

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Fisica e Astronomia “Galileo Galilei”

Corso di Laurea in Fisica

Tesi di Laurea

Light based sensing di microplastiche disperse in soluzioni acquose

Relatore

Prof. Cinzia Sada

Correlatore

Dr. Giovanni Bragato

Laureando

Simone Marchetti

Anno Accademico 2021/2022

Indice

Introduzione	3
1 Apparato sperimentale	6
1.1 Piattaforma opto-fluidica integrata	6
1.1.1 Stadio microfluidico	6
1.1.2 Stadio ottico	7
1.2 Chip per prove preliminari	8
1.3 Apparato sperimentale	8
2 Analisi dati	11
2.1 Misure preliminari	11
2.2 Soluzioni di microplastiche	12
2.3 Protocollo di misura	14
2.4 Tecniche di elaborazione dei dati	14
2.5 Tecnica di generazione delle microgocce	16
2.6 AlignFlow	18
2.7 PS-Research	19
2.8 Campo di carica spaziale	21
2.8.1 AlignFlow	22
2.8.2 PS-Research	24
Conclusioni	26
Bibliografia	28

Introduzione

Dagli anni Cinquanta la produzione di materie plastiche è aumentata in maniera esponenziale. Nel solo anno 2015, a livello globale, sono state prodotte 300 milioni di tonnellate di plastiche, suddivise prevalentemente in polietilene (PE), polipropilene (PP), polivinilcloruro (PVC), polistirene (PS) e polietilene tereftalato (PET). Circa 10 mila tonnellate di rifiuti plastici finiscono nelle acque (es. laghi, fiumi, mari, oceani) di tutto il mondo. In particolare, queste plastiche si deteriorano a causa di differenti processi (es. foto-ossidazione indotta dall'esposizione solare, ionizzazione, sollecitazioni meccaniche, idrolisi, ecc) frantumandosi fino al raggiungimento di dimensioni submillimetriche - c.d. microplastiche (MP) - e submicrometriche - c.d. nanoplastiche (NP) [1, 2, 3, 4].

A causa delle loro piccole dimensioni, le MP possono anche essere biodisponibili in tutta la scala dimensionale degli organismi acquatici, fino agli zooplankton [3, 5, 6]. In particolare, le MP sono state trovate anche disperse all'interno dell'acqua potabile e del cibo destinato al consumo umano, oltre che nelle acque reflue. Il pericolo rappresentato dalle MP agli organismi viventi nonché agli ecosistemi è ormai noto. L'ingestione delle MP da parte degli organismi acquatici può provocare problematiche riproduttive, malnutrizione, abrasioni interne e blocco dell'apparato digerente [4, 6, 7]. Per esempio, nei pesci è stata riscontrata l'immunotossicità del PVC e del PE [8]. Recentemente, sono stati analizzati anche i possibili rischi che le MP possono rappresentare per gli esseri umani [6, 9, 10, 11]. Occorre considerare che non sono solo le MP a rappresentare un pericolo, bensì anche le sostanze chimiche citotossiche che possono alle stesse chimicamente legarsi [2, 4, 6].

La variabilità nelle dimensioni e nella composizione delle MP costituiscono uno degli elementi più complessi nella loro rilevazione. Sinora, i metodi proposti in letteratura prevedono una prima catalogazione delle MP basandosi su parametri morfologici (es. colore, forma, trasmittanza), cui segue di norma un'analisi chimica per identificarne struttura e composizione. Occorre evidenziare che, allo stato attuale, gli studi sulla presenza ambientale delle MP vengono effettuati con diversi protocolli di misura, a seconda degli autori considerati. Infatti, non esiste alcuno standard di riferimento. Tuttavia, si possono riscontrare alcuni passaggi procedurali che vengono comunemente seguiti: prelievamento del campione, filtraggio preliminare, analisi visiva (possibilmente con sistemi di ingrandimento). Con questa tipologia di analisi, si possono rilevare efficacemente solo le MP di dimensioni maggiori (0.1 - 5.0 mm). Pertanto, qualora si vogliano rilevare MP di dimensioni inferiori - che sono proprio quelle che rappresentano il maggior pericolo per la vita - ovvero si vogliano effettuare analisi chimiche, si utilizzano metodologie analitiche avanzate - precedute dall'apposita preparazione dei campioni (es. digestione delle componenti biologiche o concentrazione delle MP su filtro). Tra esse, sono state proposte tecniche di analisi morfologica (microscopia polarizzata, microscopia in fluorescenza, SEM) e tecniche di analisi morfo-chimica (SEM con EDS, spettroscopia a raggi X, microscopia Raman e μ Raman, FTIR e μ FTIR). Tuttavia, queste tecniche, oltre ad

essere particolarmente dispendiose (sia in termini temporali che economici), non permettono di rilevare efficientemente MP con dimensione inferiore a circa 10-20 μm . Per particelle di dimensioni minori, sono state proposte ulteriori tecniche (AFM, citometria di flusso, ecc) che forniscono esclusivamente informazioni parziali sulle MP da analizzare. Per le MP con dimensioni millimetriche sono state proposte anche tecniche distruttive quantitative (cromatografia, gas cromatografia abbinata a spettrometria di massa o a desorbimento termico) [3, 4, 5, 6, 10, 12, 13]. Invece, altri autori hanno proposto delle metodologie di preparazione dei campioni che rendano più efficienti le infra citate tecniche (es. ordinamento per taglia e concentrazione geometrica delle MP in dispositivi microfluidici [12]) oppure la costruzioni di nuovi dispositivi specificatamente progettati per il rilevamento delle MP [1, 2]. Inoltre, occorre considerare che al momento non esistono tecniche efficaci per il rilevamento e l'identificazione delle MP nel limite di transizione con le NP - c.d. sub μ -plastiche (in ogni caso ci si riferirà ad esse col termine MP) - ovvero con diametro compreso tra circa 100 nm e 10 μm [13].

Il presente lavoro di tesi si inserisce in un progetto di ricerca ad ampio respiro che mira a sviluppare tecniche di identificazione delle MP disperse in acqua giacché la sensibilità dell'opinione pubblica e della comunità scientifica circa gli effetti nocivi delle MP è in aumento [1, 2, 6]. L'obiettivo è quello di proporre dei dispositivi di analisi delle MP che siano anche economici, compatti, la cui produzione sia scalabile a livello industriale, facilmente commerciabili e di semplice utilizzo anche da parte di personale non scientificamente formato (*Plug-and-Play*). Per raggiungere tale obiettivo, il progetto di ricerca propone l'impiego di una piattaforma opto-microfluidica integrata in un chip in Niobato di Litio (LiNbO_3 , LN) dove sono state ricavate delle guide di luce accoppiate sullo stesso substrato ove sono stati realizzati dei canali microfluidici. L'ottica integrata si occupa di sfruttare e manipolare dei fenomeni luminosi per eseguire funzioni analoghe a quelle svolte da un segnale elettrico in un circuito elettronico. L'elemento costitutivo dell'ottica integrata è la guida di luce, ovvero una regione di materiale con dimensioni tipiche di qualche micrometro quadrato in sezione e di qualche centimetro in lunghezza, il cui indice di rifrazione è stato modificato localmente per confinare la luce a mezzo della riflessione interna totale. Invece, la microfluidica studia i sistemi fisici ove vengono manipolate piccole quantità di fluidi - nel range dei micro e dei nano-litri - confinati all'interno di canali con dimensione in genere comprese tra 10 e 500 μm . Il dispositivo opto-fluidico proposto nel progetto di ricerca in cui il presente lavoro di tesi si inserisce, combina dei canali microfluidici e dei circuiti ottici complanari, disposti cosicché i circuiti ottici siano ortogonali al canale microfluidico. In questo modo, la luce trasmessa attraverso la guida ottica attraversa il canale microfluidico, viene trasmessa attraverso i fluidi che lo attraversano e viene rilevata da un detector. In particolare, la presenza di fluidi e di particelle in essi disperse, provoca una variazione nella trasmittanza ottica misurata. Quindi, dall'analisi dei segnali rilevati è possibile identificare la presenza di MP nei fluidi in maniera non distruttiva. Pertanto, la presente tecnica di identificazione delle MP potrà essere eventualmente abbinata a successivi metodi analitici. È rilevante evidenziare che la superficie delle MP si comporta come interfaccia. Per questo motivo, maggiore è la differenza tra l'indice di rifrazione della plastica e del fluido in cui è dispersa, maggiore sarà la conseguente variazione nella trasmittanza ottica. Infatti, la luce che irradia le MP subisce processi di trasmissione, riflessione e assorbimento. Per questo motivo, le tecniche di imaging delle MP basate su processi ottici si sono rivelate particolarmente utili. Tuttavia, le tecniche di imaging tradizionali automatizzate, basandosi sul contrasto tra gli indici di rifrazione delle MP e quelli dei fluidi in cui sono disperse - in questo caso poco accentuato - per la messa a fuoco, non sono in grado di operare. Per superare queste criticità, la tecnica proposta utilizza diversi accorgimenti. In primo luogo, i miscugli contenenti le MP non vengono analizzati direttamente, bensì vengono frazionati in gocce microfluidiche (con un volume di una decina di nanolitri). Infatti, le gocce costituiscono degli

ambienti isolati dall'esterno. Inoltre, in alcuni casi si è sperimentato l'effetto di un campo elettrico locale, allo scopo di polarizzare le MP e di accentuarne la rilevabilità. In particolare, un campo spazialmente non omogeneo e variabile nel tempo viene generato in modo non usuale sfruttando l'effetto fotovoltaico indotto in un cristallo di LN drogato con ferro (Fe:LN) posto sopra alla copertura tramite un'illuminazione non spazialmente omogenea.

Il presente lavoro di tesi costituisce lo studio preliminare della capacità della piattaforma opto-microfluidica integrata di rilevare le MP quando disperse in goccia. Infatti, in lavori precedenti [14, 15], ci si è limitati a caratterizzare la piattaforma utilizzando esclusivamente gocce d'acqua. Quindi, qui per la prima volta si misureranno delle firme spettrali per le MP. In particolare, date le peculiari caratteristiche del nostro apparato, si è scelto di analizzare MP nel range dimensionale delle sub μ -plastiche, come già detto attualmente privo di tecniche efficaci per il loro rilevamento. Essendo il primo studio di questo tipo con questo apparato, si è scelto di utilizzare MP di produzione industriale per avere controllo sulla dimensione e sulla composizione delle particelle utilizzate. Più precisamente, si è utilizzato PS in quanto è una delle plastiche più rilevanti nella produzione industriale e nell'utilizzo quotidiano, per esempio negli imballaggi in polistirolo, nel settore alimentare (bottiglie, vasetti, stoviglie usa e getta, ecc) e nel settore delle costruzioni (rivestimenti a cappotto termico). Dopo aver diluito le soluzioni di MP a varie concentrazioni, le si è disperse in goccia e si sono misurate le firme spettrali risultanti, sia in presenza che in assenza del campo di carica spaziale. In seguito, si sono proposte alcune tecniche di analisi dei dati. Infatti, occorre considerare che trattandosi di una sperimentazione pionieristica esse non sono ancora note. Infine, si sono confrontati tra di loro i diversi risultati ottenuti, evidenziando alcuni limiti delle tecniche proposte e, nel contempo, raggiungendo l'obiettivo preposto.

Questo lavoro di tesi si sviluppa in due capitoli:

- Nel *Capitolo 1* viene presentato l'apparato sperimentale utilizzato, focalizzando l'attenzione anche sulla piattaforma opto-microfluidica integrata.
- Nel *Capitolo 2* viene valutata la capacità dell'apparato di rilevare le MP, anche approfondendo l'eventuale vantaggio promosso dall'effetto del campo di carica spaziale. In prima battuta, si analizzano le tecniche per la generazione delle microgocce e le MP utilizzate. Quindi, si descrivono il protocollo di misura e le tecniche di elaborazione dei dati. Infine, sono presentati criticamente i risultati delle misure.

Apparato sperimentale

L'apparato sperimentale utilizzato è costituito da due sezioni principali. La prima, legata alla piattaforma opto-fluidica integrata (in seguito denominata per brevità anche *chip*) utilizzata per condurre le analisi viene descritta nel paragrafo 1.1. Inoltre, una variante della stessa, utilizzata in alcune prove preliminari, è presentata nel paragrafo 1.2. Invece, la seconda sezione, legata all'apparato necessario al funzionamento del chip, viene descritta nel paragrafo 1.3.

1.1 Piattaforma opto-fluidica integrata

La piattaforma opto-fluidica utilizzata è costituita da due componenti integrate nello stesso chip in LN: una microfluidica, descritta nel paragrafo 1.1.1, e una ottica, descritta nel paragrafo 1.1.2. In figura 1.1 ne viene riportato uno schema rappresentativo.

