

POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

Corso di Laurea Magistrale

in Ingegneria Chimica e dei Processi Sostenibili

Tesi di Laurea Magistrale

**Silici funzionalizzate con ioni zinco: l'effetto delle
tecniche di funzionalizzazione sulle proprietà del
materiale**



Relatori

Prof. Mauro Banchero

Prof. Luigi Manna

Dott.ssa Sara Saber Younes Mohamed

Candidato

Alessio Farina

Novembre 2025

Indice

Elenco delle figure	iii
Elenco delle tabelle	vi
Acronimi	vii
Introduzione	1
1 Silici mesoporose come agenti emostatici	3
1.1 Coagulazione del sangue	3
1.1.1 Emostasi primaria	3
1.1.2 Emostasi secondaria	4
1.2 Le silici mesoporose (SM): generalità	8
1.2.1 Tipologie di particelle di silice mesoporosa	8
1.2.2 Processi di sintesi	10
1.2.3 Parametri di sintesi che influiscono sulle proprietà finali	12
1.2.4 Controllo della dimensione dei pori	13
1.2.5 Controllo della morfologia	14
1.3 Biocompatibilità delle silici mesoporose	16
1.4 Attività emostatica della silice mesoporosa	16
1.5 Versatilità delle particelle di silice mesoporosa per la funzionalizzazione	17
2 Funzionalizzazione della silice mesoporosa con ioni zinco: strategie, effetti e applicazioni biomedicali	19
2.1 Motivazioni della funzionalizzazione con zinco	19
2.2 Proprietà chimico-fisiche dello zinco	20
2.3 Meccanismi di interazione tra Zn e silice mesoporosa	20
2.4 Effetti della funzionalizzazione sulla matrice mesoporosa	22
2.5 Strategie di incorporazione degli ioni zinco nella silice mesoporosa	22
2.5.1 Approccio in situ: co-condensazione	22
2.5.2 Approcci post-sintesi: impregnazione	23
2.5.3 Approcci post-sintesi: miscelazione solido-solido	23
2.5.4 Confronto tra approcci in situ e post-sintesi	23
2.6 Attività antibatterica della silice mesoporosa funzionalizzata con zinco	25
2.6.1 Prospettive applicative in ambito biomedicale	27
3 Materiali e metodi	29
3.1 Materiali	29

3.2	Sintesi della silice mesoporosa	29
3.3	Funzionalizzazione con ioni zinco	30
3.3.1	Funzionalizzazione per impregnazione (strategia post-sintesi)	30
	Impregnazione post-calcinazione	30
	Impregnazione pre-calcinazione	30
3.3.2	Funzionalizzazione con miscelazione allo stato solido (strategia post-sintesi)	31
	Miscelazione solido-solido post-calcinazione	31
	Miscelazione solido-solido pre-calcinazione	31
3.3.3	Funzionalizzazione per co-condensazione (strategia in situ)	31
3.4	Caratterizzazione	32
3.4.1	Fisisorbimento di azoto	32
3.4.2	Diffrazione a raggi X (XRD)	32
3.4.3	Microscopia a scansione elettronica a emissione di campo (FESEM) e spettroscopia EDX	35
3.4.4	Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR)	35
3.5	Test emostatici	35
4	Risultati	37
4.1	Caratterizzazione di MSM	37
4.2	Caratterizzazione delle silici funzionalizzate per impregnazione	40
4.3	Caratterizzazione delle silici funzionalizzate con miscelazione allo stato solido ..	44
4.4	Caratterizzazione della silice funzionalizzata in situ con ZnCl_2	49
4.5	Proprietà emostatiche	52
5	Conclusioni	55
6	Prospettive future	57
	Bibliografia	59

Elenco delle figure

1.1	Schema illustrativo delle fasi principali dell'emostasi primaria, adattato da Jurk e Kehrel [29].	4
1.2	Rappresentazione schematica del modello classico della coagulazione, che distingue una via intrinseca e una via estrinseca, entrambe convergenti nella via comune. Immagine adattata da [32].	5
1.3	Schema del modello cell-based della coagulazione, che prevede tre fasi principali: iniziazione, amplificazione e propagazione. Immagine adattata da [32].	7
1.4	Principali tipologie di silici mesoporose (MCM, SBA, ecc.) e loro morfologie caratteristiche. Immagine adattata da [39].	9

1.5	Meccanismo di sintesi delle nanoparticelle di silice mesoporosa MCM-41. Adattato da Wu e Zhao [28].	11
1.6	Schema delle reazioni di condensazione degli alcossisilani che portano alla formazione di legami silossanici e alla transizione da catene lineari a una rete tridimensionale (gel). Adattato da Wu e Zhao [28].	11
1.7	Principali morfologie delle particelle di silice mesoporosa (sfere, oblunghe, platelet, bastoncelli corti o lunghi) e relativi arrangiamenti porosi (esagonale, cubico, lamellare). Adattato da [49].	15
2.1	Schema rappresentativo dell'interazione tra diversi cationi metallici e le micelle del surfattante P123 durante la sintesi della SBA-15. Un'elevata interazione metallo–interfaccia favorisce la formazione di particelle sferiche, mentre un'interazione più debole porta alla formazione di bastoncelli [76].	21
2.2	Schema delle due varianti del metodo solid-state grinding applicato alla SBA-15. (a) La matrice viene inizialmente calcinata, poi miscelata con i precursori metallici e nuovamente calcinata. (b) I precursori vengono direttamente miscelati con la SBA-15 as-synthesized e successivamente calcinata. In entrambi i casi, il trattamento termico finale favorisce la formazione e dispersione di specie ossidiche all'interno dei canali mesoporosi [75].	24
2.3	Meccanismi antibatterici degli ioni zinco: (A) sovraccarico intracellulare con produzione di ROS e disfunzioni metaboliche; (B) privazione degli ioni zinco mediante agenti chelanti, con inibizione degli enzimi zinco–dipendenti [81, 16].	26
3.1	Classificazione delle isoterme di fisisorbimento secondo le raccomandazioni IUPAC. Il tipo I si divide in Ia, caratteristico di materiali microporosi con micropori stretti (< 1 nm), e Ib, che descrive solidi con distribuzione di micropori più ampia (fino a circa 2,5 nm). Il tipo II rappresenta l'adsorbimento su solidi non porosi o macroporosi, con formazione di monostrato e successivo multilayer. Il tipo III è associato a interazioni deboli tra adsorbente e adsorbato e alla formazione di cluster molecolari senza punto B definito. Il tipo IVa descrive i materiali mesoporosi con condensazione capillare e loop di isteresi, mentre il tipo IVb è tipico di mesopori stretti o conici che rendono l'isoterma reversibile. Il tipo V, simile al III a basse pressioni, è seguito dal riempimento dei mesopori, mentre il tipo VI mostra un andamento a gradini dovuto all'adsorbimento multistrato su superfici omogenee. Adattato da [88].	33
3.2	Classificazione dei loop di isteresi secondo IUPAC. Il tipo H1 è associato a materiali mesoporosi ordinati con pori cilindrici uniformi (es. SBA-15, MCM-41), e mostra un loop quasi verticale e simmetrico, indice di condensazione capillare in pori ben definiti. Il tipo H2 è tipico di strutture porose complesse: H2a indica sistemi con pore blocking/percolazione o cavitazione in colli stretti, mentre H2b si osserva in materiali con ampia distribuzione delle dimensioni dei colli. Il tipo H3 si manifesta in aggregati lamellari o sistemi con macropori non completamente riempiti dal condensato, e l'isoterma di adsorbimento ricorda una curva di tipo II. Il tipo H4 combina le caratteristiche dei tipi I e II, con assorbimento marcato a basse pressioni (micropori) e successiva mesoporosità; è comune in materiali micro-mesoporosi come alcune zeoliti e carboni attivi. Il tipo H5, più raro, è associato a sistemi contenenti mesopori aperti e altri parzialmente chiusi (es. silici esagonali con “plug”). La forma del loop di isteresi fornisce quindi indicazioni non solo sulla dimensione dei pori, ma anche sulla loro geometria e connettività. Adattato da [88].	34

4.1	Isoterme di adsorbimento e desorbimento di azoto del campione MSM ottenute mediante fisisorbimento di azoto.....	38
4.2	Distribuzione delle dimensioni dei pori del campione MSM ottenuta con il modello DFT.....	38
4.3	Immagine FESEM del campione MSM a due diversi ingrandimenti: 5 000× (sinistra) e 10 000× (destra). In basso a sinistra di ciascuna immagine è riportata la barra di scala di 1 μm	39
4.4	Isoterme di adsorbimento e desorbimento di azoto a 77 K per MSM, Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP.	40
4.5	Distribuzioni delle dimensioni dei pori calcolate con il modello DFT per MSM, Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP.	41
4.6	Spettri XRD di MSM, Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP.	42
4.7	Immagine FESEM del campione Zn@MSM-P123-IMP acquisita a ingrandimento 5 000× sulla sinistra e 10 000× sulla destra. In basso a sinistra di entrambe le immagini, è presente una barra di scala della dimensione di 1 μm	42
4.8	Immagine FESEM del campione Zn@MSM-IMP acquisita a ingrandimento 5 000× sulla sinistra e 10 000× sulla destra. In basso a sinistra di entrambe le immagini, è presente una barra di scala della dimensione di 1 μm	43
4.9	Spettri FT-IR dei campioni MSM, Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP.	44
4.10	Isoterme di adsorbimento e desorbimento di azoto a 77 K per i campioni MSM, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S.	45
4.11	Distribuzione delle dimensioni dei pori ottenuta con il modello DFT per i campioni MSM, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S.	45
4.12	Spettri XRD di MSM, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S.	46
4.13	Immagine FESEM del campione Zn@MSM-P123-S acquisita a ingrandimento 5 000× sulla sinistra e 10 000× sulla destra. In basso a sinistra di entrambe le immagini è riportata la barra di scala di 1 μm	47
4.14	Immagine FESEM del campione Zn@MSM-S acquisita a ingrandimento 5 000× sulla sinistra e 10 000× sulla destra. In basso a sinistra di entrambe le immagini è riportata la barra di scala di 1 μm	47
4.15	Spettri FT-IR dei campioni MSM, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S.	48
4.16	Isoterma di adsorbimento e desorbimento di azoto a 77 K del campione Zn@MSM-insitu.	49
4.17	Distribuzione delle dimensioni dei pori ottenuta con il modello DFT per il campione Zn@MSM-insitu.	50
4.18	Spettro XRD del campione Zn@MSM-insitu.	51
4.19	Immagine FESEM del campione Zn@MSM-insitu acquisita a ingrandimento 5 000× (sinistra) e 10 000× (destra). In basso è riportata la barra di scala di 1 μm	51
4.20	Spettro FT-IR del campione Zn@MSM-insitu.	52
4.21	Risultati dei test emostatici preliminari: tempo di coagulazione medio (min) per ciascun campione. Le barre rappresentano la media aritmetica di tre repliche; le barre d'errore indicano la deviazione standard.	53

Elenco delle tabelle

1.1	Proprietà principali delle diverse famiglie di particelle di silice mesoporosa.	10
2.1	Confronto tra le strategie di incorporazione dello Zn nella SBA-15.	24
4.1	Valori di area superficiale, volume poroso e valore modale della dimensione dei pori del campione di silice mesoporosa MSM.	38
4.2	Composizione elementare (percentuali massiche) del campione MSM ottenuta tramite analisi EDX.	39
4.3	Valori di area superficiale, volume poroso e valore modale della dimensione dei pori delle silici funzionalizzate per impregnazione confrontati con quella non funzionalizzata.	41
4.4	Composizioni elementari (percentuali massiche) dei campioni Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP ottenute tramite analisi EDX.	42
4.5	Valori di area superficiale, volume poroso e diametro modale dei pori dei campioni MSM, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S.	46
4.6	Composizioni elementari (percentuali massiche) dei campioni Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S ottenute tramite analisi EDX.	47
4.7	Valori di area superficiale, volume poroso e diametro modale dei pori dei campioni MSM e Zn@MSM-insitu.	50
4.8	Composizione elementare (percentuali massiche) del campione Zn@MSM-insitu ottenuta tramite analisi EDX.	52

Acronimi

Sigla	Significato
ADP	Adenosina difosfato.
ATP	Adenosina trifosfato.
C dots	“Cornell dots”, nanoparticelle di silice fluorescenti per bioimmagini.
CTAB	Bromuro di esadeciltrimetilammonio (tensioattivo cationico).
DFU-1	Delft University mesoporous material (famiglia DFU).
FDU	Fudan University mesoporous material (famiglia FDU).
HMM-33	Hiroshima Mesoporous Material (variante HMM).
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry.
KCC-1	Silice fibrosa mesoporosa “KCC-1”.
KIT	Korea Advanced Institute of Science and Technology (famiglia KIT).
KIT-5	Materiale mesoporoso della famiglia KIT (simmetria cubica).
LD₅₀	Dose letale mediana.
M41S	Serie di materiali mesoporosi (MCM-41, MCM-48, MCM-50).
MCM-41	Mobil Crystalline Material 41 (struttura esagonale 2D).
MCM-48	Mobil Crystalline Material 48 (struttura cubica 3D a doppio reticolo).
MCM-50	Mobil Crystalline Material 50 (struttura lamellare).
MSN	Mesoporous Silica Nanoparticles (nanoparticelle di silice mesoporosa).
P123	Pluronic P123, copolimero triblocco EO–PO–EO (tensioattivo/templante).
SANS	Small-Angle Neutron Scattering (diffusione di neutroni a piccolo angolo).
SAXS	Small-Angle X-ray Scattering (diffusione di raggi X a piccolo angolo).
SBA	Santa Barbara Amorphous (famiglia SBA).
SBA-11	Materiale SBA con struttura cubica semplice.
SBA-12	Materiale SBA con struttura esagonale 3D.
SBA-15	Materiale SBA con struttura esagonale 2D e pori ampi.
SBA-16	Materiale SBA con struttura cubica a gabbia.
SM	Silici mesopore (abbreviazione generale nel testo).
TEOS	Tetraetil ortosilicato (precursore della silice).
TEM	Transmission Electron Microscopy (microscopia elettronica in trasmissione).
TF	Tissue Factor (fattore tissutale).
TMOS	Tetrametil ortosilicato (precursore della silice).
vWF	Fattore di von Willebrand (ponte adesivo piastrinico).
Zn²⁺	Ione zinco bivalente.

Sigla	Significato
ZnO	Ossido di zinco.
ZnS	Solfuro di zinco.
ROS	Reactive Oxygen Species (specie reattive dell'ossigeno).
EDTA	Acido etilendiamminotetraacetico (agente chelante).
LC–MS	Liquid Chromatography–Mass Spectrometry.
FESEM	Field Emission Scanning Electron Microscopy (microscopia elettronica a scansione a emissione di campo).
EDX	Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (spettroscopia a dispersione di energia dei raggi X).
MCT	Mercury Cadmium Telluride (rivelatore IR per FT-IR).
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy
MSM	Microsfere di Silice Mesoporosa (campione di silice mesoporosa non funzionalizzata di riferimento ottenuto in questa tesi).
Zn@MSM-IMP	Campione funzionalizzato con Zn per impregnazione post-calcinazione.
Zn@MSM-P123-IMP	Campione funzionalizzato con Zn per impregnazione pre-calcinazione (in presenza di templante P123).
Zn@MSM-S	Campione funzionalizzato con Zn per miscelazione solido–solido post-calcinazione.
Zn@MSM-P123-S	Campione funzionalizzato con Zn per miscelazione solido–solido pre-calcinazione (in presenza di P123).
Zn@MSM-insitu	Campione funzionalizzato con Zn per co–condensazione (strategia in situ).

Introduzione

Le emorragie provocate da ferite o traumi possono avere effetti estremamente gravi sulla salute dell'individuo, fino a compromettere le funzioni vitali e, nei casi più critici, provocarne la morte se non trattate tempestivamente [1, 2, 3]. Per far fronte a questa criticità, la comunità scientifica è impegnata nello sviluppo di nuovi materiali emostatici in grado di fermare il sanguinamento in modo rapido ed efficiente. Tuttavia, un materiale emostatico efficace non può limitarsi a bloccare l'emorragia: deve anche risultare sicuro per il paziente, evitando effetti collaterali indesiderati, e accessibile dal punto di vista economico, così da poter essere impiegato sia in contesti ospedalieri che in scenari di primo intervento [4].

Tra i diversi materiali studiati per applicazioni emostatiche, la silice mesoporosa si è rivelata particolarmente interessante per la sua capacità di accelerare il processo di coagulazione, grazie a una combinazione di proprietà strutturali e chimiche [4, 5, 6]. In particolare, l'elevata area superficiale di questo materiale favorisce un rapido assorbimento dell'acqua presente nel sangue, il che comporta un aumento della concentrazione di piastrine e fattori della coagulazione, facilitando così la formazione del coagulo. Oltre a queste caratteristiche funzionali, la silice mesoporosa è anche ben tollerata dall'organismo grazie alla sua buona biocompatibilità e alla bassa citotossicità [7]. Un ulteriore vantaggio è rappresentato dalla versatilità del processo di sintesi, che consente di regolare proprietà fondamentali come il diametro dei pori, semplicemente intervenendo sulle condizioni operative [8].

Un ulteriore punto di forza della silice mesoporosa risiede nella possibilità di modificarne le proprietà superficiali attraverso processi di funzionalizzazione, che permettono di introdurre nuove funzionalità in modo relativamente semplice [9, 10]. Tra le più rilevanti per applicazioni in ambito biologico vi è la funzionalizzazione antibatterica, ottenibile incorporando specifiche specie chimiche nella matrice del materiale. Un approccio efficace consiste nell'introduzione di ioni metallici, come lo zinco, capaci di esercitare un'azione antimicrobica [11, 12, 13]. Gli ioni Zn^{2+} possono essere immobilizzati sulla superficie della silice mediante diversi processi di funzionalizzazione, e la loro attività è legata all'inibizione di enzimi respiratori batterici e alla generazione di composti dannosi per i microrganismi [14, 15, 16].

Nel presente lavoro è stata sviluppata e studiata una silice mesoporosa funzionalizzata con ioni zinco, con l'obiettivo di ottenere un materiale potenzialmente emostatico e antibatterico. La sintesi della matrice di partenza si basa sul metodo proposto da Mohamed et al. (2015) [17], che permette di ottenere particelle sferoidali di silice con pori ordinati e dimensioni controllate. Successivamente, è stata condotta una valutazione comparativa tra diverse strategie di funzionalizzazione, con l'intento di comprendere l'influenza dei metodi scelti sulla morfologia e sulla struttura del materiale finale. Sono state considerate due strategie post-sintesi: la prima prevede l'impregnazione della silice con una soluzione acquosa di nitrato di zinco, mentre la seconda si basa sulla miscelazione solido-solido del precursore metallico con il materiale siliceo. Entrambe le strategie sono state esplorate sia in presenza che in assenza della sostanza templante, al fine di valutare tutte le possibili interazioni sulla funzionalizzazione e sull'integrità strutturale del materiale. Inoltre, è stata investigata una terza strategia, rappresentata da una funzionalizzazione in situ per co-condensazione, nella quale il cloruro di zinco è stato introdotto direttamente all'interno della miscela di sintesi, consentendo l'integrazione dello zinco fin dalle prime fasi della formazione della struttura mesoporosa.

Per valutare l'efficacia delle strategie sintetiche adottate e comprendere l'impatto della funzio-

nalizzazione sulle proprietà del materiale, è stata condotta una campagna di caratterizzazione utilizzando diverse tecniche analitiche. Le proprietà superficiali e porose sono state determinate tramite fisisorbimento di azoto, analizzato secondo il metodo BET (Brunauer–Emmett–Teller) [18, 19], e mediante il modello DFT per la valutazione della distribuzione delle dimensioni dei pori [20]. La diffrattometria a raggi X (XRD) è stata impiegata per verificare la natura amorfa dei materiali e per individuare l'eventuale formazione di fasi cristalline, in particolare ossido di zinco (ZnO), la cui presenza è indesiderata poiché può esercitare un effetto anticoagulante [21]. La spettroscopia infrarossa in trasformata di Fourier (FT-IR) è stata utilizzata per identificare i principali gruppi funzionali presenti sulla superficie della silice [22, 23, 24]. Le caratteristiche morfologiche sono state osservate mediante microscopia elettronica a scansione (FESEM), mentre la spettroscopia a dispersione di energia dei raggi X (EDX), associata alle analisi FESEM, è stata impiegata principalmente per verificare l'effettiva incorporazione dello zinco nei campioni funzionalizzati [25]. Infine, sono stati effettuati dei test emostatici preliminari con plasma bovino, per una valutazione dell'attività emostatica dei campioni sintetizzati.

L'obiettivo di questa tesi, dunque, è valutare come diversi processi di funzionalizzazione influenzano sulle proprietà chimico-fisiche dei materiali sintetizzati. A tal proposito la tesi è suddivisa nei seguenti capitoli:

- **Capitolo 1** – *Silici mesoporose come agenti emostatici*: viene fornita una breve spiegazione del processo di coagulazione e un'ampia panoramica sulla silice mesoporosa non funzionalizzata;
- **Capitolo 2** – *Funzionalizzazione della silice mesoporosa con ioni zinco: strategie, effetti e applicazioni biomedicali*: vengono spiegate le strategie operative, le motivazioni e gli effetti sulla matrice silicea della funzionalizzazione con zinco;
- **Capitolo 3** – *Materiali e metodi*: vengono descritti i reagenti impiegati, le procedure adottate per la sintesi e la funzionalizzazione dei materiali, nonché le tecniche analitiche utilizzate per valutarne le proprietà strutturali e superficiali;
- **Capitolo 4** – *Risultati*: raccoglie e commenta in maniera critica i dati sperimentali ottenuti dalle analisi condotte sui campioni;
- **Capitolo 5** – *Conclusioni*: sintetizza le evidenze emerse dal lavoro, discutendo i principali risultati e il loro significato in relazione agli obiettivi iniziali;
- **Capitolo 6** – *Prospettive future*: propone possibili estensioni del progetto, suggerendo nuove direzioni di ricerca legate alla silice mesoporosa funzionalizzata.

1. Silici mesoporose come agenti emostatici

La coagulazione del sangue è un processo fisiologico complesso e relativamente lento, che in caso di emorragie gravi deve essere accelerato per evitare conseguenze potenzialmente letali. Per questa ragione, negli ultimi anni è cresciuto l'interesse verso lo sviluppo di materiali emostatici in grado di promuovere una rapida formazione del coagulo e arrestare il sanguinamento. Oltre all'efficacia, tali materiali devono garantire sicurezza, biocompatibilità e, se possibile, biodegradabilità.

Tra i diversi approcci proposti, le silici mesoporose si sono distinte come candidati promettenti grazie all'elevata area superficiale, alla possibilità di modulare dimensione e morfologia dei pori, e alla versatilità della loro superficie che consente diverse funzionalizzazioni. Queste caratteristiche le rendono potenzialmente idonee ad agire come agenti emostatici innovativi, con prospettive interessanti rispetto ai materiali tradizionali [17, 4].

1.1 *Coagulazione del sangue*

La coagulazione del sangue rappresenta un meccanismo fisiologico fondamentale per la sopravvivenza, in quanto permette di arrestare un'emorragia e mantenere l'integrità vascolare. Questo processo si articola in tre fasi principali: emostasi primaria, emostasi secondaria e fibrinolisi [1, 2].

Nella fase di emostasi primaria, le piastrine aderiscono all'endotelio danneggiato e subiscono un processo di attivazione che porta al rilascio del contenuto dei granuli intracellulari. Gli agonisti rilasciati favoriscono il reclutamento e l'attivazione di ulteriori piastrine, culminando nella formazione del tappo piastrinico temporaneo. Questo tappo non è stabile se non viene rinforzato dalla deposizione di fibrina, che avviene nella fase successiva [3]. L'emostasi secondaria si basa sull'attivazione della cascata coagulativa, con la generazione di trombina e la successiva polimerizzazione della fibrina, che stabilizza il coagulo [26, 27]. Infine, la fibrinolisi interviene per degradare la fibrina e rimuovere il coagulo una volta che il danno vascolare è stato riparato, ristabilendo così il normale flusso sanguigno [26].

La regolazione di questi eventi è cruciale: un'attivazione insufficiente può portare a sanguinamenti incontrollati, mentre una risposta eccessiva è alla base di fenomeni trombotici. Per questo motivo, la comprensione dei meccanismi molecolari che governano la coagulazione è di fondamentale importanza per lo sviluppo di nuovi materiali e strategie emostatiche [28].

1.1.1 Emostasi primaria

Il processo di emostasi primaria inizia in seguito a una lesione endoteliale e si conclude con la formazione del tappo piastrinico. La prima risposta è rappresentata dalla vasocostrizione del vaso sanguigno, considerata una fase preliminare dell'emostasi primaria, che riduce temporaneamente la perdita ematica e favorisce l'intervento delle piastrine [1]. In Figura 1.1 è mostrata una rappresentazione schematica delle principali fasi del processo di emostasi primaria.

Questo processo può essere suddiviso in tre fasi: adesione, attivazione e aggregazione piastrinica. L'adesione rappresenta il primo momento cruciale, in cui le piastrine si legano al collagene esposto della matrice subendoteliale, un'interazione resa possibile dal fattore di von Willebrand (vWF) che funge da ponte con specifici recettori piastrinici [29]. Le piastrine, prodotte dai me-

gacariociti del midollo osseo, contengono due tipi di granuli: i granuli densi, che custodiscono adenosina difosfato (ADP), adenosina trifosfato (ATP), serotonina e calcio, e i granuli alfa, che immagazzinano proteine adesive, fattori di crescita e della coagulazione. Durante l'attivazione, il contenuto dei granuli viene rilasciato, favorendo il reclutamento e l'aggregazione di nuove piastrine [29]. La formazione del tappo piastrinico completa così l'emostasi primaria, mentre il rilascio di prostaciclina da parte delle cellule endoteliali circostanti impedisce una crescita incontrollata del coagulo [1].

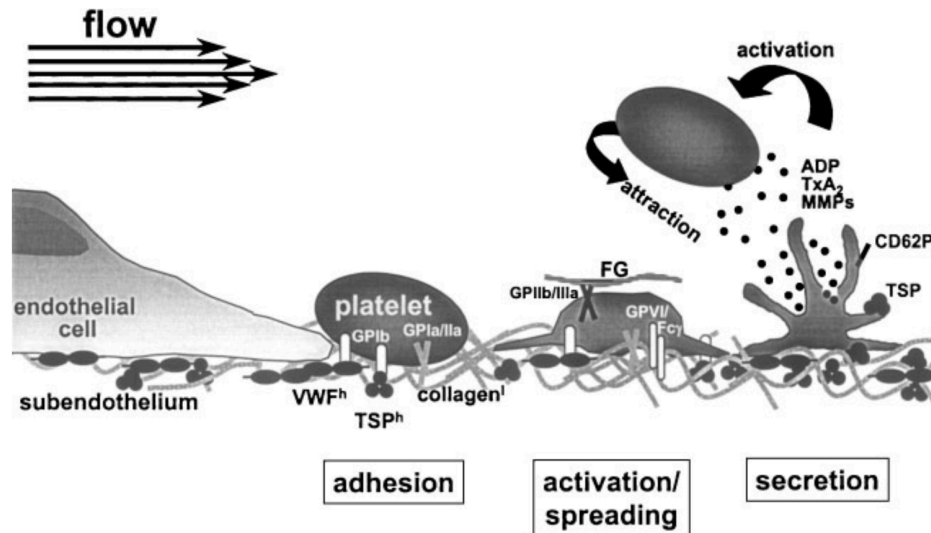
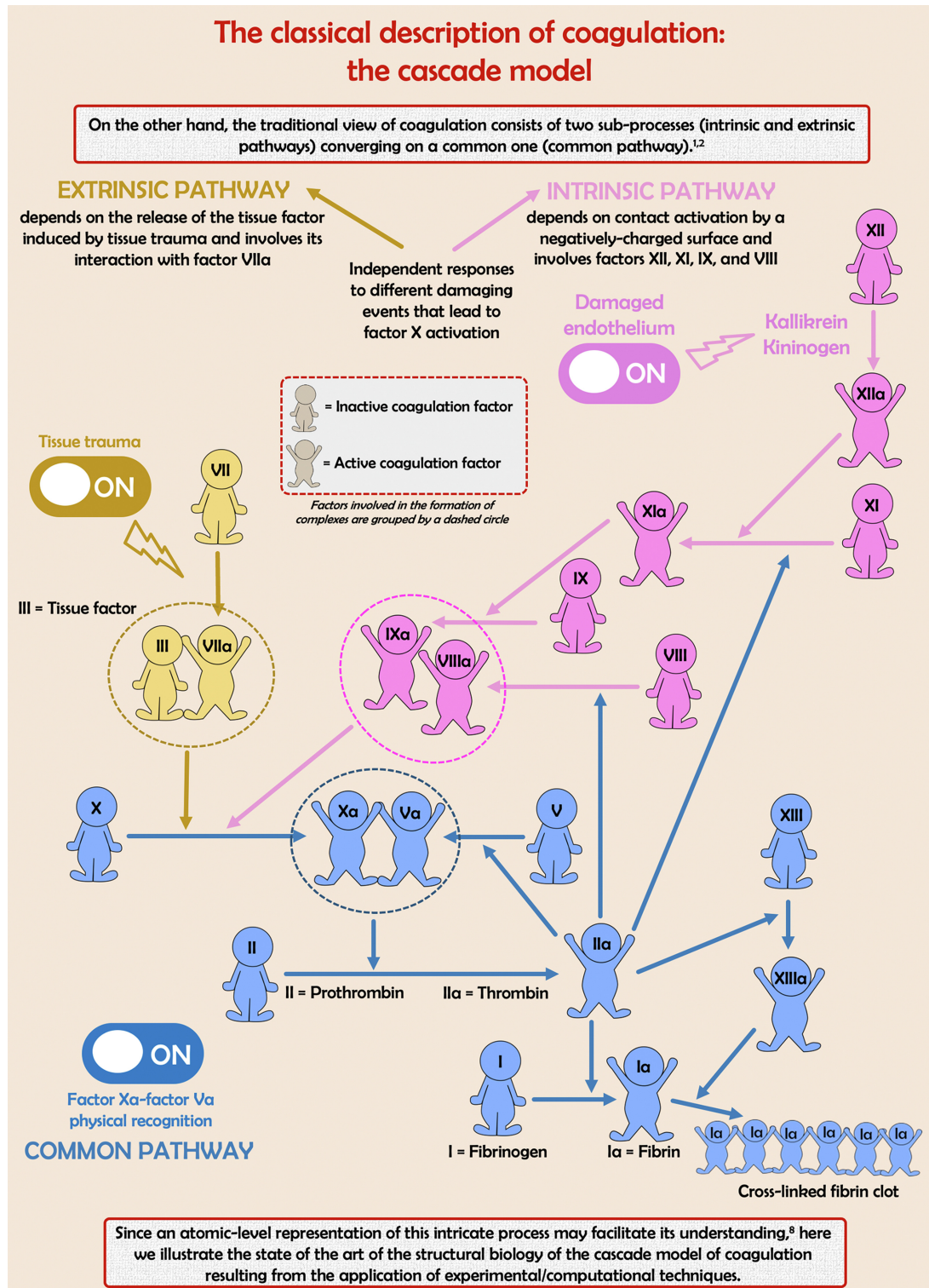


Figura 1.1: Schema illustrativo delle fasi principali dell'emostasi primaria, adattato da Jurk e Kehrel [29].

