

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Fisica e Astronomia “Galileo Galilei”

Corso di Laurea in Fisica

Tesi di Laurea

Studio di optical sensing di microplastiche in goccia
tramite contrasto di indice di rifrazione

Relatore

Prof.ssa Cinzia Sada

Correlatore

Dr. Giovanni Bragato

Laureando

Chiara Tramarin

Anno Accademico 2023/2024

Indice

Introduzione	2
1 Optofluidica: un approccio innovativo all’environmental sensing	4
1.1 Apparato sperimentale	4
1.1.1 Chip in Niobato di Litio	4
1.1.2 Stadio ottico	5
1.1.3 Stadio microfluidico	5
1.2 Apparato sperimentale e condizioni operative	6
1.3 Preparazione delle soluzioni con microplastiche	8
2 Analisi dati e risultati	9
2.1 Effetto sulla forma	9
2.2 Effetto sul segnale a seconda del contenuto	12
2.2.1 Confronto tra le due fasi continue	12
2.2.2 Confronto tra taglie	15
2.2.3 Confronto tra flussi	18
2.2.4 Confronto tra lunghezze d’onda	21
Conclusioni	24
Bibliografia	26

Introduzione

A partire dagli anni 2000 è stata prodotta tanta plastica quanto quella di tutti gli anni precedenti combinati, un terzo della quale finisce disperso in natura [1]. L'impatto ambientale dovuto al rilascio di materiali plastici è ben noto alla comunità scientifica che, preoccupata dai danni creati a vari ecosistemi, ha iniziato a studiare gli effetti sulla salute umana.

I termini "plastica" e "polimero" sono spesso usati in modo intercambiabile sebbene con "polimero" si intenda più propriamente grandi molecole o macromolecole composte da elementi chimici noti come "unità ripetitive" o monomeri. Con il termine "plastica" ci si riferisce comunemente a materiali commerciali contenenti non solo macromolecole polimeriche ma anche additivi come coloranti, stabilizzanti, modificatori del flusso e altri prodotti chimici necessari per produrre materiali commerciali stabili. I polimeri plastici più comuni, come il polietilene ad alta e bassa densità, il cloruro di polivinile, il polietilene tereftalato, il polipropilene e il polistirene, sono ampiamente utilizzati come componenti essenziali non solo nella produzione di articoli in plastica, polveri per rivestimenti tessili ma anche in sistemi di somministrazione di farmaci, in applicazioni biomediche e come additivi in cosmetici. Le particelle di plastica secondarie, invece, si formano dalla degradazione di plastiche più grandi in ambienti naturali, ad esempio attraverso la degradazione meccanica, microbica e/o la fotodegradazione. Si possono quindi formare residui o detriti di dimensioni variabili e forme diverse, tra cui forme sferiche, angolari, irregolari e fibrose. Si chiamano generalmente Microplastiche (MP) i residui più piccoli di 5 mm, mentre si usa il termine Nanoplastica (NP) per detriti di dimensioni tipicamente inferiori a 1 μm o addirittura a 100 nm. Allo stesso modo delle MP, le NP sono sempre prodotti da vernici, adesivi, veicoli per la somministrazione di farmaci ed elettronica. A causa della loro limitata biodegradabilità, MP/NP possono persistere per lunghi periodi, fino a centinaia di anni, negli ambienti marini e terrestri. Poiché sia le MP che le NP sono ampiamente presenti negli alimenti, nell'acqua e nell'aria, le vie di esposizione per la specie umana più comuni sono l'ingestione e l'inalazione [2-7]. L'acqua in bottiglia nello specifico è una fonte di esposizione prevalente, potenzialmente derivante sia dall'acqua stessa che dall'imballaggio di plastica in cui è contenuta. Secondo uno studio sul consumo umano, ogni anno negli Stati Uniti vengono consumate da 74.000 a 121.000 particelle di microplastica per persona. Le MP e le NP possono essere incorporate nei polmoni e nel tratto gastrointestinale attraverso vari processi dopo essere stati inalati o ingeriti ed esser poi veicolate anche nel sangue umano. Finora, solo un numero limitato di studi ha valutato l'esposizione a MP/NP nell'uomo. Sulla base del consumo di alimenti e acqua potabile negli Stati Uniti, uno studio ha stimato un'esposizione giornaliera a MP di circa 200-220 particelle per persona e la combinazione di ingestione e inalazione di MP produrrebbe una esposizione totale di circa 71.000-81.000 particelle per anno [2-8]. Studi recenti hanno ampliato l'analisi di MP e NP includendo vari prodotti alimentari come miele, pollo, birra, zucchero, sale, bustine da tè, latte, alghe e alcuni tipi di frutta e verdura. Le bustine da tè di plastica, l'acqua in bottiglia e i frutti di mare sono risultate le principali fonti di esposizione alle MP/NP ma livelli particolarmente elevati di MP sono stati segnalati anche nella frutta e nella verdura. La maggior parte delle MP e delle NP potenzialmente dannose per l'uomo è costituita da polietilene tereftalato (PET), polistirene (PS) e cloruro di polivinile (PVC). In studi di laboratorio, è stato riscontrato che queste plastiche influenzano negativamente la vitalità delle cellule e innescano l'espressione di geni infiammatori, rilasciando composti potenzialmente cancerogeni. Le plastiche, compresi i MP/NP, possono contenere sostanze pericolose e composti che alterano il sistema endocrino, come gli ftalati e

il bisfenolo A. Queste sostanze sono state associate a diversi problemi di salute nell'uomo, come alterazioni epigenetiche, tossicità riproduttiva, insulino-resistenza, diabete di tipo II, obesità, anomalie scheletriche, allergie, asma e cancro. La valutazione dell'impatto dell'esposizione umana alle MP/NP è particolarmente complessa vista la piccola dimensione dei residui in esame; è complicata inoltre dal fatto che i metodi analitici ad oggi in uso, come il campionamento dell'aria per stimare l'inalazione umana e la deposizione umida/ secca per il monitoraggio del MP totale, richiedono un campionamento specializzato, con procedure di trattamento successive dei residui plastici in base al tipo di campione sottoposto ad analisi. L'identificazione delle MP è comunemente effettuata da tecniche analitiche quali μ -FTIR, SEM-EDX, microscopia a fluorescenza e μ -Raman. Queste però non sono efficaci per le NP, la cui taglia ridotta cade sotto il limite di rivelabilità di tali tecniche a meno di usare microscopi ad alta risoluzione. Attualmente infatti non esistono tecniche consolidate per calcolare la quantità di MP presenti nei campioni biologici [8]. La maggior parte dei test tossicologici ambientali che coinvolgono le MP utilizzano procedure che implicano infatti il processamento chimico di campioni biologici per estrarre, identificare e quantificare le MP. Sono stati impiegati vari metodi che utilizzano agenti alcalini, acidi, ossidanti, enzimi o combinazioni di questi agenti. Queste procedure mirano a rimuovere la materia organica e separarla dalle particelle di plastica. Le concentrazioni specifiche di reagenti, tempo di reazione e temperatura possono influenzare l'efficienza di estrazione, rendendo alcuni protocolli più adatti di altri in base alle condizioni di studio. Le procedure post-analisi comportano comunemente la filtrazione della soluzione utilizzando filtri come membrane in fibra di vetro, nitrato di cellulosa o acetato di cellulosa, seguita dal lavaggio per identificare e quantificare le MP che potrebbe essere sotto-stimata se le MP rimangono attaccate alle membrane. Nonostante i progressi compiuti, una maggiore comprensione di questo problema ambientale pervasivo richiede ancora metodologie standardizzate e ulteriori ricerche sulle interazioni MP-ambiente. Nel tentativo di standardizzare l'analisi delle MP nei campioni di acqua, è attualmente in fase di sviluppo lo standard ISO/DIS 16090-2, che impiega una tecnica di microscopia abbinata alla spettroscopia vibrazionale. I dati così generati dovrebbero essere affidabili e comparabili quando si esamina la presenza di MP in acque pulite con la spettroscopia infrarossa in trasformata di micro-Fourier (μ FTIR) e la spettroscopia micro-Raman.

In questo contesto si inserisce quindi il presente studio che è volto a testare un nuovo dispositivo per la rivelazione delle microplastiche in volumi di fluido dell'ordine dei nL. Come sopra riportato l'enorme variabilità delle MP presenti in natura in forma, struttura, colore e concentrazioni ne rende la rilevabilità estremamente complessa, nonché molto costosa. Il Lab-On-a-Chip è un dispositivo che sfrutta la combinazione di ottica e microfluidica fornendo un metodo di rilevazione e identificazione per le microplastiche facilmente riproducibile e proponendosi come device compatto per una potenziale produzione scalabile a livello industriale. Il presente è uno studio preliminare di questa piattaforma e delle sue prestazioni: verranno usate MP di produzione industriale per avere controllo sulla dimensione e sulla composizione delle stesse che si andranno a studiare in goccia (ambiente isolato permette di ridurre le interazioni con l'esterno). Note quindi le specifiche di queste sospensioni di microplastiche si andrà ad analizzarne le firme spettrali proponendo diverse tecniche per l'identificazione delle stesse.

Lo studio svolto in questa tesi si sviluppa in due capitoli:

- Nel *Capitolo 1* viene presentato l'apparato sperimentale con particolare attenzione al Chip di Niobato di Litio e le sue proprietà.
- Nel *Capitolo 2* viene condotta l'analisi partendo dallo studio della forma della goccia a seconda della fase continua utilizzata, proseguendo con la valutazione di come varia il segnale del contenuto cambiando diversi parametri: concentrazione, taglia delle sfere, settaggio dei flussimetri e lunghezza d'onda del laser utilizzato.

Optofluidica: un approccio innovativo all'environmental sensing

L'optofluidica, ovvero la combinazione sinergica di ottica e microfluidica, è stata recentemente in prima linea nello sviluppo di nuovi metodi di sensing [9, 10] grazie alle notevoli possibilità offerte in termini di affidabilità, portabilità e rilevazione in tempo reale.

La microfluidica permette la manipolazione di piccoli volumi (tra il nL e il pL) di fluido e la sua combinazione con stadi ottici integrati sullo stesso substrato permette di ottenere una notevole rapidità di analisi, un'elevata sensibilità e un ridotto impatto sul campione che si intende investigare.

La versatilità dell'optofluidica, unita al fatto che recentemente sono stati rilevati con successo numerosi target di varia natura (per esempio patogeni, tossine, biomarcatori) [9], ha suggerito potenziali prospettive per rilevare contaminanti attraverso l'uso dei dispositivi Lab-On-a-Chip.

1.1 Apparato sperimentale

L'apparato sperimentale usato per la rilevazione delle microplastiche è composto da più elementi quali una piattaforma opto-fluidica integrata in un substrato di Niobato di Litio (LiNbO_3 , LN), comunemente denominata *chip*, insieme a elementi microfluidici, ottici, meccanici ed elettronici che ne permettono il funzionamento. Nel seguito saranno descritti gli elementi costitutivi.

1.1.1 Chip in Niobato di Litio

Le prestazioni del Lab-On-a-Chip sono strettamente legate al materiale utilizzato come substrato: il Niobato di Litio è un materiale isolante ben noto nel campo dell'ottica integrata grazie alle sue peculiari proprietà elettro-ottiche, ottiche non lineari, piezoelettriche e fotorefrattive, che permettono l'accoppiamento con dispositivi microfluidici. L'alta resistenza chimica e la biocompatibilità del LN, insieme alla sua elevata trasmissione ottica nell'intervallo 350-3500 nm e alla sua facile interfacciabilità con polimeri e vetri, lo qualificano come una scelta ottimale per applicazioni biologiche, chimiche e mediche. È un cristallo ferroelettrico artificiale che si presenta solido a temperatura ambiente e, nonostante la difficile manipolazione, la prospettiva di sfruttarne le superiori proprietà fisiche e ottiche ha portato allo sviluppo di diverse tecniche per la realizzazione di strutture incise su questo substrato, come ad esempio microcanali [11].

Il Chip è strutturato come nelle figure riportate di seguito: è costituito da uno stadio ottico e uno microfluidico integrati nello stesso substrato costituiti rispettivamente da delle guide di luce e un canale microfluidico complanari e ortogonali tra loro.

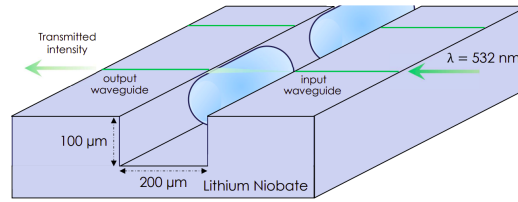


Figura 1.1: Stadio ottico e microfluidico integrati.