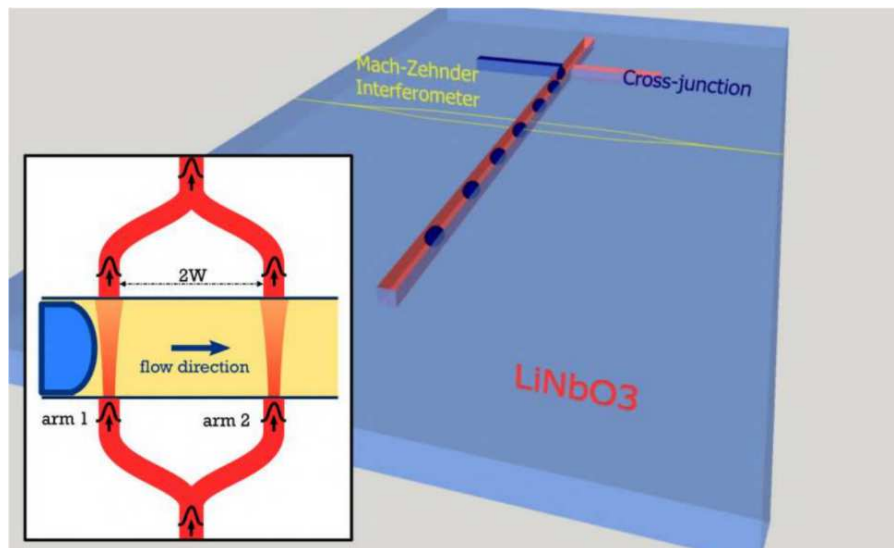


Figura 1.1: Schema del principio di funzionamento del chip opto-fluidico in LN con evidenza della componente ottica e di quella microfluidica. Figura tratta da [14].

1.1.1 Stadio microfluidico

Lo stadio microfluidico è costituito da un generatore di gocce realizzato mediante una giunzione a croce (Figura 1.2a) utilizzato nella configurazione di giunzione a T su un substrato in LN

x-cut commerciale. Le due direttrici della croce latina (poste ad angolo retto tra loro) sono stati realizzati mediante un processo meccanico di asportazione del substrato per abrasione (c.d. *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 migliori costruzioni in termini di finitura superficiale dei canali nel LN, tenuto conto che le proprietà di questo cristallo (elevata resistenza chimica, bassa durezza, piroelettricità, fotorefrattività e piezoelettricità) ne rendono piuttosto complessa la lavorazione [16]. In particolare, i canali realizzati hanno la larghezza media di $(213 \pm 1) \mu\text{m}$ e la profondità media di $(108 \pm 1) \mu\text{m}$. La finitura superficiale ottenuta è di grado ottico, cosicché sia possibile accoppiare le guide di luce descritte nel paragrafo 1.1.2. Infatti, la rugosità superficiale media delle pareti laterali misurata all'AFM è pari a $(8.5 \pm 0.9) \text{ nm}$. Maggiori dettagli sulla geometria dei canali sono descritti in [16]. 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, meglio descritte in 2.3 [17].

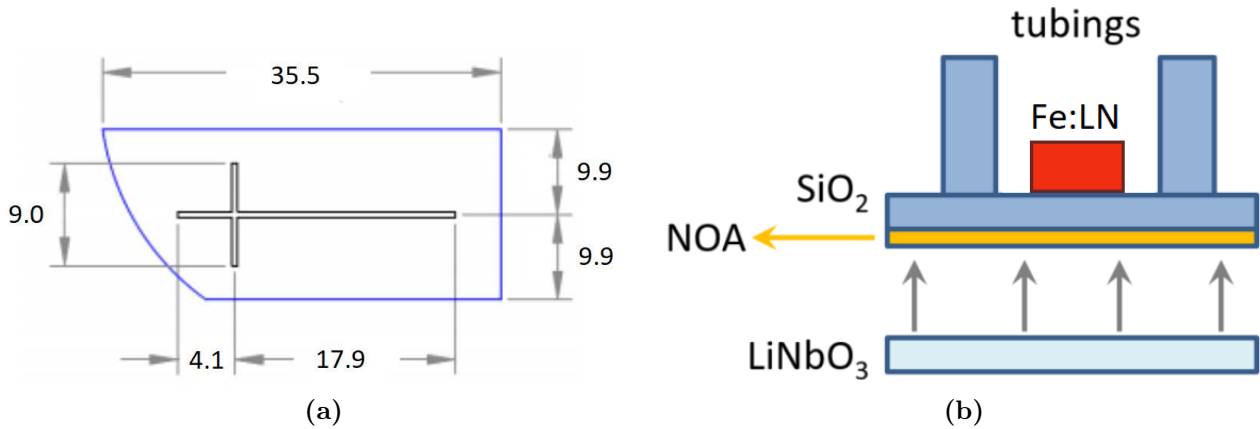


Figura 1.2: A sinistra viene riportato lo schema del substrato in LN mentre a destra quello relativo alla copertura dello stesso. Figure tratte da [14].

Il circuito microfluidico è stato chiuso con un coperchio in vetro. Si è scelto di utilizzare il vetro perché soddisfa i requisiti necessari per una buona copertura. Infatti, il vetro è compatibile con il LN, permette l'installazione delle connessioni microfluidiche di silicone (cc.dd. *inlet* e *outlet*) e non presenta controindicazioni all'utilizzo dei fluidi comunemente impiegati in quest'ambito (es. acqua, etanolo, isopropanolo, acetone, esadecano, ecc). Il coperchio è stato incollato al substrato in LN - previa realizzazione delle connessioni microfluidiche - mediante l'utilizzo di collante a base di resina epossidica a polimerizzazione UV. Inoltre, per alcune misure, al di sopra dell'area dove si trova il MZI, è stato posto un cristallo in LN z-cut drogato ferro con grado di riduzione $R = [Fe^{3+}]/[Fe^{2+}] \approx 0.1$ (lo stesso già utilizzato in [15]). Infine, il circuito microfluidico è stato funzionalizzato con OTS per modificarne le proprietà di bagnabilità, ovvero le proprietà di interazione tra i fluidi impiegati e le superfici del canale, affinché sia possibile la propagazione di un flusso laminare all'interno del canale [18].

1.1.2 Stadio ottico

Il chip utilizzato integra nello stesso substrato dello stadio microfluidico anche un dispositivo di trasmissione ottica (guida di luce), realizzata mediante un processo di diffusione termica locale

di titanio (descritto più in dettaglio in [14, 19]), nella configurazione ottica di interferometro di Mach-Zender (MZI, schema riportato in Figura 1.3a). Questa configurazione (riportata schematicamente in Figura 1.3b) prevede che un raggio di luce venga diviso in due raggi che attraversano i due rami dell'interferometro. Tali raggi si propagano, attraverso le guide ottiche, fino ai punti in cui queste ultime vengono interrotte dal canale microfluidico. Quindi, attraversano lo spazio del canale che, a seconda della situazione, potrà contenere aria oppure altre sostanze. In seguito, dopo aver interagito con il contenuto del canale, i due raggi di luce riprendono ad essere trasmessi all'interno delle rispettive guide finché non vengono riuniti tra loro mediante la struttura a Y della guida ottica. Il risultato del processo di interferenza tra i due raggi potrà essere rilevato all'uscita del chip.

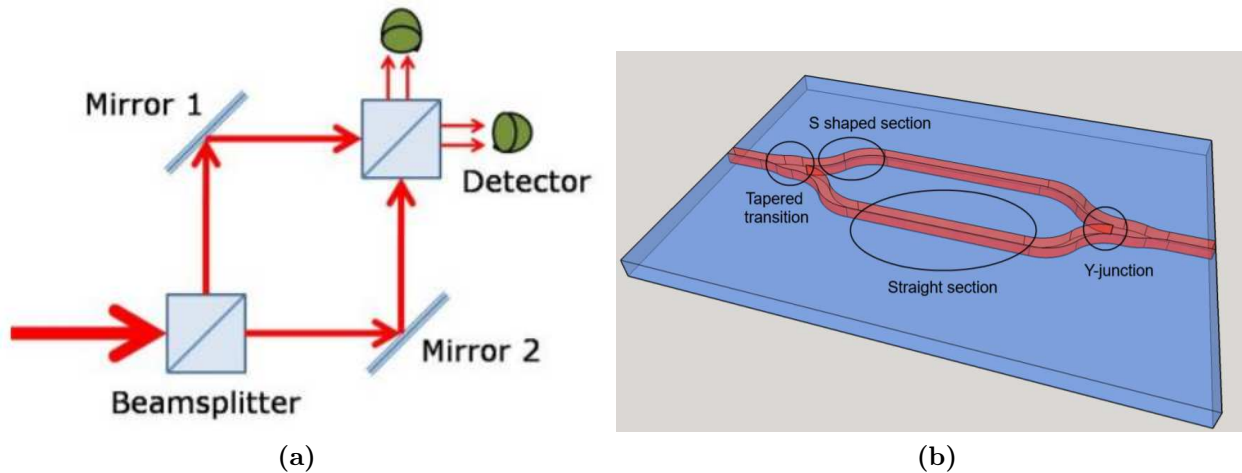


Figura 1.3: A sinistra viene riportato lo schema tipico di un interferometro di Mach-Zender mentre a destra quello relativo all'interferometro effettivamente realizzato sul substrato in LN. Figure tratte da [14].

Pertanto, lo stadio ottico così realizzato costituisce un sensore che permette di rilevare i materiali che attraversano il canale, così come già mostrato in [14, 20, 21].

1.2 Chip per prove preliminari

Per alcune prove preliminari è stata utilizzata una variante alla piattaforma precedentemente descritta nel paragrafo 1.1. Essa differisce dalla precedente per il fatto di essere priva di coperchio (c.d. geometria aperta) e di avere la componente ottica con uno schema a guida diritta anziché MZI. Alcune applicazioni della guida diritta sono descritte in [18, 22].

1.3 Apparato sperimentale

L'apparato sperimentale è costituito dalle componenti microfluidiche, ottiche ed elettroniche che permettono il funzionamento del chip.

La componente microfluidica (schematizzata in Figura 1.4a) è costituita da una pompa pneumatica Elveflow OBI Mk3 (Elveflow, Parigi, Francia) equipaggiata con tre canali (range di pressione 0 - 8 bar). Il controllo del flusso è realizzato in feedback attraverso tre flussimetri BFS Coriolis10 (Bronkhorst, AK Ruurlo, Olanda). Occorre evidenziare che i flussimetri misurano, sfruttando l'effetto Coriolis, il flusso che attraversa i tubicini contenuti al loro interno. Pertanto, al fine di ovviare al rischio che le componenti solide presenti nella fase dispersa (microplastiche) potessero sedimentarsi all'interno, danneggiandoli, è stata realizzata una modifica

al circuito microfluidico - limitatamente alla fase dispersa. Così come meglio descritto nel paragrafo 2.3, nei primi esperimenti la fase dispersa è stata introdotta con una pompa a siringa Mod. 300 (New Era Pump System inc., New York, U.S.A.). Invece, in seguito si è utilizzato un dispositivo autocostruito denominato nel presente lavoro *gavitello biconico* (proposto da [22]), schematizzato in Figura 1.4b. Tale dispositivo è stato assemblato incollando insieme (usando colla a polimerizzazione UV) due puntali di micropipetta. Il gavitello biconico è collegato, mediante tubicini in silicone, ad una estremità con l'outlet di un flussimetro invece, con l'altra, al chip. Questo dispositivo permette la segregazione tra un fluido detto "spingente" che è quello in contatto con il flussimetro e un fluido "spinto" che entrerà nel chip, scelti opportunamente in modo che siano immiscibili tra loro. Pertanto, il gavitello biconico funge da serbatoio per il fluido spinto e contiene l'interfaccia tra i due fluidi attraverso cui si propaga la pressione erogata dalla pompa pneumatica sul fluido di spinta.

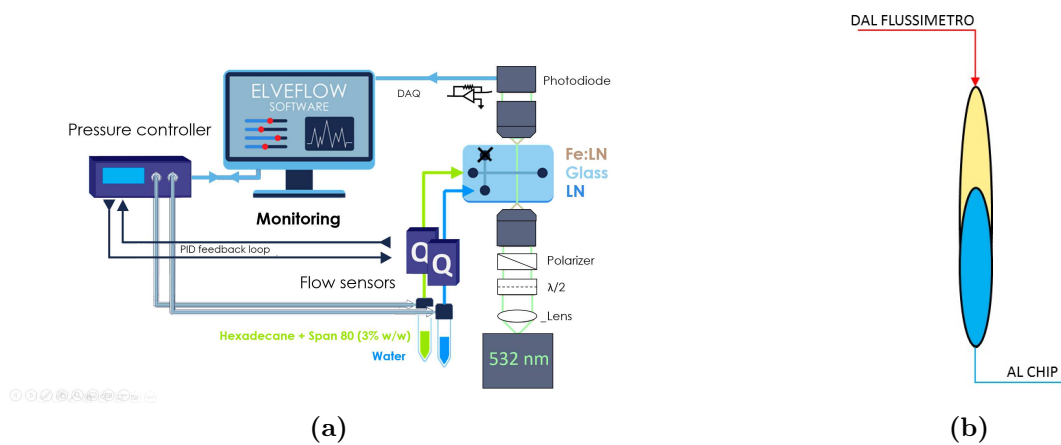


Figura 1.4: Nella figura a sinistra viene riportato lo schema dell'apparato opto-microfluidico. Immagine tratta da [14]. A destra viene riportato lo schema del *gavitello biconico*. Trattasi di un dispositivo autocostruito che permette di iniettare nel chip fluidi anche con componenti disperse che non sarebbero supportate dai flussimetri (in colore azzurro) attraverso un fluido di spinta immiscibile compatibile coi flussimetri (di colore giallo).

