



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale Corso di Laurea Magistrale in Scienze Chimiche

**Sviluppo di film porosi a base di PLA: Applicazione al
pre-trattamento di campioni acquosi**

Relatore

Prof.ssa Marina Di Carro

Correlatore

Prof.ssa Orietta Monticelli

Prof.ssa Lisa Moni

Laureando

Lorenzo Ambrosetti

Anno Accademico 2021-2022

Sommario

Introduzione.....	5
1 Campionamento delle acque.....	6
1.1 Tecniche di campionamento	7
1.1.1 Campionatori Attivi	9
1.1.2 Bioindicatori	11
1.1.3 Campionatori passivi	14
1.2 Contaminanti Emergenti	20
1.3 Film porosi a base di PLA	23
2 Materiali e metodi.....	27
2.1 Materiali.....	27
2.2 Preparazione di film porosi a base di PLA/PCL tramite tecnica NIPS.....	28
2.3 Funzionalizzazione superficiale mediante amminolisi	31
2.4 Prove di assorbimento con fluoresceina sodica	32
2.5 Studio dell'effetto matrice e dei recuperi.....	33
2.6 Prove di accumulo	41
2.7 Tecniche di caratterizzazione	46
2.7.1 Microscopia elettronica a scansione (SEM)	46
2.7.2 Reometro Brookfield	47
2.7.3 Spettroscopia UV-VIS	47
2.7.4 Spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR)	48
2.7.5 Analisi termogravimetrica (TGA)	48
2.7.6 Cromatografia liquida ad elevate prestazioni accoppiata allo spettrometro di massa a triplo quadrupolo (HPLC-MS-QQQ).....	49
3 Risultati e discussioni	55
3.1 Preparazione e caratterizzazione delle membrane	55
3.1.1 Valutazione della porosità delle membrane a base di PLA	55

3.1.2	Valutazione della viscosità delle soluzioni polimeriche per le membrane a base di PLA	57
3.1.3	Determinazione dei coefficienti di diffusione	60
3.1.4	Morfologia dei film porosi a base di PLA.....	61
3.1.5	Valutazione della porosità delle membrane a base di PLA/PCL.....	64
3.1.6	Valutazione della viscosità delle soluzioni polimeriche per le membrane a base di PLA/PCL.....	66
3.1.7	Morfologia dei film porosi a base di PLA/PCL	67
3.2	Studio della funzionalizzazione superficiale	69
3.2.1	Spettroscopia FT-IR.....	70
3.2.2	Analisi FE-SEM	71
3.2.3	Analisi Termogravimetrica (TGA)	72
3.2.4	Prove di adsorbimento con la fluoresceina sodica.....	73
3.3	Applicazione delle membrane come campionatori passivi.....	76
3.3.1	Studio dell'effetto matrice	76
3.3.2	Studio dei recuperi percentuali	78
3.3.3	Studio dell'accumulo in acqua milli-Q.....	79
3.3.4	Studio dell'accumulo a pH 7.5	84
3.3.5	Studio dell'accumulo in acqua di mare surrogata	87
4	Conclusioni.....	91
4.1	Sviluppi futuri	91
	Bibliografia.....	94

Introduzione

A causa del continuo aumento dell'inquinamento e del sempre maggior sfruttamento delle materie prime, negli ultimi anni tutti gli ambiti scientifici tendono sempre di più allo sviluppo di nuove tecnologie al fine di sostituire processi e materiali in uso con delle soluzioni a minor impatto ambientale.

Il settore chimico non è esente a questa tendenza, infatti, si è sempre alla ricerca di alternative più eco-compatibili alle sostanze più inquinanti che vengono utilizzate. Per questo motivo lo sviluppo di materiali che derivano da piante e microrganismi, anche chiamate "bio based", è sempre più incentivato.

Un altro argomento che suscita un sempre maggior interesse è quello dei cosiddetti contaminanti emergenti che rappresentano una vasta serie di sostanze, di cui una gran parte sono composti organici polari, che sono presenti in basse concentrazioni nell'ambiente [1]. Questa definizione racchiude al suo interno un gran numero di composti che hanno un potenziale effetto nocivo sull'ambiente e provengono da vari tipi di prodotti come farmaci o additivi industriali [2].

Per questi motivi il seguente lavoro di tesi si è incentrato sullo sviluppo di un nuovo campionatore costituito da una membrana a base di acido polilattico, che è un polimero "bio based", da usare in un ambiente acquoso al fine di determinare la concentrazione di alcuni dei contaminanti emergenti presenti al suo interno.

1 Campionamento delle acque

Quello acquoso è uno dei tre comparti fondamentali, insieme all'atmosfera ed al suolo, che compongono l'ambiente ed in quanto tali funzionano da destinazione finale per tutti i prodotti che raggiungono la fine del loro ciclo vitale e tutti gli scarti che sono stati creati durante il loro utilizzo e fabbricazione.

L'acqua è un componente fondamentale per la società moderna: non solo è necessaria per la sopravvivenza dell'uomo, viene anche utilizzata all'interno delle case per lavare oggetti e persone ed è un componente principale della maggior parte delle industrie. Infatti, può essere utilizzata sia come materia prima, sia come mezzo di controllo della temperatura e anche al fine di pulire le apparecchiature ed eliminare gli scarichi.

A seguito di tutti questi utilizzi si ha un'acqua di scarico che normalmente viene trattata e reimessa all'interno dell'ambiente. Nonostante questi accorgimenti può capitare che alcuni contaminanti non vengano eliminati, o per negligenza o per impossibilità di rimozione completa, a questi composti se ne andranno ad unire altri provenienti dai restati comparti [3] ed insieme potrebbero compromettere la qualità dell'acqua danneggiando l'ecosistema che rappresenta e rendendola inservibile agli scopi umani.

Dato che il numero di persone nel mondo continua a crescere ed insieme a ciò aumenta anche la quantità e la varietà delle sostanze che vengono immesse nell'ambiente, è sempre più importante tenere sotto controllo lo stato di inquinamento all'interno delle acque e per questi motivi il numero di studi sull'argomento è in crescita [F. 1.1].

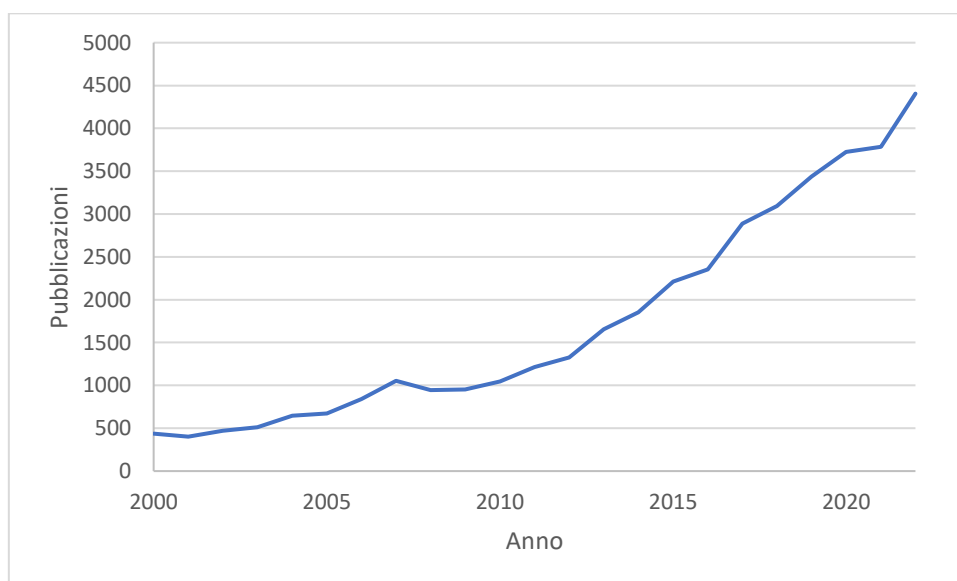


Figura 1.1 Numero delle pubblicazioni dal 2000 al 2022 sugli inquinanti in acqua [4]

1.1 Tecniche di campionamento

Il campionamento è quell'operazione che consente di prelevare delle porzioni sufficientemente piccole da una popolazione più grande in modo da poterle trattare e successivamente analizzare in laboratorio.

Essendo l'operazione che sta alla base di tutto il procedimento che porta al risultato finale è anche il passaggio più importante: se si commette un errore durante il campionamento quest'ultimo si propagherà lungo tutta la procedura andando poi ad influenzare il risultato [5]. Per questo motivo l'errore finale sulla misura non potrà mai essere inferiore all'errore commesso durante il campionamento stesso.

Al fine di ridurre questo errore il più possibile il campione prelevato deve essere rappresentativo della massa dal quale è stato prelevato e quindi le sue caratteristiche devono essere il più possibile uguali a quelle della popolazione dal quale è stato prelevato [6].

I campioni che rispettano realmente questa definizione sono molto pochi; infatti, ne rientrano all'interno solo i campioni provenienti da matrici omogenee e quelli che sono definiti tali da leggi e norme. Per questo motivo quando vengono prelevati campioni da matrici disomogenee essi devono subire un trattamento al fine di renderli rappresentativi.

Fortunatamente il problema riguardante le matrici disomogenee tende a interessare principalmente i campioni solidi piuttosto che quelli gassosi o liquidi, infatti in questi casi è sufficiente effettuare un miscelamento efficace per poter rendere il campione rappresentativo. Ciò è possibile in quanto la diffusione degli analiti all'interno di matrici gassose e liquide è molto più elevata rispetto a quella in campioni solidi, di conseguenza questi tendono a distribuirsi in maniera più omogenea.

Essendo comunque una semplificazione della situazione reale, il numero di campioni prelevati è molto importante: maggiore è il numero dei prelievi effettuati e più la media delle concentrazioni degli analiti presenti al loro interno si avvicinerà alla media reale, inoltre grazie ad un elevato numero di campioni risulta più facile eliminare possibili "outlier" sfruttando metodi statistici come il test di Grubbs [7] o il test di Cochran [8].

La necessità di ottenere un numero elevato di prelievi si scontra però con l'elevato dispendio economico e materiale che serve per prelevare, trattare ed infine analizzare i campioni raccolti; per questo motivo si cerca sempre di raggiungere un compromesso tra il numero di prelievi effettuati e i costi che si devono sostenere. A

questo scopo vengono utilizzate delle strategie di campionamento al fine di minimizzare il numero di prelievi necessari.

Queste strategie possono essere suddivise in due categorie diverse: il campionamento sistematico e quello razionale.

Il campionamento sistematico è il più semplice e consiste nel costruire una griglia ed effettuare dei prelievi a distanze fisse. Questo metodo è utilizzato nel caso non si abbiano informazioni sulla zona da campionare: effettuando dei prelievi regolari si possono identificare possibili anomalie presenti nella zona.

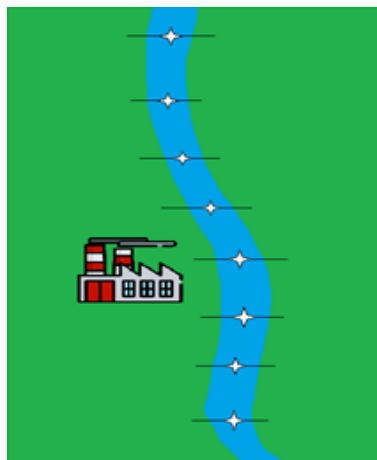


Figura 1.2 esempio di campionamento sistematico ad una dimensione

Il campionamento razionale necessita di informazioni riguardanti le possibili fonti di inquinamento nell'area interessata, in questo modo si può costruire una griglia a maglie di dimensione variabile: più larghe lontano dalla sorgente e più strette quando ci si avvicina in modo da diminuire il numero di prelievi necessari.

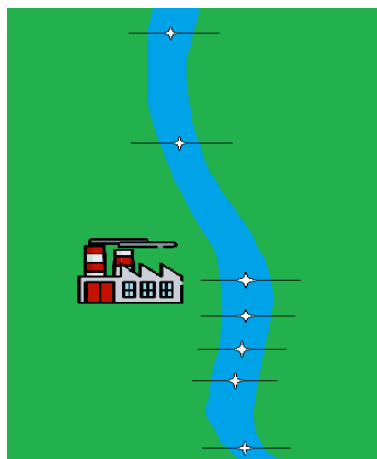


Figura 1.3 esempio di campionamento razionale ad una dimensione

1.1.1 Campionatori Attivi

Esistono vari tipi di campionatori per la matrice acquosa e quelli semplici sono i campionatori attivi. Questi strumenti hanno tutti in comune il fatto che per poter funzionare necessitano di un apporto di energia e, proprio per questo, vengono chiamati attivi.

