ma la sua forma protonata può essere disciolta in acqua e in soluzioni di acqua-etanolo e di acqua-metanolo a basso pH e la protonazione dei gruppi amminici del chitosano può essere raggiunta in soluzioni acide. È questa la caratteristica che lo rende molto interessante, per la tecnica di elettrodeposizione catodica. Inoltre il chitosano ha molteplici proprietà, come la biocompatibilità, la biodegradabilità e proprietà antibatteriche, che lo rendono un materiale utilizzato ampiamente per applicazioni biomedicali.

In campo biomedicale, l'esigenza di poter modificare superfici che si interfacciano con i sistemi biologici e quindi poter controllare la

loro morfologia e struttura, è una prerogativa importante. In questo contesto, ha preso parte questo lavoro di tesi. Infatti, lo scopo dello studio è stato quello di controllare la morfologia del coating depositato, andando a variare i parametri che regolano il processo di elettrodeposizione catodica, in particolare, si sono studiati gli effetti dei seguenti parametri:

- tempo;
- pH e proticità della soluzione acida;
- tensione;
- densità di corrente.

Per ogni parametro si è effettuato uno studio di tipo quantitativo e morfologico del coating depositato.

## *Materiali e metodi*

### Materiali

Sono stati utilizzati dischetti di titanio (Ti) grado 2 C.P. (commercialmente puro) di diametro 15 mm e spessore 0.5 mm. I provini prima di essere utilizzati, sono stati prima decappati mediante etching in soluzione di acido nitrico  $\text{HNO}_3$  (30% v/v) e acido fluoridrico HF (10% v/v), per una migliore pulizia del campione.

Sono state preparate soluzioni elettrolitiche aventi concentrazione  $1\text{g L}^{-1}$  di chitosano, usano 3 tipi di acidi:

- acido monoprotico: acido acetico;
- acido diprotico: acido malonico;
- acido triprotico: acido fosforico.

Variando la concentrazione dell'acido, si sono ottenute soluzioni a differente pH.

### Deposizione catodica

La deposizione elettrochimica è stata effettuata utilizzando una cella elettrolitica, all'interno del quale è immerso il campione, mediante un afferraggio metallico; e due elettrodi di grafite, che fungono da anodo. L'anodo è quindi

collegato al morsetto negativo del potenziostato (modello BRV R1200 500 – 15, EUTRON, Italia) e il catodo al morsetto positivo. Il bagno elettrochimico è stato quindi posto in agitazione.

### Analisi morfologica e strutturale

La massa del *coating* di chitosano è stata misurata con una bilancia elettronica di precisione con risoluzione pari a 1 mg (Sartorius, FISOONS Instruments). La morfologia è stata invece osservata mediante microscopia in fluorescenza, dopo trattamento in fluorescina.

### Analisi statistica del diametro dei pori.

È stata condotta un'analisi statistica del diametro medio dei pori dei *coating* di chitosano attraverso le immagini ottenute al microscopio ottico in fluorescenza (*software LEICA application suite*). I risultati sono poi stati correlati con i parametri di processo in analisi.

## **Risultati e discussioni**

### Effetto del pH

In questo lavoro si è studiato l'effetto del pH sulla morfologia e sulla struttura del coating depositato catodicamente, utilizzando soluzioni di acido acetico e malonico  $1\text{g L}^{-1}$  di chitosano. Si è osservato che la massa del deposito aumenta al crescere del tempo di deposizione e all'aumentare del pH della soluzione acida utilizzata, sia per soluzioni di acido acetico (fig.1) che per quelle di acido malonico (fig.2).

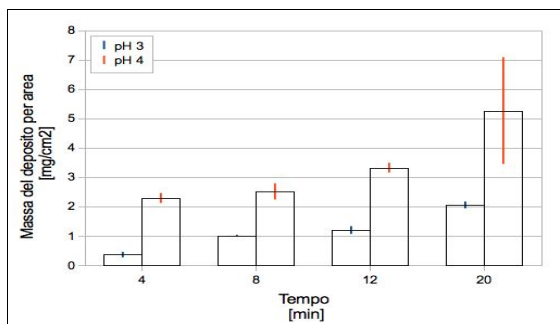


Fig.1- Andamento della massa al crescere del tempo di deposizione, per soluzione di acido acetico,  $1\text{g L}^{-1}$  di chitosano, a pH 3 e pH 4.

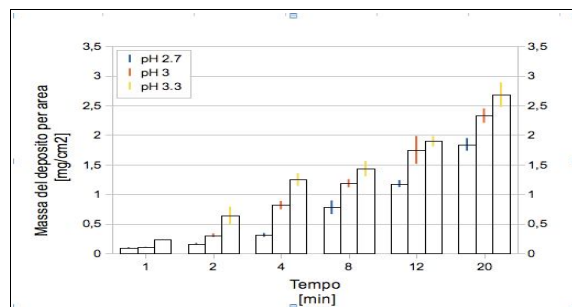


Fig.2- Andamento della massa al crescere del tempo di deposizione, per soluzione di acido malonico a pH 3 e pH 4.

Per quanto riguarda la morfologia del coating è stato osservato che per i coating ottenuti in soluzione di acido acetico, la porosità appare omogenea e chiusa per pH 3, mentre aperta per pH 4 (fig.3).

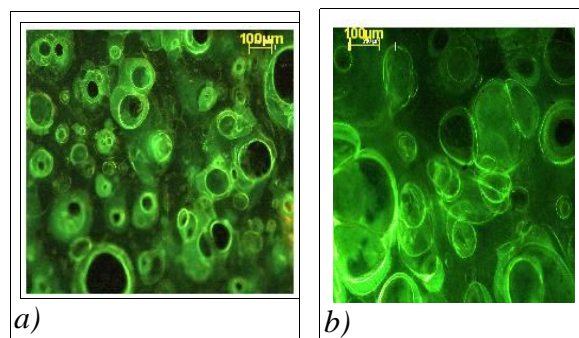


fig.3 – Immagini al microscopio in fluorescenza di campioni depositati in soluzione di acido acetico a pH 3(a) e pH4(b).

Mentre la morfologia dei coating ottenuti in soluzione di acido malonico, presentano una dimensione dei pori ridotta e prevalentemente chiusa. L'analisi statistica ha invece messo in luce un aumento della dimensione media dei pori all'aumentare del pH per soluzioni di acido acetico (fig.4). Mentre per l'acido malonico, l'andamento osservato è diverso, ossia la dimensione dei pori diminuisca all'aumentare del pH (fig.5). In particolare è possibile ottenere coating nel range tra 40-190  $\mu\text{m}$  per soluzioni di acido acetico e tra 20-90  $\mu\text{m}$ , per soluzioni di acido malonico.

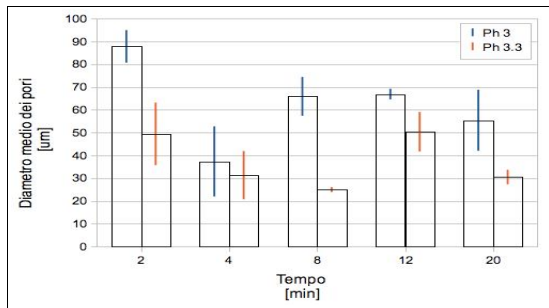


Fig. 4 - Grafico del diametro medio dei pori (µm) in funzione del tempo di deposizione, al variare del pH della soluzione di acido acetico.

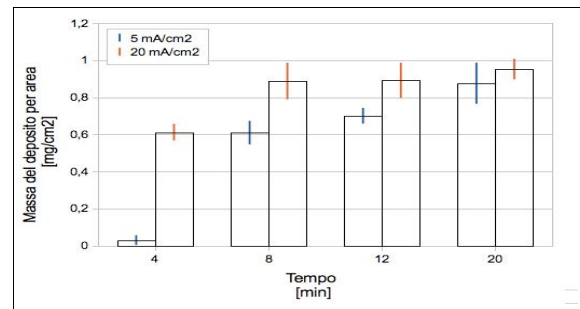


Fig. 7 - Andamento della massa del deposito in funzione del tempo e della densità di corrente applicata.

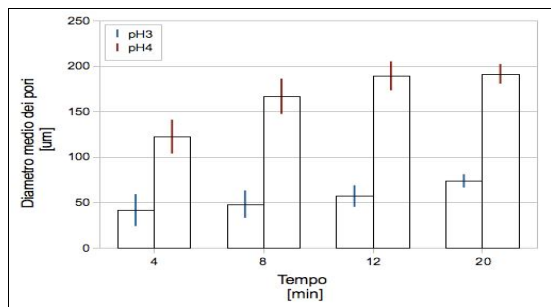


Fig. 5 - Grafico del diametro medio dei pori (µm) in funzione del tempo di deposizione, al variare del pH della soluzione di acido malonico.

### Effetti del potenziale applicato

E' stato studiato l'effetto del potenziale applicato sulla morfologia del coating per valori pari a 70V e 99,8V.

I risultati mostrano un aumento della massa depositata in corrispondenza di un aumento del tempo di deposizione e del potenziale applicato.

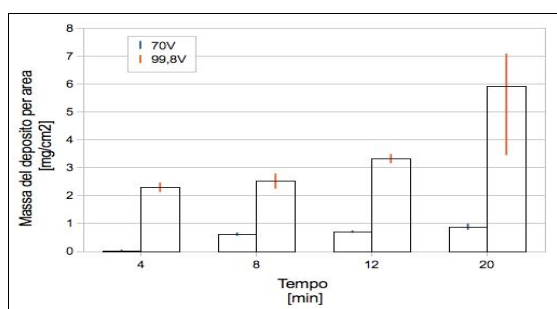


Fig. 6 - Andamento della massa del deposito per area, in funzione del tempo di deposizione e del potenziale applicato

### Effetto della densità di corrente

E' stato studiato l'effetto della densità di corrente, sulla morfologia del coating ed è stato osservato un aumento della massa del deposito all'aumentare della densità di corrente (fig.7).

## **Conclusioni**

In questo lavoro di tesi è stato dimostrato che è possibile modulare la morfologia e la porosità del coating, mediante elettrodeposizione catodica, su substrati di titanio, variando i parametri di processo.

A partire dagli studi trovati in letteratura, sono stati scelti i parametri che influiscono sul processo di deposizione e sono stati: il tempo di deposizione, il pH della soluzione, la tensione, la densità di corrente e la proticità della soluzione acida.

Dallo studio effettuato è emerso che all'aumentare dei parametri di tempo, pH, tensione e corrente si registra un aumento della massa del coating depositato. Mentre per quanto riguarda la proticità dell'acido, i risultati hanno dimostrato che all'aumentare della proticità vi è una diminuzione della massa depositata.

Questo ci permette di dire che la variazione dei parametri di processo, può permettere la modulazione dello spessore del coating depositato.

Per quanto riguarda l'analisi morfologica, è stato possibile osservare che è possibile ottenere strutture microporose, con dimensione dei pori variabile nel range compreso tra 40-190µm, usando soluzioni di acido acetico e nel range tra 20-90µm, usando soluzioni di acido malonico.

Questi risultati permettono di continuare gli studi riguardanti gli effetti dei parametri di processo dell'elettrodeposizione catodica, per modificare superfici, utilizzate in ambito biomedicale, a seconda delle esigenze morfologiche e strutturali specifiche, richieste dall'applicazione.

# Summary

## Introduction

Electrochemical treatments for surface reshaping have been subject of several studies throughout the years and are widely employed in biomedical treatment and for the generation of specific surface characteristics, in micro and nanoscale. Electrochemical treatments provide of high purity and high quality uniform layers over very complex shape substrates.

Depending on the chemical behind the electrodeposition process kinetics, thin layer deposition methods are classified in two main categories: electrolytic deposition and electrophoretic deposition.

On this mechanism get place

- Anodic Electrodeposition (AED);
- Cathodic Electrodeposition (CED);
- Electrophoretic Deposition (EPD).

The focus of this study is Cathodic Electrodeposition in aqueous acid solution.

This technique, used for titanium surfaces modification, involves the use of chitosan .

Chitosan is a polymer insoluble in water and in organic solvents, however, its protonated form is soluble in water, in ethanol-water and in low pH methanol-water solutions; the chitosan protonated form can be obtained in acidic solutions. This characteristic and some well

known properties, such as biocompatibility, biodegradability and antibacterial action, make of the chitosan a quite interesting material in the cathodic electrodeposition technique.

In the biomedical applications field, being able to modify the surfaces at the interface with biological systems and the control over their structure and morphology is a very important feature. This is the context in which this research work can be framed in.

Purpose of this work has been to study how the morphology and the properties of the coating are related to some critical process parameters; several experiments have been performed, changing one of the following parameters:

- time;
- pH and acid solution proticity;
- voltage;
- electrical current density.

Then, for each parameter, it has been performed a quantitative and morphological analysis of the coating, linking the results and the data collected to the change of the parameter itself.

## ***Materials, experiment setup and analysis methods***

### Materials

The experiments have been performed using round disks of Titanium (Ti) grade 2, C.P. (commercially pure) 15 mm of diameter and

0.5 mm of thickness. Prior the test, the samples have been de-primed by etching in nitric acid solution  $\text{HNO}_3$  (30% v/v) and then in fluoridric acid HF (10% v/v), in order to eliminate any trace of contaminants.

The test required the preparation of different electrolytic solutions with Chitosan at  $1\text{g L}^{-1}$  and three different types of acid:

- monoprotic acid: acetic acid;
- diprotic acid: malonic acid;
- triprotic acid: phosphoric acid.

For each choice of the acid, several solution have been prepared, using different acid concentrations, hence with different pH.

#### Cathodic deposition setup

The electrochemical depositions have been performed using an electrolytic cell, in which the sample was completely submerged and kept in position with a metallic clamp; the sample itself was working as the cell cathode and two graphite electrodes have been used as anode. The anode was then connected to the negative terminal of the potentiostat (model BRV R1200 500 – 15, EUTRON, Italy) and the cathode to the positive terminal. The electrochemical bath was kept in agitation.

#### Morphological and structural analysis

The mass of the chitosan *coating* has been measured using a precision electronic scale with  $1\text{mg}$  of resolution (Sartorius, FISIONS Instruments).

The morphological analysis has been performed using a fluorescence microscope, after the sample being treated with fluoresceine.

#### Statistical analysis of pores diameter

The images obtained at the fluorescence optical microscope (*software LEICA application suite*) have been used to perform a statistical analysis of the *coating* pores diameter.

The results have been then correlated with the process parameters for the specific test.

## **Results**

#### Impact of solution pH

The mass of the coating layer increase with the deposition time and the solution pH.

The results of the tests performed using acetic acid are shown in Fig.1 and the results obtained with malonic acid are shown in Fig.2.

The two test series show both the coating mass-time and mass-pH correlation.

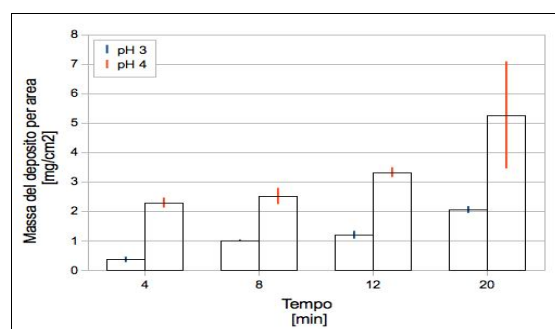


Fig.1- Deposit mass density vs deposition time results, for pH3 and a pH4 acetic acid solutions.

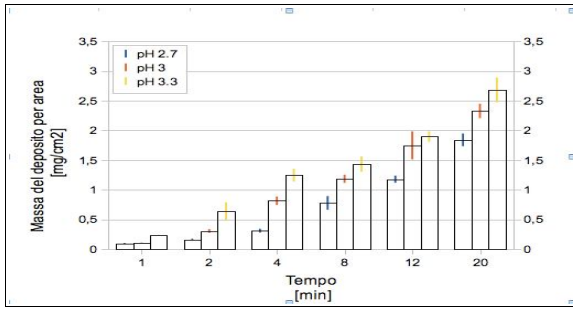


Fig.2- Deposit mass density vs deposition time results, for pH2.7, pH3 and pH3.3 malonic acid solutions.

The morphological analysis of the coating pores obtained with an acetic acid solution has shown that the porosity is homogeneous and open when a pH3 solution is used (Fig.3a); the coating pores appear instead to have an open morphology if a pH4 solution has been used (Fig.3b).

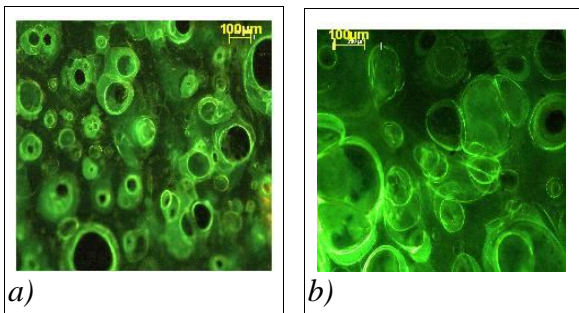


Fig.3 – Images of the samples coating pores at the fluorescence microscope. The samples have been deposited using a solution of acetic acid at pH3(a) and pH4(b).

The coating pores results to be of small and closed morphology, when the sample is deposited using malonic acid.

The statistical analysis of the results, has shown that the average pores diameter increase with the solution pH, when an acetic acid solution is used (Fig.4); when the deposition is performed using malonic acid, the coating pores diameter show an opposite behavior and the higher the solution pH, the smaller the pore diameters (Fig.5).

It is possible to obtain coating with pores in the 40-190µm range for acetic acid solutions and in the 20-90µm range for malonic acid solutions.

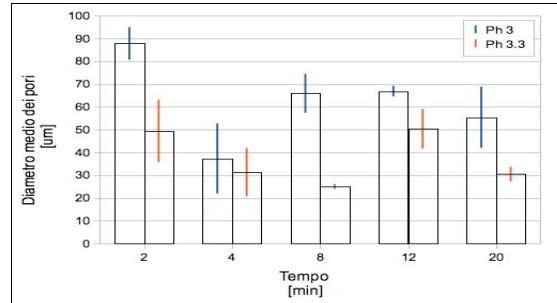


Fig.4 – Average pores diameter (µm) vs time, for pH3 and pH4 acetic acid solutions.

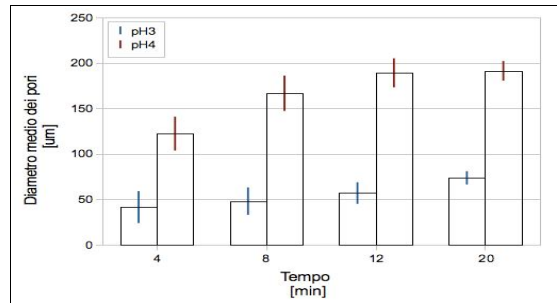


Fig.5 - Average pores diameter (µm) vs time, for pH3 and pH3.3 malonic acid solutions.

### Applied voltage effects

As depicted in Fig.6, results show a marked increase of the deposited mass as a greater potential is applied across the electrolytic cell. As expected, the mass also increases as a longer deposition is performed.

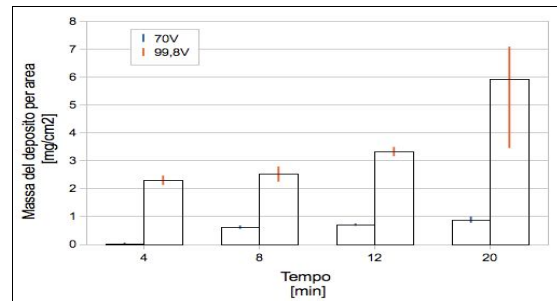


Fig. 6 - Deposit mass density vs deposition time and potential applied.

### Current density effects

In Fig.7 is shown the effect of the current density on the deposition process. Results show an increase of the deposit mass with the current density.

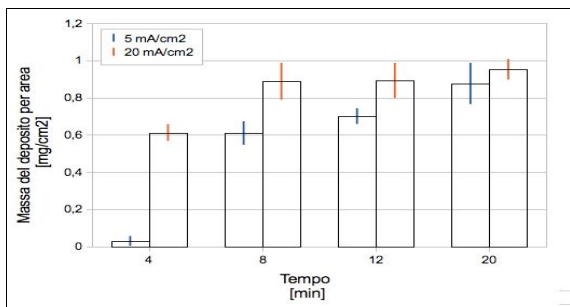


Fig. 7 - Deposit mass density vs deposition time and current density.

### **Conclusions**

This work demonstrates that it is possible to modulate the morphology and the porosity of the chitosan coating deposited by cathodic electrodeposition over titanium substrates, changing and optimizing the process parameters.

The literature available has been the starting point for the choice of the parameters under study: deposition time, solution pH, electrolytic cell voltage and current density, solution proticity.

The tests with different parameters setup put in evidence that an increase of the coating mass can be obtained by increasing one of the following: deposition time, solution pH, applied voltage, current density.

On the other hand, results show that the deposited coating mass decreases as a more

protic acid is used.

Questo ci permette di dire che la variazione dei parametri di processo, può permettere la modulazione dello spessore del coating depositato.

The morphological analysis of the coating demonstrates that it is possible to obtain microporose structures with pores diameter in the range of 40-190 $\mu$ m if an acetic acid solution is used and pores diameter in the range of 20-90 $\mu$ m with a malonic acid solution.

These results will allow further studies on the effects of the cathodic electrodeposition process parameters on the ability to reshape surfaces in the biomedical industry, as different morphological and structural requirements may arise.



# INDICE

## *Sommario*

## *Abstract*

## **1. Trattamenti catodici per la modifica delle superfici in applicazioni biomediche**

<b>1.1 Trattamenti elettrochimici per via catodica.....</b>	<b>2</b>
1.1.1 Deposizione elettrolitica (EDE) e deposizione elettroforetica (EDF).....	4
1.2 Deposizione elettrochimica per via catodica in applicazioni biomedicali.....	5
1.2.1 Meccanismi fisici alla base dell'elettrodeposizione.....	9
1.2.2 Parametri che influenzano il processo.....	11
1.2.2.1 Effetti del solvente.....	11
1.2.2.2 Effetti della densità di corrente.....	13
1.2.2.3 Effetti del tempo di deposizione.....	14
1.2.2.4 Effetti del potenziale applicato.....	15
1.3 Applicazioni dei coatings di chitosano ottenuti per elettrodeposizione catodica.....	16
1.3.1 Coating emocompatibili a base di idrossiapatite-eparina-chitosano.....	21
1.3.2 Coating con proprietà biologiche e meccaniche, a base di gelatina e chitosano .....	23
1.3.3 Coating ad azione antibatterica.....	24
 <i>Scopo del lavoro.....</i>	 <b>25</b>

<b>2. Materiali e metodi.....</b>	<b>26</b>
<b>2.1 Provini di titanio.....</b>	<b>26</b>
2.1.1 Procedura di decapaggio.....	26
<b>2.2 Soluzioni elettrolitiche di chitosano utilizzate per la deposizione.....</b>	<b>27</b>
2.2.1 Procedura di preparazione.....	27
<b>2.3 Procedura sperimentale: elettrodeposizione catodica.....</b>	<b>28</b>
2.3.1 Primo set-up sperimentale.....	29
2.3.1.1 Procedura sperimentale.....	30

2.3.2	Secondo setup sperimentale: ottimizzazione procedura sperimentale.....	31
2.3.2.1	Procedura sperimentale.....	32
<b>2.4</b>	<b>Metodi di analisi macroscopica e morfologica delle matrici depositate.....</b>	<b>33</b>
2.4.1	Peso dei depositi.....	33
2.4.2	Micrografia ottica.....	34
<b>2.5</b>	<b>Analisi statistica del diametro dei pori del film di chitosano.....</b>	<b>35</b>

### **3. Risultati**

<b>3.1</b>	<b>Confronto tra i due setup sperimentali utilizzati per l' EDC.....</b>	<b>36</b>
3.1.1.	Peso dei depositi.....	37
3.1.2.	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	38
<b>3.2</b>	<b>Elettrodeposizione catodica in soluzioni elettrolitiche di chitosano al variare del pH.....</b>	<b>42</b>
3.2.1	Deposizione in soluzione di acido acetico.....	42
3.2.1.1.	Peso dei depositi.....	42
3.2.1.2.	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	43
3.2.1.3	Analisi statistica del diametro dei pori.....	47
3.2.2	Deposizione in soluzione di acido malonico.....	48
3.2.2.1.	Peso dei depositi.....	48
3.2.2.2.	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	49
3.2.2.3	Analisi statistica del diametro dei pori.....	56
<b>3.3</b>	<b>Elettrodeposizione catodica al variare della tensione limite.....</b>	<b>56</b>
3.3.1.	Deposizione in soluzione di acido acetico.....	57
3.3.1.1.	Peso dei depositi.....	57
3.3.1.2.	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	58
3.3.2.3	Analisi statistica del diametro dei pori.....	62
<b>3.4</b>	<b>Elettrodeposizione catodica al variare della densità di corrente.....</b>	<b>62</b>
3.4.1.	Deposizione in soluzione di acido acetico.....	62
3.4.1.1.	Peso dei depositi.....	63
3.4.1.2.	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	63
3.4.2.3	Analisi statistica del diametro dei pori.....	68
<b>3.5</b>	<b>Elettrodeposizione catodica al variare della proticità dell'acido in soluzione.....</b>	<b>68</b>
3.5. 1	Peso dei depositi.....	69
3.5.2	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	69
3.5.3	Analisi statistica del diametro dei pori.....	75

<b>4. <i>Discussione dei risultati</i></b> .....	<b>76</b>
4.1 Effetto del pH.....	76
4.1.1 Deposizione in acido acetico.....	76
4.1.2 Deposizione in acido malonico.....	80
4.2 Effetto del potenziale applicato.....	83
4.3 Effetto della densità di corrente.....	84
4.4 Effetto della proticità della soluzione acida usata come solvente.....	85
<b>5. Conclusioni</b> .....	<b>88</b>
<b>6. Bibliografia</b> .....	<b>89</b>

**POLITECNICO DI MILANO**  
**Facoltà di Ingegneria dei Sistemi**  
**Corso di Laurea Specialistica in Ingegneria Biomedica**



**Modulazione della struttura e della morfologia di  
coating di Chitosano mediante deposizione catodica**

Relatore: Roberto Chiesa

Correlatori: Luigi De Nardo  
Lina Altomare

Tesi di laurea di:

Tiziana Pensato 734436

Anno accademico 2009-2010

# Sommario

## *Introduzione*

I trattamenti elettrochimici per le modifiche superficiali sono oggetto di molteplici studi e trovano ampia applicazione nel campo biomedicale, per la generazione di superfici con morfologie specifiche. I trattamenti elettrochimici consentono la formazione di depositi ad elevata purezza e spessore uniforme su substrati di forma complessa.

In base al meccanismo chimico che governa la cinetica del processo di elettrodeposizione si possono avere deposizioni di tipo elettroforetico e deposizioni di tipo elettrochimico. Sulla base di questi due meccanismi, si basano tre tipologie di elettrodeposizione:

- *Elettrodeposizione anodica (EDA)*;
- *Elettrodeposizione catodica (EDC)*;
- *Elettrodeposizione elettroforetica (EDE)*.

Questo lavoro di tesi si è occupato della deposizione catodica di chitosano in soluzione acquosa acida. Lo studio è stato condotto applicando la tecnica, per la modifica di superfici di titanio, depositando chitosano in soluzione acquosa acida. Il chitosano è un polimero insolubile in acqua e in solventi organici, ma la sua forma protonata può essere disciolta in acqua e in soluzioni di acqua-etanolo e di acqua-metanolo a basso pH e la protonazione dei gruppi amminici del chitosano può essere raggiunta in soluzioni acide. È questa la caratteristica che lo rende molto interessante, per la tecnica di elettrodeposizione catodica. Inoltre il chitosano ha molteplici proprietà, come la biocompatibilità, la biodegradabilità e proprietà antibatteriche, che lo rendono un materiale utilizzato ampiamente per applicazioni biomedicali.

In campo biomedicale, l'esigenza di poter modificare superfici che si interfacciano con i sistemi biologici e quindi poter controllare la

loro morfologia e struttura, è una prerogativa importante. In questo contesto, ha preso parte questo lavoro di tesi. Infatti, lo scopo dello studio è stato quello di controllare la morfologia del coating depositato, andando a variare i parametri che regolano il processo di elettrodeposizione catodica, in particolare, si sono studiati gli effetti dei seguenti parametri:

- tempo;
- pH e proticità della soluzione acida;
- tensione;
- densità di corrente.

Per ogni parametro si è effettuato uno studio di tipo quantitativo e morfologico del coating depositato.

## *Materiali e metodi*

### Materiali

Sono stati utilizzati dischetti di titanio (Ti) grado 2 C.P. (commercialmente puro) di diametro 15 mm e spessore 0.5 mm. I provini prima di essere utilizzati, sono stati prima decappati mediante etching in soluzione di acido nitrico  $\text{HNO}_3$  (30% v/v) e acido fluoridrico HF (10% v/v), per una migliore pulizia del campione.

Sono state preparate soluzioni elettrolitiche aventi concentrazione  $1\text{g L}^{-1}$  di chitosano, usano 3 tipi di acidi:

- acido monoprotico: acido acetico;
- acido diprotico: acido malonico;
- acido triprotico: acido fosforico.

Variando la concentrazione dell'acido, si sono ottenute soluzioni a differente pH.

### Deposizione catodica

La deposizione elettrochimica è stata effettuata utilizzando una cella elettrolitica, all'interno del quale è immerso il campione, mediante un afferraggio metallico; e due elettrodi di grafite, che fungono da anodo. L'anodo è quindi

collegato al morsetto negativo del potenziostato (modello BRV R1200 500 – 15, EUTRON, Italia) e il catodo al morsetto positivo. Il bagno elettrochimico è stato quindi posto in agitazione.

### Analisi morfologica e strutturale

La massa del *coating* di chitosano è stata misurata con una bilancia elettronica di precisione con risoluzione pari a 1 mg (Sartorius, FISOONS Instruments). La morfologia è stata invece osservata mediante microscopia in fluorescenza, dopo trattamento in fluorescina.

### Analisi statistica del diametro dei pori.

È stata condotta un'analisi statistica del diametro medio dei pori dei *coating* di chitosano attraverso le immagini ottenute al microscopio ottico in fluorescenza (*software LEICA application suite*). I risultati sono poi stati correlati con i parametri di processo in analisi.

## **Risultati e discussioni**

### Effetto del pH

In questo lavoro si è studiato l'effetto del pH sulla morfologia e sulla struttura del coating depositato catodicamente, utilizzando soluzioni di acido acetico e malonico  $1\text{g L}^{-1}$  di chitosano. Si è osservato che la massa del deposito aumenta al crescere del tempo di deposizione e all'aumentare del pH della soluzione acida utilizzata, sia per soluzioni di acido acetico (fig.1) che per quelle di acido malonico (fig.2).

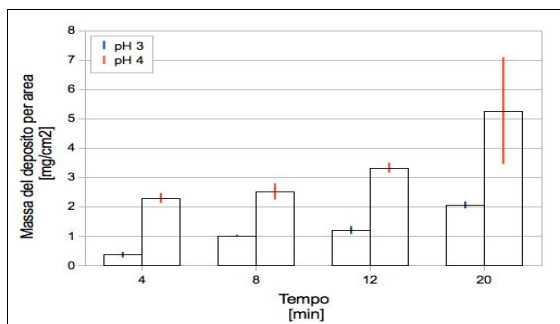


Fig.1- Andamento della massa al crescere del tempo di deposizione, per soluzione di acido acetico,  $1\text{g L}^{-1}$  di chitosano, a pH 3 e pH 4.

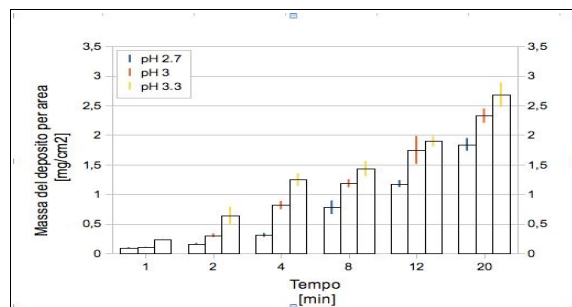


Fig.2- Andamento della massa al crescere del tempo di deposizione, per soluzione di acido malonico a pH 3 e pH 4.

Per quanto riguarda la morfologia del coating è stato osservato che per i coating ottenuti in soluzione di acido acetico, la porosità appare omogenea e chiusa per pH 3, mentre aperta per pH 4 (fig.3).

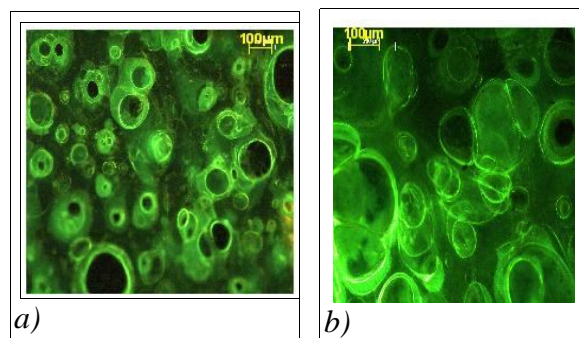


fig.3 – Immagini al microscopio in fluorescenza di campioni depositati in soluzione di acido acetico a pH 3(a) e pH4(b).

Mentre la morfologia dei coating ottenuti in soluzione di acido malonico, presentano una dimensione dei pori ridotta e prevalentemente chiusa. L'analisi statistica ha invece messo in luce un aumento della dimensione media dei pori all'aumentare del pH per soluzioni di acido acetico (fig.4). Mentre per l'acido malonico, l'andamento osservato è diverso, ossia la dimensione dei pori diminuisca all'aumentare del pH (fig.5). In particolare è possibile ottenere coating nel range tra 40-190  $\mu\text{m}$  per soluzioni di acido acetico e tra 20-90  $\mu\text{m}$ , per soluzioni di acido malonico.

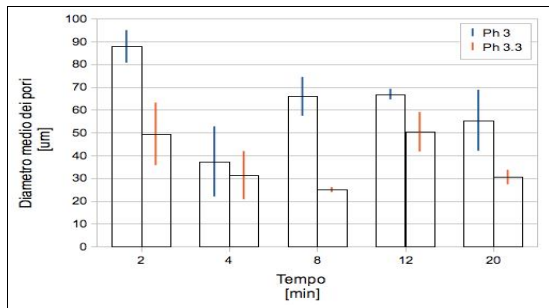


Fig. 4 - Grafico del diametro medio dei pori (mm) in funzione del tempo di deposizione, al variare del pH della soluzione di acido acetico.

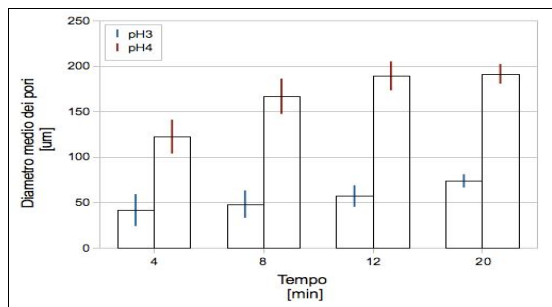


Fig. 5 - Grafico del diametro medio dei pori (µm) in funzione del tempo di deposizione, al variare del pH della soluzione di acido malonico.

### Effetti del potenziale applicato

E' stato studiato l'effetto del potenziale applicato sulla morfologia del coating per valori pari a 70V e 99,8V.

I risultati mostrano un aumento della massa depositata in corrispondenza di un aumento del tempo di deposizione e del potenziale applicato.

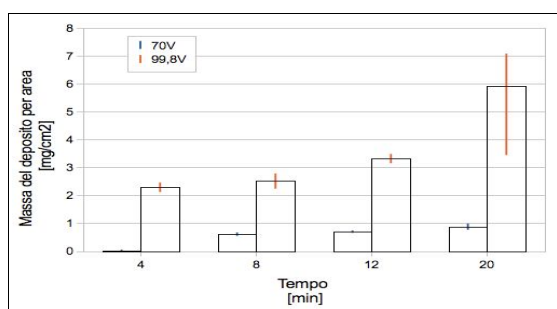


Fig. 6 - Andamento della massa del deposito per area, in funzione del tempo di deposizione e del potenziale applicato

### Effetto della densità di corrente

E' stato studiato l'effetto della densità di corrente, sulla morfologia del coating ed è stato osservato un aumento della massa del deposito all'aumentare della densità di corrente (fig.7).

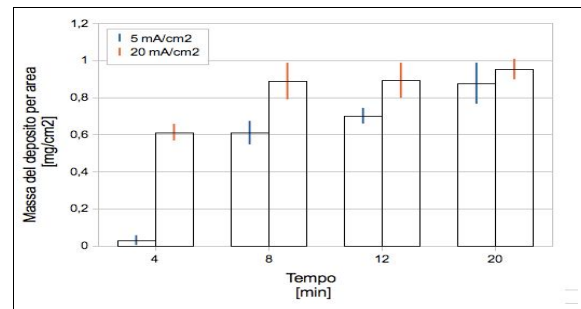


Fig. 7 - Andamento della massa del deposito in funzione del tempo e della densità di corrente applicata.

## **Conclusioni**

In questo lavoro di tesi è stato dimostrato che è possibile modulare la morfologia e la porosità del coating, mediante elettrodeposizione catodica, su substrati di titanio, variando i parametri di processo.

A partire dagli studi trovati in letteratura, sono stati scelti i parametri che influiscono sul processo di deposizione e sono stati: il tempo di deposizione, il pH della soluzione, la tensione, la densità di corrente e la proticità della soluzione acida.

Dallo studio effettuato è emerso che all'aumentare dei parametri di tempo, pH, tensione e corrente si registra un aumento della massa del coating depositato. Mentre per quanto riguarda la proticità dell'acido, i risultati hanno dimostrato che all'aumentare della proticità vi è una diminuzione della massa depositata.

Questo ci permette di dire che la variazione dei parametri di processo, può permettere la modulazione dello spessore del coating depositato.

Per quanto riguarda l'analisi morfologica, è stato possibile osservare che è possibile ottenere strutture microporose, con dimensione dei pori variabile nel range compreso tra 40-190µm, usando soluzioni di acido acetico e nel range tra 20-90µm, usando soluzioni di acido malonico.

Questi risultati permettono di continuare gli studi riguardanti gli effetti dei parametri di processo dell'elettrodeposizione catodica, per modificare superfici, utilizzate in ambito biomedicale, a seconda delle esigenze morfologiche e strutturali specifiche, richieste dall'applicazione.

# Summary

## Introduction

Electrochemical treatments for surface reshaping have been subject of several studies throughout the years and are widely employed in biomedical treatment and for the generation of specific surface characteristics, in micro and nanoscale. Electrochemical treatments provide of high purity and high quality uniform layers over very complex shape substrates.

Depending on the chemical behind the electrodeposition process kinetics, thin layer deposition methods are classified in two main categories: electrolytic deposition and electrophoretic deposition.

On this mechanism get place

- Anodic Electrodeposition (AED);
- Cathodic Electrodeposition (CED);
- Electrophoretic Deposition (EPD).

The focus of this study is Cathodic Electrodeposition in aqueous acid solution.

This technique, used for titanium surfaces modification, involves the use of chitosan .

Chitosan is a polymer insoluble in water and in organic solvents, however, its protonated form is soluble in water, in ethanol-water and in low pH methanol-water solutions; the chitosan protonated form can be obtained in acidic solutions. This characteristic and some well

known properties, such as biocompatibility, biodegradability and antibacterial action, make of the chitosan a quite interesting material in the cathodic electrodeposition technique.

In the biomedical applications field, being able to modify the surfaces at the interface with biological systems and the control over their structure and morphology is a very important feature. This is the context in which this research work can be framed in.

Purpose of this work has been to study how the morphology and the properties of the coating are related to some critical process parameters; several experiments have been performed, changing one of the following parameters:

- time;
- pH and acid solution proticity;
- voltage;
- electrical current density.

Then, for each parameter, it has been performed a quantitative and morphological analysis of the coating, linking the results and the data collected to the change of the parameter itself.

## ***Materials, experiment setup and analysis methods***

### Materials

The experiments have been performed using round disks of Titanium (Ti) grade 2, C.P. (commercially pure) 15 mm of diameter and



0.5 mm of thickness. Prior the test, the samples have been de-primed by etching in nitric acid solution  $\text{HNO}_3$  (30% v/v) and then in fluoridric acid HF (10% v/v), in order to eliminate any trace of contaminants.

The test required the preparation of different electrolytic solutions with Chitosan at  $1\text{g L}^{-1}$  and three different types of acid:

- monoprotic acid: acetic acid;
- diprotic acid: malonic acid;
- triprotic acid: phosphoric acid.

For each choice of the acid, several solution have been prepared, using different acid concentrations, hence with different pH.

#### Cathodic deposition setup

The electrochemical depositions have been performed using an electrolytic cell, in which the sample was completely submerged and kept in position with a metallic clamp; the sample itself was working as the cell cathode and two graphite electrodes have been used as anode. The anode was then connected to the negative terminal of the potentiostat (model BRV R1200 500 – 15, EUTRON, Italy) and the cathode to the positive terminal. The electrochemical bath was kept in agitation.

#### Morphological and structural analysis

The mass of the chitosan *coating* has been measured using a precision electronic scale with 1mg of resolution (Sartorius, FISIONS Instruments).

The morphological analysis has been performed using a fluorescence microscope, after the sample being treated with fluoresceine.

#### Statistical analysis of pores diameter

The images obtained at the fluorescence optical microscope (*software LEICA application suite*) have been used to perform a statistical analysis of the *coating* pores diameter.

The results have been then correlated with the process parameters for the specific test.

## **Results**

#### Impact of solution pH

The mass of the coating layer increase with the deposition time and the solution pH.

The results of the tests performed using acetic acid are shown in Fig.1 and the results obtained with malonic acid are shown in Fig.2.

The two test series show both the coating mass-time and mass-pH correlation.

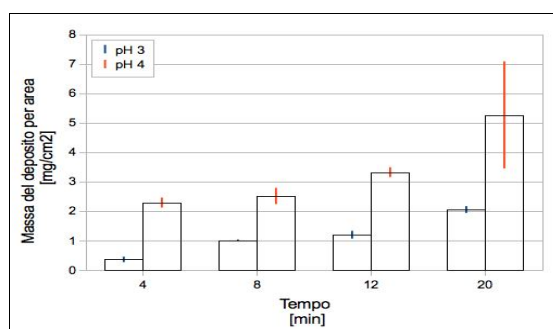


Fig.1- Deposit mass density vs deposition time results, for pH3 and a pH4 acetic acid solutions.