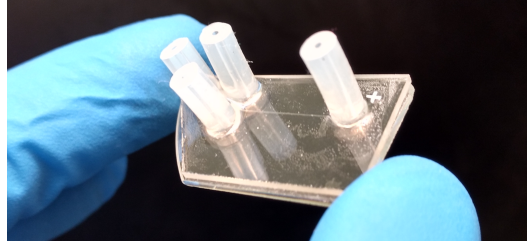


Figura 1.2: Foto del dispositivo Lab-On-a-Chip con guida dritta.

1.1.2 Stadio ottico

Lo stadio ottico del chip consiste in guide di luce in cui la luce viene confinata grazie alla riflessione totale interna, ottenuta grazie all'aumento locale dell'indice di rifrazione del materiale in una striscia di pochi micrometri di larghezza e profondità e qualche centrimetro di lunghezza. La geometria è mostrata in fig.1.3.

Queste guide di luce vengono realizzate grazie a un processo di diffusione termica locale di titanio descritto in dettaglio in [11].

La luce confinata si propaga in queste fino a quando non viene interrotta dal canale microfluidico, e, dopo aver interagito con il contenuto del canale, è trasmessa nella guida di output. Il segnale in uscita sarà poi rilevato da un fotorivelatore e pre-processato da un'opportuna elettronica.

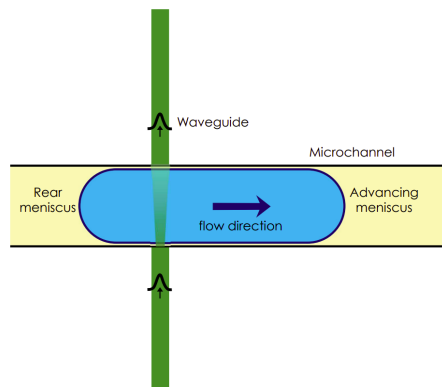


Figura 1.3: Figura rappresentativa dell'intersezione tra guida di luce e canale microfluidico.

1.1.3 Stadio microfluidico

Lo stadio microfluidico consiste di due canali della larghezza media di $(200 \pm 1)\mu m$ e profondità media di $(100 \pm 1)\mu m$ disposti a croce, realizzati tramite un processo meccanico di asportazione del substrato per abrasione, anche detto microcutting.

Questa tecnica è ottimale poichè garantisce la miglior costruzione in termini di finitura superficiale dei canali e assicura di non alterare le proprietà fisiche del cristallo.

Il circuito microfluidico viene poi sigillato con un coperchio in vetro scelto per le sue buone proprietà e compatibilità con il LN attraverso delle connessioni microfluidiche di silicone (figura 1.2 e 1.4) ed i canali microfluidici vengono funzionalizzati con OTS¹ per modificarne le proprietà di bagnabilità permettendo così la propagazione di un flusso laminare all'interno del canale.

Una descrizione più dettagliata del processo di costruzione del chip e delle sue specifiche è riportata in [10–13]

. Di seguito vengono riportate le immagini relative a quanto appena descritto.

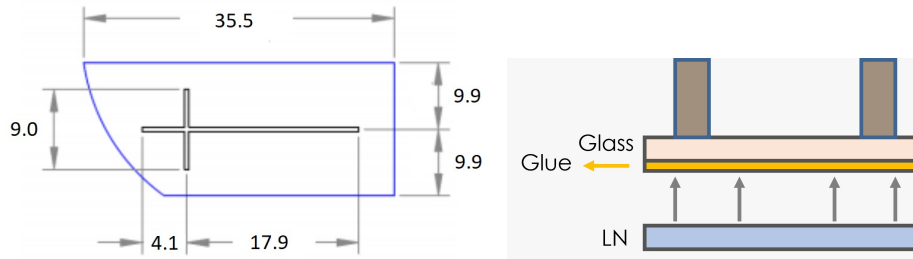


Figura 1.4: Componenti stadio microfluidico.

1.2 Apparato sperimentale e condizioni operative

Il chip è montato su una piattaforma meccanica che attraverso delle viti permette di regolare la posizione spaziale del chip attraverso sei gradi di libertà (tre rotazionali e tre traslazionali) in modo da poter allineare le guide ottiche con il fotodiodo che acquisisce il segnale luminoso trasmesso attraverso il canale.

Al di sotto di questa piattaforma viene posizionata una videocamera monocromatica (acA800-510um, Basler, Ahrensburg, Germany) ad alta velocità e obiettivo 10x che permette di visualizzare cosa succede nel canale microfluidico in tempo reale attraverso un secondo computer.

Il modulo microfluidico ha le specifiche descritte in [10] ed è costituito da una pompa pneumatica Elveflow OBI Mk3 dotata di tre canali con un range di pressione 0-8 bar e il controllo del flusso è realizzato in feedback attraverso tre flussimetri BFS Coriolis10 sfruttando, come suggerisce il nome, l'effetto Coriolis.

Per la parte di componenti ottiche sono stati utilizzati due laser in continua alla lunghezza d'onda di $\lambda = 532$ nm (verde) e $\lambda = 633$ nm (rosso) rispettivamente con una potenza di 7.35 mW e 9.40 mW, misurate con un power meter FieldMaxII-TO (Coherent Inc.).

La luce emessa dal laser viene focalizzata sulla guida in ingresso con un obiettivo 20x e poi raccolta in uscita con un obiettivo 50x in modo che venga condotta su un fotodiodo.

Quest'ultimo comunica il segnale digitalizzato all'elettronica costituita da una scheda di acquisizione collegata a un PC, permettendo la visualizzazione del segnale.

Posto il chip sulla base meccanica si procede ad accoppiare il laser a una guida di luce. La luce si accoppia in una guida ottica andando ad interagire con la goccia d'acqua e con le microparticelle in essa disperse subendo processi di trasmissione, riflessione e assorbimento. Tutto questo si tradurrà in una variazione della trasmittanza ottica nel segnale raccolto in uscita dal fotodiodo.

Analizzando poi il segnale registrato relativo all'intensità trasmessa è possibile rilevare la presenza di microplastiche e cercare di individuarne le caratteristiche (dimensione, concentrazione e materiale).

La generazione delle gocce da analizzare viene effettuata chiudendo uno dei due bracci della croce microfluidica attraverso le connessioni in silicone e realizzando una T-junction (fig: 1.5).

Per questo processo servono due fasi liquide distinte immiscibili che chiameremo *fase continua* e *fase dispersa*: queste due fasi, grazie alla pressione data a monte dalla pompa sulla fase continua e il contatto con le interfacce, permettono che si generino dei "treni" di gocce la cui taglia può essere variata impostando opportunamente i flussi delle fasi tramite controllo dal PC. La con dispersione in termini di taglia e velocità è inferiore al 2-3 %.

La variazione di questi flussi, chiamati in seguito rispettivamente Q_c e Q_d per la fase continua e quella

¹ $CH_3(CH_2)_{17}SiCl_3$

dispersa, modifica la lunghezza, la shape e la velocità delle gocce prodotte: questo è dovuto a un effetto combinato delle forze agenti tra i due fluidi in relazione alla diversa viscosità e tensione superficiale.

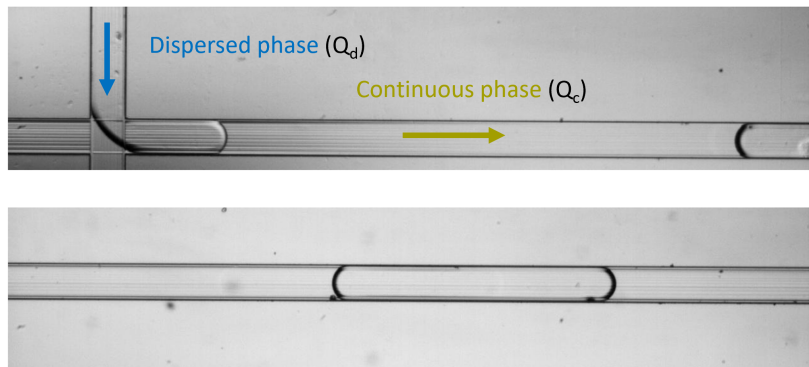


Figura 1.5: Generazione gocce con fase continua e dispersa.

Si è infine preso un'ulteriore accorgimento nell'assemblaggio del sistema: per evitare che i flussimetri venissero danneggiati da eventuali componenti solide presenti nella fase dispersa è stato realizzato un gavitello bionico.

Quest'ultimo è stato costruito tramite l'assemblaggio di due puntali di micropipetta tramite colla a polimerizzazione UV ed è stato collegato al canale d'uscita di un flussimetro e al chip tramite i cilindretti di silicone.

Il gavitello è stato successivamente riempito da un lato, quello collegato al chip, con la fase dispersa, mentre dall'altro lato è stato riempito con il fluido proveniente dal flussimetro che funge da liquido spingente. Questo trasmette la pressione generata dalla pompa pneumatica alla fase dispersa, consentendole di entrare nel canale microfluidico.

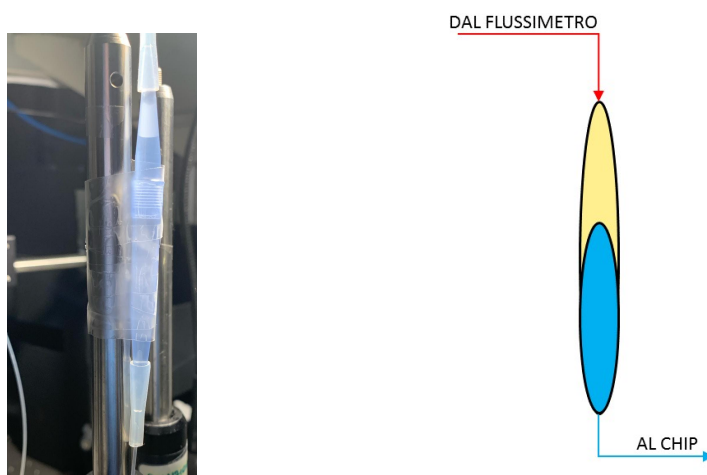


Figura 1.6: Foto e rappresentazione schematica del gavitello bionico realizzato.

Riportiamo di seguito una raffigurazione schematica dell'apparato ottico raffigurante la disposizione spaziale rispetto al chip.

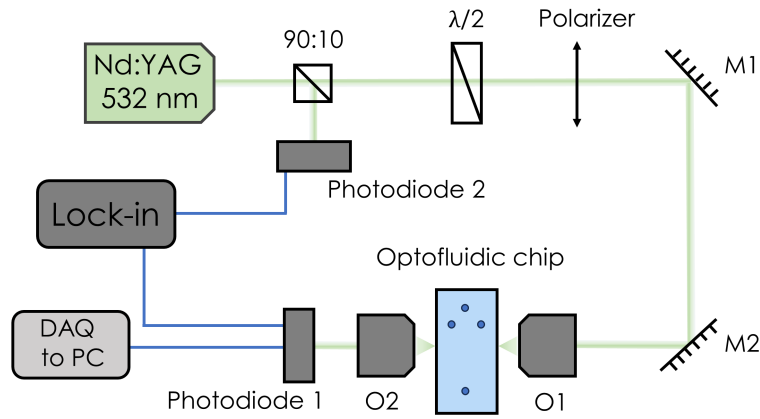


Figura 1.7: Rappresentazione schematica del modulo ottico dell'apparato sperimentale.

1.3 Preparazione delle soluzioni con microplastiche

Nello studio proposto in questa tesi si è cercato di verificare il grado di rilevabilità di nanoparticelle polimeriche disperse in gocce d'acqua con volumi di fluido di una decina di nanolitri. Tale valutazione è stata fatta al variare delle dimensioni delle microplastiche (MP), del tipo di concentrazione e delle loro dimensioni.

Per testare la sensibilità dell'apparato sono state quindi preparate soluzioni di diverso tipo: sono state utilizzate sfere di polistirene (PS) di dimensioni di 340nm, 617 nm, 1050nm, 2500nm.

Le soluzioni sono state create usando delle boccette di soluzione madre di produzione commerciale (PS-Research particles PS-R-KM303, Micro Particles GmbH, Berlino, Germania) che sono state poi diluite usando acqua con grado di purezza MilliQ.

In questo processo si è prestata particolare attenzione a non contaminare i campioni di acqua e plastica prestando cura alla pulizia delle pipette e dei becher e usando una bilancia di precisione 10^{-4} g che possiede una schermatura in polimetilmetacrilato (tale da eliminare le possibili interferenze esterne quali spostamenti d'aria nella misurazione dei campioni).

Riportiamo di seguito una tabella con le diverse soluzioni realizzate.

Nome	dimensione sfere (nm)	Concentrazione (mg/g)
C0	617	0.03 ± 0.04
C1	617	0.14 ± 0.03
C2	617	0.23 ± 0.05
C3	617	0.65 ± 0.05
C4	617	1.13 ± 0.04
C1	340	0.13 ± 0.03
C3	340	0.65 ± 0.01
C1	1050	0.13 ± 0.03
C3	1050	0.65 ± 0.01
C1	2500	0.13 ± 0.03
C3	2500	0.65 ± 0.01

Tabella 1.1: Soluzioni microplastiche utilizzate - per la concentrazione si hanno mg di sfere su g di acqua.