1.1.2 Emostasi secondaria

L'emostasi secondaria ha la funzione di consolidare e rafforzare il tappo piastrinico generato durante l'emostasi primaria, grazie alla deposizione di fibrina. Per questo motivo viene spesso definita come una cascata coagulativa, in quanto coinvolge l'attivazione sequenziale di numerosi fattori proteici, complessivamente tredici, identificati con numeri romani [30].

Il modello classico della cascata descrive due differenti vie, denominate intrinseca ed estrinseca, che confluiscono in una via comune. In Figura 1.2 è riportato tale modello. La via intrinseca, anche detta via di attivazione per contatto, prende avvio quando il fattore XII (fattore di Hageman) viene attivato a seguito del contatto con superfici non endoteliali cariche negativamente. Da questo evento iniziale si attivano in successione i fattori XI e IX; quest'ultimo, insieme al fattore VIIIa, forma il complesso tenasi, capace di convertire il fattore X nella sua forma attiva (Xa). Parallelamente, la via estrinseca è innescata dall'esposizione del fattore tissutale (TF), presente nel comparto subendoteliale, che a seguito della lesione vascolare viene a contatto con il sangue. Il TF, in presenza di ioni calcio, forma un complesso con il fattore VIIa che consente a sua volta l'attivazione del fattore X. A questo punto entrambe le vie confluiscono nella via comune, in cui il fattore Xa si associa al fattore Va e agli ioni calcio formando il complesso protrombinasi. Quest'ultimo è responsabile della conversione della protrombina in trombina, enzima cruciale che trasforma il fibrinogeno solubile in fibrina insolubile. La fibrina, grazie all'azione del fattore XIIIa e del calcio, polimerizza formando una rete stabile che consolida il tappo piastrinico [30, 31].



Since an atomic-level representation of this intricate process may facilitate its understanding,⁸ here we illustrate the state of the art of the structural biology of the cascade model of coagulation resulting from the application of experimental/computational techniques.

Figura 1.2: Rappresentazione schematica del modello classico della coagulazione, che distingue una via intrinseca e una via estrinseca, entrambe convergenti nella via comune. Immagine adattata da [32].

Anche se molto semplice da comprendere, il modello a due vie non descrive in maniera esaustiva la coagulazione in condizioni fisiologiche. Per questo motivo è stato introdotto un modello alternativo, detto modello cell-based, che sottolinea il ruolo centrale del fattore tissutale come iniziatore della cascata coagulativa e suddivide il processo in tre fasi: iniziazione, amplificazione e propagazione [2]. Durante l'iniziazione, il fattore tissutale esposto si lega al fattore VIIa sulla superficie fosfolipidica delle cellule, determinando l'attivazione dei fattori IX e X. Da questa reazione derivano piccole quantità di trombina, che rappresentano il segnale per la fase successiva. Nella fase di amplificazione, le basse concentrazioni di trombina attivano le piastrine e alcuni cofattori plasmatici fondamentali, come i fattori V, VIII e XI. Il fattore IXa, insieme al cofattore VIIIa, forma il complesso tenasi che aumenta significativamente l'attivazione del fattore X. Infine, nella fase di propagazione, il fattore Xa, associato a FVa e agli ioni calcio, dà origine al complesso protrombinasi che genera elevate quantità di trombina. Questo picco di trombina consente la rapida conversione del fibrinogeno in fibrina e l'attivazione del fattore XIII, che induce la formazione di filamenti reticolati di fibrina in grado di stabilizzare in maniera definitiva il coagulo [2, 31].

Questo modello descrive meglio l'interazione tra sistema coagulativo e risposta immunitaria, sottolineando come piastrine e cellule endoteliali contribuiscano alla regolazione fine del processo [31]. Inoltre, consente di spiegare alcune discrepanze osservate nei test in vitro rispetto al comportamento in vivo, mostrando una maggiore aderenza alla fisiologia reale [33]. In Figura 1.3 è mostrato il modello cell-based, che rappresenta il processo coagulativo appena descritto.

The contemporary view of blood coagulation

Coagulation is a complex biological process that involves a controlled sequence of proteolytic activations of a series of zymogens to accomplish appropriate and timely hemostasis of a damaged vessel through the formation of the final fibrin product.¹⁻⁷ All the proteins involved in this process are named coagulation factors.

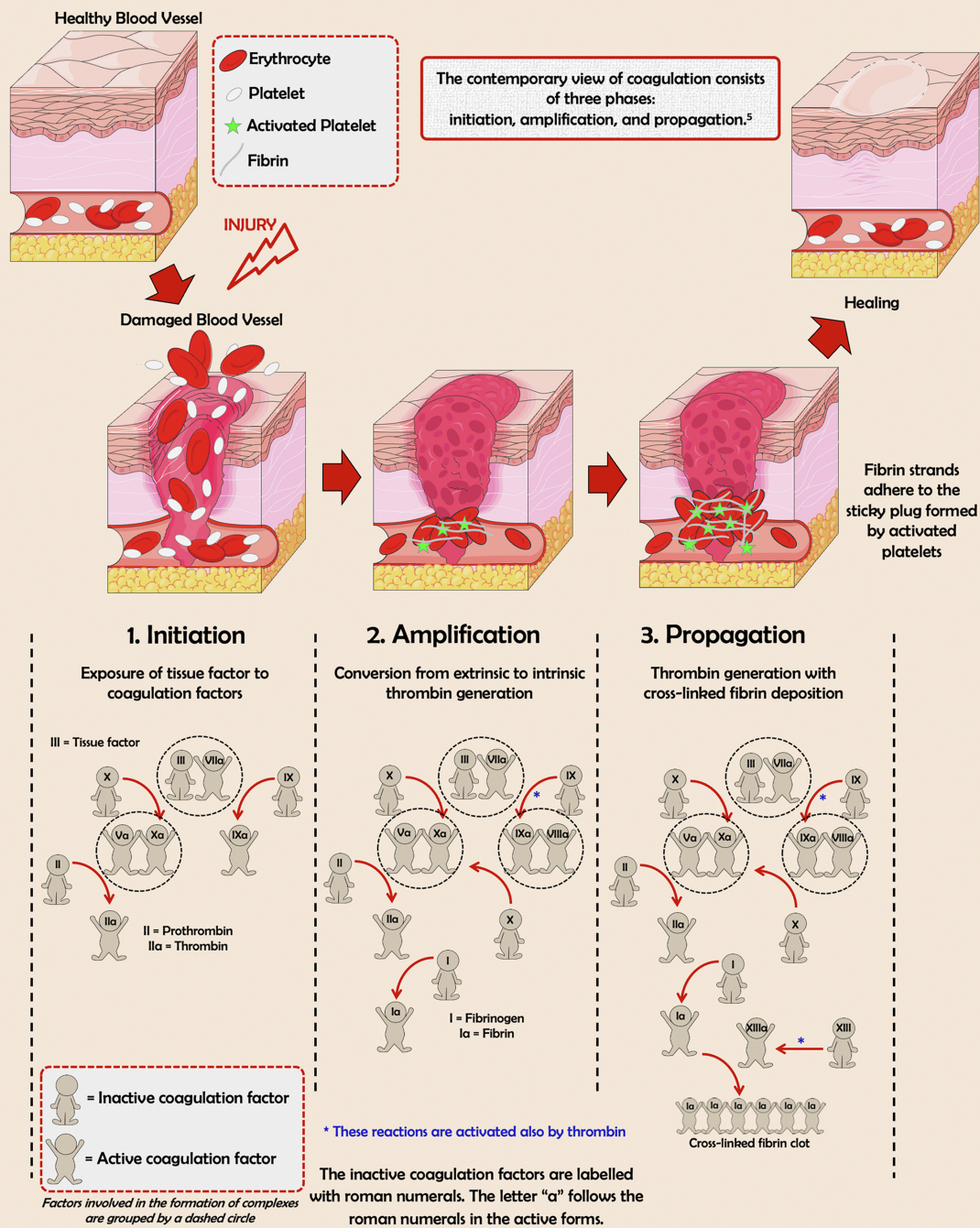


Figura 1.3: Schema del modello cell-based della coagulazione, che prevede tre fasi principali: iniziazione, amplificazione e propagazione. Immagine adattata da [32].

1.2 Le silici mesoporose (SM): generalità

Le silici mesoporose (SM) costituiscono una classe di materiali a base di biossido di silicio (SiO_2) caratterizzati da pori di dimensioni comprese tra 2 e 50 nm, secondo la classificazione dell'International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)[6, 5].

Questi materiali hanno suscitato crescente interesse negli ultimi decenni grazie a una combinazione di proprietà vantaggiose: elevata biocompatibilità, bassa citotossicità, ampia area superficiale specifica, notevole volume poroso e stabilità chimico-termica [5]. Inoltre, la loro natura amorfa e rigida, unita alla relativa semplicità e convenienza delle procedure sintetiche, li rende particolarmente versatili. Attraverso la modulazione dei parametri di sintesi, è infatti possibile controllarne in modo mirato morfologia, distribuzione dimensionale dei pori e caratteristiche superficiali [34]. Un ulteriore aspetto rilevante è la possibilità di funzionalizzare indipendentemente le superfici interna ed esterna, ampliandone il potenziale applicativo [5].

Nel contesto emostatico, le silici mesoporose offrono diversi vantaggi. I gruppi ossidrilici presenti sulla loro superficie sono in grado di formare legami idrogeno con l'acqua, favorendo il contatto diretto tra particelle e sangue. L'elevata porosità contribuisce ad adsorbire rapidamente il plasma, aumentando la concentrazione degli elementi corpuscolati e accelerando così la formazione del coagulo. Inoltre, la presenza di cariche negative superficiali può promuovere l'attivazione del fattore XII, facilitando l'innesco della cascata coagulativa [6].

Nelle sezioni successive verranno discusse le principali tipologie di particelle di silice mesopora e i metodi sintetici impiegati per la loro preparazione.

1.2.1 Tipologie di particelle di silice mesopora

A partire dai primi anni '90 la ricerca scientifica ha posto grande attenzione sulle silici mesoporose ottenute tramite l'impiego di tensioattivi come agenti templanti, con l'obiettivo di ottenere una porosità ordinata e modulabile. Tra i primi esempi si colloca la famiglia di materiali nota come M41S, sviluppata presso i laboratori della Mobil Oil Company. All'interno di questa serie sono compresi tre tipi principali: MCM-50, MCM-48 e MCM-41 (dove MCM sta per Mobil Crystalline Materials oppure Mobil Composition of Matter) [35]. È importante sottolineare che i numeri associati a queste sigle non hanno un significato strutturale intrinseco, ma rappresentano denominazioni arbitrarie introdotte dal gruppo di ricerca Mobil per distinguere i materiali sintetizzati in relazione alle loro strutture porose.

Le tre principali varianti della serie M41S presentano differenze strutturali ben definite: la MCM-41 possiede una struttura esagonale bidimensionale ordinata con canali cilindrici paralleli e diametro dei pori compreso tra 2 e 6 nm; la MCM-48 mostra una struttura cubica tridimensionale a doppio reticolo intrecciato che garantisce una rete di pori interconnessi; la MCM-50 presenta invece un'organizzazione lamellare, meno stabile rispetto alle precedenti e per questo meno diffusa nelle applicazioni pratiche [36, 37].

Successivamente, l'impiego di copolimeri triblocco non ionici, come tensioattivi a base di ossido di etilene e ossido di propilene, ha consentito la sintesi di nuove strutture, note come SBA (Santa Barbara Amorphous). Le principali sono SBA-11, SBA-12, SBA-15 e SBA-16, tutte sviluppate presso l'Università di Santa Barbara [38]. Anche in questo caso, i numeri non hanno un significato strutturale intrinseco, ma rappresentano semplicemente codici identificativi introdotti dal gruppo di ricerca. Le diverse SBA si distinguono per l'architettura dei pori: SBA-11 presenta una struttura cubica semplice ($Pm\bar{3}m$); SBA-12 un'organizzazione esagonale tridimensionale ($P6_3/mmc$); SBA-15 una struttura esagonale bidimensionale ($p6mm$) con pori

di dimensioni maggiori (fino a 30 nm) e pareti spesse che conferiscono elevata stabilità termica e meccanica; SBA-16 una simmetria cubica a gabbia ($Im3m$) caratterizzata da cavità interconnesse. Tra queste, SBA-15 è la più studiata grazie alla combinazione di ampia dimensione dei pori e robustezza strutturale [38, 39].

Oltre a queste, sono stati sintetizzati ulteriori tipi di materiali mesoporosi da diversi centri di ricerca: DFU-1 (Technical Delft University), HMM-33 (Hiroshima Mesoporous Material), COK-12 (Centre for Research Chemistry and Catalysis), FDU (Fudan University), KIT (Korean Advanced Institute of Science and Technology) e altri, ciascuno caratterizzato da morfologia e dimensione dei pori specifiche [39]. Alcune di queste strutture sono disponibili anche in forma di nanoparticelle (nanoparticelle di silice mesoporosa, MSN).

In Figura 1.4 e nella Tabella 1.1 sono riportate le principali tipologie e le relative proprietà strutturali. Le sigle impiegate nella colonna della simmetria dei pori della Tabella 1.1 fanno riferimento ai gruppi spaziali cristallografici che descrivono l'organizzazione della mesostruttura: $P6mm$ indicano una simmetria esagonale bidimensionale; $Ia3d$ una simmetria cubica tridimensionale a doppio reticolo intrecciato; $p2$ una disposizione lamellare; $Pm3m$ una simmetria cubica semplice; $P6_3/mmc$ una simmetria esagonale tridimensionale; $Im3m$ una simmetria cubica a gabbia; $Fm3m$ una simmetria cubica a facce centrate; $P6m$ una simmetria esagonale bidimensionale ordinata [38, 39].

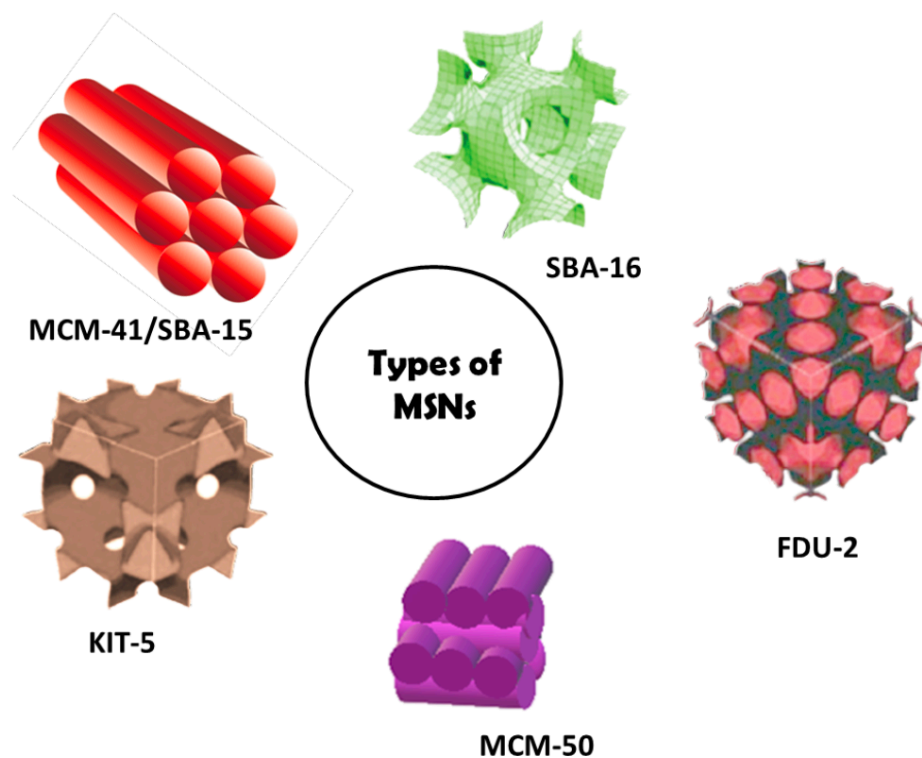


Figura 1.4: Principali tipologie di silici mesoporose (MCM, SBA, ecc.) e loro morfologie caratteristiche. Immagine adattata da [39].

Tabella 1.1: Proprietà principali delle diverse famiglie di particelle di silice mesoporosa.

Famiglia MSN	Tipo MSN	Simmetria dei pori	Dimensione dei pori (nm)	Volume dei pori (cm ³ /g)
M41S	MCM-41	Esagonale bidimensionale $P6mm$	1.5–8	>1.0
	MCM-48	Cubica tridimensionale $Ia3d$	2–5	>1.0
	MCM-50	Lamellare $p2$	2–5	>1.0
SBA	SBA-11	Cubica tridimensionale $Pm3m$	2.1–3.6	0.68
	SBA-12	Esagonale tridimensionale $P6_3/mmc$	3.1	0.83
	SBA-15	Esagonale bidimensionale $p6mm$	6–10	1.17
	SBA-16	Cubica $Im3m$	5–15	0.91
KIT	KIT-5	Cubica $Fm3m$	9.3	0.45
COK	COK-12	Esagonale $P6m$	5.8	0.45

1.2.2 Processi di sintesi

La sintesi delle silici mesoporose richiede generalmente tre elementi principali: un precursore della silice, che costituirà la matrice inorganica, un agente templante, spesso un tensioattivo capace di indurre la formazione dei pori, e un catalizzatore acido o basico che favorisca le reazioni di idrolisi e condensazione. Oltre a questi, diversi parametri di processo – quali il solvente, la temperatura, l'intensità dell'agitazione meccanica o la presenza di additivi – influenzano in maniera determinante la morfologia e le proprietà finali delle particelle sintetizzate [40, 41, 9].

I primi studi ipotizzavano che la struttura ordinata dei materiali mesoporosi derivasse dall'auto-assemblaggio dei tensioattivi non ionici nello stato di cristalli liquidi. Tuttavia, ulteriori ricerche hanno chiarito che la formazione delle particelle può seguire due differenti meccanismi: (i) idrolisi del precursore della silice e successiva associazione dei monomeri sulle micelle di tensioattivo, oppure (ii) formazione diretta di complessi silice–tensioattivo con architettura core–shell [40].

Le nanoparticelle MCM-41 rappresentano un classico esempio del primo meccanismo. Mediante analisi in situ dipendenti dal tempo, condotte con le tecniche della diffusione di neutroni a piccolo angolo (SANS) e della microscopia elettronica a trasmissione (TEM), è stato osservato che, nelle fasi iniziali, gli ioni silicato si legano alle micelle di tensioattivo. Progressivamente si accrescono e organizzano fino a generare strutture esagonali ben definite [28]. Tale processo è illustrato in Figura 1.5.

In alternativa, per il secondo meccanismo è stato proposto il cosiddetto meccanismo di rigonfiamento-restringimento, studiato mediante la diffusione di raggi X a piccolo angolo (SAXS). In questo caso, il precursore tetraetil ortosilicato (TEOS) si solubilizza all'interno delle micelle di bromuro di cetiltrimetilammonio (CTAB), provocandone un rigonfiamento iniziale, seguito da un graduale restringimento durante l'idrolisi e la condensazione. I monomeri di TEOS, una volta idrolizzati e caricati negativamente, si associano alla superficie delle micelle di CTAB, dotate di carica positiva, grazie all'attrazione elettrostatica. Questo processo procede in parallelo alla completa idrolisi del TEOS in soluzione, causando il progressivo svuotamento e restringimento delle micelle. Successivamente, i monomeri depositati formano un rivestimento di silice attorno alle micelle stesse. L'aggregazione delle micelle tra loro porta infine alla crescita e alla formazione delle particelle di silice mesoporosa, in cui i pori coincidono con le cavità lasciate dalle micelle del tensioattivo [9].

I metodi di sintesi della silice possono essere classificati in tre grandi categorie: metodo Stöber/sol–gel, metodi idrotermali e più recentemente i metodi verdi.

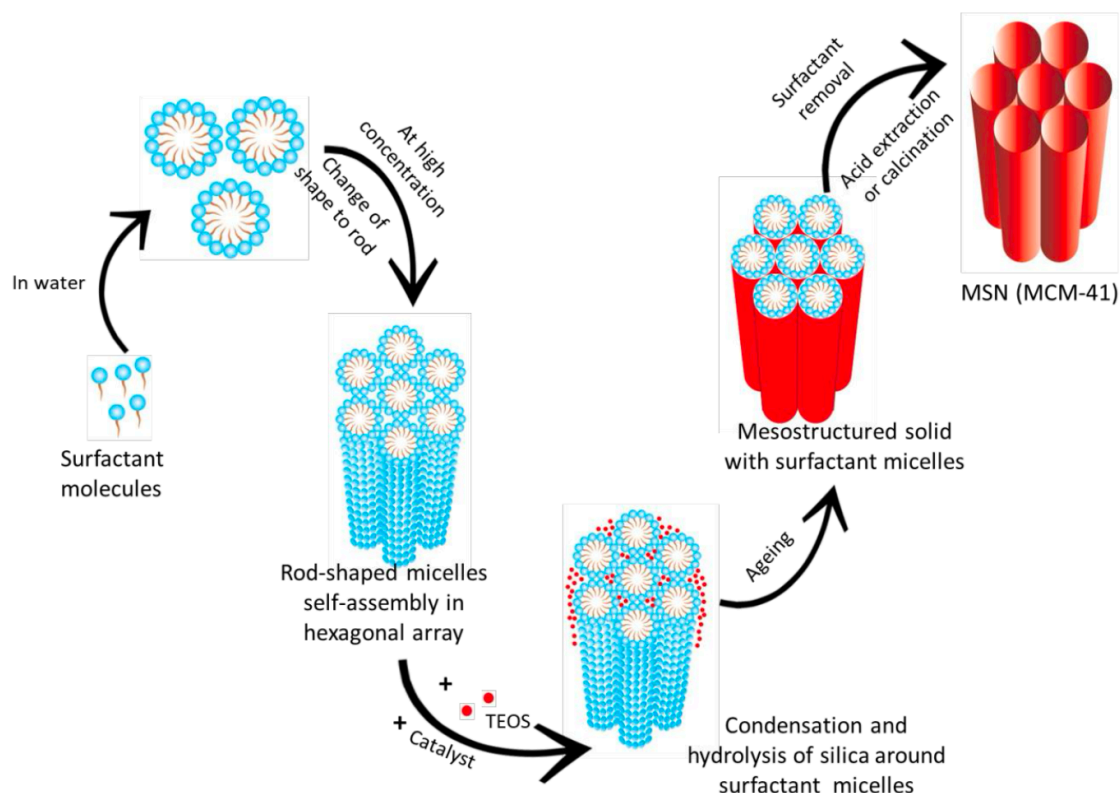


Figura 1.5: Meccanismo di sintesi delle nanoparticelle di silice mesoporosa MCM-41. Adattato da Wu e Zhao [28].

Il metodo Stöber, derivato dalla sintesi sol-gel, rimane il più diffuso grazie alla sua versatilità. Esso prevede la formazione di un sol colloidale tramite idrolisi di alcossisilani, come il tetraetil ortosilicato (TEOS) o il tetrametil ortosilicato (TMOS), in ambiente acquoso e la successiva condensazione fino alla formazione di un gel reticolare. L'avvio dell'idrolisi degli alcossisilani dipende in larga misura dal rapporto molare $\text{SiO}_2/\text{H}_2\text{O}$ presente in soluzione ed è fortemente accelerato in ambiente acido. La successiva fase di condensazione è condizionata dalle modalità con cui l'idrolisi si è sviluppata: se avvengono reazioni di condensazione multiple e consecutive, si formano inizialmente strutture a catena nel sol, che evolvono poi in una rete tridimensionale tipica del gel [28]. In Figura 1.6 sono riportate schematicamente le principali reazioni di condensazione che descrivono la transizione da catene lineari a una struttura reticolare. La morfologia finale dipende fortemente dal rapporto molare $\text{SiO}_2/\text{H}_2\text{O}$ e dal pH del sistema.

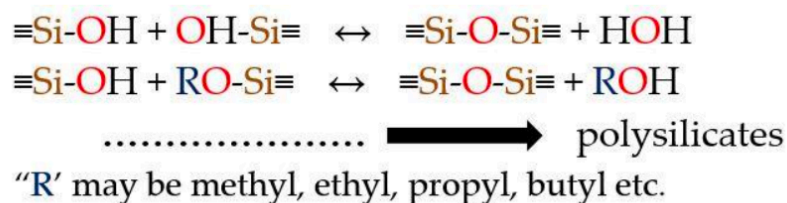


Figura 1.6: Schema delle reazioni di condensazione degli alcossisilani che portano alla formazione di legami silossanici e alla transizione da catene lineari a una rete tridimensionale (gel). Adattato da Wu e Zhao [28].

Nel tempo sono state proposte numerose varianti, ad esempio quella di Grün et al. (1997), che introdusse un tensioattivo cationico come agente templante, ottenendo nanoparticelle MCM-41 caratterizzate da una struttura porosa esagonale ordinata con la forma delle particelle sferiche [41].

Un'altra variante importante è quella che porta alla sintesi di SBA-15. Questo materiale rappresenta un passo significativo nell'evoluzione delle silici mesoporose, in quanto possiede una struttura più resistente e flessibile rispetto a MCM-41. Questa maggiore robustezza conferisce a SBA-15 la possibilità di essere utilizzata in contesti che richiedono elevata stabilità sia termica sia meccanica. La sintesi di SBA-15 trae origine dal metodo di Stöber e al templating micellare già adottato per la produzione di MCM-41, pur presentando alcune differenze sostanziali. Una delle principali riguarda il tensioattivo impiegato: al posto del CTAB viene utilizzato il Pluronic P123, un copolimero triblocco che favorisce la formazione di micelle più ampie e strutture auto-assemblate più stabili. L'impiego di questo tensioattivo permette inoltre di ottenere pori di dimensioni maggiori rispetto a quelli tipici di MCM-41. Come precursore del silicio, anche nella sintesi di SBA-15 si utilizza comunemente il TEOS, che per mezzo del processo sol-gel subisce idrolisi e successiva condensazione attorno alle micelle, portando alla formazione della matrice di silice. Analogamente a quanto avviene per MCM-41, il Pluronic P123 può essere rimosso sia attraverso calcinazione ad alte temperature sia mediante estrazione con solvente. Una differenza importante riguarda invece le condizioni di pH: mentre la sintesi di MCM-41 avviene generalmente in ambiente basico, quella di SBA-15 viene condotta in ambiente acido [37, 28].

I metodi idrotermali si basano su principi simili al metodo di Stöber, ma il processo di invecchiamento viene sostituito o integrato da trattamenti in autoclave ad alta temperatura e pressione. Questo conferisce ai materiali una maggiore stabilità idrotermale e una più omogenea distribuzione dei pori, sebbene richieda tempi e costi più elevati. Diverse varianti sono state sviluppate per ottenere morfologie fibrose o particelle cave, come nel caso delle KCC-1 [9].