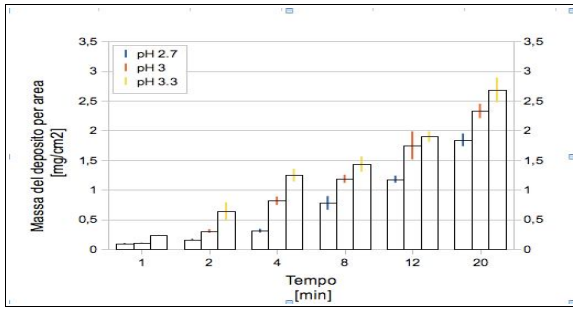


Fig.2- Deposit mass density vs deposition time results, for pH2.7, pH3 and pH3.3 malonic acid solutions.

The morphological analysis of the coating pores obtained with an acetic acid solution has shown that the porosity is homogeneous and open when a pH3 solution is used (Fig.3a); the coating pores appear instead to have an open morphology if a pH4 solution has been used (Fig.3b).

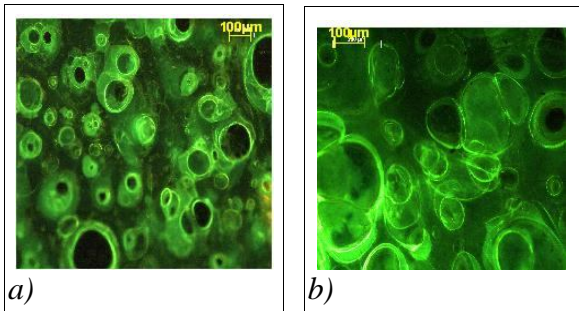


Fig.3 – Images of the samples coating pores at the fluorescence microscope. The samples have been deposited using a solution of acetic acid at pH3(a) and pH4(b).

The coating pores results to be of small and closed morphology, when the sample is deposited using malonic acid.

The statistical analysis of the results, has shown that the average pores diameter increase with the solution pH, when an acetic acid solution is used (Fig.4); when the deposition is performed using malonic acid, the coating pores diameter show an opposite behavior and the higher the solution pH, the smaller the pore diameters (Fig.5).

It is possible to obtain coating with pores in the 40-190µm range for acetic acid solutions and in the 20-90µm range for malonic acid solutions.

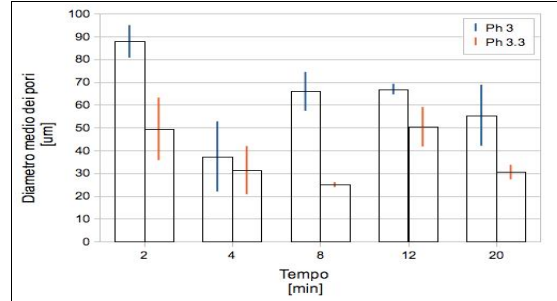


Fig.4 – Average pores diameter (µm) vs time, for pH3 and pH4 acetic acid solutions.

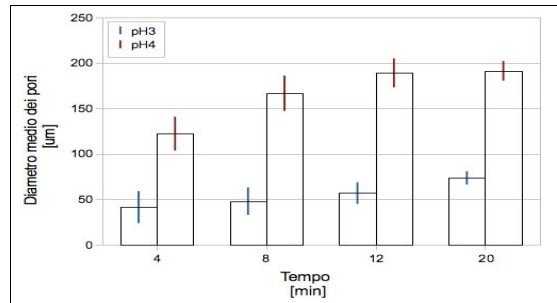


Fig.5 - Average pores diameter (µm) vs time, for pH3 and pH3.3 malonic acid solutions.

### Applied voltage effects

As depicted in Fig.6, results show a marked increase of the deposited mass as a greater potential is applied across the electrolytic cell. As expected, the mass also increases as a longer deposition is performed.

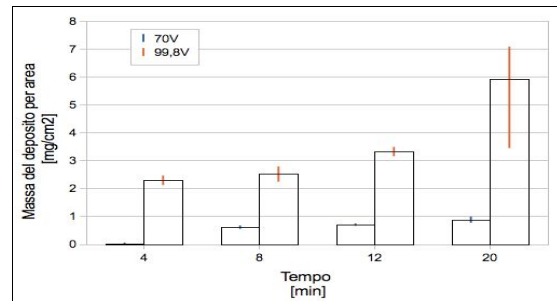


Fig. 6 - Deposit mass density vs deposition time and potential applied.

### Current density effects

In Fig.7 is shown the effect of the current density on the deposition process. Results show an increase of the deposit mass with the current density.

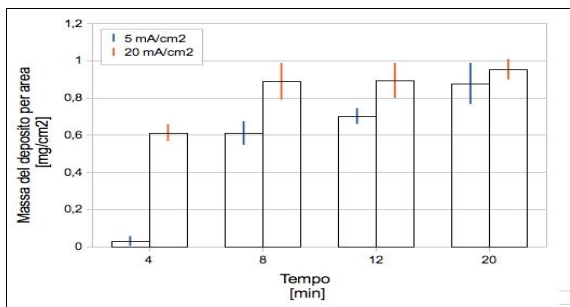


Fig. 7 - Deposit mass density vs deposition time and current density.

### **Conclusions**

This work demonstrates that it is possible to modulate the morphology and the porosity of the chitosan coating deposited by cathodic electrodeposition over titanium substrates, changing and optimizing the process parameters.

The literature available has been the starting point for the choice of the parameters under study: deposition time, solution pH, electrolytic cell voltage and current density, solution proticity.

The tests with different parameters setup put in evidence that an increase of the coating mass can be obtained by increasing one of the following: deposition time, solution pH, applied voltage, current density.

On the other hand, results show that the deposited coating mass decreases as a more

protic acid is used.

Questo ci permette di dire che la variazione dei parametri di processo, può permettere la modulazione dello spessore del coating depositato.

The morphological analysis of the coating demonstrates that it is possible to obtain microporose structures with pores diameter in the range of 40-190 $\mu$ m if an acetic acid solution is used and pores diameter in the range of 20-90 $\mu$ m with a malonic acid solution.

These results will allow further studies on the effects of the cathodic electrodeposition process parameters on the ability to reshape surfaces in the biomedical industry, as different morphological and structural requirements may arise.

# INDICE

## *Sommario*

## *Abstract*

## **1. Trattamenti catodici per la modifica delle superfici in applicazioni biomediche**

<b>1.1 Trattamenti elettrochimici per via catodica.....</b>	<b>2</b>
1.1.1 Deposizione elettrolitica (EDE) e deposizione elettroforetica (EDF).....	4
1.2 Deposizione elettrochimica per via catodica in applicazioni biomedicali.....	5
1.2.1 Meccanismi fisici alla base dell'elettrodeposizione.....	9
1.2.2 Parametri che influenzano il processo.....	11
1.2.2.1 Effetti del solvente.....	11
1.2.2.2 Effetti della densità di corrente.....	13
1.2.2.3 Effetti del tempo di deposizione.....	14
1.2.2.4 Effetti del potenziale applicato.....	15
1.3 Applicazioni dei coatings di chitosano ottenuti per elettrodeposizione catodica.....	16
1.3.1 Coating emocompatibili a base di idrossiapatite-eparina-chitosano.....	21
1.3.2 Coating con proprietà biologiche e meccaniche, a base di gelatina e chitosano .....	23
1.3.3 Coating ad azione antibatterica.....	24
<b>Scopo del lavoro.....</b>	<b>25</b>

<b>2. Materiali e metodi.....</b>	<b>26</b>
<b>2.1 Provini di titanio.....</b>	<b>26</b>
2.1.1 Procedura di decapaggio.....	26
<b>2.2 Soluzioni elettrolitiche di chitosano utilizzate per la deposizione.....</b>	<b>27</b>
2.2.1 Procedura di preparazione.....	27
<b>2.3 Procedura sperimentale: elettrodeposizione catodica.....</b>	<b>28</b>
2.3.1 Primo set-up sperimentale.....	29
2.3.1.1 Procedura sperimentatale.....	30

2.3.2	Secondo setup sperimentale: ottimizzazione procedura sperimentale.....	31
2.3.2.1	Procedura sperimentale.....	32
<b>2.4</b>	<b>Metodi di analisi macroscopica e morfologica delle matrici depositate.....</b>	<b>33</b>
2.4.1	Peso dei depositi.....	33
2.4.2	Micrografia ottica.....	34
<b>2.5</b>	<b>Analisi statistica del diametro dei pori del film di chitosano.....</b>	<b>35</b>

### **3. Risultati**

<b>3.1</b>	<b>Confronto tra i due setup sperimentali utilizzati per l' EDC.....</b>	<b>36</b>
3.1.1.	Peso dei depositi.....	37
3.1.2.	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	38
<b>3.2</b>	<b>Elettrodeposizione catodica in soluzioni elettrolitiche di chitosano al variare del pH.....</b>	<b>42</b>
3.2.1	Deposizione in soluzione di acido acetico.....	42
3.2.1.1.	Peso dei depositi.....	42
3.2.1.2.	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	43
3.2.1.3	Analisi statistica del diametro dei pori.....	47
3.2.2	Deposizione in soluzione di acido malonico.....	48
3.2.2.1.	Peso dei depositi.....	48
3.2.2.2.	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	49
3.2.2.3	Analisi statistica del diametro dei pori.....	56
<b>3.3</b>	<b>Elettrodeposizione catodica al variare della tensione limite.....</b>	<b>56</b>
3.3.1.	Deposizione in soluzione di acido acetico.....	57
3.3.1.1.	Peso dei depositi.....	57
3.3.1.2.	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	58
3.3.2.3	Analisi statistica del diametro dei pori.....	62
<b>3.4</b>	<b>Elettrodeposizione catodica al variare della densità di corrente.....</b>	<b>62</b>
3.4.1.	Deposizione in soluzione di acido acetico.....	62
3.4.1.1.	Peso dei depositi.....	63
3.4.1.2.	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	63
3.4.2.3	Analisi statistica del diametro dei pori.....	68
<b>3.5</b>	<b>Elettrodeposizione catodica al variare della proticità dell'acido in soluzione.....</b>	<b>68</b>
3.5. 1	Peso dei depositi.....	69
3.5.2	Analisi al microscopio ottico in fluorescenza.....	69
3.5.3	Analisi statistica del diametro dei pori.....	75

<b>4. <i>Discussione dei risultati</i></b> .....	<b>76</b>
4.1 Effetto del pH.....	76
4.1.1 Deposizione in acido acetico.....	76
4.1.2 Deposizione in acido malonico.....	80
4.2 Effetto del potenziale applicato.....	83
4.3 Effetto della densità di corrente.....	84
4.4 Effetto della proticità della soluzione acida usata come solvente.....	85
<b>5. Conclusioni</b> .....	<b>88</b>
<b>6. Bibliografia</b> .....	<b>89</b>

# 1.

## **Trattamenti catodici per la modifica delle superfici in applicazioni biomediche**

I trattamenti elettrochimici per le modifiche superficiali sono oggetto di molteplici studi e trovano ampia applicazione nel settore industriale per il trattamento di dispositivi e la generazione di superfici con morfologie specifiche, quali rugosità in micro e nanoscala.

I processi elettrochimici permettono la modifica delle proprietà chimico-fisiche delle superfici metalliche, ed è per questo che molte aziende hanno adottato questa tecnica per processare componenti di microelettronica avanzata. Trovano inoltre applicazione per la preparazione di film sottili e coatings, e numerosi sono gli studi condotti al fine di ottenere film polimerici (Besra, 2007).

I trattamenti elettrochimici si basano sull'uso di materiali semplici e a basso costo e consentono la formazione di depositi ad elevata purezza e spessore uniforme su substrati di forma complessa.

Molte sono le reviews disponibili, che rivedono gli aspetti della scienza dei materiali, relativi alla cinetica e alle applicazioni dei trattamenti elettrochimici. In questo capitolo saranno analizzati i principali aspetti riguardanti i trattamenti elettrochimici per via catodica, per la modifica delle superfici, che trovano impiego nel campo biomedicale.

## 1.1 Trattamenti elettrochimici per via catodica

Tra le principali classi di trattamenti elettrochimici superficiali per applicazioni biomediche si annoverano:

- *Elettrodeposizione anodica (EDA)*;
- *Elettrodeposizione catodica (EDC)*;
- *Elettrodeposizione elettroforetica (EDE)*.

La deposizione elettrochimica è una tecnica versatile che permette di ottenere coatings sottili su superfici metalliche per semplice elettrolisi o elettroforesi in soluzione acquosa contenente lo ione del metallo desiderato o il suo complesso, in maniera controllata (Fig. 1.1).

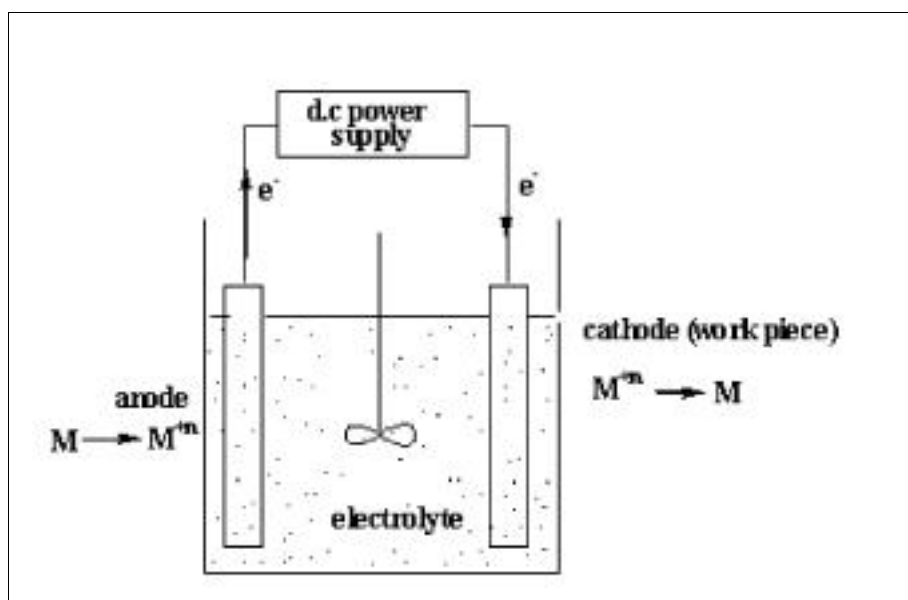


Fig. 1.1 - Cella usata per l'elettrodeposizione

I concetti alla base dell'elettrodeposizione e della reazione all'elettrodo sono descritti negli articoli di Walsh et al. (1991). La tabella 1.1 (Trivedi, 2005) confronta la natura delle reazioni che si verificano in questi due processi.



**Tabella 1.1** – Natura delle reazioni e siti in cui avvengono le deposizioni chimica ed elettrochimica (Trivedi, 2005).

Property	Electrochemical deposition	Chemical deposition
1. Driving force	External power supply	Reducing agent [RA] and auto-catalytic property of the deposited metal
2. Cathode reaction	$M^{n+} + ne^{-} \rightarrow M$	$M^{n+} + RA \rightarrow M$
3. Anodic reaction	$M - ne^{-} \rightarrow M^{n+}$	$RA - ne^{-} \rightarrow [RA]_{\text{Oxidized form}}$
4. Overall reaction	$M_{\text{anode}} \rightarrow M_{\text{cathode}}$	$M^{n+} + RA \rightarrow M + [RA]_{\text{Oxidized form}}$
5. Anodic site	Anode itself	Work piece
6. Cathodic site	Work piece	Work piece

I metodi di riduzione dei processi chimici ed elettrochimici sono nettamente diversi fra di loro. Nel primo, la riduzione ha inizio quando viene data corrente dall'esterno e i siti per le reazioni anodica e catodica sono separati; nel metodo chimico, gli elettroni necessari per la riduzione sono forniti da un agente riducente e le reazioni anodica e catodica avvengono nello stesso sito (Trivedi et al., 2005).

Le reazioni elettrochimiche hanno luogo solo su superfici cataliticamente attive, che promuovono le reazioni redox.

I depositi ottenuti mediante i due processi, hanno molte applicazioni. Si possono ad esempio, ottenere superfici aventi resistenza alla corrosione o all'usura, e coatings decorativi per migliorare l'estetica degli oggetti oppure funzionalizzarli.

L'elettrodeposizione è l'unica tecnica che permette la deposizione su metalli ad alto punto di fusione (ad esempio, il platino e il rodio). I depositi ottenuti elettrochimicamente possono avere una struttura organizzata e proprietà fisiche, come elevata durezza, ed elevata riflettività. Un grande vantaggio della deposizione elettrochimica è che lo spessore dello strato può essere controllato nell'ordine di frazioni di micron.

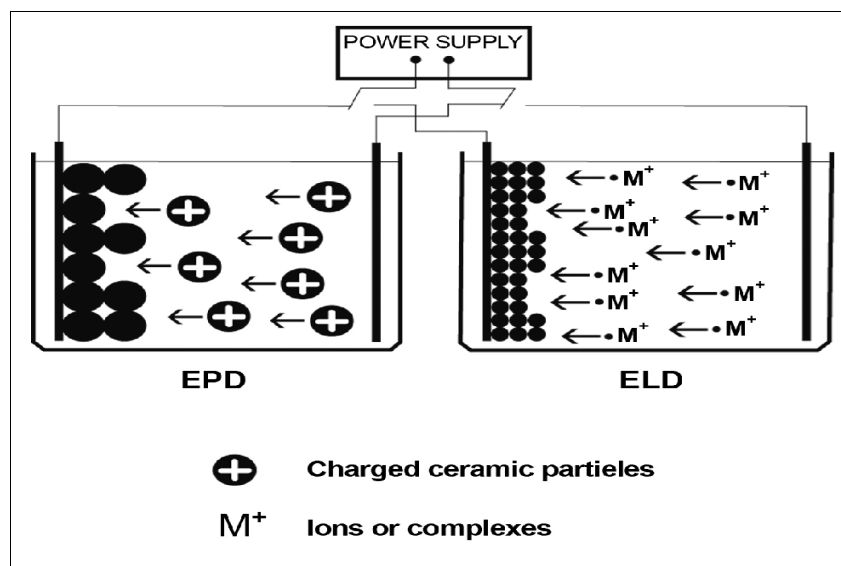
In base al meccanismo chimico che governa la cinetica del processo di elettrodeposizione, i metodi di deposizione di film sottili possono classificarsi come:

- *Elettrodeposizione elettrolitica;*
- *Elettrodeposizione elettroforetica.*

Nel paragrafo successivo si spiega la differenza tra questi due meccanismi di deposizione.

### 1.1.1 Deposizione elettrolitica (EDE) e deposizione elettroforetica (EDF)

La differenza fondamentale tra il metodo di deposizione elettroforetica ed elettrolitica, è che il primo utilizza una sospensione di particelle in un solvente, mentre il secondo una soluzione di specie ioniche. Queste ultime in genere subiscono reazioni di redox che portano alla formazione del coating (Figura 1.2). La deposizione elettroforetica può quindi essere applicata a qualsiasi solido disponibile sottoforma di polvere fine o di sospensione colloidale (Van der Biest O and Vandepierre L J, 1999). Esempi di EDF si trovano per quasi tutte le classi di materiali, inclusi metalli, polimeri, carboni, ossidi, nitridi e vetri: la deposizione elettroforetica appare di particolare interesse per le modifiche superficiali dei materiali per applicazioni biomediche, perché permette di depositare rivestimenti ceramici e organici/inorganici con elevata purezza su geometrie e forme complesse (Gottlander et al., 1997; Zhitomirsky, 2000; Zhitomirsky et al. , 1997). Va osservato che il processo produce solo una polvere compatta. Quindi la deposizione elettroforetica in generale è seguita da una fase di densificazione come la sinterizzazione o la polimerizzazione, al fine di ottenere un materiale completamente denso (Van der Biest et al., 1999). Tale post-trattamento in alcuni casi la sua applicazione.



**Fig. 1.2** - Schema della deposizione elettroforetica (EDF) ed elettrolitica (EDE), che mostra il movimento elettroforetico di particelle ceramiche e ioni ( $M^+$ ) carichi positivamente, seguito da idrolisi degli ioni con formazione di nanoparticelle colloidali e dalla coagulazione delle particelle con formazione di depositi EPD e ELD (Zhitomirsky I, 2002).

La deposizione elettrolitica si basa sul processo di elettrosintesi di particelle colloidali in soluzione che subiscono reazioni all'elettrodo e successiva deposizione. Questa tecnica può essere utilizzata per la fabbricazione di film sottili. Mentre la deposizione elettroforetica (EDF) è una tecnica basata sul movimento di particelle cariche in sospensione verso l'elettrodo, sotto l'influenza di un campo elettrico applicato esternamente, e nella successiva formazione di un deposito (Zhitomirsky, 2008). E' importante notare che le reazioni all'elettrodo non prendono parte nella EDF . Pertanto, questa tecnica permette la fabbricazione di rivestimenti spessi (Zhitomirsky, 2002).

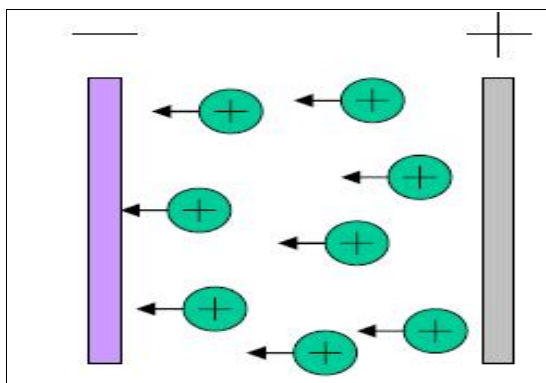
La composizione del deposito ottenuto per EDF è controllabile a partire dalla composizione delle polveri utilizzate per la deposizione. Al contrario, la deposizione elettrolitica presenta difficoltà di controllo, perchè la deposizione è legata alla differenza di elettrosintesi dei singoli componenti. Grazie all'uso di particelle anzichè ioni, la percentuale di deposito ottenuto per EDF è di solito superiore a quella ottenuta per EDE (Boccaccini e Zhitomirsky, 2002; Van Der Biest e Vandeperre, 1999; Zhitomirsky, 2002).

## ***1.2 Deposizione elettrochimica per via catodica in applicazioni biomedicali***

La tecnica di elettrodeposizione catodica, utilizza reazioni catodiche per generare gruppi ossidrilici (-OH) e aumentare il pH all'elettrodo. In questo modo ioni metallici o loro complessi, presenti all'interno della soluzione a basso pH, sono idrolizzati alla superficie dell'elettrodo per formare particelle colloidali.

La deposizione catodica può avvenire in due modalità: per elettrolisi o elettroforesi. La deposizione catodica elettrolitica è una tecnica elettrochimica in cui un conduttore elettrico è posto in una soluzione elettrolitica ed è connesso ad un circuito elettrico come catodo. Applicando un potenziale tra il catodo (elettrodo di lavoro) e l'anodo, avvengono una serie di reazioni chimiche che coinvolgono specie (principalmente ioni) presenti nella soluzione elettrolitica.

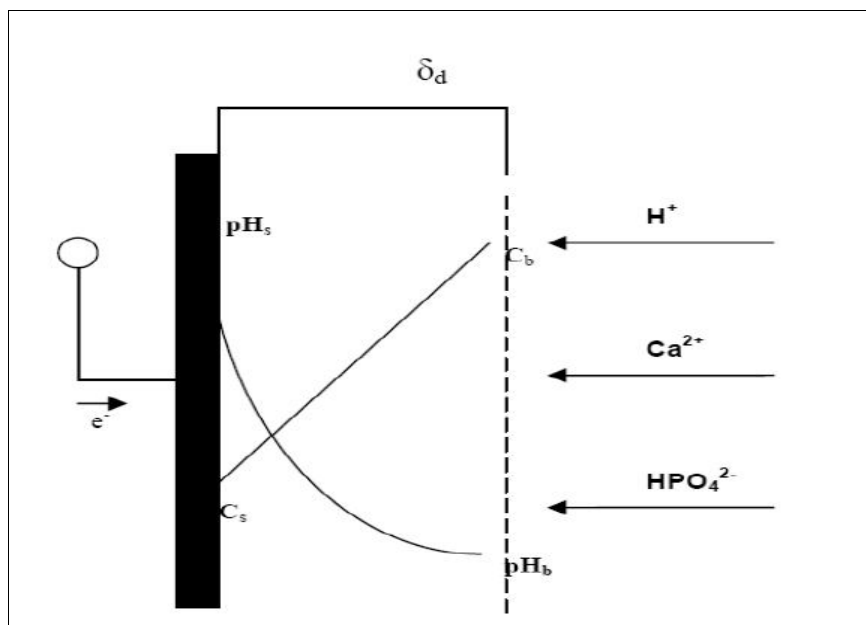
La deposizione catodica elettroforetica è sempre una tecnica elettrochimica, basata sul movimento di particelle cariche positivamente, immerse in un fluido, che si spostano verso il catodo (Besra e Liu, 2007). La figura 1.3 mostra uno schema della deposizione elettroforetica catodica



**Fig. 1.3** – Illustrazione schematica del processo di deposizione elettroforetica per via catodica.

Questo processo è stato utilizzato da numerosi autori principalmente per realizzare coating di calcio-fosfati in applicazioni che prevedono il contatto con l'osso. I primi lavori sono stati condotti dai gruppi di Redepenning e Shirkhazadeh (Redepenning J and McIsaac J P 1990, Redepenning J et al., 1996; Shirkhazadeh M, 1991, 1993).

Uno schema della polarizzazione catodica, che porta alla deposizione di calcio fosfati Ca-P è riportato in figura 1.4 ed è stato spiegato da numerosi autori usando una sequenza di reazioni (Redepenning J *et al.*, 1996; Shirkhazadeh M, 1998; Zhang J M *et al.*, 1998).



**Fig.1.4** - Schema semplificato dell' interfaccia catodo-soluzione elettrolitica. Sono mostrate la variazione delle concentrazione di ioni H+ (ipotizzata lineare) e di pH all'interno dello strato diffusivo(Shirkhazadeh M, 1998).

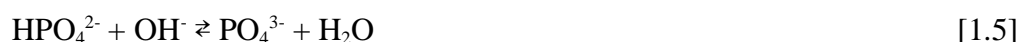
In una cella elettrolitica il pH locale nello strato di diffusione, tende ad aumentare in prossimità della superficie polarizzata catodicamente, in conseguenza delle seguenti reazioni di riduzione (Collinson M et al., 2008) :



Le reazioni delle equazioni 1.1 e 1.2 dipendono dal pH della soluzione elettrolitica: la prima predomina in ambiente acido, la seconda in un bagno alcalino o neutro. Inoltre se sono presenti dei nitrati nella soluzione elettrolitica, essi possono essere ridotti sulla superficie catodica, producendo ioni idrossido:



Le reazioni nelle equazioni 1.1-1.3 portano ad un aumento localizzato del pH all'interfaccia catodo elettrolita, provocando le seguenti reazioni chimiche:



È dunque possibile far precipitare calcio-fosfati sulla superficie di un dispositivo conduttore (il titanio e le sue leghe) quando viene creato un ambiente chimico adatto in prossimità del catodo (Zhang J M *et al.*, 1998).

Queste reazioni portano alla generazione di precipitati a base di Ca-P e alla formazione di una sottile pellicola sulla superficie del catodo. L'equilibrio delle reazioni è fortemente influenzato dal pH della soluzione, dalla presenza di diverse specie di fosfati presenti nel bagno elettrolitico (eq. 1.4-1.5) e tutte queste equazioni sono influenzate dai processi di elettrolisi dell'acqua nelle eq. 1.1-1.3. Infatti, la precipitazione dei fosfati di calcio in una soluzione acquosa avviene in diverse fasi, in funzione soprattutto del valore del pH della soluzione. Nel caso di deposizione elettrochimica, il valore del pH all'interfaccia substrato-soluzione è di fondamentale importanza per la struttura e la

composizione dei prodotti elettrodepositati sulla superficie catodica (Zhang et al., 1998). Tutti questi parametri sono influenzati dalla natura del bagno chimico e, in modo significativo, da diversi altri aspetti. La comprensione dei meccanismi di base e dei parametri che influenzano la cinetica di deposizione del rivestimento permettono di ottenere diverse strutture chimiche funzionalizzate, con l'obiettivo di progettare superfici per migliorare e modulare la risposta ossea.

I primi studi di Shirkhazadeh e Redepenning (Redepenning et al, 1990, 1996; Shirkhazadeh, 1991, 1993; Shirkhazadeh et al, 1995) hanno dimostrato che le caratteristiche dei rivestimenti di fosfato di calcio ottenuti mediante polarizzazione catodica, dipendono, oltre che dalla scelta della soluzione elettrolitica, anche da una serie di parametri sperimentali, che possono essere facilmente controllati. I principali parametri che regolano la deposizione elettrolitica catodica sono:

- la composizione del bagno elettrolitico,
- il pH della soluzione elettrolitica,
- la tensione e la densità di corrente applicate durante il processo elettrochimico,
- la temperatura di processo,
- la durata di deposizione.

Il parametro principale che determina la natura del *coating* è il bagno elettrolitico: gli ioni presenti in soluzione influenzano la composizione e la struttura del *coating*, come mostrato nelle equazioni 1.4 e 1.5. Nella tabella 1.2 sono mostrate le soluzioni elettrolitiche usate in letteratura per la deposizione catodica di Ca-P.

**Tab. 1.2** - Soluzioni elettrolitiche usate in letteratura per la deposizione catodica di Ca-P.

Calcium phosphate containing electrolytes	pH
30g/L Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> - DI water	2.7 – 2.8
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> - NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - 0.167 M CaCl <sub>2</sub> - 0.1 M NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4.4
8 g NaCl - 0.27 g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O - 0.4g CaCl <sub>2</sub> in 1L water	6.5 – 7.4
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> - 0.042 M e NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.025 M	4.1
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 0.1 M - NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.05 M – NH <sub>3</sub> as buffer	4.0
7.996 g NaCl - 0.350g NaHCO <sub>3</sub> - 0.228g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O - 0.278g CaCl <sub>2</sub> – 1L water	7.4
0.042 M Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> – 0.025 M NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4.1
137.8 mM NaCl, 1.67 mM K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - 2.5 mM CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	7.2
NaCl - CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O - MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O - NaHCO <sub>3</sub> - Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	7.4

### 1.2.1 *Meccanismi fisici alla base dell'elettrodeposizione*

I recenti progressi nella comprensione dei meccanismi di deposizione della EPD ed ELD sono stati ottenuti grazie all'applicazione della teoria della stabilità colloidale Derjaguin Landau Verwey Overbeek DLVO (Derjaguin, 1994; Verwey, 1948). La teoria DLVO considera due forze principali: la forza di repulsione tra due strati e quella di attrazione di van der Waals. Tuttavia la ricerca negli ultimi anni ha dimostrato chiaramente che possono agire tra le particelle possono agire forze di altra natura. Queste forze potrebbero essere quelle di coagulazione delle particelle colloidali che influenzano la stabilità del film e la formazione delle strutture all'interno di un film. Le formulazioni utilizzate per i bagni in EPD e ELD includono vari additivi, come elettroliti e polimeri ed è per questo che le interazioni tra le particelle colloidali in sospensione sono fortemente influenzate dagli additivi.

Secondo la teoria DLVO, l'energia totale di interazione tra due particelle identicamente cariche, isolate può essere definita come:

$$V_T = V_A + V_B \quad [1.6]$$

L'energia attrattiva  $V_A$  dell'interazione di Van der Waals tra due particelle sferiche, può essere espressa come:

$$V_A = -\frac{A}{6} \left( \frac{2}{s^2 - 4} + \frac{2}{s^2} + \ln \frac{s^2 - 4}{s^2} \right) \quad [1.7]$$

dove  $A$  è la costante di Hamaker e  $s = 2 + H/a$ , con  $H$  la più piccola distanza tra le sfere e  $a$  il raggio delle particelle. Se  $H \ll 2a$ , l'eq. 1.7 può essere semplificata:

$$V_A = -A \frac{a}{12H} \quad [1.8]$$

L'energia repulsiva  $V_R$  è:

$$V_R = 2\pi\epsilon\epsilon_0 a\psi^2 \ln[1 + e^{-\kappa H}] \quad [1.9]$$

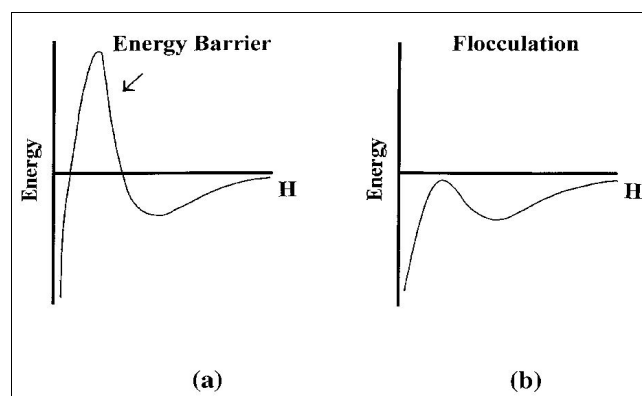
dove  $\varepsilon$  è la costante dielettrica del solvente ed  $\varepsilon_0$  la permittività dielettrica nel vuoto,  $\Psi$  è il potenziale di superficie e  $1/k$ , la lunghezza di Deybe:

$$\kappa = \left( \frac{e_0^2 \sum n_i z_i^2}{\varepsilon \varepsilon_0 k T} \right)^{1/2} \quad [1.10]$$

dove  $e_0$  è la carica dell'elettrone,  $k$  la costante di Boltzmann,  $T$  la temperatura assoluta,  $n_i$  la concentrazione degli ioni con valenza  $z_i$ . La repulsione tra le particelle colloidali è legata direttamente alla carica dello strato diffusivo sulle particelle.

La teoria DLVO descrive la curva dell'energia potenziale di interazione, come mostrato in fig.1.5(a). Quando la repulsione diffusa nello strato è sufficientemente elevata rispetto all'attrazione di van der Waals, l'energia totale di interazione delle particelle mostra un massimo. Questa è la barriera energetica per la coagulazione delle particelle. Lo spessore del doppio strato caratterizzato dalla lunghezza di Debye,  $1/k$  è molto sensibile alla concentrazione di elettroliti. La teoria DLVO spiega l'esistenza di un valore critico di concentrazione di elettroliti (valore di flocculazione) per la coagulazione, decrescente con la valenza degli elettroliti di carica ecrescente per le particelle colloidali (Schulze and Hardey, 1948). È stato dimostrato che il picco di energia potenziale diminuisce all'aumentare della concentrazione di elettroliti. Quando la barriera energetica scompare, la coagulazione diventa possibile fig. 1.5(b).

I valori di flocculazione si trovano nel range di 20-200 per ioni monovalenti, 0,3-3 per ioni bivalenti, e 0,003-0.1 per ioni trivalenti. I valori di flocculazione sono influenzati dalla concentrazione del di elettroliti, dalla temperatura, dalla dimensione delle particelle del colloide.



**Fig. 1.5** – L'energia di interazione totale tra particelle sferiche è funzione della repulsione interparticellare secondo la teoria DLVO.



## 1.2.2 Parametri che influenzano il processo

Numerosi sono gli studi per la comprensione dei parametri che influenzano il processo di elettrodeposizione catodica. In questo paragrafo vengono trattati i principali parametri quali:

- Effetti del solvente;
- Effetti della densità di corrente;
- Effetto del tempo di deposizione;
- Effetti del potenziale applicato.

### 1.2.2.1 Effetti del solvente

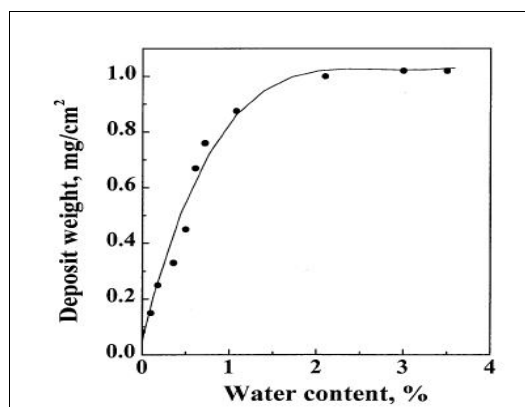
Il solvente utilizzato per l'elettrodeposizione deve poter sciogliere sali inorganici e additivi organici. Ci sono due tipi principali di solvente usati per l'elettrodeposizione, acqua e liquidi organici (Tabella 1.3).

Tabella 1.3 – Esempi di solventi usati per l'elettrodeposizione.

Solvent	Method of deposition	Deposited material
Water	ELD EPD	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> [46], ZnO [47] Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> [48]
Dimethylformamide <sup>a</sup>	ELD	Y <sub>2</sub> O <sub>3</sub> [49], TiO <sub>2</sub> [50]
Methyl alcohol-water	ELD	TiO <sub>2</sub> [8], RuO <sub>2</sub> -TiO <sub>2</sub> [51]
Ethyl alcohol-water	ELD EPD	CeO <sub>2</sub> [52], SnO <sub>2</sub> [5] CaSiO <sub>3</sub> [53]
Isopropyl alcohol	EPD	Hydroxyapatite [54,55]
Isopropyl alcohol <sup>a</sup>	ELD	YBa <sub>2</sub> Cu <sub>3</sub> O <sub>7-x</sub> [56]
Ethyl alcohol-acetylacetone	EPD	MgO, Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> [57]
Glacial acetic acid	EPD	PZT [58]
Ethyl alcohol	EPD	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , ZrO <sub>2</sub> [59]
Dichloromethane	EPD	β-alumina [60]
Acetone	EPD	YSZ [61]
Acetylacetone	EPD	YSZ [61]
Cyclohexanone	EPD	YSZ [61]
Methyl ethyl ketone	EPD	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> [62]
Toluene-ethyl alcohol	EPD	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> [62]

PZT, lead zirconate titanate; and YSZ, yttria-stabilized zirconia.  
<sup>a</sup>Solvent contained small amount of water.

L'ELD ha bisogno di una quantità sufficiente di acqua per la generazione della base nella reazione catodica ( Zhitomirsky et al., 1999). La Fig. 1.6 mostra il peso del deposito di film ottenuti con zirconia come elettrolita, in funzione del solvente contenente una miscela di acqua e alcool etilico. Un netto aumento del peso del deposito è stata osservato all'aumentare del contenuto di acqua fino al 2 % in peso. Tuttavia, l'assorbimento di acqua nei depositi porta a perdite e fessurazioni durante l'asciugatura.



**Fig. 1.6** – Peso del deposito di film ottenuti per EDF in funzione del contenuto di acqua contenete una soluzione di acqua 0,005M di  $ZrOCl_2$  in un solvente di acqua e alcool etilico, a densità di corrente 5 mA/cm<sup>2</sup> e tempo di deposizione 5 min.

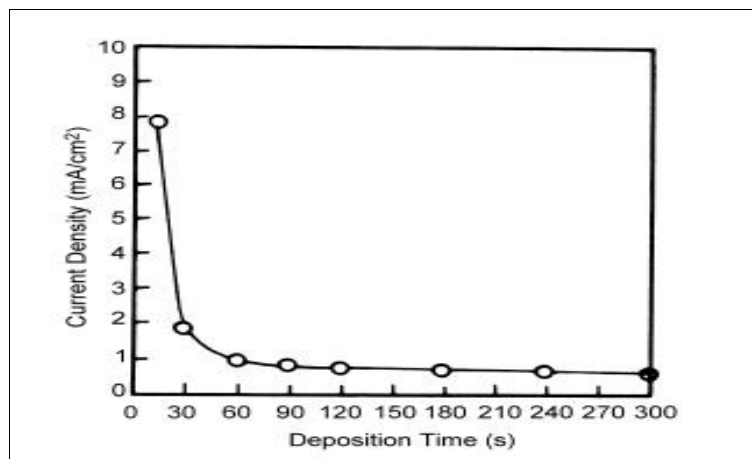
E' noto che il metanolo è in grado di estrarre gruppi idrossili liberi in acqua. Soluzioni di acqua e alcool metilico o di acqua e alcol etilico sono preferibili, perchè riducono fessurazioni e porosità nei depositi elettrolitici. L'aggiunta di alcoli alle soluzioni acquose riduce la costante dielettrica del solvente, e quindi riduce la solubilità dei depositi. Molti esperimenti di deposizione eseguiti in soluzioni acquose di alcool metilico indicano un aumento significativo della percentuale di deposito.

La repulsione tra particelle colloidali che si formano vicino all'elettrodo è dovuta alla carica dello strato di diffusione al di sopra delle particelle. Lo spessore del doppio strato diminuisce con il diminuire della costante dielettrica del solvente, promuovendo la coagulazione delle particelle. I solventi utilizzati nelle EPD devono essere inerti rispetto alla polvere. I liquidi organici lo sono maggiormente rispetto all'acqua. L'utilizzo di acqua a base di sospensioni causa la formazione di gas per idrolisi dell'acqua, impedendo la deposizione di uno strato uniforme e aderente e punti di cedimento. Una varietà di solventi organici non acquosi sono comunemente utilizzati per preparare sospensioni per EDP.

La carica su una particella colloidale potrebbe derivare dal solvente utilizzato. Infatti gli alcoli, che sono noti per comportarsi come donatori di protoni, possono variare la carica delle particelle con cui sono in soluzione. Per cui una miscela di solventi può anche essere utile per raggiungere la carica della particella elettrolitica.

### 1.2.2.2 Effetti della densità di corrente

La diminuzione della densità di corrente, con il tempo di deposizione, è stato dimostrato graficamente in fig. 1.7. E' chiaro dal grafico che la densità di corrente, presenta un picco iniziale per poi decrescere molto rapidamente nel primo periodo di deposizione. Con il progresso della deposizione del film (elettricamente non conduttivo), nel substrato (elettricamente conduttivo) si avrà un ridotto passaggio di corrente. Dopo la deposizione per un tempo di 180 s, la densità di corrente raggiunta è molto bassa e raggiunge quasi un valore stabile chiamato corrente residua.



**Fig. 1.7** – Variazione della densità di corrente al progredire della deposizione.

### 1.2.2.3 Effetti del tempo di deposizione

Basu et al. (2001) hanno osservato che la percentuale di deposito aumenta, al diminuire del valore di campo elettrico costante, all'aumentare del tempo di deposizione. Tali osservazioni sono state fatte anche da Chen and Liu. (2001). La figura 1.8 mostra la caratteristica di una tipica deposizione di un coating di ZnO su elettrodi di rame al variare del potenziale applicato, all'umentare del tempo di deposizione. La deposizione risulta lineare nella prima fase di deposizione, per poi decrescere e raggiungere un plateau per tempi elevati di deposizione (Zhitomirsky, 1997).

