

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Fisica e Astronomia “Galileo Galilei”

Corso di Laurea in Fisica

Tesi di Laurea

Limiti di rilevabilità e prospettive per l’optofluidica in

LiNbO₃ applicata all’environmental sensing

Relatore

Prof. Cinzia Sada

Correlatore

Dr. Giovanni Bragato

Laureando

Daniele Perin

Anno Accademico 2023/2024

Indice

Introduzione	1
1 Setup sperimentale	5
1.1 Piattaforma opto-fluidica	5
1.1.1 Stadio microfluidico	5
1.1.2 Stadio ottico	6
1.1.3 Ulteriori componenti dell'apparato sperimentale	6
1.1.4 Soluzioni di microplastiche	7
1.1.5 Experimental setup	7
2 Risultati e prospettive	9
2.1 Studio dell'acqua pura e confronto tra PS-153 e PS-6	9
2.1.1 Analisi quantitativa: impatto della taglia e della concentrazione	11
2.1.2 Basse concentrazioni e confronto con acqua pura	13
2.2 Indicatori di taglia	13
2.2.1 Visibilità	14
2.2.2 Autocorrelazione	16
2.3 Limiti di rilevabilità - Potere risolvete di materiali diversi	19
Conclusioni	27
Bibliografia	29

Introduzione

Le materie plastiche sono costituite da unità molecolari più piccole, chiamate monomeri, e i diversi materiali polimerici sono classificati in base alle specie polimeriche, come polietilene (PE), polistirene (PS), polietilene a bassa densità (LDPE), polipropilene (PP), polivinilcloruro (PVC), nylon, polietilene tereftalato (PET), poliammide (PA) e polietilene ad alta densità (HDPE). Le materie plastiche sono ampiamente utilizzate nella nostra vita quotidiana grazie alla loro leggerezza, flessibilità, durata, adattabilità e costi contenuti. Questi vantaggi hanno portato a un uso diffuso, contribuendo a un aumento significativo della produzione e del consumo globale [1-3].

Nel 1950 la produzione globale di plastica era circa di solo 0,5 milioni di tonnellate ma ha superato le 260 milioni di tonnellate nel 2010 [4]. Secondo recenti rapporti pubblicati dalle autorità, risulta che mediamente non più del 14% dei rifiuti di plastica viene riciclato, circa il 12% viene incenerito e il restante 74% viene sotterrato nelle discariche [5]. Ha destato particolare preoccupazione che a livello internazionale, nel 2019 sono stati generati 353 milioni di tonnellate di rifiuti di plastica ma di questi solo il 9% è stato riciclato. Come ordine di grandezza se si pensa che un tappo di circa 1.5 cm di diametro pesa mediamente 5g, nel 2019 è stata prodotta una quantità di plastica equivalente ad una catena lineare di tappi della lunghezza di circa 53000 Km, circa 1.3 volte la circonferenza equatoriale della terra.

È quindi comprensibile capire le motivazioni che hanno spinto l'Unione Europea ad approvare misure di contenimento della produzione di rifiuti plastici. Nel 2018, la Strategia dell'UE sulle materie plastiche ha identificato l'inquinamento da microplastica come un problema grave e ha potenziato strategie di investimento per lo sviluppo di soluzioni innovative per la sua riduzione. Nel nuovo Piano d'azione per l'economia circolare, la Commissione europea si è impegnata quindi ad affrontare la presenza di microplastiche nell'ambiente limitando l'uso di microplastiche aggiunte intenzionalmente nei prodotti e affrontando i rilasci non intenzionali di microplastiche. Nel 2021, il Piano d'azione "Inquinamento zero" ha dato ulteriore impulso fissando un obiettivo di riduzione del 30% dei rilasci di microplastiche entro il 2030. Sebbene l'opinione pubblica sia particolarmente informata e allertata dall'impatto dei circa 1,7 milioni di tonnellate di rifiuti plastici rilasciati negli oceani e degli altri 6,1 milioni di tonnellate scaricati invece in vari corpi acquatici [6], solo molto recentemente è stata rivolta l'attenzione agli effetti della denaturazione e deterioramento delle plastiche a costituire i cosiddetti detriti, con conseguente rilascio di particelle di plastica di piccole dimensioni. Le dimensioni dei detriti plastici possono variare notevolmente, ma in genere vengono suddivise in diverse fasce dimensionali. Le particelle di plastica con dimensioni > 25 mm sono note come macroplastiche, quelle con dimensioni comprese tra 5 e 25 mm sono note come mesoplastiche, quelle con dimensioni < 5 mm sono note come microplastiche e quelle con dimensioni < 100 nm sono note come nanoplastiche. La degradazione e la frammentazione causano gradualmente la disgregazione di oggetti in plastica di grandi dimensioni in particelle più piccole e ciò avviene sia per effetti atmosferici ma in misura significativa negli impianti di depurazione. A causa delle limitazioni tecniche nell'identificazione delle NP nei campioni ambientali, la ricerca scientifica sulle NP è piuttosto limitata essendosi concentrata principalmente sulle MP con dimensioni fino a 1 mm dato che l'attenzione è stata primariamente rivolta a quegli effetti di inquinamento visibili macroscopicamente. Data però la gravità del problema, la Commissione europea ha compiuto un passo importante per la tutela dell'ambiente, adottando misure che limitano le microplastiche aggiunte intenzionalmente ai prodotti nell'ambito della legislazione chimica dell'UE REACH. Le nuove norme impediranno il rilascio nell'ambiente di circa mezzo milione di tonnellate di microplastiche. Proibiranno la vendita di microplastiche in quanto tali e di prodotti a cui sono state aggiunte

di proposito microplastiche e che le rilasciano quando vengono utilizzate. La restrizione adottata utilizza una definizione ampia di microplastica: comprende tutte le particelle polimeriche sintetiche di dimensioni inferiori a cinque millimetri che sono organiche, insolubili e resistono alla degradazione. Sebbene questo sia un importante passo per sostenere un'economia eco-sostenibile, rimane il fatto che minore è la taglia delle microplastiche più difficoltoso è rilevarle e perciò filtrarle/rimuoverle. L'impatto sulla salute umana e sull'ecosistema in genere è quindi potenzialmente molto rischioso. Per questo motivo la ricerca scientifica per lo sviluppo di nuove tecniche di rivelazione e catalogazione di micro e nanoplastiche rappresenta una sfida importante.

Per caratterizzare le MP ad oggi vengono utilizzate diverse tecniche, che comprendono metodi come la microscopia, le termotecniche e la spettroscopia. La caratterizzazione delle MP è generalmente o fisica o chimica. La caratterizzazione fisica si riferisce principalmente alla valutazione di parametri come la distribuzione delle dimensioni, la forma e il colore. Lo stereomicroscopio è uno strumento ampiamente utilizzato per la caratterizzazione fisica, che consente di misurare dimensioni, numero e morfologia. Meno frequenti sono invece FTIR e microscopia Raman. La caratterizzazione chimica, invece, comporta l'identificazione della composizione delle MP. L'analisi visiva delle MP presenta alcune limitazioni dovute al basso ingrandimento, che porta a variazioni nei risultati, e non tutte le MP possono essere identificate. È stato riportato che è possibile rilevare un errore fino al 70%, che aumenta con le particelle più piccole. Per ridurre la sovrastima delle MP sospette, è stato utilizzato un metodo di colorazione e per colorare le MP è stato utilizzato il colorante rosso Nilo, ma l'efficacia può essere influenzata dal colorante utilizzato nella produzione della plastica. Tuttavia, le particelle non plastiche sono difficili da identificare e pertanto sono fondamentali ulteriori indagini sull'efficacia di colorazione in particolare sui detriti colorati non plastici.

I vari metodi di analisi chimica includono, la cromatografia liquida (LC) e la gascromatografia combinata con la spettrometria di massa (GC-MS), compresa la pirolisi-GC-MS e il desorbimento per estrazione termica-GC-MS. Tuttavia, la caratterizzazione chimica delle MP pone diverse sfide, tra cui la necessità di esaminare le singole molecole e le difficoltà derivanti dalla presenza dell'additivo. Le dimensioni ridotte delle MP complicano il processo di estrazione e isolamento del principio plastico specie per il fatto che le MP si trovano spesso in matrici complesse (sedimenti, tessuti biologici, ecc.) dove l'ambiente circostante può influenzare le loro proprietà chimiche e questo effetto matrice interferisce con l'analisi.

La possibilità quindi di rilevare e identificare plastiche di taglia micrometrica e submicrometrica gioca un ruolo fondamentale specialmente se il metodo di analisi impiega tecniche fisiche che non richiedono processi chimici anch'essi potenzialmente inquinanti. Tra le tecniche più versatili e green si annoverano quelle che impiegano principi di sensing ottico, ovvero che sfruttano l'assorbimento/trasmissione di luce selettivo da parte delle MP e NP. Il presente lavoro di tesi si inquadra in un progetto di ricerca finanziato dal MIUR il cui obiettivo è proporre metodi innovativi per rilevare e identificare residui plastici di dimensioni inferiori a 5 micrometri. Nello specifico, il progetto è focalizzato alla realizzazione di una piattaforma microfluidica che integri uno stadio microfluidico ed uno ottico in uno stesso substrato per poter analizzare volumi contenuti di soluzioni acquose contenenti NP e rilevarne la presenza, la quantità e la tipologia senza dover procedere ad elevati campionamenti di materiale contaminato. Dato che la microfluidica tratta volumi dell'ordine di pL sino a nL, questa piattaforma trova applicazioni dirette nella misura di soluzioni acquose di impiego farmacologico e medico, nella maggioranza dei casi contenute in supporti plastici anche durante relativa somministrazione ai pazienti di cui solo la parte a contatto con il paziente è di natura usa e getta. Sebbene i protocolli medici e della farmacopea siano particolarmente stringenti è pur vero che la rilevazione di NP è ad oggi non banale e per questo motivo non è noto il potenziale effetto né l'impatto reale sulla salute umana.

Nel presente lavoro di tesi è stata focalizzata l'attenzione sullo studio dei limiti di rilevazione di una piattaforma opto-fluidica integrata. Più nello specifico sono state analizzate due taglie differenti di microplastiche, una di dimensione $\varnothing = 153$ nm mentre l'altra di dimensione $\varnothing = 6$ μ m, con l'obiettivo di studiare la sensibilità di tale piattaforma. Inoltre le due taglie sono state analizzate a concentrazioni differenti, così da poter vagliare i limiti di rilevabilità dell'apparato. Infine sono stati proposti e studiati una serie di parametri utili a quantificare le MP disperse in acqua. La plastica scelta per tale esperimento è il polistirene (PS), poiché è il tipo di plastiche più facilmente reperibile e disponibile

in commercio in forma sferica. Si parte da uno studio con forma fissata prima di passare a forme irregolari. Successivamente è stato proseguito lo studio con un'ulteriore plastica per poter verificare le differenze tra le due. La seconda plastica scelta è il polimetilmetacrilato (PMMA), anche conosciuto con il suo nome commerciale "plexiglass", in quanto plastica molto diffusa in vari ambiti.

L'elaborato è stato diviso in due capitoli:

- Nel *Capitolo 1* viene presentata la piattaforma microfluidica con tutti gli ulteriori strumenti necessari per svolgere l'esperimento. Vengono inoltre elencate le soluzioni di MP studiate.
- Nel *Capitolo 2* viene riportata tutta l'analisi dati svolta su tali soluzioni e gli studi dei parametri utili a quantificare tali soluzioni. Alla fine del capitolo viene infine riportato lo studio del PMMA con le relative differenze che esso presenta dal PS.

Vengono infine riportate alcune conclusioni tratte dall'analisi dati presente nel capitolo 2. Insieme a tali conclusioni si riportano anche delle prospettive di ricerche future utili ai fini di completare lo studio cominciato con questo lavoro di tesi.

Capitolo 1

Setup sperimentale

L'apparato sperimentale utilizzato è costituito da due componenti: una piattaforma opto-fluidica (da qui in poi verrà rinominato *chip*) mentre l'altra legata all'apparato indispensabile per il funzionamento del chip.

1.1 Piattaforma opto-fluidica

La piattaforma opto-fluidica costruita in $LiNbO_3$ presenta integrati nel chip stesso uno stadio ottico e uno microfluidico.

1.1.1 Stadio microfluidico

Lo stadio microfluidico è realizzato scavando un canale nel $LiNbO_3$ a forma di croce latina. I due canali sono stati scavati mediante un processo meccanico di asportazione del substrato per abrasione (*microcutting*) realizzato con un disco a rivestimento diamantato-polimerico montato su una segatrice triassiale a controllo numerico (Disco DAD 3350, Disco Corporation, Tokyo, Giappone) in collaborazione con il Femto-ST Institut e con l'Università di Franché-Comte. È stato scelto di utilizzare questa tecnica in quanto, tra quelle possibili, è quella che garantisce le miglior finiture superficiali dei canali nel $LiNbO_3$, tenuto conto che le proprietà di questo cristallo [7] (elevata resistenza chimica, bassa durezza, piroelettricità, fotorefrattività e piezoelettricità) ne rendono piuttosto complessa la lavorazione. In particolare, i canali realizzati hanno la larghezza media di $(213 \pm 1) \mu\text{m}$ e la profondità media di $(108 \pm 1) \mu\text{m}$ [8]. La finitura superficiale ottenuta è di grado ottico, cosicché sia possibile accoppiare le guide di luce descritte nel paragrafo. Infatti, la rugosità superficiale media delle pareti laterali misurata all'atomic force microscopy è pari a $(8.5 \pm 0.9) \text{nm}$. Chiudendo uno dei due bracci della croce, è possibile realizzare un generatore di gocce che si comporta analogamente ad una giunzione a T. Per il funzionamento del generatore di gocce sono necessarie due fasi liquide distinte immiscibili: una fase continua e una fase dispersa. Si riporta in figura 1.1 una foto per descrivere il funzionamento del generatore di gocce. L'appena descritto circuito è stato chiuso con un coperchio in vetro, materiale che



Figura 1.1. Foto della formazione di gocce nel canale microfluidico

compatibile con il $LiNbO_3$ e con tutti i fluidi utilizzati per l'esperimento (ad esempio l'isopropanolo, l'acqua, l'acetone, ecc). Inoltre il vetro permette di installare delle connessioni microfluidiche (inlet e outlet). Le due parti sono state incollate tramite una resina epossidica a polimerizzazione UV.