I metodi verdi hanno invece l'obiettivo di ridurre l'impatto ambientale, utilizzando precursori a basso costo o derivanti da scarti agricoli e industriali. Un esempio è l'impiego dell'acido esafluorosilicico, sottoprodotto dell'industria dei fertilizzanti, o delle ceneri di biomasse (come bucce di riso o banana) per ricavare la silice di partenza. Nonostante le potenzialità in termini di sostenibilità, questi approcci necessitano ancora di ottimizzazioni per poter competere in efficienza con i metodi convenzionali [9].

In sintesi, l'ampia gamma di condizioni sperimentali e metodologie disponibili consente di modulare dimensione, forma e distribuzione dei pori delle particelle di silice mesoporosa, aprendo la strada a molteplici applicazioni in campo biomedico, catalitico e ambientale [42, 9, 28].

1.2.3 Parametri di sintesi che influiscono sulle proprietà finali

Il metodo di sintesi delle particelle di silice mesoporosa (SM) influisce in maniera determinante sulle loro proprietà finali. Parametri di reazione come pH, temperatura e scelta del tensioattivo condizionano caratteristiche fondamentali quali la porosità, la dimensione e la forma delle particelle [43].

La temperatura di reazione è un parametro critico che influenza sia la velocità di idrolisi sia quella di condensazione del precursore della silice. Un incremento della temperatura accelera entrambi i processi, determinando una crescita più rapida delle particelle e, in molti casi, un aumento della loro dimensione media [43, 44].

Anche il pH della soluzione esercita un ruolo fondamentale: in ambiente acido si favorisce l'idrolisi degli alcossisilani (precursori della silice), mentre in condizioni basiche prevale la condensazione, con un impatto diretto sulla morfologia e sull'ordine della mesostruttura [43, 44].

Anche la scelta del tensioattivo o di eventuali cosolventi gioca un ruolo cruciale, permettendo di ottenere materiali con proprietà mirate in base all'applicazione desiderata. Le particelle possono infatti spaziare da dimensioni nanometriche a micrometriche, con morfologie che vanno dalla sfera alla forma bastoncellare, ellissoidale o piastrinica [43].

Un'altra proprietà di rilievo è la dimensione dei pori, che in genere varia da 2 a 30 nm e influisce direttamente sulla capacità di caricare e rilasciare molecole di diversa natura, incluse macromolecole biologiche come le proteine [43]. Anche i gruppi silanolo (Si-OH) presenti in superficie possono essere modulati in funzione delle condizioni di sintesi e della rimozione del template, influenzando proprietà come l'idrofobicità/idrofilicità e la possibilità di funzionalizzazione [43].

In sintesi, agendo su pH, temperatura, precursore, tensioattivo e trattamento post-sintesi è possibile progettare particelle di silice mesoporosa con caratteristiche strutturali e superficiali specifiche, adattabili a diverse esigenze applicative. Le implicazioni di tali parametri sul controllo della dimensione e della morfologia delle particelle verranno approfondite nei paragrafi successivi [43].

1.2.4 Controllo della dimensione dei pori

Il controllo della dimensione dei pori rappresenta un aspetto cruciale nella sintesi delle silici mesoporose, poiché le proprietà di trasporto e l'accessibilità della superficie interna dipendono fortemente dalle caratteristiche geometriche della mesostruttura [45, 46]. Diversi approcci sono stati sviluppati per modulare in maniera mirata il diametro dei canali e l'organizzazione dei pori, permettendo di ottenere materiali con proprietà ottimizzate per specifiche applicazioni in catalisi, adsorbimento e biomedicina [8].

Un primo metodo di modulazione consiste nella variazione della lunghezza della catena idrofobica dei tensioattivi utilizzati come agenti strutturanti. L'aumento del numero di unità metileniche porta alla formazione di micelle di dimensioni maggiori, che si traducono in pori più ampi all'interno della matrice di silice [8, 47]. La scelta del tensioattivo rappresenta dunque un parametro chiave per stabilire l'intervallo dimensionale dei canali.

Un aspetto particolarmente rilevante riguarda la natura stessa dei tensioattivi, che possono essere a blocchi triblocco o diblocco. I tensioattivi triblocco, caratterizzati da una maggiore complessità strutturale, permettono un controllo più fine della curvatura micellare e quindi consentono di ottenere pori di diametro maggiore e più uniformi. I diblocco, al contrario, tendono a generare mesostrutture con dimensioni dei pori più contenute e meno modulabili, pur mantenendo una buona regolarità [8]. La scelta tra le due tipologie dipende quindi dall'applicazione finale e dal livello di controllo desiderato sulla mesostruttura.

Un ulteriore approccio si basa sull'impiego di molecole organiche apolari, comunemente denominate agenti rigonfianti, capaci di penetrare nella regione idrofobica delle micelle e aumentarne il volume. Esempi tipici sono il trimetilbenzene o il toluene, che favoriscono un'espansione controllata dei pori mantenendo l'ordine mesostrutturale [8, 48]. Tale strategia è particolarmente utile per ottenere mesopori di dimensioni comprese tra 20 e 30 nm, intervallo di grande interesse per applicazioni biomediche e per la somministrazione di farmaci.

Anche le condizioni di sintesi, in particolare il pH e la forza ionica della soluzione, influenzano in modo decisivo la dimensione dei pori. Un ambiente fortemente acido accelera la condensazione della silice, portando in genere a canali di minore diametro, mentre condizioni meno acide favoriscono un'espansione dei pori [46, 47]. Inoltre, la presenza di sali o controioni in soluzione può modificare la curvatura delle micelle, con effetti diretti sulle dimensioni finali della mesostruttura.

Oltre ai parametri di sintesi, esistono strategie post-sintesi che consentono di modulare ulteriormente la dimensione dei pori. I trattamenti idrotermali, ad esempio, possono indurre un'espansione controllata dei canali grazie a un rimodellamento delle pareti di silice, senza compromettere l'ordine mesostrutturale [8, 48].

Infine, per ottenere un controllo più fine, è frequente la combinazione di più strategie. L'uso simultaneo di tensioattivi a lunga catena insieme ad agenti rigonfianti consente di produrre materiali con pori di grande diametro, mantenendo al contempo una buona stabilità strutturale [8]. L'integrazione di approcci diversi permette quindi di coprire un ampio intervallo di dimensioni porose, rendendo le silici mesoporose materiali altamente versatili e adattabili a numerosi campi applicativi [48].

1.2.5 Controllo della morfologia

Oltre alla dimensione dei pori, anche la morfologia delle particelle di silice mesoporosa rappresenta una proprietà essenziale per determinarne le prestazioni finali. La forma, la dimensione e la distribuzione delle particelle influenzano infatti la dispersione del materiale, la processabilità e l'interazione con molecole o superfici esterne [45, 46]. Per questo motivo, numerosi studi si sono concentrati sulla possibilità di modulare la morfologia attraverso opportuni accorgimenti di sintesi, combinando la chimica dei precursori con il ruolo dei tensioattivi e delle condizioni di reazione.

Uno dei fattori determinanti è il tipo di tensioattivo utilizzato come agente strutturante. I tensioattivi triblocco, oltre a controllare la dimensione dei pori, permettono una maggiore variabilità nella forma delle particelle, favorendo la transizione da strutture sferiche a forme più complesse, come bastoncelli o fibre [8]. Al contrario, l'impiego di tensioattivi diblocco tende a produrre particelle di geometria più semplice e simmetrica, con una distribuzione dimensionale relativamente uniforme. La scelta della tipologia di tensioattivo incide dunque non solo sull'architettura interna, ma anche sul profilo esterno delle particelle.

Anche la concentrazione dei reagenti e il rapporto tra precursori inorganici e tensioattivo giocano un ruolo significativo. Elevate concentrazioni di silicato o di templante possono portare alla formazione di particelle di dimensioni maggiori, mentre condizioni più diluite favoriscono la nucleazione di particelle più piccole e ben disperse [47]. In aggiunta, parametri come il pH e la temperatura di sintesi influiscono sulla velocità di condensazione della silice e sulla dinamica di crescita delle micelle, fattori che si riflettono direttamente sulla forma delle particelle.

Dal punto di vista termodinamico, la morfologia finale può essere interpretata come il risultato della competizione tra diversi stati possibili, ciascuno caratterizzato da un'energia libera di Gibbs (ΔG). Le strutture più stabili, come sfere o bastoncelli regolari, corrispondono a configurazioni che minimizzano ΔG nelle condizioni di sintesi adottate, mentre morfologie meno comuni, come fibre o forme anisotrope, emergono in condizioni in cui le differenze di energia libera tra stati alternativi sono ridotte [8, 48]. La possibilità di modulare parametri come pH, temperatura e concentrazione permette quindi di spostare l'equilibrio verso configurazioni termodinamica-

mente più o meno favorite. Ciò significa che il controllo della morfologia non dipende solo da fattori cinetici, ma anche dal bilancio energetico del sistema durante l'auto-assemblaggio.

Un ulteriore approccio per modulare la morfologia consiste nella variazione della polarità del solvente o nell'introduzione di co-solventi. Questi ultimi alterano le interazioni tra fase acquosa e micellare, inducendo cambiamenti nella curvatura delle micelle e favorendo la formazione di particelle anisotrope [8, 48]. In alcuni casi, la semplice aggiunta di piccole quantità di alcoli o composti organici polari è sufficiente a modificare drasticamente la morfologia osservata.

Oltre ai parametri di sintesi diretta, è stato dimostrato che trattamenti post-sintesi possono ulteriormente regolare la morfologia. Processi idrotermali o variazioni delle condizioni di calcinazione, ad esempio, possono portare a un rimodellamento parziale delle particelle, migliorandone la stabilità o favorendo la comparsa di forme più regolari [8]. Sebbene tali approcci non modifichino l'ordine interno dei pori, essi permettono di rifinire il profilo esterno del materiale.

In sintesi, la morfologia delle silici mesoporose è il risultato dell'interazione complessa tra templanti organici, precursori inorganici, condizioni di reazione e fattori termodinamici. Il controllo di questi parametri consente di ottenere particelle con geometrie diverse, dalle sfere uniformi ai bastoncini e alle fibre, ampliando notevolmente le possibilità applicative del materiale. Una comprensione approfondita dei meccanismi alla base della riduzione della ΔG nei diversi scenari sintetici risulta quindi fondamentale per sviluppare strategie mirate alla produzione di materiali su misura per applicazioni specifiche[8]. I diversi parametri di sintesi descritti consentono quindi di modulare in maniera mirata la forma e la struttura delle particelle, ottenendo una notevole varietà di morfologie e arrangiamenti mesostrutturali. Un riassunto schematico delle principali tipologie di particelle e dei relativi arrangiamenti porosi è riportato in Figura 1.7 [49].

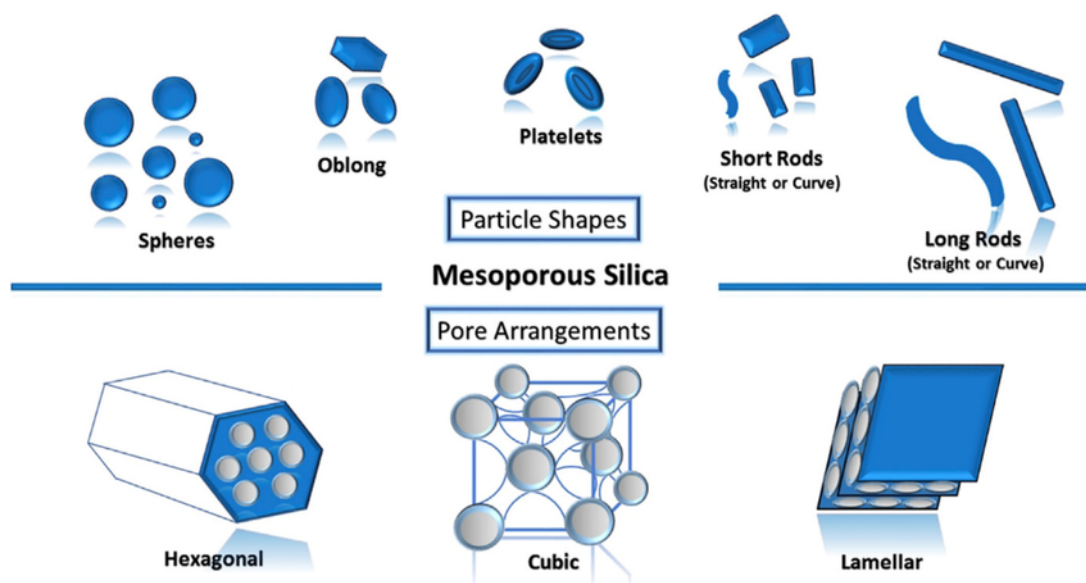


Figura 1.7: Principali morfologie delle particelle di silice mesoporosa (sfere, oblunghe, platelet, bastoncini corti o lunghi) e relativi arrangiamenti porosi (esagonale, cubico, lamellare). Adattato da [49].

1.3 Biocompatibilità delle silici mesoporose

La popolarità delle particelle di silice mesoporosa (MSN) è strettamente legata non solo alle loro proprietà strutturali, ma anche all'elevata biocompatibilità. Una volta introdotte nell'organismo, le MSN vengono rivestite da una corona proteica, ovvero uno strato dinamico di proteine che si adsorbe sulla superficie esterna e ne riduce la riconoscibilità da parte del sistema immunitario. È stato osservato che parametri come la carica superficiale, il grado di idrofobicità o idrofilia e la dimensione dei pori influenzano la composizione della corona proteica, modulando al contempo la stabilità e la tossicità delle particelle [7].

Dal punto di vista chimico, la matrice di silice amorfa è biodegradabile: la degradazione avviene tramite idrolisi in acido ortosilicico ($\text{Si}(\text{OH})_4 = \text{H}_4\text{SiO}_4$), prevenendo l'accumulo delle particelle a livelli tossici. Il processo si articola in tre fasi principali: adsorbimento dell'acqua, idrolisi dei legami silossanici ($\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$) con formazione di gruppi silanologici ($\text{Si}-\text{OH}$) e successiva dissoluzione in ortosilicato ($[\text{SiO}_4]^{4-}$) solubile. Maggiore è la superficie disponibile, più rapida sarà la velocità della degradazione [7].

Alcuni effetti tossici delle MSN sono riconducibili alla chimica superficiale, che a sua volta dipende dal metodo utilizzato per rimuovere il tensioattivo residuo. In particolare, la presenza di gruppi silanologici deprotonati ($\text{Si}-\text{O}^-$) e di anelli ciclici di silossano altamente reattivi può indurre fenomeni di membranlisi. Tali effetti possono essere mitigati con opportuni trattamenti di superficie o modulando la porosità, che riduce l'effetto emolitico limitando la concentrazione di silanoli sulla superficie esterna [7, 42].

I dati disponibili sulla correlazione tra dimensione delle particelle e tossicità non sono sempre univoci. Alcuni studi riportano che particelle di dimensioni ridotte tendono ad accumularsi più facilmente nei tessuti, mentre altri evidenziano che particelle più grandi possono indurre una maggiore citotossicità [42].

In generale, i dosaggi testati in vivo sui modelli murini variano tra 1 e 50 mg/kg, con tolleranza fino a 80 mg/kg; la dose letale media (LD_{50}) è stata stimata attorno a 1000 mg/kg, valore che lascia intendere una buona sicurezza per applicazioni biomedicali [7].

Studi specifici hanno evidenziato che, a seguito di somministrazione endovenosa, le particelle si accumulano prevalentemente nel fegato e nella milza, mentre altre vie di somministrazione (intramuscolare o sottocutanea) mostrano capacità di diffusione attraverso diverse barriere biologiche, talvolta associate a fenomeni infiammatori [50].

Nell'uomo, i test sono ancora limitati: un esempio rilevante riguarda i *C dots*, nanoparticelle di silice contenenti un pigmento fluorescente utilizzate per le bioimmagini, che si sono dimostrate ben tollerate in pazienti affetti da melanoma metastatico [51, 52]. Un altro studio clinico, condotto su volontari sani con particelle caricate di fenofibrato, ha confermato una buona tollerabilità, con eventi avversi lievi e non direttamente attribuibili alla silice [53].

In sintesi, le evidenze sperimentali e cliniche confermano che le silici mesoporose possiedono un profilo di biocompatibilità favorevole, rendendole materiali promettenti per applicazioni riguardanti la somministrazione di farmaci, le bioimmagini e, più in generale, per applicazioni biomedicali [42, 9, 54, 55].

1.4 Attività emostatica della silice mesoporosa

La silice mesoporosa (SM) è considerata un materiale emostatico promettente principalmente per due motivi: l'elevata area superficiale e la presenza di gruppi silanologici ($\text{Si}-\text{OH}$). La struttura

altamente porosa consente un rapido adsorbimento dell'acqua dal sangue, con conseguente concentrazione locale di piastrine e fattori della coagulazione; parallelamente, i gruppi silanolici presenti sulla superficie, caratterizzati da carica negativa a pH fisiologico, favoriscono l'attivazione della via intrinseca (fattore XII) e l'adesione piastrinica [56, 57]. A differenza delle zeoliti, il processo di assorbimento dell'acqua da parte della SM non è accompagnato da un rilascio termico significativo, riducendo il rischio di danni ai tessuti circostanti [58].

La microstruttura del materiale riveste un ruolo cruciale. Chen et al. (2016) hanno dimostrato, in prove condotte su plasma di coniglio, che la dimensione dei pori influisce in modo determinante sulla velocità di coagulazione: l'aumento del diametro dei pori da 5 a 15 nm ha permesso la formazione di coaguli più rapida e stabile, mentre variazioni della dimensione delle particelle tra 60 e 220 nm non hanno mostrato effetti significativi [59].

Anche la forma fisica con cui la SM è impiegata influenza le prestazioni. Hong et al. (2016) hanno evidenziato che le polveri presentano alcune limitazioni, quali scarsa scorrevolezza e facilità di dilavamento in caso di sanguinamento intenso. Per superare tali criticità, gli autori hanno proposto la granulazione ottenendo particelle sferiche che hanno mostrato un assorbimento d'acqua superiore e tempi di coagulazione ridotti [60]. In alternativa, Zhang et al. (2023) hanno immobilizzato particelle di SM su fibre di cotone, sviluppando un composito che ha dimostrato tempi di emostasi inferiori e minori perdite ematiche rispetto alla polvere di SM, risultando al contempo più agevole da applicare [61].

Anche le caratteristiche superficiali del materiale incidono sull'attività emostatica. Ostomel et al. (2007) hanno mostrato che superfici ossidiche a carica negativa accelerano l'attivazione della coagulazione rispetto a quelle a carica positiva, confermando il ruolo centrale delle interazioni elettrostatiche [62]. Ulteriori studi hanno evidenziato che la SM è biocompatibile e facilmente funzionalizzabile, consentendo di introdurre gruppi o agenti bioattivi che ne potenziano l'efficacia emostatica e ne ampliano le potenzialità, ad esempio integrando proprietà antibatteriche [56, 63].

1.5 Versatilità delle particelle di silice mesoporosa per la funzionalizzazione

Le particelle di silice mesoporosa rappresentano una piattaforma estremamente versatile per la funzionalizzazione grazie alla loro elevata area superficiale e all'ordinata struttura porosa. Queste particelle, indipendentemente dal fatto che rientrino o meno nella scala nanometrica, offrono la possibilità di ancorare una vasta gamma di gruppi funzionali, rendendole adatte a molteplici applicazioni biomedicali e tecnologiche [42].

La versatilità della silice mesoporosa deriva dalla sua capacità di essere modificata con diversi agenti chimici, come silani funzionalizzati, che introducono gruppi amminici, tiolici o carbossilici sulla superficie, migliorando l'interazione con biomolecole o ioni metallici [64]. Ad esempio, la funzionalizzazione con ioni zinco consente di ottenere materiali capaci di favorire l'emostasi primaria grazie all'attivazione piastrinica, senza dipendere dalla dimensione specifica delle particelle [42].

Inoltre, la possibilità di modulare la carica superficiale permette di influenzare l'interazione con altre specie ioniche, contribuendo così a un controllo fine delle proprietà emostatiche e antibatteriche del materiale [10]. Questo rende le particelle di silice mesoporosa estremamente adattabili per applicazioni che richiedono sia un'azione mirata sull'emostasi che un effetto antimicrobico.

In sintesi, le particelle di silice mesoporosa offrono un supporto versatile per applicazioni biomedicali grazie all'elevata area superficiale, alla struttura di pori ordinati e alla presenza di gruppi

silanolic reattivi [65]. La possibilità di introdurre gruppi funzionali e di coordinare/ancorare ioni come Zn^{2+} è documentata in letteratura[65] e una trattazione più estesa è fornita nel capitolo successivo.

2. Funzionalizzazione della silice mesoporosa con ioni zinco: strategie, effetti e applicazioni biomedicali

La funzionalizzazione della silice mesoporosa consiste nella modifica chimica della sua superficie mediante l'introduzione di gruppi funzionali o specie inorganiche, con l'obiettivo di conferire al materiale nuove proprietà o di migliorarne quelle esistenti. Questa strategia permette di modulare parametri cruciali quali carica superficiale, idrofilia, capacità di interazione con biomolecole e potenziale rilascio ionico, rendendo le particelle di silice estremamente versatili per applicazioni biomediche [66].

La funzionalizzazione della silice mesoporosa con ioni zinco rappresenta una strategia promettente per combinare le peculiari proprietà strutturali di questi materiali con gli effetti biologici dello zinco, tra cui attività antibatterica ed emostatica. Numerosi studi hanno dimostrato che l'integrazione dello Zn in matrici mesoporose consente di sviluppare sistemi multifunzionali utili in campo biomedico, capaci di unire rilascio controllato di ioni, biocompatibilità e stabilità strutturale [67, 68].

2.1 Motivazioni della funzionalizzazione con zinco

La scelta di funzionalizzare la silice mesoporosa con ioni zinco nasce dall'interesse verso un elemento che, oltre ad essere abbondante e a basso costo, è caratterizzato da una riconosciuta biocompatibilità. Lo zinco svolge un ruolo essenziale in numerosi processi biologici, poiché partecipa come cofattore in oltre 300 enzimi coinvolti in attività metaboliche fondamentali, nella sintesi di proteine e nella regolazione del sistema immunitario [69, 70].

In ambito biomedicale, lo Zn^{2+} ha un ruolo chiave nell'emostasi primaria, contribuendo all'attivazione e all'aggregazione piastrinica e favorendo la formazione del tappo piastrinico [71, 72]. Tuttavia, è importante notare che il fattore XII, cruciale per l'emostasi secondaria, viene attivato preferenzialmente da superfici a carica negativa. Poiché lo Zn^{2+} è uno ione positivo, la sua presenza può interferire con questa attivazione, rallentando leggermente la cascata coagulativa secondaria [73, 72].

Parallelamente, lo zinco e i suoi ossidi (ZnO) possiedono una marcata attività antibatterica: il rilascio controllato di ioni Zn^{2+} può destabilizzare le membrane cellulari microbiche, inibire enzimi essenziali e indurre la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), con conseguente riduzione della proliferazione batterica [12, 13]. L'aspetto antibatterico della funzionalizzazione con Zn verrà analizzato più in dettaglio nella Sezione 2.6.

L'integrazione dello zinco in una matrice di silice mesoporosa consente di sfruttare queste proprietà in modo mirato e controllato. Da un lato, la struttura porosa della silice garantisce un'elevata superficie specifica e la possibilità di modulare il rilascio ionico; dall'altro, la combinazione con lo zinco permette di ottenere un materiale multifunzionale capace sia di contrastare le infezioni batteriche, sia di favorire la coagulazione del sangue. In questo contesto, la funzionalizzazione della silice mesoporosa con ioni zinco rappresenta una strategia promettente per lo sviluppo di nuovi dispositivi biomedicali a duplice funzione antibatterica ed emostatica [12].

2.2 Proprietà chimico-fisiche dello zinco

Lo zinco è un elemento di transizione essenziale, presente nel corpo umano in quantità di circa 2–3 g, principalmente associato a proteine ed enzimi. Nello stato ionico (Zn^{2+}), esso possiede una configurazione elettronica $[\text{Ar}]3d^{10}$, che conferisce una particolare stabilità e la capacità di coordinarsi con diversi ligandi biologici come gruppi carbossilici, amminici e istidinici [69, 70]. Questa versatilità spiega il suo coinvolgimento come cofattore in centinaia di enzimi e la sua importanza per processi quali la proliferazione cellulare, la risposta immunitaria e la coagulazione sanguigna [15].

Dal punto di vista chimico-fisico, lo Zn^{2+} è solubile in ambiente acquoso e può essere rilasciato gradualmente da matrici inorganiche come la silice mesoporosa, rendendo possibile un controllo del dosaggio in applicazioni biomedicali [72]. La sua interazione con la matrice di silice avviene principalmente attraverso legami elettrostatici e coordinativi con i gruppi silanoliche superficiali ($\text{Si}-\text{OH}$), favorendo la stabilità del sistema e modulando la cinetica di rilascio.

Lo zinco è spesso utilizzato anche sotto forma di ossido di zinco (ZnO), un semiconduttore a largo band gap (3.37 eV) e con elevata energia di eccitazione (60 meV), proprietà che lo rendono interessante non solo per applicazioni optoelettroniche ma anche in campo biomedico [74].

In sintesi, la combinazione tra ioni Zn^{2+} e nanoparticelle di ZnO offre una gamma di proprietà chimico-fisiche che, integrate con la matrice di silice mesoporosa, consentono lo sviluppo di materiali multifunzionali con potenziale utilizzo come agenti antibatterici ed emostatici [12].

2.3 Meccanismi di interazione tra Zn e silice mesoporosa

Le considerazioni riportate in questa sezione derivano da studi approfonditi condotti su SBA-15, una delle matrici mesoporose più investigate in letteratura e rilevante anche nel contesto sperimentale di questa tesi.

L'interazione tra lo zinco e la silice mesoporosa può realizzarsi attraverso diversi meccanismi, che dipendono in larga misura dal metodo di sintesi e dalle condizioni operative adottate. A livello superficiale, gli ioni Zn^{2+} si legano ai gruppi silanoliche ($\text{Si}-\text{OH}$), formando complessi coordinativi stabili che favoriscono l'ancoraggio del metallo nei canali mesoporosi [75]. Inoltre, sono possibili la formazione di legami $\text{Zn}-\text{O}-\text{Si}$, che indicano l'inserimento dello zinco in siti difettivi o in prossimità della rete silicea, senza però sostituire isomorficamente gli atomi di silicio [76].

Dal punto di vista dimensionale, il raggio ionico di Zn^{2+} in coordinazione tetraedrica è pari a circa 0.74 Å, mentre quello di Si^{4+} nello stesso stato di coordinazione è pari a 0.26 Å [77]. La notevole differenza tra questi valori rende improbabile una sostituzione diretta dello zinco nei tetraedri silicei, diversamente da quanto avviene in altri sistemi come le zeoliti alluminosilicatiche. Tuttavia, lo zinco può comunque interagire fortemente con la matrice durante la condensazione, influenzando la crescita del reticolo e le proprietà strutturali finali.

Un aspetto cruciale è legato alle differenti cinetiche di idrolisi e condensazione dei precursori: il TEOS tende a idrolizzarsi e condensare più lentamente, i sali di zinco mostrano una maggiore reattività. Questo squilibrio porta a modificazioni locali della struttura mesoporosa, con possibili aumenti dello spessore delle pareti o variazioni del diametro dei pori, pur preservando l'ordine esagonale caratteristico della SBA-15 [76].

Un ulteriore meccanismo di interazione, osservato in quest'ultime, è attribuibile al confinamento spaziale imposto dai canali mesoporosi. In tali condizioni, specie come ZnO o ZnS si formano

come nanoparticelle altamente disperse e stabilizzate, evitando fenomeni di crescita incontrollata che si verificherebbero in sistemi non confinati. Questo “effetto nanoreattore” non solo limita la sinterizzazione, ma promuove anche la formazione di difetti cristallini, come vacanze di ossigeno, che alterano le proprietà superficiali e ottiche del materiale [75].

Complessivamente, i meccanismi di interazione dello zinco con la silice mesoporosa derivano da un bilanciamento tra legami coordinativi ai gruppi silanolici, formazione di legami Zn–O–Si in siti difettivi e fenomeni di confinamento nei canali. L’insieme di questi processi è alla base della dispersione, della stabilità e delle proprietà funzionali dello zinco nei materiali mesoporosi [75, 76].

Oltre al caso specifico dello zinco, numerosi studi hanno evidenziato come la natura del catione metallico introdotto durante la sintesi influenzi in maniera decisiva l’interazione con le micelle di P123 e, di conseguenza, la morfologia finale del materiale. In particolare, un’elevata interazione metallo–interfaccia favorisce la formazione di particelle sferiche, mentre interazioni più deboli portano a morfologie allungate a bastoncino, con importanti ricadute sulle proprietà strutturali e funzionali dei materiali mesoporosi [76]. Come riportato in Figura 2.1, tali differenze di interazione spiegano la varietà di morfologie osservate in letteratura nei sistemi SBA-15 funzionalizzati con diversi cationi metallici.