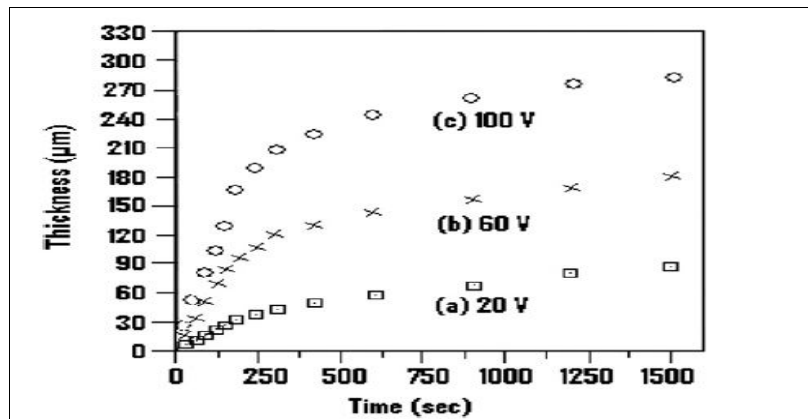


Fig. 1.8 - Relazione tra lo spessore del deposito e il tempo di deposizione per coatings di ZnO mediante elettrodi di rame al variare del potenziale applicato.

A potenziale costante ci si aspetta questo comportamento (Zhitomirsky I, 1997), perchè benchè la differenza di potenziale tra gli elettrodi è mantenuta costante, il campo elettrico influenza la riduzione elettroforetica a causa della formazione di uno strato isolante di particelle sulla superficie dell'elettrodo (fig. 1.9).

Mentre durante il primo periodo di deposizione esiste una dipendenza lineare della massa del deposito con il tempo di deposizione.

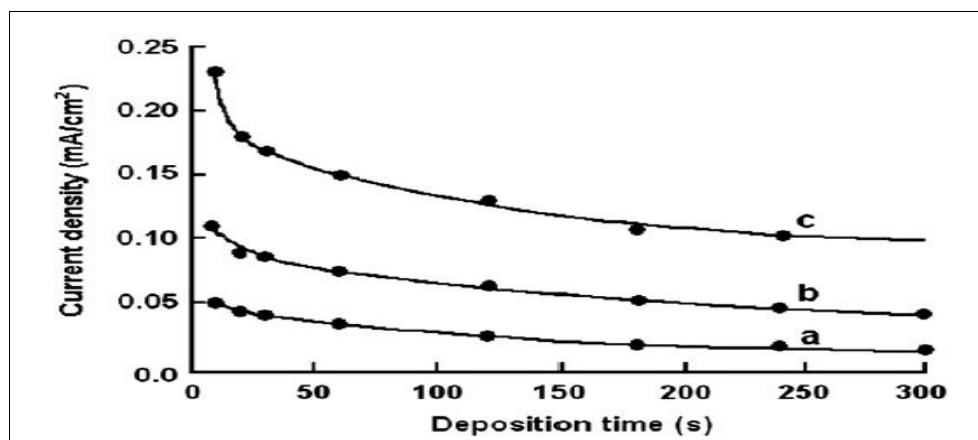


Fig. 1.9 - La densità di corrente in funzione del tempo di deposizione per depositi di idrossiapatitea, al variare del potenziale applicato: (a)50 V; (b) 100 V; (c) 200 V (Zhitomirsky I, 1997).

#### 1.2.2.4 Effetti del potenziale applicato

In generale la quantità di deposito cresce all'aumentare del potenziale applicato. La fig. 1.10 mostra la massa di un deposito di idrossiapatite su un substrato di  $Ti_6Al_4V$ , ottenuta da una sospensione di alcool isopropilico. Sebbene la polvere può essere depositata facilmente applicando il giusto potenziale, ciò di fatto non avviene. Basu et al.(2001) hanno dimostrato che film più uniformi sono depositati applicando potenziali moderati nel range di (25–100 V/cm). Poiché la formazione del film particolato sull'elettrodo è un fenomeno cinetico, la percentuale di particelle accumulate influenza il loro impacchettamento nel coating. Per un campo elettrico elevato, si possono registrare turbolenze nella sospensione e il coating può essere disturbato dalle correnti circostanti. Inoltre, le particelle possono muoversi così velocemente da riuscire a trovare in tempo la posizione giusta per formare una struttura compatta. Infatti, per valori elevati di campo, lo spostamento delle particelle già depositate, avviene solo lateralmente sullo strato depositato, quindi in maniera confinata, poiché il campo applicato esercita una forte pressione sul movimento delle particelle, influenzando la struttura del deposito.

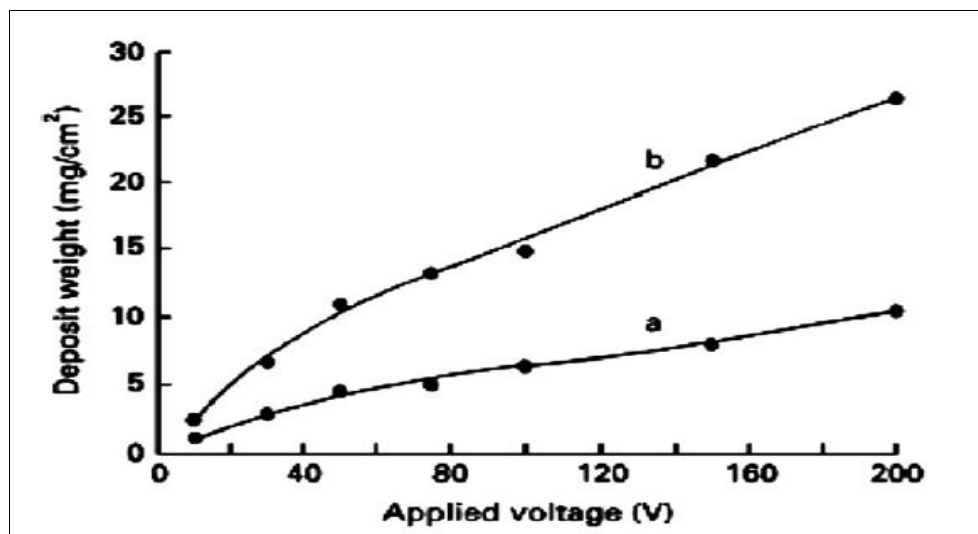


Fig. 1.10 – Peso del deposito di idrossiapatite su substrato di  $Ti_6Al_4V$ , in funzione del potenziale applicato, per diversi tempi di deposizione: (a) 30 s e (b) 120 s (Zhitomirsky I, 1997).

### 1.3 Applicazioni dei coatings di chitosano ottenuti per elettrodeposizione catodica

La deposizione catodica come già detto trova ampio spazio nelle applicazioni biomedicali perchè permette di ottenere depositi ad alta purezza e uniformità su substrati di forma complessa. Inoltre questa tecnica permette un buon controllo dello spessore, della morfologia, della cristallinità e della stechiometria del deposito (O. Van Der Biest, 1999; R. Moreno, 2000; A.R. Boccacini, 2002).

Tra le applicazioni di coatings in campo biomedicale, sono stati ampiamente studiati quelli ottenuti da soluzioni di chitosano e suoi complessi.

Il chitosano è un polisaccaride lineare, composto da unità di glucosamina e N-acetil-glucosamina legate da legami glicosidici  $\beta(1-4)$  (Fig.1.11).

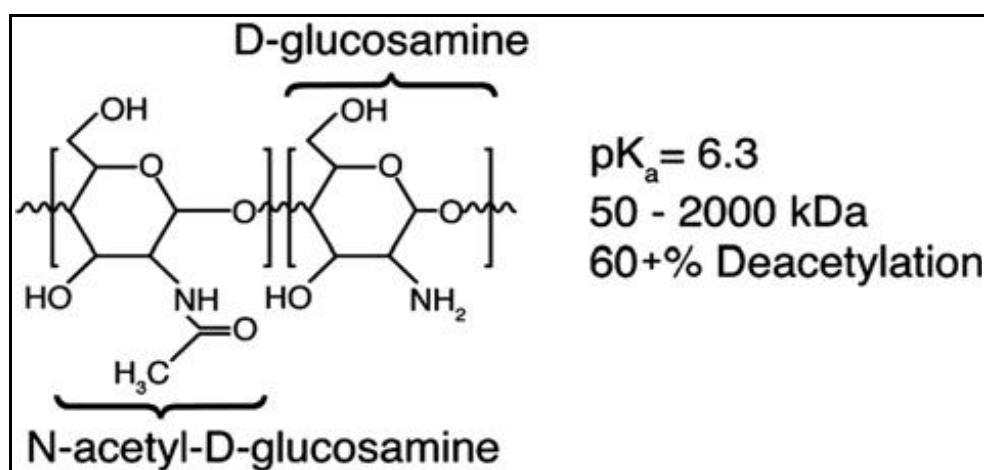


Fig.1.11 – Struttura chimica del chitosano.

Il contenuto di glucosamina è denominato grado di deacetilazione (DD). A seconda della procedura di origine e di preparazione, il peso molecolare del chitosano può variare da 300 a oltre 1000 kD, corrispondenti a un DD che va dal 30% al 95% (Dornish et al, 2001. VandeVord et al., 2002). Nella sua forma cristallina, il chitosano è normalmente insolubile in soluzione acquosa al di sopra di un pH 7, tuttavia, in acidi diluiti ( $pH < 6.0$ ), i gruppi amminici protonati liberi sulla glucosamina facilitano la solubilità della molecola (Madihally e Matteo, 1999). Il chitosano ha tre tipi di gruppi funzionali reattivi, un gruppo amminico e i gruppi idrossilici primario e secondario, rispettivamente in posizione C(2), C(3), e C(6). I gruppi amminici primari hanno un  $pK_a$  di circa 6.3, un valore piuttosto basso rispetto a quello dei biopolimeri contenenti ammine ( la polilisina, ad esempio ha un  $pK_a$  di 10,5). Questa caratteristica permette la loro protonazione per valori di pH inferiori a tale  $pK_a$ , rendendoli solubili in acqua, e quindi polielettroliti cationici. Invece per valori di pH superiori a

tale pKa i gruppi amminici sono deprotonati e il chitosano diventa insolubile (Wu L-Q *et al.*, 2002). Il chitosano è quindi insolubile in acqua e in solventi organici, ma la sua forma protonata può essere disciolta in acqua e in soluzioni di acqua-etanolo e di acqua-metanolo a basso pH (Zhitomirsky I and Hashambhoy A, 2007). La protonazione dei gruppi amminici del chitosano può essere raggiunta in soluzioni acide (Rinaudo, M, 2006):

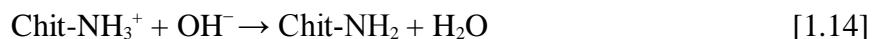


A basso pH il chitosano diventa un polielettrolita cationico e può essere utilizzato per la deposizione elettroforetica (EPD). Sotto l'azione di un campo elettrico le macromolecole cariche di chitosano si muovono verso il catodo (Zhitomirsky I and Hashambhoy A, 2007).

Le reazioni catodiche in condizioni basiche, alla superficie dell'elettrodo, risultano:



Nel processo di EDF, il campo elettrico promuove lo spostamento di macromolecole cariche di chitosano verso il catodo, dove il chitosano forma un deposito insolubile. :



Il prodotto di deposizione nel processo elettroforetico è descritto dall' equazione di Hamaker (Van Der Biest and Vandeperre, 1999):

$$M = \mu \text{EtSC} \quad [1.15]$$

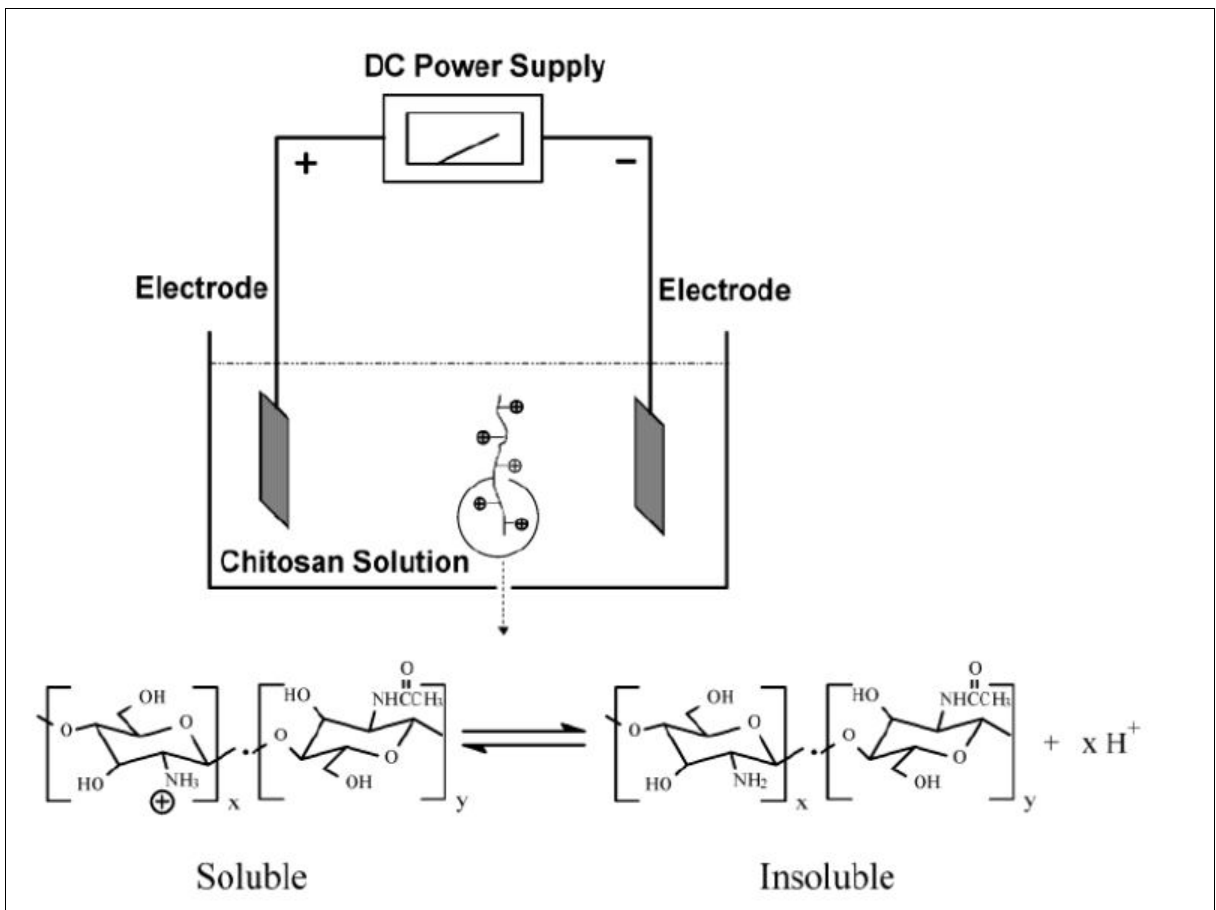
dove M è la massa del deposito ottenuto durante la deposizione nel tempo t sull'elettrodo di area S,  $\mu$  e C sono rispettivamente la mobilità e la concentrazione delle macromolecole polimeriche e delle particelle inorganiche.

Nell'elettrodeposizione catodica, ioni o complessi metallici sono idrolizzati da una base elettrogenata, formando particelle colloidali alla superficie dell'elettrodo. Perciò è possibile combinare la precipitazione di nanoparticelle inorganiche e la deposizione elettroforetica di chitosano per formare *film* compositi (Zhitomirsky I and Hashambhoy A, 2007).

Il fatto che il chitosano abbia una solubilità dipendente dal pH rende interessante il suo utilizzo: è possibile usarlo in soluzioni acquose acide e un semplice passaggio di neutralizzazione è sufficiente per convertire il chitosano in una forma insolubile che può essere mantenuta sulla superficie di un elettrodo (Fig. 1.11).

Sempre parlando dei gruppi amminici del chitosano, essi gli conferiscono proprietà nucleofile: i gruppi amminici deprotonati hanno una coppia di elettroni non condivisa che permette di fare reazioni con molti elettrofilo. In questo modo numerosi metodi chimici possono essere utilizzati per reticolare il chitosano e innestare sopra di esso dei sostituenti (Wu L-Q *et al.*, 2002).

L'elettrodeposizione di chitosano in cui si utilizza acqua come solvente è caratterizzata da una elevata formazione di idrogeno gassoso (Eq. 1.14) a causa dell'idrolisi dell'acqua; per questo sarebbe preferibile usare solventi organici o loro miscele in acqua (Zhitomirsky I, 2000a).



**Fig.1.11** - Elettrodeposizione di chitosano dipendente dalla sua solubilità (Wu L-Q *et al.*, 2002).

Lo studio della deposizione di chitosano su substrati metallici è stata ampiamente investigata. Da



uno degli ultimi studi effettuati a riguardo Simchi et al. (2009) hanno dimostrato che il prodotto depositato per unità di area(Y), è funzione del tempo a differenti valori di pH per concentrazioni di 0,08 vol.% (fig.1.12). Il prodotto depositato varia linearmente fino a 400s. Una diminuzione del prodotto depositato per tempi più elevati è stato registrato ed è spiegato come l'effetto schermante della massa di deposito (Besra L., 2007).

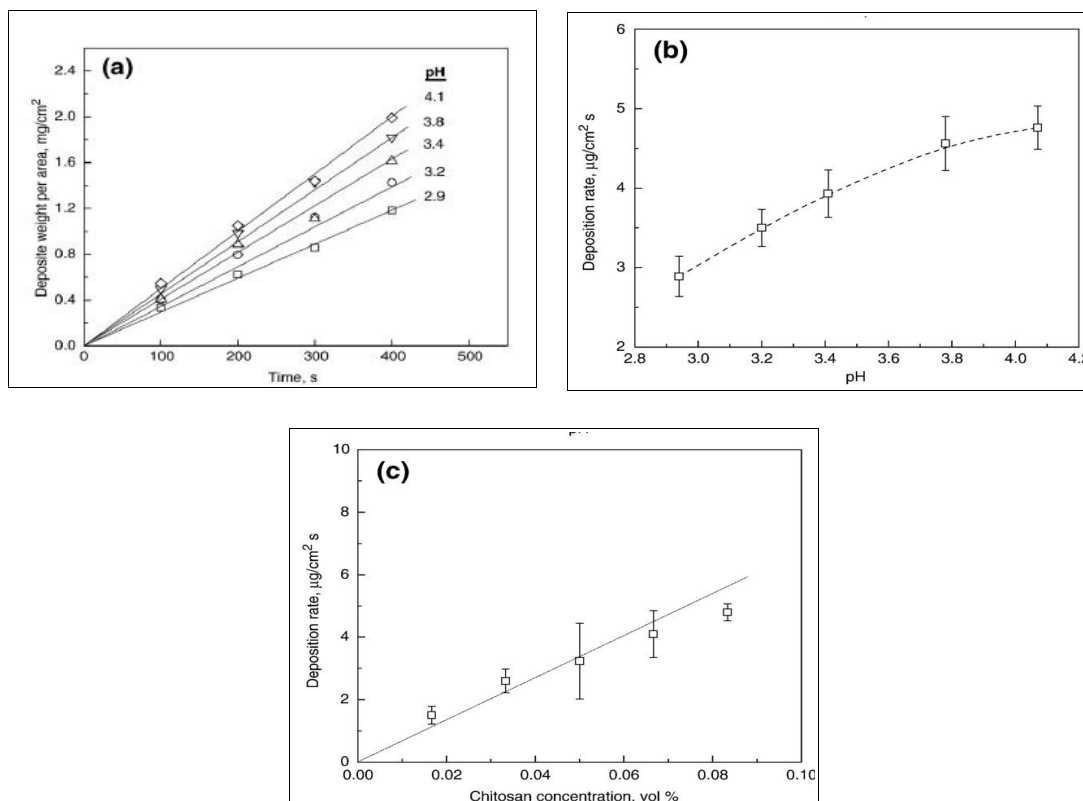


fig.1.12 – Effetti del pH sulla massa depositata (a) al variare del tempo di deposizione per soluzioni a concentrazione costante di chitosano 0,08% ed effetti delle concentrazione del chitosano a deposizione costante(c)(Simchi et. Al, 2009).

E' stata quindi suggerita un'equazione cinetica di primo ordine per l'EDF di chitosano per tempi bassi (Simchi et al., 2009) :

$$dY/dt = K \quad [1.19]$$

dove  $k$  è la percentuale di deposito. Inoltre questo studio ha mostrato gli effetti del pH e della concentrazione di chitosano ( $\varphi$ ) sulla percentuale di deposito (fig. 1.12 b, c).I risultati indicano che la carica elettrica e la mobilità elettroforetica delle macromolecole, influiscono significativamente sul pH.

Se le molecole cariche sono rappresentabili mediante sfere di raggio  $r$ , il bilancio tra la forza del campo elettrico e la forza opposta esercitata dal deposito sarà:

$$\mu = \frac{Z}{6\pi r\eta} \quad [1.20]$$

dove  $\mu$  è la mobilità elettroforetica delle macromolecole,  $Z$  la carica elettrica e  $\eta$  la viscosità del liquido. Considerando la deposizione una funzione lineare della concentrazione, l'eq. Può essere scritta come:

$$k = \frac{FZ\varphi}{6\pi\eta r\rho}(E-\Delta E) \quad [1.21]$$

dove  $E$  è il campo elettrico,  $\Delta E$  la possibile caduta di potenziale all'elettrodo, e  $\rho$  la densità del film.  $F$  è un fattore di correlazione che tiene conto che non tutte le molecole portate all'elettrodo sono state incorporate nel deposito ( $F \leq 1$ ).

Inoltre è stato dimostrato che la conduttività della soluzione di chitosano diminuisce all'aumentare del pH (fig.1.12).

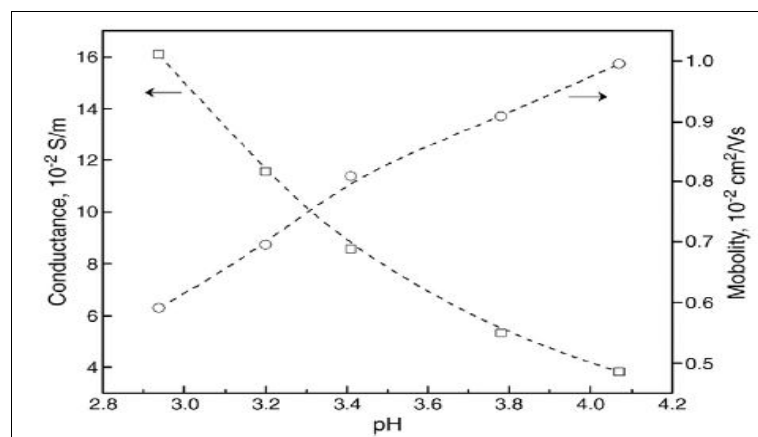


Fig.1.12 – Conduttanza e mobilità in funzione del pH, di soluzioni diluite di chitosano a concentrazione di 0,08 % in volume.(Simchi et. al., 2009)

In acido diluito, i gruppi amminici liberi vengono protonati e le molecole diventano completamente solubili a pH~5, questo causa l'allungamento della catena lineare di chitosano (Matthew HWT., 2001). Per cui valori di conduttività più elevati per più bassi valori di pH, sono dovuti al più alto grado di ionizzazione. Valori superiori di pH, provocano l'aumento dei gruppi amminici deprotonati che diventano disponibili per legami idrogeno. Gli aggregati meno protonati a basso pH, favoriscono la neutralizzazione del gradiente di pH alla superficie catodica, accelerando la deposizione del film di chitosano insolubile.

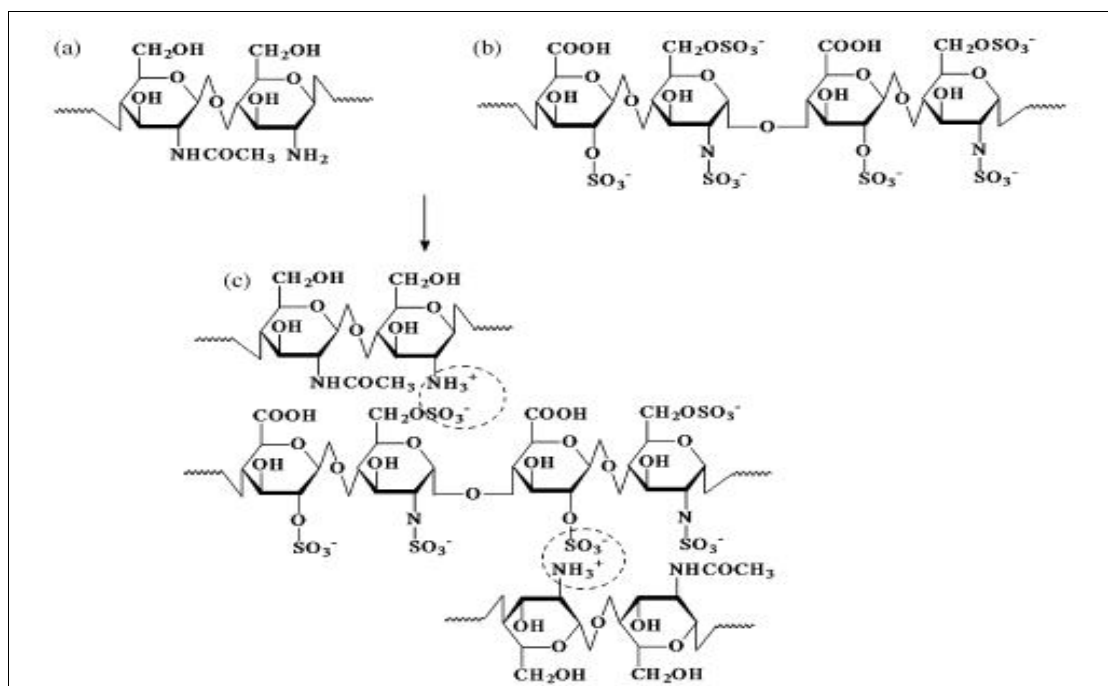
Nel frattempo l'elettrodeposizione di chitosano in soluzione acquosa è accompagnata dalla riduzione dell'acqua e dalla produzione di idrogeno gassoso alla superficie catodica. Per cui quando la crescita percentuale del deposito è bassa, si forma un film denso. Mentre un'elevata crescita del film trattiene gas nel film causando la formazione di pori (Simchi et al., 2009).

### ***1.3.1 Coating emocompatibili a base di idrossiapatite-eparina-chitosano***

Coatings multistrato, di materiale funzionalmente graduato di idrossiapatite-chitosano-eparina, contenente particelle di HA, ottenuto mediante EDF per via catodica, sono stati studiati da Zhitomirsky et. Al (2008).

L'eparina è un importante farmaco anticoagulante, ampiamente utilizzato per la modifica superficiale di impianti biomedicali (Capila and Linhardt, 2002; Oliveira et al., 2003) e negli ultimi anni sono stati effettuati studi su biomateriali antitrombogenici che la utilizzano. In particolare è stato visto che per migliorare l'emocompatibilità è preferibile usare complessi di chitosano-eparina (figura 1.14) al posto del chitosano puro (Lin et al., 2005; Kweon and Lim, 2003; Zhu et al., 2005). Tali complessi sono stati utilizzati per la modifica superficiale di vari biomateriali (Thierry et al., 2005; Zhu et al., 2002; Wang et al., 2005; Yang and Lin, 2003; Yu et al., 2005; Fu et al., 2005; Lin et al., 2004) e la fabbricazione di materiali avanzati con rilascio controllato di eparina (Vasudev et al., 1997; Liao et al., 2005; He et al., 2007; Huang et al., 2007).

In questo studio è stato dimostrato che l'uso del chitosano favorisce i processi a temperatura ambiente di deposizione controllata del coating, eliminando i problemi legati alla sinterizzazione dell'HA. E' inoltre importante sottolineare che i coatings che utilizzano HA pura, presentano bassa adesione (Zhitomirsky and Gal-Or, 1997), mentre quelli ottenuti mediante chitosano aderiscono bene all'acciaio inox, al titanio e ad altri substrati (Pang and Zhitomirsky, 2005a,b, 2007).



**Fig. 1.14** – Struttura del chitosano (a), dell'eparina (b) e del complesso chitosano-eparina (c).

Il trattamento elettrochimico ha permesso la formazione di depositi di differente spessore nel range tra 0,5-5  $\mu\text{m}$ . Lo spessore del singolo strato può essere variato, modificando le condizioni di deposizione. Il meccanismo proposto di deposizione dell'eparina è basato sull'uso di complessi non-stoichiometrici di chitosano-eparina. L'aggiunta di eparina alla soluzione di chitosano ha permesso un aumento della percentuale di deposito. È importante notare che l'eparina ha carica negativa e ci si può aspettare una deposizione anodica. Invece è stato visto che la repulsione elettrostatica tra le macromolecole di eparina alla superficie anodica impedisce la deposizione. La figura 1.14 mostra l'aumento della massa all'aumentare del tempo di deposizione, il che indica la formazione di depositi con spessore differente.

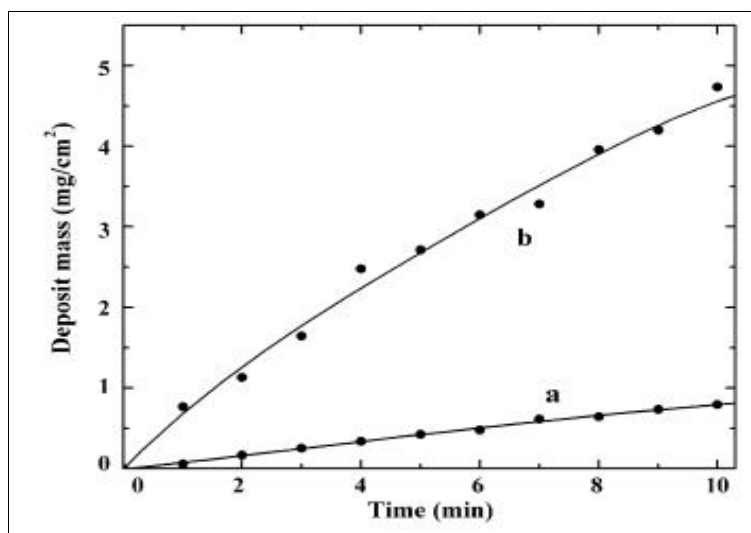


Fig. 1.15 – Massa depositata in funzione del tempo per depositi preparati da soluzioni di 0.5 g/L di chitosano su substrati di acciaio inox (a) senza e con (b) 0.2 g/L di eparina, applicando un potenziale di 10V.

La diminuzione della percentuale di deposito all'aumentare del tempo può essere attribuita alla caduta di tensione nello strato di depositato (Zhitomirsky, 2000). In questo studio è stato messo in evidenza che l'eq. di Hamaker, non può predire la crescita della massa del deposito in soluzione contenenti eparina, ma è stato possibile dire che tale massa è più bassa del valore teorico. Questo può essere attribuito alla repulsione elettrostatica di macromoleche di chitosano cariche positivamente.

### 1.3.2 *Coating con proprietà biologiche e meccaniche, a base di gelatina e chitosano*

La gelatina è un materiale naturale che deriva dal collagene e trova largo impiego come ingrediente nei cibi, nelle capsule farmaceutiche e per applicazioni di ingegneria tissutale (Huang, 2005); è un polimero biodegradabile che ha proprietà eccellenti di biocompatibilità, non-antigenicità, plasticità e adesività (Vliereberghe, 2007). La gelatina può formare un complesso polielettrolita con il chitosano, migliorando le proprietà meccaniche e biologiche del coating. Uno studio di Wang (2010) ha messo in luce che è possibile ottenere coatings con strutture macroporose, dove la dimensione dei pori è compresa nel range tra 50-200 $\mu$ m (fig. 1.16). Come già spiegato nel paragrafo 1.3, questo fenomeno è attribuibile all'evoluzione del gas all'elettrodo, che causa bolle di aria, che rimangono intrappolate nel deposito durante il processo di elettrodeposizione (Besra et al., 2007).

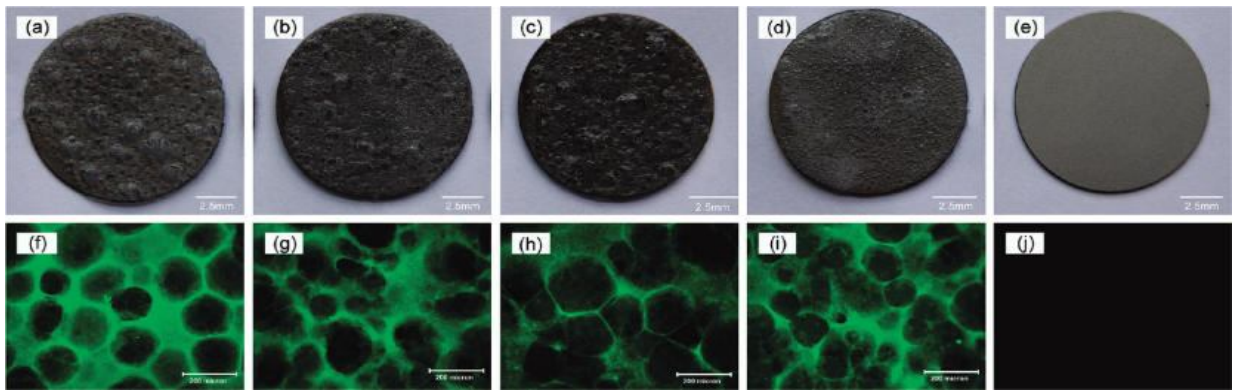


fig. 1.16 - Fotografie e immagini in fluorescenza dei chitosano (CS) puro e dei coatings di chitosano-gelatina: (a,f) chitosano puro; (b,g) coating CS/G30; (c,h)coating CS/G50; (d,i) CS/G70; e (e,j) titanio (Wang et al., 2010).

### 1.3.3 Coating ad azione antibatterica

Un'altra applicazione dei coating di chitosano per applicazioni biomedicali è la fabbricazione di nanocompositi. Pang et al. (2008) hanno studiato coatings nanocompositi di idrossiapatite (HA)-Ag-chitosano, ottenuti mediante combinazione di elettrodeposizione foretica di nanoparticelle di chitosano e HA, e di elettrodeposizione di Ag in soluzione di  $\text{AgNO}_3$ . I coating compositi sono stati depositati alternando strati di HA-chitosano e strati di Ag-chitosano. Il coating ha dimostrato di avere buone proprietà di biocompatibilità e antimicrobiche, e di permettere il rilascio controllato di ioni  $\text{Ag}^+$ . Infatti è stato dimostrato che la percentuale di ioni  $\text{Ag}^+$  rilasciati dallo strato di Ag-chitosano, può essere variato cambiando lo spessore dello strato superiore di HA-chitosano (fig. 1.17): coating bistrato permettono un più basso rilascio di ioni  $\text{Ag}^+$  rispetto al coating monostato di Ag-chitosano, permettendo quindi di prolungare la capacità antimicrobica a lungo termine.

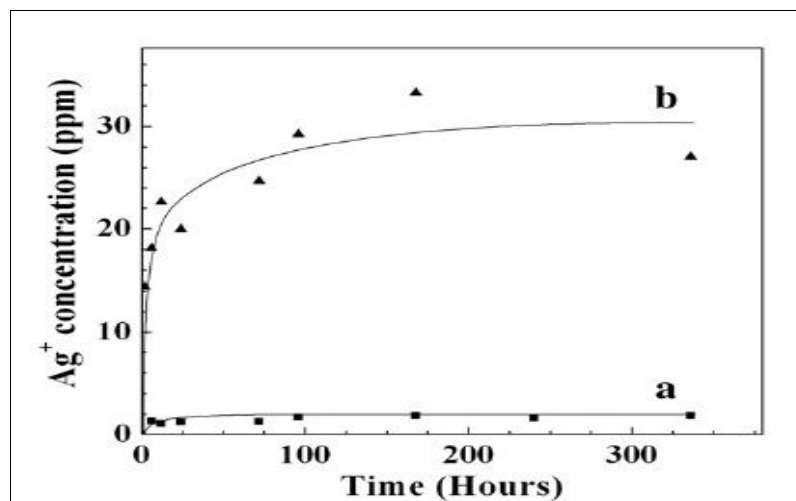


Fig. 1.17 - La concentrazione di ioni rilasciati in funzione del tempo in soluzione 0.5 g/l di chitosano, 1 mM di  $\text{AgNO}_3$ , in coating monostato di Ag-chitosano(a) e su coating bistrato HA-chitosano/Ag-chitosano (b). (Pang et al., 2008)

## Scopo del lavoro

I trattamenti elettrochimici, trovano oggi largo ampio impiego nel settore biomedicale come processi di modifica delle superfici biomedicali. Questo lavoro di tesi si è occupato di uno di questi metodi elettrochimici, ossia la deposizione catodica. Tale tecnica permette di ottenere depositi ad alta purezza e uniformità su substrati di forma complessa e permette un buon controllo dello spessore, della morfologia, della cristallinità e della stechiometria del deposito.

In particolare lo studio effettuato si è occupato di una particolare applicazione della tecnica di elettrodeposizione catodica, che è quella della modifica delle superfici metalliche. Infatti, lo studio è stato condotto applicando la tecnica, per la modifica di superfici di titanio, depositando chitosano in soluzione acquosa acida. Il chitosano nella sua forma protonata può essere disciolto in acqua e in soluzioni di acqua-etanolo e di acqua-metanolo a basso pH. È questa la caratteristica che lo rende molto interessante, per la tecnica di elettrodeposizione catodica, oltre ad aggiungere che il chitosano come noto, presenta notevoli proprietà: biocompatibilità, biodegradabilità, antibatteriche, etc.

A partire dall'esigenza di poter modificare superfici che si interfacciano con i sistemi biologici e quindi poter controllare la loro morfologia e struttura, si è giunti all'obiettivo del nostro lavoro.

Infatti, lo scopo del nostro studio è stato quello di controllare la morfologia del coating depositato, usando metodi elettrochimici. Secondo studi reperibili in letteratura, i parametri che influenzerebbero il processo di deposizione sono:

- tempo;
- pH e proticità della soluzione acida;
- tensione;
- densità di corrente.

Il lavoro ha quindi previsto lo studio degli effetti di tali parametri, mediante indagine quantitativa e morfologica del coating.

## 2.

### Materiali e metodi

Per la conduzione di questo lavoro si sono utilizzati i materiali e le strumentazioni messe a disposizione del Dipartimento di Chimica, Materiali e Ingegneria Chimica 'Giulio Natta' del Politecnico di Milano.

#### **2.1 *Provini di titanio***

Nel presente lavoro sono stati utilizzati dischetti di titanio(Ti) grado 2 C.P.(commercialmente puro) di diametro 15 mm e spessore 0.5 mm, ottenuti mediante punzonatura da lastre.

##### **2.1.1 Procedura di decapaggio**

Il decapaggio è un' operazione di pulitura di una superficie metallica da ossidi, sali e altre sostanze presenti, effettuata con mezzi chimici. La superficie dei metalli(dopo fusione o altri trattamenti) è ricoperta di ossidi, di sali, di sostanze organiche o minerali diversi; tutte queste impurità conferiscono disomogeneità alla superficie e rendono impossibili i trattamenti che presuppongono una perfetta pulizia della superficie.

La procedura di decapaggio realizzata consiste in un etching in soluzione acida, in particolare è suddivisibile nelle seguenti fasi:

1. PREPARAZIONE: lavaggio dei dischetti di Titanio in acqua deionizzata;
2. DECAPAGGIO: etching acido in soluzione di acido nitrico  $\text{HNO}_3$  (30% v/v) e acido fluoridrico HF (10% v/v) per 3 minuti;
3. LAVAGGIO: pulitura statica del Ti, mediante bagno di acqua corrente per 1 ora e mezza e successivamente in bagno di acqua millipore per 10 minuti;
4. ASCIUGATURA, a temperatura ambiente per qualche minuto.



## ***2.2 Soluzioni elettrolitiche di chitosano utilizzate per la deposizione***

Per le prove di EDC sono state preparate soluzioni di 1g/l di chitosano in acqua acida.

Il chitosano utilizzato è chitosano in polvere (practical grade, >75% deacetilazione-Aldrich 417963 – CAS Number 9012-76-4).

Le soluzioni di chitosano realizzate per la deposizione, sono state ottenute utilizzando acidi differenti:

- ACIDO MONOPROTICO: acido acetico glaciale 99-100%, acquistato dalla Riedel-de Haën;
- ACIDO DIPROTICO: acido malonico, acquistato dalla Sigma-Aldrich;
- ACIDO TRIPROTICO: acido orto fosforico 85%, acquistato da Fluka.

Acque distillata e deionizzata sono state utilizzate per tutti gli esperimenti.

### ***2.2.1 Procedura di preparazione***

La procedura di preparazione delle soluzioni utilizzate per l' EDC, ha previsto le seguenti fasi:

- 1) Preparazione della soluzione acida, aggiungendo concentrazioni di acido note, in funzione del pH richiesto, in 100 ml di acqua millipore all'interno di un becker da 250ml;
- 2) Monitoraggio del pH mediante pH-metro manuale(Hanna Instrument), per verificare che sia quello richiesto;
- 3) Scioglimento del chitosano in quantità di 1 g/l nella soluzione acida, ponendo la soluzione così ottenuta su un agitatore magnetico, per facilitarne il processo;
- 4) Monitoraggio del nuovo pH raggiunto;
- 5) Aggiunta di piccole quantità di acido. Inizialmente quello che si verifica è un aumento del pH, causato dallo scioglimento del chitosano. Successive aggiunte di acido, serviranno ad abbassare il pH, fino a quello desiderato, ossia quello di partenza;
- 6) Monitoraggio del pH in condizioni dinamiche, per riprodurre le condizioni di utilizzo della soluzione, durante la procedura di elettrodeposizione catodica.

Qui di seguito si riporta una tabella delle concentrazioni iniziali di acido e del relativo pH della soluzione (Tab.2.1).

**Tab. 2.1** – Relazione tra concentrazione iniziale-pH dell' acido in soluzione elettrolitica utilizzata per l' EDC.

<b>TIPO DI ACIDO</b>	<b>CONCENTRAZIONE INIZIALE DELLA SOLUZIONE</b>	<b>PH</b>
ACIDO ACETICO (CH <sub>3</sub> COOH)	0,318 (% v/v)	3
	0,169 (% v/v)	3,3
	0,079 (% v/v)	3,7
	0.005 (% v/v)	4
ACIDO MALONICO (CH <sub>2</sub> (COOH) <sub>2</sub> )	0,013 (% p/v)	2,7
	0,011 (% p/v)	3
	0,009 (% p/v)	3,3
ACIDO FOSFORICO (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	0,006 (% v/v)	3

### **2.3 Procedura sperimentale: elettrodeposizione catodica**

Il lavoro è stato svolto utilizzando due setup sperimentali. Il primo setup, già in uso in lavori precedenti, ha permesso di comprendere le specifiche per ottimizzare il processo di EDC.

In particolare si è posta l' attenzione su due prerogative essenziali per il processo di EDC. La prima è il pH della soluzione elettrolitica e la seconda la densità di corrente. Entrambi sono i parametri variati durante la procedura, per studiarne gli effetti sulla deposizione.