Analisi dati e risultati

Come descritto nella sezione precedente (1.2) per il processo di generazione delle gocce da analizzare servono due fasi distinte, una continua e una dispersa. La lunghezza delle gocce, nonché la forma dei menischi, dipendono dalla viscosità della fase continua: nel seguente studio come prima cosa è stato valutato il funzionamento del chip con diversi olii per capire quale desse migliori prestazioni.

Nello specifico per menisco di una goccia d'acqua ci si riferisce alla curvatura superficiale dell'acqua all'interno di un recipiente. Questa curvatura è causata dalla tensione superficiale dell'acqua: l'attrazione intermolecolare tra le molecole di acqua sulla superficie tende infatti a ridurre al minimo l'area superficiale dell'acqua.

Nello specifico sono state testate due sostanze, l'Esadecano con SPAN 80 alla concentrazione del 3% W/W e Novec 7500 con Krytox Peg (surfattante) alla concentrazione del 2 % W/V.

L'Esadecano e il Novec hanno rispettivamente indice di rifrazione di 1.43 e di 1.29 con $\lambda = 532$ nm (verde); rispetto a quello dell'acqua di 1.33 hanno quindi uno un indice leggermente superiore e l'altro leggermente inferiore rispettivamente. L'utilizzo del Novec per la fase continua, con indice minore di quello dell'acqua, favorisce la condizione di riflessione totale interna, e quindi potrebbe comportare un nuovo tipo di interazione luce-materia all'interno della goccia rispetto al caso con Esadecano.

La piattaforma optomicrofluidica è stata progettata per rilevare l'intensità di luce trasmessa attraverso il canale microfluidico. La luce proviene dalla guida di luce che illumina il canale lateralmente ed è raccolta dalla guida di luce sulla parte laterale opposta. Essendo le due guide di luce collineari l'efficienza di raccolta è ottimizzata. La luce così raccolta è guidata al rivelatore il cui segnale è proporzionale all'intensità luminosa così trasmessa. Al variare del contenuto nel canale microfluidico tale intensità luminosa trasmessa varia in funzione dell'indice di rifrazione di tale mezzo. Va da sé che se nel canale microfluidico passano gocce disperse in una fase continua, l'intensità ottica trasmessa e quindi il segnale rilevato dal rivelatore subisce variazioni concordemente all'indice di rifrazione esposto di fronte alla guida di luce.

2.1 Effetto sulla forma

Come prima cosa sono state effettuate delle prove preliminari con un campione senza microsplatiche per verificare la differenza di segnale ottenuta per una goccia d'acqua in Esadecano e per una goccia d'acqua in Novec. A titolo esemplificativo nel seguito si focalizza l'attenzione su specifiche condizioni: Si fissano $Q_c = 10 \mu\text{L} / \text{min.}$ e $Q_d = 8 \mu\text{L} / \text{min.}$ come flussi delle due fasi.

L'acqua usata per la fase dispersa è, come detto in precedenza, acqua Milli-Q: purificata e deionizzata ad un alto livello da un sistema di purificazione (realizzata dalla Millipore Corporation).

Tramite la videocamera posizionata sotto al chip è possibile monitorare il passaggio delle gocce. Si nota qualitativamente come le gocce di acqua pura in Esadecano siano più corte rispetto a quello in Novec e inoltre la forma dei menischi risulta differente (2.1). Va quindi osservato come gocce in Novec, decisamente più lunghe rispetto a quelle in Esadecano, conterranno a parità di concentrazioni più sfere in quanto occupano più volume. Questa caratteristica si ritrova anche confrontando l'intensità della luce trasmessa e acquisita con lo stage ottico.(2.2).

Nelle immagini a seguire *Voltage* si riferisce al segnale acquisito dal rivelatore che è proporzionale all'intensità I_T .

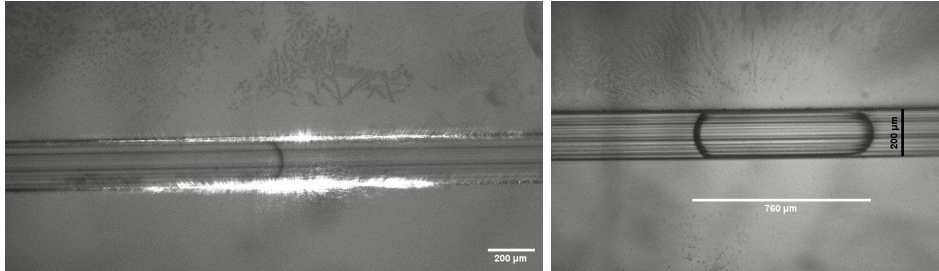


Figura 2.1: Goccia con sfere PS-617nm nel verde; in Novec a sinistra e in esadecano a destra.

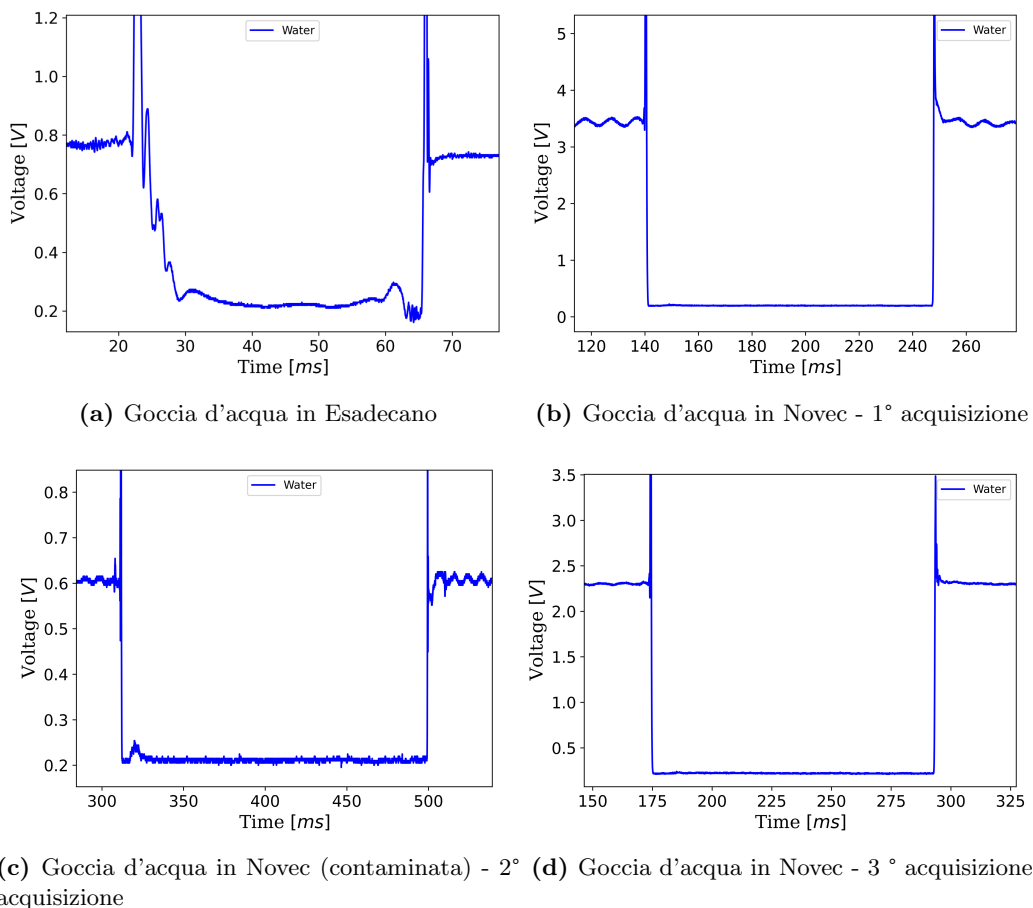


Figura 2.2: Esempi di segnale corrispondente a una singola goccia d'acqua in quattro acquisizioni differenti, con Esadecano (2.2a) e Novec (2.2b, 2.2c, 2.2d) come fasi continue.

L'uso di due fasi continue distinte mostra evidenti differenze tra i grafici dei segnali in tensione: diversa lunghezza temporale, diversa modulazione dei picchi nella parte iniziale e finale del segnale vicino al plateau e, inoltre, si può osservare come nel caso del Novec la parte centrale non presenti

particolari fluttuazioni. Si suppone quindi che usando il Novec si possa avere una maggiore sensibilità a cambiamenti del contenuto della goccia.

È stato ripetuto l'esperimento facendo misure di gocce d'acqua in Novec dopo aver lasciato l'acqua all'interno di un becher per una settimana, in modo da favorirne la contaminazione da agenti esterni, e poi a riprendere gocce d'acqua pura successivamente per verificarne la riproducibilità. Come si vede dai grafici in figura 2.2, in particolare in figura 2.2c, si nota la comparsa di un picco nell'acqua esposta ad agenti esterni di proposito. Dall'altro lato, la figura 2.2d, confrontata con la figura 2.2b, suggerisce una buona riproducibilità della rilevazione, poichè i due segnali ripetuti in due giornate diverse nelle stesse condizioni, quindi con acqua pura, corrispondano anche in termini di lunghezza temporale oltre che di forma entro un 2%.

Definiamo come lunghezza temporale Δt della singola goccia, la distanza temporale tra i due picchi principali (e più alti in termini di voltaggio): nel caso della figura 2.2b, considerando più di 100 gocce, si ottiene $\Delta t = 116 \pm 3$ ms, mentre nel caso di figura 2.2d, si ottiene $\Delta t = 118 \pm 5$ ms, valori ottimamente compatibili. Per il treno di gocce contaminate, si ottiene invece $\Delta t = 160 \pm 11$ ms, a parità di flussi di fase dispersa e continua.

Si può quindi notare come il setup utilizzato sia particolarmente sensibile alle variazioni di contenuto delle gocce prodotte nel caso del Novec. Inoltre, l'utilizzo del Novec permette di disaccoppiare l'effetto della geometria della goccia dall'effetto sul segnale del contenuto: a differenza della goccia d'acqua in esadecano, i due picchi laterali sono l'unico effetto della curvatura dei due menischi della goccia e non sono presenti altre modulazioni nella parte centrale 2.3. Questo aspetto non è mai stato riportato in letteratura prima e rappresenta perciò un risultato di rilievo.

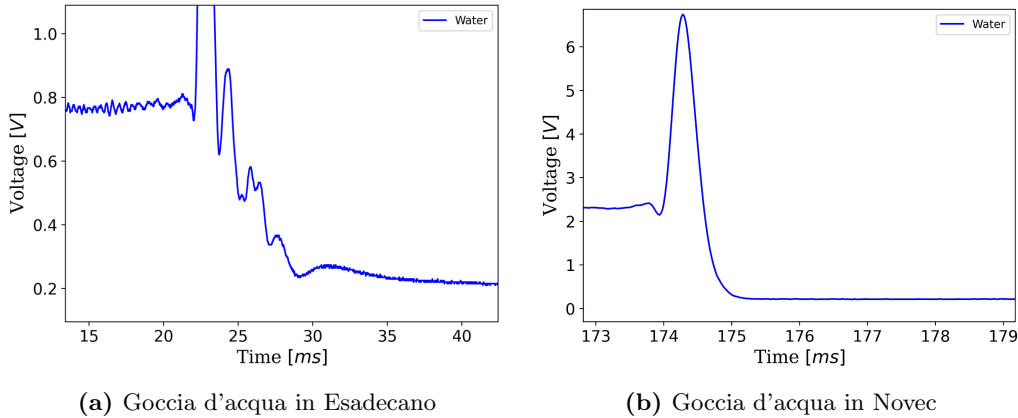


Figura 2.3: Picchi laterali del segnale corrispondente a una singola goccia d'acqua (zoom di figura 2.2a e 2.2b), dovuti alla geometria della goccia.

Per poter caratterizzare quantitativamente questi segnali ed estrarre informazioni quantitative sulla presenza di contaminanti, anche considerando la necessità di variare il contenuto delle gocce, si definisce per la goccia i -esima il seguente parametro $I_{N,i}$:

$$I_{N,i} = \frac{1}{V_c \cdot \Delta t_i} \int_{t_{2i+1}}^{t_{2i}} V(t) dt \quad (2.1)$$

$$I_N = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n I_{N,i} \quad (2.2)$$

con n numero di gocce in un treno. Il parametro $I_{N,i}$ corrisponde all'area sottesa dalla parte centrale del segnale, compresa tra i due picchi principali, normalizzata alla lunghezza temporale Δt_i della goccia i -esima e al livello di Esadecano V_c che è presente lateralmente rispetto a quest'ultima. t_{2i} e t_{2i+1} sono invece le posizioni temporali dei due picchi principali.