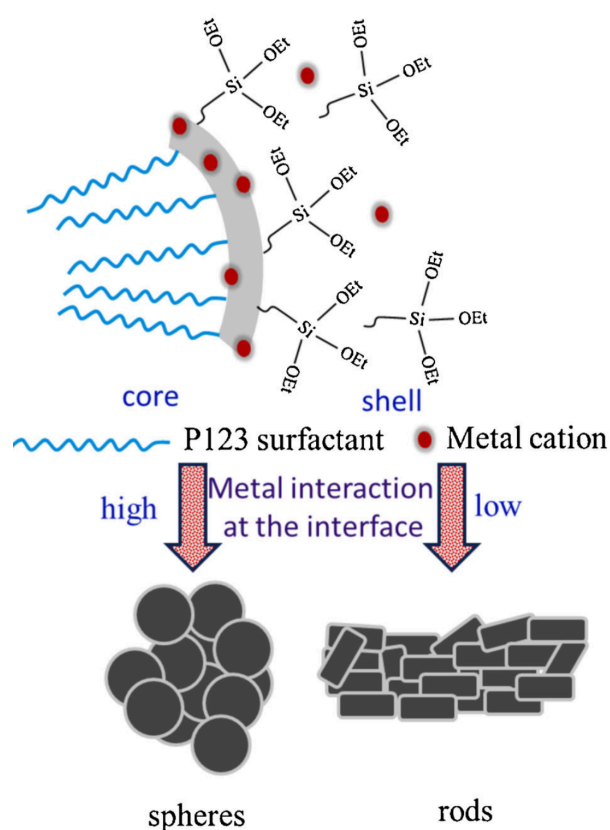


Figura 2.1: Schema rappresentativo dell’interazione tra diversi cationi metallici e le micelle del surfattante P123 durante la sintesi della SBA-15. Un’elevata interazione metallo–interfaccia favorisce la formazione di particelle sferiche, mentre un’interazione più debole porta alla formazione di bastoncini [76].

2.4 Effetti della funzionalizzazione sulla matrice mesoporosa

Gli effetti discussi in questa sezione fanno riferimento a indagini sperimentali svolte principalmente sulla SBA-15, che costituisce il sistema modello più utilizzato per comprendere le modificazioni strutturali indotte dalla funzionalizzazione con zinco.

La funzionalizzazione della silice mesoporosa con lo zinco comporta modifiche significative alla struttura interna e alle proprietà superficiali del materiale. In generale, l'incorporazione di specie a base di Zn, come ZnO o ZnS, nei canali della SBA-15 determina una riduzione della superficie specifica e del volume dei pori, conseguenza del parziale riempimento delle cavità e dell'ostruzione delle microporosità [75]. Questo effetto è accompagnato da un incremento dello spessore delle pareti, che risulta dalla diversa cinetica di condensazione tra i precursori di silice e quelli metallici durante la sintesi [76].

Le analisi di diffrazione a basso angolo mostrano che, nonostante l'introduzione dello zinco, la tipica struttura esagonale ordinata della SBA-15 viene generalmente preservata. Tuttavia, si osserva una diminuzione dell'intensità dei picchi caratteristici, indice di una parziale perdita di ordine a lungo raggio e di modificazioni locali nel reticolo [76]. Allo stesso tempo, l'adsorbimento di azoto evidenzia un cambiamento nella distribuzione dimensionale dei pori: l'incorporazione dello zinco tende a ridurre l'area microporosa, mentre i canali mesoporosi principali rimangono accessibili [75].

Il confinamento spaziale esercitato dalla matrice SBA-15 riveste un ruolo cruciale nella stabilità delle specie incorporate. In presenza di ZnO, ad esempio, il successivo trattamento in ambiente solforato porta alla formazione di ZnS nanocristallino che, grazie ai canali mesoporosi, mantiene dimensioni inferiori a pochi nanometri anche dopo processi termici, evitando la sinterizzazione [75]. Questo effetto non solo garantisce una migliore dispersione delle specie attive, ma limita anche la formazione di particelle superficiali di grandi dimensioni che comprometterebbero la regolarità strutturale.

Complessivamente, la funzionalizzazione con zinco induce un duplice effetto sulla matrice: da un lato riduce l'area superficiale e il volume poroso a causa del riempimento dei canali, dall'altro aumenta la stabilità strutturale mediante l'ispessimento delle pareti. Questi cambiamenti, sebbene non stravolgano l'ordine mesoporoso di SBA-15, ne modulano in maniera mirata le proprietà, con implicazioni dirette sulla reattività e sulle prestazioni del materiale [75, 76].

2.5 Strategie di incorporazione degli ioni zinco nella silice mesoporosa

Le strategie descritte in questa sezione derivano da studi approfonditi sulla SBA-15, che rappresenta uno dei materiali mesoporosi più investigati in letteratura e costituisce il sistema di riferimento anche per l'attività sperimentale di questa tesi.

Le modalità di incorporazione dello zinco nella matrice mesoporosa possono essere ricondotte a due approcci principali: l'introduzione diretta durante la sintesi (in situ) e la modifica successiva della matrice già formata (post-sintesi). Entrambe le strategie presentano vantaggi e limitazioni in termini di distribuzione, quantità incorporata, stabilità delle specie e impatto sulle proprietà strutturali del materiale [75, 76].

2.5.1 Approccio in situ: co-condensazione

Nel metodo one-pot (co-condensazione), il precursore dello zinco viene aggiunto direttamente alla miscela contenente TEOS e P123. In questo modo, gli ioni metallici interagiscono con le

micelle del surfattante già durante la fase di autoassemblaggio. La co-condensazione consente di ottenere una distribuzione più omogenea dello zinco all'interno della matrice, con ridotto rischio di agglomerazione superficiale. Tuttavia, le differenti velocità di idrolisi e condensazione tra TEOS e i precursori di Zn determinano variazioni locali della struttura, come ispessimento delle pareti e modifiche del diametro dei pori. Le analisi strutturali evidenziano che, pur preservando l'ordine esagonale a lungo raggio tipico di SBA-15, si osserva una diminuzione dell'intensità dei picchi XRD e una riduzione dell'area specifica, segno dell'effettiva incorporazione del metallo [76].

2.5.2 Approcci post-sintesi: impregnazione

Le strategie post-sintesi prevedono la modifica della matrice già formata tramite impregnazione, scambio ionico o altre tecniche analoghe. Nell'impregnazione, la SBA-15 viene trattata con soluzioni contenenti ioni Zn^{2+} , che si ancorano ai gruppi silanolici superficiali. Dopo la calcinazione, si formano nanoparticelle di ZnO distribuite all'interno dei canali. Rispetto ai metodi in situ, l'impregnazione offre una maggiore controllabilità del contenuto di zinco, ma porta spesso a una distribuzione meno uniforme e più concentrata sulle superfici esterne [75].

Un aspetto critico dei metodi post-sintesi è la riduzione più marcata dell'area superficiale e del volume dei pori, dovuta all'ostruzione parziale delle cavità. Inoltre, le specie metalliche possono presentare una stabilità inferiore rispetto a quelle introdotte durante la co-condensazione, poiché meno integrate nella rete silicea. Tuttavia, la maggiore flessibilità operativa consente di modulare il carico metallico in funzione delle proprietà desiderate, risultando un approccio vantaggioso in applicazioni in cui è richiesto un controllo preciso della quantità di zinco [76].

2.5.3 Approcci post-sintesi: miscelazione solido-solido

La miscelazione solido-solido è un metodo post-sintesi in cui un precursore come il nitrato di zinco viene macinato insieme alla SBA-15 as-synthesized (ancora contenente il templante organico) e successivamente sottoposto a calcinazione. Questo procedimento garantisce un'elevata dispersione di ZnO all'interno dei canali, riducendo la tendenza alla formazione di cristalli di grandi dimensioni. Un ulteriore vantaggio di tale tecnica è, ad esempio, la possibilità di trasformare parzialmente lo ZnO in ZnS attraverso trattamenti solforati. La reazione avviene all'interno dei pori, che fungono da nanoreattori e limitano la crescita dei cristalli anche dopo cicli termici, mantenendo dimensioni inferiori a pochi nanometri [75].

Come illustrato nella Figura 2.2 sottostante, il metodo di miscelazione solido-solido può essere realizzato secondo due varianti: nella prima, la SBA-15 as-synthesized viene inizialmente calcinata, successivamente miscelata con i precursori metallici e infine nuovamente calcinata; nella seconda, invece, i precursori vengono direttamente macinati con la matrice non ancora calcinata e solo in seguito sottoposti al trattamento termico. Entrambe le strategie portano alla formazione e dispersione di specie ossidiche nanometriche all'interno dei canali mesoporosi [75].

2.5.4 Confronto tra approcci in situ e post-sintesi

In sintesi, la scelta tra strategie in situ e post-sintesi dipende dal bilanciamento desiderato tra stabilità e controllo della funzionalizzazione. La co-condensazione permette una distribuzione più omogenea e una migliore dispersione dello zinco nei canali, a fronte di possibili modificazioni strutturali locali. Le tecniche post-sintesi, invece, offrono maggiore flessibilità nel modulare il contenuto metallico, ma comportano una distribuzione meno uniforme e una parziale perdi-

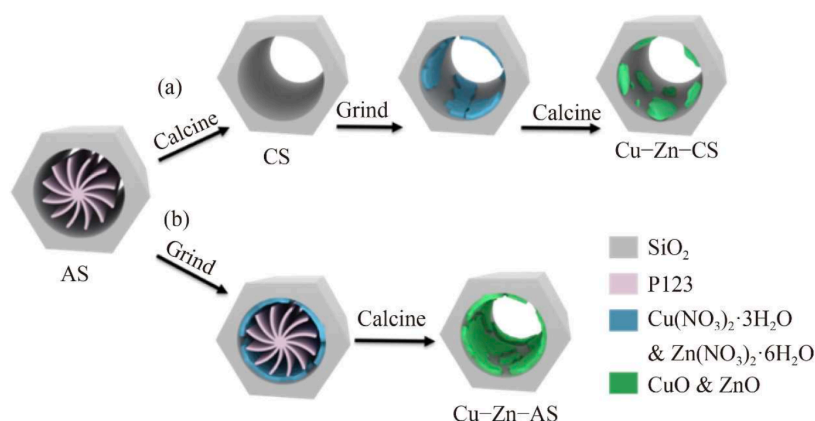


Figura 2.2: Schema delle due varianti del metodo solid-state grinding applicato alla SBA-15. (a) La matrice viene inizialmente calcinata, poi miscelata con i precursori metallici e nuovamente calcinata. (b) I precursori vengono direttamente miscelati con la SBA-15 as-synthesized e successivamente calcinata. In entrambi i casi, il trattamento termico finale favorisce la formazione e dispersione di specie ossidiche all'interno dei canali mesoporosi [75].

ta di area superficiale. In entrambi i casi, l'effetto del confinamento mesoporoso si dimostra fondamentale per preservare la stabilità e la nanodispersione delle specie incorporate [75, 76].

Un confronto sintetico dei principali vantaggi e limiti associati ai due approcci di incorporazione dello zinco nella SBA-15 è riportato nella Tabella 2.1, che evidenzia come la scelta del metodo dipenda dal bilanciamento desiderato tra grado di dispersione, stabilità strutturale e controllabilità del contenuto metallico.

Tabella 2.1: Confronto tra le strategie di incorporazione dello Zn nella SBA-15.

Metodo	Vantaggi	Svantaggi
Co-condensazione	Distribuzione omogenea dello Zn nella matrice; integrazione durante la crescita dei pori; minore rischio di agglomerazione superficiale [76].	Possibile ispessimento delle pareti e riduzione dell'area superficiale; modifiche locali dell'ordine mesoporoso [76].
Impregnazione	Maggiore controllo sulla quantità di Zn introdotto; procedura operativamente semplice [75].	Distribuzione meno uniforme e tendenza all'ostruzione parziale dei pori; riduzione dell'area specifica più marcata [75].
Miscelazione solido-solido	Procedura semplice e non richiede l'utilizzo di solventi; buona dispersione di ZnO nei canali; possibilità di conversione in ZnS [75].	Distribuzione meno controllata; quantità massima caricabile limitata; necessità di calcinazione [75].

2.6 Attività antibatterica della silice mesoporosa funzionalizzata con zinco

La possibilità di modificare la superficie della silice mesoporosa (SM) mediante funzionalizzazione consente di attribuire al materiale nuove proprietà, tra cui un'azione antimicrobica utile in ambito biomedicale. L'introduzione di ioni metallici, quali argento, rame e zinco, sono tra i più studiati per le loro proprietà antimicrobiche. Gli ioni argento hanno dimostrato un'elevata efficacia contro diversi microrganismi patogeni, come *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, ma la loro applicazione è limitata da fenomeni di aggregazione delle nanoparticelle e dalla crescente comparsa di ceppi resistenti [78]. Gli ioni rame, più economici, esercitano un'azione simile e in alcuni casi superiore a quella dell'argento, grazie alla capacità di danneggiare le membrane cellulari e penetrare all'interno dei batteri, causando inibizione metabolica [79]. Tuttavia, l'impiego del rame presenta anche alcuni limiti: il rilascio degli ioni non è facilmente controllabile e può determinare effetti citotossici rilevanti sulle cellule eucariotiche, con rischio di stress ossidativo e danno tissutale. Questo aspetto riduce la biocompatibilità del rame rispetto ad altri ioni metallici, come lo zinco [79, 78].

Particolare attenzione è stata rivolta agli ioni zinco, che agiscono attraverso molteplici meccanismi. L'accumulo intracellulare di zinco provoca la disfunzione degli enzimi respiratori e un'alterazione del trasferimento di elettroni nella catena respiratoria, con conseguente formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) quali perossido di idrogeno e radicali idrossilici. Queste specie danneggiano membrane, proteine e DNA batterico. Inoltre, l'eccesso di zinco può interferire con processi di regolazione trascrizionale e con la stabilità di proteine essenziali [80]. Al contrario, è possibile indurre un effetto battericida anche privando i microrganismi dello zinco necessario alla loro omeostasi: l'utilizzo di agenti chelanti come EDTA o aspergillomarasmine A compromette la funzionalità degli enzimi zinco-dipendenti e riduce la virulenza batterica [81, 16]. Questi due meccanismi opposti, basati rispettivamente su sovraccarico e privazione di zinco, sono illustrati schematicamente al fondo di questa sezione in Figura 2.3.

Lo zinco può esercitare attività antimicrobica anche sotto forma di ossido (ZnO). Le nanoparticelle di ZnO rilasciano ioni Zn^{2+} e generano ROS, con un effetto battericida combinato. Il meccanismo è mediato principalmente dal perossido di idrogeno, che attraversa la membrana citoplasmatica inducendo la morte cellulare. Lo ZnO presenta buona biocompatibilità se utilizzato a concentrazioni moderate, ma dosaggi elevati possono generare effetti citotossici [82]. Diversi studi hanno investigato la combinazione delle proprietà antibatteriche e di quelle emostatiche della SM funzionalizzata con zinco. Majidi et al. (2024) hanno sintetizzato nanoparticelle di SM incorporate con zinco e successivamente funzionalizzate con gruppi carbossilici, ottenendo un materiale con prestazioni emostatiche superiori e attività battericida efficace contro *E. coli* e *S. aureus* [63]. Hou et al. (2019) hanno riportato un silicato mesoporoso di calcio e zinco in grado di controllare le emorragie e inibire la crescita batterica [83]. Inoltre, studi condotti da Caramella (2020) hanno mostrato come le condizioni di sintesi influenzino il rilascio di zinco: temperature di calcinazione elevate favoriscono la stabilità degli ioni metallici a pH fisiologico, limitandone la dispersione indesiderata e migliorando l'affidabilità del materiale [84].

Infine, oltre al ruolo antimicrobico, come già spiegato precedentemente, gli ioni zinco contribuiscono direttamente al processo emostatico: favoriscono l'aggregazione piastrinica, modulano l'attività della trombina e stimolano la polimerizzazione della fibrina [85]. Ciò rende i materiali a base di silice mesoporosa funzionalizzati con zinco particolarmente interessanti per dispositivi multifunzionali in grado di combinare attività antibatterica, proprietà emostatiche e potenziale promozione della guarigione delle ferite [86].

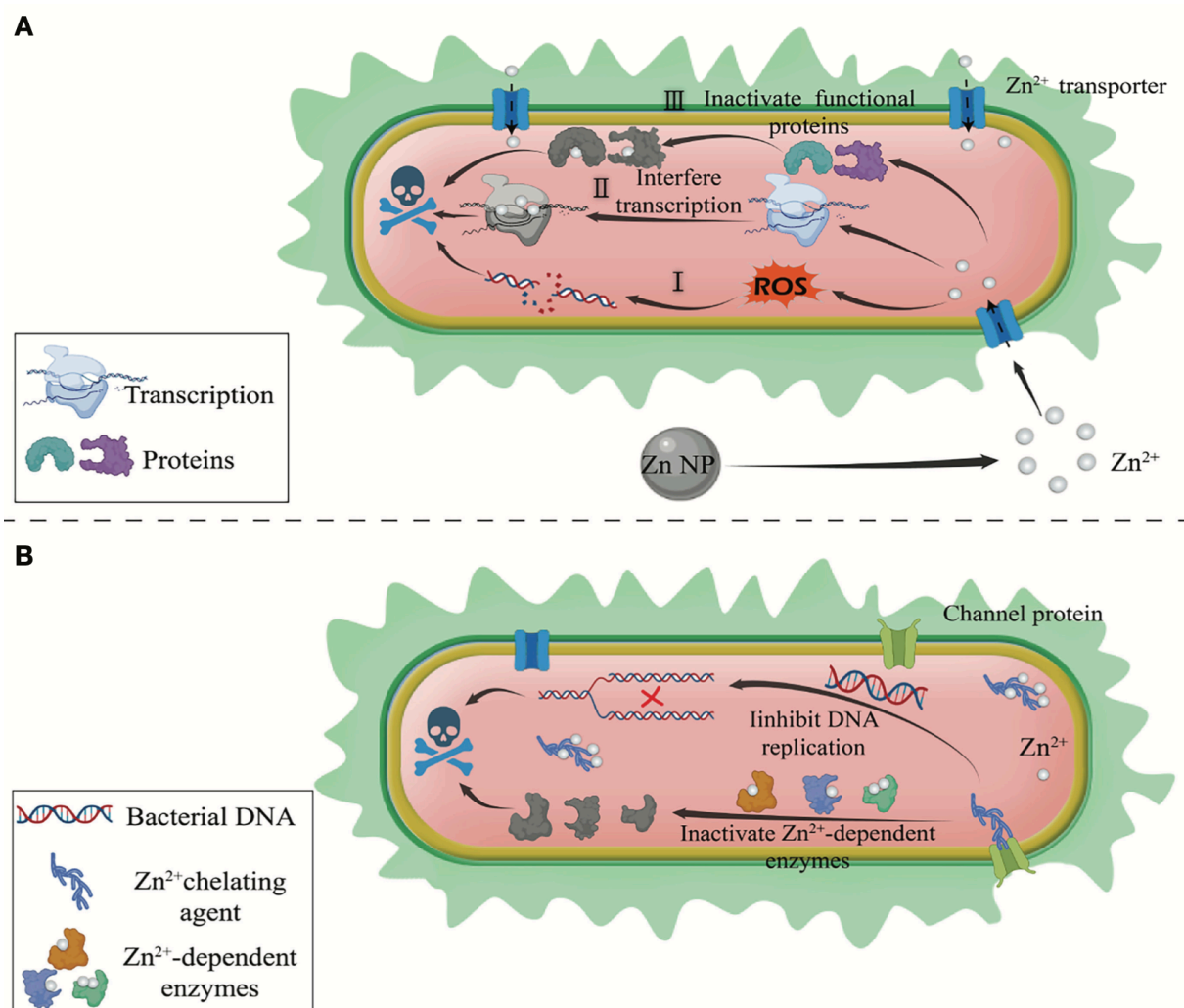


Figura 2.3: Meccanismi antibatterici degli ioni zinco: (A) sovraccarico intracellulare con produzione di ROS e disfunzioni metaboliche; (B) privazione degli ioni zinco mediante agenti chelanti, con inibizione degli enzimi zinco-dipendenti [81, 16].

2.6.1 Prospettive applicative in ambito biomedicale

Grazie alla duplice funzionalità, i materiali a base di silice mesoporosa e zinco si candidano come sistemi promettenti per lo sviluppo di bendaggi avanzati, impalcature per ingegneria tissutale e dispositivi medici in grado di unire la promozione dell'emostasi e la protezione antibatterica. L'ottimizzazione della strategia di incorporazione dello zinco (in situ vs post-sintesi) e della funzionalizzazione superficiale rappresenta il punto chiave per bilanciare efficacia biologica, stabilità e biocompatibilità complessiva del sistema [67, 68].

In sintesi, la letteratura mostra come la funzionalizzazione della silice mesoporosa con ioni zinco consenta di ottenere materiali multifunzionali capaci di unire stabilità strutturale, rilascio controllato di ioni e attività biologiche mirate, in particolare antibatteriche ed emostatiche [12].

In questo lavoro sperimentale sono state esplorate diverse strategie di funzionalizzazione: oltre all'impregnazione tradizionale condotta in assenza di templante su silice mesoporosa già sintetizzata, è stata sviluppata una modalità innovativa di impregnazione in presenza di templante. Inoltre, sono stati realizzati anche esperimenti di miscelazione solido-solido, sia in presenza che in assenza di templante, e un tentativo di sintesi in situ. L'obiettivo complessivo della tesi è quello di confrontare l'efficacia di queste diverse metodologie di funzionalizzazione, al fine di individuare il metodo più efficiente per ottenere materiali di alta qualità a base di silice mesoporosa funzionalizzata con ioni zinco.

Sulla base di queste considerazioni, nel capitolo successivo verranno descritte le metodologie sperimentali adottate per la sintesi e la caratterizzazione di tali materiali, al fine di verificarne le proprietà strutturali discusse in questa sezione [67, 68].

3. Materiali e metodi

In questo capitolo vengono descritti i materiali impiegati e le procedure utilizzate per la sintesi, la funzionalizzazione con ioni zinco e la caratterizzazione dei campioni di silice mesoporosa. La funzionalizzazione è stata effettuata con diverse strategie, al fine di valutarne l'influenza sulle proprietà finali del materiale. Le tecniche di caratterizzazione hanno permesso di verificare se e in che misura la funzionalizzazione abbia modificato le caratteristiche strutturali della silice. Inoltre, sono stati condotti dei test emostatici preliminari per la valutazione delle prestazioni emostatiche dei campioni. Per confermare in modo definitivo l'efficacia dei materiali sarà tuttavia necessario ricorrere a successivi test di tipo emostatico e biologico.

3.1 Materiali

- Acqua deionizzata (grado LC-MS), Merck®.
- Acido cloridrico (HCl, 37 %), Sigma-Aldrich®.
- Cloruro di potassio (KCl, in polvere, cristallino, $\geq 99\%$), Sigma-Aldrich®.
- Pluronic P123 ($\text{EO}_{20}\text{PO}_{70}\text{EO}_{20}$; $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{20}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O})_{70}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{20}\text{H}$), Sigma-Aldrich®.
- Mesitilene (1,3,5-trimetilbenzene, C_9H_{12} , 98%), Sigma-Aldrich®.
- Ortosilicato di tetraetile (TEOS, $\text{SiC}_8\text{H}_{20}\text{O}_4$, 99,999%), Sigma-Aldrich®.
- Nitrato di zinco esaidrato ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, in polvere, 98%), Sigma-Aldrich®.
- Cloruro di zinco (ZnCl_2 , in polvere, $\geq 98\%$), Sigma-Aldrich®.
- Plasma bovino (Fonte SLCM4897), Sigma-Aldrich®.
- Cloruro di calcio (CaCl_2 , in polvere, $\geq 99,999\%$), Sigma-Aldrich®.

3.2 Sintesi della silice mesoporosa

La preparazione della silice mesoporosa (SM) è stata effettuata seguendo la procedura descritta da Mohamed *et al.* (2015) [17]. In un becher sono stati introdotti 120, g di acqua distillata a temperatura ambiente, a cui sono stati successivamente aggiunti 23,6 g di soluzione di acido cloridrico, 6,1 g di cloruro di potassio e 4,0 g di Pluronic P123, impiegato come agente template per favorire l'autoassemblaggio micellare. La miscela è stata mantenuta sotto agitazione magnetica per 1 ora a 25 °C e 300 rpm. In seguito, sono stati aggiunti 3,0 g di mesitilene con la funzione di agente rigonfiante, mantenendo la soluzione in agitazione (300 rpm, 25 °C) per ulteriori 2 ore. Al termine, sono stati introdotti 8,5 g di TEOS mediante aggiunta goccia a goccia, utilizzato come precursore della silice. Dopo l'aggiunta del TEOS, la soluzione è stata agitata per 10 minuti a 800 rpm e 25 °C, quindi trasferita in un bagno d'olio e mantenuta in condizioni statiche per 24 ore alla temperatura di 35 °C. Successivamente, la temperatura del bagno è stata portata a 100 °C e il campione mantenuto per altre 24 ore, sempre in condizioni statiche. Terminata questa fase, la sospensione è stata sottoposta a filtrazione mediante filtri di carta e acqua distillata. La polvere ottenuta è stata posta in stufa a 60 °C per 24 h in modo tale da consentirne l'essiccamento. Infine, il campione è stato calcinato a 500 °C per 6 ore, con un incremento di

temperatura controllato di 1 °C/min, al fine di eliminare l'agente templante. Il procedimento ha permesso di ottenere circa 2,0 g di SM e tale campione è stato denominato MSM (Microsfere di Silice Mesoporosa).

3.3 *Funzionalizzazione con ioni zinco*

Sono stati sperimentati diversi approcci di funzionalizzazione con ioni zinco. Le strategie adottate si differenziano in base al momento in cui i precursori di zinco vengono introdotti e alle modalità operative impiegate. In particolare, sono state considerate tre tipologie principali: la funzionalizzazione per impregnazione (strategia post-sintesi), in cui lo zinco viene introdotto tramite contatto con una soluzione acquosa del suo precursore; la funzionalizzazione allo stato solido (strategia post-sintesi), che prevede la miscelazione meccanica del precursore dello zinco con la polvere di silice; e la funzionalizzazione per co-condensazione (strategia in situ), nella quale il precursore metallico viene incorporato direttamente durante la sintesi del materiale. Ogni metodo è stato applicato secondo varianti sperimentali che differiscono per la sequenza di calcinazione o per la tipologia di precursore utilizzata.

3.3.1 Funzionalizzazione per impregnazione (strategia post-sintesi)

La funzionalizzazione per impregnazione è stata scelta come strategia per introdurre ioni Zn^{2+} nei campioni di silice mesoporosa (SM) partendo dal materiale precedentemente essiccato. Il metodo si basa sul contatto diretto del campione con una soluzione acquosa del precursore metallico, in modo da consentire l'adsorbimento e la diffusione dello ione all'interno dei pori. Sono state esplorate due varianti operative, distinte in funzione della sequenza di impregnazione e calcinazione: impregnazione post-calcinazione e impregnazione pre-calcinazione.

Impregnazione post-calcinazione

Nel primo approccio il campione essiccato e calcinato secondo la procedura descritta nel paragrafo 3.2 è stato impregnato con una soluzione acquosa di nitrato di zinco esaidrato ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) in una quantità tale da ottenere il 10%_{wt} di Zn rispetto alla massa finale della SM funzionalizzata. Dopo l'impregnazione, il campione è stato nuovamente calcinato a 500 °C per 2 ore (rampa 1 °C/min) per favorire la stabilizzazione degli ioni metallici all'interno della matrice mesoporosa e per rimuovere il nitrato. Il materiale ottenuto è stato denominato Zn@MSM-IMP. In questo caso l'impregnazione è avvenuta in assenza del templante.

Impregnazione pre-calcinazione

Nel secondo approccio il campione di SM è stato preparato secondo la procedura descritta nel paragrafo 3.2 senza eseguire la calcinazione finale. A questo punto è stata effettuata un'impregnazione con una soluzione acquosa di nitrato di zinco esaidrato ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) in una quantità tale da ottenere il 10%_{wt} di Zn rispetto alla massa finale della SM funzionalizzata. Dopo l'impregnazione, la polvere è stata calcinata a 500 °C per 6 ore, con una rampa di riscaldamento di 1 °C/min. In questo caso l'eliminazione del templante, del nitrato e la stabilizzazione dello zinco avvengono simultaneamente durante la calcinazione. Il campione finale è stato identificato come Zn@MSM-P123-IMP. In questo caso l'impregnazione è avvenuta in presenza del templante.

3.3.2 Funzionalizzazione con miscelazione allo stato solido (strategia post-sintesi)

La funzionalizzazione allo stato solido è stata sviluppata con l'obiettivo di introdurre ioni Zn^{2+} nei campioni di SM tramite miscelazione meccanica del precursore, allo stato solido, con la polvere del materiale. Il metodo consiste nel mescolare e macinare la polvere di SM con nitrato di zinco esaidrato ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), in una quantità tale da ottenere il 10%_{wt} di Zn rispetto alla massa finale della SM funzionalizzata, mediante pestello e mortaio, così da favorire il contatto diretto tra i due solidi. Analogamente al caso dell'impregnazione, sono state considerate due varianti sperimentali: una eseguita dopo la calcinazione e una condotta invece prima della calcinazione.