Per garantire che all'interno del bagno elettrolitico non si generi un gradiente di pH, ma che la soluzione sia a pH controllabile e stabile in tutta la soluzione, è necessario che si abbia una

distribuzione delle linee di corrente, generate a partire dall'anodo, il più omogenea possibile. In questo modo il movimento delle cariche ioniche, avverrà in modo omogeneo su tutto il catodo (campione di titanio). Per questa ragione è stata utilizzata una geometria del sistema che prevede due barre di grafite (anodo), poste all'interno del bagno elettrolitico, con al centro il campione. In questo modo tutto il campione è interessato dalle linee di corrente.

Inoltre il processo di EDC, come detto nel capitolo 1, coinvolge le specie ioniche presenti in soluzione, per cui affinché tali specie siano omogeneamente distribuite e non si generino gradienti di concentrazione, che influenzano il prodotto di deposizione, è necessario garantire una miscelazione della soluzione. A tale scopo si è utilizzato un agitatore magnetico.

Il primo setup rispetto al secondo, non garantiva una miscelazione della soluzione e una distribuzione delle linee di corrente omogenea all'interno del bagno elettrolitico, come verrà evidenziato attraverso un'analisi macroscopia e morfologica del campione, nel capitolo 3.

Di seguito sono descritti i due setup sperimentali utilizzati e le rispettive procedure sperimentali a loro associate.

### ***2.3.1 Primo set-up sperimentale***

Per la prima parte sperimentale, è stata utilizzata una cella in PMMA (polimetilmetacrilato) ad opera dell'Officina Meccanica del Dip. "G.Natta" del Politecnico di Milano.

Essa è costituita di due parti, la base e il corpo (figura 2.1). La base ha forma di parallelepipedo al centro del quale sono presenti tre fori passanti, per le viti di serraggio. Il corpo è costituito da un cilindro cavo ( $\varnothing_{\text{esterno}} = 50\text{mm}$ , altezza = 50mm). La cavità a sua volta è distinta in due zone con disegno differente. La zona superiore a forma di tronco di cono rovesciato (base maggiore  $\varnothing = 30\text{mm}$ , base minore  $\varnothing = 14\text{mm}$ , altezza = 38,5mm) serve come camera per l'elettrolita, la base del cono viene chiusa dall'inserimento del campione da anodizzare.

Nella zona inferiore, di forma cilindrica ( $\varnothing = 15\text{mm}$ , altezza = 11.50 mm), viene inserito il campione ed il tubo di PVC ( $\varnothing = 11\text{mm}$ , altezza = 10mm) plastificato che serve da sostegno per il campione stesso quando la cella è montata: al suo interno sono inseriti una spugna metallica ed un filo metallico che costituiscono l' elettrodo negativo (catodo) che andrà collegato al morsetto negativo del potenziostato (modello BRV R1200 500 – 15, EUTRON, Italia). L'anodo è costituito da una barretta di grafite che andrà collegata al morsetto positivo del potenziostato.

Il corpo e la base sono attraversati da fori passanti che fungono da alloggiamenti per le viti di serraggio del sistema.

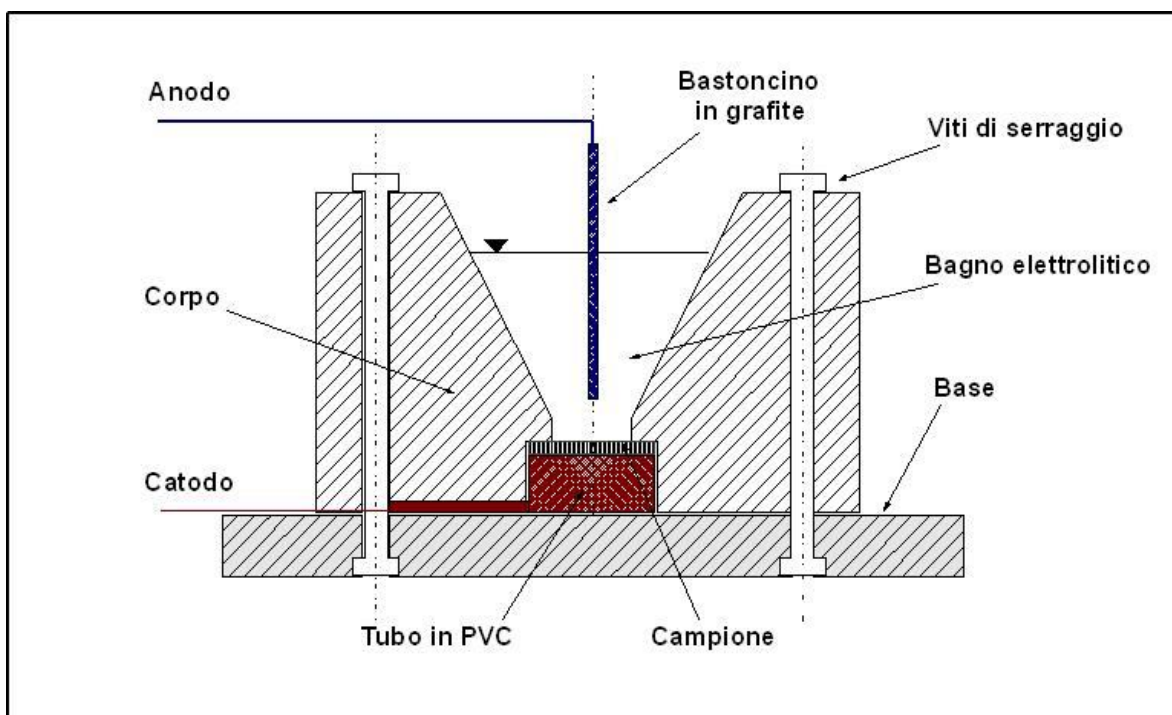
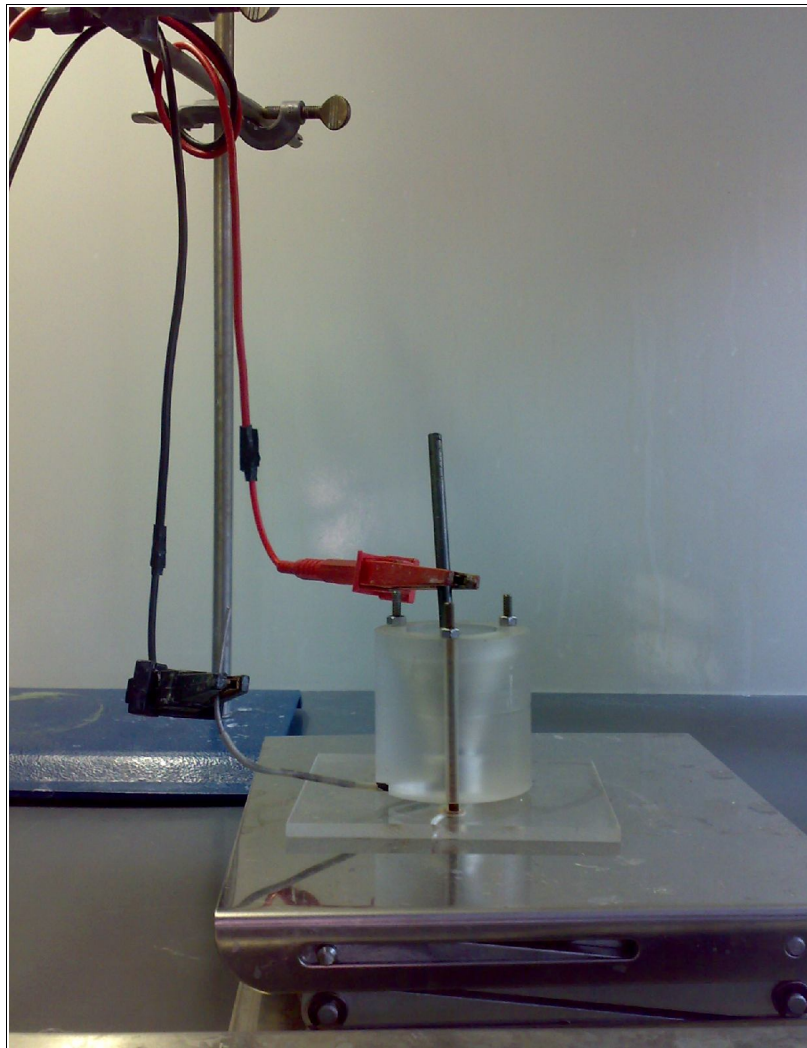


Fig. 2.1 - Schematizzazione della cella elettrolitica utilizzata per l' EDC.

### 2.3.1.1 Procedura sperimentale

La procedura di base eseguita per l' EDC è la seguente (fig 2.2):

- 1) montaggio del campione nella celletta e serraggio delle viti;
- 2) inserimento di 10 ml di soluzione elettrolitica all'interno della cella;
- 3) posizionamento del bastoncino di grafite all'interno della cella e connessione con il morsetto positivo del potenziostato;
- 4) connessione dell' anodo al morsetto negativo;
- 5) settaggio del potenziostato secondo i parametri di tensione e corrente sottoposti all'analisi e del tempo mediante cronometro;
- 6) smontaggio della cella e afferraggio del campione con pinza;
- 7) lavaggio statico del campione in acqua deionizzata;
- 8) posizionamento in piastra di Petri;
- 9) asciugatura a temperatura ambiente e in forno termostato a 37 °C, se necessario.



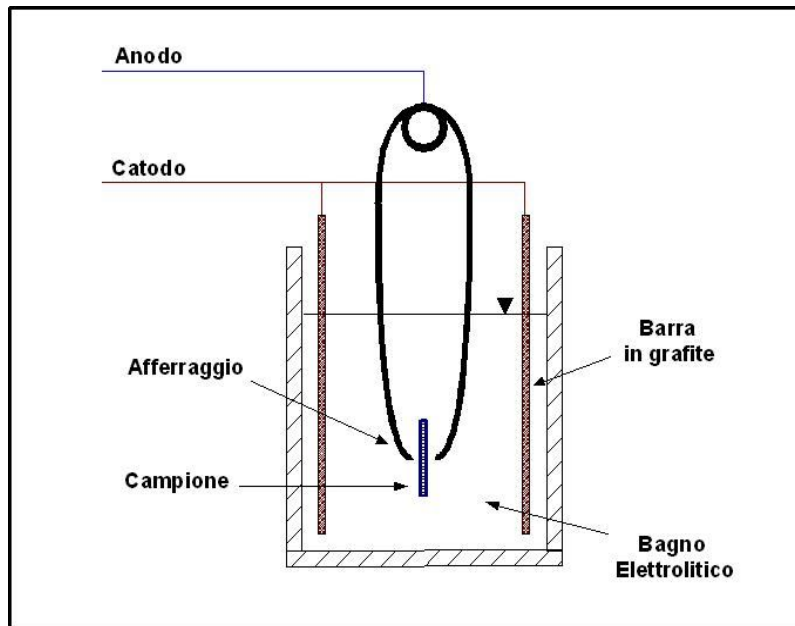
**Fig. 2.2** – Immagine del primo setup sperimentale utilizzato per la EDC

### ***2.3.2 Secondo setup sperimentale: ottimizzazione procedura sperimentale***

La serie di esperimenti condotti con il primo setup sperimentale, sono stati ripetuti con il secondo setup ottimizzato (fig. 2.3).

Il secondo setup si basa su un sistema costituito da una cella elettrolitica riempita di soluzione elettrolitica, in cui sono immersi due elettrodi. L'elettrodo negativo (catodo) è costituito dall'afferraggio per il campione di titanio, connesso al morsetto negativo del potenziostato. L'anodo è rappresentato da due barrette di grafite connesse al morsetto positivo del potenziostato.

La cella elettrolitica utilizzata per il nostro setup è stata realizzata mediante un contenitore di plastica e da un tappo anch'esso di plastica opportunamente modificato, che poggia su di esso, nel quale sono inserite le due barre di grafite (elettrodi) e l'afferraggio per il campione.



**Fig. 2.3.** - Schematizzazione del secondo setup sperimentale ottimizzato e a lato immagine del particolare del tappo opportunamente modificato per alloggiare l'afferraggio del campione e gli elettrodi di grafite.

### 2.3.2.1 Procedura sperimentale

La procedura di base eseguita per l'EDC è la seguente (fig. 2.4):

- 1) afferraggio del campione;
- 2) posizionamento del tappo su un becker contenente 100 ml di soluzione acida allo 1% di chitosano;
- 3) posizionamento del becker su un agitatore magnetico impostato a circa 200 giri/minuto, per garantire una migliore miscelazione e omogeneità di deposizione;
- 4) connessione dell' anodo (filo di rame) al morsetto positivo del potenziostato e del catodo (afferraggio) al morsetto negativo;
- 5) settaggio del potenziostato secondo i parametri di tensione e corrente sottoposti all' analisi e del tempo mediante cronometro;
- 6) lavaggio statico del campione in acqua deionizzata;
- 7) posizionamento in piastra di Petri;
- 8) asciugatura a temperatura ambiente e in forno tempestato a 37 °C se necessario.

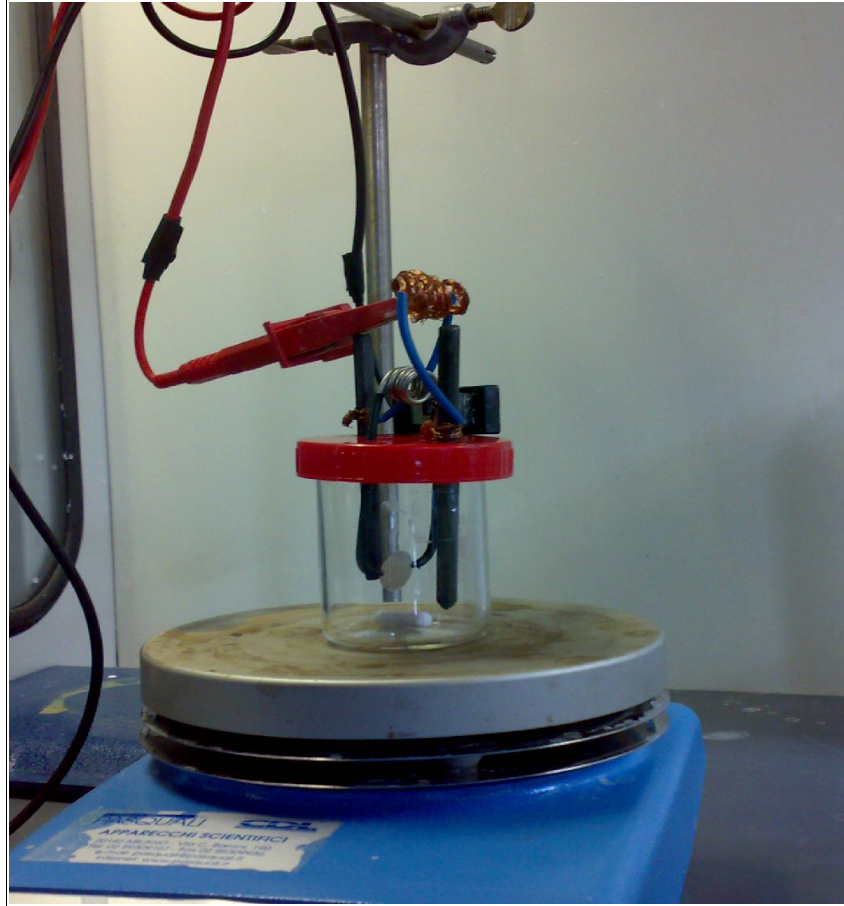


Fig. 2.4. - Immagine del secondo setup sperimentale ottimizzato utilizzato per l' EDC.

## 2.4 *Metodi di analisi macroscopica e morfologica delle matrici depositate*

### 2.4.1 *Peso dei depositi*

La determinazione della massa di chitosano depositata è stata effettuata per avere informazioni sulla cinetica e sull'efficacia del trattamento di elettrodeposizione. E' stata utilizzata a tale scopo una bilancia elettronica di precisione con risoluzione pari a 1 mg (Sartorius, FISOONS Instruments).

La massa dei depositi ( $M_d$ ) è stata calcolata come differenza tra la massa finale ( $M_f$ ) dei provini trattati, rilevata dopo la deposizione e l'asciugatura in forno termostato a 37 °C per una notte, e la massa del provino iniziale ( $M_i$ ). In particolare secondo la seguente relazione:

$$M_f - M_i = M_d$$

### 2.4.2 Micrografia ottica

I provini sono stati osservati attraverso il microscopio ottico a fluorescenza DMLM in riflessione, dopo un trattamento in fluorescina. È stata utilizzata fluorescina sottoforma di sale di sodio in polvere (Sigma-Aldrich F6377–CAS Number 518-47-8); l'immagine del sale è riportata in fig. 2.5.

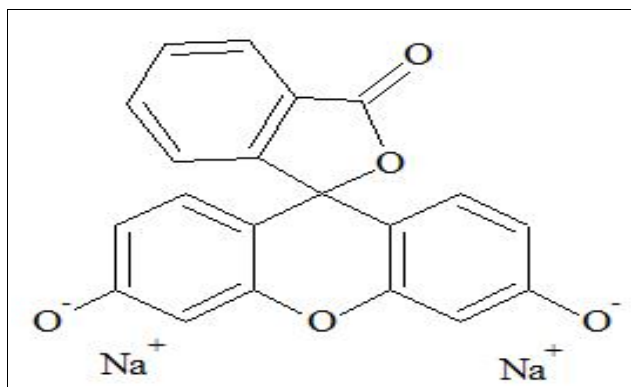


Fig. 2.5 - Fluorescina sodica.

La procedura seguita è stata estratta da un lavoro precedente di tesi (Rubini F. 2008), secondo indicazioni reperibili in letteratura (SAKAI Y *et al.*, 2002):

- 1) preparazione di una soluzione di etanolo con 0,025% (p/v) di fluorescina;
- 2) immersione per 1 ora dei campioni su cui si è elettrodepositato, in un becker contenente la soluzione di fluorescina che viene avvolto con alluminio, per proteggere la soluzione di fluorescina dalla luce;
- 3) lavaggio dei provini con acqua millipore, dopo averli afferrati singolarmente con una pinza teflonata;
- 4) asciugatura a temperatura ambiente per 24 h dei campioni in piastra di Petri e se necessario, in forno termostato a 37° per qualche ora, sempre mantenendo la piastra multipozzetto che li contiene avvolta nella carta stagnola.

I provini asciutti sono stati quindi sottoposti ad osservazione al microscopio ottico in fluorescenza.



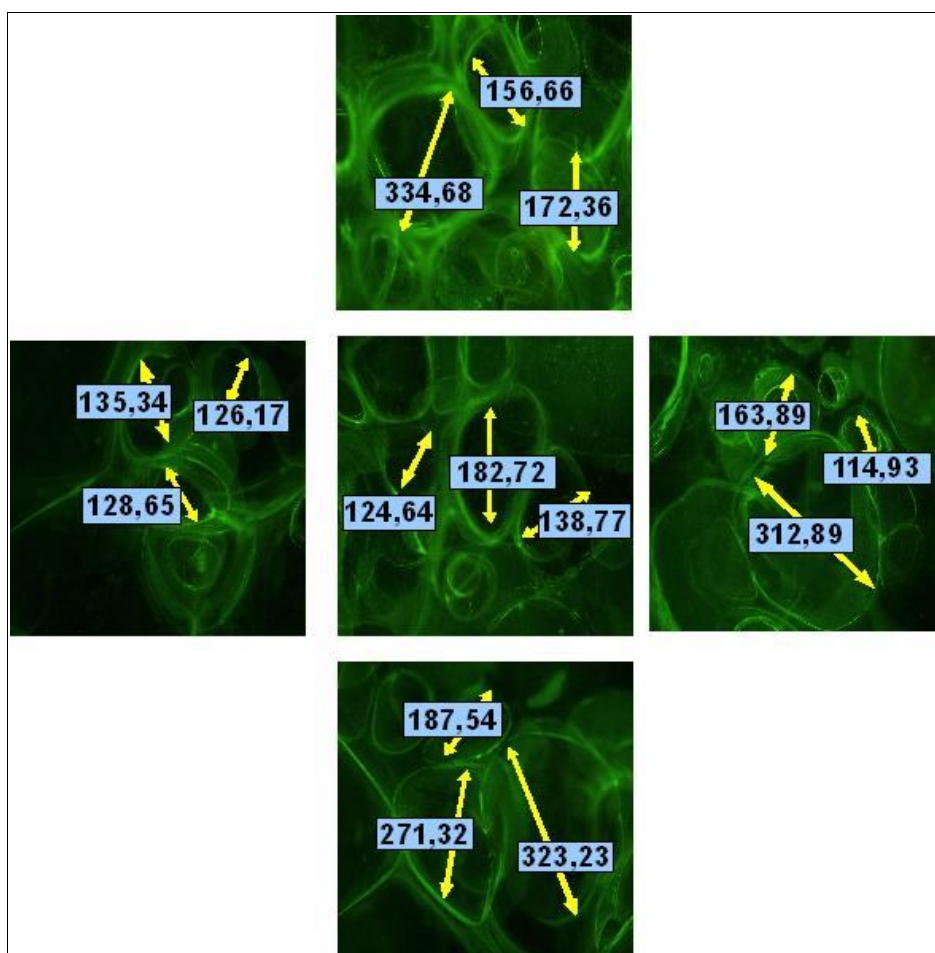
## 2.5 *Analisi statistica del diametro dei pori dei depositi di chitosano*

È stata condotta un'analisi statistica del diametro dei pori del coating di chitosano depositato sul campione di titanio, attraverso le immagini ottenute in fluorescenza mediante software LEICA application suite.

In particolare a partire dalle 5 immagini acquisite per ogni campione, corrispondenti alle viste centro, nord, sud, est e ovest, si è calcolato il valore del diametro medio, utilizzando un numero minimo di valori per ciascuna vista, pari a 3.

La fig. 2.6, riporta un esempio di come è stato svolto il conteggio su una immagine in fluorescenza di un provino dopo EDC.

Tali valori sono stati correlati ai parametri variati durante le deposizioni: tensione, densità di corrente, pH della soluzione, tempo di deposizione e proticità dell'acido in soluzione.



**Fig. 2.6** – Immagine di una tipica acquisizione per l'analisi statistica del diametro medio dei pori da un' immagine in fluorescenza di un campione dopo l' EDC .

## 3.

### Risultati

Nel seguente capitolo verranno presentati i risultati relativi all' analisi macroscopica e morfologica dei campioni sottoposti alla procedura di elettrodeposizione catodica..

#### *3.1 Confronto tra i due setup sperimentali utilizzati per l'EDC*

la prima fase di questo lavoro di tesi ha riguardato l'ottimizzazione del setup di deposizione. Il confronti dei due setup si è basato sulle differenze relative alla massa di deposito e alla omogeneità di quest' ultimo sul campione. Sono state eseguite delle deposizioni, utilizzando soluzioni di acido acetico a pH 4 ed è stata variata la durata di deposizione. In particolare i parametri di deposizione sono stati:

- $\text{pH}_{\text{soluzione}} = 4$ ;
- $j = 5\text{mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ ;
- $V_{\text{LIMITE}} = 99,8\text{V}$ ;
- $t = 1 - 20\text{min}$ .

Le deposizioni sono state eseguite con il primo setup che chiameremo per comodità OLD\_EDC e con il secondo setup ottimizzato, che invece chiameremo NEW\_EDC, utilizzando i medesimi parametri sopracitati.

### 3.1.1 *Peso dei depositi*

In tabella 3.1 è riportato l'andamento della massa di chitosano depositata, normalizzata alla superficie di deposizione, in funzione della durata di deposizione.

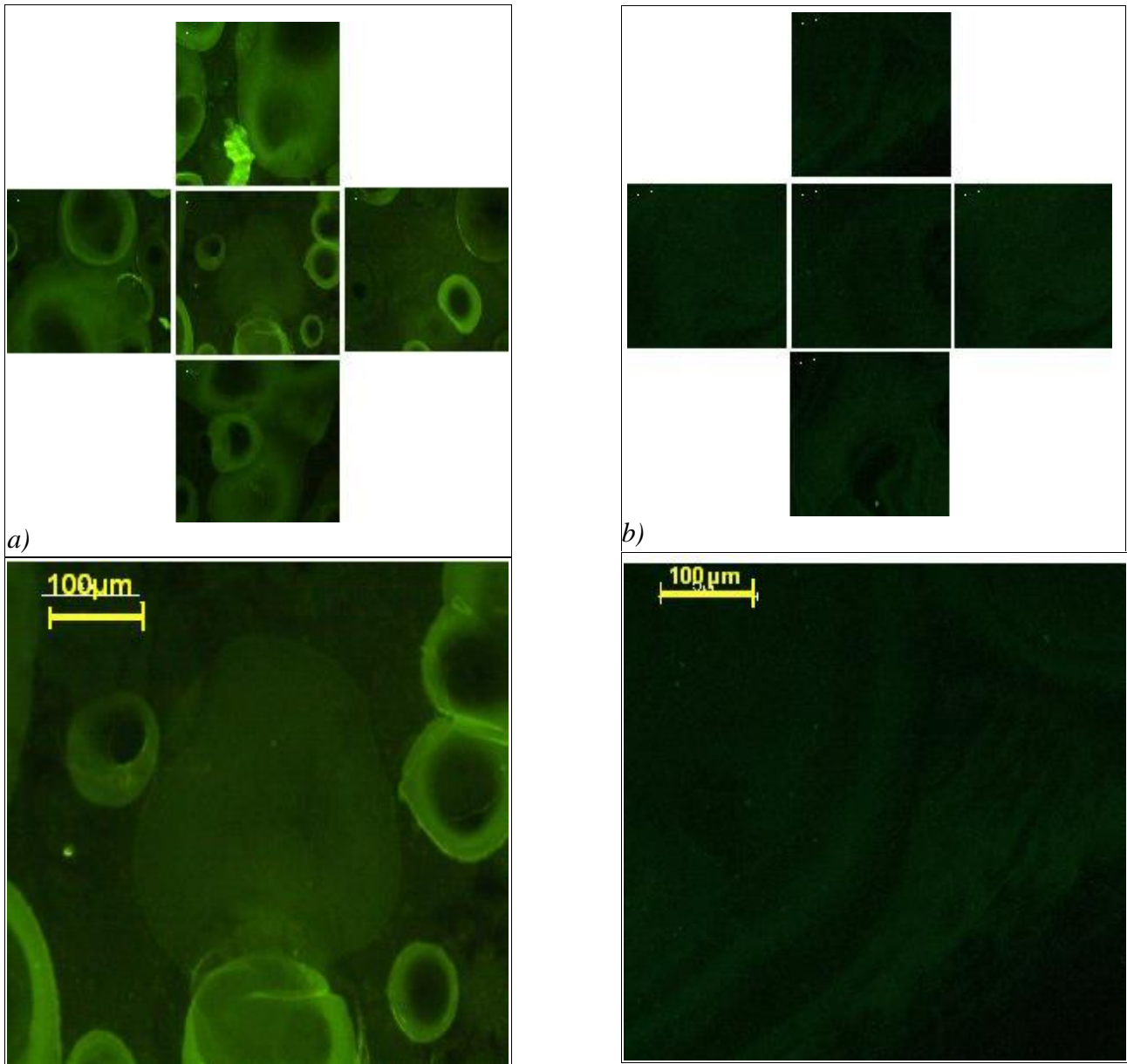
**Tab. 3.1.** - Massa media del coating normalizzato alla superficie di deposizione al variare della durata di deposizione, per campioni trattati in soluzione di acido acetico a pH 4, utilizzando i setup NEW\_EDC e OLD\_EDC.

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa media deposito/superficie di deposizione (mg·cm<sup>-2</sup>)</b>	
	<b>NEW_EDC</b>	<b>OLD_EDC</b>
1	0,650	0,022
4	2,120	1,095
8	2,238	1,281
20	8,390	1,860

Si osserva dalla tabella un aumento della massa all'aumentare della durata di deposizione e i valori risultano superiori per i campioni trattati con NEW\_EDC rispetto a quelli trattati con OLD\_EDC, a parità di durata di deposizione.

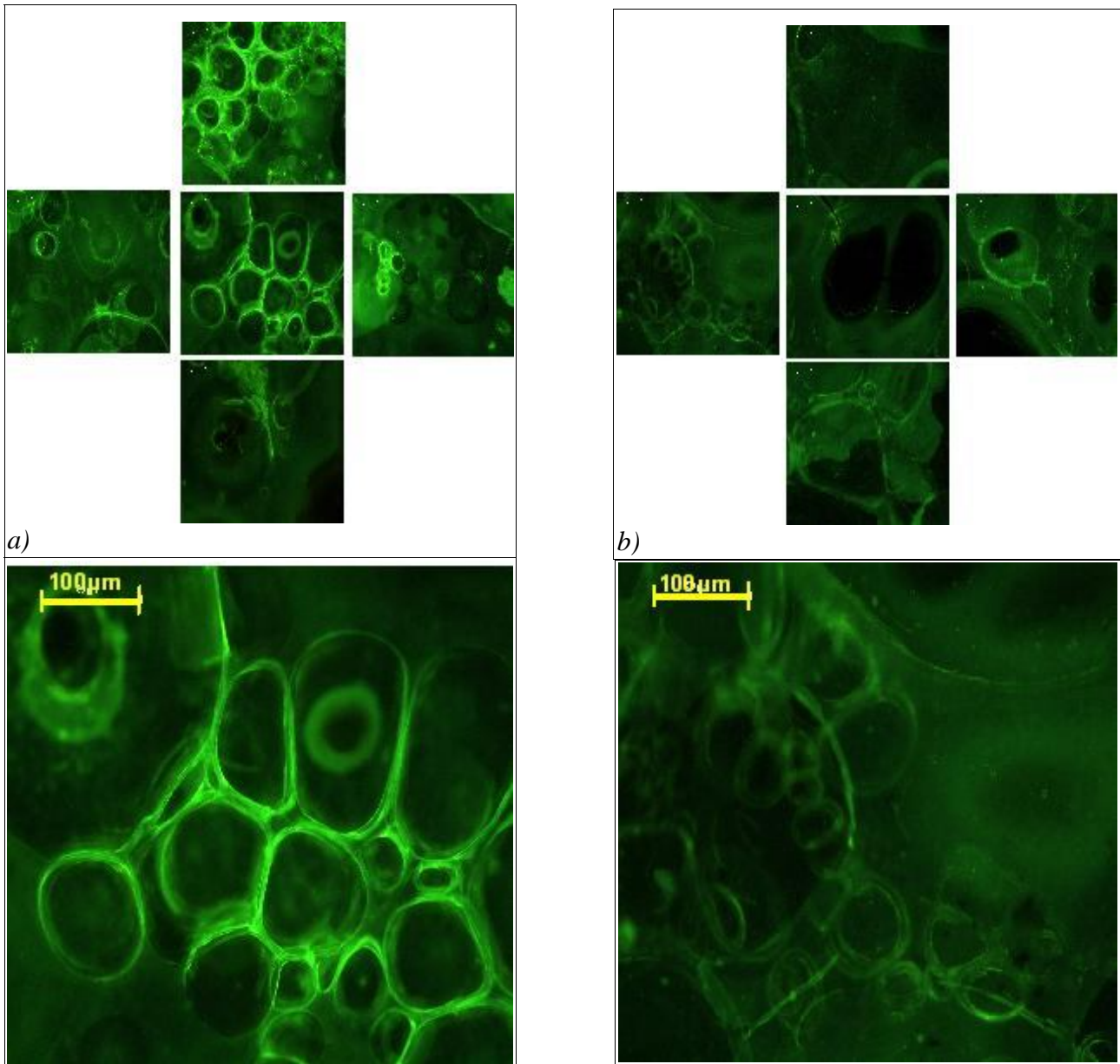
### 3.1.2 *Analisi al microscopio ottico in fluorescenza*

Per ottenere le prime informazioni qualitative riguardo alla morfologia e all' uniformità del coating, i campioni sottoposti a EDC, secondo i parametri descritti nel paragrafo 3.1, sono stati osservati al microscopio ottico in fluorescenza, dop aver eseguito la colorazione dei campioni in soluzioni di fluorescina.



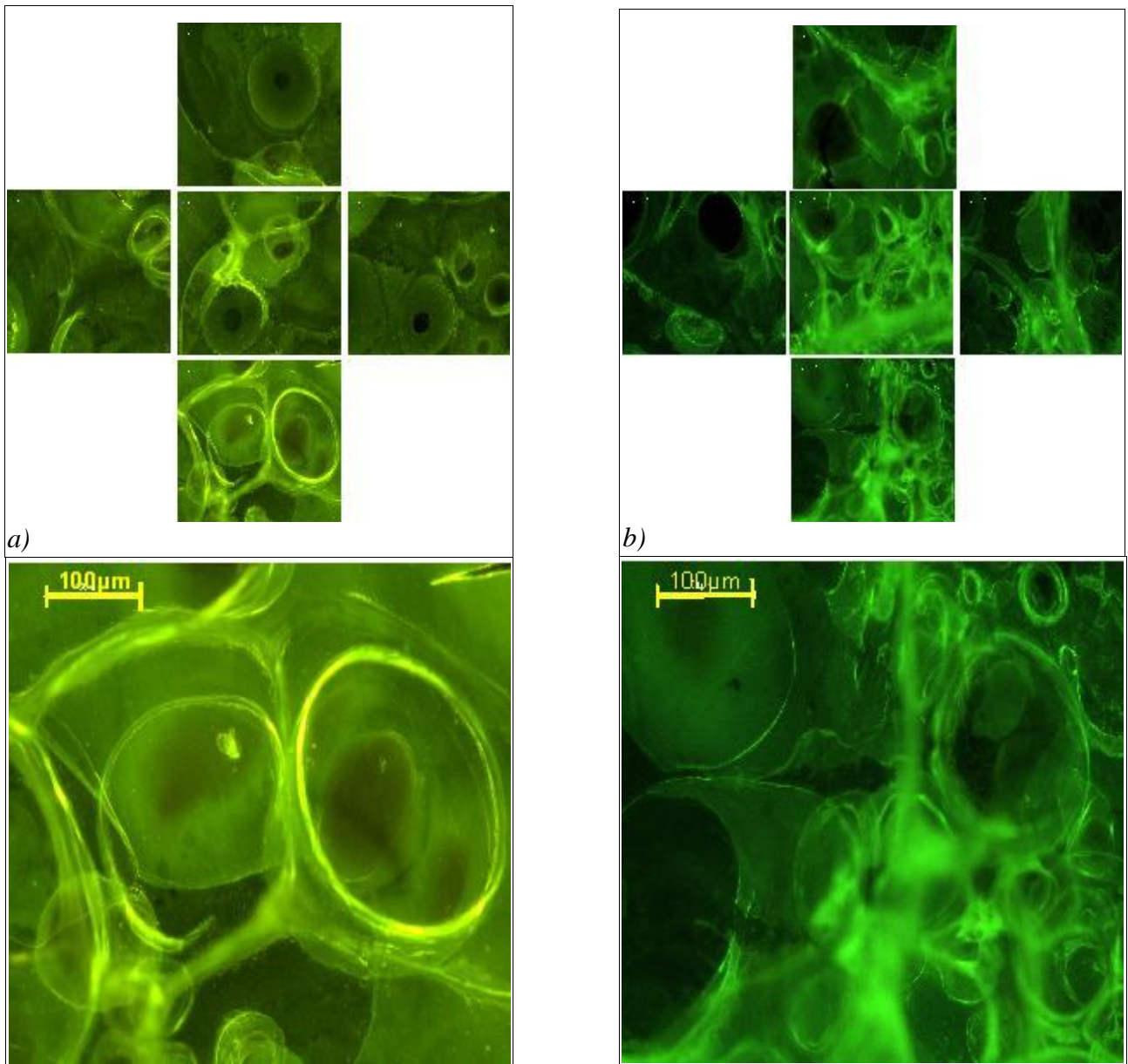
**Fig. 3.1** - Immagine al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC in soluzione di acido acetico allo 1% di chitosano, a pH 4, per  $t = 1$  min: a) NEW\_EDC ; b) OLD\_EDC.

In fig. 3.1, il coating appare omogeneo per il campione ottenuto per NEW\_EDC, mentre è assente per quello ottenuto per OLD\_EDC. La porosità è chiusa per I campioni NEW\_EDC.



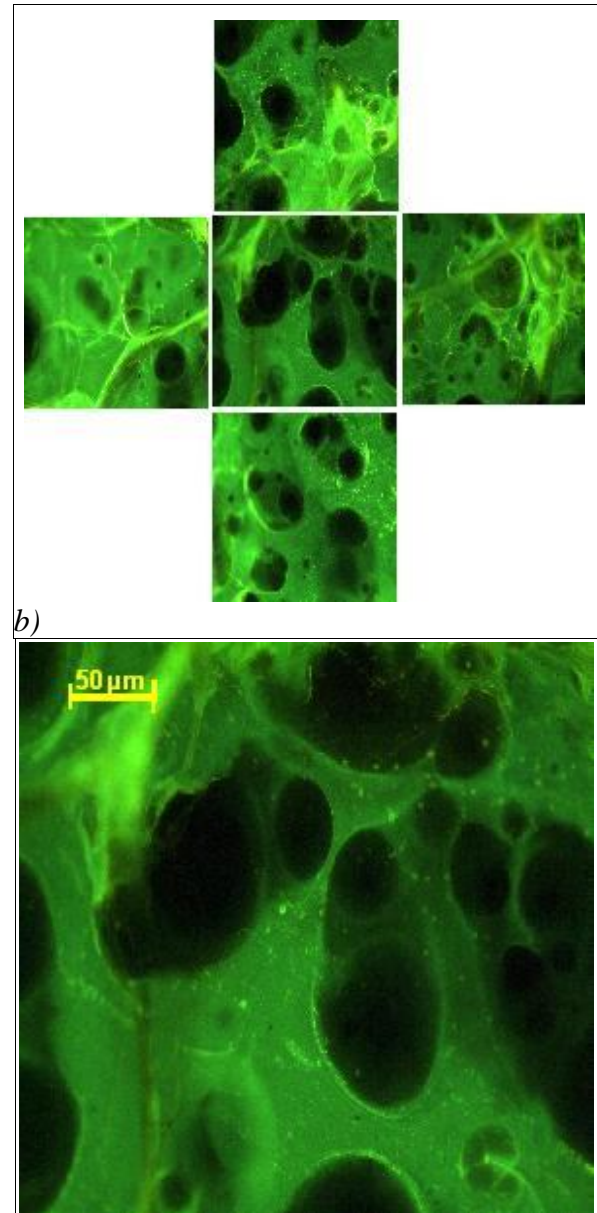
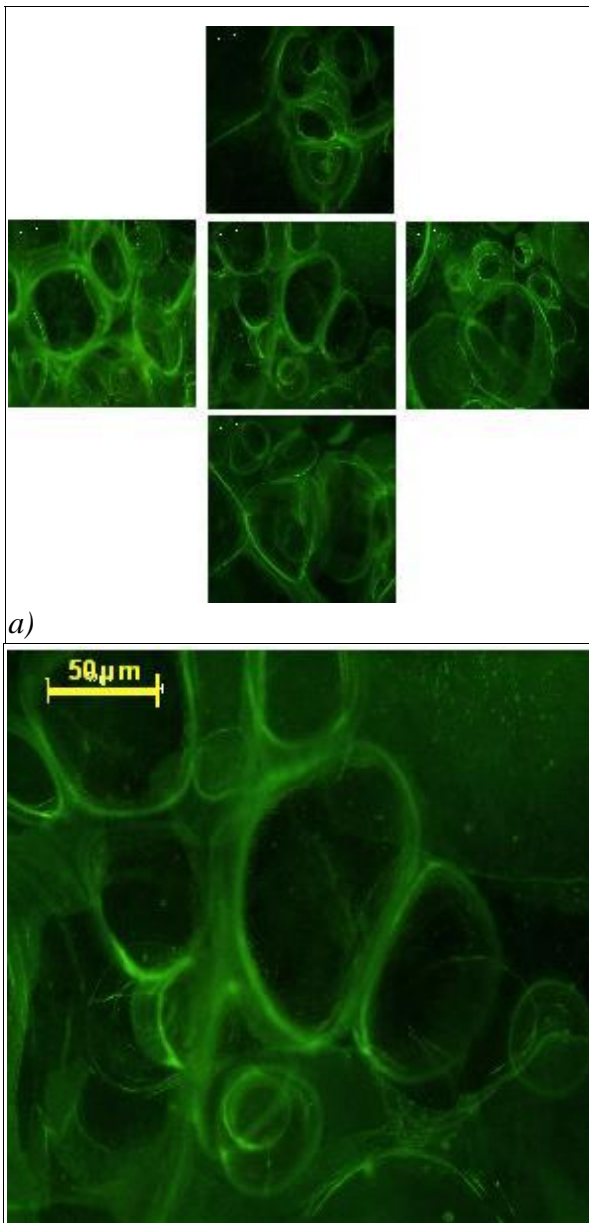
**Fig.3.2** - Immagine al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC in soluzione di acido acetico allo 1% di chitosano, a pH 4, per t = 4 min: a) NEW\_EDC; b) OLD\_EDC.

In fig. 3.2 , il coating appare omogeneo per il campione ottenuto per NEW\_EDC , mentre lo è meno per quello ottenuto per OLD\_EDC. Osservando I particolari di una delle 5 viste per ogni campione si osserva una porosità aperta per il coating ottenuto per NEW\_EDC e chiusa per quello ottenuto per OLD\_EDC.



**Fig. 3.3** - Immagine al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC in soluzione di acido acetico allo 1% di chitosano, a pH 4, per  $t = 8$  min: a) NEW\_EDC; b)OLD\_EDC.

In fig. 3.3 si osserva che il coating appare omogeneo per il campione ottenuto per NEW\_EDC , mentre lo è meno per quello ottenuto per OLD\_EDC. Inoltre la porosità è aperta per entrambi I trattamenti.



**Fig. 3.4** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC in soluzione di acido acetico allo 1% di chitosano, a pH 4, per 20 minuti: a); b) OLD\_EDC.

In fig. 3.4, si osserva che il coating appare omogeneo per entrambi i campioni. La porosità è aperta per il campione ottenuto per NEW\_EDC, mentre è chiusa per l'altro campione..

## 3.2 *Elettrodeposizione catodica in soluzioni elettrolitiche di chitosano al variare del pH*

Per analizzare l'influenza del pH della soluzione elettrolitica di chitosano, sul deposito ottenuto sono state eseguite prove di EDC con soluzioni di acido acetico e acido malonico allo 1% di chitosano, a differente pH.

La procedura sperimentale utilizzata è quella ottimizzata (NEW\_EDC).

### 3.2.1 *Deposizione in soluzione di acido acetico*

Le prove di EDC, sono state eseguite utilizzando soluzioni di acido acetico allo 1% di chitosano, variando la concentrazione iniziale di acido, per ottenere il pH della soluzione da sottoporre all'analisi, come descritto nel paragrafo 2.2.1.