Si calcola poi I_N , ovvero la media sul treno di gocce assumendo una distribuzione gaussiana e di ampiezza data dalla deviazione standard. Tale parametro è efficiente nella distinzione dell'acqua pura da quella contaminata. A titolo di esempio, nel caso di fig. 2.2c si ottiene come media $I_N = 0.355 \pm 0.006$ mentre per figura 2.2d si ha $I_N = 0.109 \pm 0.003$, ottenendo inoltre un valore di I_N compatibile con quest'ultimo anche nell'altro caso di gocce d'acqua in Novec. Si noti la bassa deviazione standard in entrambi i valori esposti: $\sigma_{I_N}/I_N < 3\%$. Si noti che I_N è andimensionale e che essendo il segnale V proporzionale all'intensità della luce trasmessa attraverso la goccia I_N normalizzato è l'espressione dell'intensità relativa rivelata.

2.2 Effetto sul segnale a seconda del contenuto

2.2.1 Confronto tra le due fasi continue

Il passaggio successivo dello studio è stato introdurre nell'acqua delle sospensioni di microplastiche. Si è continuato il confronto tra Esadecano e Novec per cercare di confermare l'ipotesi fatta sulla maggiore sensibilità data dal Novec. Sono state prese delle polimeriche di polistirene (PS) con diametro 617 nm e, variando la concentrazione di queste nelle gocce, si è andato a vedere il segnale in tensione. Queste sono state scelte poichè di dimensione sufficientemente piccola da non essere distinguibili attraverso l'obiettivo della videocamera, per vedere quindi se era possibile rilevarle attraverso il Lab-On-a-Chip. Riportiamo di seguito l'analisi condotta (figure 2.4 e 2.5).

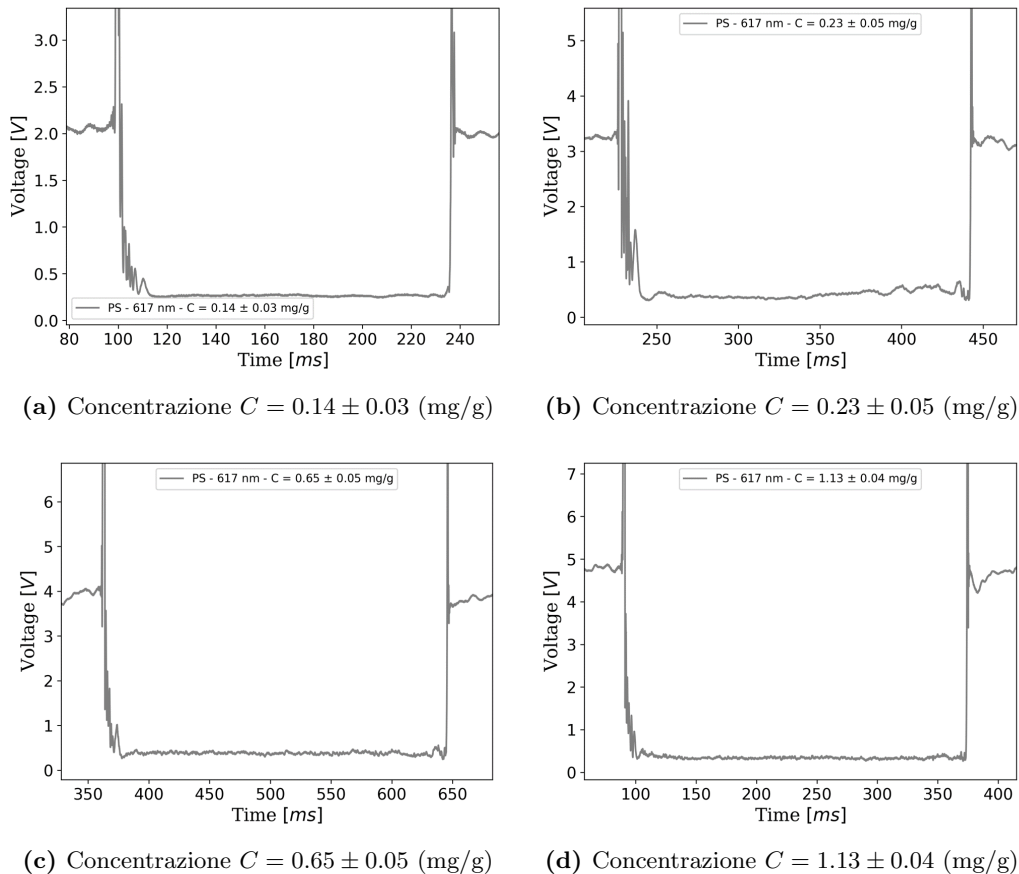


Figura 2.4: Esempi di segnali relativi a una singola goccia d'acqua con microplastiche in Esadecano (10 esadecano-8 milliQ) – Verde – con dimensione fissata di PS 617 nm, per diverse concentrazioni.

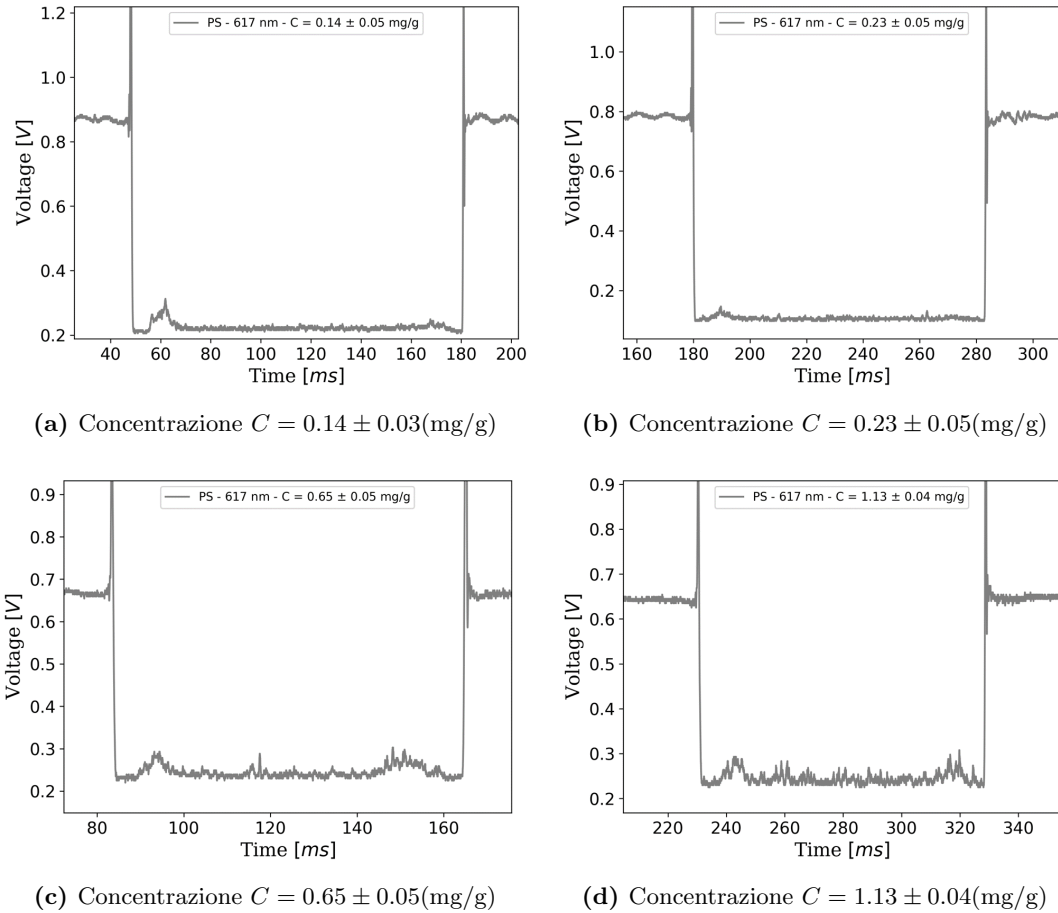
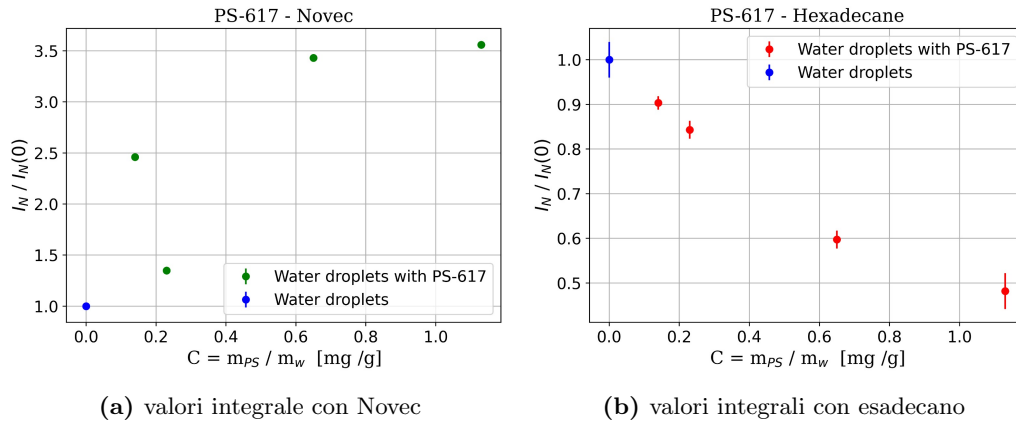


Figura 2.5: Esempi di segnali relativi a una singola goccia d’acqua con microplastiche in Novec (10 esadecano-8 milliQ) – Verde – con dimensione fissata di PS 617 nm, per diverse concentrazioni

Dai segnali in tensione delle singole gocce sopra riportati si vede chiaramente la comparsa di picchi nella parte centrale della goccia sia con l’utilizzo del Novec che dell’Esadecano rispetto alle misure fatte senza sospensioni. Questo dimostra ancora una volta la sensibilità del nostro apparato all’inserimento delle microplastiche nei campioni di acqua, nonché la possibilità di distinguere le diverse concentrazioni poichè i picchi sono tra loro differenti.

I grafici confermano inoltre che l’utilizzo del Novec permette di avere una maggiore sensibilità nella parte centrale del segnale acquisito, poichè questo sembra mostrare una variabilità maggiore dei picchi aumentando la concentrazione.

Sono state inoltre calcolate le quantità sopra definite I_N per le due fasi continue e per le diverse concentrazioni e sono poi state riportate in un grafico per dare una stima quantitativa di come varia l’area dei picchi con le diverse concentrazioni (2.6). Da questi vediamo due trend differenti per le due fasi continue: nel caso dell’uso di Esadecano si ha un andamento decrescente, dovuto probabilmente al fatto che l’interazione prevalente è lo scattering poichè mano a mano andiamo ad aumentare la concentrazione la quantità di luce che raggiunge l’altra parte della guida diminuisce; nel caso del Novec probabilmente si hanno altri fattori in gioco, tra cui la possibilità che più luce sia intrappolata nella goccia per riflessione totale come detto all’inizio del capitolo 2 causa dell’indice di rifrazione minore di quello dell’acqua.



(a) valori integrale con Novec

(b) valori integrali con esadecano

Figura 2.6: Integrali I_N per le due fasi continue per le quattro concentrazioni analizzate con PS 617nm in figura 2.4 e 2.5.

Riportiamo inoltre di seguito (fig.2.7) le immagini effettuate dalla videocamera sotto al chip relative ai quattro segnali in tensione messi sopra (fig.2.5) di PS-617nm in Novec. Queste riportano le foto delle gocce corrispondenti a quattro diverse concentrazioni (riportate nelle labels).