Per quanto riguarda il campionamento delle acque la loro struttura base è quella di un contenitore che si può richiudere; infatti, il più semplice esempio di questi campionatori può essere una semplice bottiglia vuota: una volta immersa nel mezzo da campionare e richiusa, questa viene portata in laboratorio dove si può procedere alle analisi.

Un sistema così semplice però presenta alcune limitazioni, e la più importante è il fatto che non è in grado di prelevare un campione a profondità che non sia quella superficiale.

Per questo motivo sono stati creati una serie di campionatori come le bottiglie di Nansen [9]. Ideate da Fridtjof Nansen, esse sono composte da una bottiglia di metallo con una valvola aperta nella parte superiore e legata ad un termometro ad inversione che viene fissata ad un cavo sia nella parte alta che nella parte bassa ed immersa in acqua. Una volta che il campionatore raggiunge la profondità richiesta, viene fatto scendere un peso lungo il cavo metallico; quando questo raggiunge la bottiglia impatta con la bottiglia sganciandone l'ancoraggio superiore e, così facendo, la bottiglia si ribalta azionando la valvola che la chiude e bloccando il termometro [10].



Fig. 1.4 bottiglia Nansen

Successivamente queste bottiglie sono state migliorate da Shale Niskin cambiandone il materiale e sostituendolo con il teflon al fine di ridurre la contaminazione del campione e modificandone il funzionamento al fine di inserire una seconda apertura sul fondo della bottiglia. In questo modo il campionatore, che quando è aperto è un cilindro, mentre viene calato in acqua questa lo attraversa lavandolo e normalizzandolo [11].

Infine, è stato anche sostituito il meccanismo di chiusura incorporando un motore elettrico in modo da poter costruire delle “rosette” composte da più campionatori.

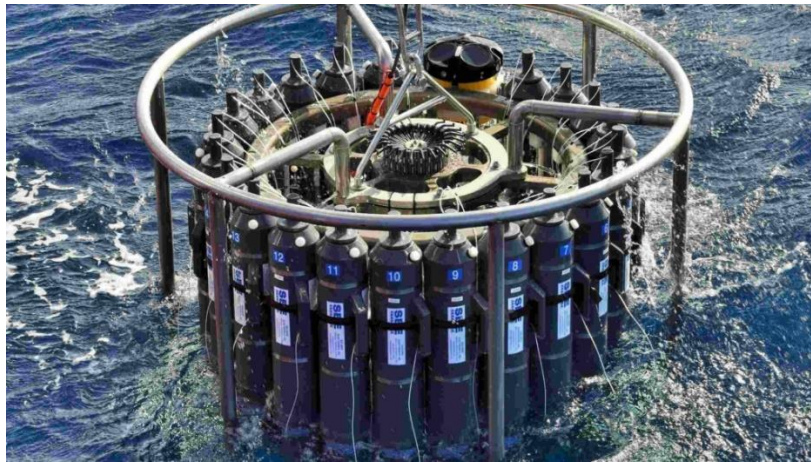


Fig. 1.5 Rosetta di bottiglie Niskin

Un ulteriore miglioramento di questo tipo di campionatore è stato sviluppato da Shi-Jun Wu e collaboratori [12]; in particolare il loro lavoro è incentrato sul mantenere la temperatura del campione prelevato invece che registrarla. A questo scopo la bottiglia è stata rivestita da un'intercapedine riempita di olio isolante che viene poi fatto fluire attraverso un sistema di raffreddamento termoelettrico messo in contatto con uno scambiatore di calore.

1.1.2 Bioindicatori

Un altro metodo per poter determinare la presenza di un inquinante all'interno di un ambiente acquatico è l'utilizzo di un bioindicatore.

Un organismo, per poter essere definito bioindicatore, deve soddisfare alcuni requisiti, in particolare deve:

- Essere presente in tutto il mezzo da campionare
- Essere facile da reperire
- Essere presente durante tutto l'anno
- Avere caratteristiche fisiche e biologiche note
- Avere un ciclo vitale abbastanza lungo

Per questi motivi generalmente si usano come bioindicatori specie come molluschi [13] che hanno anche il valore aggiunto di rimanere ancorati in un luogo e di conseguenza sono in grado di fornirci informazioni legate a quella zona.

Questo tipo di campionatori presenta una serie svantaggi rispetto a quelli attivi; infatti, il numero di organismi che possono svolgere questa funzione non è elevatissimo, di conseguenza, il tipo di analiti che si possono determinare è limitato; inoltre, nel caso si debba determinare un nuovo inquinante il cui impatto non è ancora completamente noto, risultano completamente inutilizzabili.

Oltre a ciò, essendo esseri viventi, la loro capacità di assorbire gli analiti può variare a seconda di molti fattori, sia interni all'organismo come possibili infezioni e malattie, e sia esterni come le condizioni ambientali nel cui si trovano come per esempio temperatura, umidità, salinità o quantità di cibo.

Infine, essendo degli esseri viventi, gli inquinanti vengono accumulati all'interno dei loro tessuti e di conseguenza le procedure successive di estrazione degli analiti dalla matrice risultano generalmente complesse.

A controbilanciare questi svantaggi, però, si ha anche una serie di vantaggi, specialmente il fatto che gli organismi sono in grado di bioaccumulare e biomagnificare gli inquinanti.

Il bioaccumulo è un fenomeno per il quale un essere vivente viene in contatto con una sostanza per lui tossica e questa entra nel suo organismo. A questo punto l'inquinante può essere neutralizzato dall'organismo stesso oppure eliminato, ma se la velocità con cui ciò accade è inferiore a quella di assorbimento la sostanza tossica

inizia ad accumularsi e la sua concentrazione continuerà a crescere fintanto che l'essere vivente in questione rimane in contatto con l'inquinante.

La biomagnificazione invece è un fenomeno che riguarda più di un organismo diverso, di specie differenti e segue la catena alimentare. In questo caso si ha una sostanza tossica che viene assorbita da un essere vivente che sta alla base della catena come un'alga o una pianta; questa sostanza si accumula all'interno dell'organismo e quando quest'ultimo viene mangiato da un altro essere vivente, come ad esempio un insetto, l'inquinante entra nel nuovo animale.

Dato che a mano a mano che si sale nella catena alimentare il numero di esseri viventi che vengono mangiati è sempre maggiore, la quantità dell'inquinante continua ad aumentare fintanto che gli organismi non sono in grado di espellerla; questo accade anche se i nuovi animali non sono entrati in contatto diretto con la sostanza tossica.

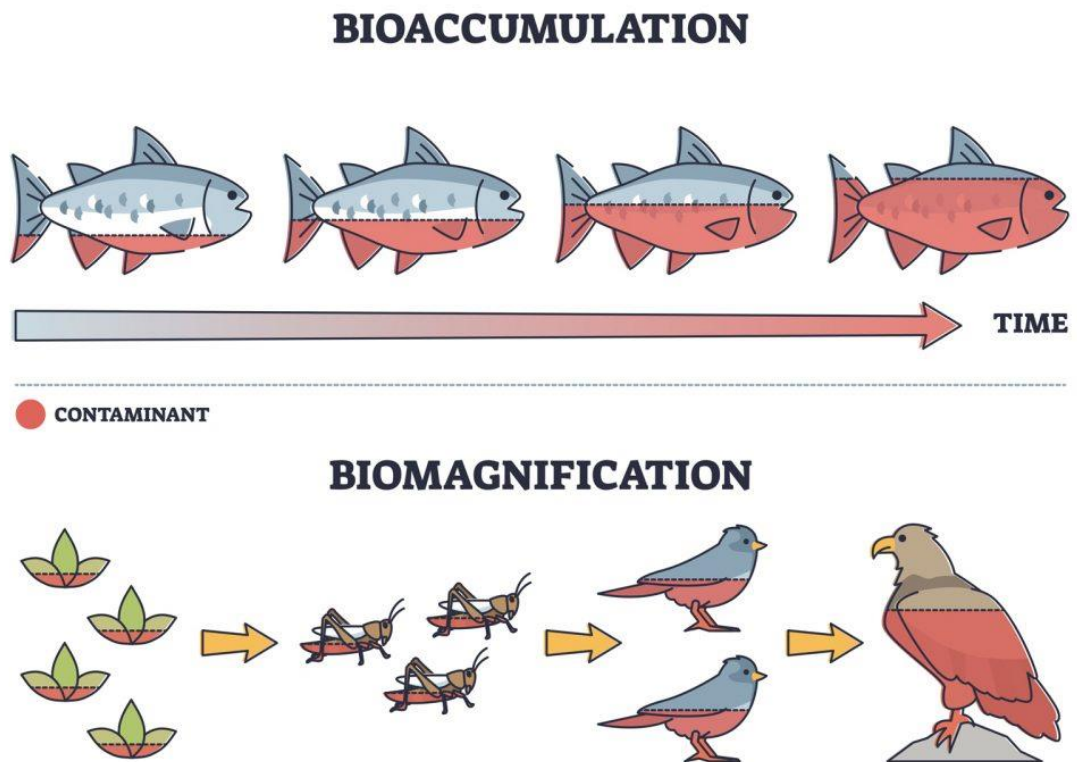


Fig. 1.6 Bioaccumulo e biomagnificazione degli inquinanti negli organismi [14]

In questo modo la concentrazione degli analiti che si trova all'interno del bioindicatore risulta più alta rispetto a quella dell'ambiente circostante, permettendo la determinazione dell'inquinante con limiti di rilevabilità inferiori.

Un altro importante vantaggio di questi campionatori è quello di distinguere tra specie chimiche diverse; infatti, se si prende come esempio il mercurio, non tutte le sue specie hanno la stessa tossicità [15] e gli organismi assorbono, bioaccumulano e biomagnificano queste diverse forme in maniera differente [16].

Questa caratteristica permette ai bioindicatori di fornire solamente la concentrazione effettivamente presente all'interno degli organismi e che quindi può esercitare la sua azione tossica.

Infine, questo tipo di campionamento non fornisce un'indicazione istantanea della concentrazione ma, dato che l'organismo rimane in contatto con il mezzo per molto tempo, restituisce un valore mediato nel tempo, in questo modo si riesce ad ottenere un valore che risente meno di possibili fluttuazioni istantanee della concentrazione.

1.1.3 Campionatori passivi

I bioindicatori presentano numerosi vantaggi rispetto ai campionatori attivi ma i loro svantaggi ne limitano fortemente le possibili applicazioni. Per poter ovviare a questa situazione e combinare i punti di forza sono stati inventati i campionatori passivi.

Questo tipo di strumento per il campionamento si basa sul principio del flusso spontaneo degli analiti dal mezzo da campionare fino al campionatore stesso [17].

Questo flusso è generato dalla differenza potenziale chimico data dalla diversa concentrazione degli analiti nell'ambiente e nel campionatore.

Nel momento in cui è presente questa differenza di potenziale, le sostanze di interesse interagiscono tramite adsorbimento, legami deboli o legami forti con il campionatore che le cattura.

Essendo spontaneo, questo processo non necessita di alcun tipo di energia o di supervisione, di conseguenza questi strumenti possono essere lasciati in esposizione per molto tempo, anche per mesi.

Dato che il flusso di materia che sta alla base di questo processo è generato dalla differenza di potenziale chimico, nel momento in cui il campionatore raggiunge l'equilibrio con il mezzo nel quale si trova la differenza di potenziale si azzerava e, di conseguenza, i flussi di materia in entrata ed in uscita si eguagliano. Ciò comporta il fatto che il campionatore smette di accumulare gli analiti che, da questo momento in poi, presenteranno una concentrazione costante.

Questo tipo di campionatori è stato inizialmente sviluppato per funzionare unicamente in aria, infatti, la sua prima applicazione risulta per un'analisi semi-quantitativa della CO₂ nel 1927 [18], successivamente nel 1973 sono stati migliorati ed utilizzati per effettuare l'analisi quantitativa dell'NO₂[19].

Dato che il funzionamento di questi campionatori si basa sul fenomeno della diffusione, la quantità di analita che riesce ad essere catturato può essere identificato dalla seguente equazione (1.1) derivante dalla prima legge di Fick:

$$M = \frac{D \cdot A}{L} * c_0 * t \quad (\text{equazione 1.1})$$

Dove M è la quantità di analita che si trova nel campionatore, D è il coefficiente di diffusione molecolare della sostanza che si sta campionando, A è l'area di diffusione

e L la sua lunghezza, c_0 è la concentrazione nel mezzo da campionare e t è il tempo di campionamento.