Miscelazione solido-solido post-calcinazione

Nel primo approccio il campione essiccato e calcinato secondo la procedura descritta nel paragrafo 3.2 è stato miscelato e macinato manualmente con nitrato di zinco esaidrato ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) in una quantità tale da ottenere il 10%_{wt} di Zn rispetto alla massa finale della SM funzionalizzata. Al termine della miscelazione, il materiale è stato sottoposto a una seconda calcinazione a 500 °C per 2 ore (rampa 1 °C/min), ottenendo il campione Zn@MSM-S. In questo caso la miscelazione allo stato solido è avvenuta in assenza del template.

Miscelazione solido-solido pre-calcinazione

Nel secondo approccio il campione di SM è stato preparato secondo la procedura descritta nel paragrafo 3.2 senza eseguire la calcinazione finale. A questo punto è stata effettuata una miscelazione e macinazione con nitrato di zinco esaidrato ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) in una quantità tale da ottenere il 10%_{wt} di Zn rispetto alla massa finale della SM funzionalizzata, prima della calcinazione. Il materiale ottenuto è stato quindi calcinato a 500 °C per 6 ore con una rampa di riscaldamento di 1 °C/min, ottenendo il campione Zn@MSM-P123-S. In questo caso la miscelazione allo stato solido è avvenuta in presenza del template.

3.3.3 Funzionalizzazione per co-condensazione (strategia in situ)

La funzionalizzazione in situ è stata realizzata introducendo il precursore di zinco direttamente durante la sintesi della silice mesoporosa (SM), in modo da consentire l'incorporazione degli ioni metallici già nelle prime fasi del processo di autoassemblaggio micellare. In questo processo di funzionalizzazione non è stato utilizzato il nitrato di zinco come precursore metallico, bensì, il cloruro di zinco. Quest'ultimo è stato introdotto direttamente nella miscela iniziale di sintesi in sostituzione del KCl. In questo modo, lo ZnCl_2 , aggiunto in una quantità tale da ottenere il 10%_{wt} di Zn rispetto alla massa finale della SM funzionalizzata, ha partecipato sin dall'inizio al processo di autoassemblaggio micellare, con l'obiettivo di favorire l'incorporazione stabile degli ioni zinco nella matrice. In questo caso, la sintesi è proseguita secondo lo schema operativo standard, ma non sono state eseguite le fasi di lavaggio e filtrazione (aggiunta di mesitilene, aggiunta di TEOS, fasi statiche a 35 °C e 100 °C, essiccamento fino a completa evaporazione del solvente e calcinazione a 500 °C per 6 ore, rampa 1 °C/min). Le operazioni di lavaggio e filtrazione non sono state implementate per preservare l'integrità del materiale sintetizzato, evitando la potenziale lisciviazione degli ioni di zinco. Il campione finale è stato identificato con il nome Zn@MSM-insitu.

3.4 Caratterizzazione

Al fine di comprendere a fondo le caratteristiche dei campioni sintetizzati e di verificarne le potenzialità applicative, è stato necessario ricorrere a diverse tecniche di caratterizzazione, capaci di fornire dati strutturali, morfologici e funzionali complementari.

3.4.1 Fisisorbimento di azoto

L'analisi di fisisorbimento di azoto è stata impiegata per ottenere informazioni relative alle proprietà strutturali dei campioni, quali la superficie specifica, la distribuzione e la dimensione media dei pori, oltre al volume poroso totale. Le misure sono state condotte mediante uno strumento ASAP 2020 Plus (Micrometrics), utilizzando azoto liquido come gas adsorbito. Per ogni analisi sono stati impiegati almeno 50 mg di campione in polvere. Prima della misura, i campioni sono stati sottoposti a una fase di degasaggio a 150 °C per 2 ore, al fine di eliminare eventuali molecole adsorbite o impurità superficiali. La superficie specifica è stata calcolata applicando il modello BET (Brunauer–Emmett–Teller) [18], mentre la distribuzione dei pori è stata ricavata tramite il modello DFT (Density Functional Theory) [87], dal quale è stato possibile determinare anche la dimensione modale dei pori.

In accordo con la classificazione IUPAC aggiornata, le isoterme di adsorbimento possono essere suddivise in sei tipologie fondamentali (Figura 3.1), ciascuna delle quali è associata a particolari caratteristiche strutturali del materiale poroso [88]. Analogamente, i loop di isteresi, osservabili nei materiali mesoporosi a seguito di fenomeni di condensazione capillare, possono essere distinti in cinque tipologie principali (Figura 3.2), strettamente correlate alla morfologia dei pori e ai meccanismi di adsorbimento-desorbimento [88].

3.4.2 Diffrazione a raggi X (XRD)

La diffrazione a raggi X (XRD) è una tecnica impiegata per lo studio di materiali cristallini, resa possibile grazie all'elevata energia e al forte potere di penetrazione dei raggi X. Questi ultimi presentano una lunghezza d'onda paragonabile alla distanza tra i piani reticolari dei cristalli. Quando un fascio di raggi X incide sul campione, può verificarsi il fenomeno della diffrazione, che devia il fascio incidente in direzioni specifiche. L'intensità del fascio diffratto viene quindi registrata da un rivelatore, posto in posizione opposta rispetto alla sorgente. L'elaborazione dei dati raccolti permette di ottenere un diffrattogramma, ovvero un grafico che riporta l'intensità del segnale in funzione dell'angolo di diffrazione 2θ . Nei materiali cristallini il diffrattogramma mostra picchi caratteristici, correlati alla struttura reticolare, mentre nei materiali amorfi non sono presenti massimi ben definiti [21].

Le analisi sono state condotte utilizzando un diffrattometro Panalytical X'Pert3 Powder, equipaggiato con radiazione Cu K α . I campioni in polvere di SM sono stati alloggiati in un portacampioni in alluminio, e le misure sono state eseguite in un intervallo angolare di 2θ compreso tra 5° e 60°.

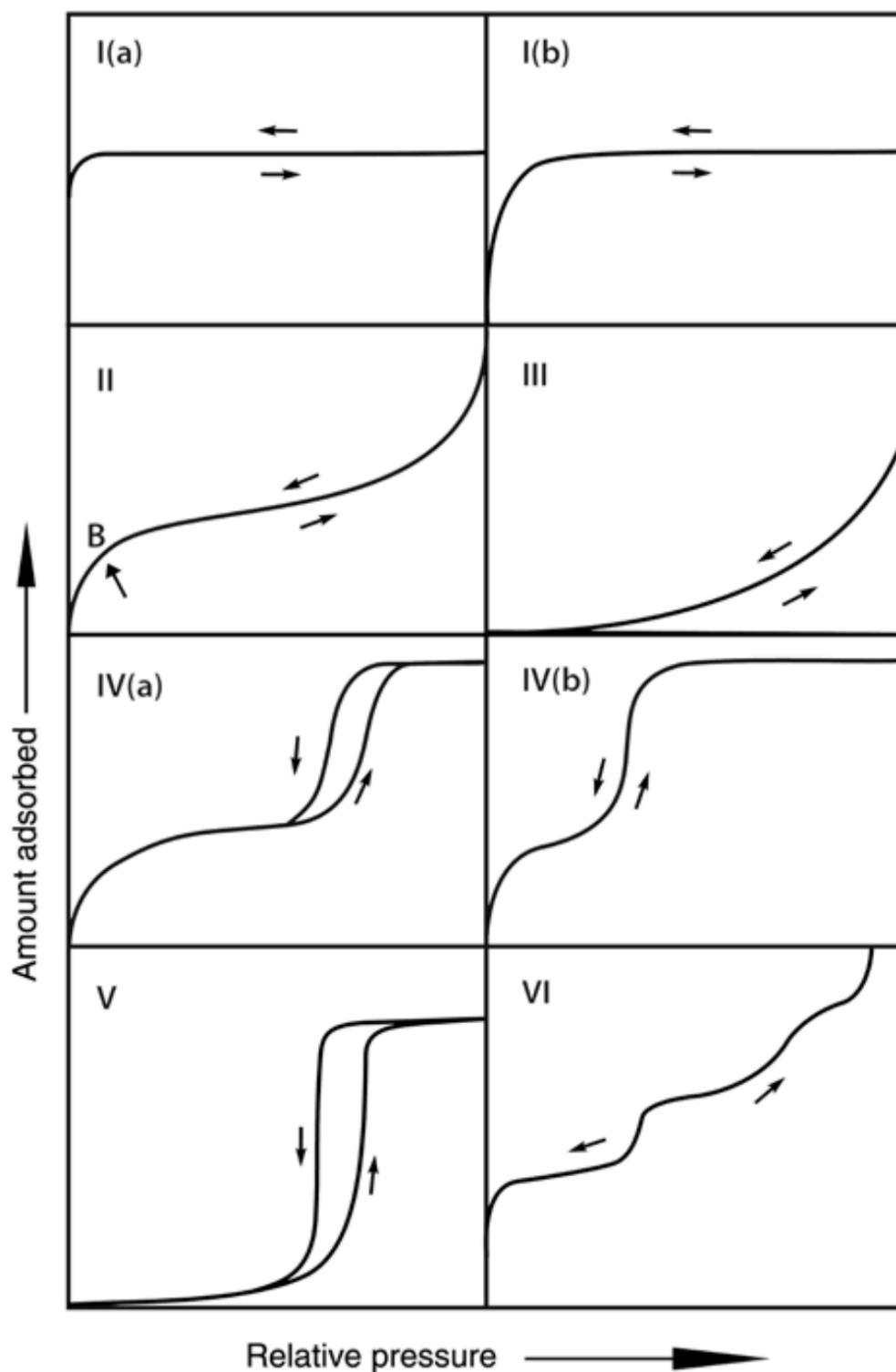


Figura 3.1: Classificazione delle isoterme di fisisorbimento secondo le raccomandazioni IUPAC. Il tipo I si divide in Ia, caratteristico di materiali microporosi con micropori stretti (< 1 nm), e Ib, che descrive solidi con distribuzione di micropori più ampia (fino a circa 2,5 nm). Il tipo II rappresenta l'adsorbimento su solidi non porosi o macroporosi, con formazione di monostato e successivo multilayer. Il tipo III è associato a interazioni deboli tra adsorbente e adsorbato e alla formazione di cluster molecolari senza punto B definito. Il tipo IVa descrive i materiali mesoporosi con condensazione capillare e loop di isteresi, mentre il tipo IVb è tipico di mesopori stretti o conici che rendono l'isoterma reversibile. Il tipo V, simile al III a basse pressioni, è seguito dal riempimento dei mesopori, mentre il tipo VI mostra un andamento a gradini dovuto all'adsorbimento multistrato su superfici omogenee. Adattato da [88].

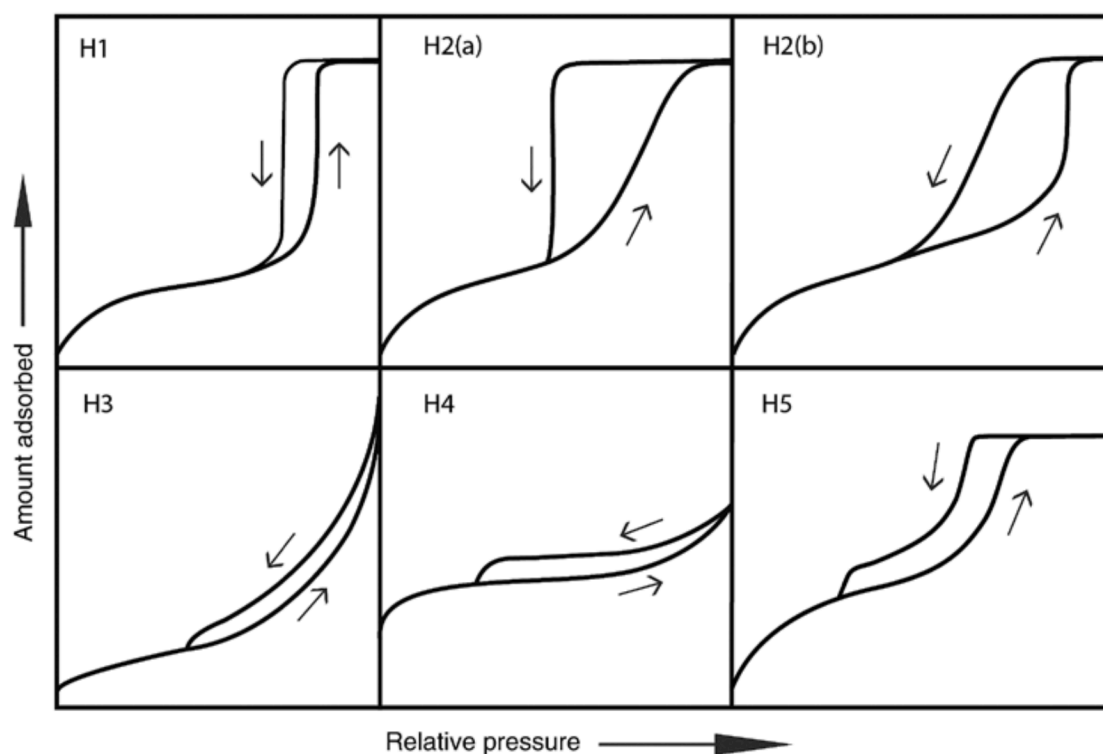


Figura 3.2: Classificazione dei loop di isteresi secondo IUPAC. Il tipo H1 è associato a materiali mesoporosi ordinati con pori cilindrici uniformi (es. SBA-15, MCM-41), e mostra un loop quasi verticale e simmetrico, indice di condensazione capillare in pori ben definiti. Il tipo H2 è tipico di strutture porose complesse: H2a indica sistemi con pore blocking/percolazione o cavitazione in colli stretti, mentre H2b si osserva in materiali con ampia distribuzione delle dimensioni dei colli. Il tipo H3 si manifesta in aggregati lamellari o sistemi con macropori non completamente riempiti dal condensato, e l'isoterma di adsorbimento ricorda una curva di tipo II. Il tipo H4 combina le caratteristiche dei tipi I e II, con assorbimento marcato a basse pressioni (micropori) e successiva mesoporosità; è comune in materiali micro-mesoporosi come alcune zeoliti e carboni attivi. Il tipo H5, più raro, è associato a sistemi contenenti mesopori aperti e altri parzialmente chiusi (es. silici esagonali con "plug"). La forma del loop di isteresi fornisce quindi indicazioni non solo sulla dimensione dei pori, ma anche sulla loro geometria e connettività. Adattato da [88].

3.4.3 Microscopia a scansione elettronica a emissione di campo (FESEM) e spettroscopia EDX

La microscopia elettronica a scansione con emissione di campo (FESEM) consente l'osservazione diretta della morfologia del campione, fornendo immagini ad alta risoluzione e contrasto. La spettroscopia a dispersione di energia dei raggi X (EDX, Energy Dispersive X-ray Spectroscopy), invece, è una tecnica complementare che permette di determinare la composizione elementare del materiale analizzato. Entrambe le analisi sono state condotte utilizzando uno strumento FESEM Zeiss Merlin. Le micrografie sono state ottenute con ingrandimenti variabili da 1 000X fino a 10 000X.

Nel caso della microscopia FESEM, un catodo a emissione di campo genera un fascio di elettroni che interagisce con il campione, consentendo la visualizzazione delle sue caratteristiche morfologiche con elevata definizione. La spettroscopia EDX sfrutta invece l'interazione tra il fascio di elettroni accelerati e gli atomi del campione: tale interazione induce l'emissione di raggi X caratteristici, che vengono successivamente rilevati e analizzati da un detector per ricavare informazioni sulla composizione chimica del materiale [25].

3.4.4 Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR)

La spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR) è stata impiegata per l'identificazione dei gruppi funzionali presenti nei campioni. La tecnica si basa sull'interazione tra la radiazione infrarossa e i legami chimici del materiale: l'assorbimento selettivo di specifiche lunghezze d'onda genera uno spettro caratteristico, utile per riconoscere le diverse vibrazioni molecolari [89]. Lo spettro viene rappresentato come grafico dell'assorbanza in funzione del numero d'onda.

Le analisi sono state condotte utilizzando uno spettrofotometro Bruker INVENIO S FT-IR Spectrometer. Per la preparazione del campione, la polvere è stata compressa in una pastiglia mediante pressa idraulica; la pastiglia è stata successivamente inserita in una bustina d'oro con foro centrale e collocata in una cella dotata di finestre in KBr, trasparenti alla radiazione infrarossa. Prima dell'analisi, il campione è stato sottoposto a degasaggio a 0,1 Pa per 30 minuti a temperatura ambiente, quindi introdotto nello spettrofotometro per la registrazione dello spettro.

3.5 Test emostatici

I test emostatici sono stati eseguiti al fine di valutare la capacità dei campioni di SM di favorire la coagulazione. La procedura adottata si basa sul protocollo descritto da Mohamed *et al.* [90], utilizzando plasma bovino come fluido biologico di riferimento. In particolare, 2,0 mg di campione sono stati posti in una provetta Eppendorf e mantenuti a 37 °C per 5 minuti. Successivamente, sono stati aggiunti 0,20 ml di plasma bovino e il sistema è stato nuovamente riscaldato a 37 °C per ulteriori 3 minuti, prima di introdurre 20, µl di una soluzione di CaCl₂ 0,20 M. L'aggiunta del CaCl₂ ha lo scopo di avviare il processo di coagulazione.

Il tempo di coagulazione è stato misurato a partire dall'aggiunta del CaCl₂ e il test è stato considerato concluso nel momento in cui il plasma non risultava più fluido. Durante l'esperimento, la provetta è stata capovolta a intervalli di un minuto per verificare l'avvenuta coagulazione. Parallelamente, è stato condotto un test di controllo, senza campione, per determinare il tempo di coagulazione del plasma in assenza di materiale emostatico.

4. Risultati

In questo capitolo sono presentati e discussi i risultati sperimentali. Si parte dalla caratterizzazione della silice mesoporosa non funzionalizzata di riferimento (campione denominato: MSM). Si analizzano i campioni funzionalizzati con zinco raggruppati per strategia di funzionalizzazione. Infine, si riportano i risultati dei test emostatici preliminari effettuati su tutti i campioni.

4.1 Caratterizzazione di MSM

L'analisi di fisisorbimento dell'azoto ha consentito di determinare le isoterme di adsorbimento e desorbimento relative al campione SM, riportate in Figura 4.1. Le curve ottenute si collocano all'interno della tipologia IV(a) della classificazione IUPAC. Le isoterme di tipo IV sono tipicamente fornite da adsorbenti mesoporosi, come molti gel ossidici, adsorbenti industriali e setacci molecolari mesoporosi. In questi materiali, il comportamento di adsorbimento nei mesopori è governato sia dalle interazioni tra adsorbente e adsorbato, sia dalle interazioni tra le molecole nello stato condensato. Inizialmente si ha un processo di adsorbimento monostrato-multistrato sulle pareti dei pori, analogo a quello osservato per le isoterme di tipo II, a cui segue il fenomeno della condensazione capillare. Una caratteristica tipica delle isoterme di tipo IV è la comparsa di un plateau di saturazione finale, la cui estensione può variare notevolmente ed essere talvolta ridotta a un semplice punto di inflessione [88]. Nel caso delle isoterme di tipo IVa, la condensazione capillare è accompagnata da isteresi. Questo fenomeno si verifica quando la larghezza dei pori supera un valore critico, che dipende dal sistema di adsorbimento e dalla temperatura. Ad esempio, per l'adsorbimento di azoto e argon in pori cilindrici a 77 K e 87 K, rispettivamente, l'isteresi inizia a manifestarsi in corrispondenza di pori più larghi di circa 4 nm [91, 20].

In questo caso, l'anello di isteresi osservato può essere associato al tipo H2(b). Gli anelli di isteresi di tipo H2 sono caratteristici di strutture porose più complesse, in cui gli effetti di rete giocano un ruolo rilevante. Il ramo di desorbimento molto ripido, tipico delle curve H2(a), può essere attribuito sia a fenomeni di blocco dei pori o percolazione in una gamma ristretta di colli di poro, sia all'evaporazione indotta da cavitazione. Esempi di isoterme con isteresi H2(a) si riscontrano in numerosi gel di silice, in alcuni vetri porosi e in materiali mesoporosi ordinati, tra cui le silici SBA-16 e KIT-5. Le curve di tipo H2(b), invece, sono anch'esse legate al blocco dei pori, ma presentano una distribuzione di ampiezza dei colli molto più estesa. Tali forme di isteresi sono state osservate, ad esempio, nelle schiume di silice mesocellulare e in particolari silici mesoporose ordinate sottoposte a trattamenti idrotermali [19].

L'analisi di fisisorbimento dell'azoto ha permesso di determinare anche la distribuzione delle dimensioni dei pori, mostrata in Figura 4.2. La valutazione è stata condotta utilizzando il modello DFT. La maggior parte dei pori presenta dimensioni comprese tra 17 e 25 nm, con una distribuzione relativamente uniforme all'interno di tale intervallo, e sono presenti solo contributi minori al di fuori di esso. Le principali proprietà analizzate per il campione MSM, ovvero area superficiale, volume poroso e valore modale della dimensione dei pori, sono riportati in Tabella 4.1.

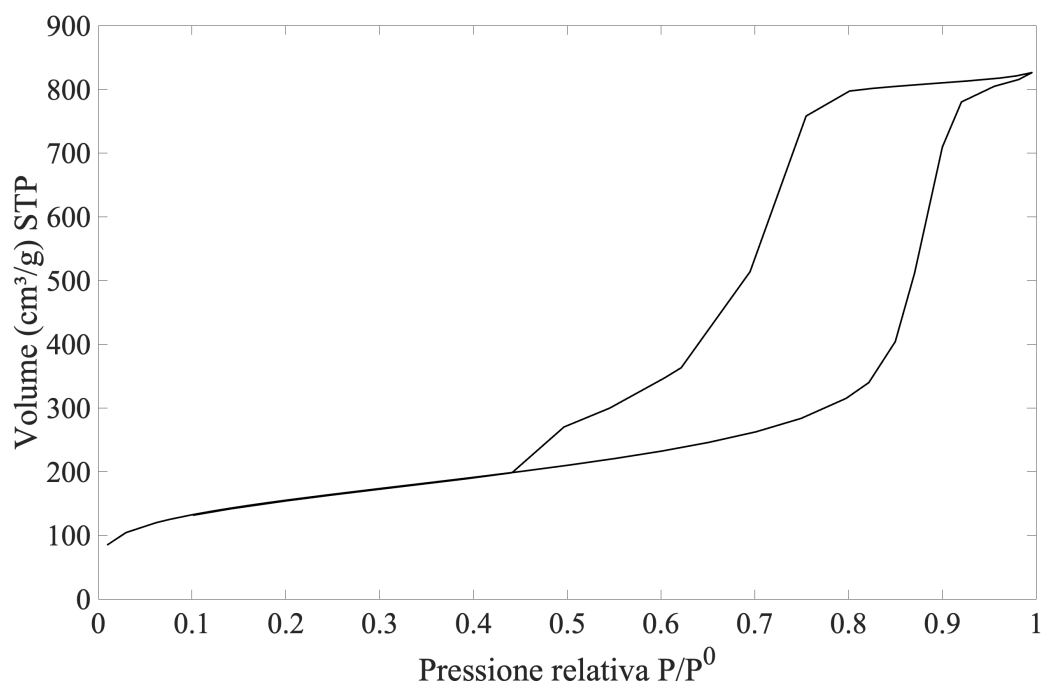


Figura 4.1: Isotherme di adsorbimento e desorbimento di azoto del campione MSM ottenute mediante fisisorbimento di azoto.

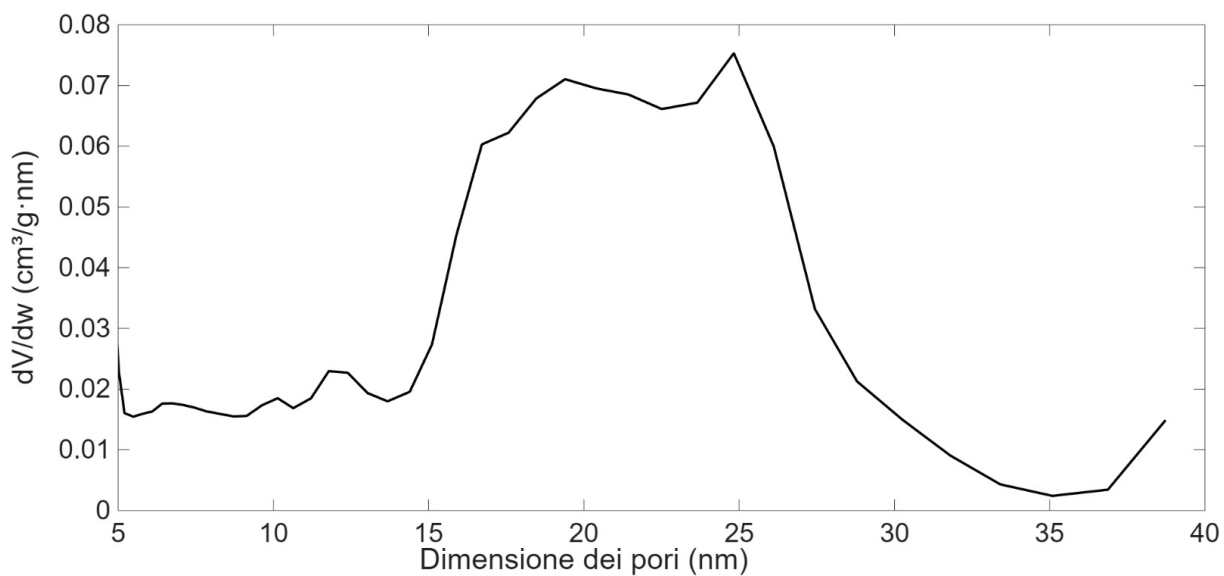


Figura 4.2: Distribuzione delle dimensioni dei pori del campione MSM ottenuta con il modello DFT.

Tabella 4.1: Valori di area superficiale, volume poroso e valore modale della dimensione dei pori del campione di silice mesoporosa MSM.

Proprietà misurata	Valore numerico
Area superficiale (m ² /g)	557
Volume poroso (cm ³ /g)	1.24
Valore modale della dimensione dei pori (nm)	25

Le particelle di MSM sono state analizzate mediante microscopia elettronica a scansione con emissione di campo (FESEM), ottenendo immagini a differenti ingrandimenti. In Figura 4.3 sono riportati i risultati a 5 000× e 10 000×. Le osservazioni mostrano che le particelle presentano morfologia sferoidale.

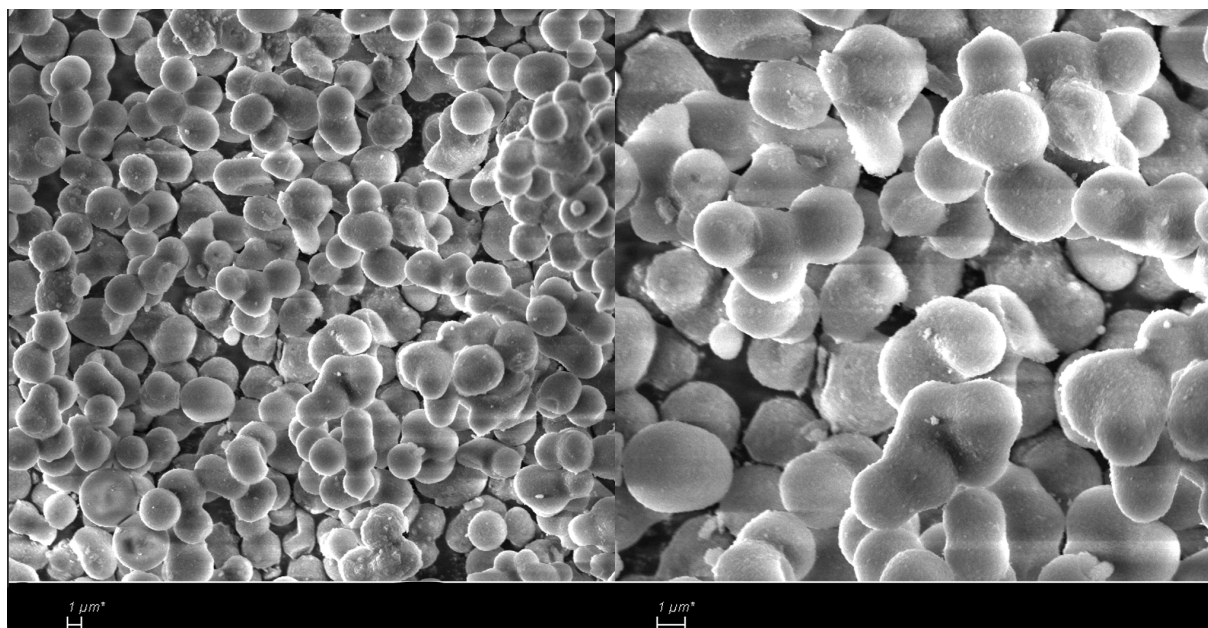


Figura 4.3: Immagine FESEM del campione MSM a due diversi ingrandimenti: 5 000× (sinistra) e 10 000× (destra). In basso a sinistra di ciascuna immagine è riportata la barra di scala di 1 μm .

Utilizzando lo stesso strumento è stata effettuata anche la spettroscopia a dispersione di energia (EDX), con lo scopo di valutare la composizione elementare del materiale. I risultati sono riportati in Tabella 4.2 e confermano che il campione è costituito prevalentemente da silicio e ossigeno. Sono inoltre rilevabili tracce di potassio, probabilmente riconducibili a residui derivanti dal processo di sintesi.