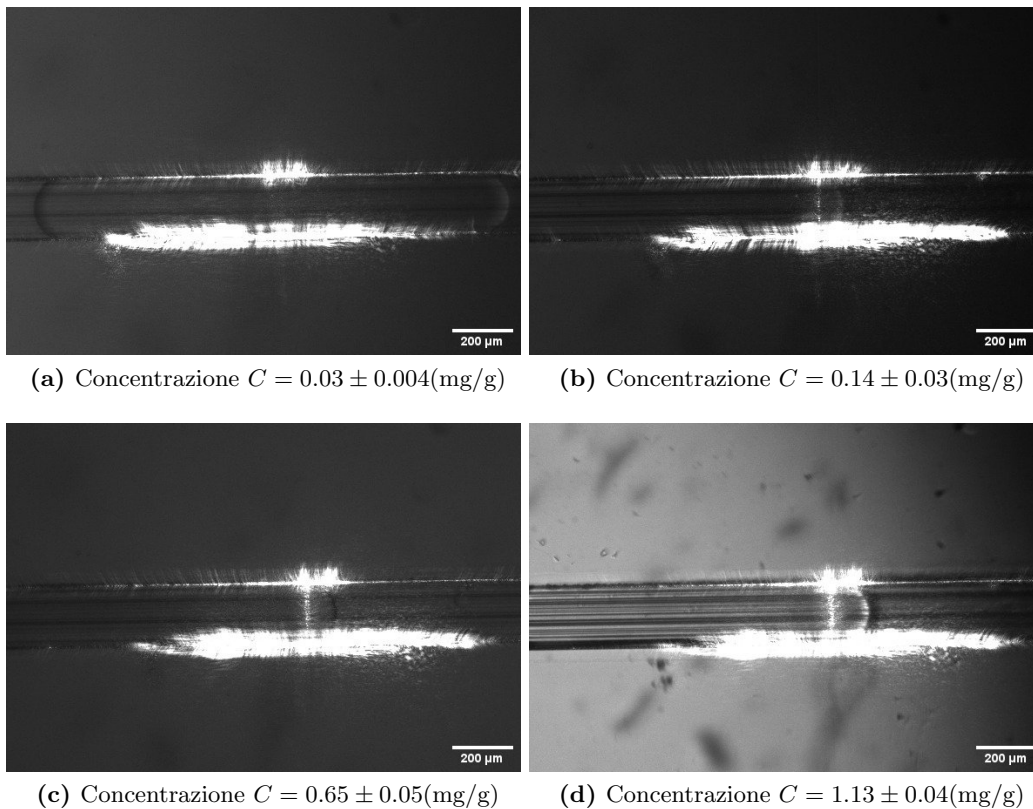


Figura 2.7: Foto di singole gocce in Novec con PS-617 per diverse concentrazioni riprese dalla telecamera sotto il chip.

Da queste immagini si può vedere come il fascio di luce centrale alla goccia diventi sempre più intenso mano a mano che la concentrazione aumenta. Si precisa che alcune immagini sono state acquisite a bassa luminosità (e quindi sono più "buie") perchè le condizioni di luce sono state adattate a mettere in evidenza il fascio che attraversa la goccia.

Le immagini testimoniano ancora una volta come per una goccia immersa in Novec posso qualitativamente vedere il fenomeno di riflessione totale interna. É infatti più probabile che con questo olio, più luce venga "intrappolata" all'interno della goccia, favorendo quindi l'interazione con ciò che è disperso

e quindi aumentando anche la luce che viene scatterata un po' in tutte le direzioni a seconda di cosa incontra.

2.2.2 Confronto tra taglie

Confermato per quanto appena detto che il dispositivo utilizzato è in grado di rilevare microplastiche della dimensione 617nm, si è proseguito con lo studio di possibili metodi per l'identificazione delle MP. Fissando la concentrazione a C1, sufficientemente diluita per i nostri scopi, si è andati a variare la taglia delle sfere per testare la capacità di distinguere microplastiche di diverse dimensioni. Sono state utilizzate taglie di 340nm, 617nm, 1050nm e 2500 nm.

L'analisi è stata svolta calcolando in primo luogo gli integrali (fig: 2.8 e 2.9) sia per Novec che per Esadecano le quattro taglie di sfere e rappresentando il tutto tramite degli istogrammi.

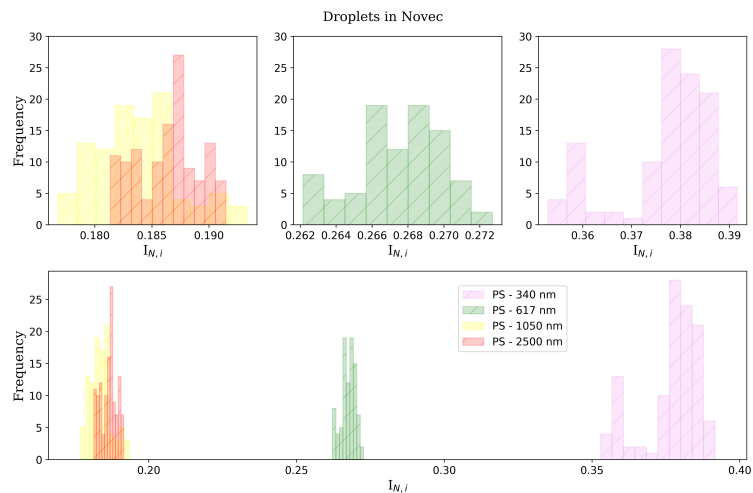


Figura 2.8: Integrale a concentrazione fissata in Novec per diverse taglie di sfere di MP.

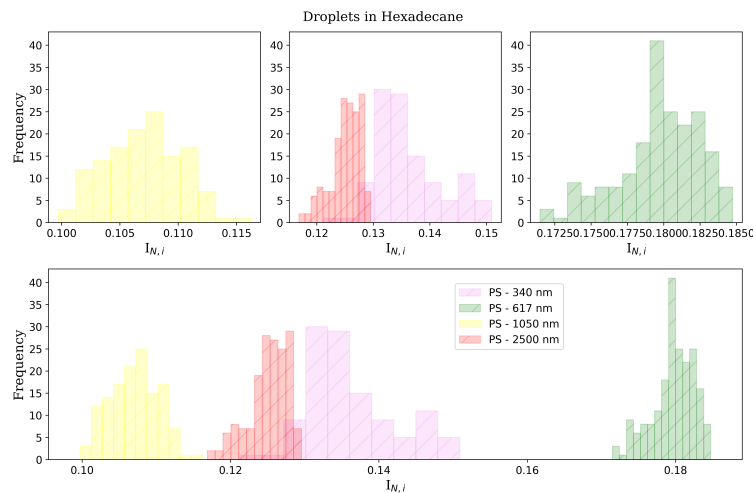


Figura 2.9: Integrale a concentrazione fissata in Esadecano per diverse taglie di sfere di MP.

Si osserva in particolare che la distribuzione delle particelle a 340nm tende avere una struttura composta da due componenti (vedi fig: 2.8, $I_{N,i} = 0.355$ e $I_{N,i} = 0.383$) che non può essere attribuita a polidispersione indotta da aggregazione di due particelle contigue dato che il segnale delle particelle a 617nm è decisamente non compatibile essendo centrato a $I_{N,i} = 0.27$.

Da questi grafici si vede come I_N , ovvero la media sul treno di gocce dell'area sottesa dalla parte centrale del segnale sia maggiore nel caso del Novec, ad indicare come i picchi in questo caso siano più prominenti e visibili.

Si è quindi deciso da qui in poi di usare solo il Novec per lo studio del contenuto della goccia per quanto detto precedentemente e più volte confermato dai risultati sperimentali: si ha una maggiore sensibilità nella parte centrale della goccia e si ottiene una forma della goccia maggiormente simmetrica, che porta a una migliore distribuzione del contenuto.

Riportiamo di seguito i grafici relativi ai segnali in tensione delle singole gocce immerse in Novec per le quattro taglie delle sfere di microplastiche. È da questi ben visibile la differenza nella disposizione, nella prominente e nella quantità dei picchi per le diverse taglie.

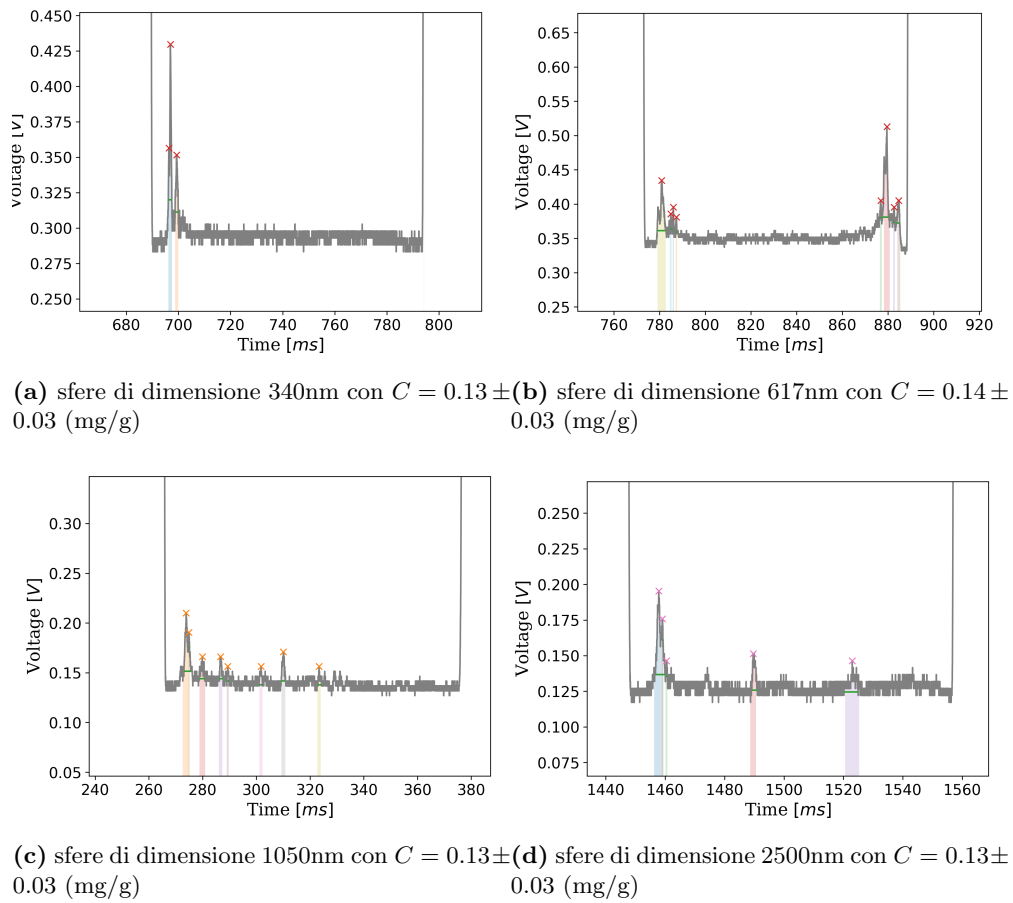


Figura 2.10: Esempi di segnali relativi a una singola goccia d'acqua in Novec con sfere in PS e concentrazione fissa - ricerca dei picchi dovuti alla presenza di MP.

Si è proseguita l'analisi cercando di quantificare le differenze tra queste quattro situazioni al fine cercare un possibile metodo per identificare le firme spettrali delle diverse taglie di sfere.

Un primo approccio è stato fatto andando a vedere la distribuzione della posizione temporale dei vari picchi nella goccia (fig: 2.12). Si è poi concentrata l'attenzione sulla distribuzione temporale del primo picco poichè si è notato essere sempre presente, abbastanza pronunciato e circa nella stessa posizione (fig: 2.11).

Si precisa che in quest'ultimo grafico il Δt^* è calcolato nel seguente modo: è stata presa la posizione temporale relativa al primo massimo nella goccia, chiamata t_1 , si sono chiamati poi t_{m1} e t_{m2} i tempi relativi ai massimi dati dai menischi e si è definito $\Delta t^* = \frac{(t_1) - (t_{m1})}{t_{m2} - t_{m1}}$. Essendoci quindi al denominatore la larghezza temporale si ha una quantità adimensionale compresa tra 0 e 1. Avere valori di Δt^* prossimi allo zero indica che il primo massimo cade sulla parte iniziale della goccia, mentre avere valori prossimi a uno indica che sarà collocato nella parte finale della goccia. I grafici riportati nello

specifico mostrano che la maggioranza delle gocce hanno effettivamente il primo picco prossimo al primo menisco.

Tali risultati suggeriscono che si potrebbe usare la posizione temporale di questo primo picco per distinguere le diverse concentrazioni.

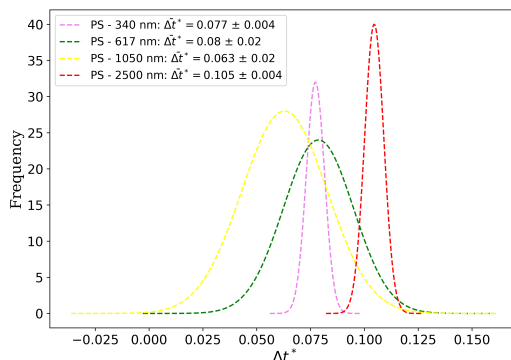


Figura 2.11: Distribuzione del primo picco all'interno di una singola goccia d'acqua per quattro dimensioni differenti di microplastiche - distribuzione con fit gaussiano - si mette in evidenza la diversa posizione del centroide.