Dato che A e L sono costanti per uno stesso campionatore e D è costante per un analita se si mantiene la temperatura costante, queste tre costanti sono raggruppate nel rateo di campionamento RS (*Sampling Rate*) e, di conseguenza, ci si ritrova con l'equazione (1.2):

$$M = RS * c_0 * t \quad (\text{equazione 1.2})$$

Questa relazione è però valida unicamente fino al momento in cui non ci si avvicina all'equilibrio [20], e cioè fino a che si rimane all'interno di quella che viene chiamata regione cinetica. In questo caso il campionatore sta lavorando in regime cinetico.

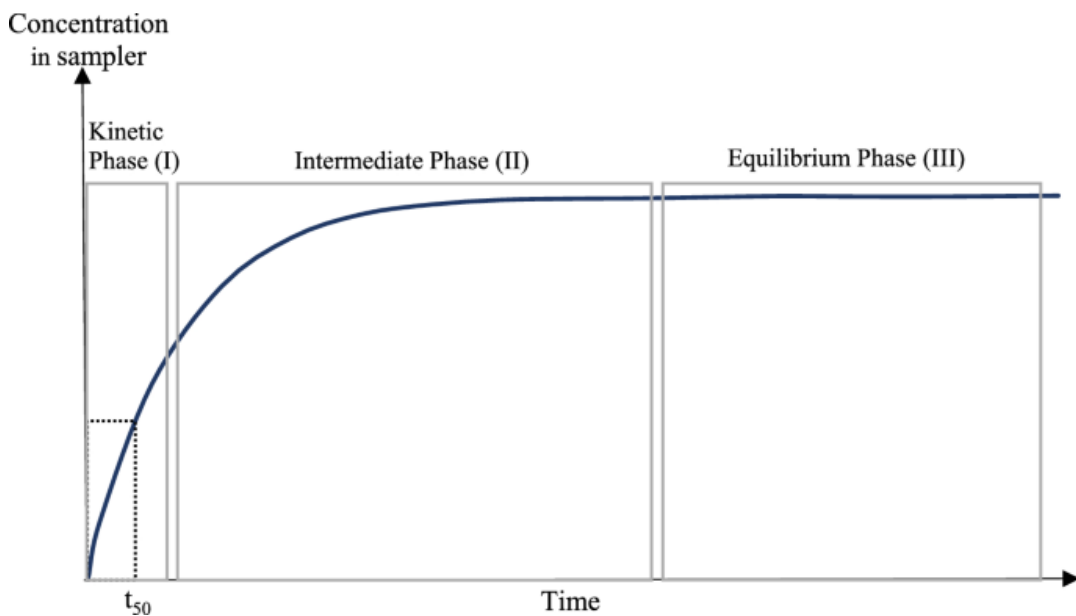


Fig. 1.7 Concentrazione nel tempo nei campionatori passivi

Quando invece si raggiunge la regione di equilibrio la relazione precedentemente descritta non è più valida in quanto la concentrazione non varia più.

In questo caso però ci si può avvalere di un'altra equazione (1.3):

$$c = c_w * K \quad (\text{equazione 1.2})$$

Dove c è la concentrazione nel campionatore, c_w è la concentrazione nel mezzo e K è la costante di ripartizione tra il campionatore ed il mezzo.

Come detto precedentemente, i campionatori passivi combinano alcuni aspetti di quelli attivi e dei bioindicatori: la loro risposta è un dato mediato nel tempo e di

conseguenza non sono in grado di offrire risultati riguardanti il picco massimo di concentrazione dell'analita; allo stesso tempo però sono sensibili a inquinamenti regolari che possono non essere visti da un campionamento attivo [21].

Un ulteriore aspetto positivo dei campionatori passivi è dato dal fatto che essi possano funzionare senza la necessità di un operatore; ciò permette loro di raccogliere dati in aree remote come le calotte polari per lunghi periodi di tempo [22]; in questo caso se si volesse utilizzare un campionatore attivo sarebbero necessari numerosi prelievi durante tutto l'arco di tempo stabilito richiedendo un dispendio economico di gran lunga superiore.

Come detto precedentemente, i campionatori passivi sono nati con lo scopo di lavorare in atmosfera in quanto risulta più facile tenere sotto controllo le condizioni alle quali lo strumento è esposto. Inoltre anche la loro costruzione potrebbe rivelarsi più semplice infatti questi campionatori possono anche essere composti unicamente da una fibra adsorbente che viene fissata ad un supporto e lasciata ad accumulare all'aria.

Per quanto riguarda invece il comparto acquoso, la progettazione di un campionatore passivo risulta più complessa: non solo il mezzo potrebbe solubilizzare parzialmente la fase adsorbente, ma lo strumento potrebbe anche essere rovinato dalla forza dei movimenti dell'acqua. Inoltre risulta anche più complesso proteggere il campionatore dagli organismi presenti, animali di varie dimensioni possono staccarne delle parti e le alghe presenti possono attaccarsi alla sua superficie e comprometterne il funzionamento modificando il rateo di campionamento.

Per questi motivi i campionatori progettati per essere esposti in un ambiente acquoso sono strutturalmente diversi rispetto a quelli che devono funzionare in aria.

Di questi campionatori ne esistono vari tipi, e, a seconda della presenza di una membrana di separazione tra la fase adsorbente e il mezzo da campionare, sono classificati in single phase e dual phase [23]. Tra questi due sistemi diversi, i campionatori single phase sono più economici e semplici strutturalmente, al contrario, quelli dual phase, hanno generalmente costi maggiori ma tendono ad essere meno fragili e più robusti.

Un esempio un campionatore dual phase può essere il Chemcatcher [24][25], formato da un supporto in politetrafluoroetilene (PTFE) che circonda una fase adsorbente solida come una C18 per composti più idrofobi, o una HLB (hydrophilic/lipophilic

balanced media) per analiti più polari a sua volta separata dal mezzo da campionare da una membrana semipermeabile in polietilensolfone (PES).

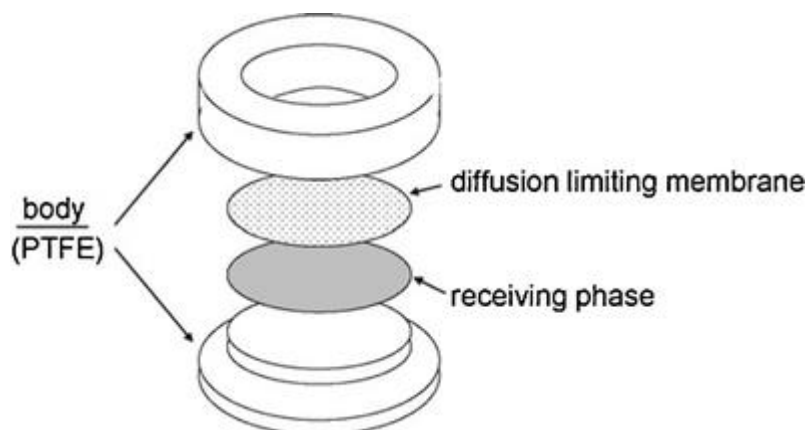


Fig. 1.8 Schema di un campionatore Chemcatcher [26]

Un altro tipo di campionatore dual phase è il POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) [27][25] che, a differenza dello strumento descritto precedentemente, utilizza principalmente la fase HLB, presenta un supporto in acciaio e non in PTFE e soprattutto il disco della fase assorbente viene esposto da entrambi i lati. Ciò permette all'acqua di fluire attraverso il campionatore stesso aumentando il volume di acqua che entra in contatto con la fase.

Questo campionatore è costituito da una fase adsorbente, generalmente una fase HLB, trattenuta da due membrane di polietilensolfone a loro volta unite da due anelli di supporto in acciaio tramite dei bulloni [28].

Questo tipo di struttura che rende il campionatore piuttosto facile da montare e smontare, in quanto per effettuare questa operazione è necessaria unicamente una chiave inglese, unito alla loro efficacia, ha permesso ai POCIS di divenire uno dei campionatori passivi più utilizzati per le molecole organiche polari.

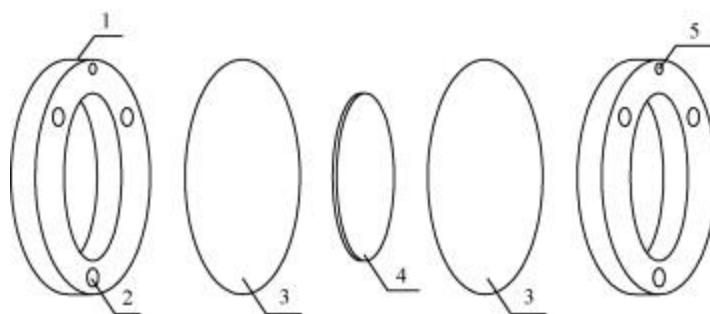


Fig. 1.9 Diagramma di un POCIS (1) supporto in acciaio, (foro per i bulloni), (3) membrana in PES, (4) fase HLB, (5) bullone)

Per quanto riguarda i campionatori passivi single phase, più inerenti a questo lavoro di tesi, i primi sistemi sono stati sviluppati da R. G. Adams e collaboratori [29]; il loro lavoro si è incentrato sull'utilizzo della membrana di separazione presente nei campionatori dual phase come sistema di campionamento indipendente.

A questo scopo, in questo articolo, sono stati testati dei film polimerici a base di polietilene ed è stata dimostrata la loro capacità di preconcentrare composti organici idrofobi ($\log K_{ow} > 4$), come idrocarburi policicli aromatici (IPA) e policlorobifenili (PCBs), consentendo la determinazione anche quando questi sono presenti in concentrazioni molto basse.

In seguito a questo lavoro, è stato effettuato uno studio da parte di T. P. Rusina e collaboratori [30] al fine di determinare le proprietà che un polimero deve avere al fine di poter essere impiegato come campionario passivo single phase. Tra le caratteristiche che sono state esaminate si possono ritrovare i coefficienti di diffusione e di ripartizione, importanti per la determinazione del sampling rate, la tendenza a rilasciare oligomeri e anche la diffusione di vari solventi organici all'interno delle membrane. Quest'ultima proprietà può essere causa di infragilimento dei film polimerici, questo è dato dal fatto che il solvente si inserisce tra le catene del polimero allontanandole le une dalle altre e portando ad un rigonfiamento; tra tutti i solventi testati il metanolo ha dato i risultati migliori portando i ricercatori a proporlo come solvente di estrazione per il trattamento dei campionatori passivi.

Un secondo tipo di sistema di campionamento passivo single phase può essere rappresentato dalla gomma silicolinca [31]. Questo tipo di polimero, utilizzato perlopiù in altre procedure analitiche come SPME o SBSE, presenta un'affinità spiccata per composti organici leggermente idrofobi ($1.5 < \log K_{ow} < 5.5$); ciò permette a questi campionatori di poter essere utilizzati per determinare analiti che risultavano al di fuori del range di applicabilità per quanto riguarda i film in polietilene.

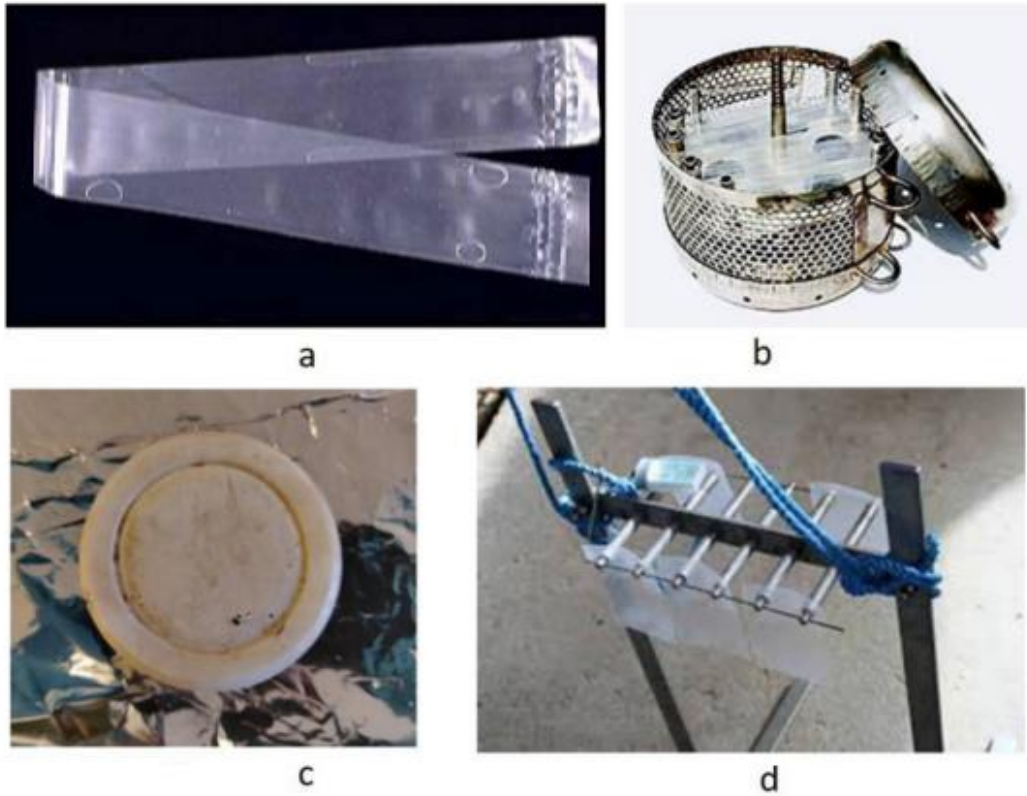


Fig. 1.10 esempi di campionatori passivi a) membrana polimerica, b) membrana polimerica montata nel supporto di esposizione, c) Chemcatcher, d) gomma siliconica montata sul supporto di esposizione [23]

1.2 Contaminanti Emergenti

Tra i vari composti chimici che possono essere presenti all'interno delle acque vi sono i cosiddetti contaminanti emergenti.