In particolare sono stati utilizzati i seguenti parametri sperimentali per l'EDC:

- $\text{pH} = 3 - 3.3 - 3.7 - 4$ ;
- $V_{\text{LIMITE}} = 99.8 \text{ V}$ ;
- $j = 5 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ ;
- $t = 4 - 8 - 12 - 20 \text{ min.}$

#### 3.2.1.1 *Peso dei depositi*

In tabella 3.2 si riportano i valori della massa media dei depositi, normalizzata alla superficie di deposizione, dei campioni trattati secondo i parametri descritti sopra.

Tempo (min)	Massa media deposito/superficie di deposizione ( $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ )	
	pH 3	pH 4
4	0,270	2,29
8	1,036	2,51
12	1,329	3,32
20	1,936	5,92

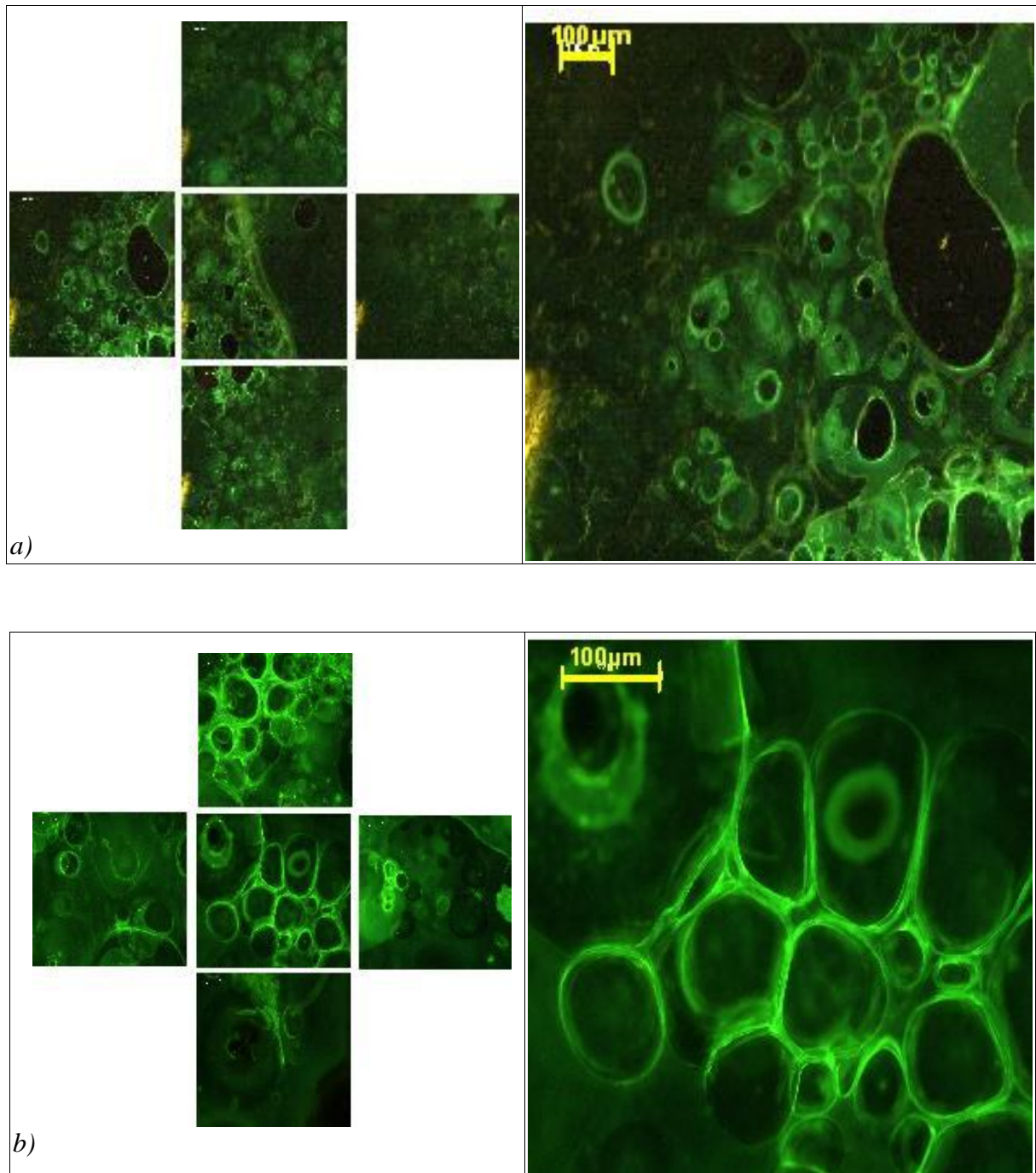
**Tab. 3.2** - Massa media del coating normalizzata alla superficie di deposizione, al variare della durata di deposizione e del pH della soluzione di acido acetico.

Si osserva dalla tab. 3.2, una crescita dei valori della massa del coating depositato, all' aumentare della durata di deposizione



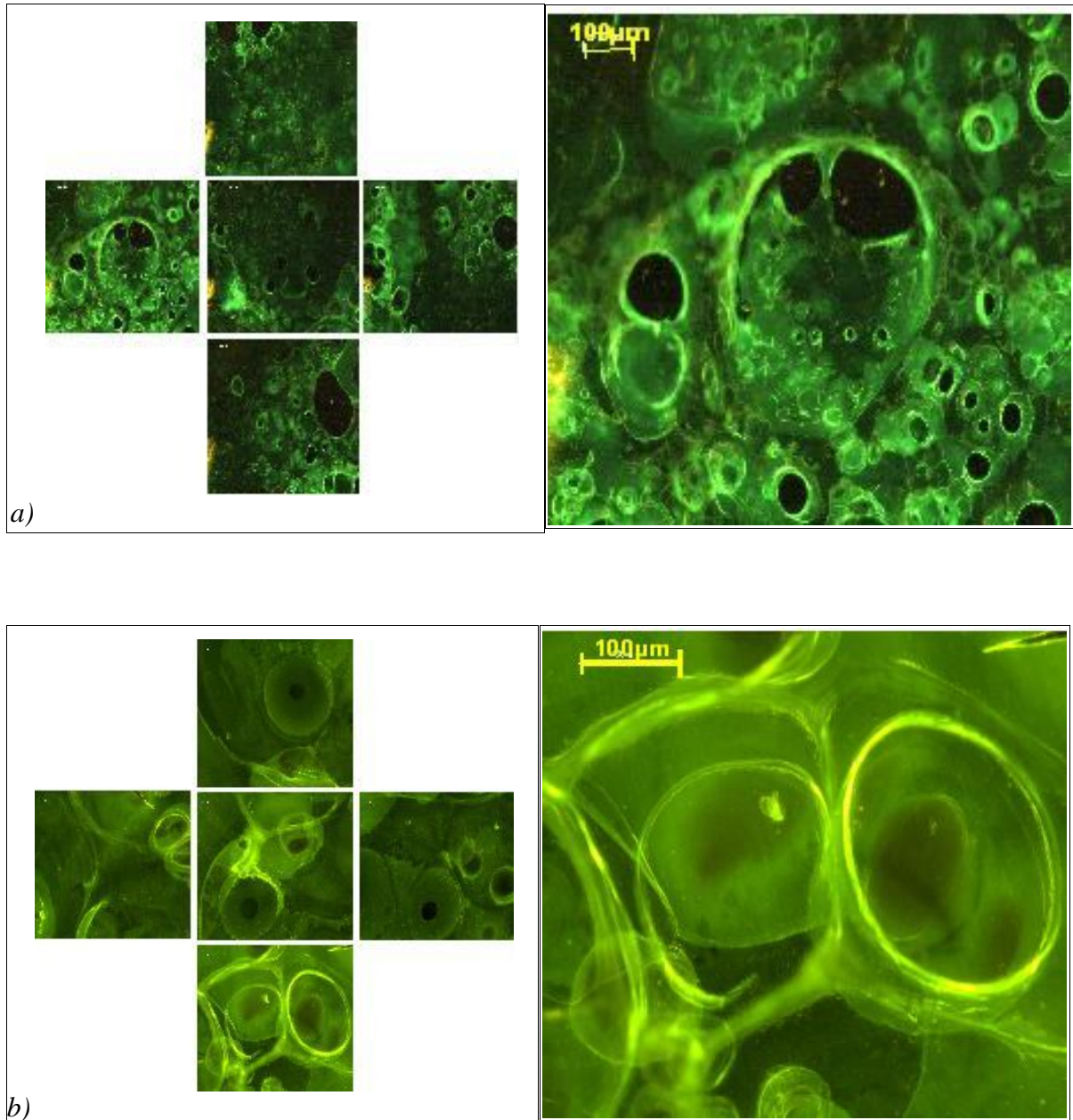
### 3.2.1.2. Analisi al microscopio ottico in fluorescenza

Le fig. 3.5 - 3.8, mostrano le immagini al microscopio ottico in fluorescenza dei campioni sottoposti ai parametri descritti nel paragrafo 3.2.1.



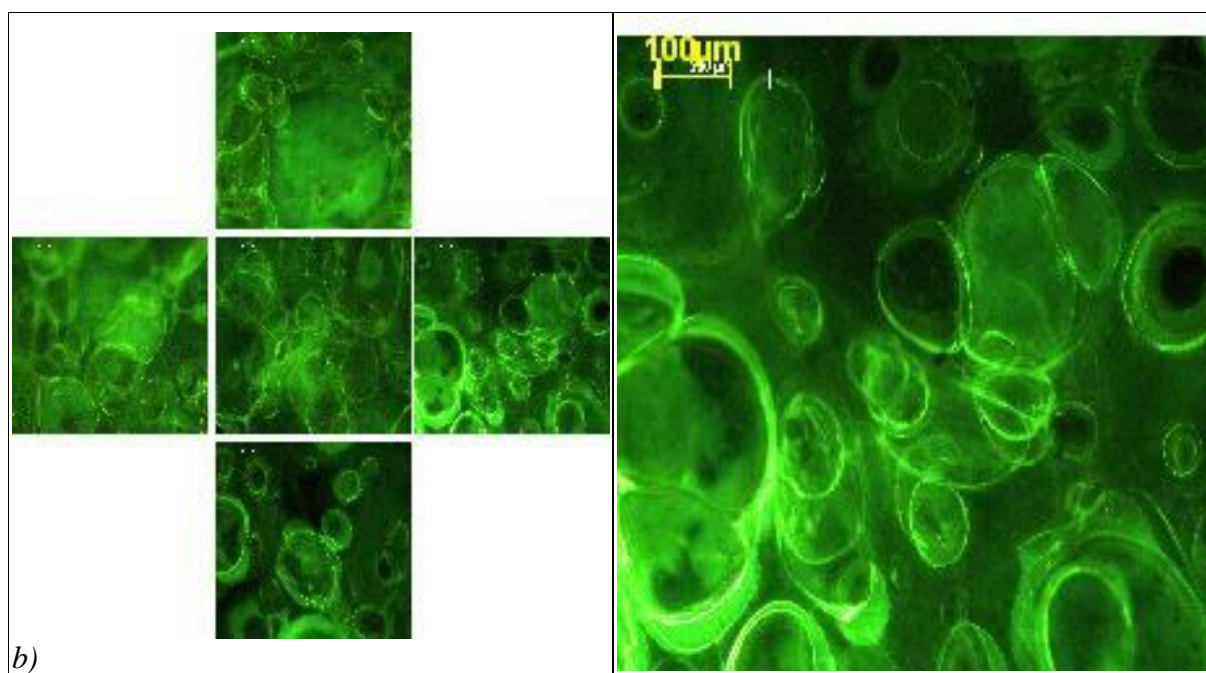
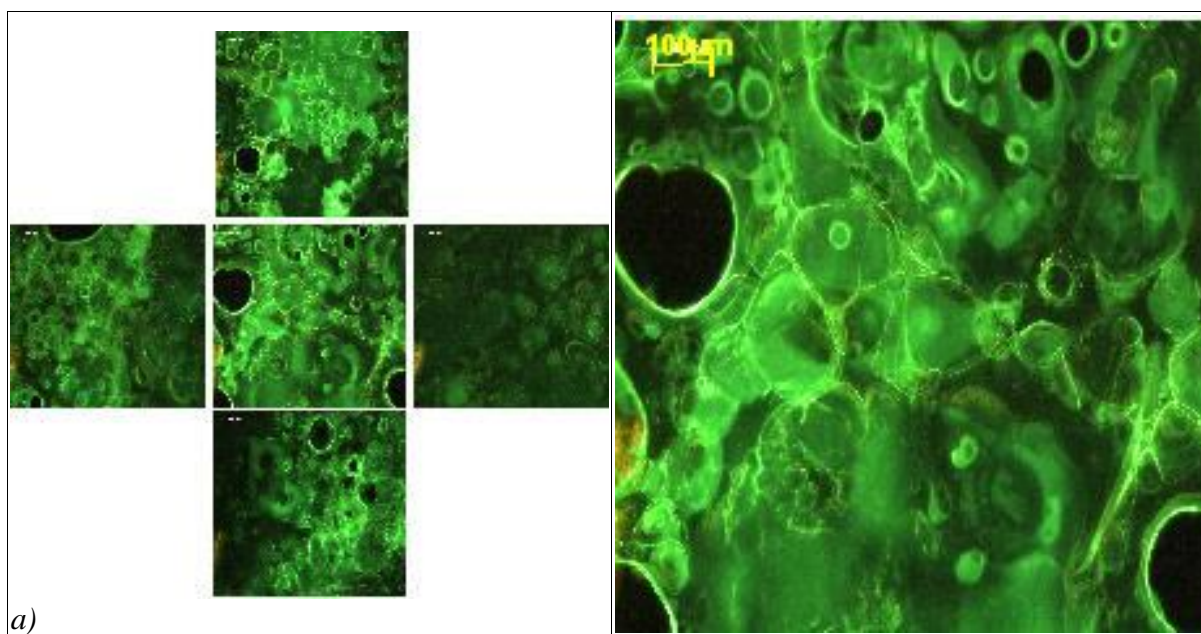
**Fig. 3.5** - Immagine al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico allo 1% di chitosano, dopo EDC, per  $t = 4$  minuti: a) pH = 3; b) pH = 4.

In fig. 3.5, il coating per pH 3 presenta una porosità distribuita poco omogeneamente, diversamente da quello ottenuto a pH 4. La porosità è chiusa per il coating a pH 3 e aperta per quello a pH 4.



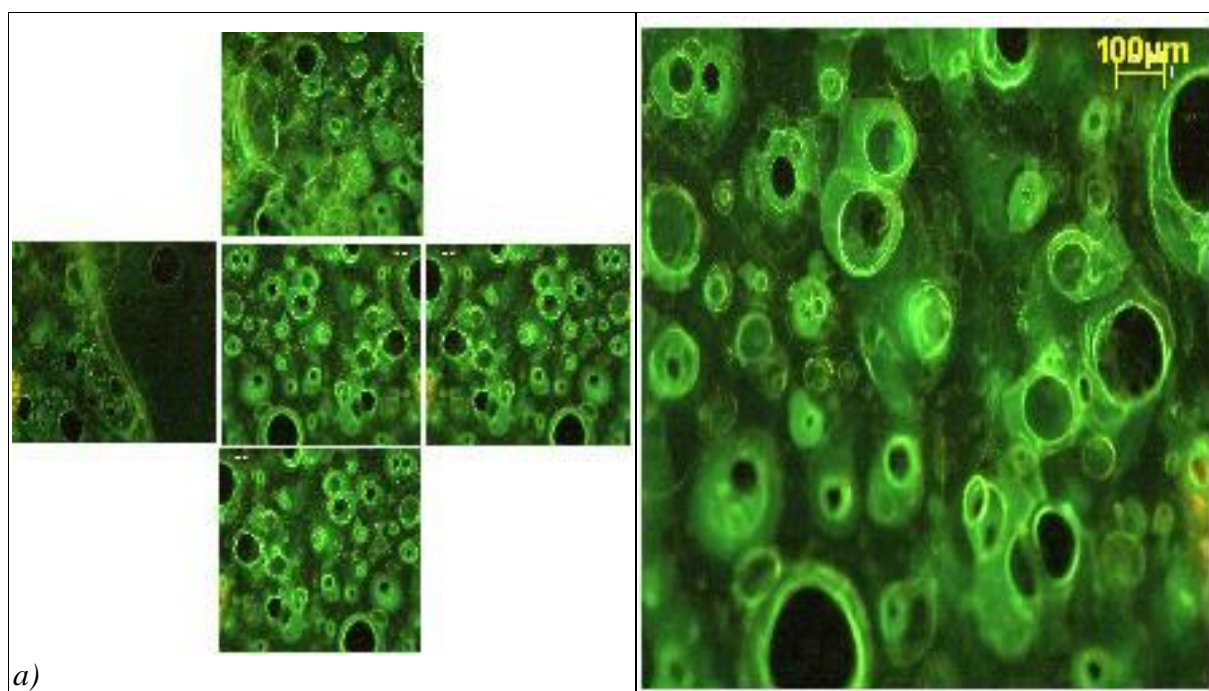
**Fig.3.6** - Immagini al microscopio ottico in fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 8 minuti: a) pH = 3; b) pH = 4.

In fig.3.6, entrambi i coating presentano una porosità omogeneamente distribuita. La porosità è chiusa per il coating a pH 3 e aperta per pH 4. Inoltre si osserva che a pH 3, la dimensione media dei pori è inferiore rispetto a quella per pH 4.

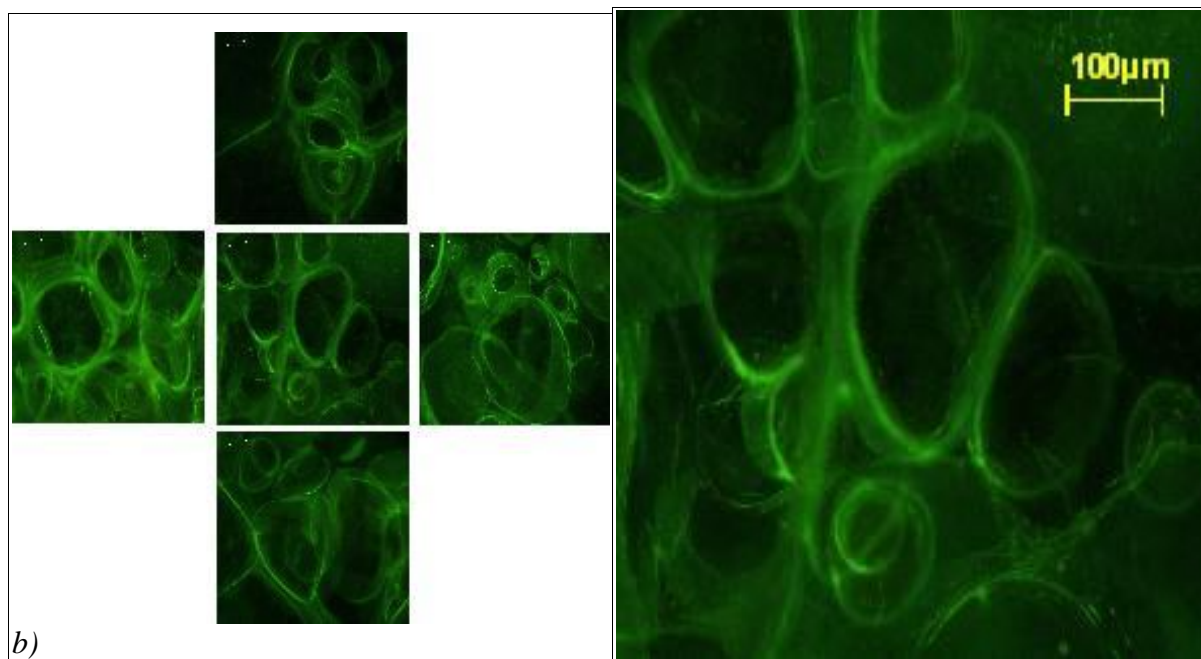


**Fig.3.7** - Immagini al microscopio ottico in fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico allo 1% di chitosano, dopo EDC per 12 minuti: a) pH = 3; b) pH = 4.

In fig.3.7, entrambi i coating presentano una porosità omogeneamente distribuita. La porosità è quasi sempre chiusa per pH 3 e poco aperta per pH 4. La dimensione media dei pori per pH 3 appare inferiore rispetto a quella ottenuta a pH 4.



*a)*



*b)*

**Fig.3.8** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico allo 1% di chitosano, dopo EDC per 20 minuti: a) pH = 3; b) pH = 4.

In fig.3.8 i coating presentano entrambi una porosità omogeneamente distribuita. Per pH 3 la porosità è aperta, mentre per pH 4 è quasi sempre aperta. Anche in queste immagini si osserva che la dimensione media dei pori, per pH 3 è inferiore rispetto a quella del coating per pH 4.

### 3.2.1.3 Analisi statistica del diametro dei pori

In tabella 4.3 si riportano i valori del diametro medio misurato per ogni campione, secondo il metodo descritto nel paragrafo 3.5.

**Tab. 3.3** – Valori di diametro medio misurato al variare dei parametri tempo e pH.

<b>Tempo di deposizione (min)</b>	<b>Diametro medio dei pori (<math>\mu\text{m}</math>)-Dev.standard</b>	
	<b>pH 3</b>	<b>pH 4</b>
<b>4</b>	41,5 (17,6)	122,3 (18,67)
<b>8</b>	48,05 (15,08)	166,6 (19,43)
<b>12</b>	56,96 (11,9)	189,13 (15,97)
<b>20</b>	73,65 (7,32)	191,32 (10,8)

Dalla tabella 3.3, si osserva un distacco elevato dei valori del diametro medio dei pori, del coating ottenuto per trattamento in soluzione di acido acetico a pH 4, rispetto a quelli misurati per pH 3.

### 3.2.2 Deposizione in soluzione di acido malonico

Le prove di EDC, sono state eseguite utilizzando soluzioni di acido malonico allo 1% di chitosano, variando la concentrazione iniziale di acido, per ottenere il pH da sottoporre all'analisi come descritto nel paragrafo 3.2.

In particolare sono state utilizzati i seguenti parametri per l'EDC:

- $\text{pH} = 2.7 - 3 - 3.3$ ;
- $V_{\text{LIMITE}} = 99.8 \text{ V}$ ;
- $j = 5 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ ;
- $t = 1 - 2 - 4 - 8 - 12 - 20 \text{ min.}$

#### 3.2.2.1 Peso dei depositi

In tabella 3.4 si riportano i valori della massa media dei depositi, normalizzati alla superficie di deposizione, per ogni tempo di deposizione e pH della soluzione acida utilizzata.

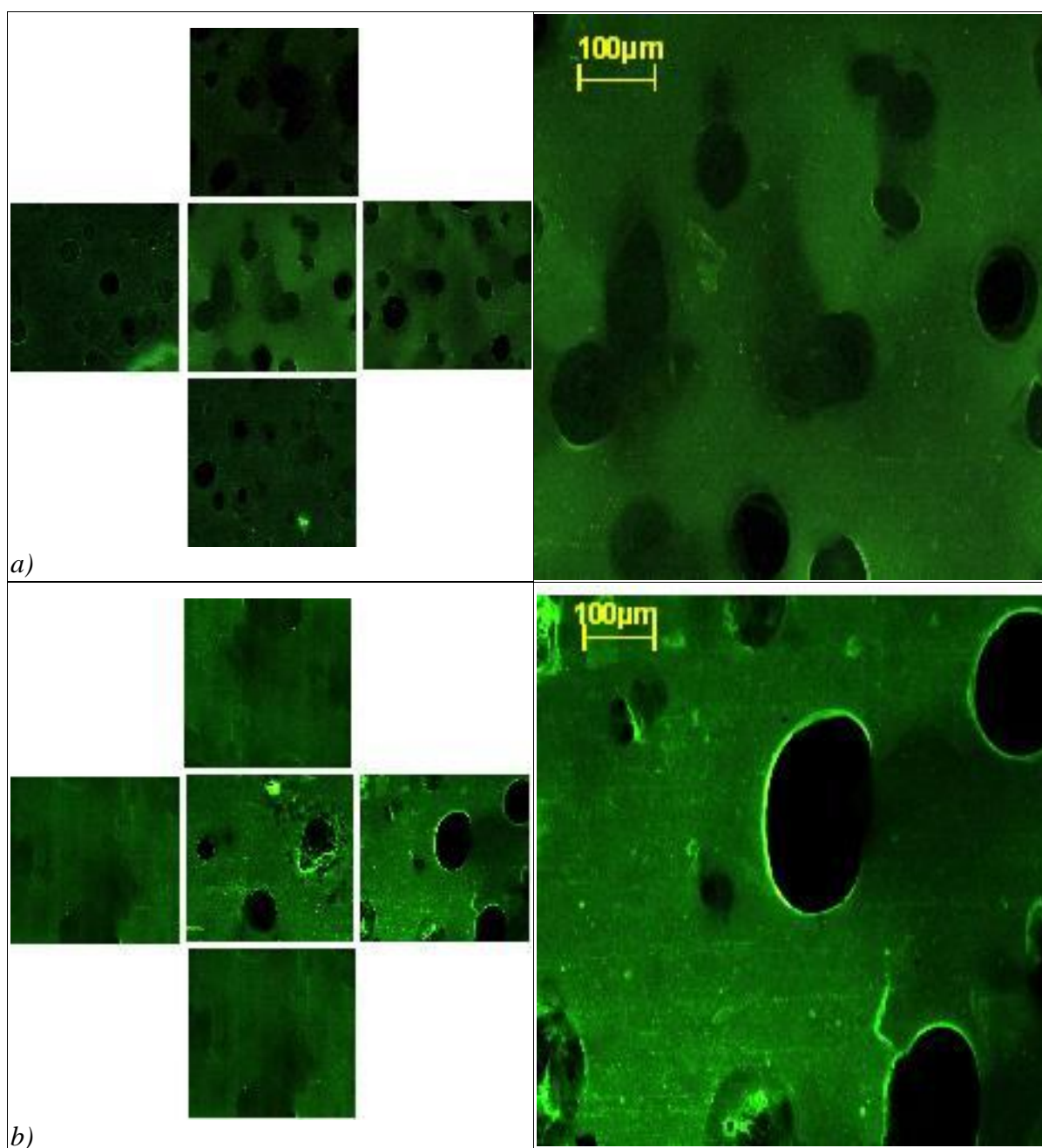
**Tab. 3.4** - Massa media del coating normalizzato alla superficie di deposizione al variare della durata di deposizione e del pH della soluzione di acido malonico.

Durata di deposizione (min)	Massa media deposito/superficie di deposizione ( $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ )		
	PH 2,7	PH 3	PH 3.3
1	0,087	0,109	0,235
2	0,147	0,277	0,495
4	0,282	0,747	1,141
8	0,667	1,119	1,306
12	1,121	1,515	1,806
20	1,736	2,208	2,476

Si osserva dalla tabella 4.4, una crescita della massa all'aumentare della durata del tempo di deposizione e del pH della soluzione acida.

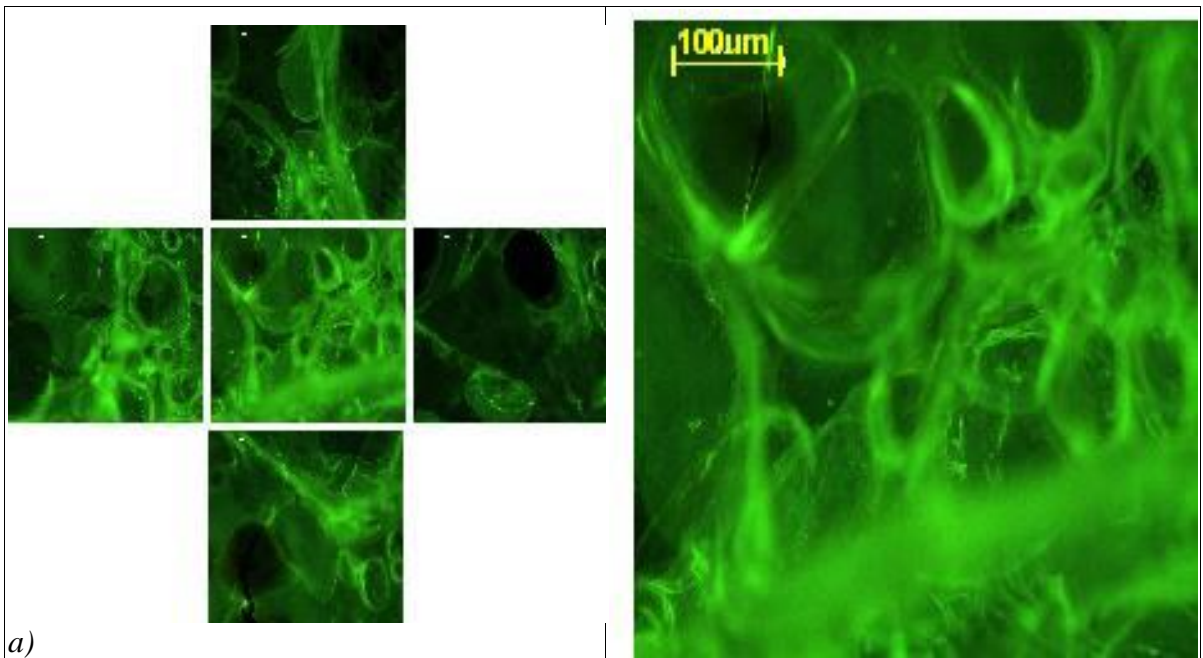
### 3.2.2.2. *Analisi al microscopio ottico in fluorescenza*

Le fig. 3.9-3.12, mostrano le immagini al microscopio ottico in fluorescenza dei campioni sottoposti ai parametri descritti nel paragrafo 3.2.2.

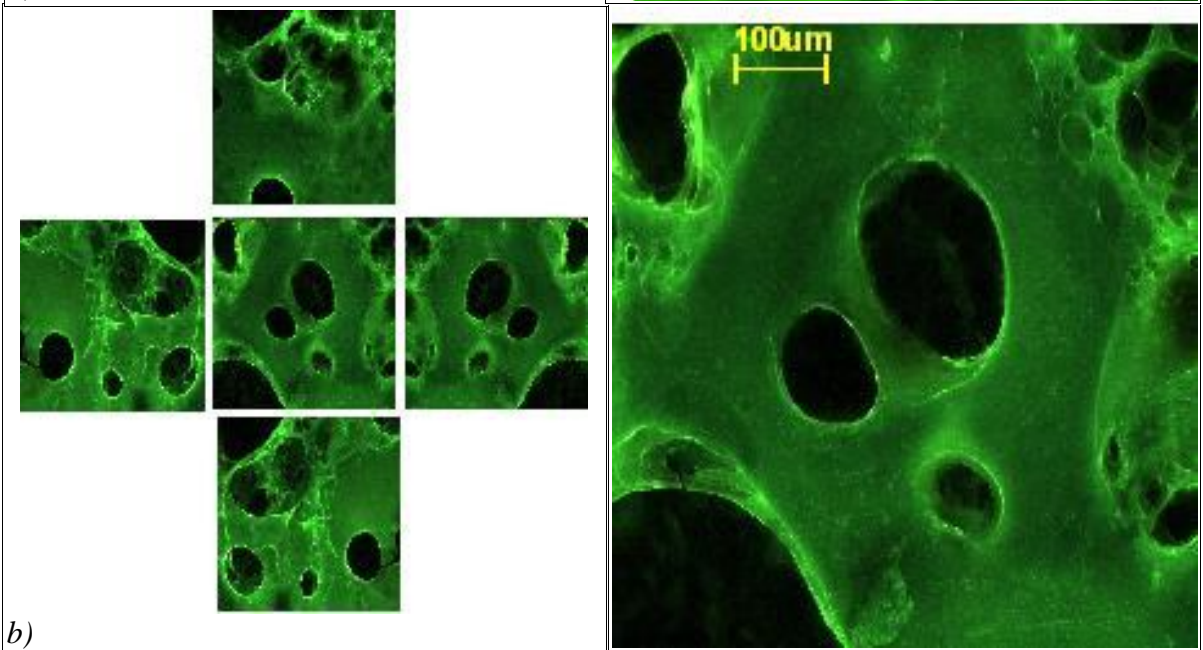


**Fig. 3.9** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido malonico allo 1% di chitosano, dopo EDC, per  $t=2$  min: a) pH 3; b) pH 3,3.

In fig. 3.9, si osserva che per il trattamento a pH 3, il coating presenta una porosità omogeneamente distribuita e chiusa. Mentre la porosità è chiusa e il coating è poco poroso, per pH 3,3. Mentre non è presente nessun coating per pH 2,7.

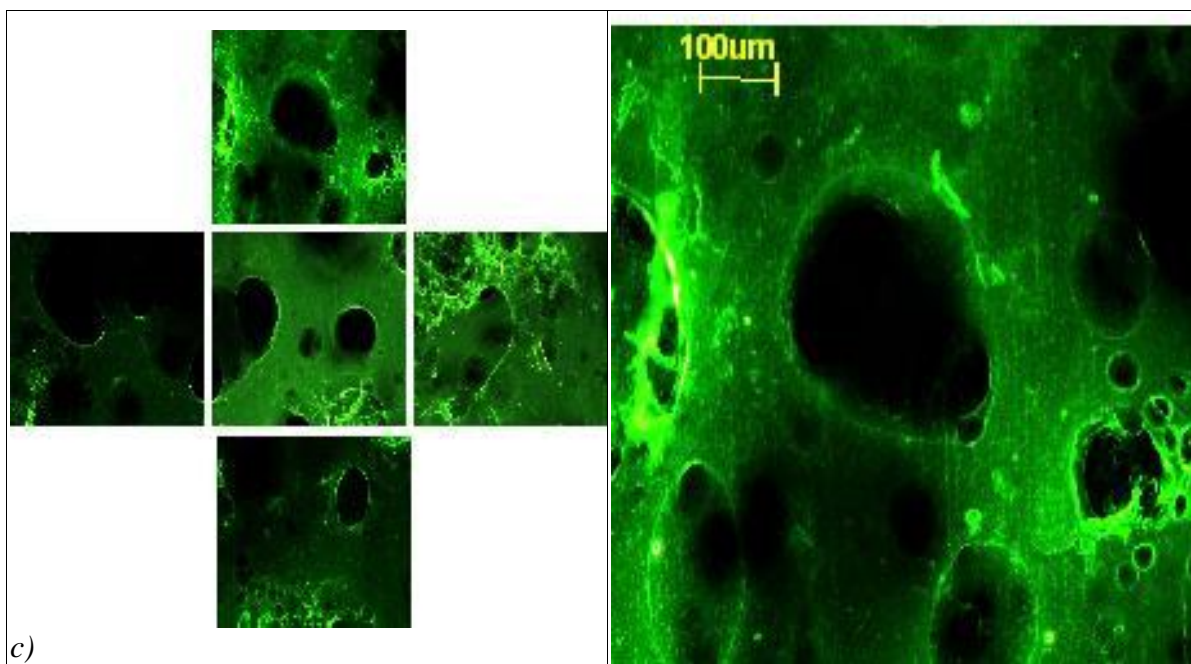


a)



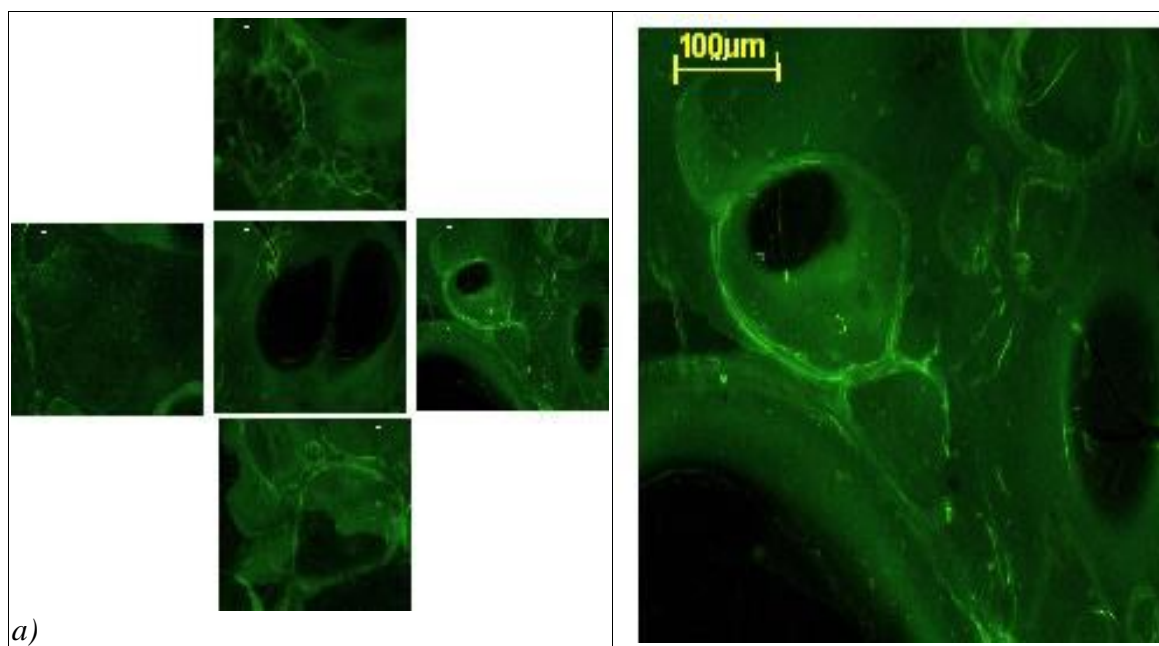
b)

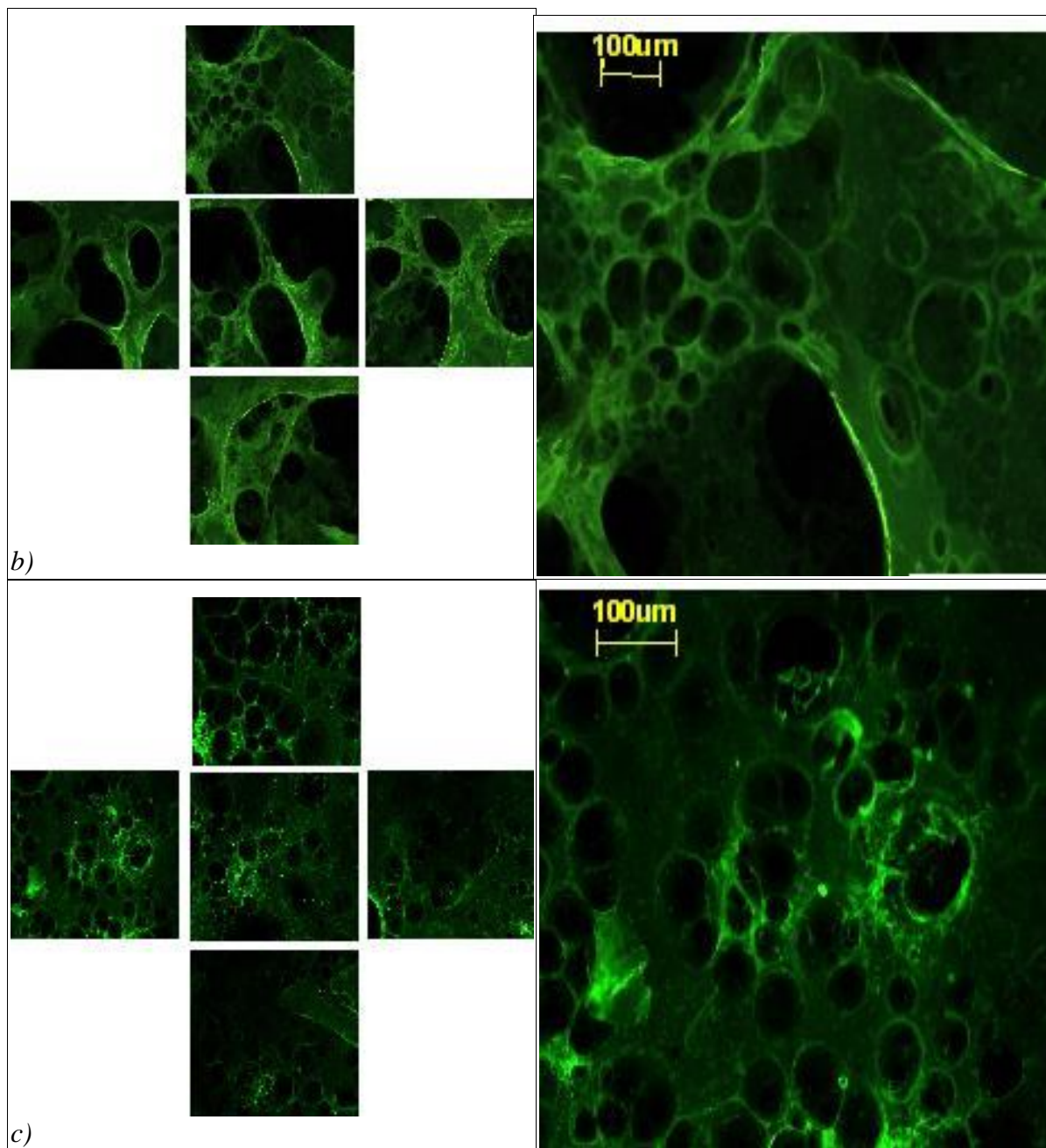




**Fig. 3.10** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido malonico allo 1% di chitosano, dopo EDC, per  $t = 4$  min: a) pH 2,7; b) pH 3; c) pH 3,3.