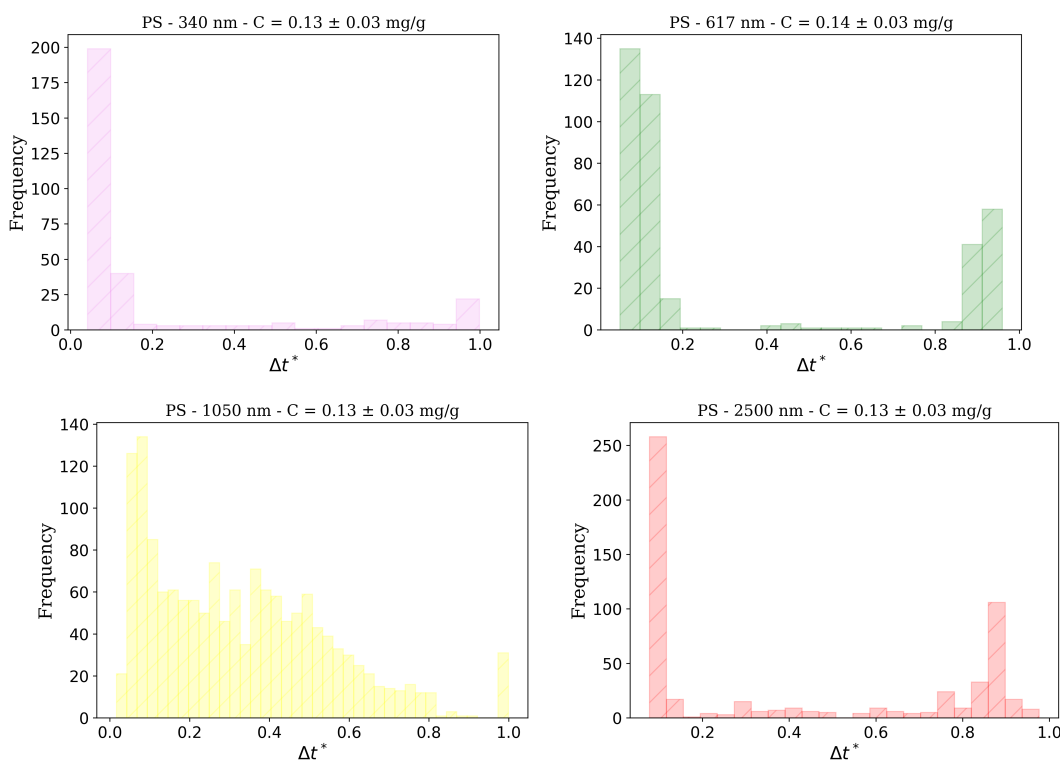


Figura 2.12: Distribuzione di tutti i picchi all'interno di una singola goccia d'acqua per diverse dimensioni delle sfere di microplastiche.

Il grafico 2.12 mostra che per le sfere 340nm, 617nm, e 2500nm i picchi sono quasi tutti distribuiti all'inizio, con una piccola popolazione sulla parte finale della goccia; per il caso 1050nm ho che i picchi sono distribuiti soprattutto nella parte iniziale e poi ne ho alcuni al centro.

Infine si riporta il grafico relativo alla distribuzione dell'area dei picchi all'interno di una singola goccia, dove A_{peaks} è l'area di un singolo picco individuato mentre A_i è l'area sottesa da tutta la goccia tra i due picchi relativi ai menischi. Abbiamo quindi che l'area di ogni picco è normalizzata all'area totale della goccia, restituendoci una quantità adimensionale ancora una volta compresa tra 0 e 1. L'area

nello specifico mi permette di quantificare la quantità e la prominenza dei picchi, infatti più area ho, maggiore è il numero e la dimensione dei picchi. Anche qui è possibile vedere dagli istogrammi come le aree dei picchi varino a seconda delle taglie delle sfere utilizzate, fornendo un altro possibile metodo di identificazione.

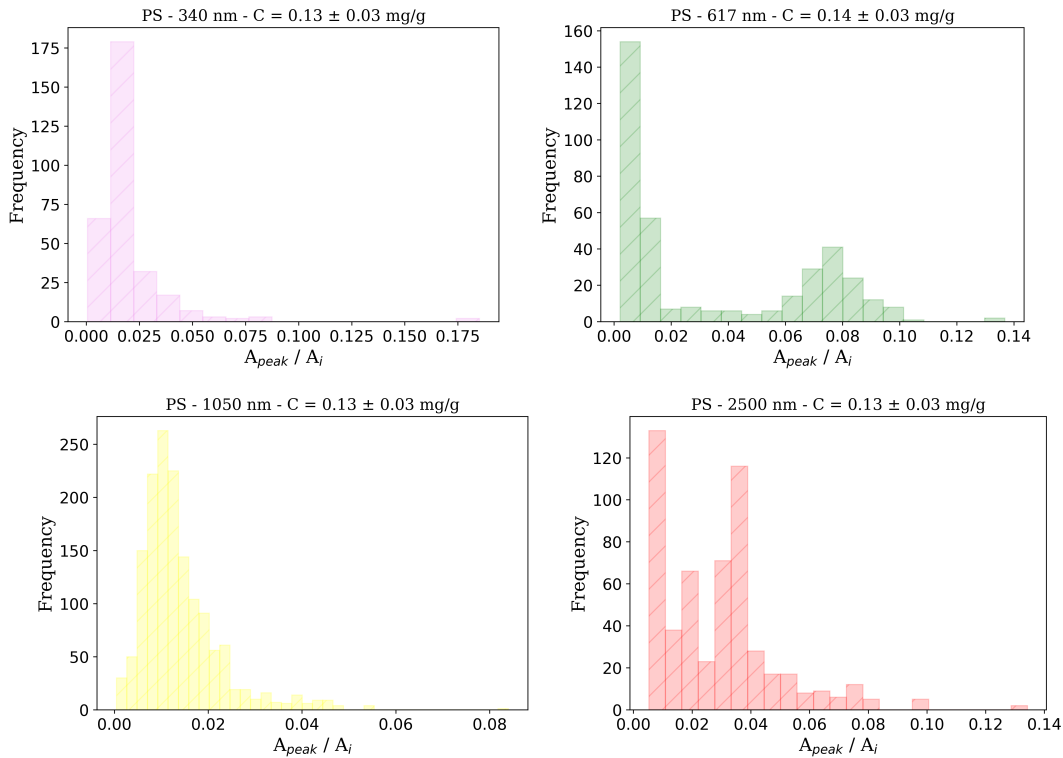


Figura 2.13: Distribuzione dell'area dei picchi all'interno di una singola goccia d'acqua per quattro dimensioni differenti di microplastiche.

Dall'analisi svolta si può concludere che si riescono a rilevare in modo chiaro le sfere di dimensione 340nm quindi si può dare questa dimensione come limite minimo di rilevabilità del nostro apparato.

2.2.3 Confronto tra flussi

Si è proseguito nello studio variando i flussi settati per la fase continua e dispersa: cambiando i flussi le gocce generate dal nostro apparato variano in dimensione e velocità e questo porta a una diversa disposizione del contenuto. Studiare come cambia la disposizione del contenuto può aiutare a distinguere ancora una volta le diverse taglie di sfere tra di loro.

La lunghezza delle gocce prodotte e la forma dei menischi nello specifico è proporzionale al rapporto $\frac{Q_d}{Q_c}$ e ciò si spiega con l'effetto combinato delle forze agenti tra i due fluidi, in relazione alla diversa viscosità e tensione superficiale. Abbiamo fatto variare quindi il rapporto tra fasi passando da 10MilliQ - 8Novec a 10MilliQ - 2Novec. Indichiamo nel seguito $\phi = \frac{Q_d}{Q_c}$.

Precisiamo inoltre che in questo paragrafo non abbiamo analizzato le sfere di dimensione 2500nm ma solo le tre taglie inferiori: poichè lo studio in questione è volto a sondare se è possibile rilevare e identificare soprattutto le sfere più piccole ci siamo concentrati su queste e ci siamo disinteressati della taglia più grande (già visibile ad occhio nudo). Questo è motivato anche dal fatto che le particelle di diametro maggiore a 1050nm già dalla precedente analisi erano ben distinguibili dalle altre e si vuole in questo studio quantificare il potere risolvante dell'approccio di misura proposto.

Un primo studio è stato fatto ripercorrendo l'analisi del paragrafo precedente (par.2.2.2), settando i flussimetri a 10MilliQ - 2Novec invece che a 10MilliQ - 8Novec. Riportiamo di seguito i grafici dell'analisi.

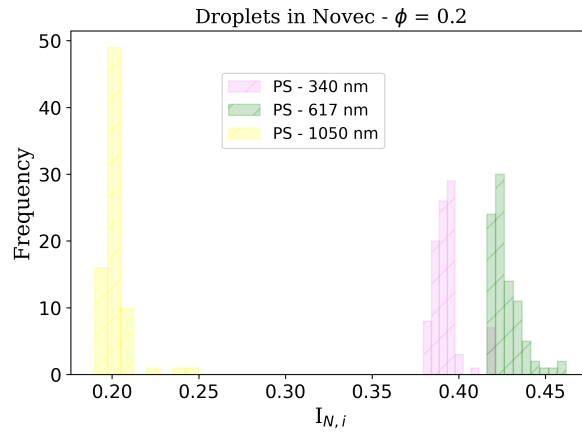


Figura 2.14: Integrale a concentrazione fissata in Novec per diverse taglie di sfere di MP - (10Novec-2MilliQ).

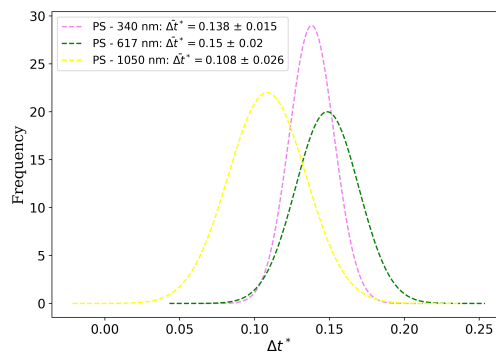


Figura 2.15: Distribuzione del primo picco all'interno di una singola goccia d'acqua per quattro dimensioni differenti di microplastiche - distribuzione con fit gaussiano - (10Novec-2MilliQ) - si mette in evidenza la diversa posizione del centroide.

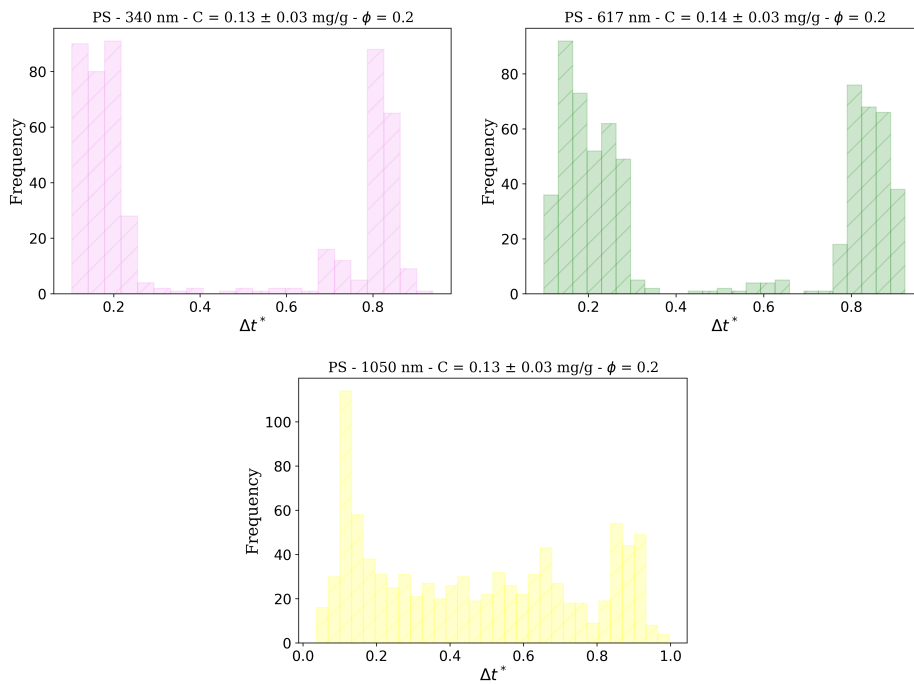


Figura 2.16: Distribuzione di tutti i picchi all'interno di una singola goccia d'acqua per quattro dimensioni differenti di microplastiche - (10Novec-2MilliQ).