A differenza degli inquinanti, che sono sostanze ritrovate all'interno dell'ambiente ma normalmente non presenti al suo interno e che hanno un effetto negativo, i contaminanti sono sempre composti estranei al mezzo in cui si trovano ma che non presentano necessariamente un impatto negativo [32].

Per questo motivo all'interno della categoria dei contaminanti emergenti vengono raggruppate tutte quelle sostanze chimiche che vengono ritrovate nell'ambiente ma che presentano caratteristiche, destino ambientale e tossicità non note e che non sono state inserite all'interno di programmi di monitoraggio a livello Europeo [33].

Ciò può derivare da motivazioni differenti, per esempio, la caffeina è una sostanza che viene utilizzata da molti anni per gli utilizzi più svariati, ma la sua difficoltà di estrazione dalle acque unita allo scarso interesse che suscitava la sua determinazione in passato ne hanno impedito il monitoraggio e lo studio fino a quando tecniche più efficaci di campionamento non sono state studiate [34].

La determinazione di queste sostanze risulta molto complessa, infatti oltre 700 composti provenienti da diverse categorie sono stati identificati solo in Europa nel 2015 [35]; questa difficoltà è data principalmente dalla bassa concentrazione degli analiti unita al loro alto numero, rendendo il campionamento e la determinazione di questi composti tramite metodi analitici standard, come ad esempio il campionamento attivo, difficoltosa.

Questi analiti possono rientrare all'interno di un vasto spettro di sostanze, infatti essi possono essere sostanze organiche, come farmaci, filtri UV o POP's (persistent organic pollutants), oppure composti inorganici o anche particolato [35].

Per quanto riguarda il seguente lavoro di tesi, ci si è concentrati principalmente sullo studio di sostanze organiche con un ampio range di polarità ($-0.2 < \log K_{ow} < 7.1$), che possono rientrare a fare parte delle categorie dei farmaci antinfiammatori o diuretici, dei filtri UV, degli additivi industriali o alimentari e degli estrogeni.

Al fine di risolvere i vari problemi legati alla determinazione di queste sostanze, sono state applicate metodologie analitiche innovative come il Non-target screening [36]. Questo tipo di determinazione consiste nell'accoppiamento di un metodo cromatografico con uno spettrometro di massa, che utilizza una tecnica di

ionizzazione soft, utilizzato in full scan. Ciò permette, confrontando il dato ottenuto da un campione reale e da uno standard, di determinare la presenza di un elevato numero di composti diversi allo stesso tempo inoltre, il vantaggio maggiore di questo metodo, è il fatto che consente l'individuazione di sostanze incognite che non rientravano tra gli analiti indagati inizialmente [37].

Un altro possibile metodo per poter ovviare ai problemi relativi alla determinazione, consiste nell'utilizzo di tecniche di preconcentrazione come ad esempio l'estrazione in fase solida (SPE) [38]. Questa tecnica consiste nell'utilizzo di una cartuccia contenente una fase adsorbente attraverso la quale viene fatto fluire il campione liquido; gli analiti vengono trattenuti dalla fase mentre alcuni degli interferenti vengono eliminati, successivamente la cartuccia viene lavata con un solvente che elimina gli interferenti legati più debolmente alla fase ed infine l'analita viene eluito tramite l'utilizzo di un solvente a lui affino lasciando legati alla fase tutti gli interferenti che presentano un'interazione più forte [39].

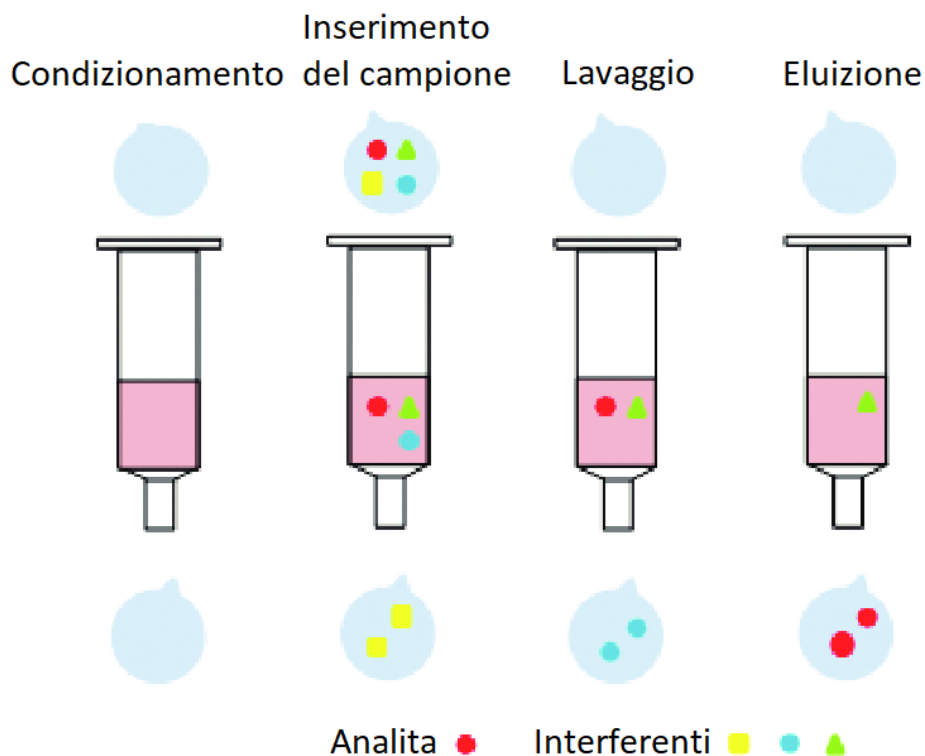


Fig. 1.11 schema dell'estrazione in fase solida (SPE) [40]

Tutte le difficoltà finora elencate, possono essere risolte sfruttando il campionamento passivo [41]. Questo tipo di campionatori, in particolare i POCIS accoppiati con la

determinazione tramite cromatografia liquida ad alte prestazioni seguita dalla spettrometria di massa tandem [38], risultano particolarmente adatti alla quantificazione dei contaminanti emergenti; ciò è dato dal fatto che i campionatori passivi sono in grado di preconcentrare gli analiti, rimuovendo quindi la necessità di effettuare questo passaggio successivamente in laboratorio e, di conseguenza, riducendo sia l'errore sul dato finale che i tempi di analisi. Inoltre, il funzionamento autonomo di questi strumenti unito al fatto che il risultato ottenuto è mediato nel tempo, consente di effettuare analisi di monitoraggio in maniera semplice anche in luoghi remoti [22][28].

1.3 Film porosi a base di PLA

L'acido polilattico (PLA) è un polimero che deriva dall'acido lattico.

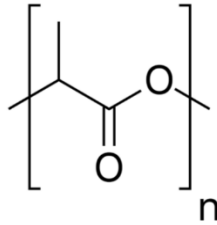


Fig. 1.12 monomero del PLA

Il monomero di partenza può essere prodotto seguendo due vie di sintesi diverse, quella chimica e quella fermentativa.

La via chimica prevede l'idrolisi in condizioni acide del lattonitrile (C_3H_5NO) che è generalmente formato dalla reazione di addizione dell'acetaldeide (C_2H_4O) e acido cianidrico (HCN).

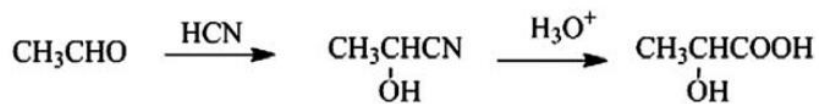


Figura 1.13 Formazione dell'acido lattico attraverso il lattonitrile

La via di fermentazione invece sfrutta l'azione di funghi, microbi o batteri che uniti ad un nutriente contenente azoto e amido proveniente dal mais effettuano la fermentazione lattica producendo quindi l'acido lattico.

Dati i costi di produzione inferiori, grazie a condizioni di reazione più blande, e la provenienza biologica dei reagenti l'acido lattico può essere considerato un composto "bio based" e per questi motivi la maggior parte della produzione industriale segue proprio la via fermentativa [42].

L'acido lattico viene quindi alimentato in un reattore di oligomerizzazione dove viene eliminata acqua e l'acido si trasforma in un prepolimero. Quest'ultimo viene introdotto in un reattore di depolimerizzazione dove si formano diversi isomeri di lattide chiamati L-lattide, D-lattide e mesolattide.

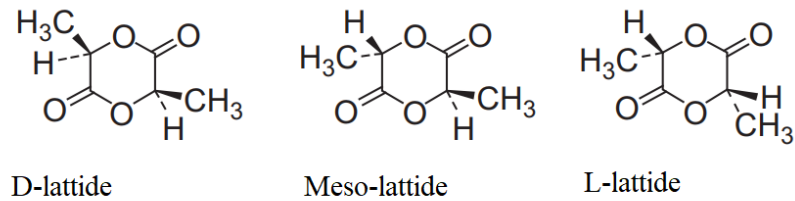


Figura 1.14 Struttura dei vari lattidi

I tre stereoisomeri vengono quindi inviati ad una colonna di purificazione dove il mesolattide in forma liquida viene separato dagli L- e D-lattidi. Infine, questi composti vengono alimentati in un reattore di polimerizzazione dove si verifica l'apertura dell'anello e si ha la formazione del PLA.

Uno degli aspetti più interessanti del PLA riguarda la sua biocompatibilità ovvero la sua capacità di essere metabolizzato dagli organismi viventi senza arrecare nessun effetto dannoso sulle loro funzioni vitali. Infatti, il PLA si degrada attraverso l'idrolisi formando l'acido lattico che, nel corpo umano, viene convertito in acido piruvico per poi essere metabolizzato nel ciclo di Krebs [43].

Una volta ottenuto il polimero di base esistono vari metodi per produrre un film poroso e, tra tutti, il più semplice operativamente è la tecnica dell'inversione di fase indotta da non solvente[44].

Questo processo consiste nella preparazione e poi successiva immersione di una soluzione polimerica in un bagno contenente un non solvente per il polimero stesso. Questa viene quindi spalmata su di un supporto inerte (generalmente vetro) tramite una lama e il tutto (ovvero il supporto sul quale viene spalmata la soluzione) viene immerso in una matrice liquida contenente il non solvente per il polimero stesso (bagno di coagulo).

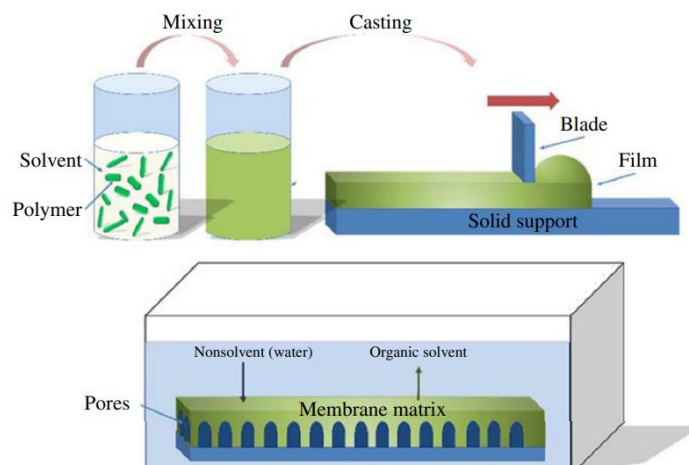


Figura 1.15 Rappresentazione schematica dell'inversione di fase

Ciò avvia uno scambio tra il solvente e il non solvente: quest'ultimo andrà a occupare lo spazio lasciato libero dal solvente e viceversa. Il non solvente deve avere un'alta affinità con il solvente e nessuna affinità con il polimero. A questo punto, poiché il polimero non è solubile nel non solvente precipita, formando la membrana mentre lo spazio occupato dal non solvente forma i pori. In seguito al processo che può durare diverse ore, si ha la formazione di una struttura a doppio strato caratterizzata da uno strato denso (skin) ed uno poroso.