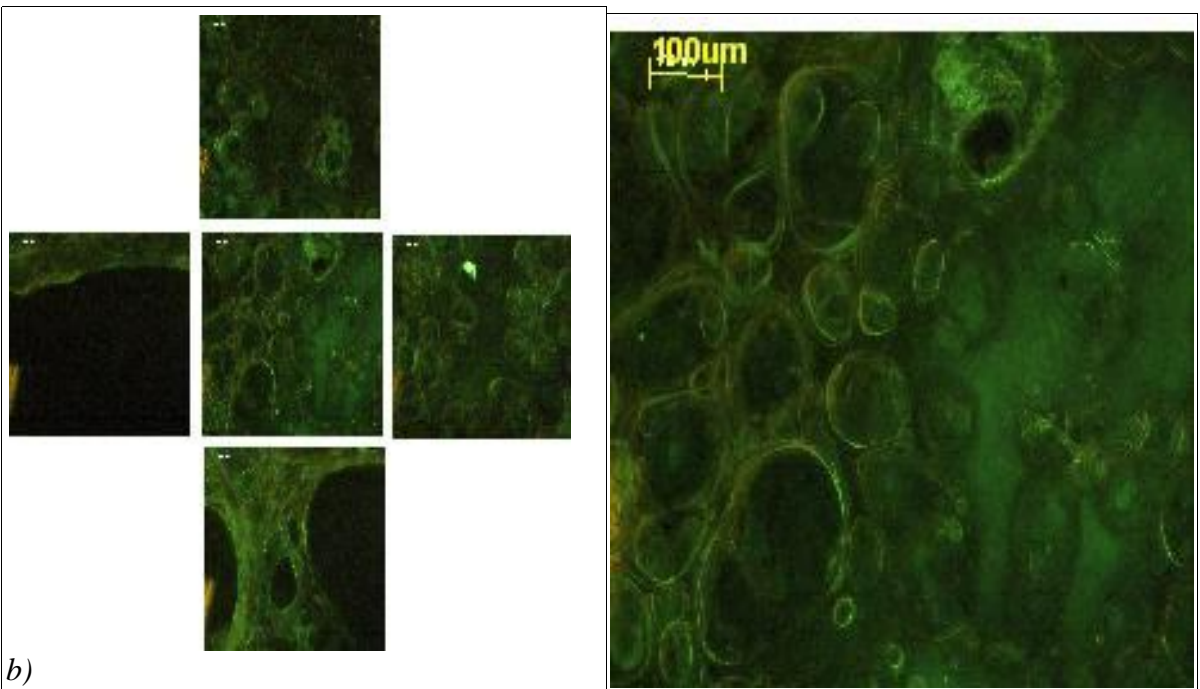
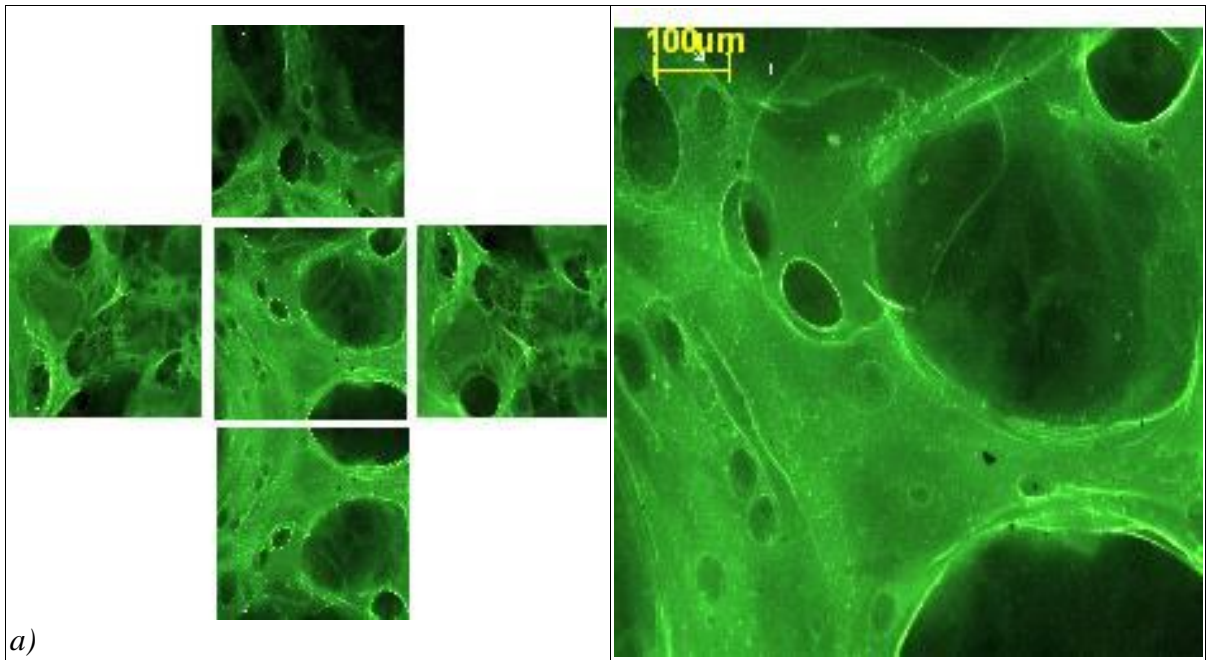
In fig. 3.10 , si osserva che il coating presenta una porosità poco omogenea a pH 2,7 e 3,3, diversamente da quello ottenuto a pH 3. Per pH 2,7 la porosità è aperta, mentre è chiusa a pH 3 e pH 3,3.

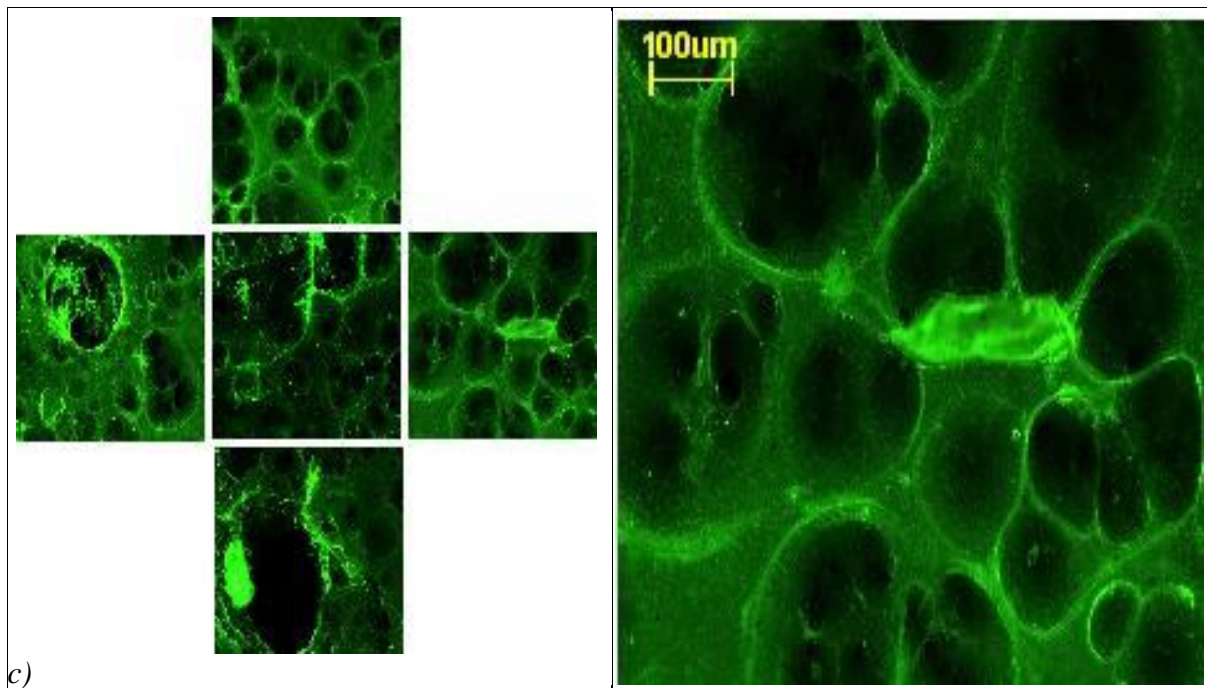




**Fig. 3.11** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido malonico allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 8 minuti: a) pH 3; b) pH 3,3.

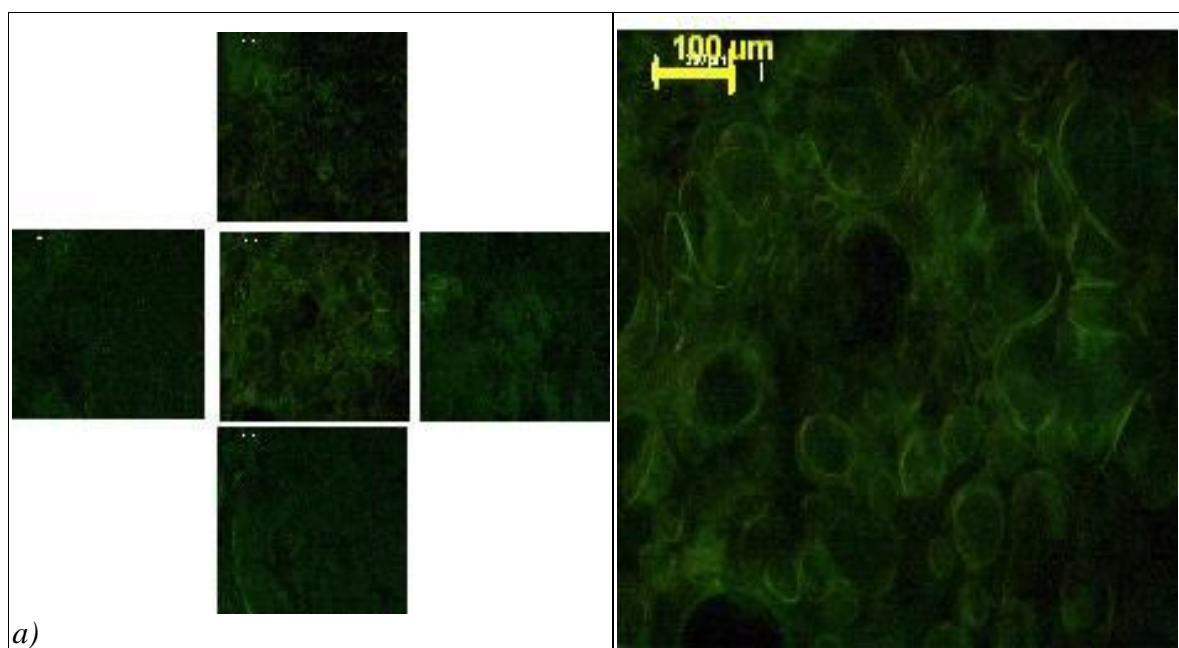
In fig. 3.11 si osserva che il coating presenta una porosità poco omogenea a pH 2,7, diversamente da quello ottenuto a pH 3 e pH 3,3. Per tutti i e tre i valori di pH la porosità appare chiusa. Inoltre la dimensione media dei pori è molto variabile per pH 3, invece lo è meno per pH 3,3.

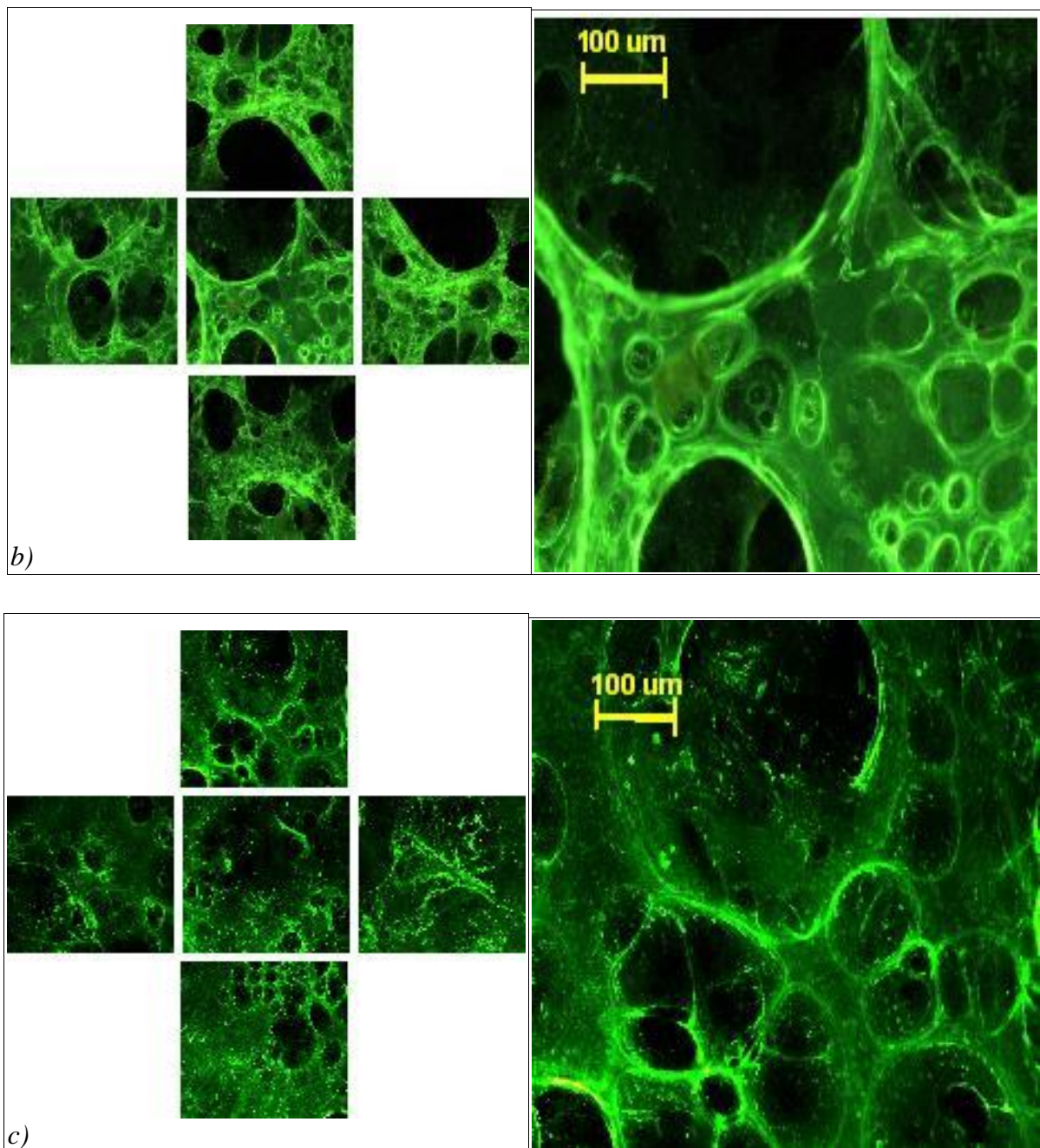




**Fig. 3.12** - Immagini al microscopio ottico in fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido malonico allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 12 minuti: a) pH 2,7; b) pH 3; c) pH 3,3.

In fig. 3.12, si osserva che il coating presenta una porosità poco omogenea a pH 2,7 e a pH 3, diversamente da quello ottenuto a pH 3,3. Per pH 2,7 e 3, la porosità è chiusa, mentre è aperta a pH 3,3.





**Fig. 3.13** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido malonico allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 20 minuti: a) pH 2,7; b) pH 3; c) pH 3,3.

In fig.3.13. il coating si presenta omogeneo per tutti e tre i valori di pH. Per pH 2,7 la porosità è chiusa, diversamente per pH 3 e pH 3,3.

La dimensione media dei pori è abbastanza simile, per pH 2,7 e pH 3. A pH 3,3 la dimensione dei pori è molto variabile.

### 3.2.2.3 *Analisi statistica del diametro dei pori*

In tabella 3.5 si riportano i valori del diametro medio misurato per ogni campione, sottoposto a trattamento di EDC, secondo i parametri esposti nel paragrafo 3.2.2.

**Tab. 3.5** – Valori di diametro medio misurato al variare dei parametri tempo e pH.

<b>Tempo di deposizione (min)</b>	<b>Diametro medio dei pori (<math>\mu\text{m}</math>) -dev.standard</b>		
	<b>PH 2,7</b>	<b>PH 3</b>	<b>PH 3,3</b>
<b>1</b>	Non misurato	Non misurato	Non misurato
<b>2</b>	Non misurato	87,82 (7,14)	49,46 (13,72)
<b>4</b>	Non misurato	37,38 (15,37)	31,36 (10,59)
<b>8</b>	Non misurato	65,68 (8,53)	25,01 (1,09)
<b>12</b>	Non misurato	66,90 (2,34)	50,39 (8,67)
<b>20</b>	Non misurato	55,42 (13,38)	30,51 (3,19)

Dalla tabella 3.5, si osserva che i valori presentano un picco massimo per tempi bassi fino a 2 minuti per poi decrescere.

### 3.3 *Elettrodeposizione catodica al variare della tensione limite*

Per analizzare l'influenza del valore di tensione limite, sul deposito ottenuto sono state eseguite prove di EDC con soluzioni di acido acetico a pH 4.

La scelta di usare una soluzione di acido acetico a pH 4 è legata a quanto già osservato nel paragrafo 3.2.1, ossia perchè il coating ottenuto utilizzando soluzione a questo pH risulta di maggiore entità. Quindi è stato possibile quantificare e confrontare anche piccole variazioni di massa del deposito, dovute alla diminuzione del voltaggio.

### 3.3.1 Deposizione in soluzione di acido acetico

Le prove di EDC, sono state eseguite utilizzando soluzioni di acido acetico a pH 4 allo 1% di chitosano ed è stata utilizzata la procedura sperimentale ottimizzata.

In particolare sono state utilizzati i seguenti parametri per l' EDC:

- $V_{\text{LIMITE}} = 70\text{V} - 99.8\text{ V}$ ;
- $j = 5\text{mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ ;
- $t = 4 - 8 - 12 - 20\text{ min.}$

#### 3.3.1.1 Peso dei depositi

In tabella 3.6 si riportano i valori della massa media del coating normalizzati alla superficie di deposizione al variare della tensione limite e del tempo di deposizione.

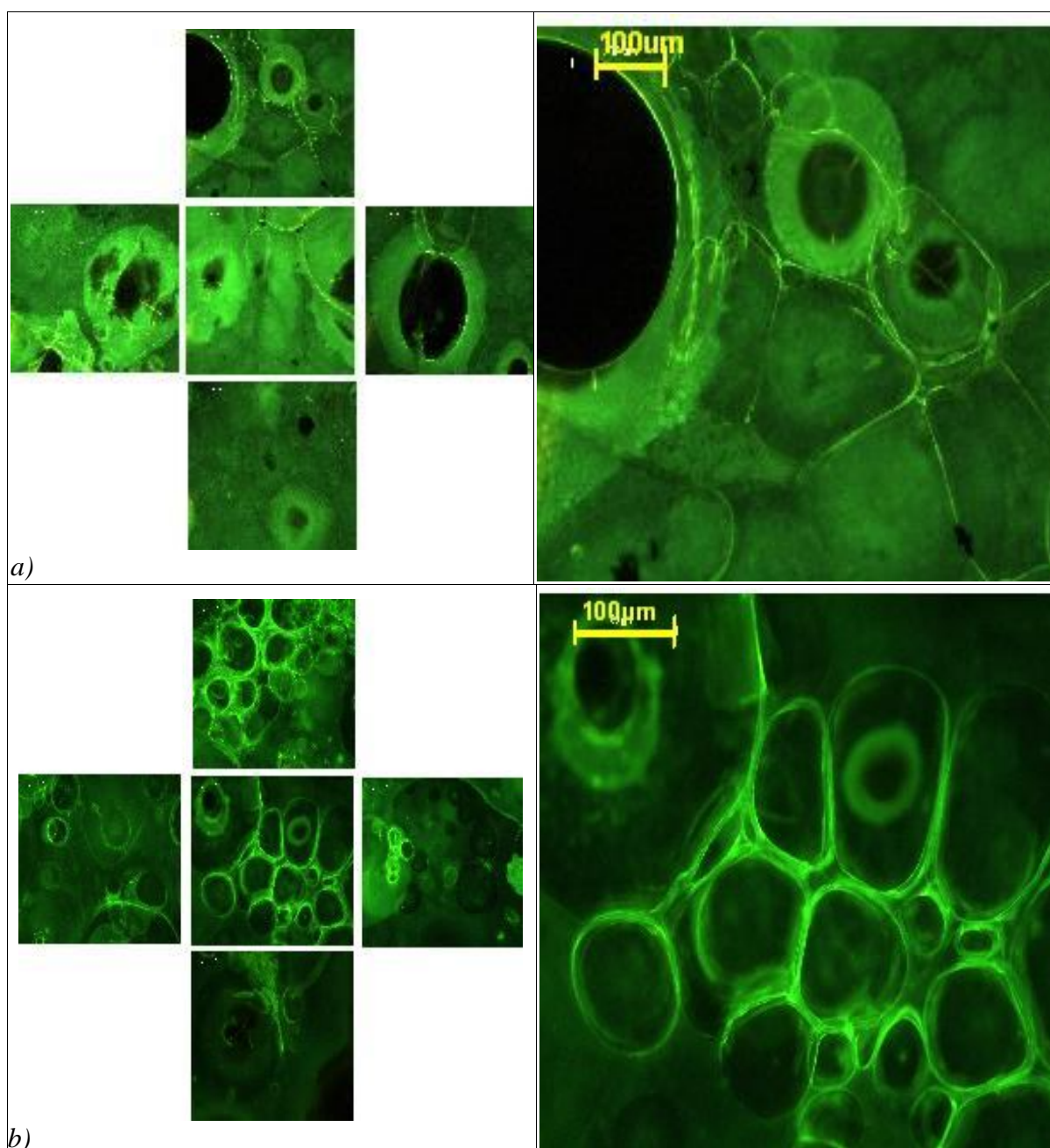
**Tab. 3.6** – Massa media del deposito normalizzata alla superficie del deposito, in funzione dei parametri  $V_{\text{LIMITE}}$  e tempo di deposizione,

Durata di deposizione (min)	Massa media deposito/superficie di deposizione ( $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ )	
	70 V	99,8 V
4	0,048	2,289
8	0,666	0,714
12	0,714	3,319
20	0,894	5,919

Si osserva dalla tabella 3.6, che una diminuzione del valore di tensione applicato, genera una diminuzione della massa di deposito, a parità di tensione applicata. Mentre la massa aumenta all'aumentare della tensione applicata.

### 3.3.1.2 Analisi al microscopio ottico in fluorescenza

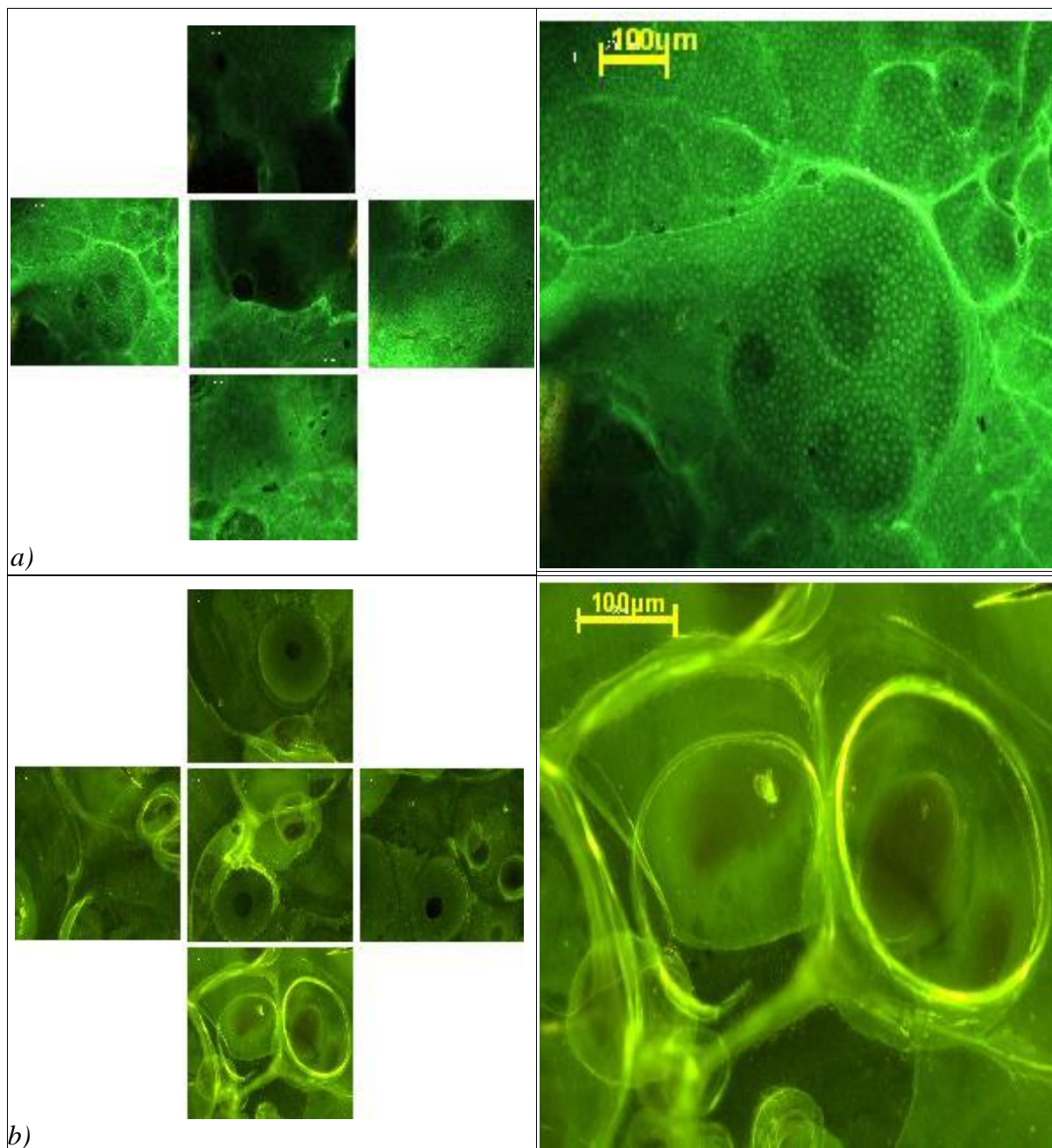
Le fig. 3.14-3.17, mostrano le immagini al microscopio ottico in fluorescenza dei campioni sottoposti ai parametri descritti nel paragrafo 3.3.1.



**Fig. 3.14** - Immagini al microscopio ottico in fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico a pH 4, allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 4 minuti: a) 70 V ; b) 99.8 V .

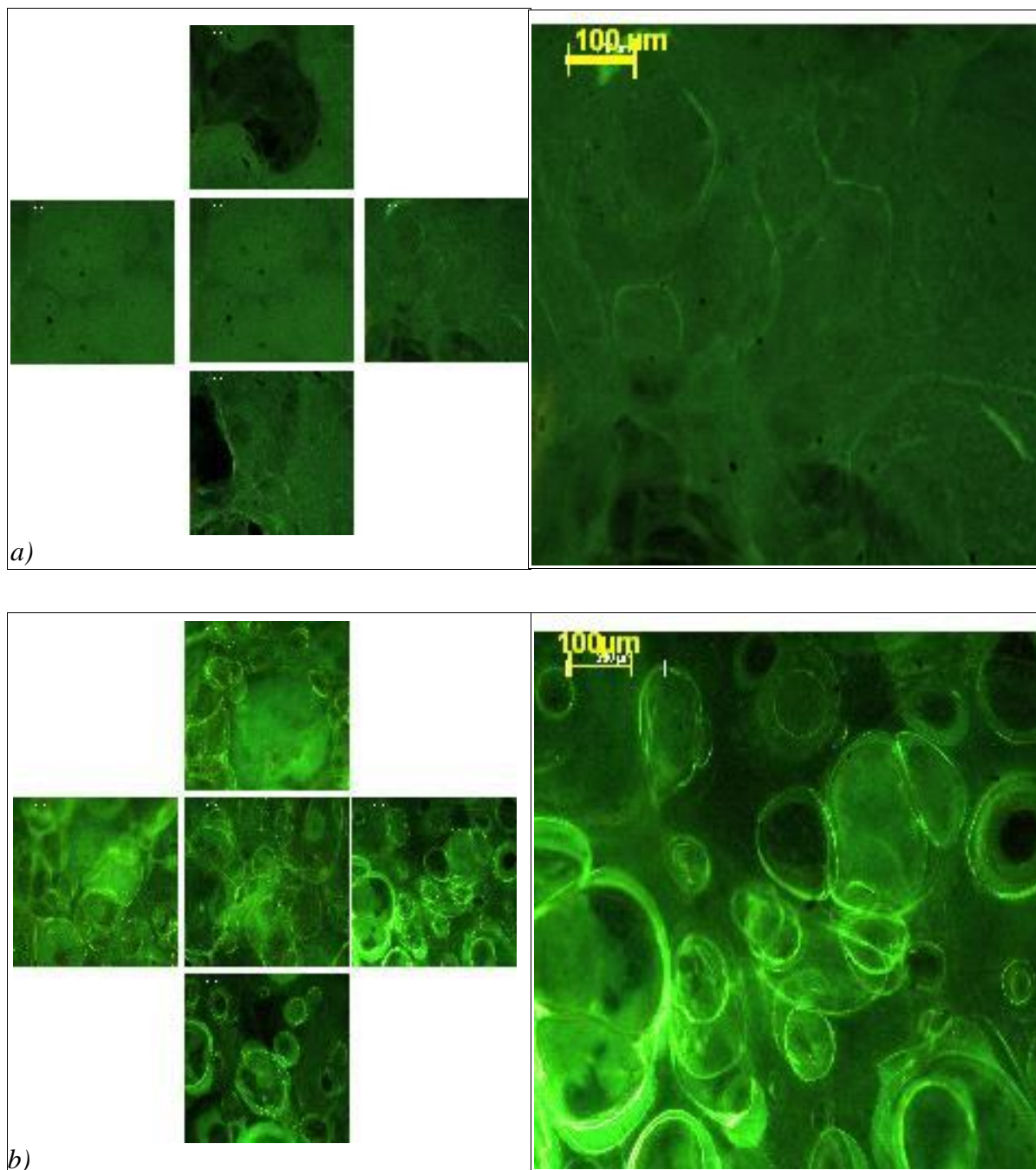
In fig.3.14, si osserva una porosità poco omogenea a 70 V, diversamente a 99,8 V. Inoltre risulta chiusa a 70 V e aperta a pH 4. La dimensione media dei pori è poco definita a 70V.





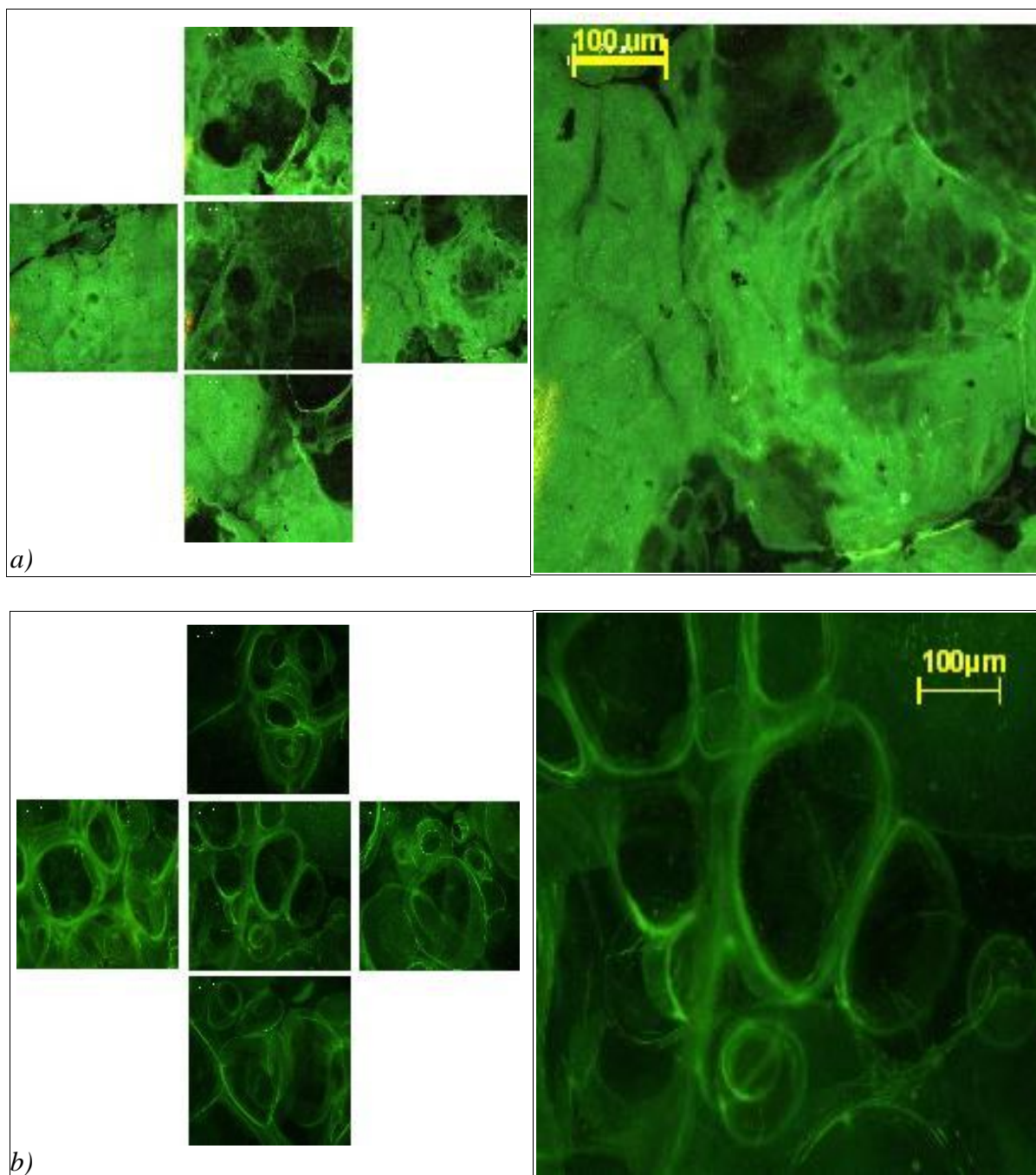
**Fig. 3.15** - Immagini al microscopio ottico in fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico a pH 4, allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 8 minuti: a) 70 V ; b) 99.8 V .

In fig.3.15, si osserva una porosità poco omogenea a 70 V, diversamente a 99,8 V. Inoltre per pH 4, la porosità è di tipo aperto.



**Fig. 3.16** - Immagini al microscopio ottico in fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico a pH 4, allo 1% di chitosano, dopo EDC, per  $t = 12$  min: a) 70 V ; b) 99.8 V .

In fig.3.16, si osserva un coating non poroso a 70 V, diversamente a 99,8 V, dove appare ben distribuito e con porosità aperta.



**Fig. 3.17** - Immagini al microscopio ottico in fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico a pH 4, allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 20 minuti: a) 70 V ; b) 99.8 V .

In fig.3.17 si osserva ancora una porosità assente a 70 V, diversamente a 99,8 V, dove il film è ben distribuito e con porosità aperta.

### 3.3.1.3 *Analisi statistica del diametro dei pori*

In tabella 3.7 si riportano I valori del diametro medio misurato per ogni campione, sottoposto a trattamento di EDC, secondo I parametri esposti nel paragrafo 3.3.1.

**Tab. 3.7** – Valori di diametro medio misurato al variare dei parametri tempo e tensione limite.

<b>Tempo di deposizione (min)</b>	<b>Diametro medio dei pori (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	
	<b>70 V</b>	<b>99,8 V</b>
<b>4</b>	Non misurato	122,3
<b>8</b>	194,5	166,64
<b>12</b>	Non misurato	189,13
<b>20</b>	Non misurato	191,32

I valori dei campioni sottoposti a EDC a 70 V presentano porosità totalmente assente, tranne che per un tempo pari a 8 minuti.

### 3.4 *Elettrodeposizione catodica al variare della densità di corrente*

Per analizzare l'influenza della densità di corrente, sul deposito ottenuto sono state eseguite prove di EDC con soluzione di acido acetico a pH 4. La scelta di usare una soluzione di acido acetico a pH 4 è la medesima esposta nel paragrafo 4.3.

La procedura sperimentale è quella che utilizza il setup ottimizzato.

#### 3.4.1 *Deposizione in soluzione di acido acetico*

Le prove di EDC, sono state eseguite utilizzando soluzioni di acido acetico a pH 4 allo 1% di chitosano.

In particolare sono state utilizzati i seguenti parametri per l' EDC:

- $j = 5\text{mA} \cdot \text{cm}^{-2} - 20\text{mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ ;
- $V_{\text{LIMITE}} = 70\text{V}$  ;
- $t = 4 - 8 - 12 - 20 \text{ min.}$

### 3.4.1.1 *Peso dei depositi*

In tabella 4.8 si riportano I valori medi della massa del coating, normalizzata alla superficie di deposizione, al variare della densità di corrente e del tempo di deposizione.

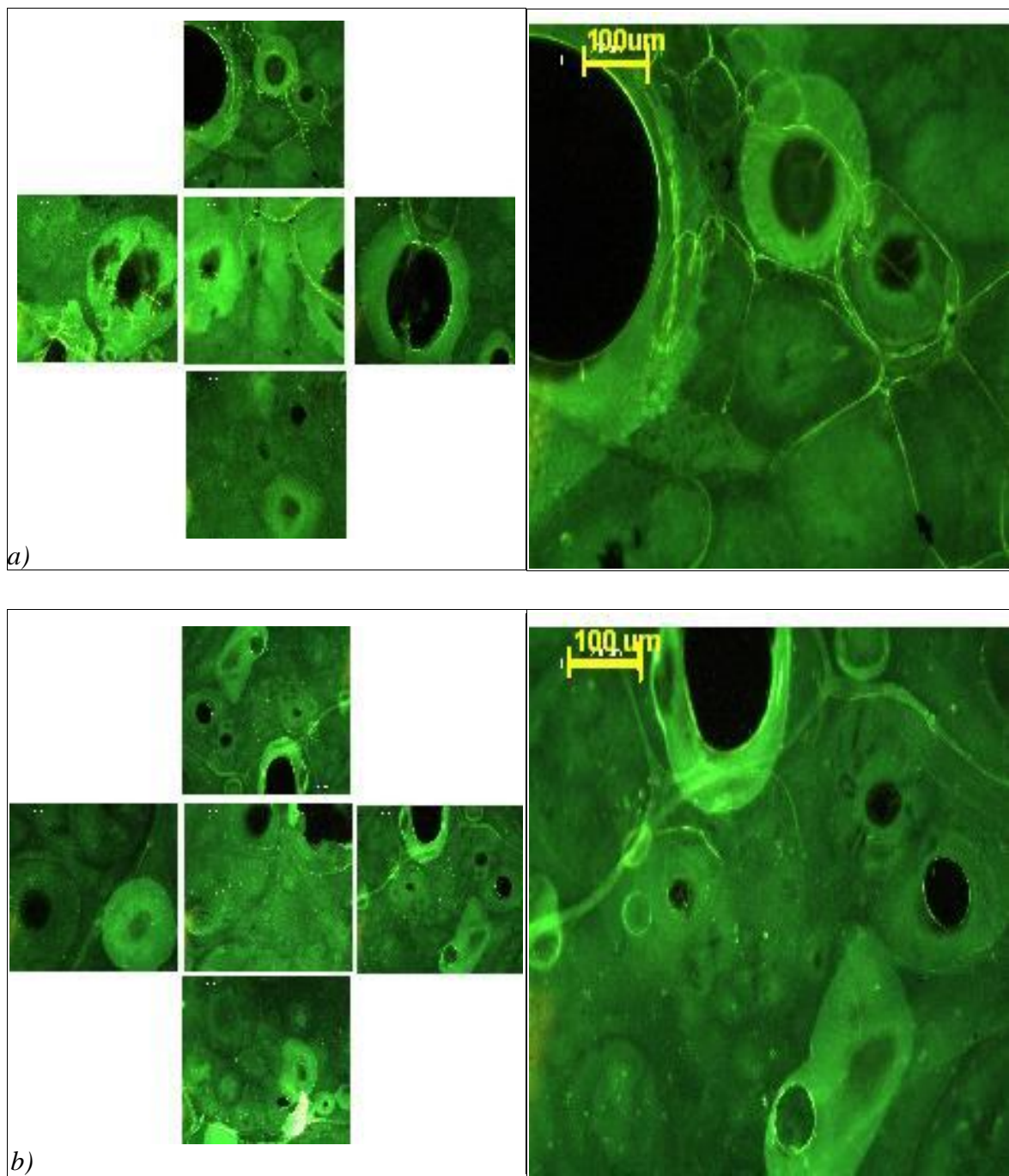
**Tab. 3.8** – Massa media del deposito normalizzata alla superficie del deposito, in funzione dei parametri densità di corrente e tempo di deposizione.

<b>Durata di deposizione (min)</b>	<b>Massa media deposito/superficie di deposizione (mg·cm<sup>-2</sup>)</b>	
	<b>5 mA · cm<sup>-2</sup></b>	<b>20 mA · cm<sup>-2</sup></b>
4	0,048	0,650
8	0,666	0,851
12	0,714	0,874
20	0,611	0,976

Si deduce dai valori riportati in tabella 3.8 che ad un aumento della densità di corrente corrisponde un incremento della massa di deposito, a parità di tempo.

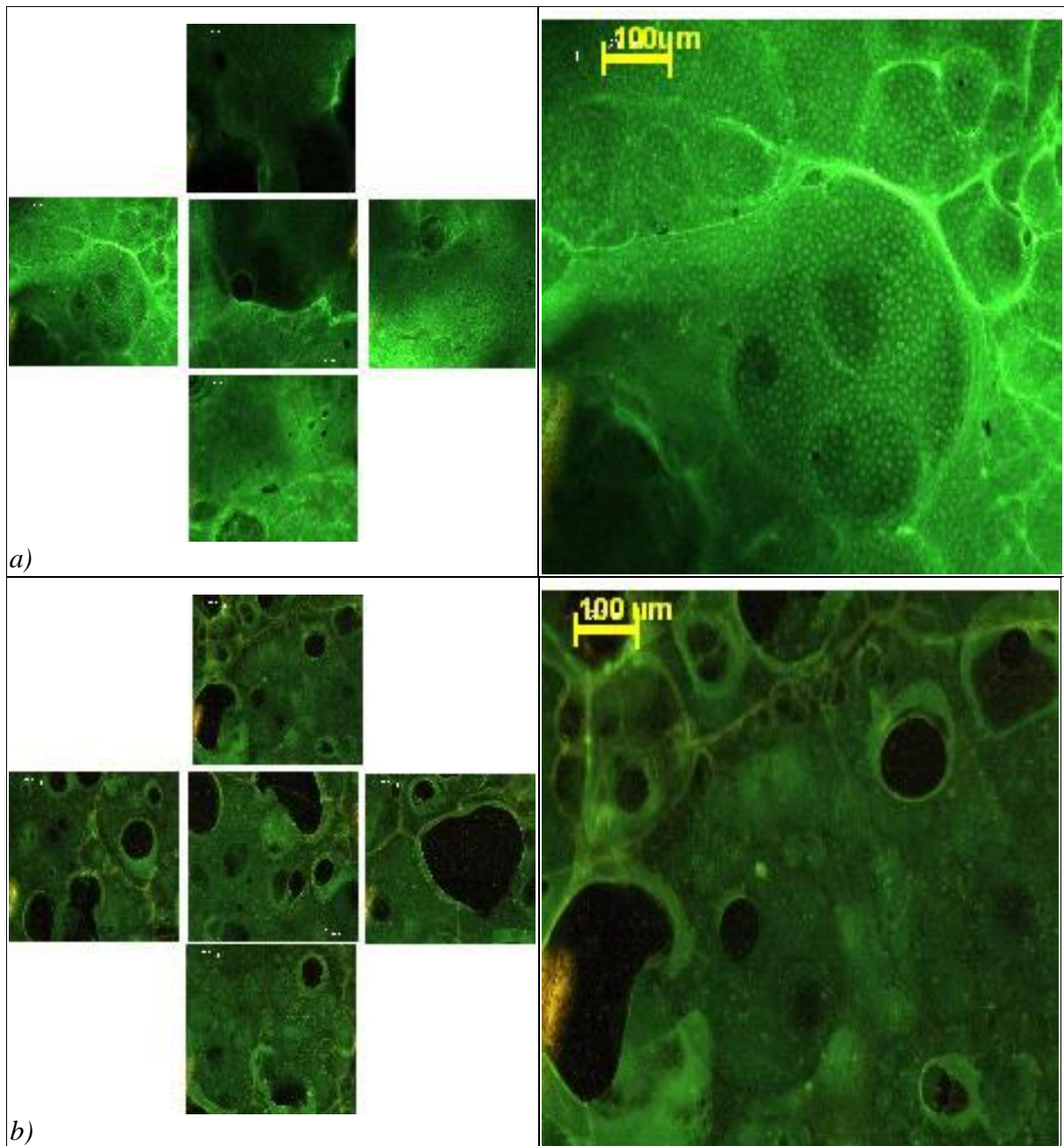
### 3.4.1.2 *Analisi al microscopio ottico in fluorescenza*

Le fig.3.18-3.21, mostrano le immagini al microscopio ottico in fluorescenza dei campioni sottoposti ai parametri descritti nel paragrafo 3.4.1.