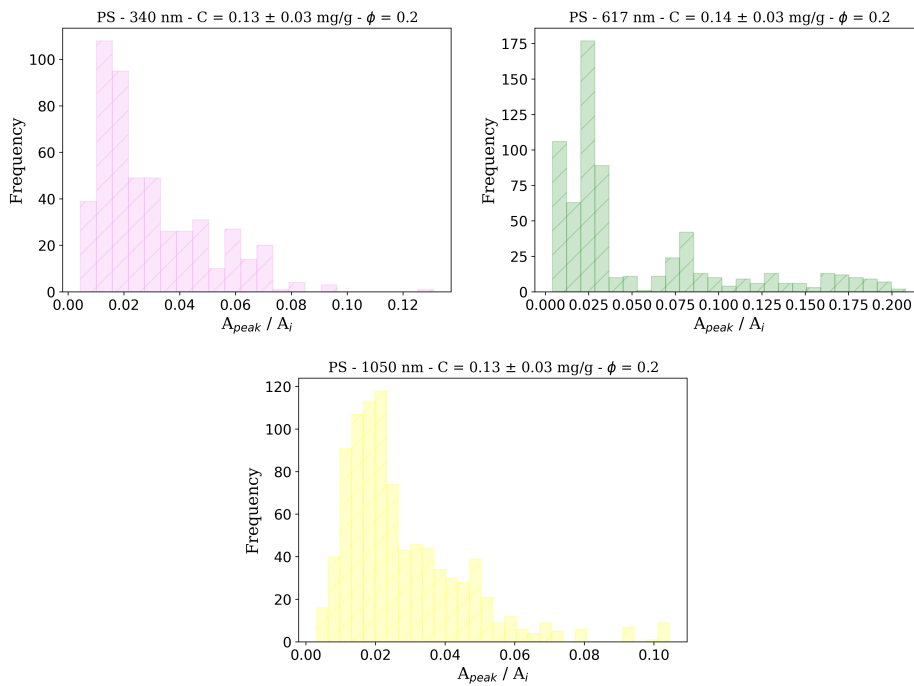


Figura 2.17: Distribuzione dell'area dei picchi all'interno di una singola goccia d'acqua per quattro dimensioni differenti di microplastiche - (10Novec-2MilliQ).

Si può vedere che le diverse impostazioni dei flussimetri portano a una variazione della distribuzione dei picchi. Si è poi proseguita l'analisi fissando la concentrazione a C1 e la taglia a PS-1050 e confrontando i picchi per diversi ϕ .

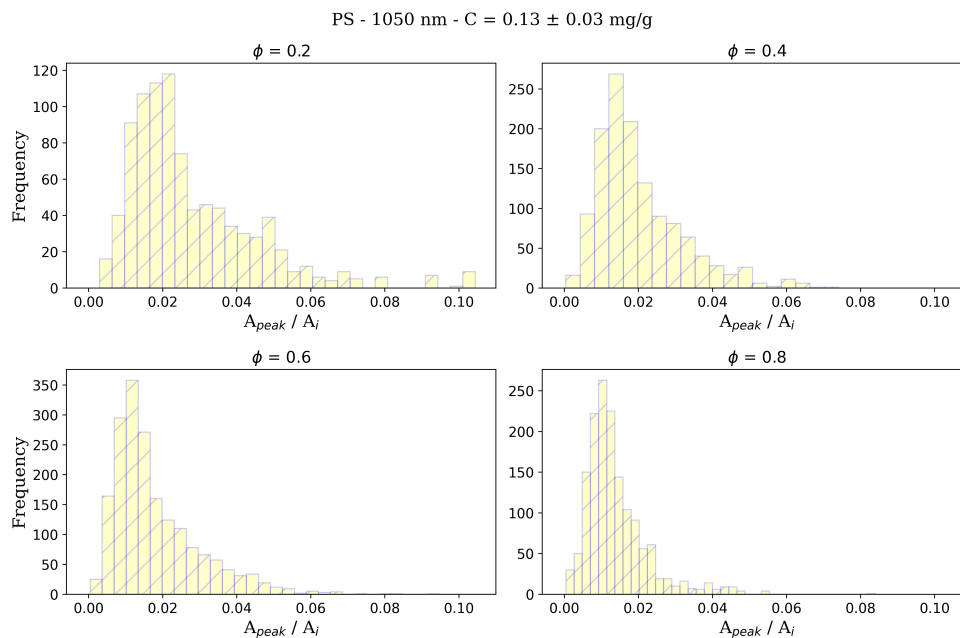


Figura 2.18: Distribuzione dell'area dei picchi all'interno di una singola goccia d'acqua a concentrazione e taglia di sfere fissa per diversi flussi.

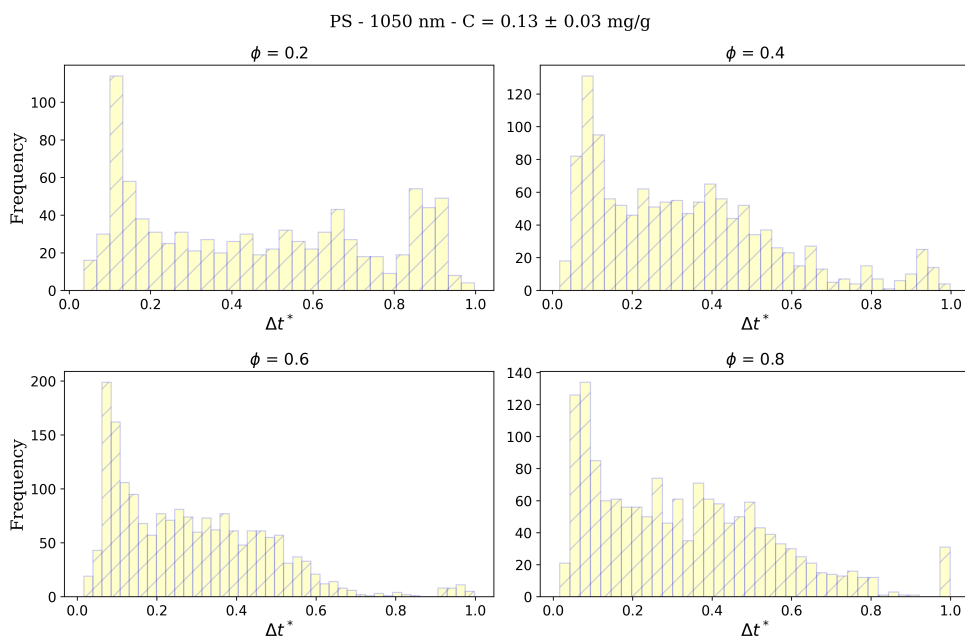


Figura 2.19: Distribuzione di tutti i picchi all'interno di una singola goccia d'acqua a concentrazione e taglia di sfere fissa per diversi flussi.

Dai risultati qui ottenuti possiamo concludere come la variazione della geometria della goccia porti a una redistribuzione del contenuto all'interno della stessa, e come il nostro dispositivo sia ben sensibile a queste variazioni. Anche questo è quindi un metodo valido per l'identificazione delle MP di diverse taglie.

2.2.4 Confronto tra lunghezze d'onda

Infine si è provato a cambiare la lunghezza d'onda del laser usato per illuminare le gocce ed a valutare come varia il segnale. Questo sempre con l'obiettivo di valutare la risposta ottica data dall'interazione di luce confinata con le gocce contenenti MP in modo da investigare ulteriori possibili metodi per la loro identificazione. Riportiamo di seguito i grafici trovati nell'analisi svolta usando, ancora una volta, i metodi utilizzati nel paragrafo 2.2.2, ripercorsi utilizzando un laser in luce continua con $\lambda = 633\text{nm}$ (rosso).

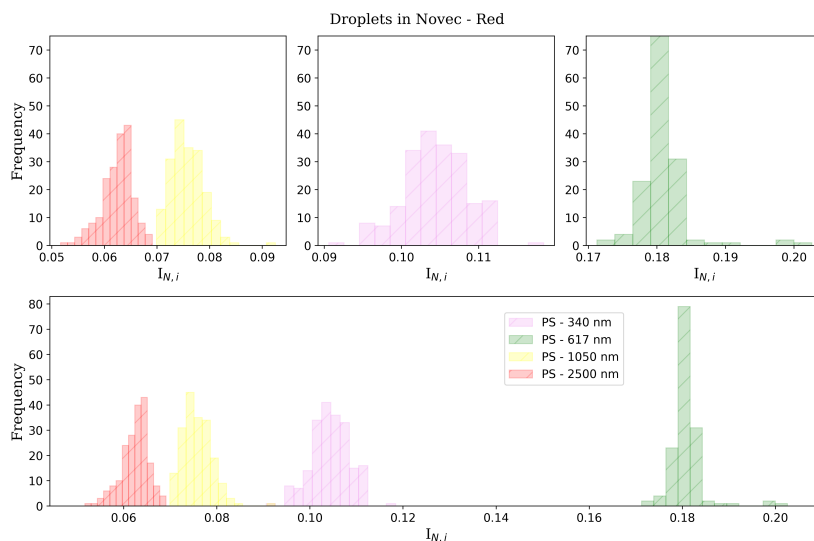


Figura 2.21: Integrale a concentrazione fissata in Novec per diverse taglie di sfere di MP - laser con $\lambda = 633\text{nm}$ (rosso).

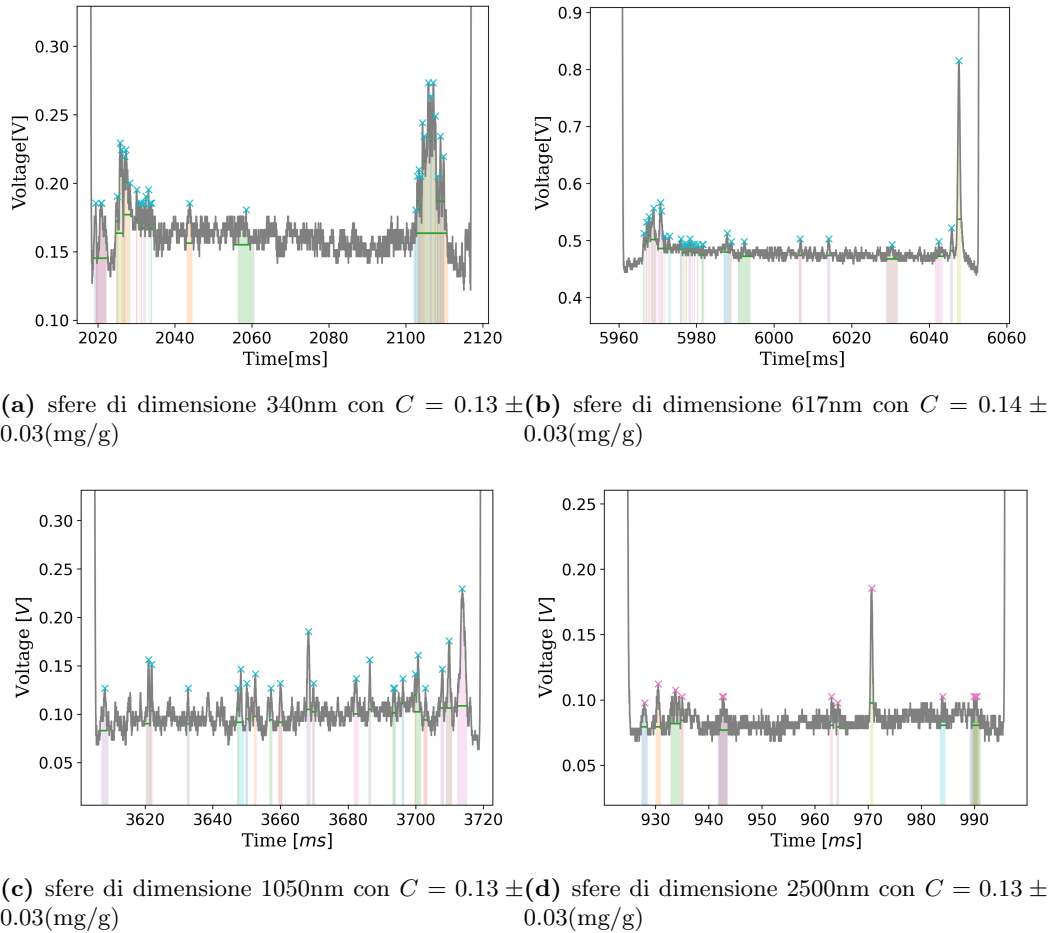


Figura 2.20: Esempi di segnali relativi a una singola goccia d'acqua in Novec con sfere in PS e concentrazione fissa - ricerca dei picchi dovuti alla presenza di MP - laser con $\lambda = 633\text{nm}$ (rosso).

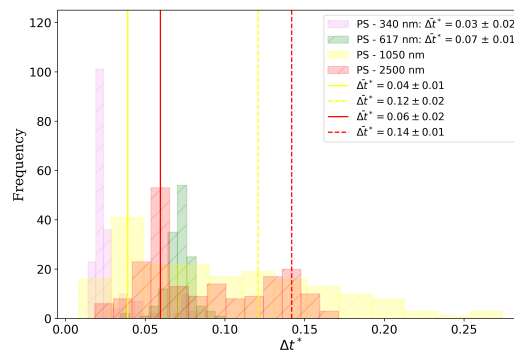


Figura 2.22: Distribuzione del primo picco all'interno di una singola goccia d'acqua per quattro dimensioni differenti di microplastiche - laser con $\lambda = 633\text{nm}$ (rosso).

Ancora una volta il confronto dei risultati ottenuti dall'analisi fatta nel paragrafo 2.2.2 testimonia il cambio nella disposizione dei picchi nella goccia e quindi la sensibilità del mio dispositivo alla variazione di lunghezza d'onda della luce incidente, suggerendo un ulteriore metodo di identificazione per le taglie delle microsferi.