Un'altra caratteristica interessante del PLA è la sua capacità di subire funzionalizzazioni superficiali al fine di inserire dei gruppi in grado di modificarne le caratteristiche.

Una delle possibili funzionalizzazioni chimiche consiste nell'amminolisi, in grado di inserire dei gruppi amminici sulla superficie della membrana andando a modificarne le interazioni con le specie polari.

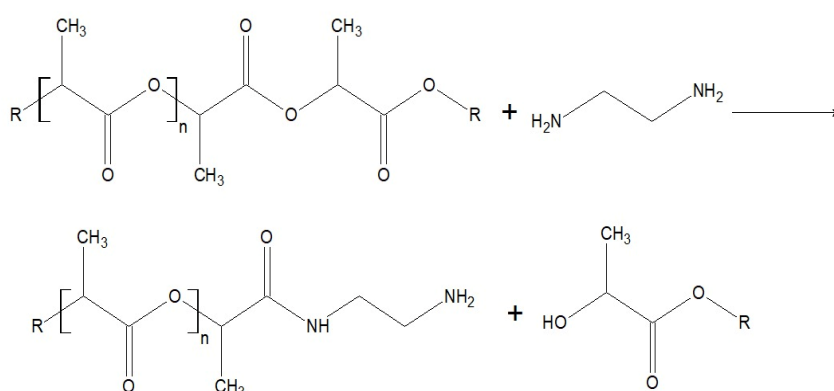


Figura 1.16 meccanismo dell'amminolisi del PLA

Generalmente l'amminolisi viene ottenuta tramite un reattivo caratterizzato da due gruppi nucleofili come l'etilendiammina in solventi aprotici o protici. Anche le ammine secondarie possono partecipare all'amminolisi, ma la loro reattività è generalmente trascurabile rispetto alle ammine primarie. L'utilizzo dell'etilendiammina presenta due rilevanti vantaggi: il gruppo amminico non sottoposto ad attacco nucleofilo può essere sito di ancoraggio di altre biomolecole e inoltre i gruppi (-NH₂) sono facilmente convertibili in altri gruppi funzionali.

Nonostante queste caratteristiche, l'amminolisi presenta un inconveniente legato all'erosione superficiale, causata dal fatto che la reazione rompe le catene macromolecolari, formando oligomeri che possono essere solubilizzati. Tale fenomeno conduce quindi ad una erosione superficiale del film polimerico e a un suo infragilimento.

2 Materiali e metodi

2.1 Materiali

Per la preparazione dei film porosi a base di bioplastiche attraverso la tecnica dell'inversione di fase indotta da non solvente (NIPS: Non-solvent Induced Phase Separation) sono stati sfruttati diversi reattivi, che vengono elencati qui di seguito.

L'acido polilattico (PLA) utilizzato per la preparazione dei film porosi viene identificato con la seguente sigla commerciale "PLA Luminy® LX175" caratterizzato da una purezza stereochimica del 96% data dall'isomero L e da un peso molecolare ponderale di 245 kg/mol. Il PLA è stato acquistato dall'azienda Corbion N.V., ubicata ad Amsterdam, nei Paesi Bassi ed è venduto in pellet.

Il policaprolattone (PCL) utilizzato per la preparazione dei film porosi viene identificato con la seguente sigla commerciale "Capa® 6500" caratterizzato da un peso molecolare medio numerico di 50.000 g/mol e da un indice di fluidità di 7 g/10 min.

Il PCL è stato acquistato dall'azienda Perstorp AB, ubicata a Malmö, in Svezia ed è venduto in pellet.

L'N,N-dimetilformammide (o DMF) utilizzata come solvente nel processo NIPS, è stata acquistata dall'azienda Alfa Aesar®, ubicata nel Massachusetts, negli Stati Uniti.

Il Cyrene utilizzato come solvente nel processo NIPS è stato acquistato dall'azienda Sigma Aldrich, ubicata nel Missouri, negli Stati Uniti.

L'Astrobio utilizzato come solvente nel processo NIPS è stato acquistato dall'azienda Purmate srl, ubicata a Padova, in Italia.

Per la funzionalizzazione superficiale indotta dall'amminolisi sono stati impiegati i diversi reattivi elencati qui di seguito:

il 2-propanolo, o meglio definito come isopropanolo, utilizzato come solvente è stato acquistato dall'azienda Sigma Aldrich, e l'etilendiammina, utilizzato come reattivo, è stato acquistato dall'azienda Sigma Aldrich.

Per le prove di accumulo nei confronti dei film porosi a base di PLA è stata usata la fluoresceina sodica.

Per le prove di accumulo nei confronti dei film porosi a base di PLA/PCL e a base di PLA sono stati utilizzati i seguenti analiti: Acido mefenamico, Caffaina, Paraxantina, Carbamazepina, Benzofenone-3, Ottil dimetil p-aminobenzoato, Etil esil metossi cinnamato, Octocrylene, Acido perfluorottanoico, Perfluorottano solfonato, Acesulfame, Sucralosio, Bisfenolo A, Estrone, β -estradiolo, 17 α -etinilestradiolo,

Ibuprofene, Gemfibrozil, Triclosan, Ketoprofene, Naprossene, Diclofenac, Salbutamolo, Furosemide, Idroclorotiazide e Teofillina.

L'acqua ultrapura è stata ottenuta in laboratorio utilizzando un sistema Milli-Q Millipore (Watford, Regno Unito).

L'acido acetico e l'acetonitrile sono stati testati come fasi cromatografiche e sono stati forniti da Sigma Aldrich.

E infine il metanolo, utilizzato come solvente, è stato fornito da Sigma Aldrich.

2.2 Preparazione di film porosi a base di PLA/PCL tramite tecnica NIPS

Per la sintesi delle membrane a base di PLA e PLA/PCL si è optato per la tecnica dell'inversione di fase indotta da non solvente. È stato selezionato questo metodo in quanto risulta molto versatile e vantaggioso grazie alla semplicità dell'operazione e alle elevate prestazioni della membrana risultante.

Come si è descritto nelle pagine precedenti, il processo NIPS richiede la presenza di almeno tre componenti: un polimero, un solvente e infine un non solvente per indurre la separazione di fase.

In un tipico processo NIPS, viene preparata inizialmente una soluzione polimerica che poi successivamente viene colata e stesa su di un supporto inerte per poi essere immersa in un bagno di non solvente.

Nel seguente lavoro di tesi si sono preparate diverse membrane utilizzando come polimero PLA oppure una soluzione polimerica costituita PLA e PCL.

Per la realizzazione delle prime, si è partiti dalla preparazione di una soluzione, ottenuta dalla solubilizzazione di diverse quantità di acido polilattico in tre differenti solventi, ovvero il DMF, il cyrene o l'astrobio.

Più precisamente, sono stati realizzati dodici film porosi, quattro ottenuti da una soluzione di PLA in DMF, altri quattro da una soluzione di PLA in cyrene e gli ultimi quattro da una soluzione di PLA in astrobio.

Ciascun quartetto è stato ottenuto a partire da soluzioni polimeriche a quattro concentrazioni differenti: 5, 10, 15, 20 utilizzando la percentuale massa su volume (% m/V).

Tabella 2.1 Membrane porose a base di PLA

CODICE DEL CAMPIONE	TIPO DI SOLVENTE	CONCENTRAZIONE POLIMERICA [%m/V]
PLA_5_DMF	DMF	5
PLA_10_DMF	-	10
PLA_15_DMF	-	15
PLA_20_DMF	-	20
PLA_5_CYR	CYRENE	5
PLA_10_CYR	-	10
PLA_15_CYR	-	15
PLA_20_CYR	-	20
PLA_5_ASTRO	ASTROBIO	5
PLA_10_ASTRO	-	10
PLA_15_ASTRO	-	15
PLA_20_ASTRO	-	20

Il polimero è stato solubilizzato all'interno di una beuta immersa in un bagno ad olio siliconico mantenuto ad una temperatura di circa 80°C. Terminata la solubilizzazione, il contenuto della beuta è stato versato il più rapidamente possibile su di un supporto vetroso ed infine spalmato e livellato con una lama per formare un film di dimensioni definite.

Successivamente l'intero sistema è stato immerso in un bagno di acqua deionizzata che ha la funzione di non solvente per mezz'ora a temperatura ambiente al fine di far precipitare la membrana.

Terminati i 30 minuti, è stato necessario rimuovere l'eccesso di solvente intrappolato nel sistema poroso, per questo, i film sono stati lavati immergendoli in un altro bagno di acqua deionizzata per un'ora. Quest'ultima operazione è stata ripetuta per tre volte sostituendo il non solvente del bagno di coagulazione tra una manovra e l'altra.

Portati a termine le azioni precedentemente descritte, si è conclusa la procedura immergendo il film poroso in un ultimo bagno di acqua deionizzata per altre 12 ore.

In seguito ai ripetuti lavaggi, il prodotto ottenuto è stato fatto asciugare a temperatura ambiente per circa 24 ore e, successivamente, è stato posto in una stufa sottovuoto per un altro giorno.

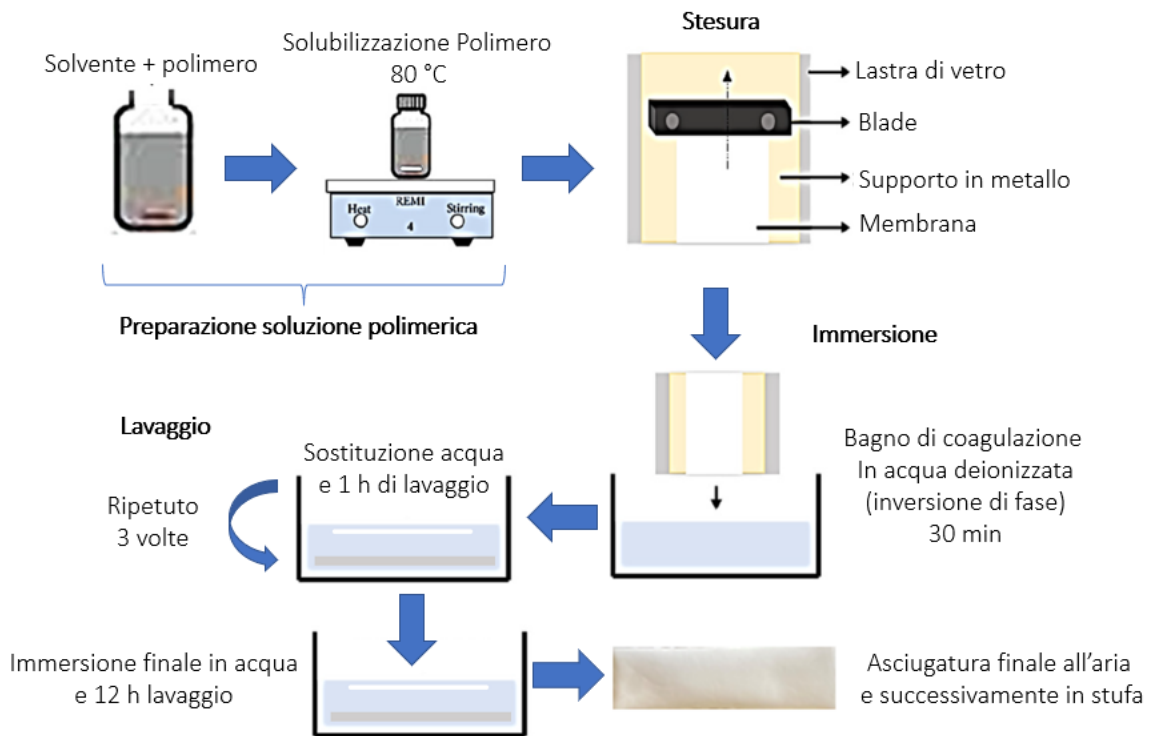


Figura 2.1 Procedura per la realizzazione di un film poroso tramite il metodo NIPS

La temperatura della soluzione al momento della colata è un parametro importante che controlla il processo termodinamico dell'inversione di fase. Secondo gli studi condotti da Zheng e collaboratori [45], un aumento della temperatura porta a una diminuzione della viscosità della soluzione polimerica e ad un conseguente aumento della miscibilità solvente-non solvente. Gli stessi autori hanno anche dimostrato che il tempo di formazione della membrana veniva ridotto in modo significativo all'aumentare della temperatura di solubilizzazione. Per questi motivi, si è cercato di ridurre il più possibile il tempo tra la rimozione della beuta contenente la soluzione polimerica dal bagno ad olio e la successiva colata al fine di evitare la dissipazione del calore e il successivo calo di temperatura.