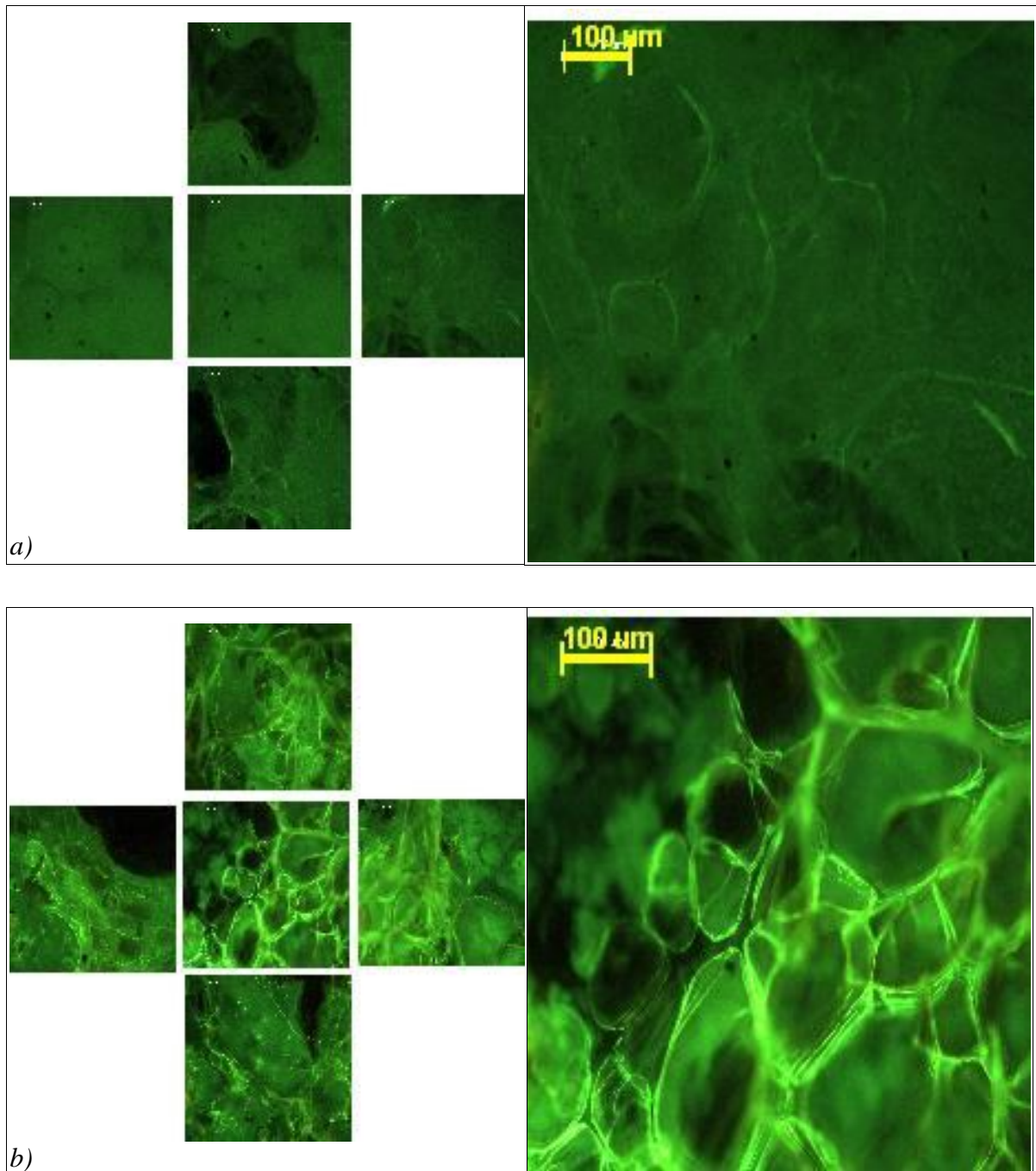
**Fig.3.18** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico a pH 4, allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 4 min: a) 5 mA · cm<sup>-2</sup> ; b) 20 mA · cm<sup>-2</sup>.

Entrambi I campioni mostrano un coating con una porosità poco omogenea e chiusa.



**Fig.3.19** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico a pH 4, allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 8 min a)  $5 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$  ; b)  $20 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$  .

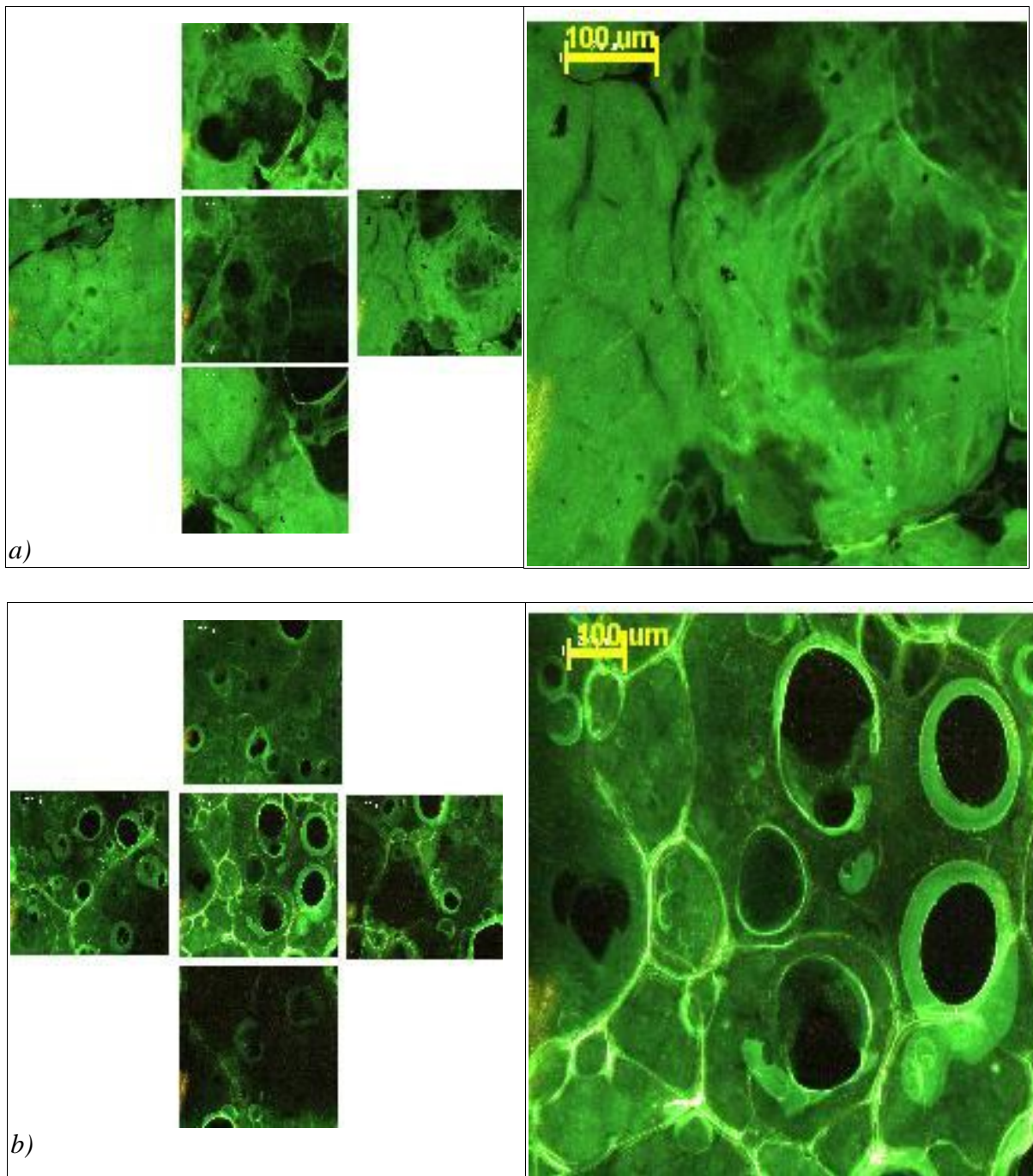
In fig. 3.19, il coating ottenuto a  $5 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ , si presenta poco omogeneo e quasi assente la porosità. Mentre a  $20 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ , il film è omogeneo e presenta porosità poco omogenea e chiusa.



**Fig.3.20** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico a pH 4, allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 12 minuti: a)  $5 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$  ; b)  $20 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$  .

In fig.3.20, il coating ottenuto a  $5 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ , presenta porosità assente. Mentre il coating a  $20 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$  presenta porosità quasi omogenea, chiusa e aperta.





**Fig. 3.21** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico a pH 4, allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 20 minuti: a)  $5 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$  ; b)  $20 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$  .

In fig.3.21, il coating ottenuto a  $5 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ , presenta porosità assente. Mentre il coating a  $20 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$  presenta porosità omogenea e chiusa.

### 3.4.2.3 Analisi statistica del diametro dei pori

In tabella 3.9 si riportano I valori del diametro medio misurato per ogni campione, sottoposto a trattamento di EDC, secondo I parametri esposti nel paragrafo 3.4.2.

**Tab. 3.9** – Valori di diametro medio misurato al variare dei parametri tempo e pH.

<b>Tempo di deposizione (min)</b>	<b>Diametro medio dei pori (<math>\mu\text{m}</math>) -dev.standard</b>	
	<b>5 mA <math>\cdot</math> cm<sup>-2</sup></b>	<b>20 mA <math>\cdot</math> cm<sup>-2</sup></b>
<b>4</b>	178,75 (56,98)	161,25 (43,98)
<b>8</b>	84,48 (43,89)	132,55 (21,87)
<b>12</b>	Non misurato	165,47 (45,22)
<b>20</b>	Non misurato	126,39 (29,75)

Dalla tabella 3.9, si osserva che i campioni sottoposti a EDC a 5 mA  $\cdot$  cm<sup>-2</sup> presentano porosità assente per tempi pari a 4 e 8 minuti.

### 3.5 Elettrodeposizione catodica al variare della proticità dell'acido in soluzione

Per analizzare l'influenza della proticità, sul coating ottenuto per EDC, sono state eseguite prove con soluzione di acido acetico, acido malonico e fosforico a pH 3, che sono rispettivamente un acido monoprotico, diprotico e triprotico.

La procedura sperimentale utilizzata è quella che prevede il setup ottimizzato.

In particolare sono state utilizzati i seguenti parametri per l' EDC:

- $j = 5\text{mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ ;
- $V_{\text{LIMITE}} = 70\text{V}$  ;
- $t = 4 - 8 - 12 - 20 \text{ min.}$

### 3.5.1 *Peso dei depositi*

In tabella 3.10 si riportano i valori medi della massa del coating, normalizzata alla superficie di deposizione, al variare dell'acido e del tempo di deposizione.

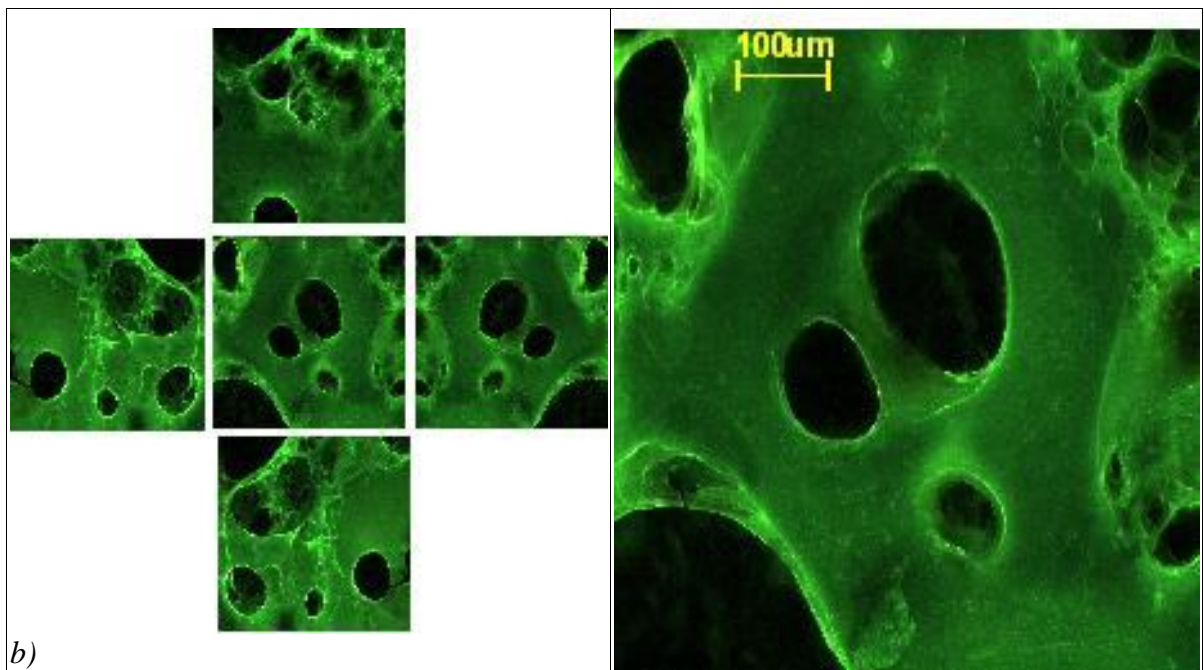
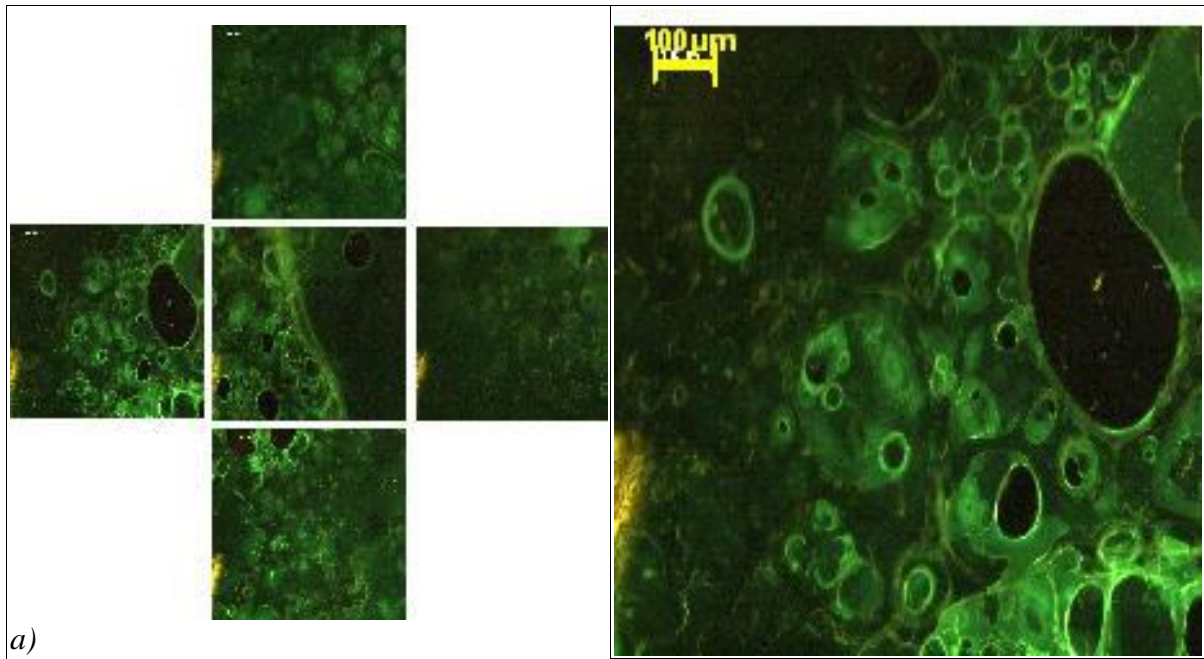
**Tab. 3.10** – Massa media del deposito normalizzata alla superficie del deposito, in funzione dei parametri densità di corrente e tempo di deposizione.

<b>Durata di deposizione (min)</b>	<b>Massa media deposito/superficie di deposizione (mg·cm<sup>-2</sup>)</b>		
	<b>ACIDO ACETICO (monoprotico)</b>	<b>ACIDO MALONICO (diprotico)</b>	<b>ACIDO FOSFORICO (triprotico)</b>
4	0,267	0,747	0,094
8	1,036	1,119	0,839
12	1,329	1,515	1,138
20	1,936	2,208	0,093

La tabella 3.10, mette in evidenza un aumento della massa del coating, a parità di tempo di deposizione, per un acido diprotico rispetto a uno monoprotico. Mentre si misura una diminuzione della massa, a parità di tempo di deposizione, per un acido triprotico, rispetto agli altri acidi.

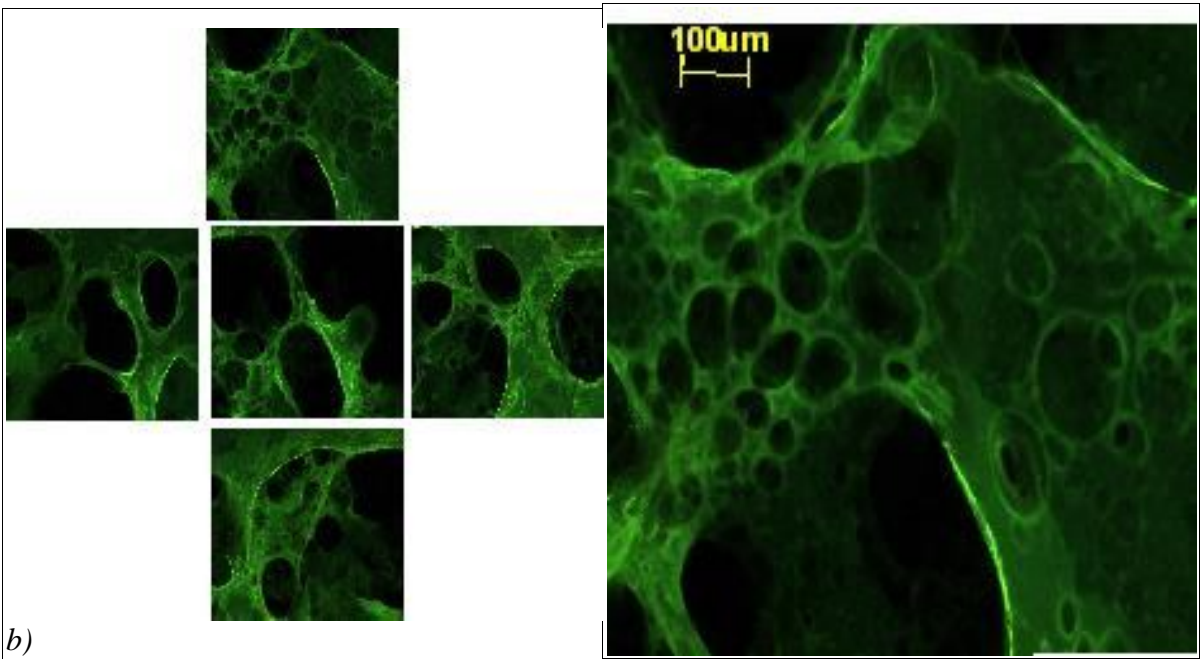
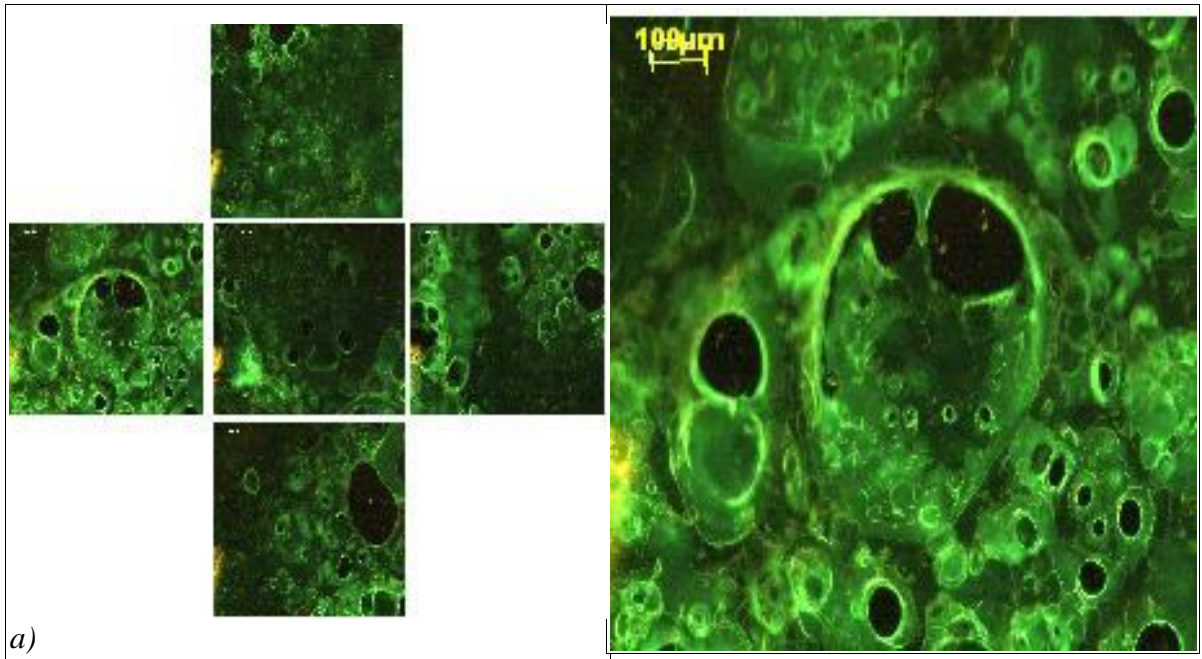
### 3.5.2 *Analisi al microscopio ottico in fluorescenza*

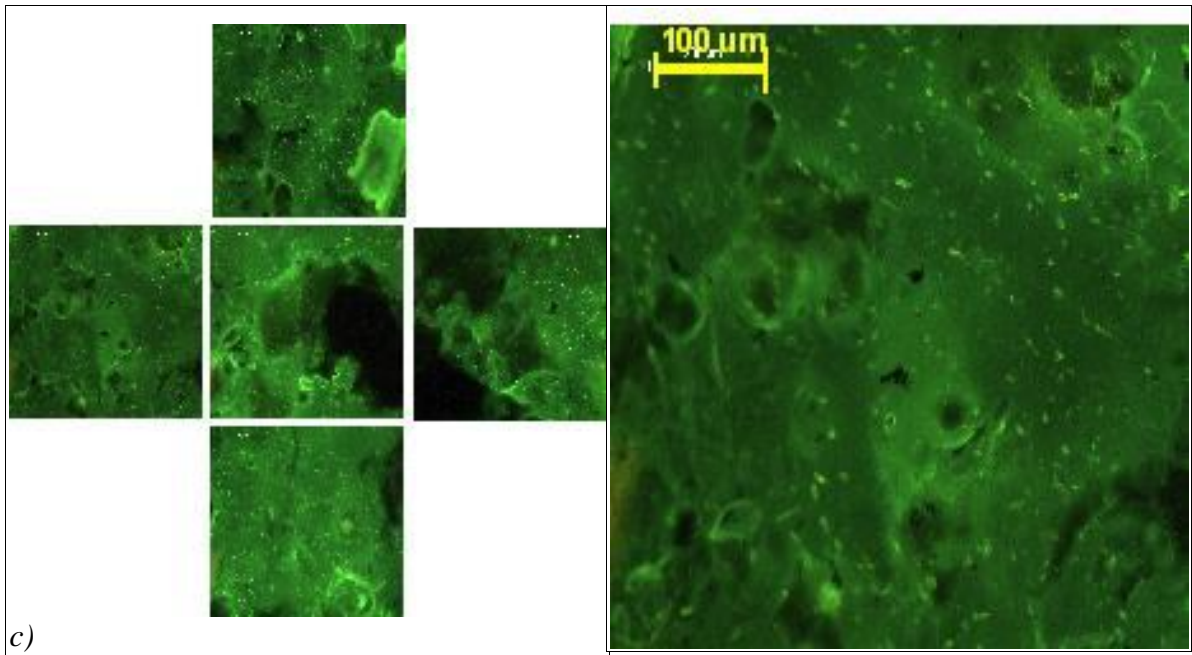
Nelle fig. 3.22 - 3.25, si riportano le immagini al microscopio ottico in fluorescenza dei campioni trattati secondo i parametri descritti nel paragrafo 3.5.



**Fig.3.22** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione a pH 3, di acido acetico(a); (b) acido malonico, per un tempo di deposizione pari a 4 minuti.

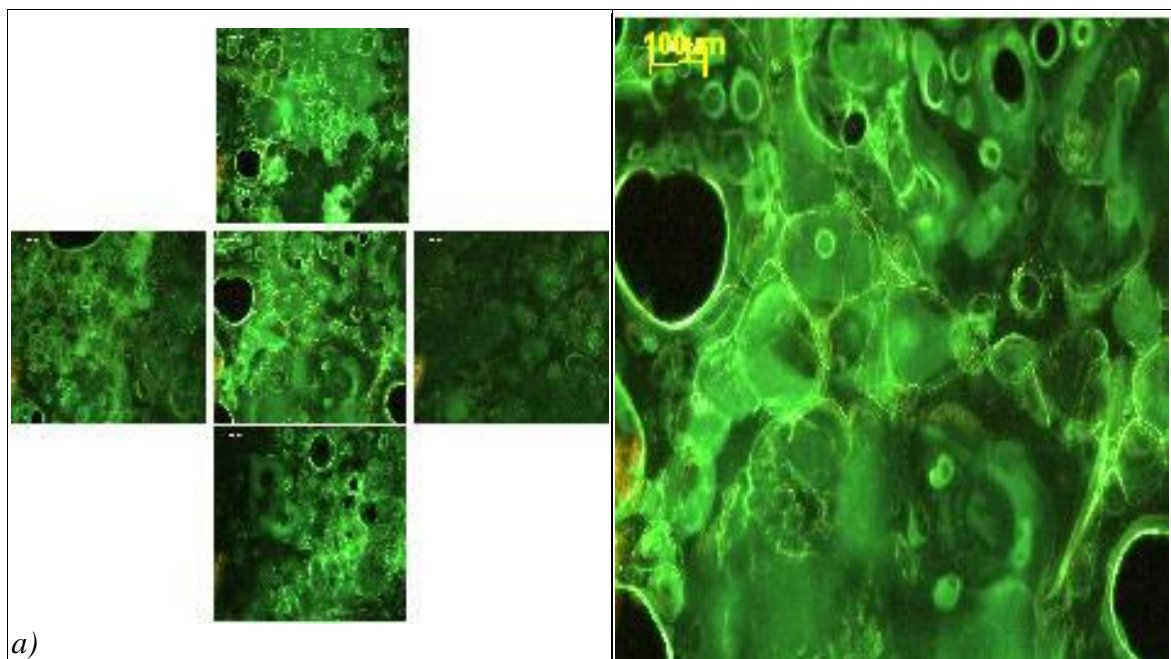
Il coating del campione trattato in soluzione di acido fosforico è assente per un tempo di deposizione pari a 4 minuti. Per quanto riguarda il coating del campione trattato in soluzione di acido malonico, esso mostra una porosità omogenea e con dimensione media dei pori variabile. Per l'acido malonico, il coating presenta porosità omogeneamente distribuita e chiusa.

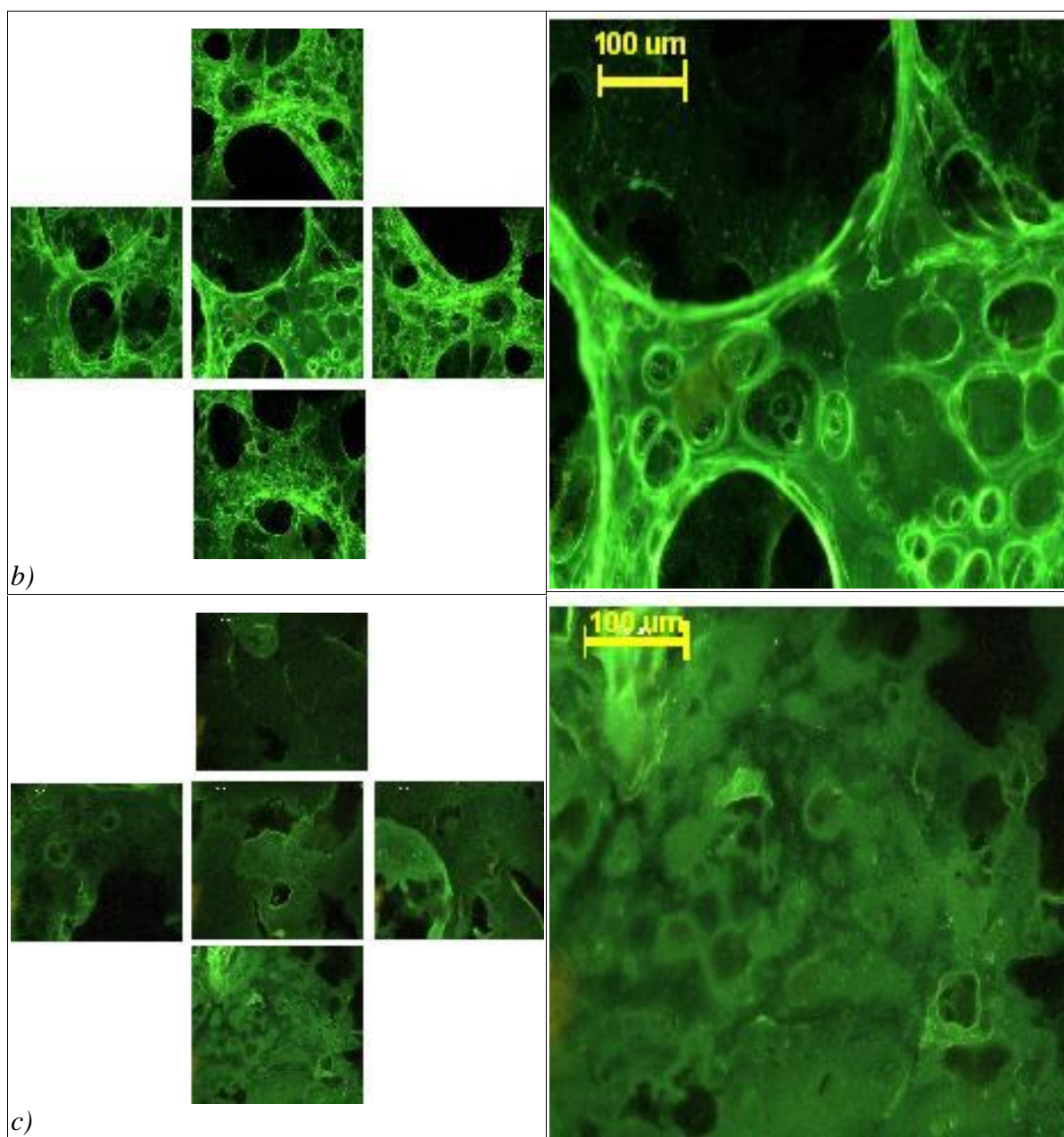




**Fig.3.23** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione a pH 3, di acido acetico(a); (b) acido malonico, (c)acido fosforico, per un tempo di deposizione pari a 8 min.

In fig.3.23, il coating dei campioni trattati in soluzione di acido acetico e malonico presentano una porosità omogenea e chiusa. Mentre è assente la porosità nel coating del campione trattato in soluzione di acido fosforico.

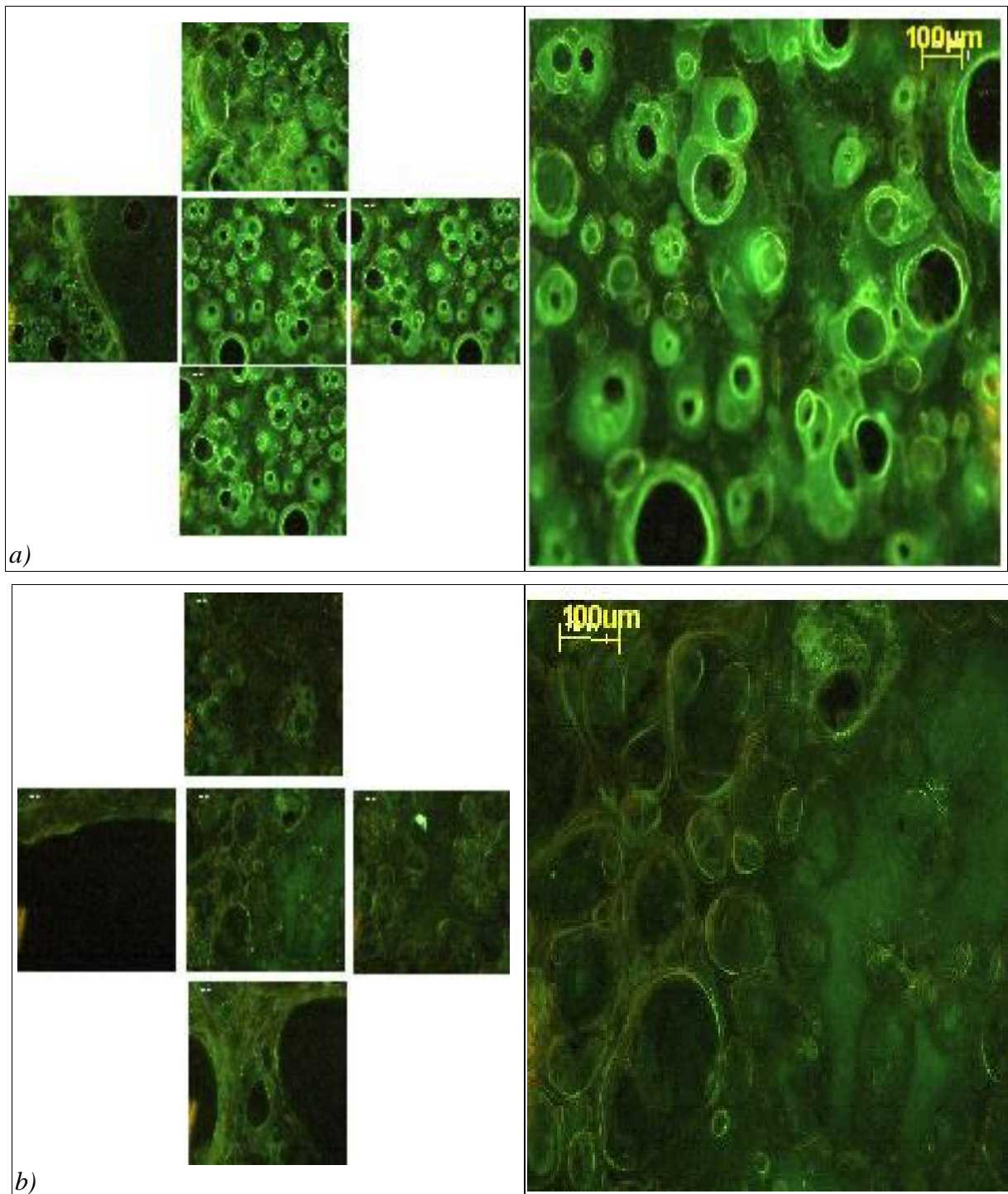




**Fig.3.24** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione a pH 3, di acido acetico(a); (b) acido malonico e © acido fosforico, per un tempo di deposizione pari a 12 minuti..

In fig.3.24, si osserva che la porosità del coating ottenuto in soluzione di acido acetico e malonico è omogeneamente distribuita. Mentre è nuovamente assente nel coating ottenuto in soluzione di acido fosforico.

Inoltre la porosità è chiusa per l'acido acetico e aperta per l'acido malonico. In particolare per l'acido malonico si osserva una variabilità della dimensione media dei pori.



**Fig.3.25** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione a pH 3, di acido acetico(a); (b) acido malonico, per un tempo di deposizione pari a 20 minuti..

In fig.3.25, si osserva che la porosità del coating ottenuto in soluzione di acido acetico è omogenea. Mentre lo è meno per l'acido malonico e del tutto assente per l'acido fosforico. Sia in soluzione di acido acetico che in quella di acido malonico, il coating presenta porosità prevalentemente chiusa.



### 3.5.3 *Analisi statistica del diametro dei pori*

In tabella 3.11 si riportano I valori del diametro medio misurato per ogni campione, sottoposto a trattamento di EDC, secondo I parametri esposti nel paragrafo 3.5.

**Tab. 3.11** – Valori di diametro medio misurato al variare dei parametri tempo e proticità dell' acido.

<b>Tempo di deposizione (min)</b>	<b>Diametro medio dei pori (<math>\mu\text{m}</math>)-dev.standard</b>		
	<b>Acido acetico (monoprotico)</b>	<b>Acido malonico (diprotico)</b>	<b>Acido fosforico (triprotico)</b>
<b>4</b>	41,5 (17,6)	37,38 (15,37)	Non misurato
<b>8</b>	48,05 (15,08)	65,9 (8,53)	Non misurato
<b>12</b>	56,96 (11,9)	66,9 (2,34)	Non misurato
<b>20</b>	73,65 (7,32)	55,42 (13,38)	Non misurato

I dati in tabella 3.11 mettono in evidenza che per i campioni trattati in soluzione di acido fosforico la porosità è assente. Mentre sono confrontabili I valori del diametro medio per l'acido acetico e malonico, a parità di tempo I deposizione.

## 4.

### Discussione dei risultati

#### 4.1 Effetto del pH

##### 4.1.1 Deposizione in acido acetico

In fig. 4.1 si riporta l'andamento della massa del deposito normalizzata alla superficie di deposizione del campione, in funzione del tempo di deposizione, in prove di EDC in soluzione di acido acetico  $1\text{ g L}^{-1}$  di chitosano, al variare del pH.

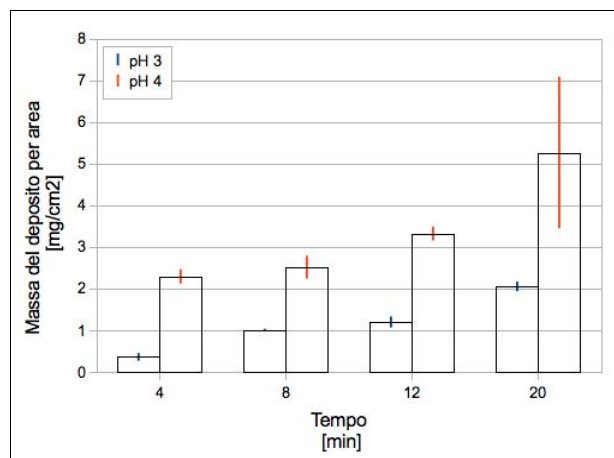
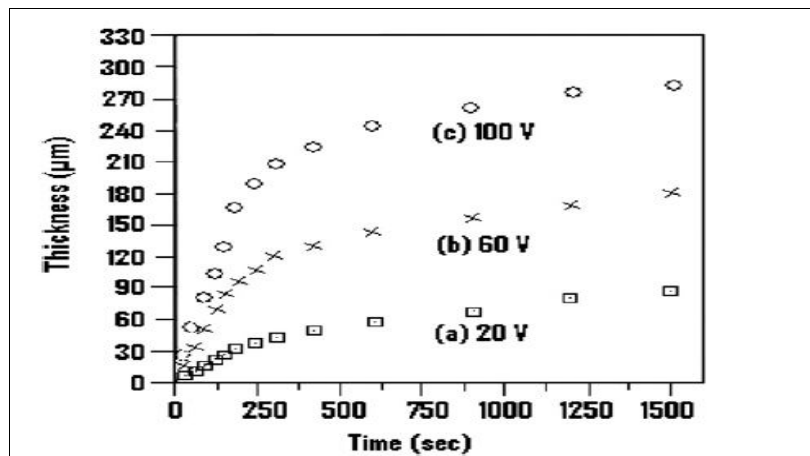


Fig. 4.1 - Andamento della massa del deposito per area, in funzione della durata di deposizione, per EDC in soluzione di acido acetico  $1\text{ g L}^{-1}$  di chitosano, al variare del pH.

Dal grafico in fig. 4.1, si osserva un aumento della massa del deposito, al variare del tempo di deposizione. La relazione che lega la massa al tempo è di tipo lineare. Questi dati sperimentali sono in accordo con i risultati di altri studi reperibili in letteratura, secondo cui la deposizione è funzione del tempo (Basu et al., 2001, Simchi et al., 2009). Gli studi di Basu (2001), studiano la deposizione

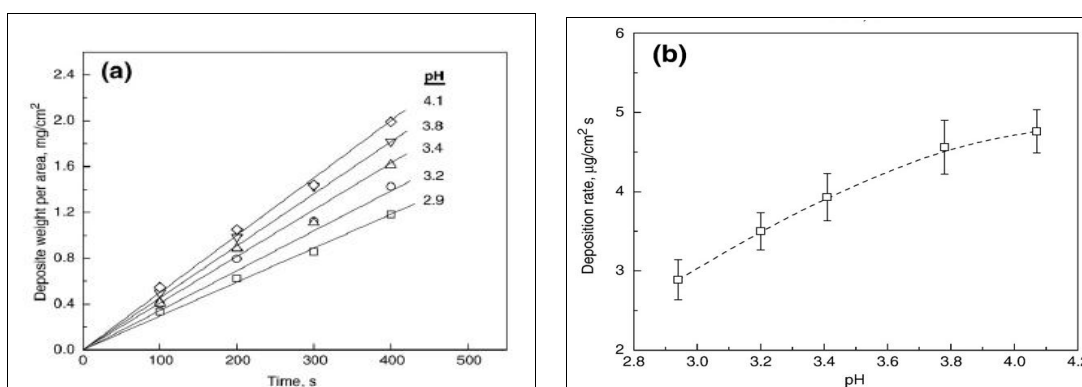
di tipo elettroforetico e mettono in evidenza come si osserva dal grafico 4.2 che lo spessore del film depositato, aumenta al crescere del tempo di deposizione.