La componente ottica dell'apparato (schematizzata in Figura 1.4a) permette l'accoppiamento di un raggio laser con il MZI e il successivo rilevamento della luce in uscita dall'interferometro. Si è utilizzato un laser continuo a diodo con lunghezza d'onda di 532 nm e potenza di circa 7.35 mW. Esso viene convenientemente polarizzato attraverso una lamina a mezz'onda e un polarizzatore e focalizzato sull'ingresso del MZI attraverso un obiettivo 20 X. Successivamente, la luce attraversa il chip che viene installato mediante un supporto a sbalzo su una piattaforma meccanica dotata di sei gradi di libertà (tre traslazionali e tre rotazionali). Quindi, la luce uscita dal chip viene focalizzata da un obiettivo a lunga distanza 50 X su un fotodiode in silicio. Il segnale in uscita dal rivelatore viene amplificato da un amplificatore a transimpedenza e digitalizzato attraverso una scheda di acquisizione. Occorre evidenziare che il principale svantaggio di questa configurazione ottica è legato alla necessità di provvedere periodicamente al riaccoppiamento del fascio luminoso con il MZI in quanto alcune sollecitazioni meccaniche presenti nel laboratorio portano talvolta al disaccoppiamento del laser dalla guida. Di contro, questa configurazione garantisce una notevole flessibilità essendo possibile facilmente modificare e sostituire i chip utilizzati.

Al di sotto del chip, è stata posta una videocamera monocromatica ad alta velocità (con obiettivo 10 X) per acquisire le immagini delle gocce che attraversano il canale microfluidico.

Al fine di promuovere la generazione di un campo di carica spaziale fotoindotto nel cristallo di niobato di litio drogato ferro fissato al di sopra del coperchio, è stata utilizzata la configurazione ottica riportata in Figura 1.5. In particolare, come fonte di luce è stato utilizzato un laser continuo allo stato solido con lunghezza d'onda di 532 nm e potenza effettiva di circa 63.5 mW. Maggiori dettagli sulla configurazione dell'apparato sono trattati in [14].

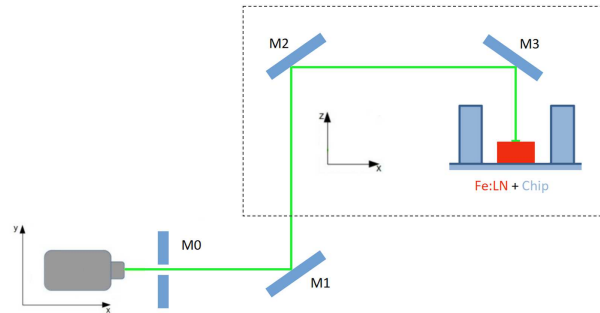


Figura 1.5: Schema del dispositivo di generazione del campo elettrico fotoindotto. Figura tratta da [14].

Analisi dati

L'obiettivo di questa tesi è quello di rilevare MP disperse in volumi molto ridotti d'acqua, nell'ordine di grandezza compreso tra μL e nL , come ad esempio generati da alcune piattaforme opto-fluidiche. Trattandosi di un'applicazione pionieristica, sono state valutate differenti tecniche, sfruttando l'esperienza accumulata dal gruppo di ricerca su piattaforme basate su LiNbO_3 [14, 17, 21]. Si inizia presentando alcune misure preliminari che sono state effettuate utilizzando i protocolli di misura adattati alle soluzioni di PS, anche con particolare riferimento ai metodi analitici impiegati. Ciò ha richiesto di verificare quale fosse il miglior sistema di generazione delle microgocce tra quelli disponibili. Quindi, si presentano le misure effettuate con la configurazione chiusa. Infine, vengono presentate le misure raccolte in presenza del campo di carica spaziale foto-indotto.

2.1 Misure preliminari

Al fine di valutare la capacità di un chip montato sul nostro apparato di riuscire a rilevare soluzioni di MP, sono state effettuate alcune prove preliminari con il chip descritto in 1.2. In tali prove si è analizzata perciò la risposta di micro-gocce contenenti MP con il chip in configurazione aperta con il vantaggio, mancando la componente microfluidica, di una maggiore semplicità e speditezza nelle misure. Infatti, le fasi devono essere aggiunte e rimosse manualmente dall'operatore con l'ausilio di una pipetta, in modo da riempire il canale.

Per valutare l'effetto delle MP, sono stati acquisiti e riportati negli stessi grafici i segnali risultanti dopo dieci secondi di acquisizione (50 kHz di sample rate) a canale vuoto, a canale con sola acqua e con la soluzione di MP. Si consideri che, dopo ogni materiale utilizzato, si è proceduto a pulire il canale con l'utilizzo di aria compressa, isopropanolo e acetone al fine di ridurre le possibili contaminazioni incrociate. In Figura 2.1a e 2.1b sono stati riportati i relativi grafici, rispettivamente per una soluzione di PET e A1 (cfr. par. 2.2). In entrambi i casi, sebbene con diverso accoppiamento del laser alla guida di luce, si osserva come il segnale delle microplastiche sia maggiore di quello di sola acqua. Infatti, il rapporto tra l'intensità media del segnale della soluzione di microplastiche sull'intensità del segnale medio di quella dell'acqua è, rispettivamente, di circa 1.15 nel caso del PET e 1.23 nel caso di A1. Il fatto che sia possibile discriminare tra una goccia di sola acqua e una contenente MP ha suggerito che il sistema opto-microfluidico sia sensibile alla rilevazione di MP e, pertanto, una valida alternativa ai metodi sinora in uso. Per tale ragione, è stato condotto uno studio sistematico sull'uso dell'opto-microfluidica a tal fine.

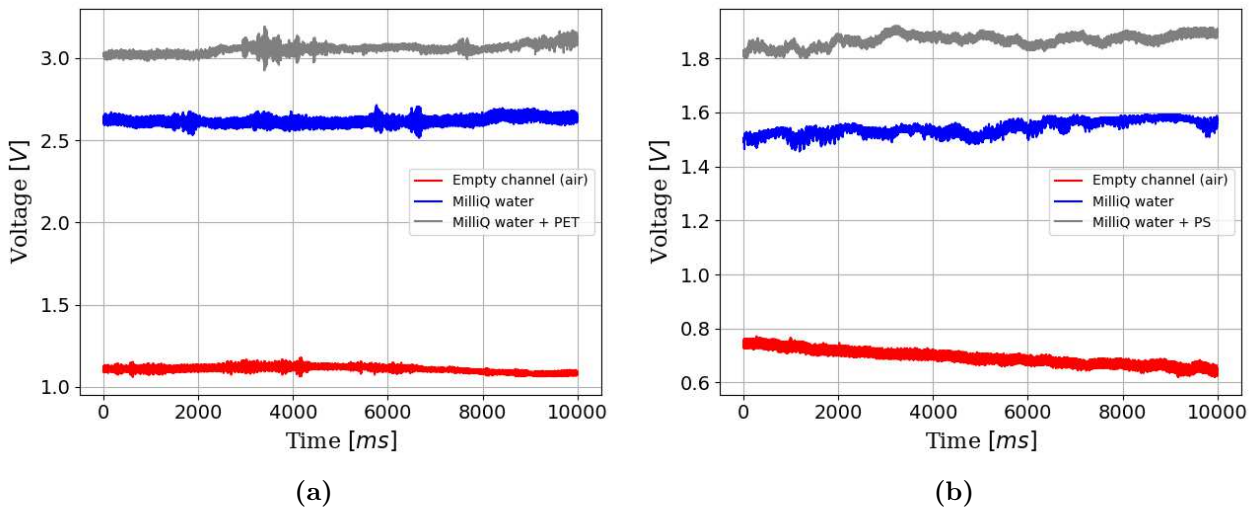


Figura 2.1: In Figura 2.1a viene riportata la relazione tra i segnali in uscita dal chip per prove preliminari utilizzando una soluzione di PET in acqua. In Figura 2.1b - sul medesimo chip - si riportano i segnali ottenuti utilizzando la soluzione A1. Cfr. paragrafo 2.2 per maggiori dettagli sulle soluzioni di MP utilizzate.

2.2 Soluzioni di microplastiche

Per le prove preliminari è stata utilizzata una soluzione acquosa di PET 0.1% W/V. Le microparticelle di PET sono state fabbricate mediante un processo di abrasione da un campione di PET surgelato, utilizzato per imballaggi alimentari.

Durante gli esperimenti in goccia sono state utilizzate alcune soluzioni di PS in acqua di produzione commerciale. In particolare, sono state utilizzate le microsferi Invitrogen AlignFlow™ rif. A7312 (Invitrogen, Oregon, U.S.A.) denominate di seguito *AlignFlow* e le nanosferi PS-Research particles PS-R-KM303 (Micro Particles GmbH, Berlino, Germania) denominate di seguito *PS-Research*. In tutti i casi è stata utilizzata acqua con grado di purezza MilliQ® (in seguito si utilizzeranno *acqua* e *MilliQ* come sinonimi).

Le particelle AlignFlow sono delle microparticelle in polistirene con diametro nominale di circa 2.5 μm , presenti nella misura dello 0.1% W/V nella soluzione che le contiene. Alcune particelle si presentano in forma aggregata, con un diametro medio di circa 2 - 14 μm così come si può notare in Figura 2.2a. Tali particelle sono disperse in una soluzione acquosa contenente azoturo di sodio 2 mM e Tween® 20 0.05%. Inoltre, le particelle contengono al loro interno un colorante fluorescente, eccitabile con luce alla lunghezza d'onda di 633 nm. Si è scelto di utilizzare queste MP peculiari al fine di testare la capacità del nostro apparato di rilevare anche MP non pure e con dimensione non uniformi.

Al fine di escludere l'effetto della componente fluorescente e valutare l'eventuale modifica della risposta ottica introdotta dal conservante e dal surfattante contenuti nella soluzione, è stata analizzata l'assorbanza UV/Vis/NIR della soluzione di AlignFlow in una cuvette in quarzo da 1 mm di spessore, utilizzando uno spettrofotometro Jasco V-670 (Jasco Co., Tokyo, Giappone). Inoltre, per confronto, è stato misurato anche lo spettro della soluzione PR2 (cfr. Tab. 2.2) perché ha la medesima concentrazione massa su massa del polistirene in acqua di A2. Tali spettri, previa sottrazione della baseline e del fondo oscuro, vengono riportati in Figura 2.2b. Dalla loro analisi attorno a 532 nm - lunghezza d'onda del laser utilizzato per illuminare il MZI - non si notano particolari variazioni nell'assorbanza che possano indicare l'effetto della fluorescenza ovvero di altri fenomeni di *enhancement* dovuti, per esempio, a fattori connessi alla taglia delle MP. Si osservi che nella regione IR (lunghezza d'onda maggiore di circa 1800

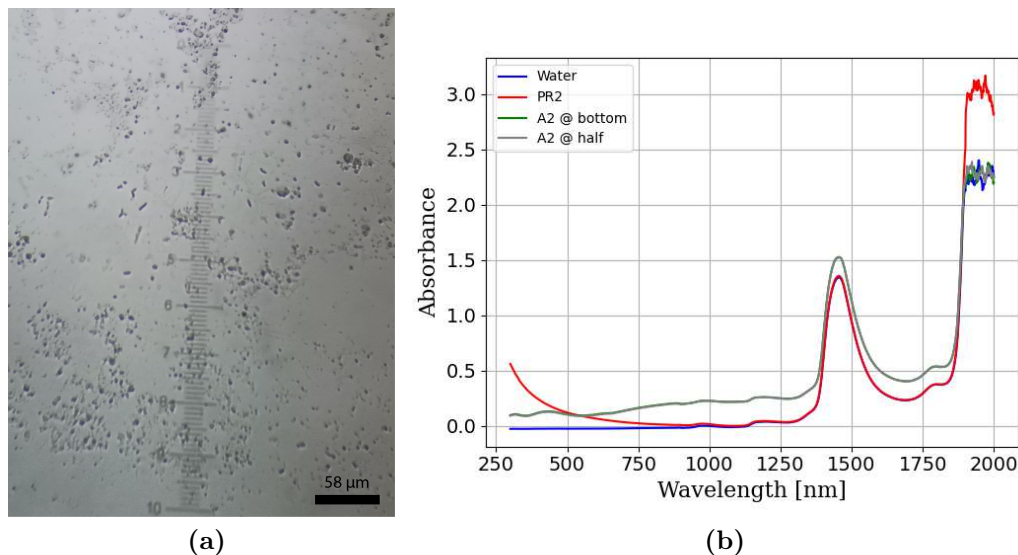


Figura 2.2: In Figura 2.2a viene riportato l'immagine ottenuta con l'obiettivo 20 X di un microscopio ad epiluminescenza Leitz: si notano gli aggregati di particelle AlignFlow di diverse dimensioni. In Figura 2.2b viene riportato lo spettro UV/Vis/NIR della soluzione A2 misurato in due posizioni differenti, quello della soluzione PR2 (cfr. Tab. 2.2) e quello dell'acqua, utilizzando una cuvette in quarzo da 1 mm di spessore, previa sottrazione della baseline e del fondo oscuro.

nm) si raggiunge la saturazione, probabilmente a causa dell'elevato assorbimento dello spessore d'acqua di circa 1 mm in questa regione spettrale [23].