Le membrane costituite dal solo PLA sono note per la loro elevata fragilità; al fine di risolvere questo problema si è proceduto a miscelare la soluzione polimerica con un altro polimero più duttile, più precisamente, il PCL.

Per questo motivo, in questo lavoro di tesi, sono state sintetizzate anche alcune membrane a base di PLA/PCL, per la cui preparazione è stata scelta una concentrazione di soluzione polimerica del 10% (m/V) adoperando come solvente il DMF; dal momento che tale concentrazione consente lo sviluppo di film con migliori caratteristiche di rigidità-tenacità-porosità, come riportato da Damonte e collaboratori [46].

Sono state preparate tre membrane partendo da altrettante soluzioni polimeriche nelle quali si è variata la percentuale di composizione tra il PLA ed il PCL: la prima presenta un rapporto PLA/PCL 95:5 (ovvero il 95% del blend era PLA e il restante PCL), la seconda un rapporto 90:10 e l'ultima 80:20.

Si sono seguiti i medesimi dettagli affrontati per le membrane a base di PLA al fine di ottenere delle membrane a base di PLA/PCL.

Tabella 2.2 Membrane porose a base di PLA/PCL

CODICE DEL CAMPIONE	SOLVENTE	PLA	PCL
PLA_PCL_95_5	DMF	95%	5%
PLA_PCL_90_10		90%	10%
PLA_PCL_80_20		80%	20%

2.3 Funzionalizzazione superficiale mediante amminolisi

Dalle membrane a base di PLA e PLA/PCL preparate tramite il metodo NIPS, sono state ricavate delle porzioni rettangolari di dimensioni 2 cm x 1 cm e 3 cm x 1.5 cm per poterle sottoporre al processo di amminolisi.

Come descritto precedentemente, l'amminolisi è un metodo di funzionalizzazione superficiale permanente, conveniente e versatile utile per introdurre gruppi amminici sulla superficie del film polimerico, funzionalità che possono fungere da siti di innesto per altre molecole.

Questo processo è caratterizzato da una reazione di sostituzione nucleofila indotta da un'ammina nei confronti di un gruppo estereo.

Poiché il nucleofilo (ammina) si attacca al carbonio (estereo) dal lato opposto del gruppo uscente, sostituenti ingombranti legati all'azoto rendono più difficile la sostituzione nucleofila rendendo più lenta la reazione. Quest'ultimo non è solo l'unico fattore che influenza l'andamento cinetico dell'amminolisi in quanto quest'ultima è anche legata

dalla forza del nucleofilo [47]. Generalmente delle basi forti stericamente poco impedito sono degli ottimi nucleofili [48].

Per questi motivi, al fine di effettuare l'amminolisi sul gruppo estereo del PLA, si è utilizzata etilendiammina come nucleofilo e isopropanolo come solvente.

Tra le ammine primarie più comuni, l'etilendiammina è un composto lineare bifunzionale caratterizzato da un valore di pKa di 10.06, nel quale il gruppo amminico è legato a un gruppo alchilico che funge da elettrone-donatore.

La reazione è stata condotta ponendo ciascuna porzione di membrana all'interno di un contenitore ermetico nel quale sono stati introdotti 5 ml di isopropanolo mantenendo il sistema in agitazione sfruttando il campo magnetico di un agitatore ed un'ancoretta per cinque minuti.

Passato il tempo previsto, la membrana è stata prelevata dal contenitore e successivamente immersa in 10 ml di una soluzione al 10% in volume di etilendiammina in isopropanolo all'interno di un altro contenitore ermetico sottoponendola contemporaneamente ad agitazione per trenta minuti.

Infine, il film è stato estratto al fine di sottoporlo a due lavaggi in 5 ml di isopropanolo, il primo per cinque minuti ed il secondo per un'ora.

2.4 Prove di assorbimento con fluoresceina sodica

Da un film poroso, ottenuto tramite il metodo NIPS, sono state ricavate delle porzioni di diametro pari a 6 mm.

Tre di esse sono state immerse in una soluzione di fluoresceina in acqua milli-Q a una concentrazione di 5 μM per un tempo di 24 ore. Al termine del tempo di accumulo, la soluzione è stata analizzata tramite spettroscopia UV-VIS in un intervallo di lunghezza d'onda di 300-600 nm.

Al fine di quantificare la concentrazione di fluoresceina presente nella soluzione al termine del tempo di accumulo, è stata costruita una retta di calibrazione: a partire da una soluzione madre sono state effettuate delle diluizioni per ottenere soluzioni a concentrazioni note pari a 0.5, 1, 5 e 10 μM . Riportando in un grafico la risposta strumentale (assorbanza) nell'asse delle ordinate in funzione delle concentrazioni note degli analiti nell'asse dell'ascisse, si ottiene una funzione chiamata curva di calibrazione. Quest'ultima, per un gran numero di tecniche analitiche, è caratterizzata da una relazione lineare tra le due variabili.

Tale andamento viene confermato facendo passare una linea di tendenza ovvero una retta corrispondente alla funzione lineare che meglio approssima i punti sperimentali.

Nel seguente caso, la linea di tendenza mostra una relazione tra assorbanza e concentrazione secondo l'equazione (2.2):

$$y = mx + q \quad (\text{equazione 2.2})$$

con m pari a 0.0273, q pari a 0.0535 e con un coefficiente di determinazione R^2 pari a 0.9858. Quest'ultimo indice misura il legame tra l'andamento dei punti sperimentali e la correttezza della linea di tendenza utilizzata. Tanto più questo coefficiente tende ad uno, quanto più il modello statistico utilizzato è in grado di approssimare l'andamento sperimentale.

2.5 Studio dell'effetto matrice e dei recuperi

Al fine di dimostrare l'applicabilità dei film porosi di PLA come campionatori passivi si è effettuata una serie di studi per determinare l'impatto di questo film polimerico sulla determinazione analitica. Queste prove consistono in tre test separati: la determinazione dell'effetto matrice, la determinazione dei recuperi percentuali ed infine la determinazione della capacità di accumulo.

L'ordine con cui questi studi sono effettuati è fondamentale, in quanto l'effetto matrice, definito dalla IUPAC come l'impatto che la matrice, ovvero tutto ciò che è presente all'interno del campione da analizzare e che non è l'analita, ha nei confronti di un'analisi quantitativa [49], è sempre presente; di conseguenza è impossibile ottenere il valore del recupero percentuale senza correggere il dato usando l'effetto matrice. Allo stesso modo, le prove dei recuperi servono per determinare l'impatto della procedura di preparazione del campione sulla quantità di analita che riesce ad arrivare fino all'analisi; di conseguenza risulta impossibile ottenere un dato sul valore di accumulo senza aver prima un'idea del recupero percentuale. Infine, le prove di accumulo servono ad indagare la reale capacità delle membrane di trattenere e preconcentrare gli analiti, identificando quindi per quali sostanze risulta opportuno l'utilizzo di questi campionatori.

Seguendo ciò che è stato appena affermato, il primo parametro indagato risulta essere l'effetto matrice. Come detto precedentemente questo valore indica l'impatto che la matrice esercita sull'analisi e, nel caso più specifico di una determinazione tramite cromatografia liquida ad elevate prestazioni accoppiata ad uno spettrometro di massa a

triplo quadrupolo, la matrice può interferire con la ionizzazione delle molecole sopprimendone o aumentandone i segnali [50].

La determinazione di questo effetto può essere fatta tramite analisi e confronto di due campioni grazie all'equazione (2.3) [51]:

$$ME\% = \frac{A_{sA}}{A_{STD}} * 100 \quad (\text{equazione 2.3})$$

Dove A_{STD} rappresenta l'area del picco data da una soluzione standard degli analiti di interesse ad una concentrazione nota e A_{sA} quella data da un campione in cui è presente solo la matrice, che ha seguito tutta la procedura di trattamento del campione e nel quale è stato effettuato un drogaggio degli analiti al fine di ottenere la stessa concentrazione della soluzione standard.

Data la necessità di avere la certezza che il campione drogato presenti una concentrazione degli analiti di interesse uguale a zero, in questo lavoro di tesi l'equazione precedentemente descritta è stata modificata ottenendo l'equazione (2.4):

$$ME\% = \frac{A_{sA} - A_{NS}}{A_{STD}} \cdot 100 \quad (\text{equazione 2.4})$$

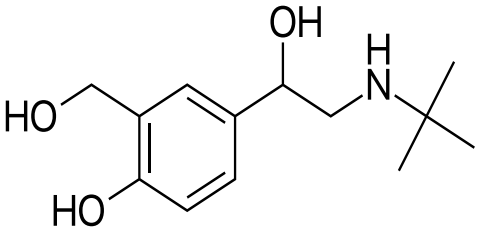
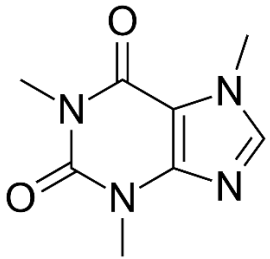
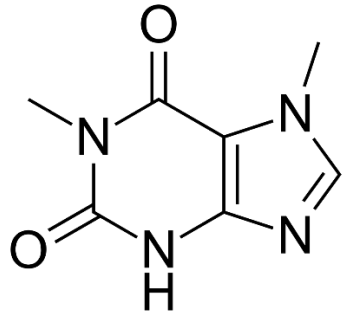
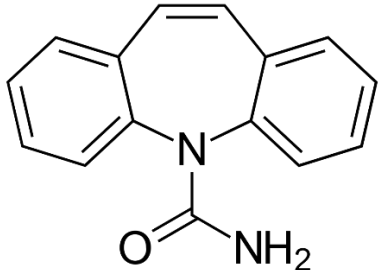
Dove A_{STD} rappresenta sempre l'area del picco data dalla soluzione standard, A_{NS} rappresenta quella data un campione della matrice dove non è stato effettuato il drogaggio e A_{sA} quella derivante da un campione della matrice dove è stato effettuato il drogaggio alla fine della preparazione del campione. In questo modo è possibile eliminare le interferenze portate dalla possibile contaminazione della matrice durante le procedure di preparazione di modo da ottenere un dato contenente informazioni relative unicamente all'impatto del film polimerico.

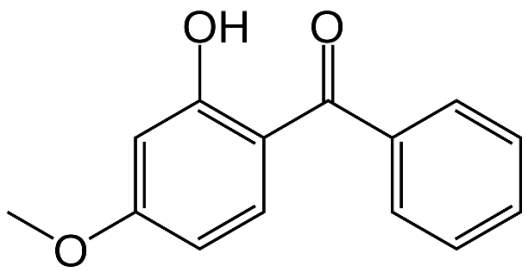
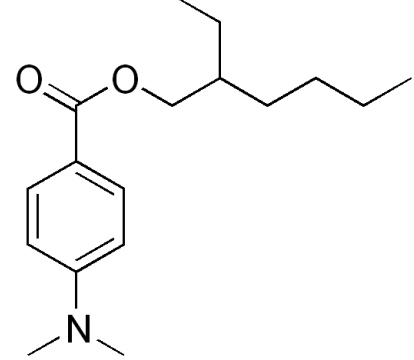
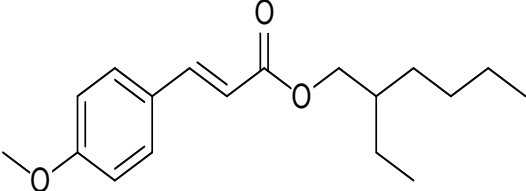
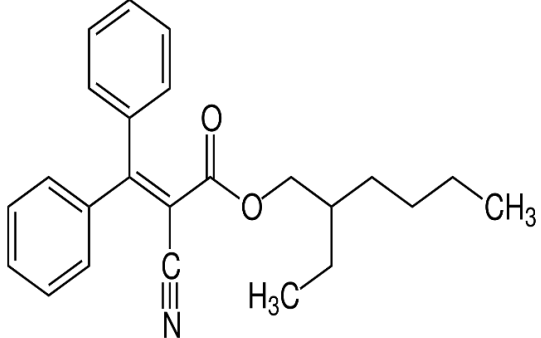
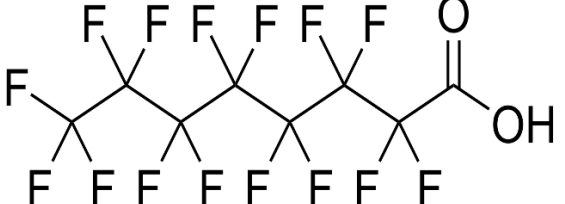
Da questa espressione si deduce facilmente che più il valore $ME\%$ si avvicina al 100%, minore è l'impatto che la matrice ha sull'analisi. Più precisamente, per ottenere dei risultati ottimali, l'effetto matrice per ciascun analita dovrebbe essere in un intervallo di ± 20 dal valore del 100%; in questo caso, l'effetto matrice, definito come basso o soft, può essere trascurato in quanto il suo impatto sul dato finale risulta basso. Contrariamente a ciò, se un analita presentasse un valore di effetto matrice maggiore del 120% o minore dell'80%, allora la membrana interferirebbe con la determinazione di tale analita provocando un'alterazione significativa del suo segnale che necessiterà di essere corretto utilizzando proprio il valore dell'effetto matrice stesso. Più precisamente un valore