**Fig. 4.2** - Relazione tra lo spessore del deposito e il tempo di deposizione per coatings di ZnO mediante elettrodi di rame al variare del potenziale applicato (Basu et al., 2001) .

Anche il pH gioca un ruolo chiave nella deposizione. All'aumentare del pH aumenta la massa depositata, a parità di tempo.

In letteratura, molti studi hanno studiato l'effeto del pH sul processo di deposizione e numerosi autori hanno dimostrato che esiste una relazione tra pH e massa depositata. In particolare è possibile fare una analogia con quanto studiato da altri autori riguardo alla deposizione di tipo elettroforetico, dove è stato dimostrata quasta relazione. In fig 4.3, si riportano gli andamenti della massa depositata al variare del tempo di deposizione, in deposizioni elettroforetiche, utilizzando soluzioni acide a concentrazione di 0,08%, a pH variabile tra 2.9 e 4.1, reperibili in letteratura da uno studio di Sinchi (2009). Quello che si osserva è un andamento lineare della massa depositata all' aumentare del tempo, per pH crescenti.



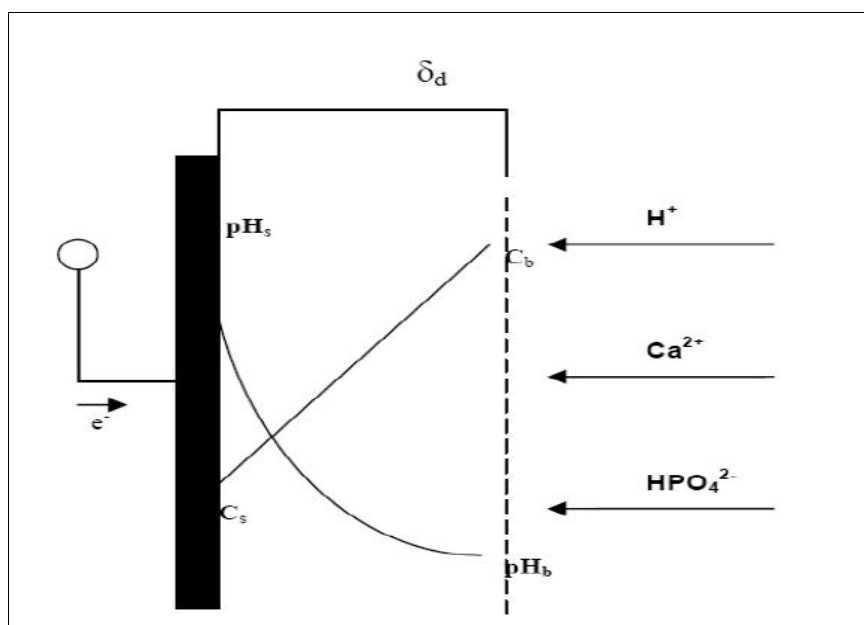
**Fig.4.3** – Andamento della massa depositata (a) e della percentuale di deposito (b), al variare del tempo di deposizione per soluzioni a concentrazione costante di chitosano 0,08%. (Simchi et. Al, 2009), al variare del pH

Come ben noto, la deposizione del chitosano è pH dipendente. Infatti le reazioni di riduzione in prossimità della superficie polarizzata catodicamente, dipendono dal pH della soluzione elettrolitica. In particolare le reazioni di cui si parla sono:



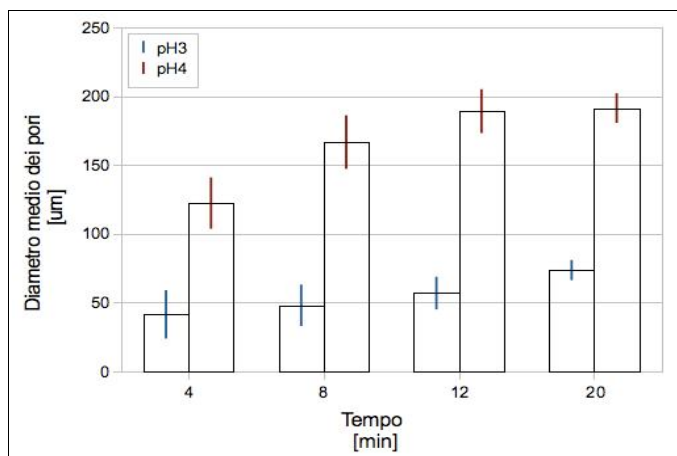
Dove la prima è quella di nostro interesse perchè prevale in ambiente acido. Quindi ad un aumento del pH della soluzione elettrolitica, corrisponde un aumento dei gruppi amminici protonati disponibili per la deposizione catodica.

Inoltre il fenomeno che si genera nello strato di diffusione, è un aumento locale del pH, in prossimità della superficie polarizzata catodicamente, come descritto anche da diversi autori riguardo alla deposizione di Ca-P (Redepenning J *et al.*, 1996; Shirkhazadeh M, 1998; Zhang J M *et al.*, 1998). Per cui un aumento del pH al catodo genera un gradiente di pH maggiore, tra lo strato limite e la superficie catodica e questo favorisce il passaggio di particelle cariche verso quest'ultima. In fig. 4.4 si riporta uno schema semplificato della variazione di concentrazione e di pH all'interfaccia catodo-soluzione elettrolitica, riguardo ad uno studio di elettrodeposizione catodica di Ca-P (Shirkhazadeh M, 1998).



**Fig.4.4** - Schema semplificato dell' interfaccia catodo-soluzione elettrolitica. Sono mostrate la variazione delle concentrazioni di ioni H+ (ipotizzata lineare) e di pH all'interno dello strato diffusivo (Shirkhazadeh M, 1998).

Per quanto riguarda l'analisi al microscopico in fluorescenza, è stato visto che è il pH gioca un ruolo

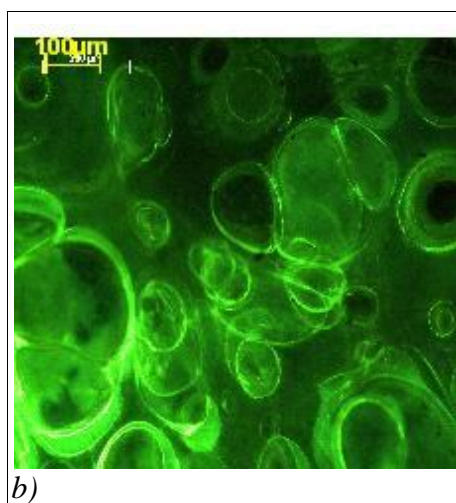
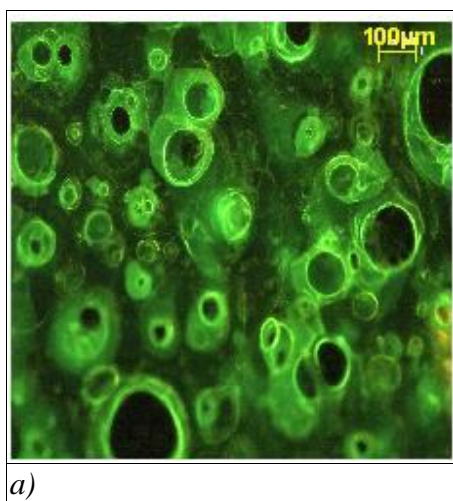


importante nel modulare la porosità del coating depositato. Infatti l'elettrodeposizione di chitosano, in cui si utilizza l'acqua come solvente è caratterizzata da una elevata formazione di idrogeno gassoso, causato dall'idrolisi dell'acqua:



La formazione di idrogeno gassoso, genera coating con struttura macroporosa, dovuta all'evoluzione del gas all'elettrodo. Questo fenomeno causa bolle di aria, che rimangono intrappolate nel deposito durante il processo di elettrodeposizione.

Dall'analisi morfologica al microscopio ottico, si è osservato che all'aumentare del pH, la porosità del coating aumenta al crescere del pH. Si mostrano di seguito le immagini di due campioni dopo EDC, che mettono in luce l'omogeneità del coating per entrambi i campioni a diverso pH e una porosità aperta per campioni trattati a pH 3, mentre è aperta per quelli trattati a pH 4. Inoltre si osserva una dimensione dei pori inferiore per pH 3 (fig.4.4).



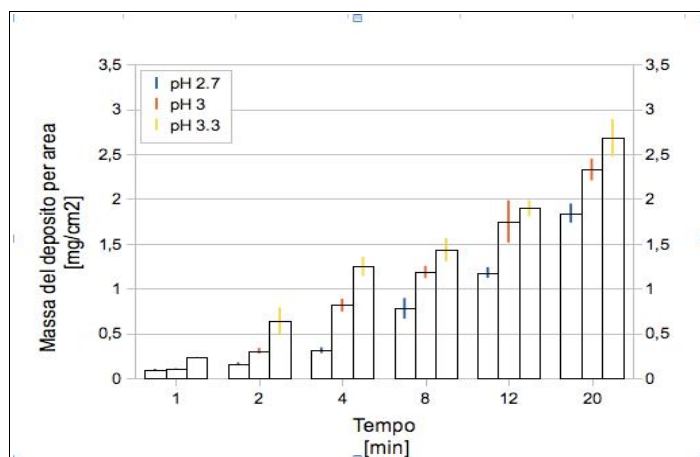
**Fig.4.5** - Immagini al microscopio ottico in fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido acetico allo 1% di chitosano, dopo EDC per 12 minuti: a) pH = 3; b) pH = 4.

I risultati relativi all'analisi statistica dei pori, dimostrano che all'aumentare del pH, il diametro medio dei pori aumenta, a parità di tempo (fig. 4.5). In particolare è possibile avere dei coatings con porosità media compresa nel range tra 40-190  $\mu\text{m}$ .

**Fig. 4.6** - Grafico del diametro medio dei pori ( $\mu\text{m}$ ) in funzione del tempo di deposizione, al variare del pH della soluzione di acido acetico.

#### 4.1.2 – Deposizione in acido malonico

In fig. 4.6 si riporta l'andamento della massa del deposito, normalizzata alla superficie di deposizione del campione, in funzione del tempo della prova di EDC, in soluzioni di acido malonico  $1\text{g L}^{-1}$  di chitosano, al variare del pH.



**Figura 4.7** - Andamento della massa del deposito per area, in funzione della durata di deposizione, per EDC in soluzione di acido malonico  $1\text{g L}^{-1}$  di chitosano, al variare del pH.

Dal grafico si osserva che ad aumento del pH, corrisponde un aumento della massa del deposito, come previsto, per quanto detto nel paragrafo precedente. Inoltre i risultati mettono in evidenza anche la relazione tra massa depositata e pH: si registra un aumento di massa all'aumentare del pH,

come previsto e argomentato nel paragrafo precedente.

Come trovato in letteratura da uno studio di Simchi (2009), si è provato ad interpolare le curve sperimentali, con l'andamento della regressione lineare, per cercare di stabilire una relazione:

$$dY/dt = K \quad [4.1]$$

dove K è la percentuale depositata nel tempo. Di seguito riporta il grafico delle curve di regressione lineare per i valori medi per pH 3 e pH 3,3 (fig.4.7), mentre per pH 3,3 si riposta l'andamento della curva di regressione esponenziale. Si osserva che il coefficiente angolare della retta di regressione lineare è un valore quasi costante, per cui anche nel nostro studio è stato possibile stabilire una relazione come quella espressa nell'eq. 4.1.

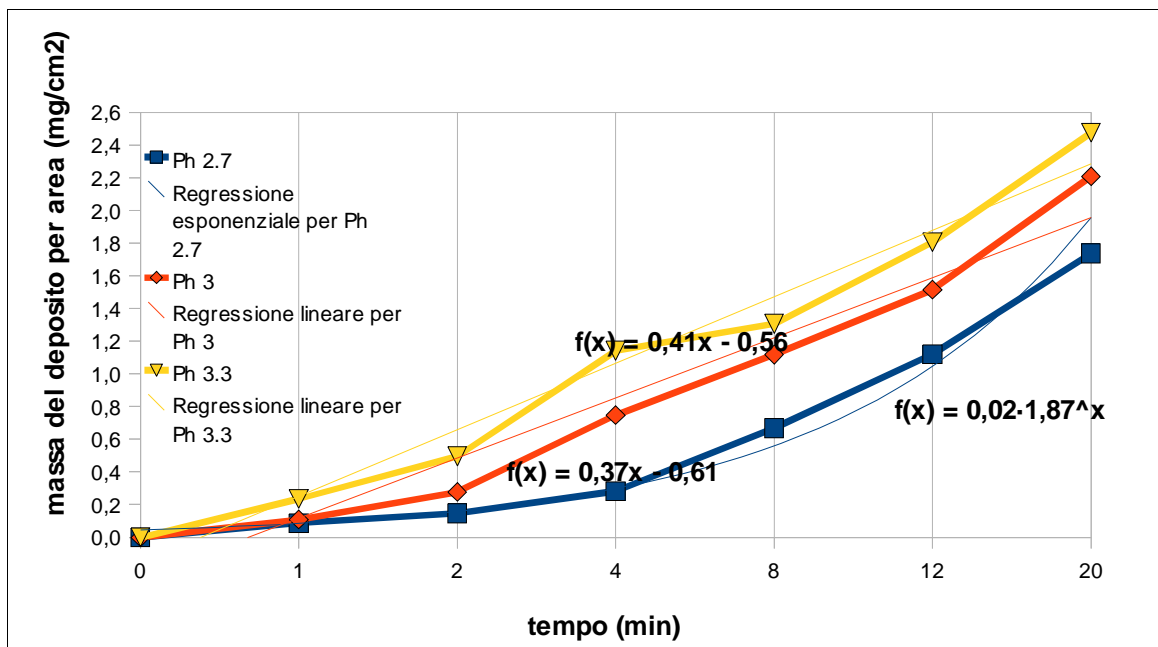
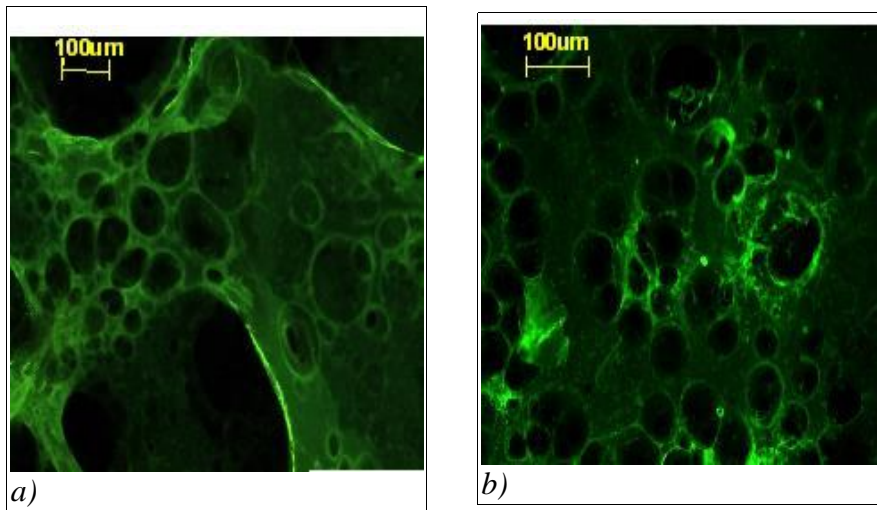


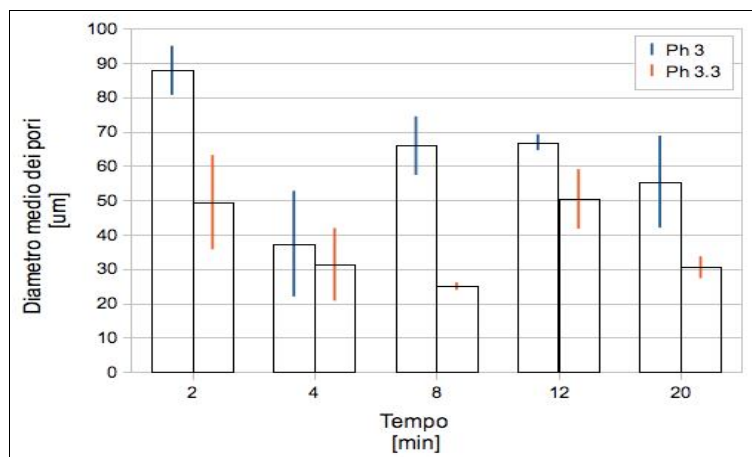
Fig. 4.8- Interpolazione delle curve massa del deposito per area, in funzione del tempo, al variare del pH.

Per quanto riguarda l'analisi microscopica in fluorescenza, anche i coating ottenuti in soluzione di acido malonico, hanno mostrato una struttura microporosa. Si riportano di seguito le immagini relative a due campioni dopo EDC (fig.4.8). La porosità è prevalentemente chiusa.



**Fig. 4.9** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione di acido malonico allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 8 min: a) pH 3; b) pH 3,3.

I risultati relativi all'analisi statistica dei pori, mettono in evidenza che il diametro medio dei pori diminuisce all'aumentare del pH, a parità di tempo di deposizione (fig.4.9). I coating ottenibili mediante soluzione di acido malonico presentano porosità media compresa tra 20-90 µm.

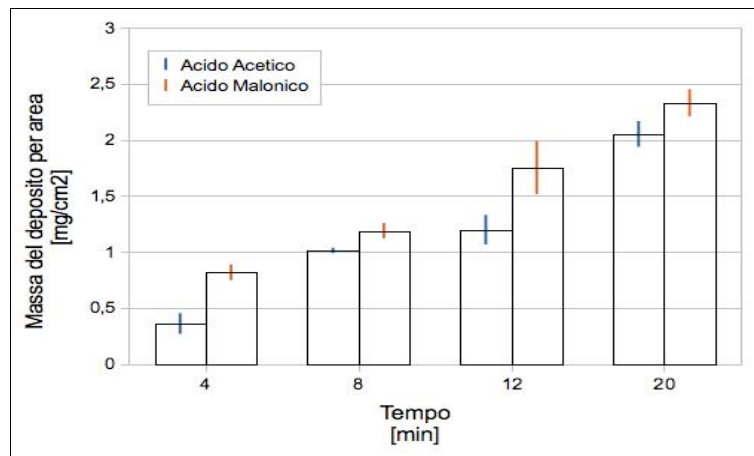


**Fig. 4.10**- Grafico del diametro medio dei pori (mm) in funzione del tempo di deposizione, al variare del pH della soluzione di acido malonico.



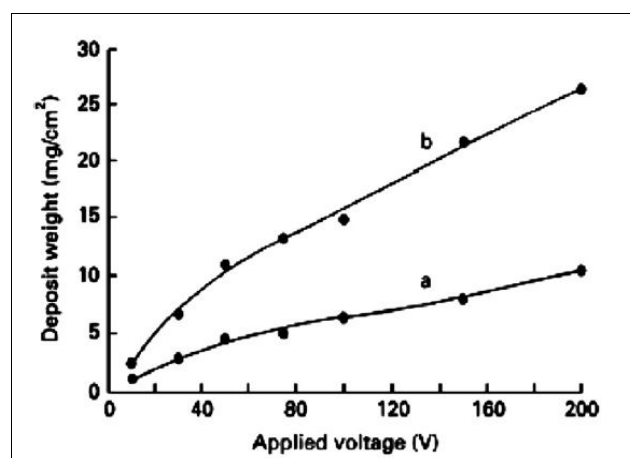
## 4.2 Effetto del potenziale applicato

In fig. 4.10, è rappresentato l'andamento della massa del deposito in funzione del tempo di deposizione e del potenziale applicato per l'EDC.



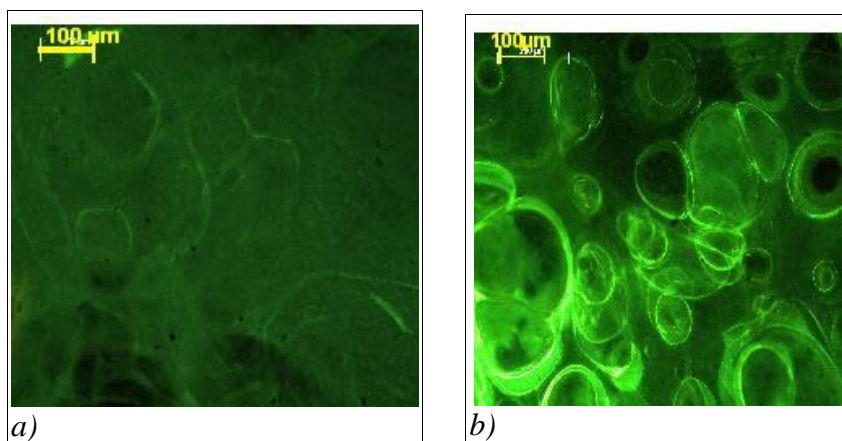
**Fig. 4.11** - Andamento della massa del deposito per area, in funzione del tempo di deposizione e del potenziale applicato, in prove di EDC che utilizzano soluzione di acido acetico  $1 \text{ g L}^{-1}$  di chitosano a  $j=5 \text{ mA cm}^{-2}$

I risultati mostrano un aumento della massa depositata in corrispondenza sia di un aumento del tempo di deposizione, come ci si aspetta, e sia di un aumento del potenziale applicato. Questo comportamento, è dovuto al fatto che la formazione del film sul catodo è un fenomeno cinetico. Quindi aumentando il potenziale applicato, viene favorito lo spostamento degli elettroliti in soluzione e quindi la deposizione. Quanto detto trova riscontro in letteratura in lavori come quello di Basu et al. (2001) e Zhitomirsky I, 1997. (fig.4.10). In questi studi è stato osservato l'effetto del potenziale sulla massa del deposito, in condizioni potenziometriche. Nel nostro studio invece si sono effettuate deposizioni in condizioni galvanostatiche.



**Fig. 4.12** – Peso del deposito di idrossiapatite su substrato di Ti6Al4V, in funzione del potenziale applicato, per diversi tempi di deposizione: (a) 30 s e (b) 120 s (Zhitomirsky I, 1997).

L'analisi morfologica e statistica dei pori, ha messo in evidenza che per valori di tensione applicata pari a 70 V, i coating non presentano una struttura porosa; diversamente da quelli ottenuti applicando un potenziale superiore di 99,8 V (fig.4.12). Quindi esiste un potenziale limite al di sotto del quale, la formazione di idrogeno gassoso non avviene. Infatti durante le prove a basso potenziale la formazione di bolle gassose era ridotto.

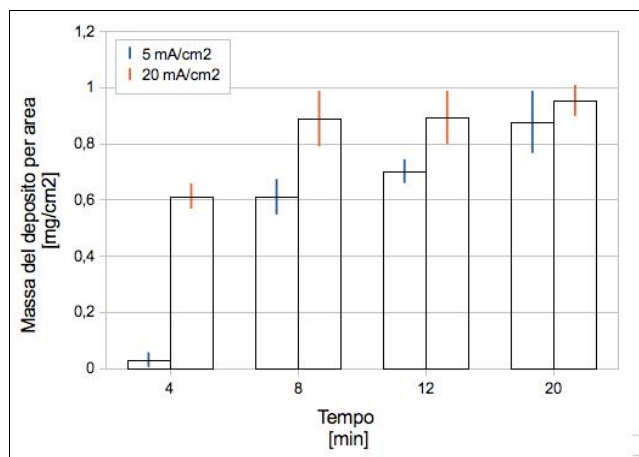


**Fig. 4.13** - Immagini al microscopio ottico in fluorescenza di provini di titanio dopo l'EDC, in soluzione di acido acetico a pH 4, allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 12 minuti: a) 70 V ; b) 99.8 V .

### ***4.3 Effetto della densità di corrente***

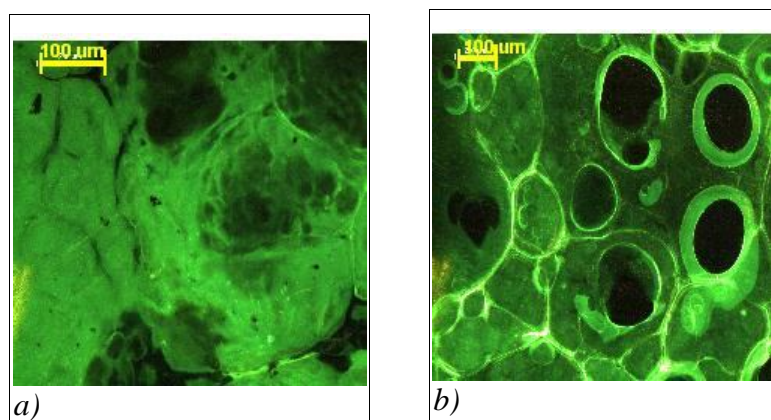
Nel paragrafo 3.4, sono state effettuate prove di deposizione utilizzando soluzioni di acido acetico a pH 4, allo scopo di studiare l'effetto della densità di corrente sulla massa del deposito e sulla morfologia del coating. In fig.4.13, si riporta l'andamento della massa del deposito per area in funzione del tempo di deposizione, al variare della densità di corrente applicata.

Si osserva un'aumento lineare della massa depositata all'aumentare del tempo di deposizione e del valore di corrente applicato.



**Fig. 4.14** - Andamento della massa del deposito in funzione del tempo e della densità di corrente applicata, per prove di EDC condotte in soluzione di acido acetico a pH 4 e a 99,8 V.

L'analisi morfologica del coating ha messo in evidenza che i coating ottenuti a potenziale pari a 70V, si presentano poco omogenei e porosi. Inoltre la diminuzione della densità di corrente ha fatto registrare una porosità quasi assente su coating depositati a  $5 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ , mentre su coating depositati a  $20 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ , la porosità è poco omogenea ma presente. In fig. 4.14 si riportano le immagini al microscopio di due campioni trattati per 20 minuti, significative di quanto detto.

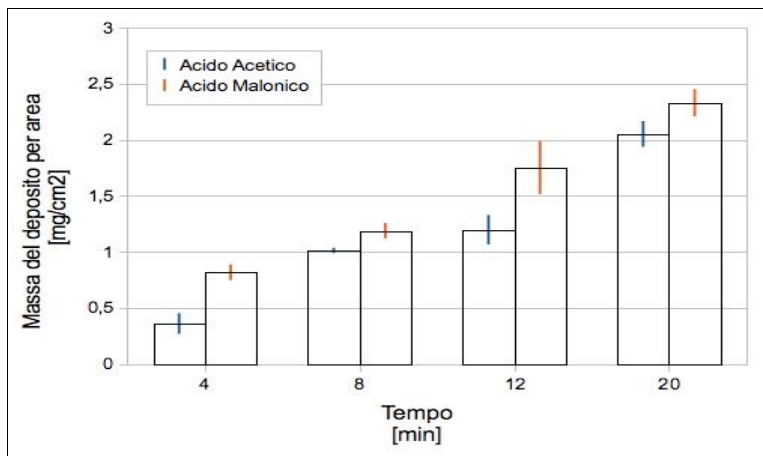


**Fig. 4.15** - Immagini al microscopio ottico in fluorescenza di provini di titanio dopo l'EDC, in soluzione di acido acetico a pH 4, allo 1% di chitosano, dopo EDC, per 20 minuti: a)  $5 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ ; b)  $20 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ .

#### 4.4 *Effetto della proticità della soluzione acida utilizzata come solvente*

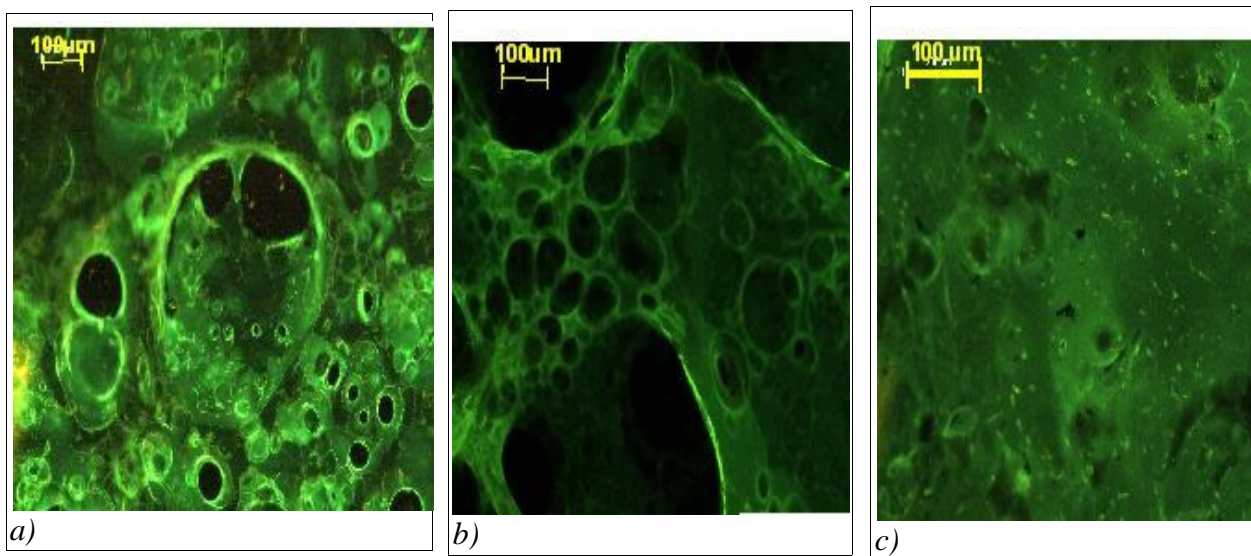
Per analizzare l'influenza della proticità, sul coating ottenuto per EDC, sono state eseguite prove con soluzione di acido acetico, acido malonico e fosforico a pH 3, che sono rispettivamente un acido monoprotico, diprotico e triprotico. In fig.4.14 si riportano gli andamenti della massa

depositata in funzione del tempo di deposizione al variare della soluzione acida utilizzata. Si osserva che all'aumentare della proticità dell'acido, la massa del deposito diminuisce, a parità di tempo di deposizione.



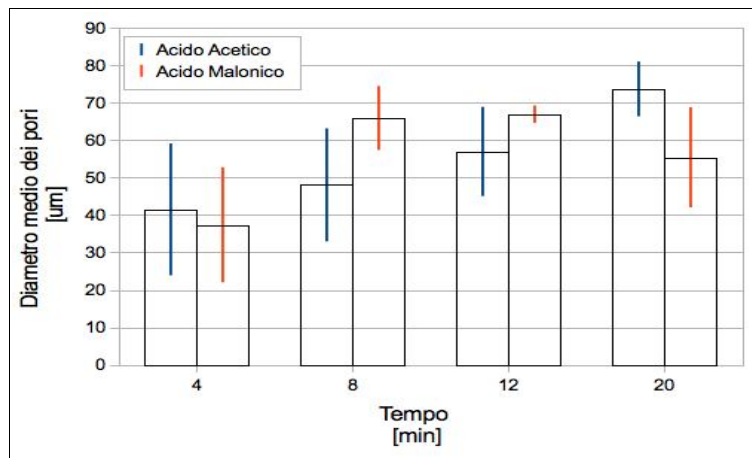
**Fig.4.16** - Andamento della massa del deposito in funzione del tempo di deposizione, al variare della soluzione acida utilizzata, per prove di EDC condotte a 70V.

L'analisi al microscopio ottico in fluorescenza ha messo in evidenza che i coating ottenibili mediante EDC in soluzione di acido acetico e malonico, a pH 3 è per lo più chiusa. Per il campione trattato in soluzione di acido malonico, è osservabile l'alternanza di pori di piccole dimensioni a pori di grandi dimensioni. Mentre è assente la porosità per i coating ottenuti in soluzione di acido fosforico (fig. 4.17).



**Fig.4.17** - Immagini al microscopio ottico a fluorescenza di provini di titanio dopo l' EDC, in soluzione a pH 3, di acido acetico (a); acido malonico (b), acido fosforico (c), per un tempo di deposizione pari a 8 minuti.

L'analisi statistica del diametro medio dei pori ha messo in luce che la dimensione media dei pori, a parità di tempo di deposizione, dei coating ottenuti per EDC in soluzione di acido acetico, è confrontabile con quella dei pori ottenuti in soluzione di acido malonico (4.17).



**Fig. 4.18** - Andamento del diametro medio dei pori in funzione del tempo di deposizione, al variare della proticità dell'acido in soluzione.

# Conclusioni

In questo lavoro di tesi è stato dimostrato che è possibile modulare la morfologia e la porosità del coating, mediante elettrodeposizione catodica, su substrati di titanio, variando i parametri di processo.

A partire dagli studi trovati in letteratura, sono stati scelti i parametri che influiscono sul processo di deposizione e sono stati: il tempo di deposizione, il pH della soluzione, la tensione, la densità di corrente e la proticità della soluzione acida.

Dallo studio effettuato è emerso che all'aumentare dei parametri di tempo, pH, tensione e corrente si registra un aumento della massa del coating depositato. Mentre per quanto riguarda la proticità dell'acido, i risultati hanno dimostrato che all'aumentare della proticità vi è una diminuzione della massa depositata.

Questo ci permette di dire che la variazione dei parametri di processo, può permettere la modulazione dello spessore del coating depositato.

Per quanto riguarda l'analisi morfologica, è stato possibile osservare che è possibile ottenere strutture microporose, con dimensione dei pori variabile nel range compreso tra 40-190 $\mu\text{m}$ , usando soluzioni di acido acetico e tra 20-90 $\mu\text{m}$ , usando soluzioni di acido malonico.

Questi risultati permettono di continuare gli studi riguardanti gli effetti dei parametri di processo dell'elettrodeposizione catodica, per modificare superfici, in ambito biomedicale, a seconda delle esigenze specifiche, morfologiche e strutturali richieste dall'applicazione.

## Bibliografia

- Besra, L and Liu M (2007), 'A review on fundamentals and applications of electrophoretic deposition (EPD)', *Progress in Materials Science*, 52, 1-61.
- Boccaccini, A.R., Zhitomirsky, I., (2002), 'Application of electrophoretic and electrolytic deposition techniques in ceramics processing', *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* 6, 251–260.
- Capila, I., Linhardt, R.J., (2002). Heparin–protein interactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* 41, 390–412.
- Collinson, M M., Higgins D A., Kommidir R and Campbell-Rance (2008), 'Electrodeposited Silicate Films: Importance of Supporting Electrolyte', *Analytical Chemistry*, 80, 651-656.
- Derjaguin (1948), 'Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solution of particles in solution of electrolytes'. *Acta Physicochimic. URSS* 14, 633-62.
- Fu, J., Ji, J., Yuan, W., Shen, J., (2005), Construction of anti-adhesive and antibacterial multilayer films via layer-by-layer assembly of heparin and chitosan. *Biomaterials* 26, 6684–6692.
- Gottlander M, Johansson C B, Wennerberg A, Albrektsson T, Radin S and Ducheyne P (1997), 'Bone tissue reactions to an electrophoretically applied calcium phosphate coating', *Biomaterials*, 18, 551-557.
- He, Q., Ao, Q., Wang, A., Gong, Y., Zhao, N., Zhang, X., (2007). In vitro cytotoxicity and protein drug release properties of chitosan/heparin microspheres. *Tsinghua Sci. Technol.* 12, 361–365.
- Huang, M., Vitharana, S.N., Peek, L.J., Coop, T., Berkland, C., (2007). Polyelectrolyte complexes stabilize and controllably release vascular endothelial growth factor. *Biomacromolecules* 8, 1607–1614.
- Kweon, D.K., Lim, S.-T., (2003). Preparation and characteristics of a water-soluble chitosan/heparin complex. *J. Appl. Polym. Sci.* 87, 1784–1789.
- Lin, W.-C., Liu, T.-Y., Yang, M.-C., (2004). Hemocompatibility of polyacrylonitrile dialysis membrane immobilized with chitosan and heparin conjugate. *Biomaterials* 25, 1947–1957.
- Lin, W.-C., Tseng, C.-H., Yang, M.-C., (2005). In vitro hemocompatibility evaluation of a thermoplastic polyurethane membrane with surface-immobilized water-soluble chitosan and heparin. *Macromol. Biosci.* 5, 1013–1021.
- Lu X, Leng Y and Zhang Q (2008), 'Electrochemical deposition of octacalcium phosphate micro fiber/chitosan composite coatings on titanium substrates', *Surf Coat Tech*, 202, 3142-3147.
- Oliveira, G.B., Carvalho Jr., L.B., Silva, M.P.C., (2003). Properties of carbodiimide treated heparin.

Biomaterials 24, 4777–4783.

Pang, X., Zhitomirsky, I., (2005a). Electrodeposition of composite hydroxyapatite–chitosan films. *Mater. Chem. Phys.* 94, 245–251.

Pang, X., Zhitomirsky, I., (2005b). Electrodeposition of nanocomposite organic–inorganic coatings for biomedical applications. *Int. J. Nanosci.* 4, 409–418.

Pang. X and Zhitomirsky I (2007), 'Electrophoretic deposition of composite hydroxyapatite chitosan coatings', *Materials Characterization*, 58, 339-348.

Pang. X and Zhitomirsky I. (2008), 'Electrodeposition of hydroxyapatite-silver-chitosan nanocomposite coatings', *Surface and Coatings Technology*, 202, 3815-3821.

Pang. X and Zhitomirsky I (2009), 'Electrophoretic deposition of composite hydroxyapatite–chitosan–heparin coatings', *journal of materials processing technology* 209 ( 2009 ) 1597–1606

Redepenning, J and McIsaac J P (1990), 'Electrocrystallization of Brushite Coatings on Prosthetic Alloys', *Chemistry of Materials*, 2, 625-627.

Redepenning, J, Schlessinger T, Burnham S, Lippiello L and Miyano J (1996), 'Characterization of electrolytically prepared brushite and hydroxyapatite coatings on orthopedic alloys', *Journal of Biomedical Materials Research*, 30, 287-294.

Rubini F. 2008, 'Elettrodeposizione catodica di chitosano su titanio da soluzioni acquosa e bagni di solvente organico'.

Sakai, Y, Hayano K, Yoshioka H, Fujieda T, Saito K and Yoshioka H (2002), 'Chitosan-Coating of Cellulosic Materials Using an Aqueous Chitosan-CO<sub>2</sub> Solution', *Polymer Journal*, 3, 144-148.

Shirkhazadeh, M (1991), 'Bioactive Calcium-Phosphate Coatings Prepared by Electrodeposition', *Journal of Materials Science Letters*, 10, 1415-1417.

Shirkhazadeh, M (1993), 'Electrochemical Preparation of Bioactive Calcium-Phosphate Coatings on Porous Substrates by Periodic Pulse Technique', *Journal of Materials Science Letters*, 12, 16-19.

Shirkhazadeh, M (1998), 'Direct formation of nanofase hydroxyapatite on cathodically polarized electrodes', *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, 9, 67-72.

Simchi, A, Pishbin F and Boccaccini A R (2009), 'Electrophoretic deposition of chitosan', *Materials Letters*, 63, 2253-2256.

Thierry, B., Merhi, Y., Silver, J., Tabrizian, M., (2005). Biodegradable membrane-covered stent from chitosan-based polymers. *J. Biomed. Mater. Res.* 75A, 556–566.

Trivedi, (2005). 'Chemical and electrochemical depositions of platinum group metals and their applications', *Coordination Chemistry Reviews* 249 613–631.

Van der Biest O O and Vandeperre L J (1999), 'Electrophoretic deposition of materials', *Annu Rev Mater Sci*, 29, 327-352.



- Vasudev, S.C., Chandy, T., Sharma, C.P., (1997). Development of chitosan/polyethylene vinyl acetate co-matrix: controlled release of aspirin–heparin for preventing cardiovascular thrombosis. *Biomaterials* 18, 375–381.
- Wang, X., Yan, Y., Lin, F., Xiong, Z., Wu, R., Zhang, R., Lu, Q., (2005). Preparation and characterization of a collagen/chitosan/heparin matrix for an implantable bioartificial liver. *J. Biomater. Sci. Polym.* Ed. 16, 1063–1080.
- Wang, X. 2010. 'Surface Functionalization of Titanium with Chitosan/Gelatin via Electrophoretic Deposition: Characterization and Cell Behavior', *Biomacromolecules*, 11, 1254–1260.
- Wu L-Q, (2002). 'Voltage-Dependent Assembly of the Polysaccharide Chitosan onto an Electrode Surface', *Langmuir*, 18, 8620-8625
- Yang, M.-C., Lin, M.-C., (2003). Protein adsorption and platelet adhesion of polysulfone membrane immobilized with chitosan and heparin conjugate. *Polym. Adv. Technol.* 14, 103–113.
- Yu, X., Bichtelen, A., Wang, X., Yan, Y., Lin, F., Xiong, Z., Wu, R., Zhang, R., Lu, Q., (2005). Collagen/chitosan/heparin complex with improved biocompatibility for hepatic tissue engineering. *J. Bioact. Compat. Polym.* 20, 15–28.
- Zhang, J M, Lin C J, Feng Z D and Tian Z W (1998), 'Mechanistic studies of electrodeposition for bioceramic coatings of calcium phosphates by an in situ pH-microsensor technique', *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 452, 235-240.
- Zhang a, Shaolin Chen a, Wenlong Liu a, Zhijuan Huang a, Xiaoguang Liu b, Xiong Lu c, (2009). 'The simulation of the electrochemical cathodic Ca–P deposition process', *Materials Science and Engineering C* 29 108–114.
- Zhitomirsky, I and Gal-Or L (1997), 'Electrophoretic deposition of hydroxyapatite', *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, 8, 213-219.
- Zhitomirsky I (2000), 'Electrophoretic hydroxyapatite coatings and fibers', *Mater Lett*, 42, 262-271.
- Zhitomirsky, I (2000a), 'Ceramic Films Using Cathodic Electrodeposition', *Functional Coatings: Overview*, *JOM-e*, 52.
- Zhitomirsky I (2002), 'Cathodic electrodeposition of ceramic and organoceramic materials. Fundamental aspects', *Adv Colloid Interfac*, 97, 277-315.
- Zhitomirsky, I and Hashambhoy A (2007), 'Chitosan-mediated electrosynthesis of organic-inorganic nanocomposites', *Journal of Materials Processing Technology*, 191, 68-72.
- Zhitomirsky I (2008), 'Electrodeposition of hydroxyapatite–silver–chitosan nanocomposite coatings' *Surface & Coatings Technology* 202, 3815–3821.
- Zhu, A., Zhang, M., Wu, J., Shen, J., (2002). Covalent immobilization of chitosan/heparin complex with a photosensitive hetero-bifunctional crosslinking reagent on PLA surface. *Biomaterials* 23, 4657–4665.

Zhu, A.P., Ming, Z., Jian, S., (2005). Blood compatibility of chitosan/heparin complex surface modified ePTFE vascular graft. *Appl. Surf. Sci.* 241, 485–492.