Le particelle PS-Research sono delle sub μ -particelle in PS con diametro medio dichiarato dal produttore di $(0.340 \pm 0.010) \mu\text{m}$ disperse in acqua con la concentrazione del 5% W/V.

A partire da queste soluzioni sono state realizzate diverse diluizioni, utilizzando MilliQ come solvente, che vengono riportate in Tabella 2.1 e 2.2.

Tabella 2.1: Diluizione AlignFlow. Masse con deviazione standard 0.1 mg.

Nome	Massa PS [mg]	Massa acqua [g]	Concentrazione PS/acqua [mg/g]
A1	0.2	0.9359	0.2 ± 0.1
A2	0.2	0.9867	0.2 ± 0.1
A3	0.2	0.9837	0.2 ± 0.1

Tabella 2.2: Diluizione PS-Research. Masse con deviazione standard 0.1 mg. Le masse per PR5 sono delle stime approssimative.

Nome	Massa PS [mg]	Massa acqua [g]	Concentrazione PS/acqua [mg/g]
PR1	0.5	3.8771	0.13 ± 0.03
PR2	0.2	0.9186	0.2 ± 0.1
PR3	7.1	10.7775	0.65 ± 0.01
PR4	7.0	1.5650	4.46 ± 0.06
PR5	~ 1	~ 0.9	~ 10

2.3 Protocollo di misura

Al fine di raggiungere l'obiettivo di questa tesi, sono state utilizzate differenti tecniche per il rilevamento delle MP. Si è scelto di studiare le MP in goccia perché la stessa costituisce un ambiente isolato, quindi, in questo modo, è possibile ridurre le interazioni con l'ambiente esterno che non costituiscono oggetto del presente lavoro.

In primo luogo, si è valutata quale fosse la migliore tecnica per la generazione delle gocce. Sulla scorta degli ottimi risultati già raggiunti in passato [14, 15, 21], si è scelto di utilizzare esadecano con SPAN 80[®] 3% per la fase continua e acqua, oppure soluzione di MP, per quella dispersa. Inoltre, si è scelto di utilizzare le seguenti combinazioni di flussi nominali, già considerate ottimali negli studi precedenti, allo scopo di comprendere quale combinazione fosse ottimale per il raggiungimento dell'obiettivo. Espresse in Q_c [$\mu\text{L}/\text{min}$] (flusso della fase continua - esadecano + SPAN 80 3%) su Q_d [$\mu\text{L}/\text{min}$] (flusso della fase dispersa), sono: 8/6.4, 10/8, 12.5/10 e 20/20. Infatti, variando tali combinazioni è possibile ottenere gocce più o meno lunghe e più o meno veloci [14, 15]. Tuttavia, occorre ricordare che i flussimetri utilizzati, basandosi sull'effetto Coriolis, richiedono che il flusso attraverso dei tubicini di sezione ridotta all'interno degli stessi. Pertanto, vi è il rischio che i fluidi aventi componenti solide disperse (in questo caso le microsfele) possano depositarsi all'interno danneggiandoli [24]. Quindi, non è possibile utilizzare la pompa collegata al flussimetro come dispositivo di pompaggio per la fase dispersa (cosa che viene invece fatta per la fase continua). Per superare questo problema, come precedentemente indicato nel paragrafo 1.3, si sono messe a confronto due tecniche differenti: pompa a siringa e gavitello biconico. Per la pompa a siringa è stata utilizzata una siringa da 5 mL di capacità, caricata semplicemente sulla pompa stessa come indicato dal produttore. Invece, l'utilizzo del gavitello biconico richiede un processo articolato in vari stadi. Infatti, la fase di caricamento dei due fluidi immiscibili all'interno dello stesso è critica per l'eliminazione delle bolle d'aria contenute all'interno. La procedura ottimale di caricamento prevede che in principio il gavitello biconico sia riempito totalmente con esadecano puro (che costituisce la fase di spinta). Poi, dopo averlo posto in posizione d'uso, in verticale, che venga riempito dall'estremità inferiore (quella da collegarsi al chip) con la fase spinta mediante l'uso di una siringa da insulina, mentre la pompa mantiene in pressione il gavitello biconico. Successivamente, è necessario far fuoriuscire le bollicine d'aria eventualmente creatisi nel processo. Quindi, è possibile collegare il gavitello biconico al chip e procedere alla generazione di gocce. Al termine del caricamento, ovvero dopo aver impostato una diversa combinazione di flusso, è necessario attendere circa cinque-dieci minuti affinché il flusso si stabilizzi. Dopodiché, è possibile procedere all'accoppiamento tra il laser e la guida di luce - operazione da ripetersi ogni qual volta si nota una diminuzione apprezzabile del livello base del segnale.

Effettuate le impostazioni preliminari, è possibile procedere all'acquisizione del segnale rilevato dal fotodiodo. Per l'acquisizione sono stati utilizzati i seguenti parametri: sample rate 50 kHz, tempo di acquisizione da 10 a 40 secondi, a seconda dell'analisi da effettuarsi, come meglio approfondito nel paragrafo 2.4.

2.4 Tecniche di elaborazione dei dati

Per il calcolo delle lunghezze, delle velocità e dei parametri di onset del campo di carica spaziale relativi alle microgocce si sono utilizzate le medesime tecniche analitiche descritte in [14].

In Figura 2.3a e 2.3b si riportano rispettivamente un segnale relativo ad alcune gocce d'acqua e ad alcune gocce con microplastiche. A titolo esemplificativo, in Figura 2.4b vengono mostrate le immagini di due gocce differenti: una costituita di sola acqua e una contenente le microparticelle di PS della soluzione A2. Si nota che in entrambi i casi risultano identificabili i picchi caratteristici t_{11} , t_{12} , t_{21} e t_{22} che corrispondono all'interazione dei menischi

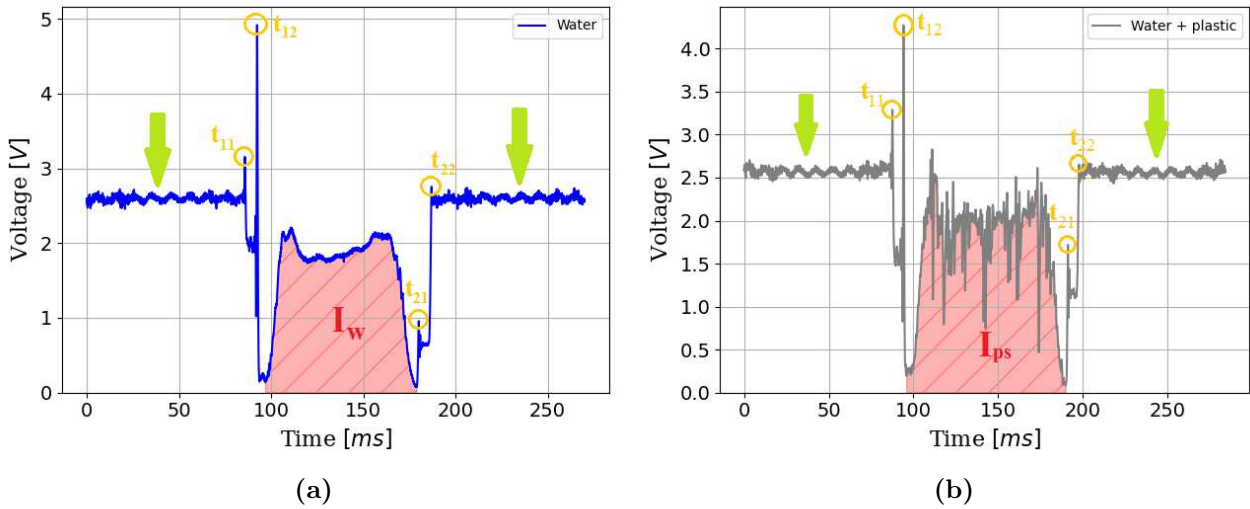


Figura 2.3: In Figura 2.3a viene riportato il tipico segnale di una goccia d'acqua alla combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$. In Figura 2.3b viene riportato il tipico segnale una goccia di A2 alla combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$. In rosso vengono evidenziati i segnali relativi all'interno delle gocce (c.d. zona centrale, ove vengono calcolati gli integrali \mathbf{I}), invece, con le frecce verdi si evidenziano i segnali relativi alla sola fase continua (assenza di goccia). Si noti come la differenza tra i due segnali nelle zone evidenziate in rosso è dovuta alla presenza delle MP disperse.

delle gocce con i due rami del MZI (per ulteriori dettagli si consulti [14]). Sottratto il fondo dovuto a fenomeni ossidativi presenti sull'apparato, si nota chiaramente la differenza tra le due situazioni. Infatti, i diversi segnali delle regioni centrali delle gocce rappresentate in Figura 2.3a e 2.3b sono attribuibili, rispettivamente, all'assenza o alla presenza delle microparticelle. Come si nota immediatamente, il segnale relativo all'interno della goccia segue un andamento non facilmente analizzabile. Infatti, non risulta possibile effettuare alcun fit con le funzioni elementari (es. polinomiale, esponenziale, sinusoidale, ecc). Pertanto, è necessario studiare un differente approccio analitico. Dato l'elevato numero di dataset da analizzare, è necessario trovare una tecnica che, oltre ad essere facilmente utilizzabile, riesca ad essere indipendente dall'accoppiamento (perché varia per ogni dataset) e dalla forma del segnale, tenendo invece conto del diverso segnale che ogni MP può generare. Un quantificatore che soddisfa a tutte le precedenti richieste è l'integrale \mathbf{I} della curva sottesa tra i due minimi del segnale interno alla goccia (cfr. Figure 2.3a e 2.3b), normalizzato al valore medio del livello della fase continua. Si noti che, essendo l'intensità del segnale espressa in V e la lunghezza delle gocce riportata temporalmente in ms, l'integrale \mathbf{I} sarà espresso in V ms. Quindi, l'integrale normalizzato al livello medio di esadecano della goccia risulterà espresso in ms. Per ogni singola goccia di ogni dataset si è ricavato tale parametro e, per ogni campione, ne è stata analizzata la distribuzione statistica (computando media e deviazione standard). In Figura 2.4a si riporta l'esempio di un campione analizzato con questa tecnica da cui si può notare come, a parità della combinazione del flusso, le gocce di MP siano leggermente più lunghe a causa della densità aumentata della soluzione di MP. Infatti, la densità delle soluzioni di MP è sempre maggiore della densità dell'acqua (pari a $\sim 1 \text{ g}/\text{mL}$ in c.s.), come si evince facilmente dalle schede tecniche di AlignFlow e PS-Research. Ciò accade perché il flussimetro non misura direttamente le proprietà delle soluzioni di MP bensì quelle dell'esadecano puro utilizzato come fase di spinta, presentando un feedback alla pompa affetto da errore sistematico (al massimo pari al 6%), sebbene costante per ogni combinazione. In ogni caso, tale effetto non affliggerà significativamente l'analisi operata, perché dovrebbe mantenersi costante per ogni combinazione utilizzata - a parità di soluzione -

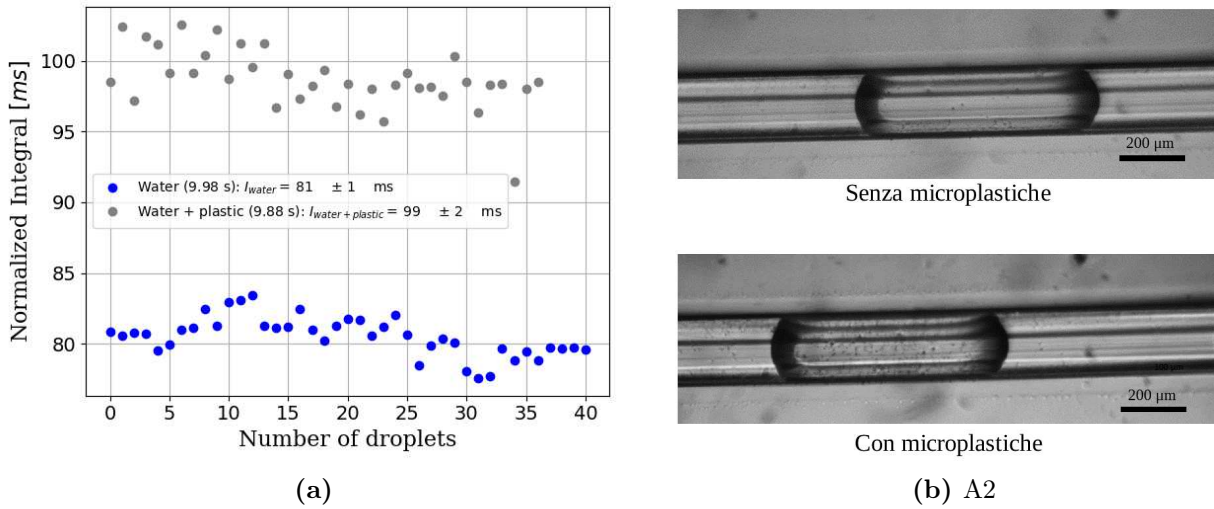


Figura 2.4: In Figura 2.4a viene riportato un esempio di calcolo degli integrali normalizzati alla combinazione $Q_c = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 6.4 \mu\text{L}/\text{min}$, soluzione A2. In Figura 2.4b in alto viene mostrata l'immagine di una goccia priva di microparticelle al suo interno e in basso viene mostrata l'immagine di una goccia contenente microparticelle, entrambe le foto sono state scattate approssimativamente nello stesso punto del canale per la soluzione A2 alla combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$.

e, soprattutto, perché i confronti tra campioni non saranno di tipo fine.