1.1.2 Stadio ottico

Oltre allo stadio microfluidico, nel chip è stato integrata una guida ottica a canale per la trasmissione di luce, tramite un processo di diffusione termica locale di titanio che innalza l'indice di rifrazione localmente tanto da permettere la propagazione confinata della luce per riflessione totale interna come si avrebbe in una fibra ottica. La configurazione utilizzata per l'esperimento è quella di interferometro di Mach-Zehnder (da qui in poi MZI). Questa configurazione prevede che il fascio luminoso entri nella guida del chip e si divida in due rami paralleli che intersecano il canale microfluidico perpendicolarmente in due punti posti a distanza di $40\ \mu\text{m}$ (valore previsto dalla maschera per la litografia). I raggi si propagano quindi attraverso il canale contenente aria, acqua o il liquido utilizzato per l'esperimento per poi tornare all'interno della guida ed essere riuniti in un unico ramo. Viene infine rilevato in uscita dal chip la figura di interferenza. Si riporta in figura 1.2 lo schema dell'interferometro qui descritto.

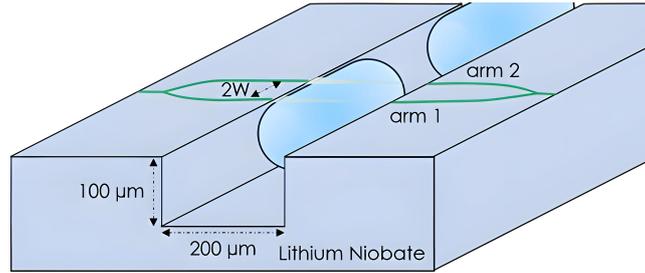


Figura 1.2. Schema dell'interferometro Mach-Zehnder integrato nel chip

1.1.3 Ulteriori componenti dell'apparato sperimentale

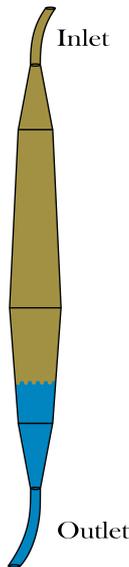


Figura 1.3. Schema del gavitello biconico

Oltre al chip a comporre l'apparato sperimentale ci sono ulteriori parti microfluidiche, ottiche ed elettroniche.

La componente microfluidica esterna al chip è composta da una pompa pneumatica Elveflow OBI Mk3 equipaggiata con tre canali (range di pressione 0 - 8 bar). Il flusso viene gestito tramite tre flussimetri BFS Coriolis10, i quali lavorano in feedback. Per prevenire che facendo scorrere acqua contenente delle microplastiche o addirittura nanoplastiche (scopo dell'esperimento) queste vadano a incastrarsi all'interno dei flussimetri danneggiandoli. Per ovviare al problema è stato utilizzato un gavitello biconico, ovvero una coppia di puntali di pipetta incollati assieme tramite una colla a polimerizzazione UV (vedi schema in figura 1.3). Il gavitello biconico presenta un inlet e un outlet. All'inlet viene collegato il flussimetro al quale interno viene fatto scorrere esadecano puro. Dall'outlet invece, tramite una siringa, viene inserito il fluido da studiare (nel nostro caso acqua contenente plastiche, quindi un fluido immiscibile in esadecano). Il flussimetro andrà quindi a spingere l'esadecano puro il quale, all'interno del gavitello, farà altrettanto sulla superficie di contatto tra i due fluidi. Alla fine quindi si ha all'outlet del gavitello il fluido desiderato alla pressione fissata senza dover direttamente far scorrere il fluido dell'esperimento all'interno del flussimetro.

La componente ottica dell'apparato (rappresentata nella figura 1.4) permette l'accoppiamento d'un laser con il MZI e il rilevamento all'uscita di quest'ultimo. Il laser utilizzato è a diodo in continua con $\lambda = 532\ \text{nm}$ e di potenza $P = 7.35\ \text{mW}$. Esso viene polarizzato e focalizzato all'ingresso della guida nel chip attraverso un obiettivo 20X (il chip viene posizionato su una piattaforma meccanica con 6 viti micrometriche che permettono i movimenti traslazionali nei tre assi e quelli rotazionali attorno ai tre assi). Successivamente in uscita dal chip la luce viene focalizzata da un obiettivo a lunga distanza 50X su un fotodiodo.

La parte elettronica consiste in un'amplificatore a transimpedenza e una scheda di acquisizione che

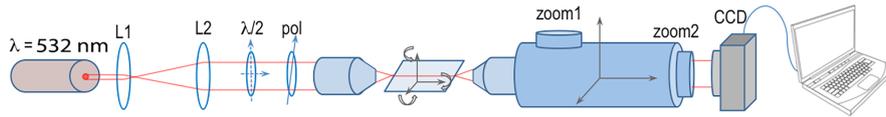


Figura 1.4. Schema delle componenti ottiche dell'esperimento

permettono di amplificare e digitalizzare il segnale.

Infine, al di sotto del chip, è stata sistemata una videocamera acA800-510um11 (Basler, Ahrensburg, Germany), con obiettivo 10X, in grado di acquisire immagini in tempo reale delle gocce che attraversano il chip.

1.1.4 Soluzioni di microplastiche

Per verificare i limiti di rilevabilità dell'apparato sperimentale sono state preparate delle sospensioni di particelle di plastica in acqua a varie concentrazioni. Per crearle si è partiti da una sospensione madre contenente sferette di Polistirene (PS) della taglia desiderata (153 nm, 340 nm, 617 nm, 1050 nm, 2500 nm e 6000 nm). Le misure elencate si riferiscono al diametro delle sfere. Tale sospensione è stata poi diluita con dell'acqua MilliQ per ottenere determinate concentrazioni da studiare successivamente. Il processo è stato eseguito tramite una pipetta con la quale si è estratto dalla sospensione madre una determinata quantità di microplastiche e diluite di conseguenza. Per evitare che alcune sferette rimanessero attaccate alla pipetta con cui poi è stata presa l'acqua sono state utilizzate due pipette diverse. La tabella 1.1 mostra i valori delle concentrazioni di riferimento con i nomi con i quali verranno chiamate da qui in poi. La bilancia usata per misurare le quantità di sospensione madre e

nome	Valore di riferimento
C0	0.03 ± 0.01
C1	0.13 ± 0.03
C2	0.23 ± 0.05
C3	0.44 ± 0.04
C4	0.65 ± 0.02
C5	1.04 ± 0.03
C6	1.7 ± 0.1
C7	2.7 ± 0.09
C8	4.45 ± 0.03

Tabella 1.1. Valori delle concentrazioni di riferimento e sperimentali

acqua utilizzate, è una Ohaus Explorer, ha una sensibilità di 10^4 g^{-1} e possiede una schermatura in polimetilmetacrilato che elimina le possibili interferenze esterne quali per esempio spostamenti d'aria.

1.1.5 Experimental setup

Il protocollo di una misura prevede che il chip sia posizionato su un piedistallo con 6 viti micrometriche che permettono di traslarlo nelle 3 direzioni e ruotarlo attorno ai tre assi con grande precisione. Questo è stato utilizzato per accoppiare la guida del chip con il laser. Uno dei bracci viene della croce viene sigillato così da creare una giunzione a T (il relativo schema viene riportato in figura 1.5. Agli altri due bracci (rispettivamente IN1 e IN2) vengono collegate la fase continua e la fase dispersa. La fase continua, collegata ad un flussimetro, è composta da esadecano con l'aggiunta del surfattante Span 80 al 3% (w/w). Il surfattante viene aggiunto per favorire la formazione delle gocce. La fase dispersa invece, collegata ad un secondo flussimetro tramite il gavittello biconico come spiegato precedentemente, è composta dalle sospensioni descritte nel paragrafo 1.1.3. Infine l'outlet è stato collegato ad un baker dove è stato raccolto tutto lo scarto. Ove non specificato diversamente i flussimetri sono sempre stati

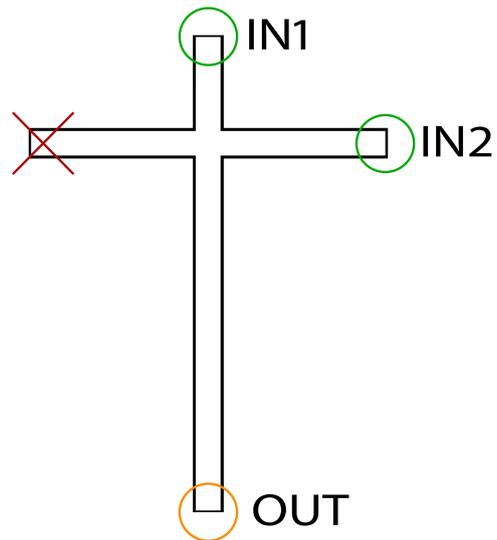


Figura 1.5. Schema della giunzione a T e relativi ingressi

impostati come di seguito: per la fase continua è stato impostato un flusso di $10 \mu\text{L}/\text{min}$ mentre per la fase dispersa il flusso è stato impostato a $8 \mu\text{L}/\text{min}$.

Capitolo 2

Risultati e prospettive

In questo capitolo si approfondisce la presa dati e relativa analisi dei dati presi in laboratorio con il setup spiegato nel capitolo precedente. Lo scopo è studiare i limiti di rilevabilità del setup utilizzato andando a verificare fino a dove è in grado di rilevare le microplastiche ed eventualmente se l'apparato è in grado di distinguere materiali diversi. Nella prima parte si studieranno i limiti dell'apparato variando parallelamente la taglia delle sfere disperse e la concentrazione delle stesse, mentre nella seconda parte si andranno ad analizzare due campioni contenenti sfere di ugual dimensione e concentrazione ma materiale differente.

2.1 Studio dell'acqua pura e confronto tra PS-153 e PS-6

Prima di studiare la presenza di microplastiche in acqua è stata condotta un'analisi sistematica atta a osservare cosa succede se inseriamo nell'apparato dell'acqua pura così poi da studiare le variazioni date dalla presenza del polistirene o, successivamente, del polimetilmetacrilato.

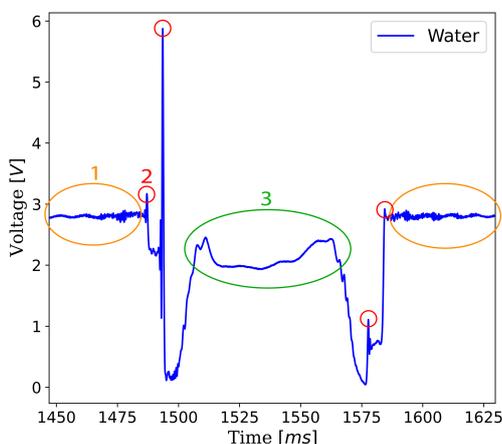


Figura 2.1. Spettro tipico di una goccia d'acqua in assenza di microplastiche

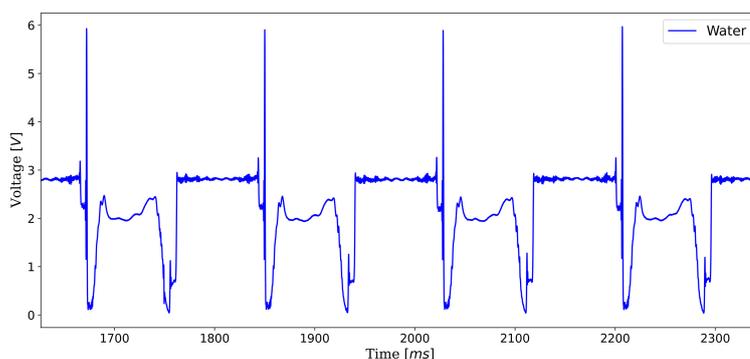
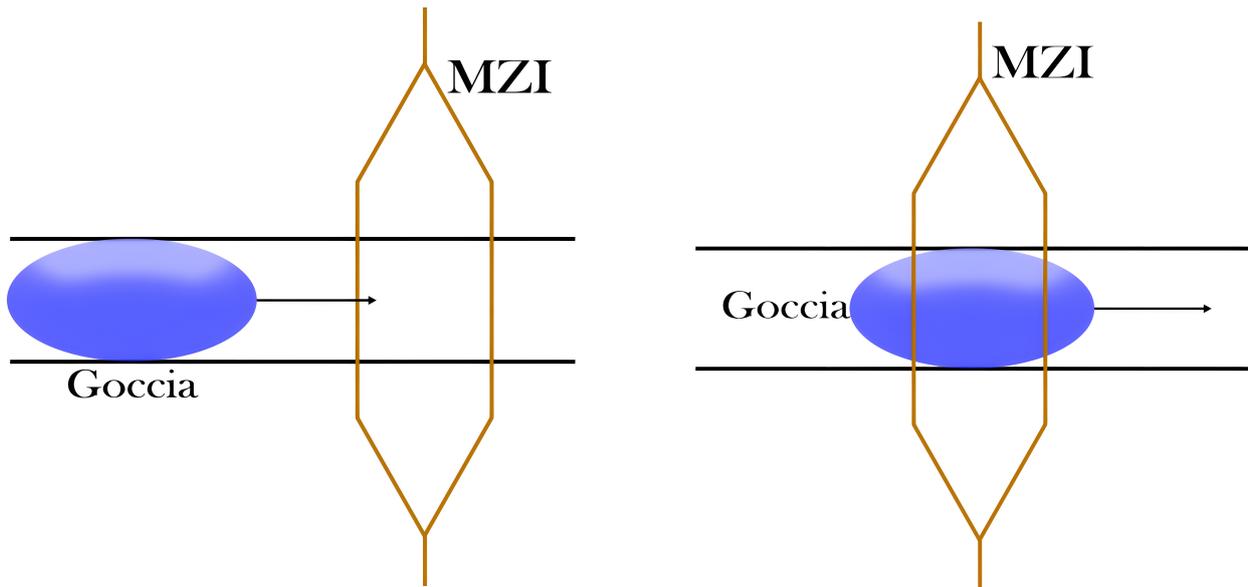


Figura 2.2. Spettro di quattro gocce d'acqua in sequenza

Si nota dallo spettro dell'acqua pura, la figura 2.2 ne riporta un campione rappresentativo, l'ottima ripetibilità dell'esperimento dato che tutte le gocce presentano la stessa forma. Analizzando la forma nel dettaglio questa si può scomporre in più zone. Facendo riferimento alla figura 2.1 si distinguono le zone in cui la fase continua, evidenziata in arancione (1), scorre nel canale microfluidico che, come si è detto, interseca il MZI, quattro picchi che indicano il passaggio dell'inizio o della fine della goccia attraverso uno dei due rami dell'interferometro evidenziati in rosso (2) e la zona centrale evidenziata in verde (3) in cui entrambe le guide di luce passano attraverso la goccia.