Tabella 4.2: Composizione elementare (percentuali massiche) del campione MSM ottenuta tramite analisi EDX.

Elemento	C	O	Si	K
% _{wt}	4.41	53.69	41.65	0.24

4.2 Caratterizzazione delle silici funzionalizzate per impregnazione

Per valutare l'effetto dell'impregnazione con nitrato di zinco ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$) sono stati preparati due campioni, denominati Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP , ottenuti rispettivamente in presenza e assenza del templante Pluronic-P123. Nel primo caso, quindi l'impregnazione è avvenuta prima della calcinazione mentre, nel secondo caso, è avvenuta dopo. Come descritto nel capitolo precedente il campione impregnato dopo la calcinazione (Zn@MSM-IMP) ha subito un'ulteriore calcinazione. I risultati delle analisi sono stati confrontati con quelli del materiale di partenza non funzionalizzato (MSM).

Le isoterme ricavate dall'analisi di fisisorbimento dell'azoto sono mostrate in Figura 4.4. Esse risultano analoghe a quelle osservate per il campione MSM e rientrano nella tipologia IV(a), caratterizzata da un cappio d'isteresi di tipo H2(b) [19]. L'introduzione del nitrato di zinco non ha determinato variazioni nella forma delle isoterme. Tuttavia, rispetto alla curva ottenuta per il campione di silice non funzionalizzata (MSM), i valori dei volumi di gas adsorbiti e desorbiti sono stati maggiori per il campione Zn@MSM-P123-IMP e minori per Zn@MSM-IMP .

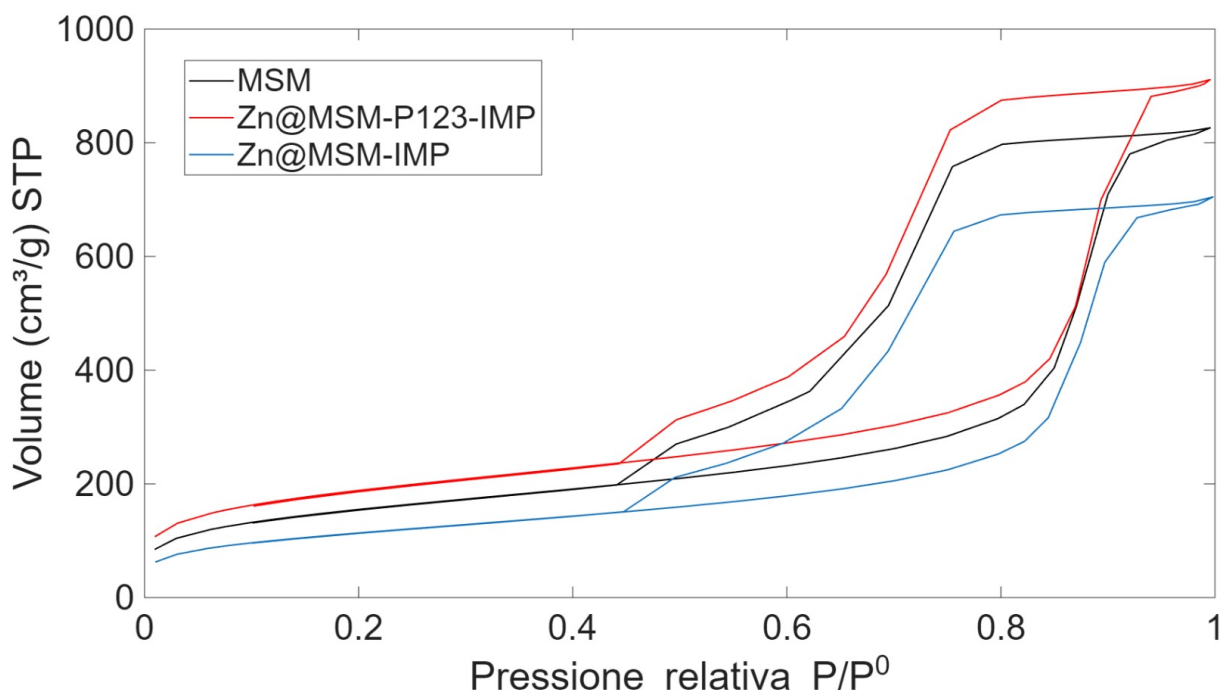


Figura 4.4: Isoterme di adsorbimento e desorbimento di azoto a 77 K per MSM, Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP .

L'analisi DFT per la determinazione della distribuzione della dimensione dei pori (Figura 4.5) mostra come l'introduzione di zinco causi una diminuzione della varianza nel caso del campione impregnato in presenza del templante (Zn@MSM-P123-IMP). Infatti, per tale campione, la maggior parte dei pori ha una dimensione compresa tra i 20 e i 25 nm. Inoltre, il contributo quantitativo di pori caratterizzato da un diametro maggiore di 25 nm risulta maggiore per Zn@MSM-P123-IMP rispetto a Zn@MSM-IMP e MSM. Invece, la distribuzione di Zn@MSM-IMP è molto simile al campione non funzionalizzato (MSM).

I valori di area superficiale, volume poroso e valore modale della dimensione dei pori sono presenti in Tabella 4.3. L'impregnazione determina una riduzione dell'area superficiale e del volume poroso del campione impregnato in assenza del templante Zn@MSM-IMP rispetto a MSM. La riduzione potrebbe essere ricondotta alla presenza di ioni zinco adsorbiti, che si distribui-

scono sulla superficie della silice determinando un parziale riempimento dei pori del materiale oppure potrebbe anche essere dovuta al collasso parziale dei pori durante la seconda calcinazione. Invece, si osserva un aumento dell'area superficiale e del volume poroso per il campione impregnato in presenza del templante (Zn@MSM-P123-IMP).

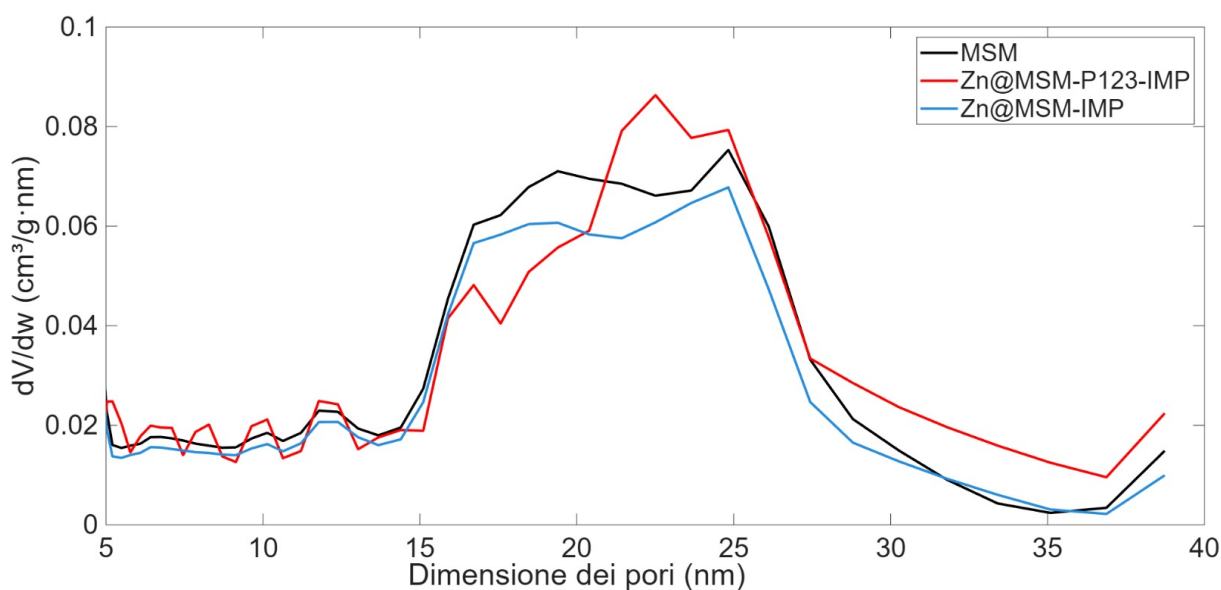


Figura 4.5: Distribuzioni delle dimensioni dei pori calcolate con il modello DFT per MSM, Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP.

Tabella 4.3: Valori di area superficiale, volume poroso e valore modale della dimensione dei pori delle silici funzionalizzate per impregnazione confrontati con quella non funzionalizzata.

Campione	Area superficiale (m ² /g)	Volume poroso (cm ³ /g)	Diametro pori modale (nm)
MSM	557	1.24	25
Zn@MSM-P123-IMP	669	1.38	23
Zn@MSM-IMP	411	1.05	25

I campioni sottoposti a funzionalizzazione per impregnazione sono stati analizzati mediante diffrazione a raggi X e sono stati confrontati con il campione non funzionalizzato (MSM). Tale analisi è stata svolta al fine di verificare l'eventuale formazione di fasi cristalline in seguito al processo di funzionalizzazione per impregnazione. Gli spettri XRD dei tre campioni, effettuati per valori di 2θ compresi tra 5° e 60° , sono riportati in Figura 4.6. Gli spettri XRD di Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP non evidenziano la presenza di ossido di zinco (ZnO), poichè non si osservano picchi nella regione di 2θ compresa tra 30° e 40° . Le curve presentano un alone allargato centrato a circa 22° e ciò è un'ulteriore conferma della natura amorfa del materiale sintetizzato.

Le micrografie, riportate in Figura 4.7 e in Figura 4.8, mostrano che l'impregnazione non altera significativamente la morfologia delle particelle, che conservano forme analoghe a quelle della MSM di partenza. Le analisi EDX (Tabella 4.4) confermano la presenza di zinco in entrambi i campioni funzionalizzati, con un contenuto leggermente superiore per Zn@MSM-P123-IMP rispetto a Zn@MSM-IMP.

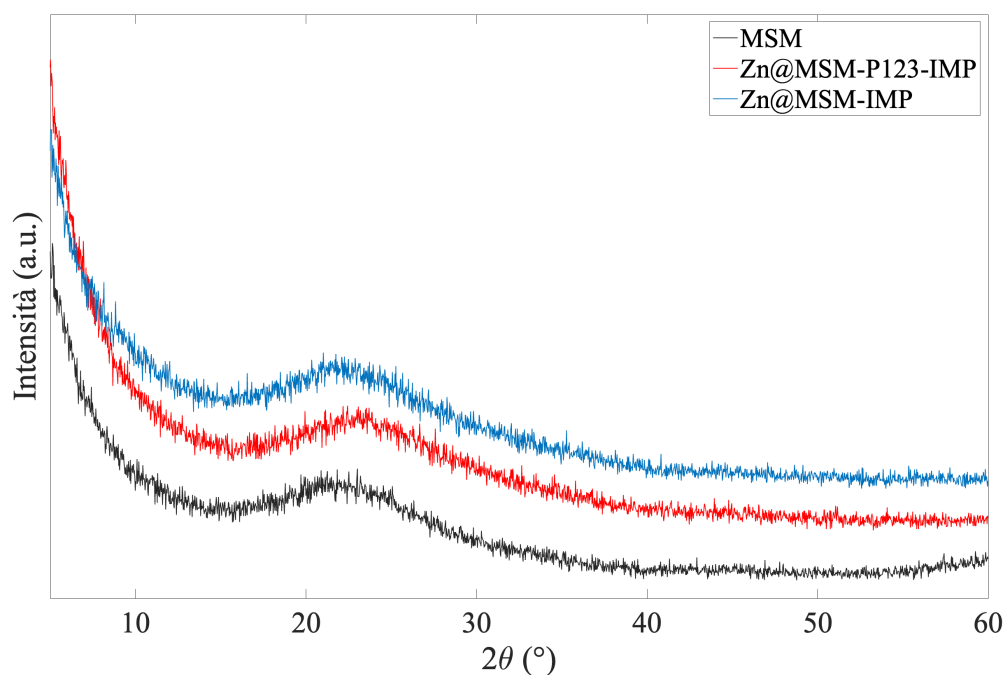


Figura 4.6: Spettri XRD di MSM, Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP.

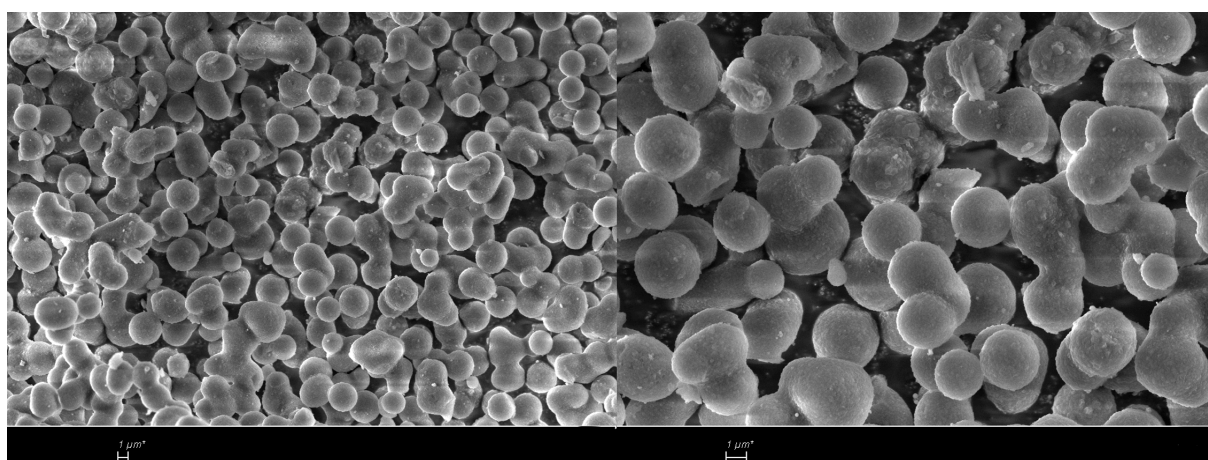


Figura 4.7: Immagine FESEM del campione Zn@MSM-P123-IMP acquisita a ingrandimento 5 000× sulla sinistra e 10 000× sulla destra. In basso a sinistra di entrambe le immagini, è presente una barra di scala della dimensione di 1 μm .

Tabella 4.4: Composizioni elementari (percentuali massiche) dei campioni Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP ottenute tramite analisi EDX.

Campione	C (% _{wt})	O (% _{wt})	Si (% _{wt})	Zn (% _{wt})
Zn@MSM-P123-IMP	4.04	48.80	37.55	9.61
Zn@MSM-IMP	3.22	45.27	43.15	8.36

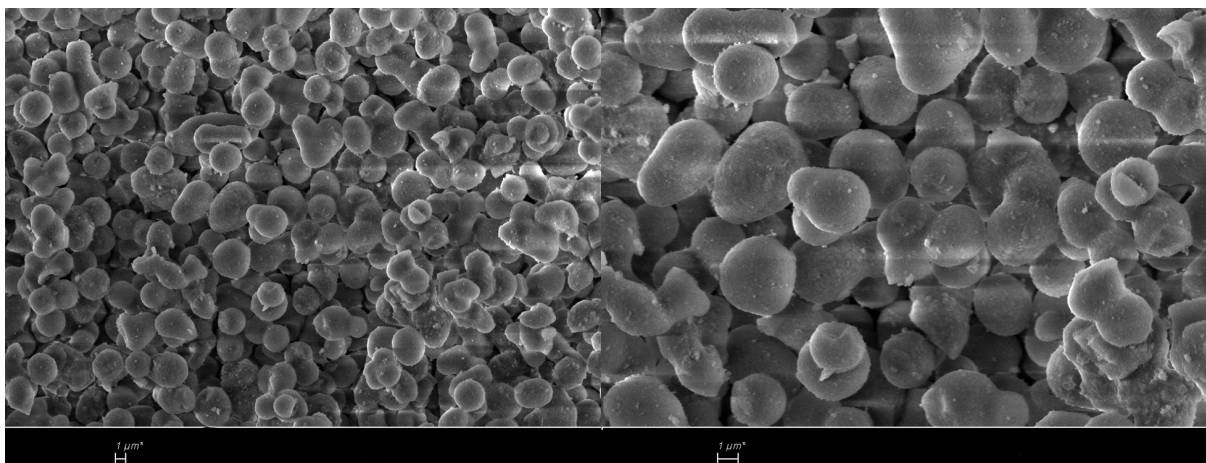


Figura 4.8: Immagine FESEM del campione Zn@MSM-IMP acquisita a ingrandimento 5 000× sulla sinistra e 10 000× sulla destra. In basso a sinistra di entrambe le immagini, è presente una barra di scala della dimensione di 1 μm .

L'analisi FT-IR dei campioni MSM, Zn@MSM-IMP e Zn@MSM-P123-IMP è riportata in Figura 4.9. Tutti gli spettri mostrano un picco stretto a circa 3750 cm^{-1} , attribuibile alle vibrazioni di stretching dei gruppi silanologici isolati presenti sulla superficie della silice [22, 23]. È inoltre evidente una banda larga intorno a 3500 cm^{-1} , caratteristica dello stretching dei gruppi silanologici interagenti per legami a idrogeno. L'intensità complessiva della regione $3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ risulta più marcata nei campioni funzionalizzati rispetto al materiale di riferimento MSM; tra essi, il segnale è più intenso nel campione impregnato in presenza del templante (Zn@MSM-P123-IMP). Questa variazione indica una maggiore concentrazione relativa di gruppi --OH superficiali e/o una maggiore capacità di ritenzione di acqua adsorbita. Nella zona compresa tra 2000 e 2500 cm^{-1} si osservano deboli assorbimenti nei campioni funzionalizzati, assenti nel campione MSM. La posizione e l'andamento di tali bande sono compatibili con le vibrazioni di stretching della CO_2 (asimmetrico intorno a 2350 cm^{-1} e simmetrico a circa 2090 cm^{-1}), nonché con la banda di combinazione più larga che compare tra 1980 e 1870 cm^{-1} [24]. Tali segnali possono derivare da CO_2 adsorbita nei pori o da contributi ambientali durante la misura. Nel range $1800\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$, in cui sarebbero attese le vibrazioni caratteristiche dei nitrati [24], non si evidenziano bande diagnostiche, suggerendo l'assenza di quantità rilevabili di specie nitrato residue dopo la fase di sintesi e trattamento.

A supporto dell'assegnazione, si ricorda che gli allungamenti O--H in legame a idrogeno ricadono tipicamente nell'intervallo $3550\text{--}3230\text{ cm}^{-1}$ con banda ampia nei solidi, mentre i gruppi O--H "liberi" compaiono come picchi più stretti a frequenze più alte (area $3670\text{--}3580\text{ cm}^{-1}$); l'acqua fisicamente adsorbita contribuisce nella stessa regione degli O--H e può accompagnarsi ad una debole deformazione H--O--H attesa a $1630\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ [24].

Infine, si nota che l'intensità dei picchi sopra discussi varia tra i campioni: lo spettro di Zn@MSM-P123-IMP mostra i segnali più marcati, seguito da Zn@MSM-IMP, mentre il campione MSM presenta le intensità più deboli. Questa differenza, osservata in modo sistematico per tutte le bande principali, costituisce un'indicazione oggettiva della modifica introdotta dall'impregnazione con Zn.

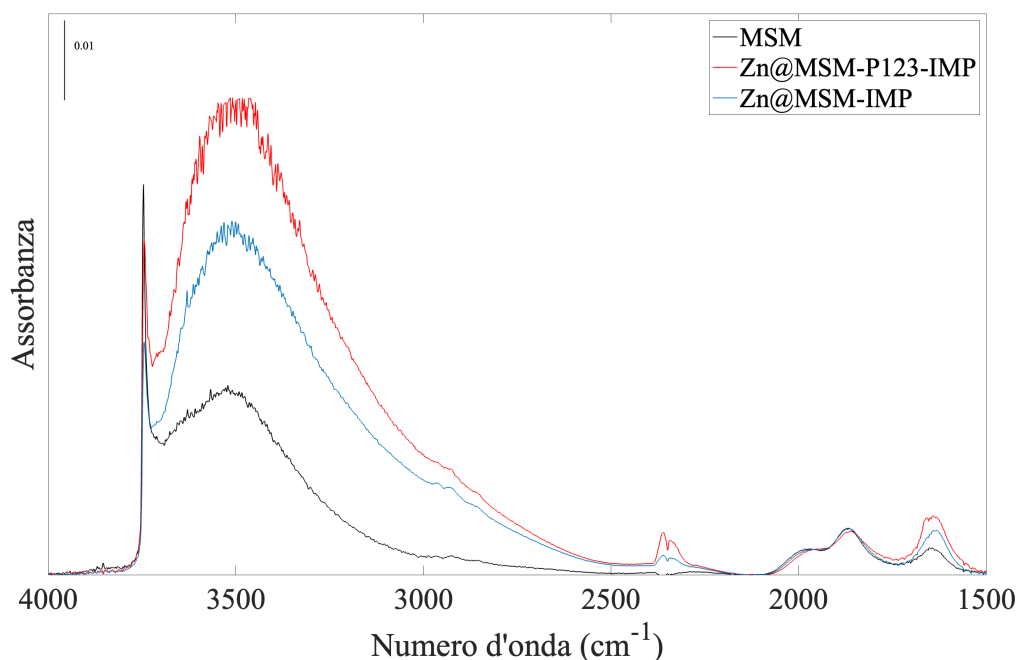


Figura 4.9: Spettri FT-IR dei campioni MSM, Zn@MSM-P123-IMP e Zn@MSM-IMP.

In sintesi, l'impregnazione con nitrato di zinco non comporta una riduzione significativa dell'area superficiale e volume dei pori, anzi nel caso di MSM-IMP-P123 è stato osservato un aumento. Una parziale modifica della distribuzione dimensionale dei pori è stata osservata solo per Zn@MSM-IMP-P123, mentre per Zn@MSM-IMP la distribuzione rimane molto simile a MSM. Le analisi XRD non evidenziano la formazione di fasi cristalline di ZnO, mentre EDX conferma l'incorporazione dello zinco superficiale. Le osservazioni morfologiche al FESEM non mostrano variazioni marcate rispetto alla MSM di partenza.

4.3 Caratterizzazione delle silici funzionalizzate con miscelazione allo stato solido

Per valutare l'effetto della miscelazione allo stato solido con nitrato di zinco ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$) sono stati preparati due campioni, denominati Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S, ottenuti rispettivamente in presenza e in assenza del templante Pluronic-P123. Nel primo caso, quindi la miscelazione solido-solido è avvenuta prima della calcinazione mentre, nel secondo caso, è avvenuta dopo. Come descritto nel capitolo precedente, il campione Zn@MSM-S ha subito un'ulteriore calcinazione successiva al processo di miscelazione. I risultati delle analisi sono stati confrontati con quelli del materiale di partenza non funzionalizzato (MSM).

Le isoterme ricavate dall'analisi di fisisorbimento dell'azoto sono mostrate in Figura 4.10. Esse risultano analoghe a quelle osservate per il campione MSM e rientrano nella tipologia IV(a), caratterizzata da un coppia d'isteresi di tipo H2(b) [19]. L'introduzione del nitrato di zinco tramite miscelazione allo stato solido non ha determinato variazioni significative nella forma delle isoterme.

L'analisi DFT per la determinazione della distribuzione della dimensione dei pori (Figura 4.11) mostra come l'introduzione di zinco causi una diminuzione della varianza nel caso del campione miscelato in presenza del templante (Zn@MSM-P123-S). Infatti, per tale campione, la maggior

parte dei pori ha una dimensione compresa tra i 20 e i 25 nm. Inoltre, il contributo quantitativo di pori caratterizzato da un diametro maggiore di 25 nm risulta più elevato per Zn@MSM-P123-S rispetto a Zn@MSM-S e MSM. Al contrario, la distribuzione di Zn@MSM-S appare molto simile a quella del campione non funzionalizzato (MSM). Come riportato in Tabella 4.5, sono stati determinati i valori di area superficiale, volume poroso e diametro modale dei pori per i campioni MSM, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S. Anche in questo caso, la funzionalizzazione con zinco in presenza di templatante ha determinato statisticamente una maggiore quantità di pori caratterizzati da un maggiore diametro (campione: Zn@MSM-P123-S) rispetto ai casi in cui si attua la funzionalizzazione in assenza di templatante e alla silice non funzionalizzata (rispettivamente i campioni: Zn@MSM-S e MSM).

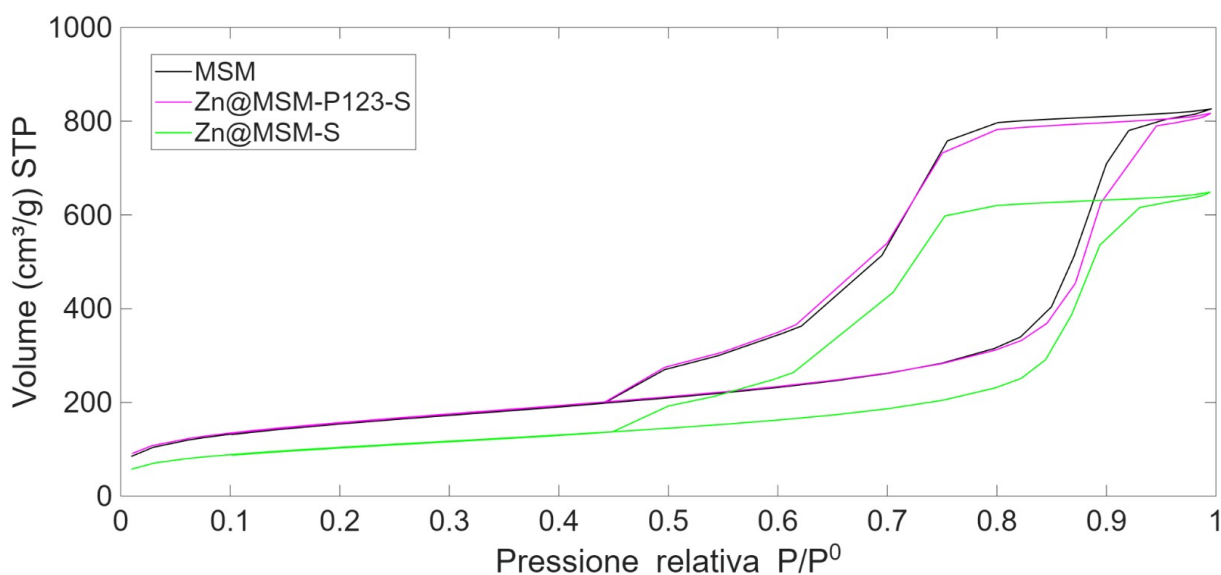


Figura 4.10: Isotherme di adsorbimento e desorbimento di azoto a 77 K per i campioni MSM, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S.

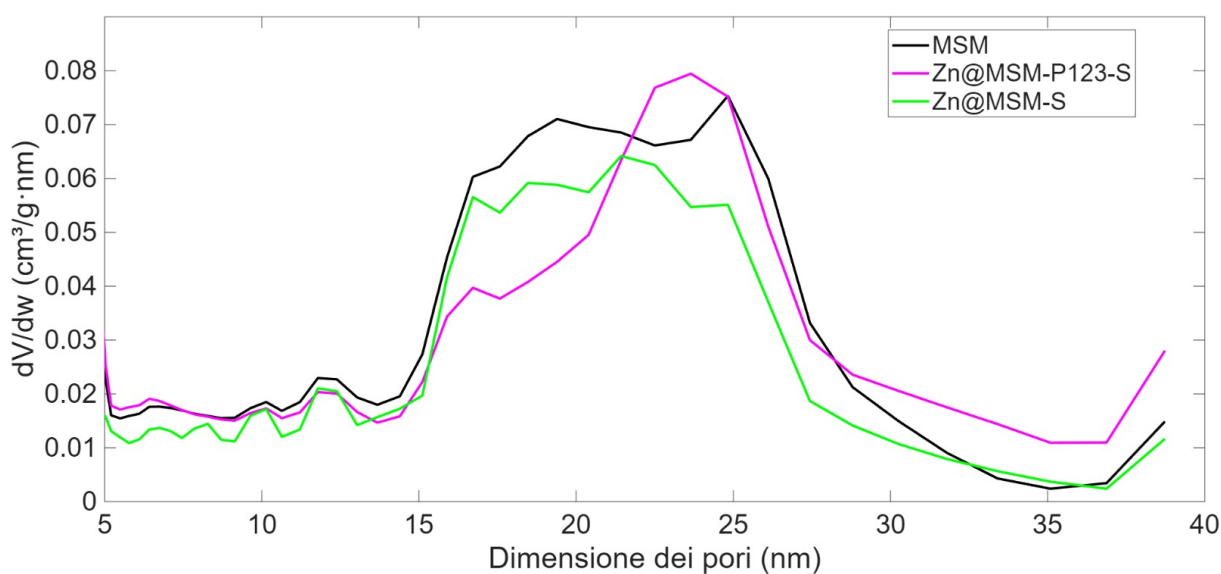


Figura 4.11: Distribuzione delle dimensioni dei pori ottenuta con il modello DFT per i campioni MSM, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S.

Tabella 4.5: Valori di area superficiale, volume poroso e diametro modale dei pori dei campioni MSM, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S.