2.5 Tecnica di generazione delle microgocce

In questo paragrafo viene discussa la migliore tecnica per la generazione delle microgocce tra pompa a siringa e gavitello biconico, utilizzate per la fase dispersa. Il confronto verrà effettuato alla combinazione di flussi $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ e $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$. Si riportano in Tabella 2.3 gli integrali normalizzati calcolati. Si può notare che gli integrali ottenuti dai segnali misurati

Tabella 2.3: Confronto tra gli integrali normalizzati (espressi in ms) delle gocce ($Q_c/Q_d = 10/8$) generate dalla pompa a siringa per la soluzione A1 e dal gavitello biconico per la soluzione A2.

#	Pompa siringa		Gavitello biconico	
	I_{ps}	σ_{ps}	I_{ps}	σ_{ps}
1	60	2	59	2
2	67	2	61	1
3	72	1	62	2

con la pompa a siringa risultano complessivamente più dispersi (rapporto tra la semidispersione massima sulla media del 9%) rispetto a quelli del gavitello biconico (rapporto tra la semidispersione massima sulla media del 3%). Inoltre, dai plot in Figura 2.5, relativi agli integrali normalizzati delle MP in relazione con quelli dell'acqua, risulta evidente che la pompa a siringa, alle stesse combinazioni di flusso impostate, mancando del controllo di feedback, non è in grado di erogare un numero elevato di gocce. Anzi, se il gavitello biconico permette di erogare, per i motivi indicati alla fine del paragrafo 2.3, un numero leggermente inferiore di gocce rispetto all'acqua (circa meno 3%), la pompa a siringa eroga un numero significativamente minore di

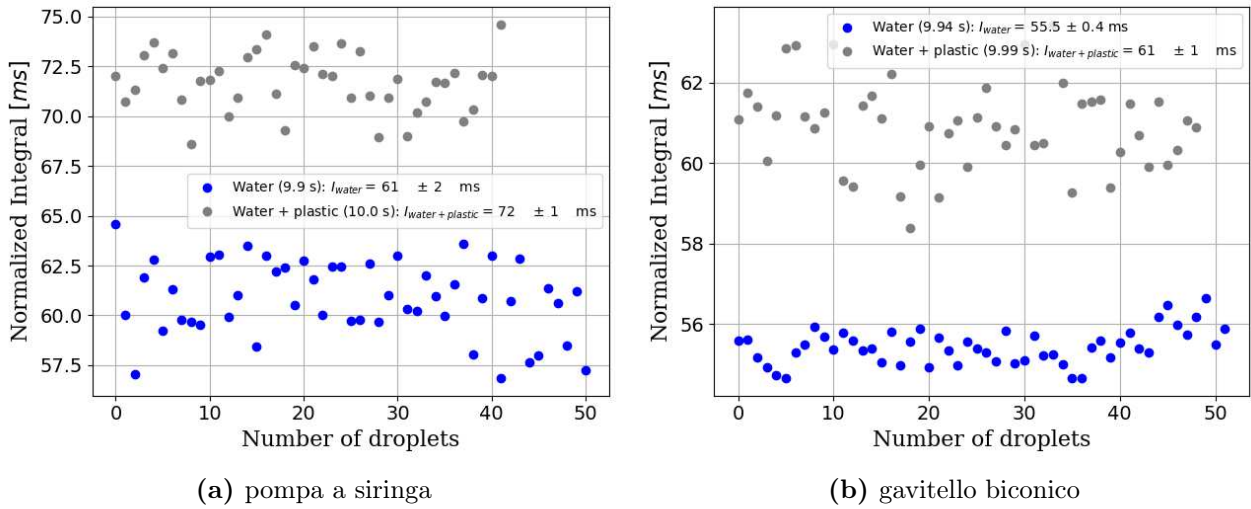


Figura 2.5: Nella presente figura vengono riportati i plot degli integrali relativo alla combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$, rispettivamente a destra per la pompa a siringa (sol. A1) e a sinistra per il gavitello biconico (sol. A2).

gocce (circa meno 10%). All'argomento precedente si ricollega anche la lunghezza temporale delle gocce. Quest'ultima è data dalla differenza tra gli estremi di integrazione già individuati nel paragrafo 2.4. Come si può desumere dalla Figura 2.6, alle medesime combinazioni, le gocce prodotte con la pompa a siringa risultano più corte (lunghezza $621 \pm 11 \mu\text{m}$) ma più distanziate le une con le altre rispetto a quelle prodotte con il gavitello biconico (lunghezza $648 \pm 7 \mu\text{m}$) che appaiono anche più regolari. Ciò è legato al principio di funzionamento della giunzione a T e della pompa a siringa. Infatti, quest'ultima imprime una spinta costante al fluido e, variando le proprietà reologiche a seconda della soluzione inserita, varia anche la frequenza delle gocce prodotte, così come approfonditamente studiato in [20], perché la pompa a siringa è priva di un controllo in feedback. Pertanto, valutata la stabilità del flusso e delle gocce ottenibili, il

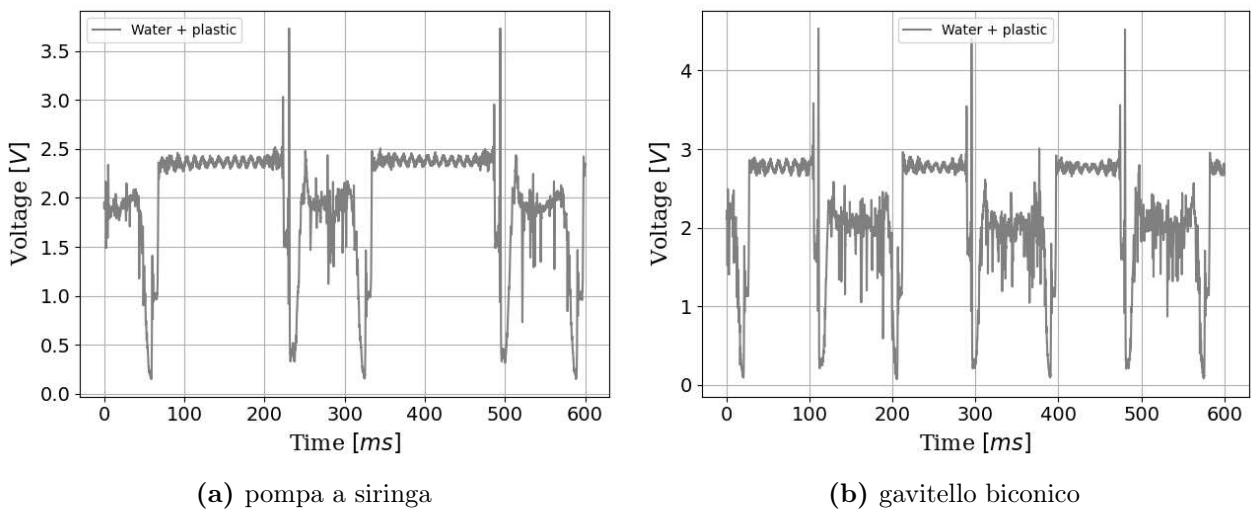


Figura 2.6: Nella presente figura vengono riportati i grafici dei segnali relativi alla combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$, rispettivamente a destra per la pompa a siringa (sol. A1) e a sinistra per il gavitello biconico (sol. A2).

gavitello biconico risulta essere la tecnica migliore tra quelle proposte per la produzione delle microgocce che verrà utilizzata d'ora innanzi.

2.6 AlignFlow

In questo paragrafo sono riportati i risultati ottenuti per le MP AlignFlow. La presa dati è stata effettuata con due diverse modalità: nella prima è stata utilizzata la pompa a siringa con la soluzione A1 mentre nella seconda è stato utilizzato il gavitello biconico con la soluzione A2. Si noti (cfr. Tabella 2.1) che le soluzioni A1 e A2 hanno la medesima concentrazione di microsferi, nel limite dell'errore. Pertanto, ci si attende che i vari campioni rispondano nello stesso modo, a parità di sollecitazioni. In Tabella 2.4 si riportano le medie pesate degli integrali normalizzati per la combinazione $Q_c = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 6.4 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_c = 12.5 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ e $Q_c = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 20 \mu\text{L}/\text{min}$.

Tabella 2.4: Medie pesate degli integrali normalizzati per le combinazioni $Q_c = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 6.4 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_c = 12.5 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 10 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_c = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ per particelle AlignFlow. Valori degli integrali normalizzati espressi in ms. L'errore $\sigma_{\mathbf{I}_{\text{ps}}/\mathbf{I}_{\text{w}}}$ è stato calcolato mediante propagazione degli errori casuali.

Soluzione	A2						A1					
Q_c/Q_d	\mathbf{I}_{ps}	σ_{ps}	\mathbf{I}_{w}	σ_{w}	$\mathbf{I}_{\text{ps}}/\mathbf{I}_{\text{w}}$	$\sigma_{\mathbf{I}_{\text{ps}}/\mathbf{I}_{\text{w}}}$	\mathbf{I}_{ps}	σ_{ps}	\mathbf{I}_{w}	σ_{w}	$\mathbf{I}_{\text{ps}}/\mathbf{I}_{\text{w}}$	$\sigma_{\mathbf{I}_{\text{ps}}/\mathbf{I}_{\text{w}}}$
8/6.4	101	2	81	1	1.25	0.03						
10/8	60.8	0.8	55.5	0.4	1.10	0.02	69.2	0.8	61	2	1.13	0.04
12.5/10	42.0	0.7	45.1	0.2	0.93	0.02						
20/20	25.2	0.2	22.2	0.2	1.14	0.01	23	1	16	1	1.4	0.1

Stante l'ottima compatibilità¹ - $\lambda \leq 0.4$ in tutti i casi - tra i valori di \mathbf{I}_{w} e una compatibilità mediamente buona tra i valori di \mathbf{I}_{ps} , alle varie combinazioni Q_c/Q_d , si è deciso di calcolare i rapporti $\mathbf{I}_{\text{ps}}/\mathbf{I}_{\text{w}}$ come rapporto tra i valori delle medie pesate dei campioni. Tali rapporti vengono esposti nella predetta Tabella 2.4. In primo luogo, al fine di corroborare la scelta effettuata nel paragrafo 2.5, è possibile osservare che i rapporti relativi alle misure effettuate con la pompa a siringa (A1 nella Tabella 2.4) presentano un errore maggiore rispetto a quello ottenibile con il gavitello biconico. Infatti, la deviazione standard per A1 è compresa tra il 3% e il 7%, invece, per A2 è compresa tra il 2% e il 4%. Inoltre, come già mostrato in Figura 2.6, la zona centrale delle gocce generate dal gavitello biconico è più stretta rispetto a quella delle gocce generate dalla pompa a siringa. In particolare, lo stesso fenomeno si osserva anche per segnali relativi ad acqua. Pertanto, nonostante le due popolazioni di integrali normalizzati non siano tra loro confrontabili, ci si aspetta che rapporti $\mathbf{I}_{\text{ps}}/\mathbf{I}_{\text{w}}$ lo siano. Infatti, l'operazione di rapporto permette di compensare la diversa lunghezza delle zone centrali, essendo tale effetto generato da un fattore moltiplicativo. Tale supposizione viene verificata con compatibilità ottima ($\lambda = 0.7$) dai campioni $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ per A1 e A2. Invece, la combinazione $Q_c = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ non la soddisfa, essendo i valori per A1 e A2 incompatibili ($\lambda = 12$). Tuttavia, questa differenza è spiegabile osservando che per A1 $Q_c/Q_d = 20/20$ è stata effettuata un'unica acquisizione non ottimale, infatti, nel grafico in Figura 2.7a relativo all'andamento degli integrali calcolati si delinea una marcata irregolarità da cui sorgono alcuni dubbi sulla bontà dei dati relativi a questo campione.