(a) Situazione relativa alla parte evidenziata in arancione (1) in figura 2.1

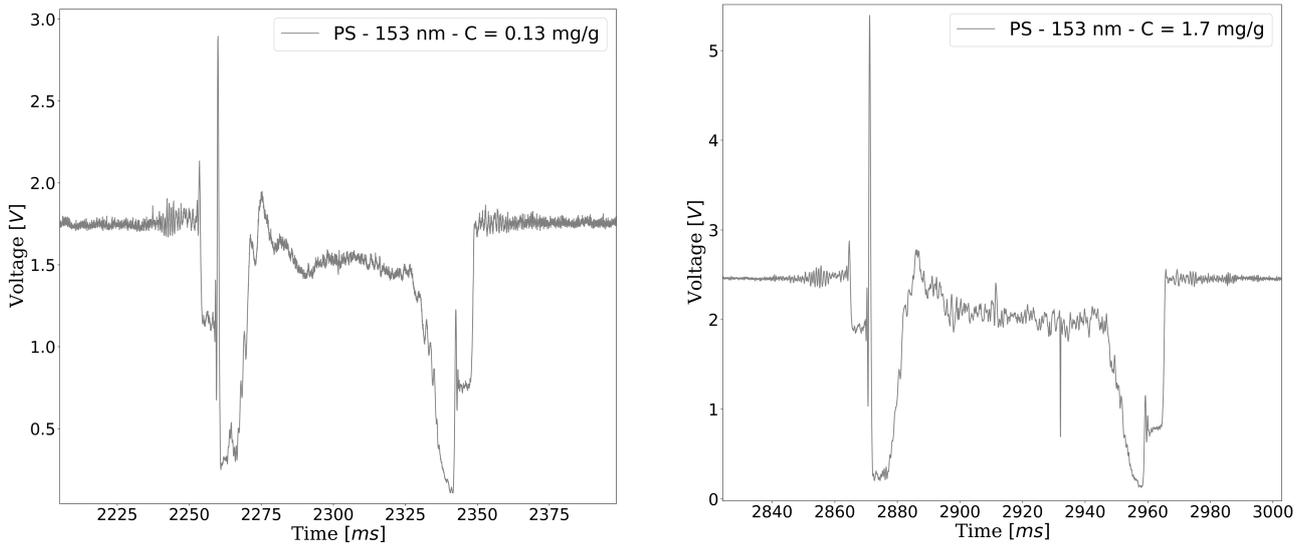
(b) Situazione relativa alla parte evidenziata in verde (3) in figura 2.1

Figura 2.3. Schema del funzionamento del MZI

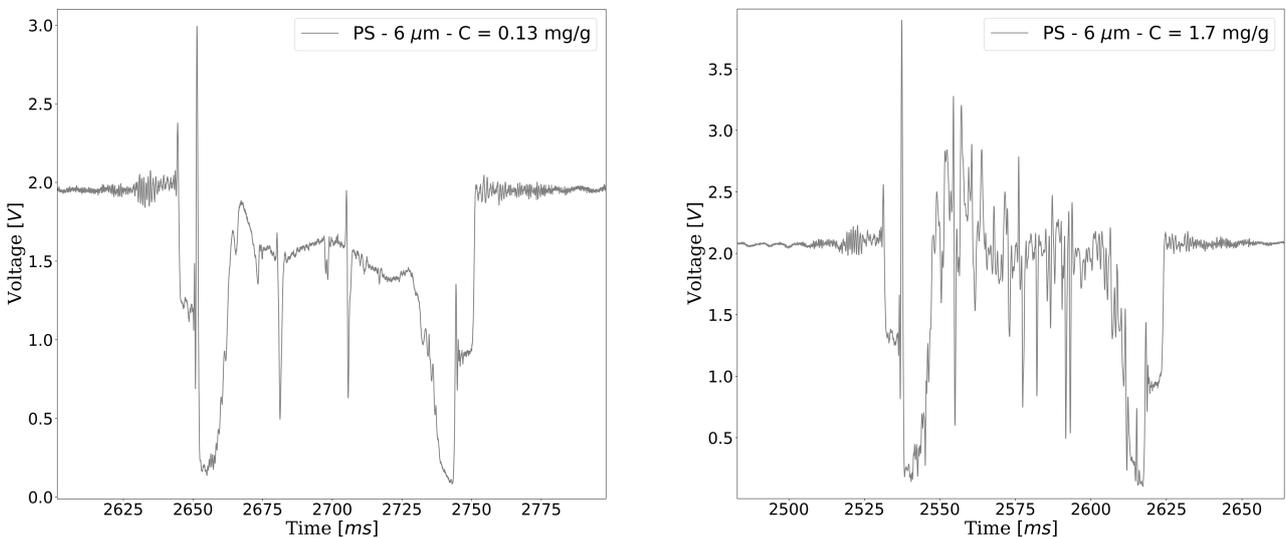
Sono state poi prese in considerazione due taglie di sfere di polistirene: 153 nm (PS-153) e 6 μm (PS-6). Queste particolari taglie permettono di capire l'affidabilità nella misurazione tramite l'apparato sopra descritto in funzione della taglia. In particolare sono stati scelti 2 condizioni esterne, l'una corrispondente a taglie abbastanza grandi di cui già oggi si dispone di altri metodi per visualizzarle l'altra relativa a taglie sufficientemente piccole delle quali ad oggi non esistono metodi veloci e relativamente economici per poterle individuare [9,10].

Si procede quindi ad analizzare gli spettri per le due taglie citate. In figura 2.4 sono riportate delle gocce esempio utili a capire come cambia lo spettro rispetto al caso dell'acqua pura precedentemente citato. Si nota che nella parte centrale dello spettro in cui la goccia passa attraverso entrambe le guide di luce sono presenti delle modulazioni rispetto all'acqua pura. Tali modulazioni risultano differenti se all'interno del campione sono presenti taglie di microsfele differenti o concentrazioni diverse rispettivamente. Innanzitutto si nota la differenza tra le taglie minori e le taglie maggiori. La taglia più piccola, ovvero le sfere di raggio 153 nm, presenta modulazioni di ampiezza minore rispetto alla taglia maggiore. Si nota inoltre che aumentando la taglia, ma tenendo costante la concentrazione diminuisce la frequenza dei picchi. Tale fenomeno non è dovuto direttamente al diametro maggiore delle microsfele, bensì essendo le PS-153 più piccole in taglia, per avere la stessa concentrazione sarà necessario avere un numero di nanosfele maggiori. L'aumento delle sfere presenti all'interno della goccia porta direttamente ad un aumento della frequenza delle modulazioni. Per la stessa motivazione si osserva che, tenendo invariata la taglia e aumentando la concentrazione, le modulazioni rimangono dello stesso tipo ma aumentano in modo sensibile di frequenza. Un caso particolare lo si vede per la C6 di taglia 153 nm nella quale si nota una crescita repentina del segnale (spike) a $t \approx 2930$ ms simile in forma alle modulazioni date dalle PS-6. Questo probabilmente è dovuto ad un aggregato, ovvero più sfere PS-153 che si legano insieme provocando nello spettro una modulazione simile alle PS-6.

Data l'evidente differenza nello spettro delle gocce d'acqua contenente microplastiche (a concentrazione e taglia diverse) e quello con sola acqua pura si può affermare che l'apparato di misura utilizzato è sensibile alle quantità e dimensioni di polistirene utilizzate. Si studiano ora vari metodi per poter quantificare, partendo dallo spettro ottenuto, le microplastiche disperse in acqua e le loro dimensioni.



(a) Spettri di una goccia contenenti sfere di polistirene di raggio 153 nm

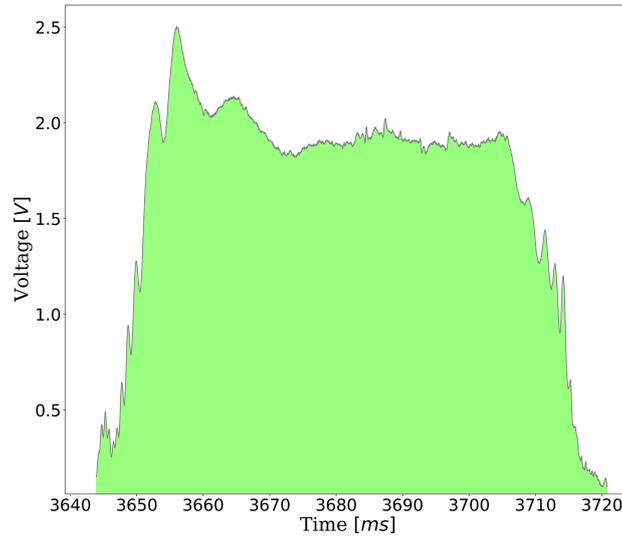


(b) Spettri di una goccia contenenti sfere di polistirene di raggio 6 μm

Figura 2.4. Spettri di gocce d'acqua contenenti differenti concentrazioni di microplastiche con differenti diametri

2.1.1 Analisi quantitativa: impatto della taglia e della concentrazione

Un primo parametro utilizzato per dare una stima di ciò è l'integrale della zona centrale della goccia. Un esempio utile per capire la zona integrata è rappresentato in figura 2.5. Il valore dell'integrale I calcolato è adimensionale poiché viene normalizzato al tempo totale di passaggio della goccia e al segnale della fase continua adiacente la goccia. Per ogni concentrazione delle due taglie si stima il valore che viene poi mediato su tutte le gocce ottenendo i valori riportati in tab 2.1. I dati vengono poi riportati nel grafico a dispersione in figura 2.6. Per evidenziare la differenza tra l'acqua pura e le gocce contaminate, l'integrale viene normalizzato all'acqua. Il valore dell'integrale dell'acqua pura vale $I_{water} = 0.60 \pm 0.01$. I valori degli integrali normalizzati sono riportati in tabella 2.2. Dal grafico si evince che i valori degli integrali seguono un andamento quadratico con concavità rivolta verso il basso, andamento che però non risulta perfettamente rispettato per le concentrazioni minori. La massima variazione osservata è dell'ordine di circa 40% per le $\varnothing = 6 \mu\text{m}$ e di circa 30% per le $\varnothing = 153 \text{ nm}$. Si può anche notare come sono quasi tutti incompatibili con il valore dell'acqua pura. Infine dal grafico risalta che la differenza tra il valore di integrale per le $6 \mu\text{m}$ e le 153 nm si stabilizzi verso le concentrazioni maggiori. Si procede quindi calcolando il valore $\Delta I = I_6 - I_{153}$, dove I_6


Figura 2.5. Zona integrata dal codice

C	I	I
	$\varnothing = 6 \mu\text{m}$	$\varnothing = 153 \text{ nm}$
C0	0.583 ± 0.008	0.583 ± 0.008
C1	0.668 ± 0.007	0.73 ± 0.01
C2	0.65 ± 0.01	0.721 ± 0.005
C3	0.729 ± 0.009	0.73 ± 0.01
C4	0.74 ± 0.02	0.78 ± 0.01
C5	0.78 ± 0.02	0.64 ± 0.02
C6	0.835 ± 0.02	0.74 ± 0.02
C7	0.76 ± 0.02	0.65 ± 0.01
C8	0.64 ± 0.01	0.52 ± 0.01

Tabella 2.1. Valori degli integrali

denota il valore dell'integrale normalizzato relativo alle sfere PS-6 mentre I_{153} quello relativo alle sfere PS-153. I valori di ΔI vengono riportati nella tabella 2.3 e nel grafico in figura 2.7. Dal grafico si distinguono due diversi regimi separati dal valore di concentrazione circa pari a $\tilde{C} = 1 \text{ mg/g}$, infatti prima di tale concentrazione si nota che ΔI assume valori prettamente negativi, quindi per tali concentrazioni l'integrale delle PS-153 risulta maggiore di quello delle PS-6, ad eccezione per la concentrazione C3 nella quale si invertono i valori. Per concentrazioni invece maggiori di \tilde{C} , si osserva che gli integrali delle PS-6 superano quelli delle PS-153 e la differenza tra i due integrali si stabilizza attorno a $\Delta I \approx 0.2$. Per la maggior parte delle concentrazioni, ΔI non risulta compatibile con lo zero, quindi è possibile affermare che l'integrale è un parametro utile per la stima della dimensione delle particelle disciolte in acqua. È necessario però tener conto che tale stima della taglia può esser fatta solo a concentrazione fissata. Qualora risultasse ignota anche la concentrazione è necessario adoperare un ulteriore parametro da usare parallelamente per stimare taglia e dimensione. In presenza appunto di una sospensione di cui è ignota sia la concentrazione che la taglia delle microsfele, ad un determinato valore di integrale corrispondono, nella maggior parte dei casi, sia punti appartenenti alle PS-153 che alle PS-6, ma qualora si vada a fissare la concentrazione è possibile definire la taglia delle particelle sospese. L'approccio proposto fornisce una modalità per discriminare, a parità di concentrazione, la taglia delle particelle sospese. Per determinare univocamente quest'ultima si rende tuttavia necessaria un'ulteriore analisi di covarianza, che sarà oggetto di approfondimenti futuri.