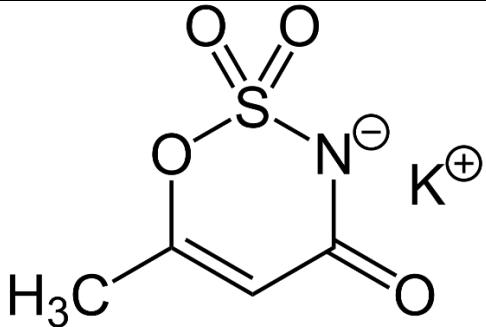
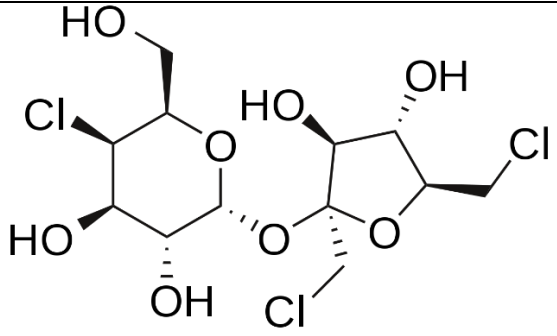
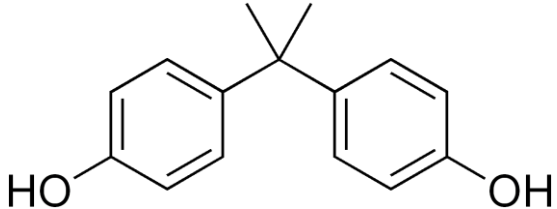
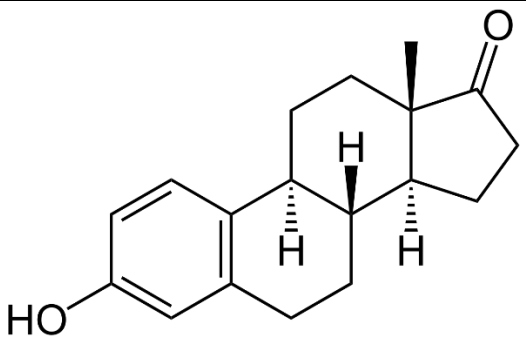
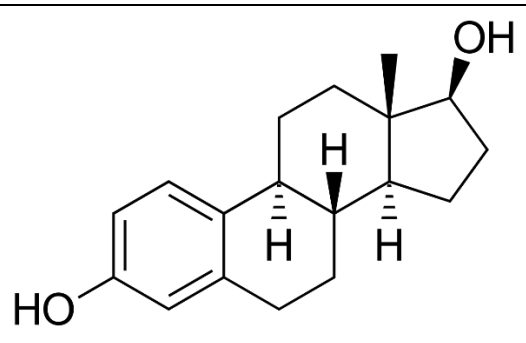
maggiore del 120% provoca un incremento del segnale vero; invece, un valore minore dell'80% provoca un suo decremento. Infine, questo effetto è strettamente legato alla matrice e, di conseguenza, all'aumentare del grado di diluizione del campione stesso il valore di ME% si avvicina sempre di più al 100% diminuendo, di conseguenza, l'impatto dell'effetto matrice sull'analisi.

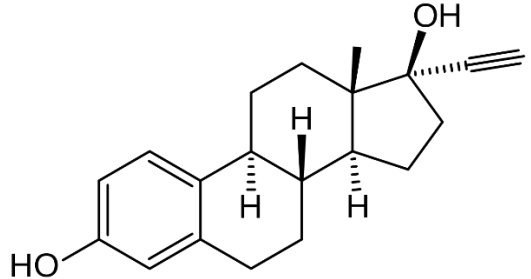
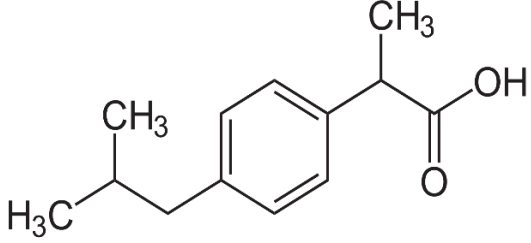
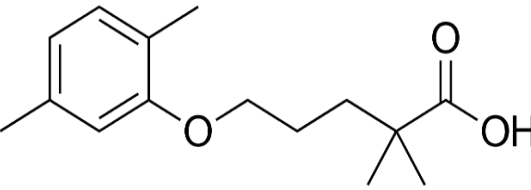
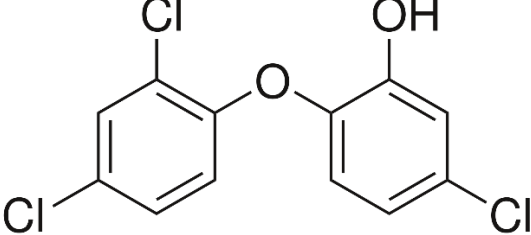
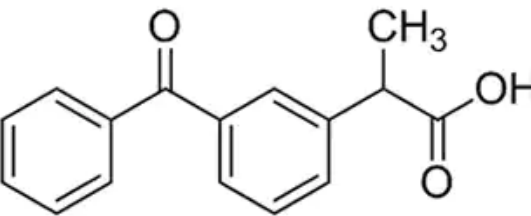
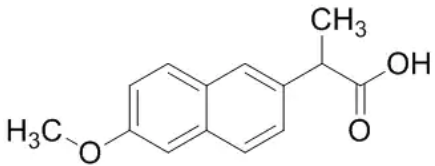
In questo lavoro di tesi, si è valutato il valore dell'effetto matrice di 22 sostanze appartenenti al gruppo dei contaminanti emergenti [Tab. 2.3].

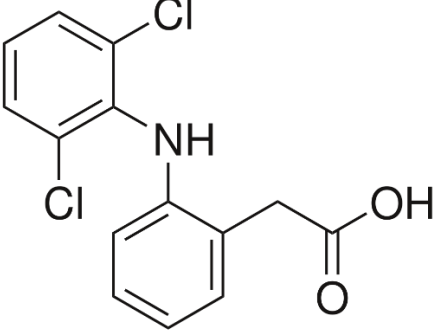
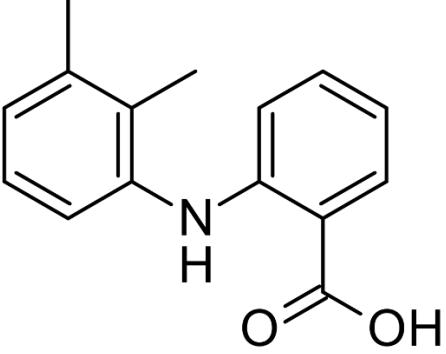
Tabella 2.3 Elenco dei 22 analiti di interesse

COMPOSTO	APPLICAZIONE	STRUTTURA CHIMICA
Salbutamolo (SLBT)	Farmaco broncodilatatore	
Caffeina (CAFF)	Alcaloide naturale	
Paraxantina (PRX)	Metabolita della caffeina	
Carbamazepina (CBZ)	Farmaco antiepilettico	

<p>Benzofenone-3 (BP-3)</p>	<p>Filtro UV</p>	
<p>Ottil dimetil p-amminobenzoato (OD-PABA)</p>	<p>Filtro UV</p>	
<p>Etil esil metossi cinnamato (EHMC)</p>	<p>Filtro UV</p>	
<p>Octocrylene (OC)</p>	<p>Filtro UV</p>	
<p>Acido perfluorooottanoico (PFOA)</p>	<p>Applicazioni in campo tessile</p>	

<p>Acesulfame K (ACS)</p>	<p>Dolcificante artificiale</p>	
<p>Sucralosio (SLC)</p>	<p>Dolcificante artificiale</p>	
<p>Bisfenolo A (BPA)</p>	<p>Additivo nella produzione di materie plastiche</p>	
<p>Estrone (E1)</p>	<p>Estrogeno</p>	
<p>β-estradiolo (E2)</p>	<p>Estrogeno</p>	

<p>17α- etinilestradiolo (EE2)</p>	<p>Estrogeno</p>	
<p>Ibuprofene (IBU)</p>	<p>Farmaco analgesico, antinfiammatorio e antipiretico</p>	
<p>Gemfibrozil (GEM)</p>	<p>Farmaco ipolipidemizzante</p>	
<p>Triclosan (TCS)</p>	<p>Antibatterico</p>	
<p>Ketoprofene (KET)</p>	<p>Farmaco antinfiammatorio</p>	
<p>Naprossene (NAP)</p>	<p>Farmaco antinfiammatorio</p>	

<p>Diclofenac (DCF)</p>	<p>Farmaco antinfiammatorio</p>	
<p>Acido mefenamico (MEF)</p>	<p>Farmaco analgesico, antinfiammatorio e antipiretico</p>	

Al fine di valutare l'effetto matrice sono stati preparati dei campioni dei film polimerici che sono stati sottoposti ad una procedura di estrazione che è stata ottimizzata in lavori di tesi precedenti:

- 1) Per prima cosa i film porosi sono soggetti a due processi di lavaggio immergendo inizialmente i campioni in un bagno di un solvente alcolico (metanolo o isopropanolo) e poi successivamente in acqua Milli-Q. Il primo lavaggio è durato 15 minuti per lato e invece il secondo 30 minuti per lato e sono stati intervallati da un'asciugatura all'aria di 30 minuti.
- 2) Successivamente i campioni sono sottoposti ad un drogaggio di 20 µl di metanolo per simulare l'aggiunta della soluzione standard che avverrà durante la determinazione dei recuperi percentuali. Questo step è stato effettuato in quanto l'effetto matrice è dipendente sia dalla matrice stessa che dalla procedura di trattamento del campione applicata; infatti, può modificarsi al variare di entrambe e per questo motivo, dato che nella procedura successiva è necessario effettuare il drogaggio, è fondamentale che quest'ultimo venga emulato anche durante la determinazione dell'effetto matrice.
- 3) Quindi, terminato il tempo di 60 minuti necessario per l'asciugatura del campione, sono stati effettuati due processi di estrazione con 5 ml di metanolo; il risultato è stato trasferito in un pallone per poi essere evaporato al rotavapor.
- 4) Infine, il residuo dell'evaporazione è stato ripreso con 1 ml di metanolo, filtrato e trasferito in un becker.

5) La soluzione è stata diluita con una miscela 1:1 di acqua e metanolo in un rapporto di diluizione pari a 1:5 e drogata con una soluzione standard degli analiti di interesse. Successivamente la soluzione è stata trasferita in una fiala pronta ad essere analizzata tramite un cromatografo liquido ad elevate prestazioni accoppiato allo spettrometro di massa a triplo quadrupolo (HPLC-MS-QQQ).

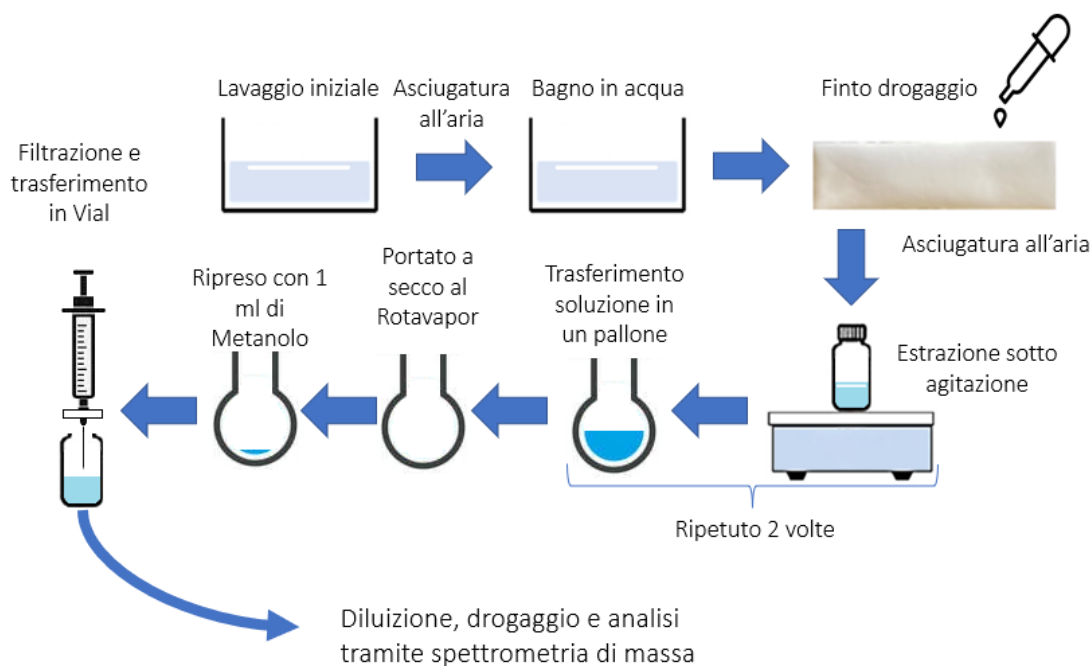


Figura 2.2 Procedura di estrazione per la determinazione dell'effetto matrice

Come affermato precedentemente, oltre all'effetto matrice è stato indagato anche il recupero percentuale. Questo parametro indica la percentuale di analita inizialmente presente all'interno del campione che è stato effettivamente estratto e quindi presente nel campione al termine della procedura di preparazione.