¹Per compatibilità tra due misure x e y con deviazione standard rispettivamente σ_x e σ_y si intende $\lambda = |x - y|/\sqrt{\sigma_x^2 + \sigma_y^2}$. Viene utilizzata la seguente scala di giudizi: ottimo per $0 \leq \lambda \leq 1$, buono per $1 < \lambda \leq 2$, pessimo per $2 < \lambda \leq 3$ e incompatibile per $\lambda > 3$.

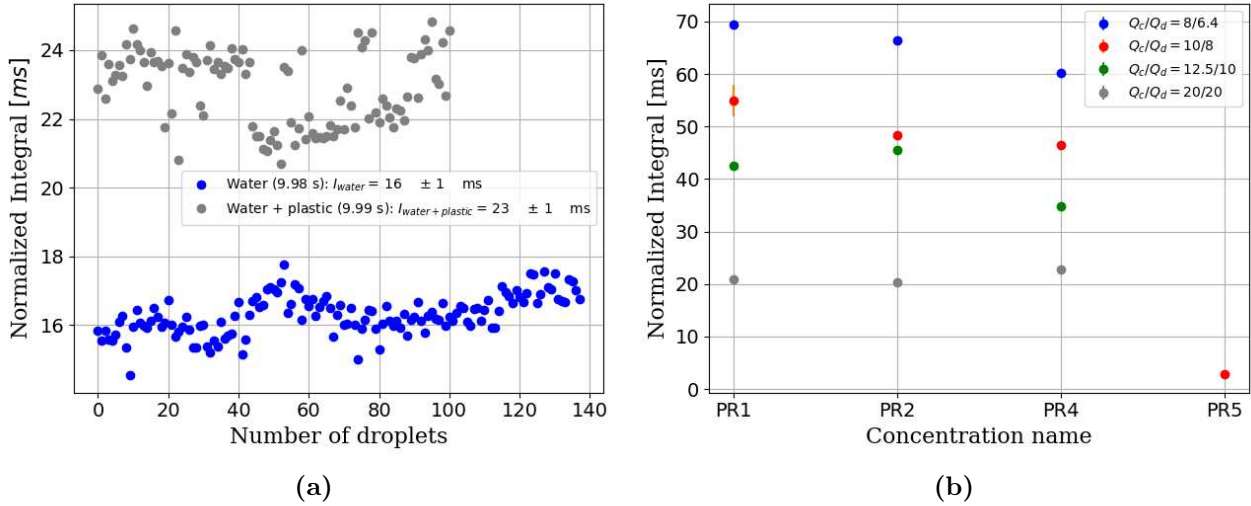


Figura 2.7: In Figura 2.7a viene riportato il grafico dell'integrale normalizzato dell'acqua relativo alla combinazione $Q_c/Q_d = 20/20$ della soluzione A1. In Figura 2.7b si riporta l'andamento degli integrali I_{ps} al variare delle concentrazioni e delle combinazioni Q_c/Q_d per PS-Research.

Per quanto concerne i rapporti tra gli integrali normalizzati relativi alla soluzione A2 tabulati in Tabella 2.4, si osserva che per la combinazione $Q_c = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 6.4 \mu\text{L}/\text{min}$ la compatibilità è buona, invece, per la combinazione $Q_c = 12.5 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ è ottima.

2.7 PS-Research

Per le PS-Research si sono acquisiti diversi set di dati al variare della combinazione dei flussi Q_c/Q_d e della concentrazione delle soluzioni utilizzate. Più nel dettaglio, si sono acquisiti alcuni campioni per le concentrazioni PR1, PR2 e PR4 alle combinazioni di flussi $Q_c = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 6.4 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_c = 12.5 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ e $Q_c = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ e PR1, PR2, PR4 e PR5 per la combinazione $Q_c/Q_d = 10/8$. Avendo osservato che la compatibilità interna di ciascun campione è mediamente buona, si è deciso di utilizzare come estimatore la media pesata di ciascuno di essi (cfr. Tabella 2.5). Inoltre, in Figura 2.7b si riportano gli stessi dati in forma grafica.

Tabella 2.5: In questa tabella si riportano le medie pesate degli integrali normalizzati sul livello di esadecano per diverse concentrazioni e diverse combinazioni dei flussi di PS-Research. I_{ps} espresso in ms.

Q_c/Q_d	Nome conc.	I_{ps}	$\sigma_{I_{ps}}$
8/6.4	PR1	69.5	0.5
	PR2	66.4	0.4
	PR4	60.2	0.3
10/8	PR1	55	3
	PR2	48.3	0.5
	PR4	46.5	0.4
	PR5	2.76	0.07

Q_c/Q_d	Nome conc.	I_{ps}	$\sigma_{I_{ps}}$
12.5/10	PR1	42.4	0.2
	PR2	45.6	0.3
	PR4	34.8	0.3
20/20	PR1	20.83	0.09
	PR2	20.3	0.2
	PR4	22.8	0.3

Dalla Figura 2.7b si può osservare come, a tutte le combinazioni di flusso eccetto $Q_c = 12.5 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ e $Q_c = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 20 \mu\text{L}/\text{min}$, all'aumentare della concentrazione - in ordine crescente PR1, PR2, PR3, PR4 e PR5 - corrisponde la diminuzione degli integrali I_{ps} . Per la soluzione PR5 - la più concentrata tra quelle analizzate - si osserva

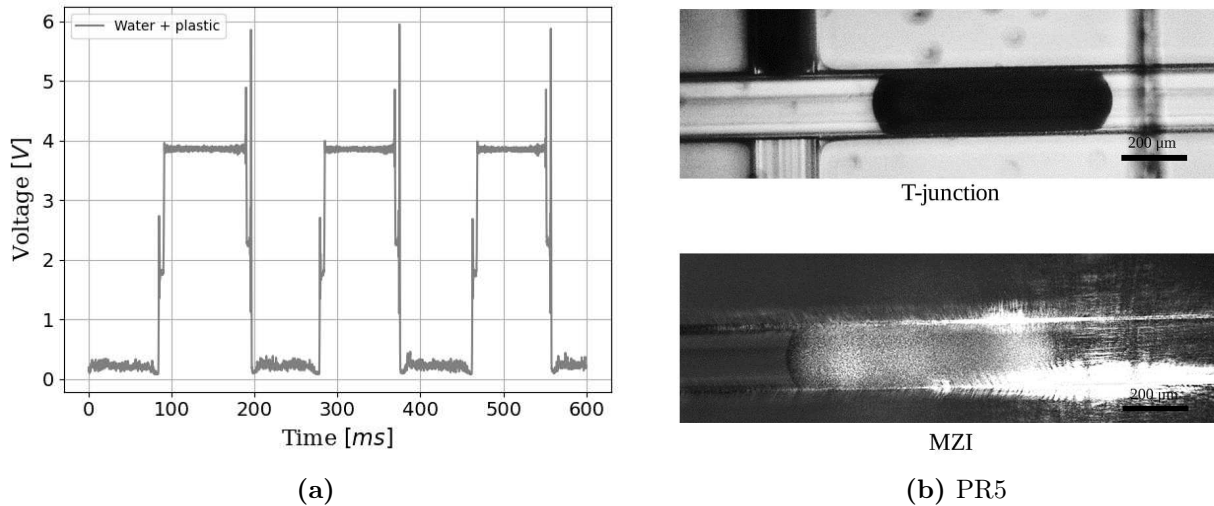


Figura 2.8: In Figura 2.8a si riporta il segnale per PR5 alla combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$. In Figura 2.8b si riportano due immagini di gocce ottenute per PR5 alla combinazione $Q_c = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 20 \mu\text{L}/\text{min}$: nella figura superiore nei pressi della T-junction e nella figura inferiore nei pressi del MZI.

che il valore dell'integrale è particolarmente basso rispetto agli altri casi (mediamente circa 2.76 ms contro diverse decine di millisecondi). Più in particolare, ciò si può osservare direttamente nella Figura 2.8a dove si riporta un segnale ottenuto a questa combinazione in cui il segnale della zona centrale della goccia è prossimo a zero. Tale valore si spiega riferendosi alla notevole concentrazione di PS-Research (a parità di volume di soluzione, PS-Research contiene circa 50 volte il quantitativo in massa di PS rispetto ad AlignFlow) che riduce in maniera considerevole l'intensità della luce misurata dopo il passaggio nella goccia, probabilmente a causa del prevalere del fenomeno dello scattering. La goccia - diversamente dai casi mostrati in precedenza - appare nera quando osservata con la videocamera, supportando l'ipotesi che la luce non riesca a raggiungere l'obiettivo principalmente a causa dello scattering. Inoltre, mentre le singole microparticelle AlignFlow utilizzate risultavano visibili anche con la videocamera (cfr. Figura 2.4b), le PS-Research non sono singolarmente visibili, tranne nella regione più prossima a quella illuminata dal fascio laser dove lo scattering le rende evidenti. Alla luce di questa osservazione, è interessante notare che, sebbene la soluzione PR4 abbia una concentrazione pari a circa due quinti rispetto a PR5 (4.5 mg/g vs ~ 10 mg/g), non si osserva una riduzione nell'intensità della luce trasmessa (ovvero dell'integrale della zona centrale) comparabile a quella ottenuta per PR5, così come si può anche visualizzare graficamente osservando che una goccia alla concentrazione PR4 appare trasparente (sia nella regione prossima al MZI sia distante da esso) - cfr. Figure 2.8b e 2.9. Pertanto, anche osservando la netta diminuzione dell'integrale di PR5 rispetto a quello di PR4 (cfr. Figura 2.7b), si conclude che sembra esistere un effetto di soglia, ovvero una rapidissima diminuzione dell'integrale considerato, tra PR4 e PR5. Quindi, al fine di comprendere meglio tale fenomeno, potrebbe essere conveniente mappare più nel dettaglio tale zona utilizzando concentrazioni comprese tra 5 mg/g e 10 mg/g di massa di PS su massa d'acqua totale. Inoltre, sarebbe interessante verificare l'insorgenza di un simile fenomeno anche per le AlignFlow.

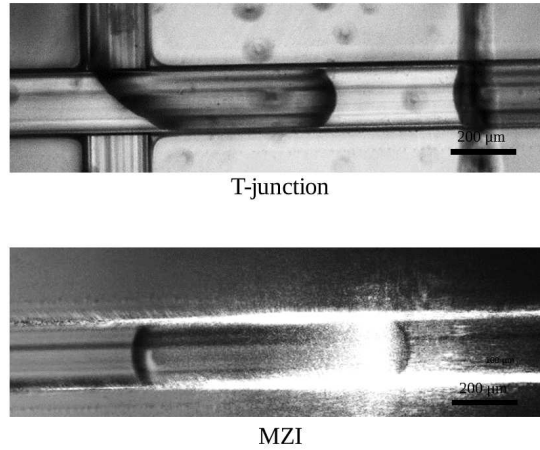


Figura 2.9: In figura si riporta il confronto tra due immagini in regioni diverse di gocce di PS-Research con concentrazione C4 alla combinazione $Q_c = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 20 \mu\text{L}/\text{min}$.

Per effettuare un confronto tra gli integrali normalizzati al livello di esadecano per le AlignFlow e per le PS-Research risulta opportuno considerare, tra le varie concentrazioni utilizzate per le PS-Research, PR2, in quanto è la concentrazione massa di PS su massa totale di acqua che più si avvicina a quella utilizzata per le AlignFlow. Si riporta in Tabella 2.6 il risultato di tale confronto.

Tabella 2.6: Confronto tra le medie pesate degli integrali normalizzati (valori espressi in ms) nelle concentrazioni A2 e PR2.

Q_c/Q_d	A2		PR2	
	I_{ps}	$\sigma_{I_{ps}}$	I_{ps}	$\sigma_{I_{ps}}$
8/6.4	101	2	66.4	0.4
10/8	60.8	0.8	48.3	0.5
12.5/10	42.0	0.7	46.6	0.3
20/20	25.2	0.2	20.3	0.2

Si può notare che entrambe le popolazioni di particelle di questo confronto presentano un trend decrescente delle medie pesate degli integrali all'aumentare delle velocità nei flussi. Inoltre, dal confronto alla medesima combinazione di flusso tra AlignFlow e PS-Research si nota come queste ultime presentino mediamente degli integrali più bassi, sebbene non sembri esservi una proporzionalità costante in questa diminuzione. Pertanto, da quest'analisi, non è possibile determinare se il valore degli integrali ottenuti sia dipendente dalla taglia delle particelle di PS disperse in soluzione acquosa.