	I/I_{water}	I/I_{water}	$I/I_{water} - 1$	$I/I_{water} - 1$
C	$\varnothing = 6 \mu\text{m}$	$\varnothing = 153 \text{ nm}$	$\varnothing = 6 \mu\text{m}$	$\varnothing = 153 \text{ nm}$
C0	0.98 ± 0.02	0.98 ± 0.02	-0.02 ± 0.02	-0.02 ± 0.02
C1	1.12 ± 0.02	1.22 ± 0.03	0.12 ± 0.02	0.22 ± 0.03
C2	1.08 ± 0.03	1.21 ± 0.02	0.08 ± 0.03	0.21 ± 0.02
C3	1.22 ± 0.03	1.21 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.21 ± 0.03
C4	1.24 ± 0.03	1.31 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.31 ± 0.03
C5	1.31 ± 0.03	1.06 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.06 ± 0.03
C6	1.40 ± 0.04	1.23 ± 0.04	0.40 ± 0.04	0.23 ± 0.04
C7	1.28 ± 0.04	1.09 ± 0.03	0.28 ± 0.04	0.09 ± 0.03
C8	1.07 ± 0.02	0.88 ± 0.02	0.07 ± 0.02	-0.12 ± 0.02

Tabella 2.2. Valori degli integrali normalizzati all'acqua

C	ΔI
C0	0 ± 0.03
C1	-0.10 ± 0.03
C2	-0.13 ± 0.03
C3	0.007 ± 0.04
C4	-0.07 ± 0.04
C5	0.24 ± 0.05
C6	0.17 ± 0.06
C7	0.19 ± 0.05
C8	0.19 ± 0.03

Tabella 2.3. Valori $\Delta I = I_6 - I_{153}$

2.1.2 Basse concentrazioni e confronto con acqua pura

Per verificare la sensibilità dello strumento a valori di concentrazioni minori, sono state misurate concentrazioni inferiori. Si creano delle concentrazioni aggiuntive pari a $1/2$ e $1/10$ della C0, chiamate relativamente C02 e C01. In figura 2.8 vengono riportati gli spettri delle zone centrali delle gocce a tali concentrazioni. Confrontando tali grafici con lo spettro di una goccia di acqua pura in figura 2.1, si può notare che per quanto basse siano le concentrazioni, l'apparato sperimentale utilizzato è in grado di rilevarle. Innanzitutto si nota la presenza di possibili agglomerati presenti per esempio nello spettro della C02 a $t \approx 4740$. Si può notare anche la presenza, seppur debole, di alcune modulazioni non presenti nello spettro dell'acqua pura, dovute a fenomeni di scattering con le poche sfere presenti. Essendo però tali modulazioni molto piccole e di bassa frequenza è complicato quantificarle computazionalmente, non si procederà quindi ad un'analisi dettagliata di tali spettri. Questi esempi risultano però utili per capire le potenzialità del chip utilizzato.

2.2 Indicatori di taglia

Finora si è visto come l'integrale della parte sottesa allo spettro di una goccia d'acqua contenente microplastiche sia sensibilmente diverso rispetto a quello dell'acqua pura. Come citato prima però, utilizzando solamente l'integrale non è possibile ricavare sia la taglia delle sfere presenti che la concentrazioni in cui queste sono presenti. È necessario quindi introdurre almeno un secondo parametro da sfruttare parallelamente all'integrale, per far sì che studiando entrambi i valori è possibile dare una stima di taglia e concentrazione in modo univoco. Di seguito vengono analizzati due potenziali metodi utili a tale scopo: la *visibilità* e l'*autocorrelation function*.

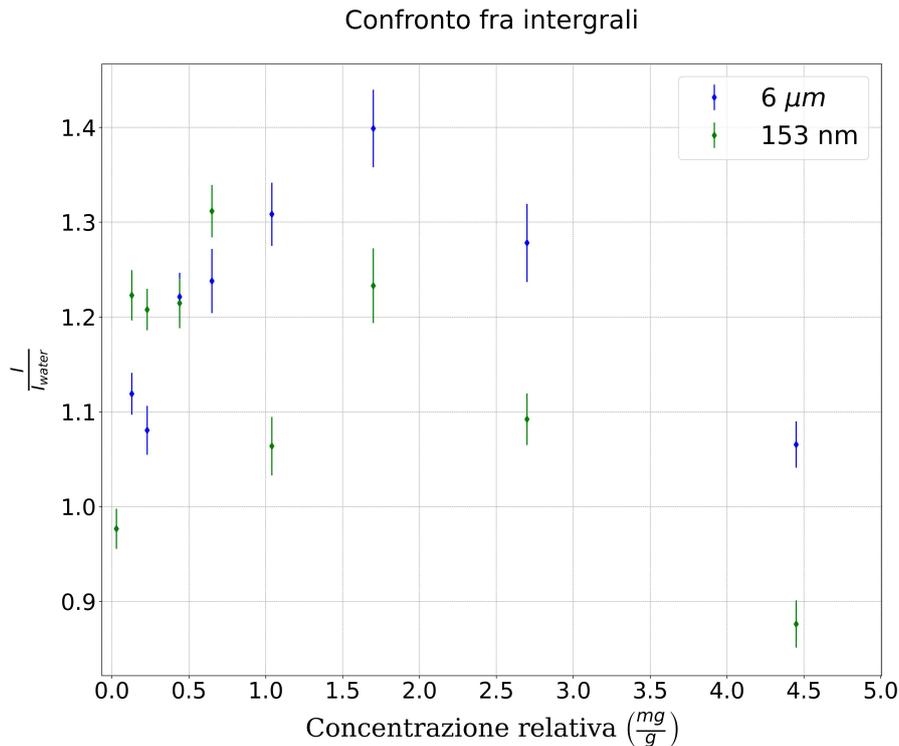


Figura 2.6. Grafico a dispersione contenente i dati in tabella 2.2. La concentrazione è calcolata in mg di plastica su g di acqua

2.2.1 Visibilità

Vista la grande differenza nella forma delle modulazioni delle microplastiche con taglie diverse, è stato studiato un parametro con l'obiettivo unico di quantificare l'ampiezza della modulazione. Tale parametro, che dovrebbe quindi servire per distinguere i valori delle singole taglie, viene qui chiamato: visibilità ed è definito definito:

$$m = \frac{V_{max} - V_{min}}{V_{max} + V_{min}} \quad (2.2.1)$$

Tale indicatore permette di stimare mediamente l'ampiezza delle oscillazioni, valutando quindi goccia per goccia quanto sono pronunciate le modulazioni. Nelle figure 2.9 e 2.10 sono riportati, sotto forma di istogramma, i valori di m per ogni singola goccia per le varie concentrazioni, sia per le PS-6 che per le PS-153. Negli istogrammi colori più scuri corrispondono a concentrazioni maggiori. Si nota che per concentrazioni basse, corrispondenti a colori più chiari nel grafico, gli istogrammi si assomigliano molto. Ciò è probabilmente dovuto al fatto che per la taglia maggiore, a basse concentrazioni, sono presenti poche sfere, quindi il parametro m , non trovando alcuna modulazione consistente, risulta molto simile al caso in cui le modulazioni sono molto piccole e quindi al caso delle PS-153. A conferma di tale ipotesi si può notare una differenza per concentrazioni maggiori, dove iniziano a essere presenti un numero considerevole di sfere in ogni goccia anche per le PS-6. Infatti se per le PS-153 il parametro m assume valori prevalentemente bassi per ogni concentrazione, per le PS-6 si nota un aumento della visibilità all'aumentare della concentrazione. Per rendere questa differenza più evidente si riporta in figura 2.11 un grafico a dispersione in cui vengono riportati i valori medi di visibilità ad ogni concentrazione per le due taglie. Ad eccezione della concentrazione maggiore, la C8, per le altre concentrazioni si può apprezzare un andamento pressoché costante per la taglia minore e un andamento crescente nel caso per la taglia maggiore.

Si procede ora a verificare la precisione del parametro appena introdotto, in particolare si è studiato se varia sensibilmente con il variare della taglia delle sfere presenti nel campione analizzato. Sono state analizzate quindi delle sospensioni con al loro interno delle sfere di polistirene delle seguenti taglie:

- 340 nm (da qui in poi PS-340)

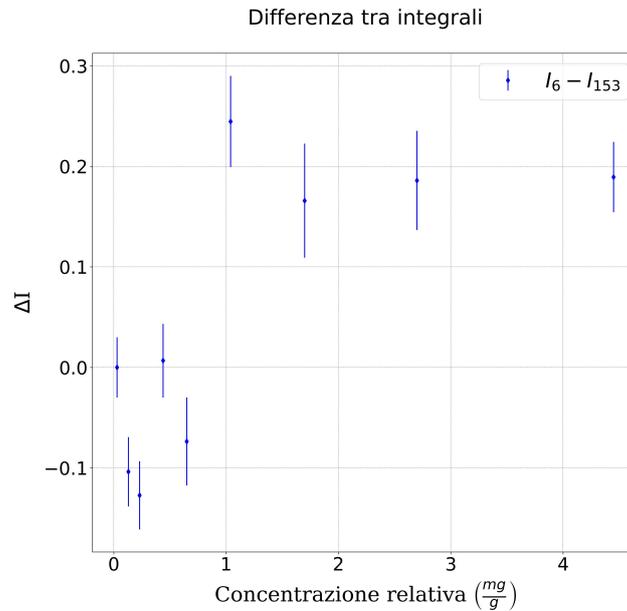
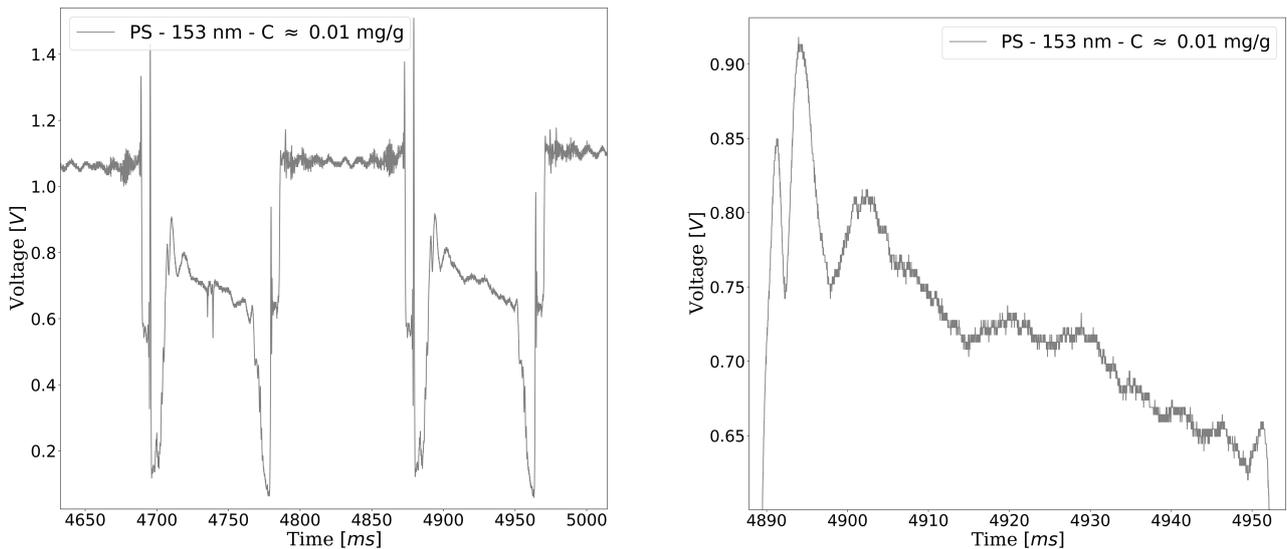


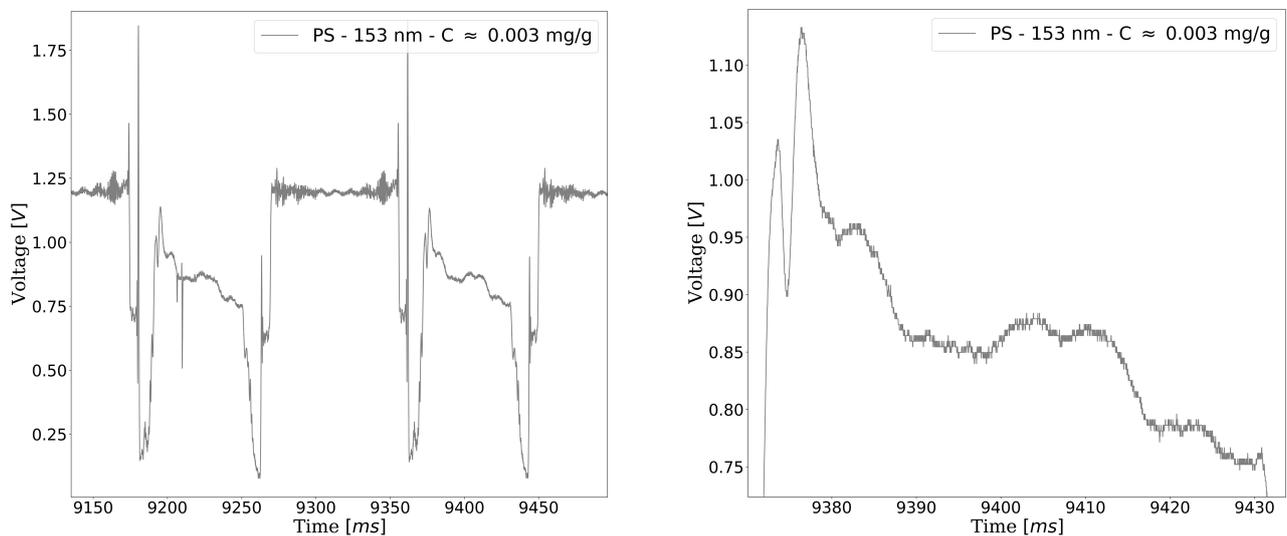
Figura 2.7. Grafico a dispersione dei valori riportati in tabella 2.3. La concentrazione è calcolata in mg di plastica su g di acqua

- 617 nm (da qui in poi PS-617)
- 1050 nm (da qui in poi PS-1050)
- 2500 nm (da qui in poi PS-2500)