Campione	Area superficiale (m ² /g)	Volume poroso (cm ³ /g)	Diametro pori modale (nm)
MSM	557	1.24	25
Zn@MSM-P123-S	560	1.22	24
Zn@MSM-S	375	0.972	21

I campioni sottoposti a funzionalizzazione allo stato solido sono stati analizzati mediante diffrattometria a raggi X e confrontati con il campione non funzionalizzato (MSM). Tale analisi è stata svolta al fine di verificare l'eventuale formazione di fasi cristalline. Gli spettri XRD dei tre campioni sono riportati in Figura 4.12. Lo spettro XRD di Zn@MSM-P123-S non mostra la presenza di ossido di zinco (ZnO) poichè non si osservano picchi nella regione di 2θ compresa tra 30° e 40°. Invece, Zn@MSM-S presenta un piccolo picco a circa 35° e ciò potrebbe evidenziare la possibile presenza di ossido di zinco. Nonostante quest'ultima osservazione, le curve presentano un alone allargato centrato a circa 22° e ciò è un'ulteriore conferma della natura amorfa del materiale sintetizzato.

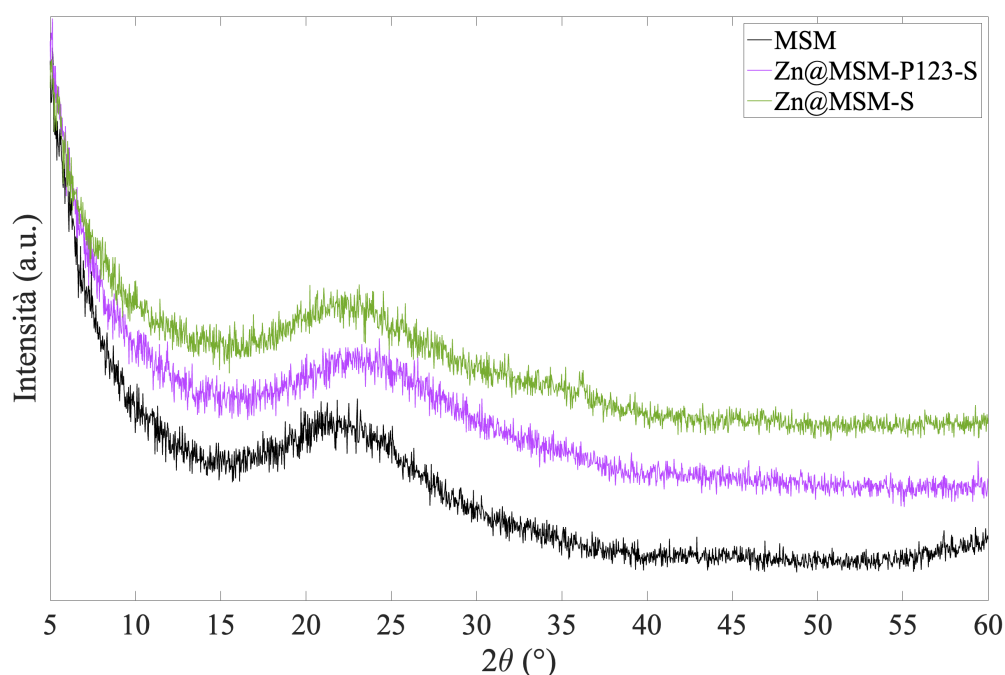


Figura 4.12: Spettri XRD di MSM, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S.

Le micrografie, riportate in Figura 4.13 e in Figura 4.14, evidenziano che la funzionalizzazione allo stato solido non altera significativamente la morfologia delle particelle, che conservano forme analoghe a quelle del campione MSM di partenza. Le analisi EDX (Tabella 4.6) confermano la presenza di zinco in entrambi i campioni funzionalizzati.

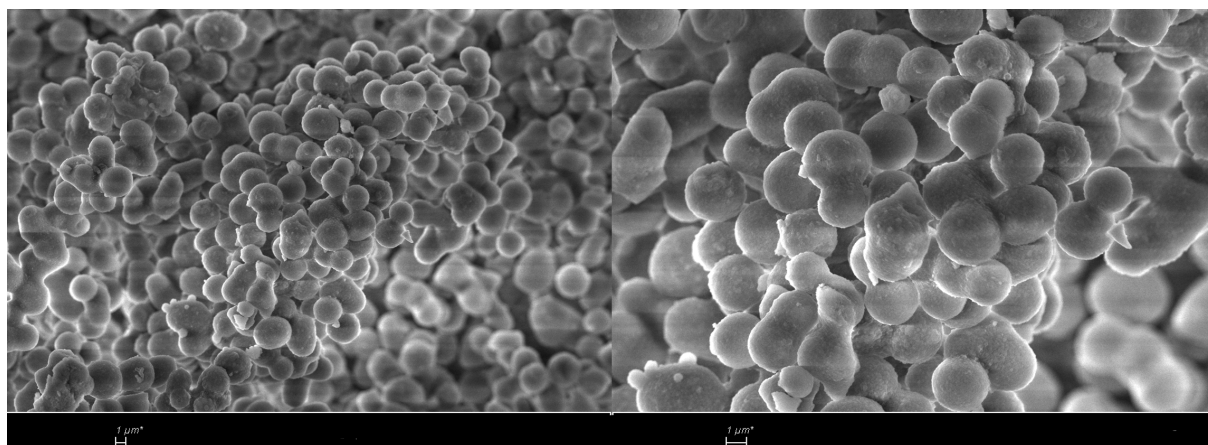


Figura 4.13: Immagine FESEM del campione Zn@MSM-P123-S acquisita a ingrandimento 5 000× sulla sinistra e 10 000× sulla destra. In basso a sinistra di entrambe le immagini è riportata la barra di scala di 1 μm .

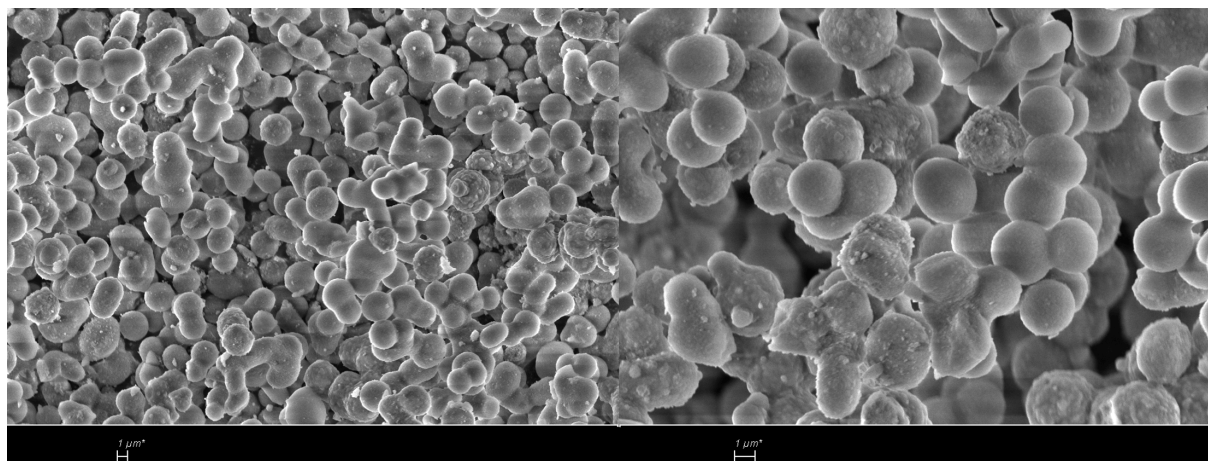


Figura 4.14: Immagine FESEM del campione Zn@MSM-S acquisita a ingrandimento 5 000× sulla sinistra e 10 000× sulla destra. In basso a sinistra di entrambe le immagini è riportata la barra di scala di 1 μm .

Tabella 4.6: Composizioni elementari (percentuali massiche) dei campioni Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S ottenute tramite analisi EDX.

Campione	C (% _{wt})	O (% _{wt})	Si (% _{wt})	Zn (% _{wt})
Zn@MSM-P123-S	3.04	53.27	36.26	8.0
Zn@MSM-S	4.41	48.17	38.66	8.76

L'analisi FT-IR dei campioni MSM, Zn@MSM-S e Zn@MSM-P123-S è riportata in Figura 4.15. Tutti gli spettri mostrano un picco stretto a circa 3750 cm^{-1} , attribuibile alle vibrazioni di stretching dei gruppi silanologici isolati presenti sulla superficie della silice [22, 23]. È inoltre evidente una banda larga intorno a 3500 cm^{-1} , caratteristica dello stretching dei gruppi silanologici interagenti tramite legami a idrogeno. L'intensità complessiva della regione $3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ risulta più marcata nel campione funzionalizzato in presenza di templante (Zn@MSM-P123-S). Questa variazione indica una maggiore concentrazione relativa di gruppi --OH superficiali e/o una maggiore capacità di ritenzione di acqua adsorbita. Nella zona compresa tra 2000 e 2500 cm^{-1} si osservano deboli assorbimenti nel campione funzionalizzato in assenza di templante (Zn@MSM-S). La posizione e l'andamento di tali bande sono compatibili con le vibrazioni di stretching della CO_2 (asimmetrico intorno a 2350 cm^{-1} e simmetrico a circa 2090 cm^{-1}), nonché con la banda di combinazione più larga che compare tra 1980 e 1870 cm^{-1} [24]. Tali segnali possono derivare da CO_2 adsorbita nei pori o da contributi ambientali durante la misura. Nel range $1800\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$, in cui sarebbero attese le vibrazioni caratteristiche dei nitrati [24], non si evidenziano bande diagnostiche, suggerendo l'assenza di quantità rilevabili di specie nitrato residue dopo la fase di sintesi e trattamento.

A supporto dell'assegnazione, si ricorda che gli allungamenti O–H in legame a idrogeno ricadono tipicamente nell'intervallo $3550\text{--}3230\text{ cm}^{-1}$ con banda ampia nei solidi, mentre i gruppi O–H “liberi” compaiono come picchi più stretti a frequenze più alte (area $3670\text{--}3580\text{ cm}^{-1}$); l'acqua fisicamente adsorbita contribuisce nella stessa regione degli O–H e può accompagnarsi ad una debole deformazione H–O–H attesa a $1630\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ [24].

Infine, si nota che l'intensità dei picchi sopra discussi varia tra i campioni: lo spettro di Zn@MSM-P123-S mostra i segnali più marcati, seguito da Zn@MSM-S, mentre il campione MSM presenta le intensità più deboli. Questa differenza può costituire un'indicazione oggettiva della modifica introdotta dalla miscelazione allo stato solido con Zn.

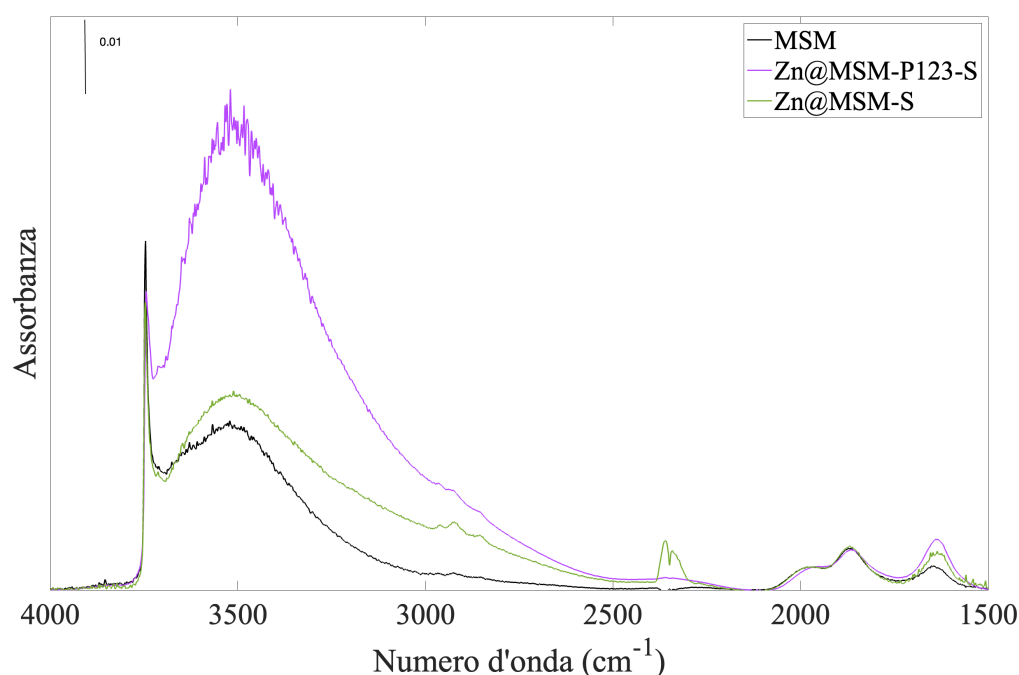


Figura 4.15: Spettri FT-IR dei campioni MSM, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-S.

4.4 Caratterizzazione della silice funzionalizzata in situ con ZnCl_2

Il campione Zn@MSM-insitu è stato sintetizzato introducendo il cloruro di zinco direttamente nella miscela di reazione durante la fase sol-gel, in sostituzione al cloruro di potassio. Tale approccio ha permesso l'incorporazione in situ dello ione Zn^{2+} già nelle prime fasi della formazione della matrice mesoporosa. I risultati delle analisi sperimentali sono riportati di seguito.

Le isoterme di adsorbimento e desorbimento di azoto a 77 K sono mostrate in Figura 4.16. Esse presentano l'andamento tipico dei solidi mesoporosi, classificabile come isoterma di tipo IV(a), caratterizzata da un iniziale incremento quasi lineare dell'adsorbimento, seguito da un rapido aumento e dalla presenza di un ciclo di isteresi, indice della mesoporosità del materiale [19].

Nel caso specifico del campione Zn@MSM-insitu, il ciclo di isteresi è riconducibile alla tipologia H1. Tale tipologia è generalmente associata a sistemi di pori cilindrici, uniformi e disposti in modo ordinato, in cui i processi di condensazione e evaporazione capillare avvengono in maniera netta e reversibile. L'ampiezza quasi parallela delle branche di adsorbimento e desorbimento suggerisce la presenza di pori aperti e ben definiti, con un ridotto grado di strozzature o colli di bottiglia. Questo comportamento contrasta con quanto osservato per i campioni funzionalizzati con altre strategie, nei quali si riscontrava un ciclo di isteresi di tipo H2, tipico di sistemi con geometrie di pori più complesse, cavità allargate con colli di bottiglia o distribuzioni di pori meno regolari [19].

La comparsa di un cappio d'isteresi H1 nel campione Zn@MSM-insitu rappresenta quindi un'indicazione oggettiva di una maggiore omogeneità porosa, coerente con la distribuzione di dimensioni dei pori relativamente stretta evidenziata dall'analisi DFT. Tale risultato suggerisce che l'approccio one-pot con ZnCl_2 abbia favorito la formazione di una rete di canali mesoporosi più regolare rispetto a quanto osservato nei materiali ottenuti tramite impregnazione o miscelazione allo stato solido.

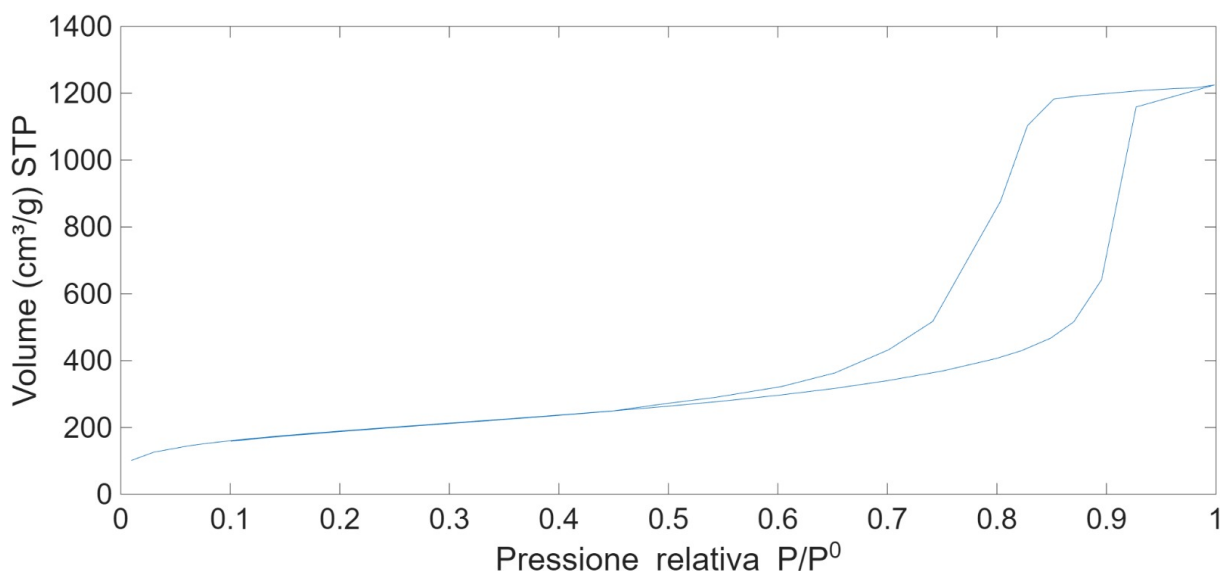


Figura 4.16: Isoterma di adsorbimento e desorbimento di azoto a 77 K del campione Zn@MSM-insitu.

La distribuzione delle dimensioni dei pori calcolata con il modello DFT è riportata in Figura 4.17. Il profilo evidenzia una popolazione principale di pori con diametro compreso tra 25 e 33 nm, con un massimo centrato intorno a 28 nm. La distribuzione ristretta suggerisce che la sintesi one-pot abbia consentito di ottenere una mesoporosità omogenea. I valori di area superficiale,

volume poroso e diametro modale dei pori determinati per il campione Zn@MSM-insitu sono riportati in Tabella 4.7 e confrontati con quelli del campione non funzionalizzato (MSM).

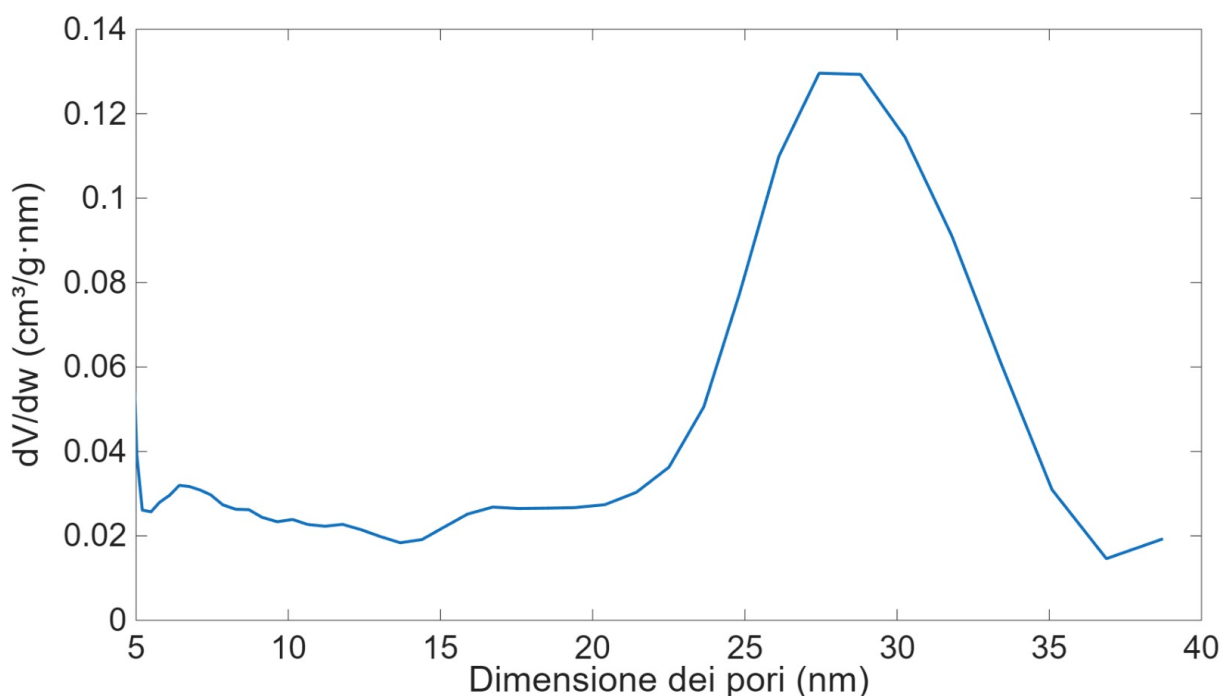


Figura 4.17: Distribuzione delle dimensioni dei pori ottenuta con il modello DFT per il campione Zn@MSM-insitu.

Tabella 4.7: Valori di area superficiale, volume poroso e diametro modale dei pori dei campioni MSM e Zn@MSM-insitu.

Campione	Area superficiale (m ² /g)	Volume poroso (cm ³ /g)	Diametro pori modale (nm)
MSM	557	1.24	25
Zn@MSM-insitu	684	1.79	28

I valori numerici di queste proprietà prese in considerazione sono maggiori rispetto alle stesse proprietà del campione non funzionalizzato (MSM) e di tutti gli altri campioni analizzati nelle sezioni precedenti. Tale osservazione può suggerire una buona efficacia di questa strategia sintetica, utile alla sintesi di silice mesoporosa funzionalizzata con ioni Zn²⁺.

Lo spettro XRD del campione Zn@MSM-insitu è riportato in Figura 4.18. Il diffrattogramma è caratterizzato dalla presenza di un ampio alone diffuso centrato a circa 22° (2θ), tipico dei materiali a base di silice amorfa. Questo risultato conferma che la struttura mesoporosa ottenuta attraverso la strategia in situ mantiene la natura amorfa della matrice di partenza, senza formazione di strutture cristalline. In particolare, non si osservano picchi ben definiti nella regione compresa tra 30° e 40° (2θ), che sono compatibili con la formazione di ZnO. Anche in questo caso la curva sottostante conferma la natura amorfa del materiale.

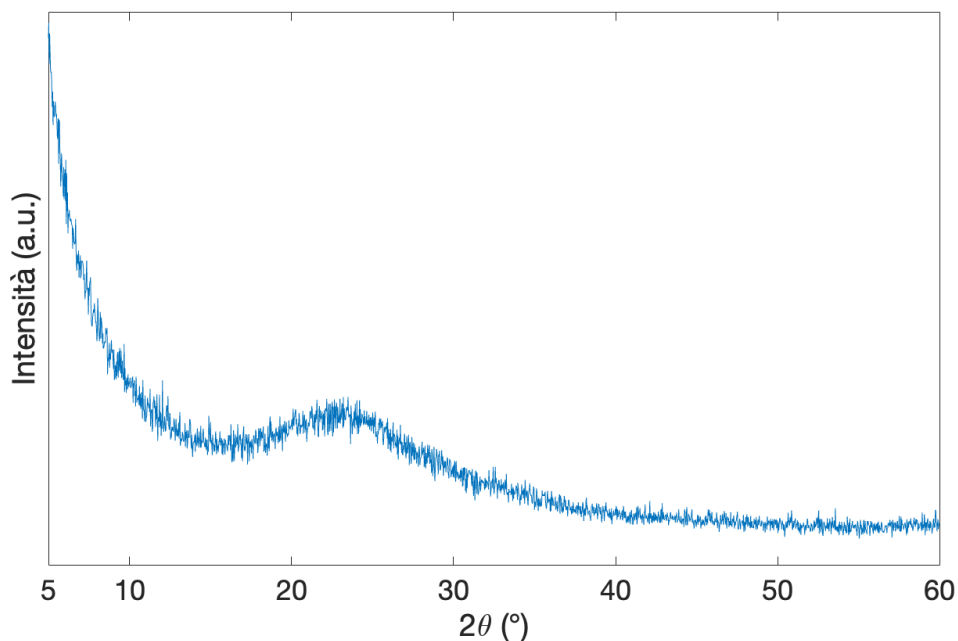


Figura 4.18: Spettro XRD del campione Zn@MSM-insitu.

Le micrografie del campione sono riportate in Figura 4.19. Le particelle presentano morfologia sferoidale con dimensioni micrometriche e una distribuzione uniforme. La superficie appare liscia e compatta. Da queste micrografie è possibile affermare che questa strategia di funzionalizzazione non ha cambiato la morfologia delle particelle rispetto al campione di silice non funzionalizzato (MSM) analizzato in precedenza.

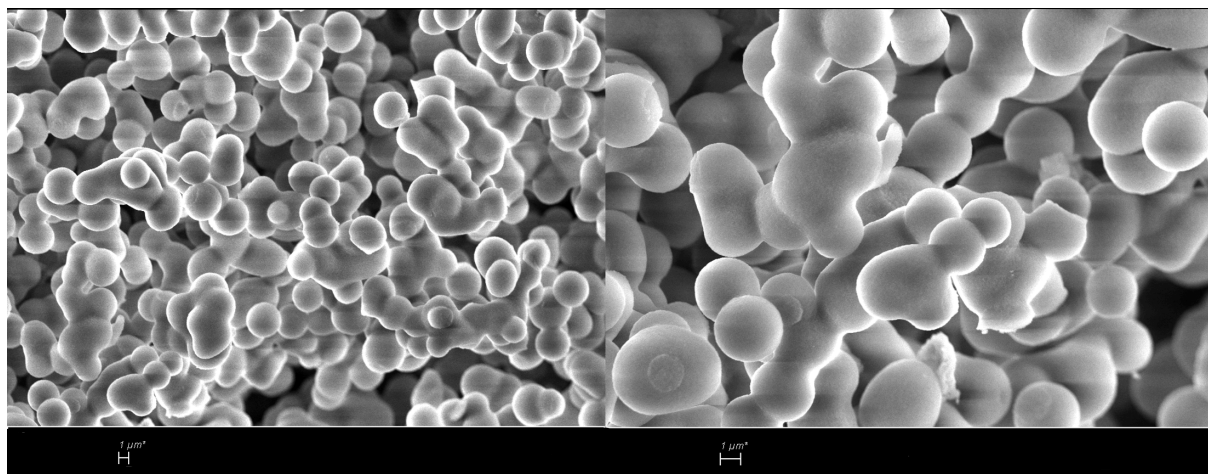


Figura 4.19: Immagine FESEM del campione Zn@MSM-insitu acquisita a ingrandimento 5 000× (sinistra) e 10 000× (destra). In basso è riportata la barra di scala di 1 μm.

La composizione elementare ottenuta tramite analisi EDX è riportata in Tabella 4.8, a conferma della presenza di zinco incorporato nella matrice silicea. Inoltre, sono state rilevate tracce di Cl, la cui presenza è verosimilmente dovuta alla mancata esecuzione delle operazioni di lavaggio e filtrazione.

Tabella 4.8: Composizione elementare (percentuali massiche) del campione Zn@MSM-insitu ottenuta tramite analisi EDX.

Elemento	O	Si	Zn	Cl
% _{wt}	54.2	37.5	8.03	0.260

L'analisi FT-IR del campione Zn@MSM-insitu è riportata in Figura 4.20. Lo spettro mostra un picco stretto a circa 3750 cm^{-1} , attribuibile alle vibrazioni di stretching dei gruppi silanologici isolati presenti sulla superficie della silice [22, 23]. È inoltre evidente una banda larga e intensa nella regione $3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$, riconducibile alla presenza di gruppi --OH coinvolti in legami a idrogeno. Tale segnale riflette la presenza di gruppi silanoli interagenti, coerentemente con la natura idrofila della matrice mesoporosa.

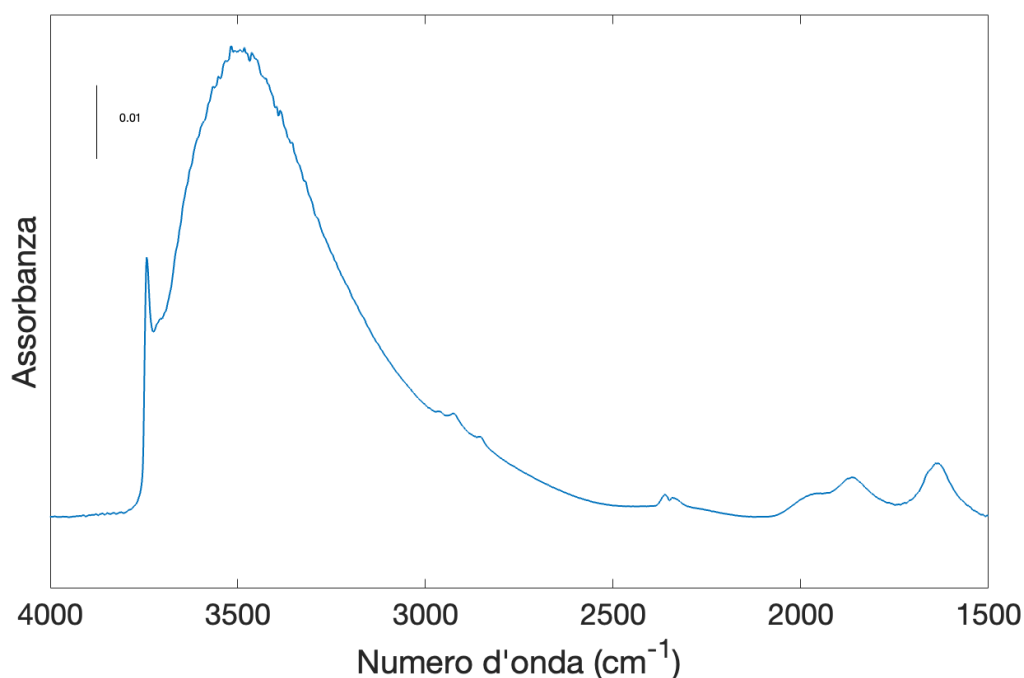


Figura 4.20: Spettro FT-IR del campione Zn@MSM-insitu.