2.8 Campo di carica spaziale

È stato valutato l'effetto che lo spostamento di carica spaziale indotto dal campo fotovoltaico generato sul cristallo in Fe:LN illuminato non omogeneamente, posto sopra al coperchio del chip, ha sulle microgocce contenenti MP, al fine di comprendere se faciliti il riconoscimento delle stesse. Infatti, è noto da [14, 15] che tale fenomeno provochi un allungamento delle microgocce di acqua, con la lunghezza di quest'ultime che diventa stabile dopo decine di minuti dall'inizio dell'illuminazione del campione di Fe:LN. L'andamento temporale della lunghezza

delle gocce di acqua soggette al campo foto-indotto è infatti il seguente:

$$L(t) = L_0 + \Delta L(1 - e^{-t/\tau})$$

dove L_0 è la lunghezza misurata prima dell'illuminazione, ΔL l'allungamento osservato e τ il tempo caratteristico relativo l'allungamento delle gocce. Il cristallo di Fe:LN utilizzato è stato montato sul coperchio previa accurata pulizia con appositi solventi: in successione sono stati utilizzati isopropanolo, etanolo e acetone. Il coperchio di vetro è stato inoltre pulito con la stessa sequenza di solventi, in modo da ottimizzare il contatto tra quest'ultimo e il cristallo di Fe:LN. Ogni cinque minuti circa, a partire dall'inizio dell'illuminazione e fino a circa cinquanta minuti, si è effettuata un'acquisizione di circa 40 s.

Si suddivide l'analisi dei dati raccolti in presenza del campo di carica spaziale in due sottoparagrafi rispettivamente per AlignFlow e per PS-Research. Si noti che il campo di carica spaziale ottenuto nei due casi non è il medesimo perché le due acquisizioni sono avvenute in due momenti differenti e con un posizionamento del cristallo Fe:LN diverso.

2.8.1 AlignFlow

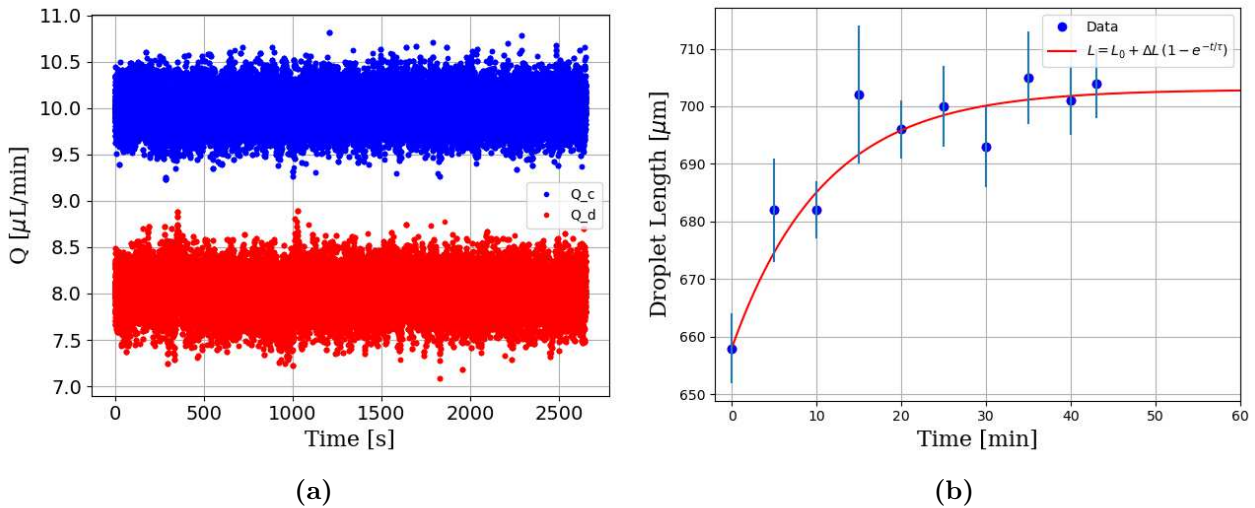


Figura 2.10: In Figura 2.10a viene riportato l'andamento dei flusso misurato dai flussimetri per la fase continua (in rosso) e per la fase dispersa (in blu) durante la generazione del campo di carica spaziale utilizzato per le particelle AlignFlow. In Figura 2.10b viene riportato il grafico di onset (lunghezza della goccia vs tempo trascorso dall'attivazione) del campo di carica spaziale alla combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ usato per AlignFlow. Dal fit con la funzione indicata in legenda si ottiene che $\Delta L = (45 \pm 3) \mu\text{m}$ e $\tau = (11 \pm 2) \text{min}$.

In Figura 2.10b viene riportato il grafico della lunghezza delle gocce in funzione del tempo trascorso dall'inizio dell'illuminazione del cristallo Fe:LN. Si può notare che l'allungamento raggiunto dopo 45 minuti è pari a $(45 \pm 3) \mu\text{m}$ (pari a circa il 7%) con $\tau = (11 \pm 2) \mu\text{m}$. Tale allungamento, se confrontato con quelli già ricavati per lo stesso campione di Fe:LN da Zanardi [15], risulta ottimamente compatibile per il parametro τ . Invece, per quanto riguarda l'allungamento ΔL , occorre evidenziare che quello qui ottenuto è maggiore di quelli osservati nei lavori precedenti del gruppo di ricerca [14, 15] dove si osservava un valore massimo del rapporto $\Delta L/L_0$ pari a circa 3%. Questo risultato può essere dovuto al fatto che in questo specifico caso la zona del cristallo illuminata non è la stessa che era stata scelta da Zanardi, infatti, la variabilità locale del campo di carica spaziale foto-indotto nel Fe:LN è nota [15]. In

Tabella 2.7: Nella tabella sono riportati gli integrali normalizzati (espressi in ms) per A3 in presenza del campo di carica spaziale.

Q_c/Q_d	#	I_{ps}	$\sigma_{I_{ps}}$
8/6.4	1	110	4
	2	109	2
	3	109	2
12.5/10	1	60	1
	2	55.8	0.8
20/20	1	28.7	0.5
	2	28.0	0.9
	3	28.3	0.4

$Q_c/Q_d = 10/8$				
#	I_{ps}	$\sigma_{I_{ps}}$	I_w	σ_{I_w}
1	72	2	55.3	0.9
2	77	2	97	3
3	81	5	95	1
4	93	2		
5	89	2		
6	90	4		
7	84	14		

ogni caso, studi ulteriori sono necessari per approfondire tale discrepanza. È da escludersi che tale allungamento possa essere stato generato da una variazione dell'accoppiamento del laser con fascio orizzontale o da una variazione nel flusso misurato dai flussimetri, che possono essere considerati trascurabili limitatamente al presente contesto. Infatti, la lunghezza del segnale, che viene utilizzata per misurare la lunghezza spaziale tramite accoppiamento con la guida MZI, è indipendente dall'accoppiamento ottenuto che agisce unicamente quale fattore di variazione verticale del segnale (tensione misurata dal detector). Per quanto riguarda il flusso misurato dai flussimetri, si può osservare che lo stesso non ha presentato variazioni significative nel corso dell'acquisizione (Figura 2.10a). Tutto ciò permette di concludere che il campo di carica spaziale è stato effettivamente generato. Quindi, da questo momento, le gocce delle soluzioni di AlignFlow inserite nel chip in luogo di quelle d'acqua risentiranno di tale campo.

In Tabella 2.7 si riportano gli integrali normalizzati calcolati per la soluzione A3 in presenza del campo di carica spaziale. Per quanto riguardano le combinazioni $Q_c = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 6.4 \mu\text{L}/\text{min}$ e $Q_c = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ si può osservare un ottimo livello di compatibilità interna tra gli integrali della stessa combinazione ($\lambda_{Q_d/Q_c=8/6.4} = 0.3$ e $0.3 < \lambda_{Q_d/Q_c=20/20} < 0.7$). Invece, gli integrali alle combinazioni $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ e $Q_c = 12.5 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ sono incompatibili. Ciò è dovuto al fatto che in entrambi i casi le acquisizioni sono state intervallate da un riaccoppiamento fine del laser al MZI. In particolare, nel caso $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$, in seguito alla misura #3, è stato effettuato un riaccoppiamento. Pertanto, i valori particolarmente elevati di $\sigma_{I_{ps}}$ per #3 e per #7 rispetto agli altri suggeriscono proprio che nel corso di quelle acquisizioni (della durata di 40 s) vi siano stati i riaccoppiamenti e/o alcune variazioni nei flussi erogati. Quindi, i campioni #3 e #7 per il PS sono da scartare perché inaffidabili. Anche #1 per l'acqua è da rigettarsi, sebbene per una diversa motivazione: tale valore è totalmente incompatibile rispetto agli altri due. Per #1 e #2 PS, campioni raccolti prima del riaccoppiamento, si osserva una buona compatibilità interna. Per i campioni da #4 a #6 compresi si osserva un andamento più variabile della compatibilità: oscilla tra buona e ottima. Invece, la compatibilità per i campioni #2 e #3 per l'acqua è ottima. In ogni caso, dall'analisi degli integrali normalizzati qui esposti, è possibile concludere che l'apparato, nonché il contenuto delle gocce, è sostanzialmente stabile giacché vi è una compatibilità interna tra le varie misure che mediamente oscilla tra buona e ottima. Pertanto, effettuate le reiezioni indicate, in Tabella 2.8 si sono calcolate le medie pesate degli integrali normalizzati per i vari campioni quali estimatori per ciascuno di essi.

Osservando che sia in assenza sia in presenza del campo di carica spaziale per la sola combinazione di flussi $Q_c/Q_d = 10/8$ è stato acquisito il segnale per l'acqua, sarà possibile confrontare I_{ps}/I_w unicamente in tale caso, per tutte le misure di A2 e per tutte le misure di A3 - eccetto #3

Tabella 2.8: Nella tabella sono riportati le medie pesate degli integrali normalizzati (espressi in ms) per A3 in presenza del campo di carica spaziale successivamente alla reiezione. Inoltre, si riporta il rapporto $\mathbf{I}_{ps}/\mathbf{I}_w$ per $Q_c/Q_d = 10/8$ con $\sigma_{\mathbf{I}_{ps}/\mathbf{I}_w}$ calcolato mediante propagazione degli errori casuali.

Q_c/Q_d	\mathbf{I}_{ps}	$\sigma_{\mathbf{I}_{ps}}$	\mathbf{I}_w	$\sigma_{\mathbf{I}_w}$	$\mathbf{I}_{ps}/\mathbf{I}_w$	$\sigma_{\mathbf{I}_{ps}/\mathbf{I}_w}$
8/6.4	109	1				
10/8	83	1	95.2	0.9	0.733	0.005
12.5/10	57.4	0.6				
20/20	28.4	0.3				

Tabella 2.9: In questa tabella si riportano i rapporti degli integrali normalizzati per la combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ per la soluzione A3 in presenza del campo di carica spaziale. \mathbf{I}_{ps} e \mathbf{I}_w sono calcolati in presenza del campo di carica spaziale (cfr. Tabella 2.7).

#	$\mathbf{I}_{ps}/\mathbf{I}_w$	$\sigma_{\mathbf{I}_{ps}/\mathbf{I}_w}$
1	0.76	0.02
2	0.81	0.02
3	0.85	0.05
4	0.98	0.02
5	0.94	0.02
6	0.95	0.04
7	0.9	0.1

e #7 (Tabella 2.9). Analizzando i dati per la combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ di A3 è possibile osservare i limiti del metodo di analisi utilizzato. Infatti, dal confronto tra i rapporti #1 - #2 e #5 - #7 di $\mathbf{I}_{ps}/\mathbf{I}_w$ si osserva come questi siano notevolmente dipendenti dal livello di accoppiamento. Infatti, il metodo di normalizzazione al livello della fase continua - alla prova dei fatti - non sembrerebbe essere in grado di eliminare l'effetto dell'accoppiamento. Probabilmente, ciò è dovuto anche al fatto che la modifica dell'accoppiamento non sembra agire come un mero fattore di scala. Bensì, sembrerebbe indurre una rilevante - seppur difficilmente visibile sui grafici dei segnali - modifica nella forma del segnale. Si evidenzia come i rapporti $\mathbf{I}_{ps}/\mathbf{I}_w$ per A3 siano sempre inferiori a uno - in media circa 0.9. Ciò contrasta con il caso A2 - in assenza di campo - dove il rapporto $\mathbf{I}_{ps}/\mathbf{I}_w$ è sempre maggiore di 1 (in media circa 1.1). Pertanto, risulta evidente che una moderata variazione della lunghezza della goccia (7%) introduce una rilevante distorsione di questo indicatore. Quindi, il calcolo dei rapporti qui presentato non sembra essere un buon indicatore analitico in questa situazione. Una via che si potrebbe esplorare per compensare questo effetto potrebbe essere un'ulteriore normalizzazione degli integrali, rendendoli adimensionali, utilizzando la lunghezza temporale di ogni singola goccia come parametro. In tale modo, sarebbe possibile ridurre la dipendenza dell'analisi da eventuali fluttuazioni indotte dal sistema di pompaggio.