In aggiunta alle due taglie già studiate. Si riportano in figura 2.12 gli spettri delle zone centrali per ogni singola taglia. Si può già notare guardando gli spettri di singola goccia che presentano modulazioni ben diverse in numero e forma. Per esempio le PS-340 presentano molte modulazioni ma piuttosto piccole, a differenza delle PS-617 o anche delle PS-1050. Invece si può notare come le modulazioni siano pochissime nelle PS-2500 ma molto più marcate delle altre 3 taglie. Si prosegue stimando la visibilità per le taglie qui riportate, per poi rappresentarlo in un unico istogramma con tutte le taglie. Tale grafico risulterà utile per capire se i vari istogrammi si sovrappongono e quindi non si riesce a discernere le varie taglie o se il parametro che si sta studiando è abbastanza sensibile ai cambiamenti di taglia. L'istogramma viene riportato in figura 2.13. Si nota che i picchi appartenenti alle varie taglie assumono valori differenti, specialmente all'aumentare della taglia. Per taglie minori i picchi si differenziano di poco, ma è comunque possibile apprezzarne la variazione. Si riscontrano però risultati inattesi, per esempio si nota che per le PS-6 il parametro assume valori prevalentemente bassi, addirittura minori delle PS-153. Ciò è dovuto al fatto, come precedentemente spiegato, che essendo la concentrazione di sfere in acqua molto bassa e avendo un diametro molto maggiore delle altre, le sfere effettivamente presenti nel campione analizzato siano poche, talmente poche che la maggior parte delle gocce create non presenta al suo interno alcuna sferetta di PS. Si ha quindi che il parametro calcolato su una goccia che non presenta modulazioni deve intuitivamente venire minore anche delle sfere più piccole. Altro caso analogo lo si riscontra per le PS-2500, le quali presentano due picchi, uno a valori $m \approx 0.7$ e uno invece a valori paragonabili a quelli delle PS-153. A differenza delle PS-6, queste presentano un picco a valori più alti perché a differenza di queste ultime, alcune gocce iniziano a presentare un numero di microsfele tali da poter essere studiate. Un altro elemento inatteso che si riscontra dal grafico è la presenza di piccoli picchi a valori alti di visibilità per le taglie più piccole (ad esempio per le PS-153). Ciò, come già spiegato, è dovuto alla presenza di agglomerati che si comportano come le sfere dei diametri maggiori. Sembra quindi che il parametro studiato, sia sensibile alle varie taglie e che quindi dia informazioni riguardo le stesse. Si procede quindi preparando e analizzando una concentrazione mista contenente sia sfere di PS-617 sia sfere di PS-6. L'istogramma relativo a tale concentrazione è riportato in figura 2.14. Si può notare che l'istogramma relativo a tale concentrazione perde le informazioni relative alle due taglie differenti disperse all'interno del campione. Questo perché



(a) A sinistra lo spettro della C02 mentre a destra uno zoom nella parte centrale per risaltarne le modulazioni



(b) A sinistra lo spettro della C01 mentre a destra uno zoom nella parte centrale per risaltarne le modulazioni

Figura 2.8. Spettri delle gocce d'acqua a basse concentrazioni

il parametro definito nell'equazione 2.2.1 è un parametro troppo generale che non tiene conto di tutte le modulazioni presenti all'interno dello spettro di una singola goccia, bensì tiene conto solo della modulazione più ampia. La visibilità può quindi essere perfezionata facendo sì che il codice del programma la calcoli su ogni modulazione presente all'interno della goccia e non solo sulla maggiore, così facendo si dovrebbe ottenere una stima delle taglie all'interno del campione più accurata.

2.2.2 Autocorrelazione

Come osservato in precedenza, la parte centrale del segnale corrispondente alle gocce mostra un comportamento piuttosto differente a seconda della taglia considerata. In particolare a parità di concentrazione le PS-6 mostrano fluttuazioni più estese rispetto alle PS-153, per le quali la visibilità non risulta efficiente allo stesso modo. Si introduce quindi un altro metodo per fornire una stima della taglia delle dimensioni delle sfere presenti all'interno delle singole gocce, basato sulla tecnica del *Dynamic Light Scattering* [11, 12].

Nel presente lavoro di tesi è stata utilizzata l'autocorrelation function, ovvero la correlazione di un segnale con una copia ritardata del segnale stesso in funzione del ritardo. Essendo il nostro caso un

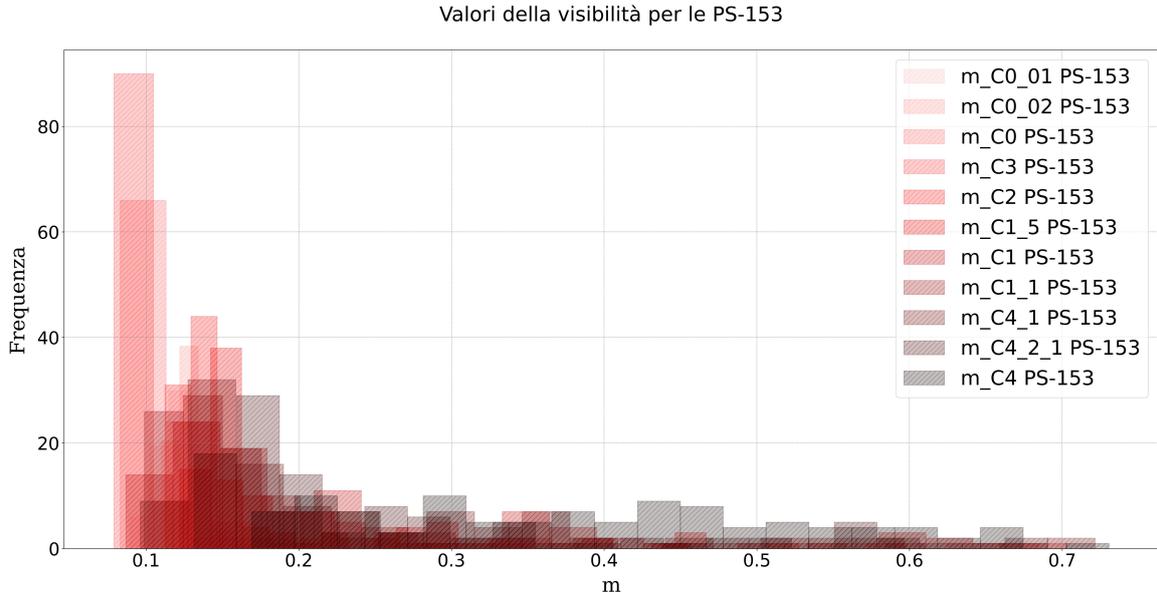


Figura 2.9. Grafico a dispersione contenente i valori medi della visibilità

caso discreto la funzione di autocorrelazione segue la formula:

$$f(t) = \frac{1}{(T-t)\sigma^2} \sum_{i=1}^{T-t} (X_i - \mu)(X_{i+t} - \mu) \quad (2.2.2)$$

ove si è posto T pari al numero di osservazioni, μ pari al valore di aspettazione e σ pari alla deviazione standard. Dopo aver ottenuto $f(t)$, si procede a calcolare la trasformata di Fourier $\hat{f}(\omega)$ discreta di quest'ultima, ottenendo la relativa densità spettrale $P(\omega)$ (equivalente, per un segnale, a una densità spettrale di energia) corrispondente a:

$$P(\omega) = |\hat{f}(\omega)|^2 \quad (2.2.3)$$

Come è noto in letteratura, per il teorema di Wiener-Chinčin [13], la trasformata di Fourier della funzione di autocorrelazione del segnale corrisponde alla densità spettrale di energia dello stesso. In figura 2.15 se ne riporta un esempio. Dalla densità spettrale si ricavano poi le frequenze corrispondenti ai picchi più prominenti. Per convenzione, si sceglie di considerare solo i picchi il cui valore sia superiore al 10% del valore al picco massimo. Le frequenze ottenute per un intero treno di gocce si riportano poi in un istogramma, come quello riportato in figura 2.16. A titolo di confronto si riporta l'andamento con una funzione del tipo

$$g(\omega) = a \cdot \text{erf}(\omega) + b$$

$$\text{erf}(\omega) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^\omega e^{-t^2} dt$$

dove a e b sono i parametri di interpolazione. Si vuole ora studiare i valori assunti da tali parametri variando la taglia e la concentrazione. Si analizzano quindi 4 concentrazioni abbastanza distanti l'una dall'altra, ovvero la C1, la C4, la C6 e la C8. I valori dei parametri ricavati da tali campioni vengono riportati in tabella 2.4.

Si può notare che per concentrazioni più basse, escludendo quindi la C8, i due parametri assumono valori ben precisi per le due taglie. Nel caso delle PS-153 si ha $a \approx -120$ e $b \approx 120$, mentre per le PS-6 si ottiene $a \approx -55$ e $b \approx 50$. Si può vedere però che per la C8 i valori si discostano da questi ultimi. Ci si focalizza inizialmente sulla C8 delle PS-153. Si presuppone che, nel caso in esame, la grande presenza di nanosfere porti alla presenza di agglomerati i quali iniziano a comportarsi come le PS-6. Tale ipotesi è supportata dall'ottima compatibilità dei parametri in esame con quelli ricavati per la taglia superiore. È possibile apprezzare la presenza di agglomerati dalle foto riportate in figura

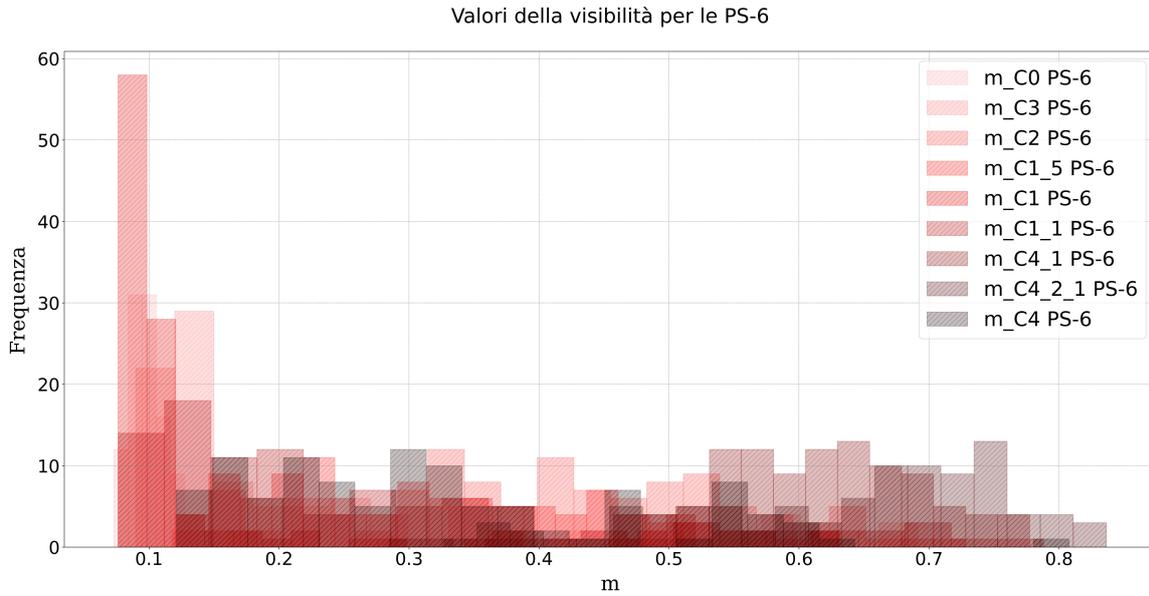


Figura 2.10. Grafico a dispersione contenente i valori medi del parametro m_0

Taglia	Concentrazione	a	b
PS-153	C1	-128 ± 11	121 ± 9
PS-153	C4	-118 ± 9	120 ± 8
PS-153	C6	-119 ± 6	121 ± 5
PS-153	C8	-54 ± 6	57 ± 4
PS-6	C1	-49 ± 6	38 ± 4
PS-6	C4	-55 ± 6	44 ± 4
PS-6	C6	-59 ± 4	60 ± 3
PS-6	C8	-92 ± 8	99 ± 6

Tabella 2.4. Valori dei parametri del fit

2.17, foto acquisite tramite la fotocamera citata nel paragrafo 1.1.3. Per quanto riguarda invece le microsfere PS-6 alla medesima concentrazione, anch'esse presentano dei parametri incompatibili con quelli ottenuti dalle altre concentrazioni alla stessa taglia. La causa di questa discrepanza tra il valore ottenuto e quello aspettatosi, è da attribuire al comportamento delle microsfere presenti a tale concentrazione. Sono state acquisite una serie di foto durante la presa dati che confermano quanto appena detto. Tali foto sono riportate in figura 2.18. Tramite tali foto ci si rende conto di come le microsfere non siano equamente distribuite all'interno della sospensione, bensì verso la fine della presa dati si riscontra un notevole aumento della concentrazione. Questo comporta che le gocce analizzate presentano una concentrazione molto più bassa di quella ipotizzata e ciò può portare a stimare i parametri in modo scorretto. Si analizzano ora gli istogrammi ottenuti dallo spettro delle frequenze per le due taglie. Si riscontra però un andamento inatteso con l'istogramma appartenente alle PS-153. Dall'istogramma, riportato in figura 2.19, le frequenze più elevate risultano essere dominanti su quelle più basse, prossime a zero, con un evidente zona in cui sono presenti meno fluttuazioni rispetto agli altri casi analizzati. Pertanto, per poter restare coerenti con questi ultimi, si sceglie di eseguire il fit partendo dal massimo centrale dell'istogramma, e non dal primo massimo corrispondente alla frequenza più bassa. In figura sono evidenziati i dati utilizzati per l'interpolazione.

La funzione utilizzata per interpolare i dati non sembra ottimale, è possibile accorgersene per le sfere di taglia minore. Riesce però a descrivere bene la coda discendente dei dati, infatti si vede dal caso delle PS-153 a concentrazione C1 che se escludiamo la prima parte di dati i parametri risultano compatibili con gli altri ottenuti per la stessa taglia. Per interpolare l'intero istogramma è necessario cambiare la funzione interpolante e un'ipotesi ragionevole sembra essere la *distribuzione di Bernoulli* che sarà oggetto di studi futuri.