4.5 Proprietà emostatiche

I test emostatici preliminari condotti in vitro su plasma bovino hanno permesso di confrontare i tempi di coagulazione dei diversi campioni di silice sintetizzati rispetto al controllo.

Come mostrato in Figura 4.21, il campione MSM presenta il tempo di coagulazione più basso, pari a circa 5 min, corrispondente a una riduzione dell'82 % rispetto al controllo. Tra i campioni funzionalizzati, i valori medi del tempo di coagulazione risultano compresi tra 14 e 20 min. In particolare, i campioni Zn@MSM-IMP e Zn@MSM-S mostrano i tempi di coagulazione più

bassi all'interno di questo gruppo, mentre i campioni Zn@MSM-P123-IMP, Zn@MSM-P123-S e Zn@MSM-insitu presentano i valori più elevati. Nel complesso, la riduzione media del tempo di coagulazione dei campioni funzionalizzati rispetto al controllo è pari al 34 %. Questi risultati indicano che tutti i materiali testati hanno mostrato una capacità di ridurre i tempi di coagulazione rispetto al controllo, con prestazioni variabili a seconda della tipologia di funzionalizzazione.

I risultati ottenuti nei test preliminari confermano che il campione MSM, costituito da pura silice mesoporosa, presenta le migliori prestazioni emostatiche. Tale comportamento è coerente con le note proprietà della silice, che, grazie alla sua elevata area superficiale e alla presenza di gruppi silanolici a carica negativa, favorisce l'attivazione del fattore XII e, di conseguenza, la cascata coagulativa dell'emostasi secondaria. Nei campioni funzionalizzati con ioni zinco, invece, si osserva un lieve incremento dei tempi di coagulazione. Questo effetto può essere attribuito alla presenza dello Zn^{2+} , che, introducendo cariche positive sulla superficie, riduce parzialmente la capacità del materiale di attivare il fattore XII, interferendo quindi con l'emostasi secondaria. È tuttavia importante considerare che lo zinco svolge un ruolo favorevole nell'emostasi primaria, promuovendo l'attivazione e l'aggregazione piastrinica e contribuendo alla formazione del tappo piastrinico [71, 72, 73]. Poiché i test preliminari condotti in questo lavoro sono stati eseguiti su plasma bovino, essi valutano esclusivamente la fase secondaria della coagulazione, senza tener conto della componente piastrinica. In questa prospettiva, i risultati ottenuti non devono essere interpretati come un peggioramento intrinseco delle proprietà emostatiche, bensì come un primo indicatore della necessità di bilanciare l'effetto strutturale e superficiale introdotto dalla funzionalizzazione con ioni metallici. La capacità del materiale funzionalizzato di mantenere, almeno in parte, le proprietà emostatiche della silice rappresenta un punto di partenza promettente per lo sviluppo futuro di un composto in grado di coniugare l'attività emostatica della matrice silicea con il potenziale antibatterico conferito dallo zinco, che dovrà essere oggetto di ulteriori verifiche sperimentali.

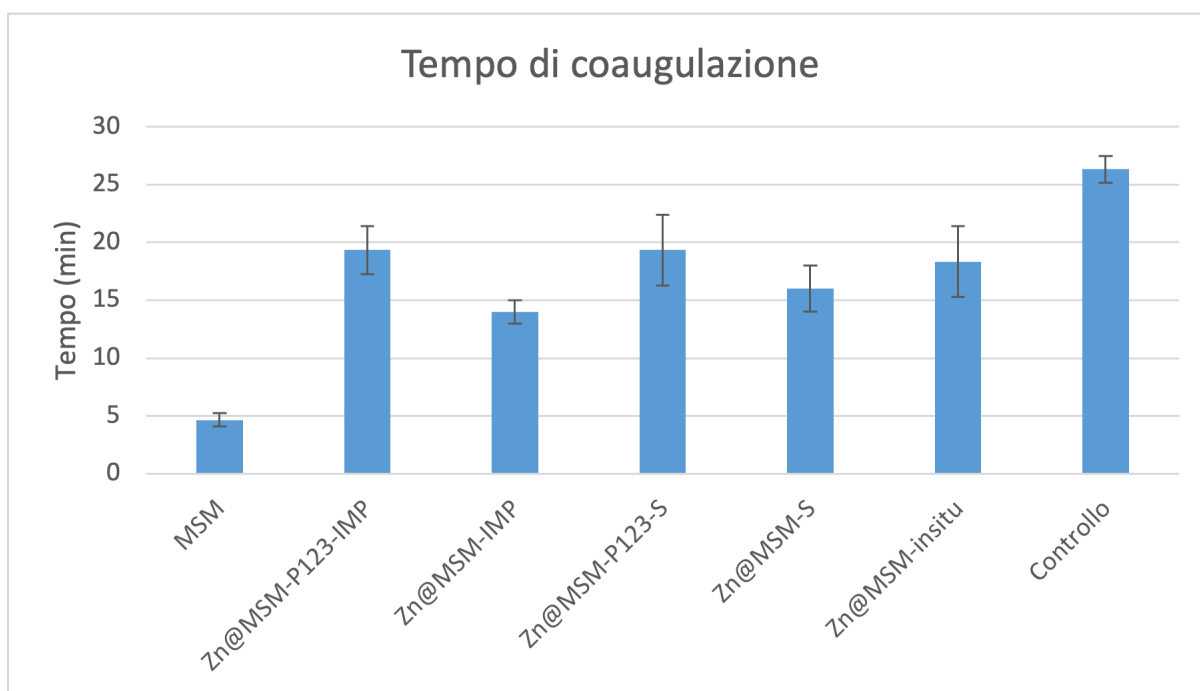


Figura 4.21: Risultati dei test emostatici preliminari: tempo di coagulazione medio (min) per ciascun campione. Le barre rappresentano la media aritmetica di tre repliche; le barre d'errore indicano la deviazione standard.

5. Conclusioni

La silice mesoporosa rappresenta uno dei materiali più promettenti per applicazioni emostatiche, grazie alla sua capacità di adsorbire rapidamente l'acqua dal sangue, incrementando la concentrazione locale di piastrine e fattori della coagulazione e favorendo così la formazione del coagulo. La sua elevata biocompatibilità, la bassa citotossicità e la possibilità di essere facilmente funzionalizzata la rendono un materiale estremamente versatile in campo biomedicale. L'introduzione di ioni metallici, come lo Zn^{2+} , consente inoltre di ampliare le potenzialità del materiale, conferendo proprietà antibatteriche di interesse per medicazioni e dispositivi emostatici avanzati.

Nel presente lavoro sono state sintetizzate e caratterizzate diverse silici mesoporose funzionalizzate con ioni Zn^{2+} , confrontando tre differenti strategie di incorporazione del metallo: impregnazione, miscelazione allo stato solido e funzionalizzazione in situ. Tutti i materiali sono stati confrontati con un campione di riferimento di silice mesoporosa non funzionalizzata (MSM), sintetizzato secondo il metodo di Mohamed et al. [17].

L'analisi complessiva dei risultati evidenzia che tutte le strategie di funzionalizzazione hanno permesso di mantenere la morfologia sferoidale e la natura amorfa tipiche della silice, preservandone le principali caratteristiche strutturali. Le isoterme di fisisorbimento risultano di tipo IV(a), confermando la natura mesoporosa dei materiali, mentre i dati XRD mostrano l'assenza di fasi cristalline riconducibili a ZnO, la cui presenza è indesiderata poiché può esercitare un effetto anticoagulante [21]. Gli spettri XRD mostrano, solo per Zn@MSM-S, un debole picco a circa 35° , riconducibile alla presenza di ZnO cristallino, ma è comunque possibile confermare la natura amorfa di tutti i campioni sintetizzati. L'analisi FESEM-EDX ha confermato le desiderate incorporazioni dello zinco e morfologie comparabili al campione MSM, mentre gli spettri FT-IR hanno mostrato l'aumento della banda $3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$, indicativo di una maggiore interazione tra gruppi silanolici e quindi di un incremento dell'idrofilia. La presenza del templante durante la funzionalizzazione si è rivelata utile nel preservare le principali proprietà fisiche del materiale. Tra le diverse metodologie, la funzionalizzazione in situ con ZnCl_2 ha fornito i migliori risultati in termini di area superficiale, volume poroso e regolarità della rete di pori (cappio d'isteresi di tipo H1).

I test emostatici preliminari condotti su plasma bovino hanno evidenziato che tutti i campioni riducono i tempi di coagulazione rispetto al controllo, con le migliori prestazioni osservate per la silice non funzionalizzata (MSM). I campioni contenenti Zn^{2+} mostrano tempi leggermente superiori, effetto attribuibile alla riduzione delle cariche negative superficiali, che limita l'attivazione del fattore XII e quindi dell'emostasi secondaria. Tuttavia, lo zinco è noto per favorire l'attivazione e l'aggregazione piastrinica nella fase primaria dell'emostasi, che non è stata esplorata in questi test. Pertanto, ulteriori indagini, condotte su sangue umano, saranno necessarie per valutare pienamente il potenziale emostatico complessivo dei materiali funzionalizzati.

Nel complesso, i risultati ottenuti dimostrano la possibilità di ottenere materiali di silice mesoporosa funzionalizzati con zinco in grado di mantenere le proprietà strutturali della matrice silicea. Ciò rappresenta un punto di partenza promettente per lo sviluppo di materiali multifunzionali capaci di coniugare l'efficacia emostatica della silice con le proprietà antibatteriche conferite dallo zinco.

6. Prospettive future

I risultati di questo lavoro costituiscono una base significativa per approfondire lo studio dei materiali a base di silice mesoporosa funzionalizzati con ioni Zn^{2+} , in particolare per quanto riguarda l'influenza delle diverse strategie sintetiche sulle proprietà chimico-fisiche del materiale finale. Le prospettive future si inseriscono quindi nel solco tracciato da questo confronto, con l'obiettivo di chiarire ulteriormente i meccanismi che regolano l'incorporazione e la distribuzione dello zinco nella matrice mesoporosa.

Un primo sviluppo naturale riguarda l'ampliamento della campagna sperimentale, includendo ulteriori varianti dei protocolli di funzionalizzazione già studiati. L'utilizzo combinato di differenti agenti templanti, precursori metallici o metodi di introduzione dello zinco (ad esempio in situ, per impregnazione o per miscelazione allo stato solido) potrebbe permettere di comprendere meglio come ciascuna strategia influenzi la dispersione dello ione all'interno dei canali mesoporosi e la conservazione dell'ordine strutturale dopo la rimozione del templante. Sarà inoltre utile verificare la riproducibilità dei risultati ottenuti e valutare la possibilità di scalare i protocolli a quantità maggiori di materiale, mantenendo inalterate le proprietà morfologiche e strutturali.

Dal punto di vista funzionale, un aspetto cruciale per le indagini future riguarda il comportamento del rilascio ionico. Prima di valutare l'efficacia antimicrobica dello zinco, sarà infatti necessario comprendere la dinamica di diffusione dello ione Zn^{2+} dal materiale verso l'ambiente esterno, in funzione della tipologia di funzionalizzazione e della struttura porosa. Lo studio del rilascio potrà essere condotto mediante prove in ambiente fisiologico simulato e analisi di spettrometria atomica o Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES), consentendo di correlare i profili di rilascio con le caratteristiche superficiali e con la stabilità chimica dei campioni.

Solo dopo aver compreso il comportamento di diffusione potrà essere affrontata la valutazione dell'attività antimicrobica, con test mirati su ceppi batterici di interesse clinico. Questi studi permetteranno di definire l'intervallo di concentrazioni ioniche efficace per ottenere un effetto antibatterico senza compromettere la biocompatibilità del materiale. Parallelamente, sarà necessario approfondire anche l'attività emostatica del materiale attraverso test condotti su sangue umano intero, al fine di verificare la reale capacità del materiale di accelerare la coagulazione in condizioni fisiologiche più rappresentative rispetto a quelle dei test preliminari eseguiti su plasma bovino.

Nel complesso, i risultati ottenuti aprono prospettive molto promettenti per lo sviluppo di materiali bioattivi a base di silice mesoporosa funzionalizzata con zinco. La versatilità dello ione Zn^{2+} , la sua comprovata compatibilità biologica e la possibilità di modulare il suo rilascio rendono questa linea di ricerca particolarmente stimolante. L'integrazione tra approcci di sintesi razionale, caratterizzazione avanzata e test biologici rappresenta un percorso concreto verso la realizzazione di materiali capaci di favorire la coagulazione e prevenire le infezioni, contribuendo allo sviluppo di nuove soluzioni per la gestione rapida ed efficace delle emorragie.

Bibliografia

- [1] Sanjeev Palta, Richa Saroa e Anshu Palta. “Overview of the coagulation system”. In: *Indian Journal of Anaesthesia* 58.5 (2014), pp. 515–523.
- [2] David Green. “Coagulation cascade”. In: *Hemodialysis International* 10.S2 (2006), S2–S4.
- [3] Maureen McMichael. “Primary hemostasis”. In: *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 15.1 (2005), pp. 1–8.
- [4] Y. Zhang et al. “Mesoporous silica nanoparticles as hemostatic agents: mechanisms and biomedical applications”. In: *Advanced Healthcare Materials* 11.15 (2022), p. 2200450.
- [5] Xiaohong Wu et al. “Mesoporous silica-based nanomaterials: Advances in biomedicine”. In: *Chemical Engineering Journal* 433 (2022), p. 134418.
- [6] María Vallet-Regí et al. “Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery: Current Insights”. In: *Pharmaceutics* 13.2 (2021), p. 152.
- [7] S.P. Hudson et al. “The biocompatibility of mesoporous silicates”. In: *Biomaterials* 29.30 (2008), pp. 4045–4055.
- [8] D. Zhao et al. “Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores”. In: *Science* 279.5350 (1998), pp. 548–552.
- [9] S.-H. Wu, C.-Y. Mou e H.-P. Lin. “Synthesis of mesoporous silica nanoparticles”. In: *Chemical Society Reviews* 42.9 (2013), pp. 3862–3875.
- [10] Oliver Plohl et al. “Surface functionalization of mesoporous silica nanoparticles with polymers for biomedical applications”. In: *International Journal of Pharmaceutics* 528 (2017), pp. 170–183.
- [11] S. Majidi et al. “Zinc-doped mesoporous silica functionalized with carboxyl groups for antibacterial and hemostatic applications”. In: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 234 (2024), p. 113687.
- [12] X. Su, X. Zhang et al. “Embedding zinc oxide nanoparticles in mesoporous silica with hydrophilic ligands for antibacterial applications”. In: *Colloids and Surfaces A: Physico-chem. Eng. Aspects* 648 (2022), p. 129134.
- [13] K. R. Raghupathi, R. T. Koodali e A. C. Manna. “Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles”. In: *Langmuir* 27.7 (2011), pp. 4020–4028.
- [14] B. L. Vallee e D. S. Auld. “Zinc: biological functions and coordination motifs”. In: *Acc. Chem. Res.* 26 (1993), pp. 543–551.
- [15] W. Maret. “Zinc biochemistry: From a single zinc enzyme to a key element of life”. In: *Adv. Nutr.* 4.1 (2013), pp. 82–91.
- [16] Daniel A. Capdevila, James Wang e David P. Giedroc. “Zinc and host-pathogen interactions: beyond nutritional immunity”. In: *Nature Reviews Microbiology* 15.8 (2017), pp. 483–496.
- [17] Sara Saber Younes Mohamed et al. “New insights in large-pores mesoporous silica microspheres for hemostatic application”. In: *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 36.1 (2025), p. 18.

- [18] Stephen Brunauer, Paul H. Emmett e Edward Teller. “Adsorption of gases in multimolecular layers”. In: *Journal of the American Chemical Society* 60.2 (1938), pp. 309–319.
- [19] Matthias Thommes et al. “Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report)”. In: *Pure and Applied Chemistry* 87.9-10 (2015), pp. 1051–1069.
- [20] J. Landers, G. Y. Gor e A. V. Neimark. “Density functional theory methods for characterization of porous materials”. In: *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 437 (2013), pp. 3–32.
- [21] Harold P. Klug e Leroy E. Alexander. *X-ray Diffraction Procedures: For Polycrystalline and Amorphous Materials*. 2nd. New York: Wiley, 1974.
- [22] Adriano Zecchina et al. “Surface silanol groups in silica: a spectroscopic study”. In: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9 (2007), pp. 3483–3499.
- [23] Monica Farina, Federico Cesano e Silvia Bordiga. “Hydroxyl groups on silica surfaces: reactivity investigated by IR spectroscopy”. In: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 19 (2017), pp. 11043–11053.
- [24] George Socrates. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts*. 3rd. John Wiley & Sons, 2001.
- [25] Joseph Goldstein et al. *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis*. 3rd. New York: Springer, 2003.
- [26] D. Green e M.-Y. Lee. “Hemodialysis International Symposium: The coagulation cascade”. In: *Hemodialysis International* 10.S2 (2006), S2–S4.
- [27] L. Masotti. “Dispense di Fisiologia Umana: Emostasi e Coagulazione”. Materiale didattico interno. Tesi di dott. Università degli Studi di Firenze, 2005.
- [28] Shun Wu e Xueyan Zhao. “A comprehensive review on mesoporous silica nanoparticles: synthesis and biomedical applications”. In: *Pharmaceutics* 10.3 (2018), p. 118.
- [29] Kerstin Jurk e Beate E. Kehrel. “Platelets: physiology and biochemistry”. In: *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 31.4 (2005), pp. 381–392.
- [30] Luca Masotti. “Sulodexide. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and mechanism of action”. In: *Clinical Management Issues* 4.4S (2015), pp. 17–21.
- [31] Grzegorz Wilhelm et al. “The Crossroads of the Coagulation System and the Immune System: Interactions and Connections”. In: *International Journal of Molecular Sciences* 24.16 (2023), p. 12563.
- [32] Federico Grillo et al. “The Coagulation Cascade: Updated Molecular Models and Implications for Clinical Practice”. In: *International Journal of Molecular Sciences* 22.21 (2021), p. 11988.
- [33] A. Masotti e al. “Hemostasis and Coagulation: From Basic Concepts to Clinical Practice”. In: *Hemodialysis International* 10.2 (2006), pp. 168–176. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1542-4758.2006.00128.x>.
- [34] María Vallet-Regí et al. “Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery: Current insights”. In: *Pharmaceutics* 10.3 (2018), p. 118.

- [35] J. S. Beck et al. "A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates". In: *Journal of the American Chemical Society* 114.27 (1992), pp. 10834–10843.
- [36] C. T. Kresge et al. "Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism". In: *Nature* 359 (1992), pp. 710–712.
- [37] María Vallet-Regí et al. "Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery: Current Insights". In: *Pharmaceutics* 13.2 (2021), p. 152.
- [38] D. Zhao et al. "Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores". In: *Science* 279.5350 (1998), pp. 548–552.
- [39] Xiaohong Wu et al. "Mesoporous silica-based nanomaterials: Advances in biomedicine". In: *Coordination Chemistry Reviews* 469 (2022), p. 214632.
- [40] A. Corma. "From microporous to mesoporous molecular sieve materials and their use in catalysis". In: *Chemical Reviews* 97.6 (1997), pp. 2373–2420.
- [41] M. Vallet-Regí, F. Balas e D. Arcos. "Mesoporous materials for drug delivery". In: *Angewandte Chemie International Edition* 46.40 (2007), pp. 7548–7558.
- [42] María Vallet-Regí. "Ordered Mesoporous Materials in the Context of Drug Delivery Systems and Bone Tissue Engineering". In: *Chemistry – A European Journal* 13.20 (2007), pp. 4200–4206.
- [43] S.-H. Wu, C.-Y. Mou e H.-P. Lin. "Synthesis of mesoporous silica nanoparticles". In: *Pharmaceutics* 10.3 (2018), p. 118.
- [44] J. Liu et al. "Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications". In: *Drug Delivery* 27.1 (2020), pp. 1–15.
- [45] C. T. Kresge et al. "Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism". In: *Nature* 359.6397 (1992), pp. 710–712.
- [46] J. S. Beck et al. "A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates". In: *Journal of the American Chemical Society* 114.27 (1992), pp. 10834–10843.
- [47] S. Inagaki, Y. Fukushima e K. Kuroda. "Synthesis of highly ordered mesoporous materials from a layered silicate". In: *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* (1993), pp. 680–682.
- [48] A. Ramila et al. "Mesoporous MCM-41 as drug host system". In: *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 21 (2001), pp. 123–128.
- [49] María Vallet-Regí et al. "Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery: Current insights". In: *Molecules* 27.6 (2022), p. 1816.
- [50] C. Fu et al. "The absorption, distribution, excretion and toxicity of mesoporous silica nanoparticles in mice following different exposure routes". In: *Biomaterials* 34.10 (2013), pp. 2565–2575.
- [51] M. Benezra, O. Penate-Medina e P.B. et al. Zanzonico. "Multimodal silica nanoparticles are effective cancer-targeted probes in a model of human melanoma". In: *Journal of Clinical Investigation* 121.7 (2011), pp. 2768–2780.
- [52] A.A. Burns, J. Vider e H. et al. Ow. "Fluorescent silica nanoparticles for cancer imaging and therapy". In: *Cancer Research* 75.15 (2015), pp. 3303–3312.

- [53] K. Bukara et al. "Evaluation of ordered mesoporous silica as carrier material for fenofibrate". In: *International Journal of Pharmaceutics* 478.2 (2015), pp. 588–596.
- [54] M. Benezra et al. "Multimodal silica nanoparticles are effective cancer-targeted probes in a model of human melanoma". In: *Journal of Clinical Investigation* 121.7 (2011), pp. 2768–2780.
- [55] E. Phillips et al. "Clinical translation of an ultrasmall inorganic optical-PET imaging nanoparticle probe". In: *Science Translational Medicine* 6.260 (2014), 260ra149.
- [56] Sara Pourshahrestani et al. "Well-ordered mesoporous silica and bioactive glasses: promise for improved hemostasis". In: *Biomaterials Science* 7.1 (2019), pp. 31–50.
- [57] Cuiyun Yin et al. "Dragon's Blood-Loaded Mesoporous Silica Nanoparticles for Rapid Hemostasis and Antibacterial Activity". In: *Molecules* 29.8 (2024), p. 1888.
- [58] Françoise Arnaud et al. "Exothermic reaction in zeolite hemostatic dressings: QuikClot ACS and ACS+". In: *Annals of Biomedical Engineering* 36.10 (2008), pp. 1708–1713.
- [59] Zihao Chen et al. "Blood clot initiation by mesoporous silica nanoparticles: dependence on pore size or particle size?" In: *Journal of Materials Chemistry B* 4.44 (2016), pp. 7146–7154.
- [60] Hua Hong et al. "Novel porous silica granules for instant hemostasis". In: *RSC Advances* 6 (2016), pp. 78930–78935.
- [61] Zhuoran Zhang et al. "Microwave assisted preparation of a hemostatic gauze with mesoporous silica through in-situ synthesis". In: *Journal of Biomaterials Applications* 37.6 (2023), pp. 1102–1111.
- [62] Todd A. Ostomel et al. "Metal Oxide Surface Charge Mediated Hemostasis". In: *Langmuir* 23.22 (2007), pp. 11233–11238.
- [63] R. F. Majidi, A. S. Mesgar e P. B. Milan. "Surface-modified, zinc-incorporated mesoporous silica nanoparticles with improved antibacterial and rapid hemostatic properties". In: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 243 (2024), p. 114132.
- [64] J. Liu et al. "Porous nanoparticle-supported lipid bilayers (protocells) as delivery vehicles". In: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 111 (2013), pp. 197–204.
- [65] Zhiping Luo et al. "Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery and biomedical applications". In: *Current Medicinal Chemistry* 18.14 (2011), pp. 2073–2085.
- [66] Maria Vallet-Regí et al. "Mesoporous silica nanoparticles in nanomedicine applications". In: *Chemical Society Reviews* 48.1 (2019), pp. 302–322.
- [67] Z. Li et al. "Mesoporous silica nanoparticles in biomedical applications". In: *Chem. Soc. Rev.* 41 (2012), pp. 2590–2605.
- [68] F. Tang, L. Li e D. Chen. "Mesoporous silica nanoparticles: synthesis, biocompatibility and drug delivery". In: *Adv. Mater.* 24.12 (2012), pp. 1504–1534.
- [69] Bert L. Vallee e D. S. Auld. "Zinc: Biological Functions and Coordination Motifs". In: *Accounts of Chemical Research* 26.10 (1993), pp. 543–551.
- [70] L. M. Plum, L. Rink e H. Haase. "The essential toxin: impact of zinc on human health". In: *Int. J. Environ. Res. Public Health* 7 (2010), pp. 1342–1365.
- [71] Thien M. Vu, Matthew F. Whelihan e Shaun R. Coughlin. "Zinc: an important cofactor in haemostasis and thrombosis". In: *Blood* 88.2 (1996), pp. 444–456.

- [72] R. F. Majidi, A. S. Mesgar e P. B. Milan. “Surface-modified, zinc-incorporated mesoporous silica nanoparticles with improved antibacterial and rapid hemostatic properties”. In: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 243 (2024), p. 114132.
- [73] Todd A. Ostomel, Christopher S. Kube e Galen D. Stucky. “Metal Oxide Surface Charge Mediated Hemostasis”. In: *Langmuir* 23.22 (2007), pp. 11233–11238.
- [74] A. Janotti e C. G. Van de Walle. “Fundamentals of zinc oxide as a semiconductor”. In: *Rep. Prog. Phys.* 72.12 (2009), p. 126501.
- [75] Fang Na Gu et al. “Enhanced blue emission from ZnS–ZnO composites confined in SBA-15”. In: *Journal of Luminescence* 128.7 (2008), pp. 1148–1154.
- [76] P H K Charan e G Ranga Rao. “Textural and morphological studies of transition metal doped SBA-15 by co-condensation method”. In: *Journal of Chemical Sciences* 127.5 (2015), pp. 909–919.
- [77] R. D. Shannon. “Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides”. In: *Acta Crystallographica Section A* 32.5 (1976), pp. 751–767.
- [78] R. Durand, A. Boudier e J. Pourchez. “Silver nanoparticles: Antibacterial and toxicological properties in the context of clinical applications”. In: *Acta Biomaterialia* 138 (2022), pp. 1–14.
- [79] Gregor Grass, Christoph Rensing e Marc Solioz. “Metallic copper as an antimicrobial surface”. In: *Applied and Environmental Microbiology* 77.5 (2011), pp. 1541–1547.
- [80] Mick I. Hood e Eric P. Skaar. “Zinc poisoning of pathogenic bacteria by metal ion sequestration”. In: *Metallomics* 4.6 (2012), pp. 548–555.
- [81] Marta Cerasi, Silvana Ammendola e Andrea Battistoni. “Zinc: cellular effects and molecular mechanisms of homeostasis in bacteria”. In: *FEMS Microbiology Reviews* 37.4 (2013), pp. 574–589.
- [82] A. Sirelkhatim et al. “Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism”. In: *Nano-Micro Letters* 7.3 (2015), pp. 219–242.
- [83] Jia Hou et al. “Mesoporous zinc–calcium silicate for hemorrhage control and antibacterial activity”. In: *Materials Science and Engineering: C* 105 (2019), p. 110085.
- [84] Giorgio Caramella. “Synthesis and characterization of mesoporous silica nanoparticles loaded with zinc ions for biomedical applications”. Master’s Thesis. Politecnico di Torino, 2020.
- [85] Thien M. Vu, Matthew F. Whelihan e Shaun R. Coughlin. “Zinc: an important cofactor in haemostasis and thrombosis”. In: *Blood* 88.2 (1996), pp. 444–456.
- [86] R. F. Majidi, A. S.-M. Mesgar e P. B. Milan. “Surface-modified, zinc-incorporated mesoporous silica nanoparticles with improved antibacterial and rapid hemostatic properties”. In: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 243 (2024), p. 114132.
- [87] Christian Lastoskie, Keith E. Gubbins e Nicholas Quirke. “Pore size distribution analysis of microporous carbons: a density functional theory approach”. In: *Journal of Physical Chemistry* 97.18 (1993), pp. 4786–4796.
- [88] Matthias Thommes et al. “Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report)”. In: *Pure and Applied Chemistry* 87.9-10 (2015), pp. 1051–1069.

- [89] Barbara H. Stuart. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. Analytical Techniques in the Sciences. John Wiley & Sons, 2004.
- [90] MM Mohamed, TM Salama e SA Hanafi. “Synthesis and characterization of SBA-15 mesoporous silica using different templates”. In: *Microporous and Mesoporous Materials* 217 (2015), pp. 141–150.
- [91] S. Lowell et al. *Characterization of Porous Solids and Powders: Surface Area, Porosity and Density*. Springer, 2004.