2.8.2 PS-Research

Anche per la combinazione PR5 di PS-Research è stato studiato l'effetto del campo di carica spaziale sulle gocce contenenti microplastiche.

In Figura 2.11 si riporta il grafico del tempo di onset di tale campo. Si deve notare che tale curva nella parte iniziale (5-15 minuti) è priva di alcuni punti a causa instabilità nell'accoppiamento

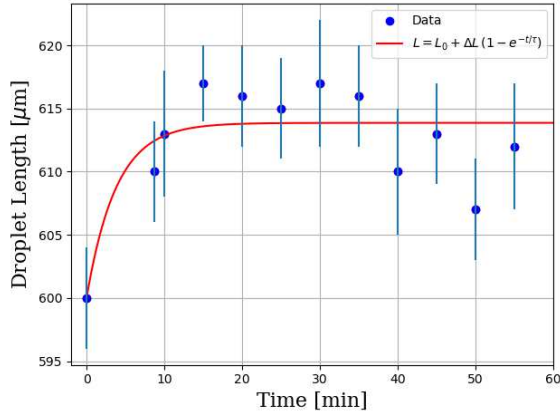


Figura 2.11: In questa figura viene riportato il grafico di onset (lunghezza della goccia vs tempo trascorso dall’attivazione) del campo di carica spaziale alla combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ usato per PS-Research. Dal fit con la funzione indicata in legenda si ottiene che $\Delta L = (14 \pm 1) \mu\text{m}$ e $\tau = (4 \pm 3) \text{min}$.

Q_c/Q_d	I_{ps}	$\sigma_{I_{ps}}$
8/6.4	7.7	0.2
10/8	4.61	0.06
20/20	3.5	0.1

Tabella 2.10: Nella tabella si riportano le medie pesate degli integrali normalizzati (espressi in ms) al livello di esadecano misurati a diverse combinazioni di flusso per la concentrazione PR5 in presenza del campo di carica spaziale.

laser-guida. Pertanto, il tempo di onset τ calcolato non è confrontabile con quello misurato in altre situazioni, per esempio con quello del paragrafo 2.8.1, proprio perché il fit esponenziale, dato dalla legge che descrive il fenomeno di allungamento, è particolarmente sensibile ai punti iniziali della curva, qui mancanti. In ogni caso, si osserva un allungamento medio delle gocce $\Delta L = (14 \pm 1) \mu\text{m}$ pari a circa il 2.3%, compatibile con quanto trovato da Zanardi [15]. In Tabella 2.10 si riportano gli integrali normalizzati al livello di esadecano calcolati per diverse combinazioni di flussi per la soluzione PR5. Si può notare che i valori di tali integrali sono particolarmente bassi in quanto, come già spiegato in precedenza, le particelle PR5, presentando una concentrazione piuttosto elevata, riducono significativamente l’intensità della luce trasmessa. La compatibilità interna dei campioni è ottima per la combinazione $Q_c = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 6.4 \mu\text{L}/\text{min}$ e per $Q_c = 20 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 20 \mu\text{L}/\text{min}$. Invece, la compatibilità alle combinazioni di $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ è mediamente buona. Ciò è probabilmente dovuto a una transitoria instabilità nel flusso erogato. In ogni caso, conformemente a quanto già verificato nei casi precedenti, anche in presenza di campo di carica spaziale, si nota il trend decrescente degli integrali normalizzati al livello di esadecano all’aumentare dei flussi. Comunque, non sembra esservi un andamento di proporzionalità comune tra gli integrali e la combinazione dei flussi per i diversi campioni analizzati (sia di PS-Research sia di AlignFlow). Per quanto riguarda l’effetto del campo di carica spaziale sulle PS-Research, il confronto risulta effettuabile esclusivamente alla combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ e alla concentrazione PR5, giacché solo questi dati sono stati acquisiti in entrambe le situazioni. In questo caso, il rapporto tra la media pesata di I_{ps} in presenza del campo di carica spaziale e quello in assenza di esso è di circa 1.7 contro circa 1.4 del caso AlignFlow. Pertanto, risulta evidente che, in tutti i casi, l’effetto del campo di carica spaziale alla combinazione $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$ sia quello di aumentare il valore degli integrali rispetto al caso di assenza dello stesso.

Conclusioni

L'obiettivo del presente lavoro di tesi è quello di rilevare le MP disperse in soluzione acquosa sfruttando dei processi ottici mediante l'uso di una piattaforma opto-microfluidica integrata. In primo luogo, è stato mostrato che sfruttando il fenomeno ottico della trasmissione la piattaforma opto-fluidica preliminare (guida ottica dritta che attraversa il canale microfluidico in configurazione aperta) è in grado di distinguere tra soluzioni di acqua e soluzioni di PET oppure di AlignFlow A1. Appurato che tale metodo risulta macchinoso, di difficile controllo e lento, si sono disperse le MP in soluzioni acquose, successivamente frazionate in gocce, perché queste costituiscono un ambiente isolato, sono facilmente realizzabili, riproducibili e permettono un elevato *throughput*, soffermando l'attenzione nel range dimensionale delle sub μ -plastiche (100 nm - 10 μ m) attualmente privo di efficaci tecniche analitiche. Pertanto, si sono utilizzate due differenti soluzioni di microparticelle di PS per mappare gli estremi di tale range: AlignFlow (diametro compreso tra circa 2.5 - 14 μ m, fluorescenti alla lunghezza d'onda di 633 nm) nella concentrazione massa di PS su massa di acqua totale compresa tra circa 0.22 e 0.23 mg/g e PS-Research (diametro nominale di circa 340 nm) con concentrazioni massa di PS su massa di acqua totale comprese tra circa 0.65 e 10 mg/g. Dato che le MP sedimentano e ciò può danneggiare l'apparato, si sono esplorate due differenti tecniche per la generazione delle microgocce: pompa a siringa e gavitello biconico. A seguito di alcune prove, si è mostrato che il miglior modo per generare le microgocce è l'utilizzo del gavitello biconico che è stato quindi utilizzato per tutte le misure perché genera gocce con caratteristiche più precise e riproducibili. In seguito, si è mostrato che effettivamente il dispositivo è in grado di rilevare tutte le MP analizzate. In particolare, si è osservato che costituisce requisito essenziale per l'analisi con i metodi proposti (integrale del segnale del contenuto della goccia normalizzato al livello di esadecano) disporre di campioni raccolti con flussi stabili e con accoppiamento costante. Al fine di soddisfare quest'ultimo requisito, si potrebbe accoppiare permanentemente la piattaforma opto-fluidica al laser (c.d. *pigtailing*). Si è mostrato che per particelle di PS con diametro di circa 340 nm e concentrazione massa di PS su massa di acqua totale di 10 μ g/g si raggiunge la saturazione. Si è mostrato che i segnali migliori si ottengono per gocce con velocità intermedia (combinazione dei flussi $Q_c = 10 \mu\text{L}/\text{min}$ su $Q_d = 8 \mu\text{L}/\text{min}$). Si è verificato che, in presenza del campo di carica spaziale, si manifesta un lieve aumento del valore degli integrali, sebbene non sia stato chiarito se tale effetto sia dovuto unicamente all'allungamento delle gocce oppure anche alla polarizzazione delle MP, quindi sono necessari nuovi studi in tal senso.

Tutto ciò considerato, si è raggiunto l'obiettivo preposto perché la piattaforma opto-fluidica integrata utilizzata costituisce un valido metodo per rilevare la presenza di sub μ -plastiche disperse in acqua, sebbene limitatamente ai campioni effettivamente analizzati. Pertanto, al fine di caratterizzarne l'intervallo di funzionamento quale rivelatore di MP e di verificarne l'eventuale capacità di identificazione delle diverse MP, sono necessarie nuove prove. Più nel dettaglio, si dovrà studiare la curva di risposta alle diverse concentrazioni, alle diverse taglie e alle diverse

composizioni delle MP. Inoltre, risultano ancora da identificare le migliori tecniche di analisi dei dati, infatti, quelle mostrate in questo lavoro presentano diverse limitazioni, anche constatando che non sfruttano tutta l'informazione presente nelle firme spettrali misurate. Ad esempio, osservando che queste ultime sembrano presentare andamenti caratteristici, sarebbe interessante analizzarne lo spettro di Fourier.

Bibliografia

- [1] Ahmet H. Iri et al. “Optical detection of microplastics in water”. In: *Environmental Science and Pollution Research* 28.45 (2021), pp. 63860–63866.
- [2] Benjamin O. Asamoah et al. “A prototype of a portable optical sensor for the detection of transparent and translucent microplastics in freshwater”. In: *Chemosphere* 231 (2019), pp. 161–167.
- [3] Won Joon Shim, Sang Hee Hong e Soeun Eo Eo. “Identification methods in microplastic analysis: a review”. In: *Analytical methods* 9.9 (2017), pp. 1384–1391.
- [4] Dounia Elkhatib e Vinka Oyanedel-Craver. “A critical review of extraction and identification methods of microplastics in wastewater and drinking water”. In: *Environmental Science & Technology* 54.12 (2020), pp. 7037–7049.
- [5] F. Caputo et al. “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”. In: *Journal of Controlled Release* 299 (2019), pp. 31–43.
- [6] Fernando Barbosa et al. “A critical viewpoint on current issues, limitations, and future research needs on micro- and nanoplastic studies: From the detection to the toxicological assessment.” In: *Environmental Research* 182 (2020), p. 109089. ISSN: 0013-9351. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.109089>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935119308850>.
- [7] Lisbeth Van Cauwenberghe e Colin R. Janssen. “Microplastics in bivalves cultured for human consumption”. In: *Environmental pollution* 193 (2014), pp. 65–70.
- [8] Cristóbal Espinosa et al. “In vitro effects of virgin microplastics on fish head-kidney leucocyte activities”. In: *Environmental Pollution* 235 (2018), pp. 30–38.
- [9] Claudia Campanale et al. “A detailed review study on potential effects of microplastics and additives of concern on human health”. In: *International journal of environmental research and public health* 17.4 (2020), p. 1212.
- [10] Kai Zhao et al. “Separation and characterization of microplastic and nanoplastic particles in marine environment”. In: *Environmental Pollution* (2021), p. 118773.
- [11] Albert Menéndez-Pedriza, Joaquim Jaumot e Carmen Bedia. “Lipidomic analysis of single and combined effects of polyethylene microplastics and polychlorinated biphenyls on human hepatoma cells”. In: *Journal of Hazardous Materials* 421 (2022), p. 126777.
- [12] Ahmed A. Elsayed et al. “A microfluidic chip enables fast analysis of water microplastics by optical spectroscopy”. In: *Scientific reports* 11.1 (2021), pp. 1–11.

- [13] Christian Schwaferts et al. “Methods for the analysis of submicrometer- and nanoplastic particles in the environment”. In: *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 112 (2019), pp. 52–65. ISSN: 0165-9936. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.014>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993618304631>.
- [14] Giovanni Bragato. *Study of light-driven phenomena for opto-microfluidic sensing on multifunctional lithium niobate platforms*. 2021.
- [15] Michele Zanardi. *Fenomeni foto-indotti su gocce generate in piattaforme opto-microfluidiche*. 2022.
- [16] Giacomo Bettella et al. “Lithium niobate micromachining for the fabrication of microfluidic droplet generators”. In: *Micromachines* 8.6 (2017), p. 185.
- [17] Riccardo Zamboni. *Optofluidic application of a mach-zehnder interferometer integrated in lithium niobate for droplet sensing*. 2016.
- [18] Giacomo Bettella. *Integrated opto-microfluidic lab-on-a-chip in lithium niobate for droplet generation and sensing*. 2016.
- [19] Marco Bazzan e Cinzia Sada. “Optical waveguides in lithium niobate: Recent developments and applications”. In: *Applied Physics Reviews* 2.4 (2015), p. 040603.
- [20] Riccardo Zamboni. *Study of light driven phenomena for optofluidic applications in lab-on-a-chip platforms in lithium niobate*. 2019.
- [21] Giovanni Bragato. *Velocimetro per gocce microfluidiche basato su di un interferometro fotonico integrato in niobato di litio*. 2019.
- [22] Leonardo Zanini. *Tesi di Dottorato di Ricerca. Comunicazione privata: leonardo.zanini.2@phd.unipd.it*. 2022.
- [23] Ruru Deng et al. “Measuring pure water absorption coefficient in the near-infrared spectrum(900–2500 nm)”. In: *Yaogan Xuebao- Journal of Remote Sensing* 16.1 (2012), pp. 192–206.
- [24] Chane-Yuan Yang et al. “Numerical simulation of sedimentation of microparticles using the discrete particle method”. In: *Particuology* 6.1 (2008), pp. 38–49.