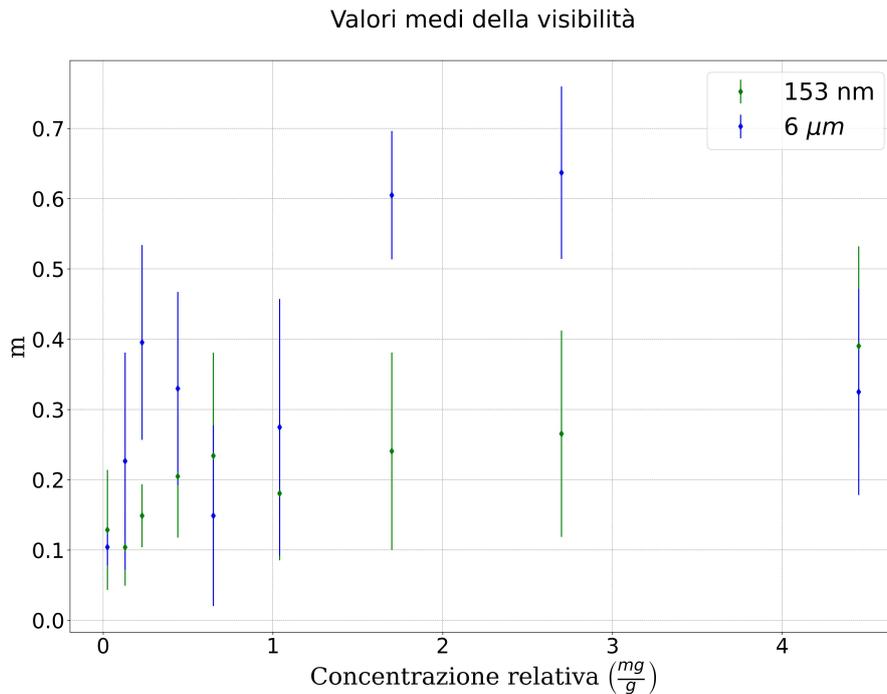


Figura 2.11. Grafico a dispersione contenente i valori medi del parametro m . La concentrazione è calcolata in mg di plastica su g di acqua

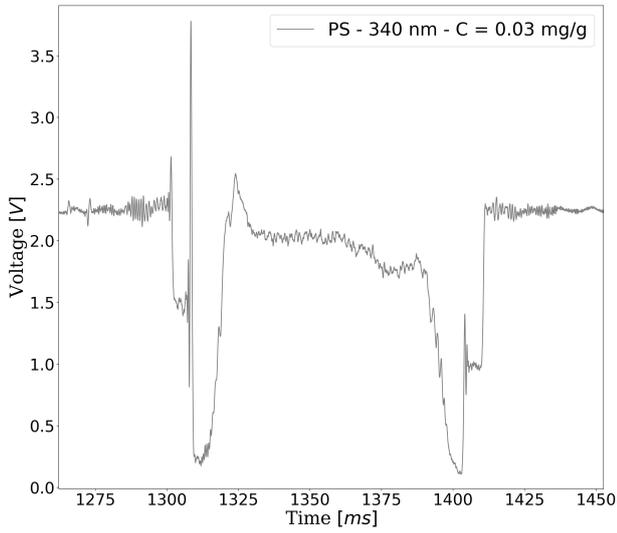
Dai parametri stimati è possibile capire che non esiste una relazione biunivoca tra i parametri stessi e la taglia delle particelle presenti nel campione. Per stimare quindi la concentrazione e la taglia di particelle presenti in un campione è necessario combinare le informazioni derivanti dai 3 metodi studiati finora. Ovvero in prima battuta si stima il valore dell'integrale e si vede quali coppie taglia-concentrazione assumono quello specifico valore. Successivamente si guardano i parametri del fit della densità spettrale e della visibilità per vedere quali, tra le combinazioni taglia-concentrazione trovate, risulta compatibile con i valori tabulati, ottenendo così i valori di taglia e concentrazione.

2.3 Limiti di rilevabilità - Potere risolvante di materiali diversi

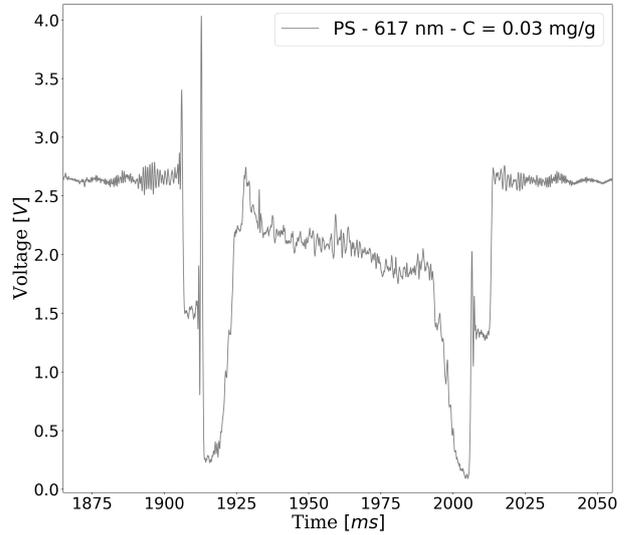
Finora si è studiata la sensibilità dell'apparato utilizzato al variare della concentrazione e della taglia, partendo da taglie dell'ordine dei nanometri fino ad arrivare all'ordine dei micrometri. Per una possibile applicazione è però necessario studiare come si comporta il chip in presenza di plastiche differenti. In particolar modo in questo capitolo si vuole studiare la risposta del chip se, anziché microsfele di polistirene, nelle sospensioni create sia presenta una plastica differente. Si è deciso di utilizzare il polimetilmetacrilato (da qui in poi PMMA), poiché si tratta di una tipologia di materiale piuttosto diffusa (è noto commercialmente come "plexiglass") e possiede inoltre un indice di rifrazione di 1.49 (nel visibile), minore di quello del PS. Lo scopo è quello di studiare i parametri discussi nei precedenti capitoli anche per tali sfere, così da vedere se si riscontrano particolari differenze tra i due materiali.

Integrale per il PMMA

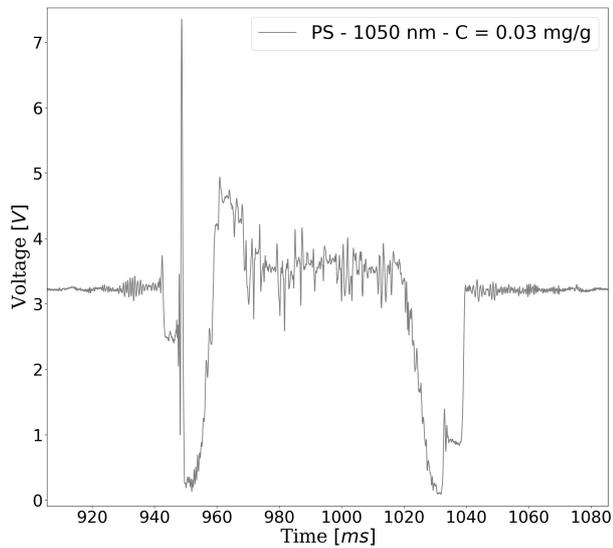
È stata preparata una sospensione con microsfele di PMMA di raggio 2500 nm e con concentrazione C4. Si procede poi con l'acquisizione di un treno di gocce. Viene riportato in figura 2.20 un paragone tra un campione di PS-2500 con concentrazione C4 e lo spettro delle PMMA-2500 alla medesima concentrazione. Si può facilmente notare come le modulazioni prodotte dalle sfere di PMMA risultino molto più ampie e con una frequenza maggiore. Si ricorda però che le densità dei materiali non sono uguali, perciò dal momento che le concentrazioni sono calcolate come peso su peso e non volume su peso, questo porterà a un differente numero di sfere presenti nella singola goccia. Più nello specifico la densità del PS è pari a $d_{PS} = 1.050 \text{ g/cm}^3$ mentre la densità del PMMA è pari a $d_{PMMA} = 1.19 \text{ g/cm}^3$.



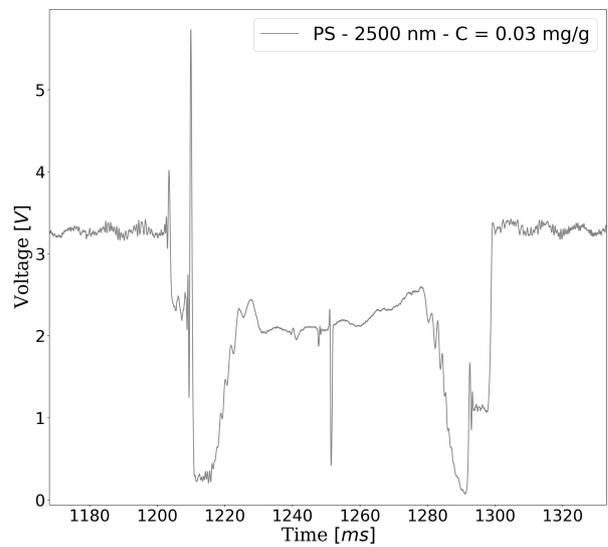
(a) Spettro di una singola goccia con PS-340



(b) Spettro di una singola goccia con PS-617



(c) Spettro di una singola goccia con PS-1050



(d) Spettro di una singola goccia con PS-2500

Figura 2.12. Spettri di singola goccia di acqua con PS in varie taglie

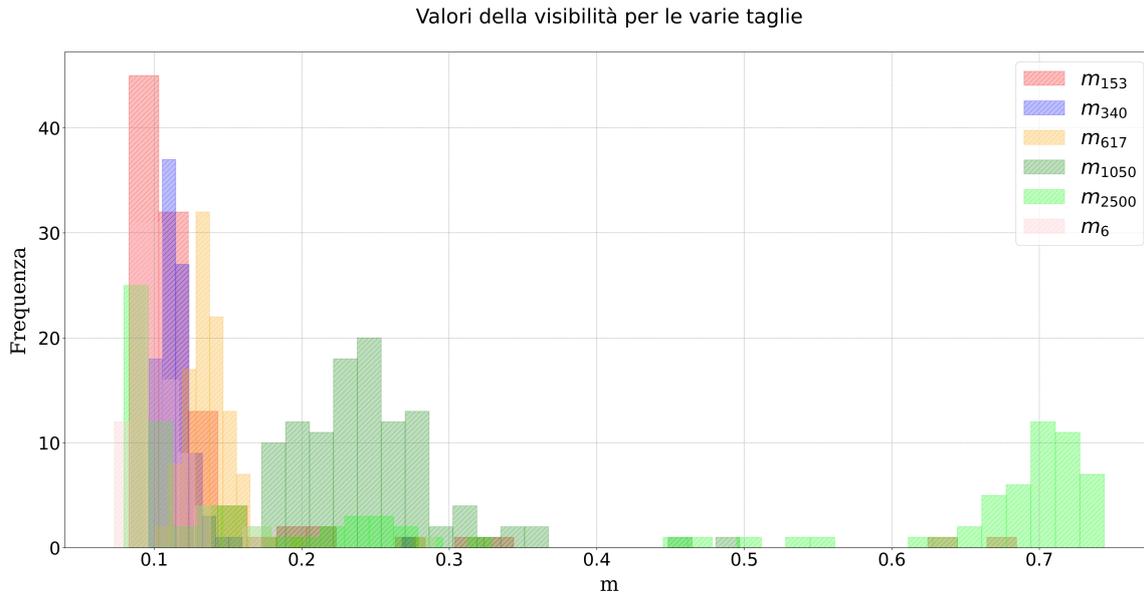


Figura 2.13. Istogramma contenente i valori della visibilità per le varie taglie

Perciò, dato che il PMMA possiede una maggiore densità, le microsfere di tale plastica saranno in minore quantità rispetto a quelle presenti per il PS. Ciò ci permette di apprezzare ulteriormente la differenza dei due materiali, infatti nella precedente sezione si era notato come la frequenza delle modulazioni aumentava all'aumentare della concentrazione e quindi del numero di sfere presenti. In questo caso invece, tenendo fissata la taglia delle sfere, si vede come aumenti sensibilmente la frequenza delle modulazioni seppur diminuiscono il numero di microsfere presenti. Questo porta alla conclusione che l'aumento della frequenza delle modulazioni deve essere causato dal cambio di materiale, e ciò porta alla conferma che l'apparato utilizzato risulta sensibile non solo alla presenza di microplastiche, ma anche al tipo di microplastiche presenti. Si procede quindi analizzando i parametri già studiati per verificare se questi rilevino questa differenza partendo dal valore dell'integrale normalizzati a I_{water} come già svolto precedentemente.

Gli integrali in questione valgono

$$I_{PS} = 1.11 \pm 0.03$$

$$I_{PMMA} = 0.97 \pm 0.03$$

I due valori presentano una scarsa compatibilità e quindi l'integrale ci permette di distinguere i due materiali diversi. Come però precedentemente detto è necessario combinare tutti i parametri per poter ottenere una stima accettabile di ciò che è presente all'interno del campione.

Visibilità per il PMMA

È stato calcolato per ogni goccia il valore della visibilità, definita in equazione 2.2.1. Ci aspettiamo che tale valore risulti maggiore per il PMMA, dato che la visibilità può essere descritta come una specie di ampiezza di modulazione media. Si riporta l'istogramma contenente i valori di visibilità per il PMMA e anche quelli del PS in figura 2.21. Gli istogrammi dei due materiali risultano non sovrapporsi, quindi anche la visibilità, come l'integrale appena studiato, è sensibile al cambio di materiale.

Autocorrelation function

Si conclude infine studiando l'autocorrelazione dei due segnali di cui ne vengono riportati gli istogrammi in figura 2.22. Si procede eseguendo il fit sui due istogrammi e i valori che se ne ricavano sono riportati in tabella 2.5 I valori ricavati risultano compatibili tra loro e non si nota una particolare differenza. L'autocorrelazione sembra quindi essere ottima per lo studio della taglia delle particelle sospese in acqua, ma non è sensibile al materiale di tali particelle.