Confrontando inoltre i risultati ottenuti con Novec a $\lambda = 532\text{nm}$ e $\lambda = 633\text{nm}$ si osserva che si risolvono in modo netto le particelle a taglia maggiore, di 1050nm e 2500nm rispettivamente, con un guadagno netto in visibilità dei picchi che è dell'ordine di grandezza di circa 20%, stimato dalla distanza relativa dei picchi associati alla distribuzione delle particelle con diametro 1050nm e 2500nm rispettivamente.

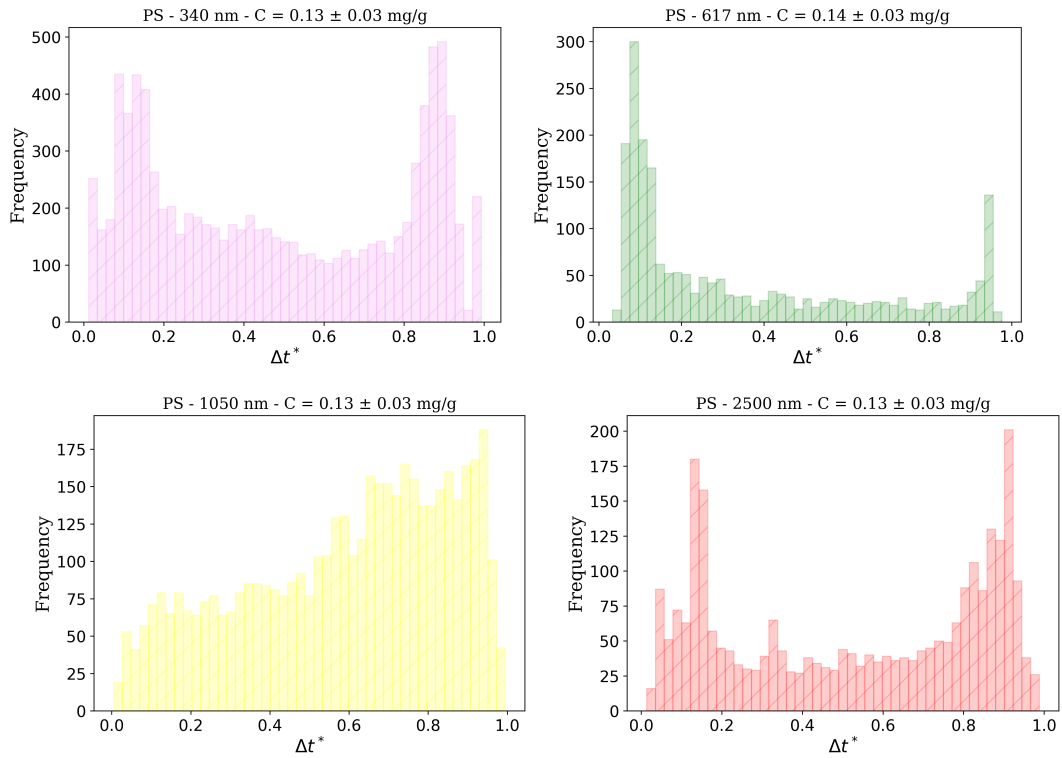


Figura 2.23: Distribuzione di tutti i picchi all'interno di una singola goccia d'acqua per diverse dimensioni delle sfere di microplastiche -laser con $\lambda = 633\text{nm}$ (rosso).

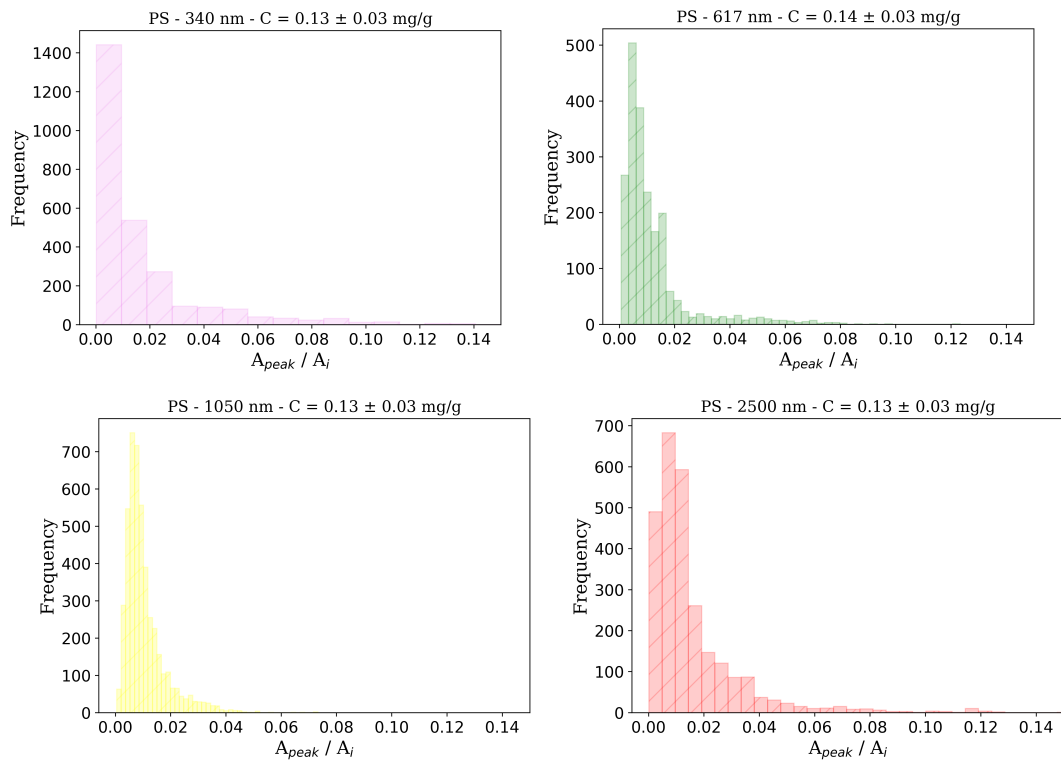


Figura 2.24: Distribuzione dell'area dei picchi all'interno di una singola goccia d'acqua per quattro dimensioni differenti di microplastiche - laser con $\lambda = 633\text{nm}$ (rosso).

Conclusioni

L'obiettivo del presente studio è quello di testare la sensibilità del device Lab-On-a-Chip per la rilevazione ed identificazione delle microplastiche disperse in acqua. Per raggiungere tale scopo si è partiti studiando la risposta del dispositivo a diverse fasi continue, al fine di individuare la sostanza che permette le migliori prestazioni per il chip. Si è proseguito poi con lo studio della risposta del dispositivo variando il contenuto della fase dispersa prima in concentrazione e poi in dimensione delle microplastiche. Infine si è studiata la risposta del dispositivo al variare in primis del rapporto $\frac{Q_d}{Q_c}$ dei flussi e in secondo luogo della lunghezza d'onda della luce incidente del laser.

Questo studio di fattibilità per un nuovo dispositivo nel campo del sensing di microplastiche ha evidenziato molteplici risultati degni di nota:

- Il dispositivo ha un'alta capacità risolvete anche nel caso in cui si testino impurezze di taglia non definita, come visto nello studio con acqua contaminata. La sensibilità della piattaforma e l'analisi dati sono estremamente elevati indipendentemente dalle condizioni di misura (2.2).
- Si è visto che l'uso del Novec per la fase continua dà migliori risultati sperimentali poichè l'Esadecano ha potere risolvete peggiore.
- Dall'analisi del confronto per taglia si è visto che si riesce a risolvere tutte le dimensioni indipendentemente dalle condizioni di misura. Ad oggi non risultano pubblicazioni in merito alla rilevazione di microplastiche con potere risolvete sotto 1 μm di diametro quindi la piattaforma presentata possiede un significativo valore aggiunto poichè non ha eguali a meno di microscopi ad alta risoluzione, che però comportano costi molto più elevati.
- Si è visto che si riesce ad ottimizzare il potere risolvete e la visibilità delle particelle adottando la corretta lunghezza d'onda: a $\lambda = 633\text{nm}$ si risolvono particelle di taglia micrometrica (1050nm e 2500nm) con un livello di dettaglio molto maggiore rispetto a $\lambda = 532\text{nm}$.
- Il potere risolvete può essere ulteriormente ottimizzato scegliendo il corretto rapporto flussi $\phi = \frac{Q_d}{Q_c}$ anche se il range [0.2-0.8] qui usato è comunque soddisfacente.
- É possibile quantificare la dispersione in taglia in funzione delle condizioni di misura e inoltre sono chiaramente distinguibili dispersione di taglia da effetti di agglomerazione come ad esempio quelli indotti da due particelle coese (2.8).
- Il dispositivo si è dimostrato essere estremamente versatile, può essere infatti utilizzato con diverse fasi.
- Il protocollo di misura e analisi dati è sostanzialmente universale: lo studio effettuato con gli integrali e le distribuzioni temporali è stato applicato indipendentemente dalle condizioni di lavoro sperimentali e dai vari parametri settati per la presa dati.

I promettenti risultati ottenuti in questo studio pionieristico aprono quindi prospettive per nuove indagini e approfondimenti nonchè miglioramenti per questi device. Il prossimo passo per ottimizzare il protocollo di misura sarà l'accoppiamento in fibra della luce laser all'ingresso della guida di luce in modo da rendere il dispositivo portatile. In prospettiva ci si attende di raggiungere risultati interessanti

indagando la risposta del dispositivo a diversi composti plastici e a miscele di sfere di diverso tipo. Infine, l'esplorazione ulteriore di come varia la sensibilità del dispositivo al variare su più lunghezze d'onda, potrebbe portare a un miglioramento in sensibilità ed a ulteriori metodi per l'identificazione.

Bibliografia

- [1] Wijnand de Wit Dalberg Advisors and Callaghan NSW Nathan Bigaud, University Drive. No plastic in nature: assessing plastic ingestion from nature to people. *WWF International*, 2019.
- [2] Nanna B. Hartmann, Thorsten Hüffer, Richard C. Thompson, Martin Hassellöv, Anja Verschoor, Anders E. Daugaard, Sinja Rist, Therese Karlsson, Nicole Brennholt, Matthew Cole, Maria P. Herrling, Maren C. Hess, Natalia P. Ivleva, Amy L. Lusher, and Martin Wagner. Are we speaking the same language? recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris. *Environmental Science & Technology*, 53(3):1039–1047, January 2019.
- [3] Ksenia J. Groh, Thomas Backhaus, Bethanie Carney-Almroth, Birgit Geueke, Pedro A. Inostroza, Anna Lennquist, Heather A. Leslie, Maricel Maffini, Daniel Slunge, Leonardo Trasande, A. Michael Warhurst, and Jane Muncke. Overview of known plastic packaging-associated chemicals and their hazards. *Science of The Total Environment*, 651:3253–3268, February 2019.
- [4] Qun Zhang, Elvis Genbo Xu, Jiana Li, Qiqing Chen, Liping Ma, Eddy Y. Zeng, and Huahong Shi. A review of microplastics in table salt, drinking water, and air: Direct human exposure. *Environmental Science & Technology*, 54(7):3740–3751, March 2020.
- [5] Sandra M. O’Neill and Jenny Lawler. Knowledge gaps on micro and nanoplastics and human health: A critical review. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 3:100091, June 2021.
- [6] International Organization for Standardization. Iso/dis 16094-2; water quality - analysis of microplastic in water - part 2: Vibrational spectroscopy methods for waters with low content of suspended solids including drinking water. <https://www.iso.org/obp/ui/en/#iso:std:iso:16094:-2:dis:ed-1:v1:en>, 2023. Url consultato il 22 Marzo 2024.
- [7] Stephanie Damaj, Farah Trad, Dennis Goevert, and Jeff Wilkesmann. Bridging the gaps between microplastics and human health. *Microplastics*, 3(1):46–66, January 2024.
- [8] Kieran D. Cox, Garth A. Covernton, Hailey L. Davies, John F. Dower, Francis Juanes, and Sarah E. Dudas. Human consumption of microplastics. *Environmental Science & Technology*, 53(12):7068–7074, June 2019.
- [9] Irene Fernandez-Cuesta, Andreu Llobera, and María Ramos-Payán. Optofluidic systems enabling detection in real samples: A review. *Analytica Chimica Acta*, 1192:339307, 2022.
- [10] Riccardo Zamboni et al. Study of light driven phenomena for optofluidic applications in lab-on-a-chip platforms in lithium niobate. 2019.
- [11] Giovanni Bragato. Study of light-driven phenomena for opto-microfluidic sensing on multifunctional lithium niobate platforms. 2021.
- [12] Sofia Marchetto. Lab-on-a-chip per sensing di nanoparticelle in soluzioni acquose.
- [13] Simone Marchetti. Light based sensing di microplastiche disperse in soluzioni acquose.