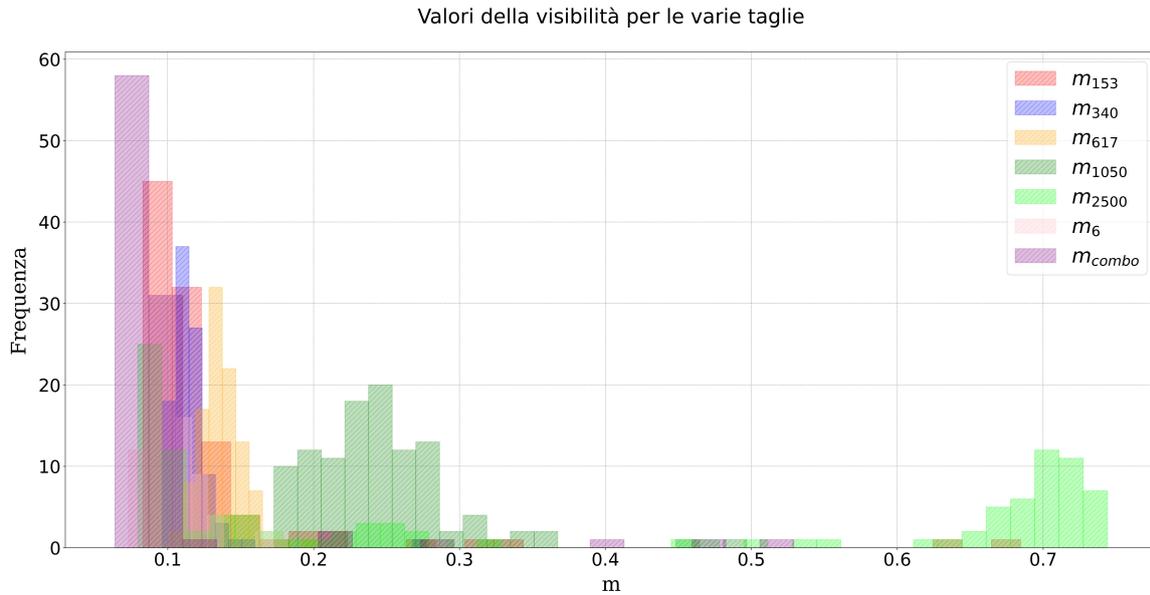


Figura 2.14. Istogramma riportato in figura 2.13 con l'aggiunta della concentrazione mista

Materiale	a	b
PS	-69 ± 4	64 ± 3
PMMA	-74 ± 4	70 ± 2

Tabella 2.5. Parametri ottenuti dal fit sugli istogrammi in figura 2.22

Si può affermare quindi che il chip utilizzato è molto sensibile sia alla taglia, sia alla concentrazione, sia al materiale delle sfere sospese in acqua nel range studiato. Per quanto riguarda lo studio di materiali differenti è necessario approfondire se le differenze qui analizzate si mantengono anche variando la taglia o la concentrazione. Inoltre prima di poter stimare la presenza di particelle incognite all'interno di un campione, è necessario costruire un database nel quale vengono tabulati i valori dei parametri studiati al variare di taglia, concentrazione e materiale.

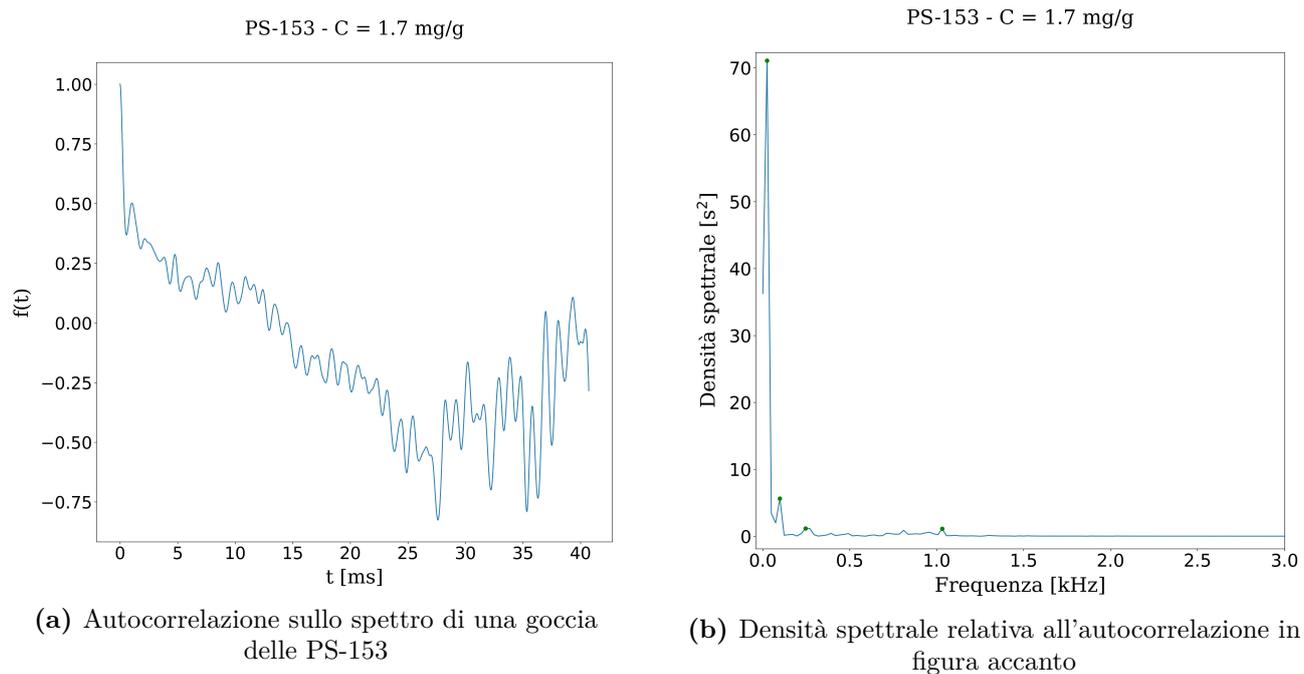


Figura 2.15. Esempio del funzionamento dell'autocorrelazione su una goccia delle PS-153

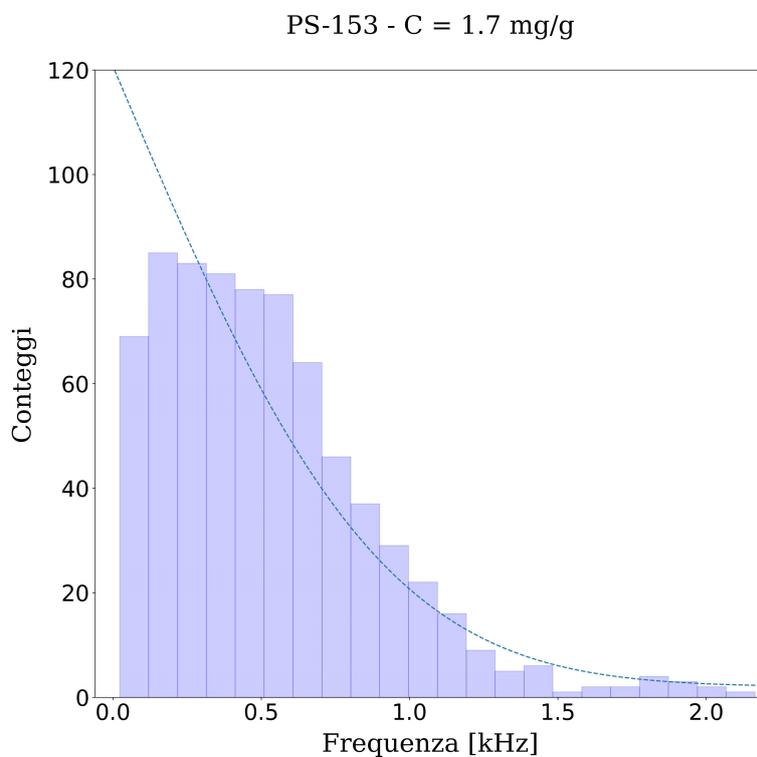
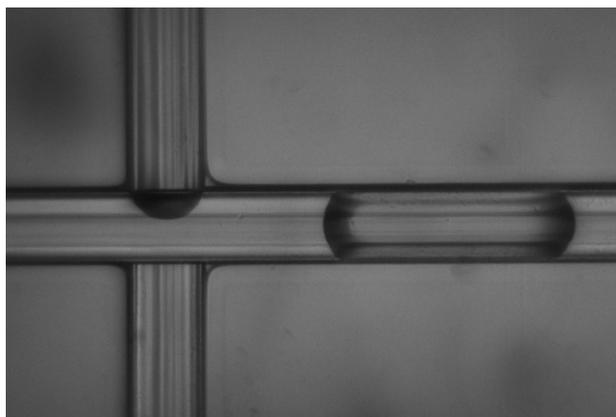
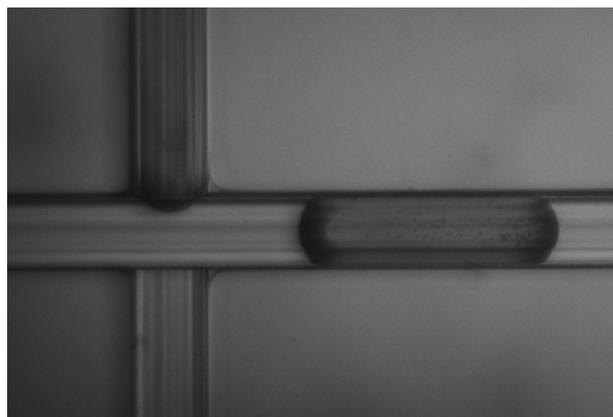


Figura 2.16. Istogramma con le frequenze ottenute da un campione di PS-153 con concentrazione C6. Si riporta la linea di tendenza attesa se si assumesse una dipendenza funzionale $g(\omega) = a \cdot \text{erf}(\omega) + b$



(a) Goccia con concentrazione di nanosfere pari a C1



(b) Goccia con concentrazione di nanosfere pari a C8

Figura 2.17. Foto di gocce con la presenza di nanosfere PS-153

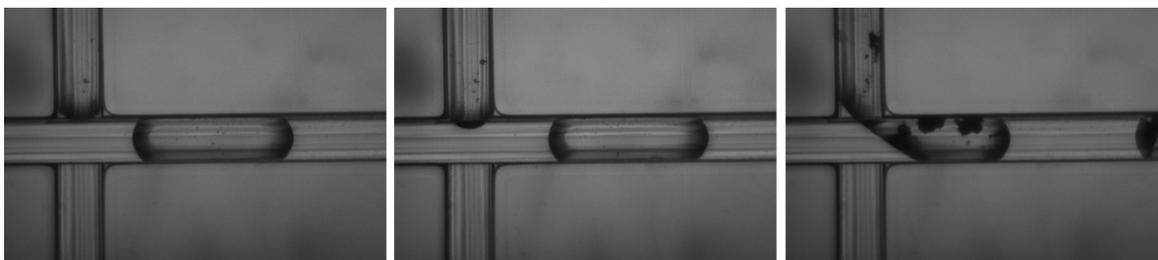


Figura 2.18. Foto scattate durante la presa dati delle PS-6 C8, in ordine temporale da sinistra a destra

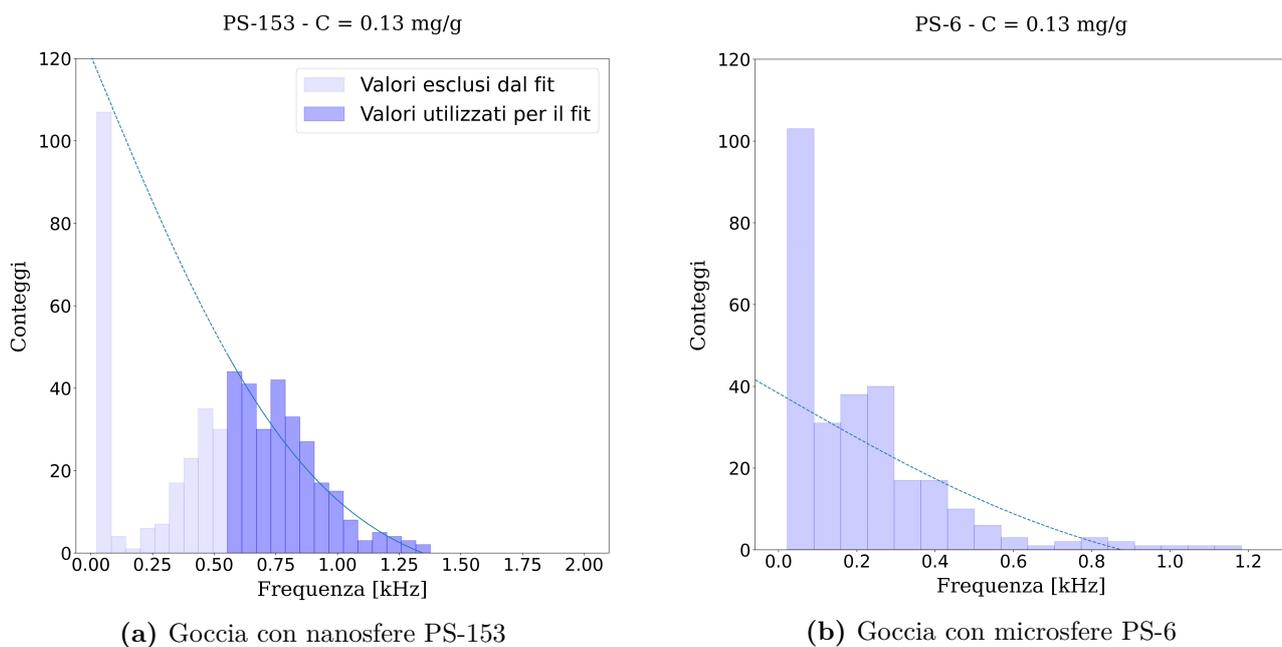
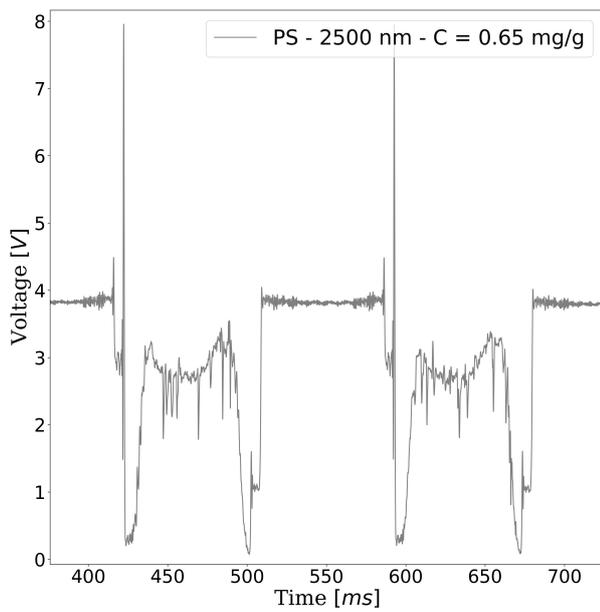
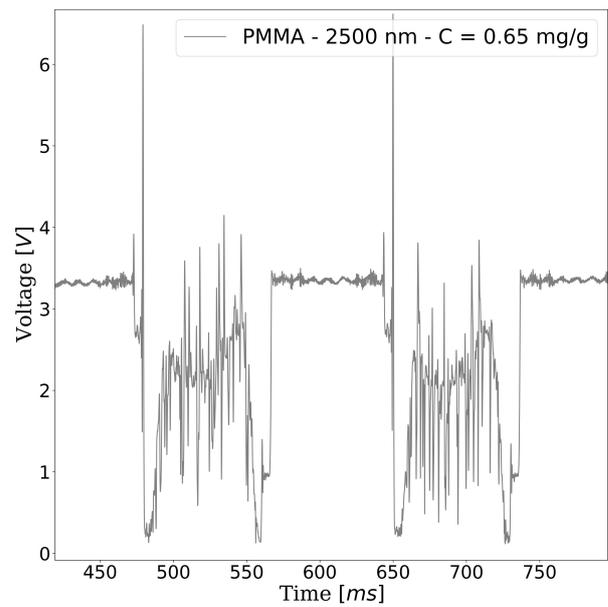


Figura 2.19. Istogrammi con le frequenze ottenute a concentrazione C1



(a) Gocce con microsfere di PS-2500



(b) Goccia con microsfere di PMMA-2500

Figura 2.20. Confronto tra PS-2500 e PMMA-2500 alla medesima concentrazione

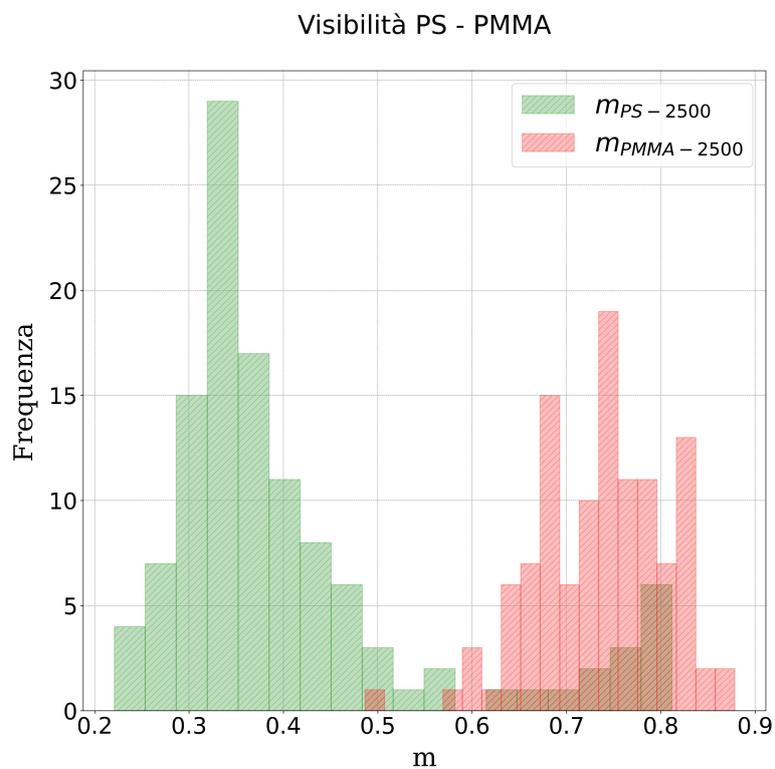
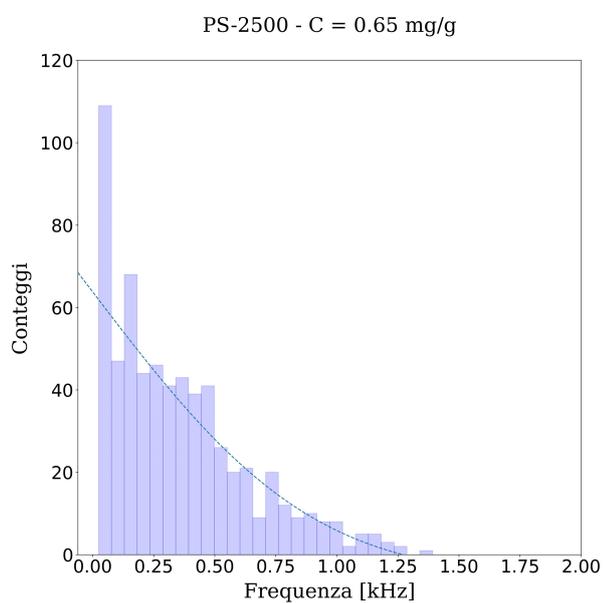
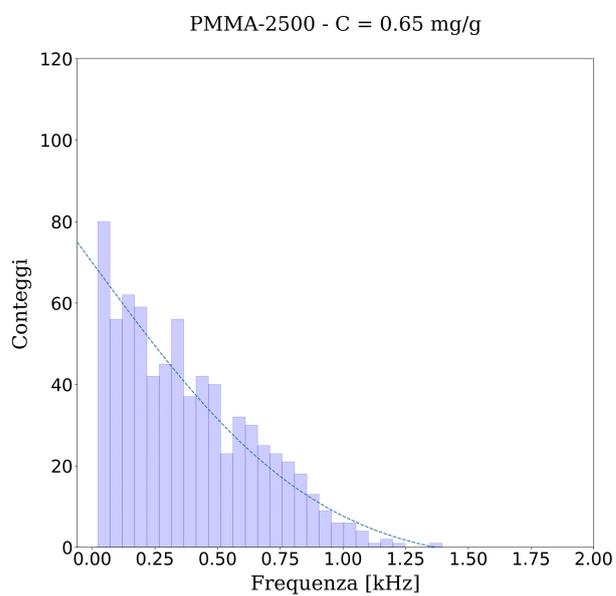


Figura 2.21. Istogramma contenente i valori di visibilità per il PS e il PMMA



(a) Istogramma con le frequenze ottenute dal campione contenente PS



(b) Istogramma con le frequenze ottenute dal campione contenente PMMA

Figura 2.22. Confronto tra lo spettro delle frequenze del PS e quello del PMMA

Conclusioni

L'obiettivo di questo lavoro di tesi è studiare i limiti di rilevabilità della piattaforma opto-fluidica integrata utilizzata. Tale piattaforma consente di ottenere una misura della trasmittività ottica di gocce d'acqua e, successivamente, è possibile verificare la presenza di microplastiche disperse. Sono state quindi selezionate due taglie utili per capire il limite superiore e inferiore rilevabili dallo strumento. Le taglie selezionate sono $\varnothing = 153 \text{ nm}$ e $\varnothing = 6 \mu\text{m}$. La plastica utilizzata per condurre l'esperimento è il polistirene, poiché è il tipo di plastiche più facilmente reperibile e disponibile in commercio in forma sferica. Si parte da uno studio con forma fissata prima di passare a forme irregolari. Si nota una differenza tra gli spettri delle gocce contenenti microplastiche e le gocce di acqua pura, ovvero la presenza di modulazioni nella parte centrale dello spettro, modulazioni dovute a fenomeni di scattering. Ciò conferma la sensibilità dello strumento alle taglie di microplastiche selezionate. Sono stati quindi presi una serie di dati per le due taglie modificando di volta in volta la concentrazione contenuta all'interno delle gocce.

Sono stati poi studiati una serie di parametri utili ai fini di quantificare la presenza di MP all'interno del campione analizzato. Il primo parametro studiato è l'integrale della parte centrale dello spettro. Tale integrale, normalizzato al tempo totale di passaggio della goccia e al segnale della fase continua adiacente alla goccia, è sensibile alla presenza di plastiche in acqua e varia in maniera non indifferente al variare della taglia e della concentrazione di microsfele presenti all'interno del campione. L'integrale da solo però non risulta sufficiente, in quanto è possibile definire la taglia delle microsfele presenti solo a concentrazione fissata. Vengono quindi proposti ulteriori parametri per poter studiare parallelamente sia la taglia che la concentrazione. Per determinare univocamente quest'ultima è necessaria un'ulteriore analisi di covarianza che non è stata svolta nel presente elaborato.

Il secondo parametro analizzato è la visibilità. La visibilità, definita nel paragrafo 2.2.1, permette di stimare la modulazione media causata dalle MP presenti nel campione. Si nota che tale parametro è molto buono per la stima della taglia, si decide quindi di analizzare delle ulteriori soluzioni, a concentrazione fissata, con al loro interno taglie differenti alle due studiate precedentemente. Nello specifico si studiano le taglie: $\varnothing = 340 \text{ nm}$, $\varnothing = 617 \text{ nm}$, $\varnothing = 1050 \text{ nm}$, $\varnothing = 2500 \text{ nm}$. Viene calcolato il valore della visibilità su ogni goccia e i risultati appartenenti a tutte le taglie vengono riportati in un unico istogramma. Si nota che i picchi dei singoli istogrammi relativi a taglie differenti sono separati l'uno dall'altro. Il problema della visibilità così definita è che si limita a studiare la modulazione più ampia per ogni goccia e non tiene conto di tutte le modulazioni presenti.

Gli ultimi due parametri vengono ricavati studiando l'*autocorrelation function*. Si analizza quindi per le singole gocce la loro funzione di autocorrelazione. Si procede poi studiando la trasformata di Fourier della funzione di autocorrelazione, il cui modulo quadro corrisponde alla densità spettrale di energia del segnale studiato in partenza. Infine le frequenze ricavate dall'analisi della densità spettrale per tutte le gocce vengono riportate in un istogramma che viene poi interpolato con una funzione descritta al paragrafo 2.2.2. Studiando i parametri del fit, si nota che questi sono direttamente collegati alla taglia delle particelle disperse e che non variano significativamente con il variare della concentrazione. Per ultimo, nel paragrafo 2.3, sono stati analizzati tutti questi parametri per un campione di polimetilmetacrilato (PMMA) di taglia $\varnothing = 2500 \text{ nm}$ da poi confrontare con un campione della stessa taglia di PS. Confrontando i vari parametri si riscontra che l'integrale normalizzato e la visibilità cambiano al variare del materiale utilizzato, mentre i parametri dell'interpolazione ricavati studiando la funzione di autocorrelazione risultano compatibili per i due materiali. Si può quindi affermare che le frequenze ricavate dallo studio dell'*autocorrelation function* sono un ottimo indicatore per studiare

la taglia delle particelle disperse in acqua, mentre gli altri parametri permettono di ricavare una stima della concentrazione e stabilire il materiale delle particelle presenti.

Per concludere quindi si può affermare che l'apparato utilizzato è sensibile alle taglie studiate e a tutte le taglie intermedie, e risulta quindi raggiunto l'obiettivo iniziale di analisi dei limiti di rileva-bilità dello strumento. Partendo dalle premesse di questa tesi, è possibile effettuare un'analisi più dettagliata dell'andamento dei parametri aumentando le taglie studiate oppure prendendo un maggior numero di concentrazioni così da verificare gli andamenti già riscontrati nel presente elaborato. Sarà inoltre necessario studiare come variano i parametri utilizzati qualora si utilizzassero particelle non di forma sferica o addirittura qualora si inserissero nello stesso campione particelle di taglia o materiale differenti. Un'ulteriore obiettivo di future analisi sarà quello di creare un database contenente tutti i valori dei parametri legati a determinate concentrazioni, taglie e materiali, così da rendere possibile studiare una soluzione ignota confrontando i valori ricavati con tale database.

Bibliografia

- [1] Anthony L Andrady. Microplastics in the marine environment. *Marine pollution bulletin*, 62(8):1596–1605, 2011.
- [2] Sirajum Monira, Muhammed A Bhuiyan, Nawshad Haque, and Biplob Kumar Pramanik. Assess the performance of chemical coagulation process for microplastics removal from stormwater. *Process Safety and Environmental Protection*, 155:11–16, 2021.
- [3] Ahmed Elshewy, Mustapha El Hariri El Nokab, Julien Es Sayed, Yasser A Alassmy, Marwan M Abduljawad, Dagmar R D’hooge, Paul HM Van Steenberge, Mohamed H Habib, and Khaled O Sebakhy. Surfactant-free peroxidase-mediated enzymatic polymerization of a biorenewable butyrolactone monomer via a green approach: Synthesis of sustainable biobased latexes. *ACS Applied Polymer Materials*, 6(1):115–125, 2023.
- [4] Richard C Thompson, Charles J Moore, Frederick S Vom Saal, and Shanna H Swan. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Philosophical transactions of the royal society B: biological sciences*, 364(1526):2153–2166, 2009.
- [5] Okunola A Alabi, Kehinde I Ologbonjaye, Oluwaseun Awosolu, and Olufiropo E Alalade. Public and environmental health effects of plastic wastes disposal: a review. *J Toxicol Risk Assess*, 5(021):1–13, 2019.
- [6] Antonia Kurtela and Nenad Antolović. The problem of plastic waste and microplastics in the seas and oceans: impact on marine organisms. *Croatian Journal of Fisheries*, 77(1):51–56, 2019.
- [7] RS Weis and TK Gaylord. Lithium niobate: Summary of physical properties and crystal structure. *Applied Physics A*, 37:191–203, 1985.
- [8] Simone Marchetti. Light based sensing di microplastiche disperse in soluzioni acquose. 2022.
- [9] Emanuele Perfetti. Droplet-based optofluidics sensing of micro plastics in aqueous solutions. 2023.
- [10] Christian Schwaferts, Reinhard Niessner, Martin Elsner, and Natalia P Ivleva. Methods for the analysis of submicrometer-and nanoplastic particles in the environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 112:52–65, 2019.
- [11] Sara Ginami. Environmental sensing di nanoaggregati metallici in soluzioni acquose. 2023.
- [12] Fanny Caputo, Jeffrey Clogston, Luigi Calzolari, M Rösslein, and Adriele Prina-Mello. Measuring particle size distribution of nanoparticle enabled medicinal products, the joint view of euncl and nci-ncl. a step by step approach combining orthogonal measurements with increasing complexity. *Journal of Controlled Release*, 299:31–43, 2019.
- [13] David C Champeney. *A handbook of Fourier theorems*. Cambridge University Press, 1987.