La determinazione di questo parametro può essere effettuata secondo la seguente equazione (2.5) [51]:

$$RE\% = \frac{A_{pre}}{A_{post}} \cdot 100 \quad (\text{equazione 2.5})$$

Dove A_{pre} rappresenta l'area del picco data da un campione in cui è presente solo la matrice e che ha subito un drogaggio degli analiti di interesse prima di essere stato

sottoposto all'estrazione mentre A_{post} rappresenta l'area data da un campione identico al precedente ma che ha subito il drogaggio subito prima di effettuarne l'analisi.

In questo lavoro di tesi, al fine di determinare il recupero, sono stati preparati due campioni seguendo la stessa procedura descritta in precedenza con le seguenti modifiche: Nel passaggio 2 il campione C ha subito un drogaggio di 20 μl di una soluzione standard degli analiti di interesse a 500 $\mu\text{g/l}$ (spike pre-estrazione) in modo da ottenere una concentrazione di 5 $\mu\text{g/l}$ nel volume finale di 1 ml una volta che quest'ultimo subisce la diluizione 1:5.

Nel passaggio 5 il campione C non ha subito alcun drogaggio mentre il campione B ha subito un drogaggio di 20 μl di una soluzione standard degli analiti di interesse a 500 $\mu\text{g/l}$ (spike post-estrazione) in modo da ottenere una concentrazione di 5 $\mu\text{g/l}$ nel volume finale di 1 ml una volta che quest'ultimo subisce la diluizione 1:5.

Sia per quanto riguarda la determinazione dell'effetto matrice, e sia per le prove sul recupero percentuale, i campioni sono stati preparati in duplicato.

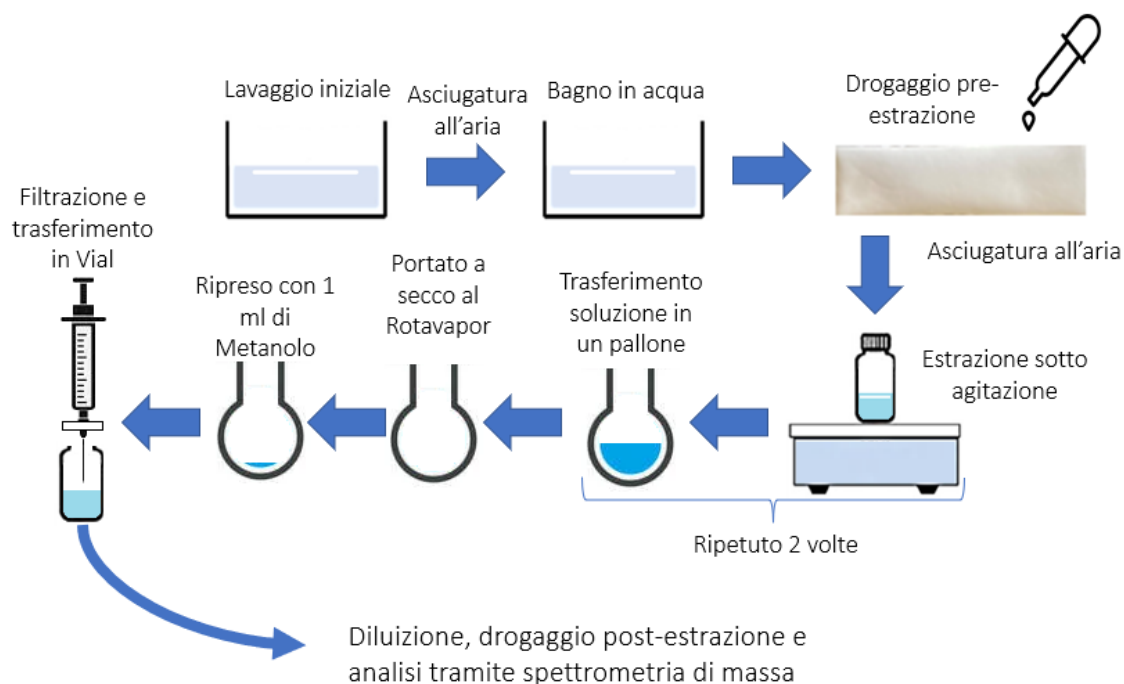


Figura 2.3 Procedura di estrazione per la determinazione del recupero %

2.6 Prove di accumulo

Come affermato nel paragrafo 2.5, per determinare la quantità di analiti che viene effettivamente adsorbita dalla membrana si sono effettuate delle prove di accumulo. Quest'ultime consistono nell'immersione dei campionatori in una soluzione contenente

gli analiti ad una determinata concentrazione per un determinato tempo (in questo caso quattro giorni).

Per queste prove sono state utilizzate tre diverse soluzioni di analiti preparate in acqua Milli-Q tal quale, acqua Milli-Q mantenuta a pH 7.5 grazie ad un tampone e acqua sintetica di mare.

La prima soluzione è stata preparata utilizzando unicamente acqua milli-Q in modo da limitare il più possibile le interferenze legate alla presenza di sali ed ottenere quindi una prima stima delle capacità di accumulo dei film polimerici.

La procedura riguardante questa prova di accumulo è la seguente:

- 1) Partendo da due film porosi, uno che ha subito la funzionalizzazione superficiale tramite amminolisi ed il secondo tal quale, sono stati ricavati dei campioni di 1 cm x 2 cm; tramite una bucatrice è stato praticato un foro al fine di inserirvi al suo interno una vite.
- 2) I film rettangolari così preparati sono quindi stati lavati con isopropanolo e fissati a due grate metalliche di supporto, una per i due campioni amminolizzati ed una per i due campioni tal quali.
- 3) Le due grate metalliche sono state immerse in due soluzioni diverse contenenti ciascuno 1600 ml di una soluzione degli analiti a 10 µg/L in acqua milli-Q.
- 4) I due becker contenenti le soluzioni sono quindi stati poggiati al di sopra di un agitatore e coperti da un foglio di carta stagnola precedentemente lavato con acetone. I due sistemi sono stati mantenuti in agitazione tramite un'ancoretta e lasciati in una stanza termostata a 25 °C per 4 giorni. Durante il periodo di esposizione sono stati prelevati dei campioni di acqua per monitorare le variazioni di concentrazione degli analiti in soluzione.
- 5) Terminato il tempo di accumulo, le grate sono state rimosse dalle soluzioni, i film polimerici sono stati sciacquati con acqua milli-Q ed estratti con 10 ml di metanolo; il risultato è stato trasferito in un pallone per poi essere evaporato al rotavapor.
- 6) Il residuo dell'evaporazione è stato ripreso con 1 ml di metanolo, filtrato e trasferito in un becker.
- 7) I campioni sono stati diluiti con acqua/metanolo in un rapporto composizionale di 50:50 preparando due soluzioni a partire da ogni membrana: una con un drogaggio degli analiti di interesse in modo da ottenere una concentrazione di 5 µg/l ed una senza.

8) I campioni risultanti sono stati analizzati tramite cromatografia liquida ad alte prestazioni accoppiata ad uno spettrometro di massa a triplo quadrupolo.

La seconda soluzione è stata preparata, come affermato precedentemente, avvicinandosi alle condizioni dell'acqua di mare e, per questo motivo, si è aggiunto un tampone al fine di portare il pH da 5, caratteristico dell'acqua milli-Q, a 8 e cioè il valore medio relativo all'acqua marina.

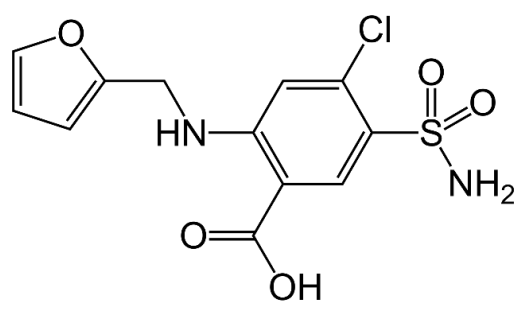
Durante la preparazione di questa soluzione, e anche quella rappresentante l'acqua di mare surrogata preparata successivamente, il pH ottenuto tramite il sistema tampone è risultato uguale a 7.5 (misurato tramite cartina tornasole). Ciò è stato causato dal fatto che l'idrossido di sodio utilizzato, essendo una sostanza igroscopica, ha assorbito acqua durante il periodo di stoccaggio e, di conseguenza, quando è stato pesato, la massa di idrossido di sodio effettivamente presente è stata alterata dalla presenza di una quantità non nota di acqua.

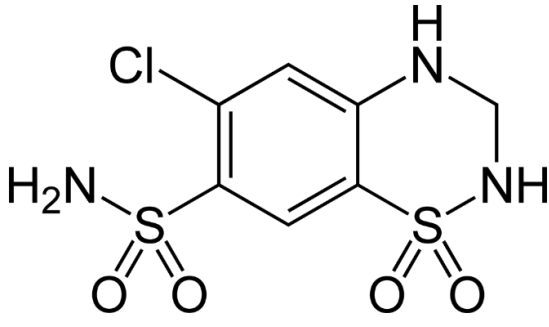
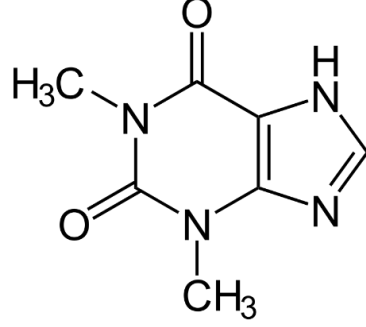
La procedura di preparazione riguardante questa seconda prova di accumulo è stata uguale a quella descritta precedentemente con le seguenti variazioni:

- a) Nel punto 1 sono stati ricavati dei campioni di dimensioni maggiori 3 cm X 1.5 cm.
- b) Nel punto 3 le due grate metalliche sono state immerse in 800 ml di soluzione a 10 µg degli analiti con l'aggiunta di un sistema tampone a pH 7.5 preparato tramite l'inserimento di 0.044 g/l di idrossido di sodio e 1.928 g/l di carbonato d'ammonio [52].

Inoltre, in aggiunta ai 22 analiti descritti precedentemente, sono stati determinate altre tre sostanze, sempre appartenenti ai contaminanti emergenti, aggiungendole alla soluzione standard madre [Tab. 2.4].

Tabella 2.5 Elenco dei tre analiti aggiuntivi

COMPOSTO	APPLICAZIONE	STRUTTURA CHIMICA
Furosemide (FRSM)	Diuretico	

<p>Idroclorotiazide (HCTZ)</p>	<p>Diuretico</p>	
<p>Teofillina (TEOP)</p>	<p>Alcaloide naturale</p>	

Infine, la terza soluzione è stata preparata al fine di simulare il più possibile le caratteristiche dell'acqua di mare. A questo scopo, oltre all'aggiunta del sistema tampone a pH 7.5, sono stati inseriti una serie di sali allo scopo di imitare la concentrazione dei componenti maggiori dell'acqua marina (acqua di mare surrogata).

La procedura di preparazione riguardante questa terza prova di accumulo è stata uguale a quella descritta per la seconda prova con le seguenti variazioni:

- a) Nel punto 3 le due soluzioni sono state preparate aggiungendo anche 22.64 g/l di cloruro di sodio, 4.15 g/l di solfato di sodio e 0.78 g/l di cloruro di potassio [34].
- b) Nel punto 4 non sono stati effettuati i prelievi dell'acqua della soluzione in quanto l'elevata concentrazione di sali provoca una grande interferenza nell'analisi HPLC-MS-QQQ.

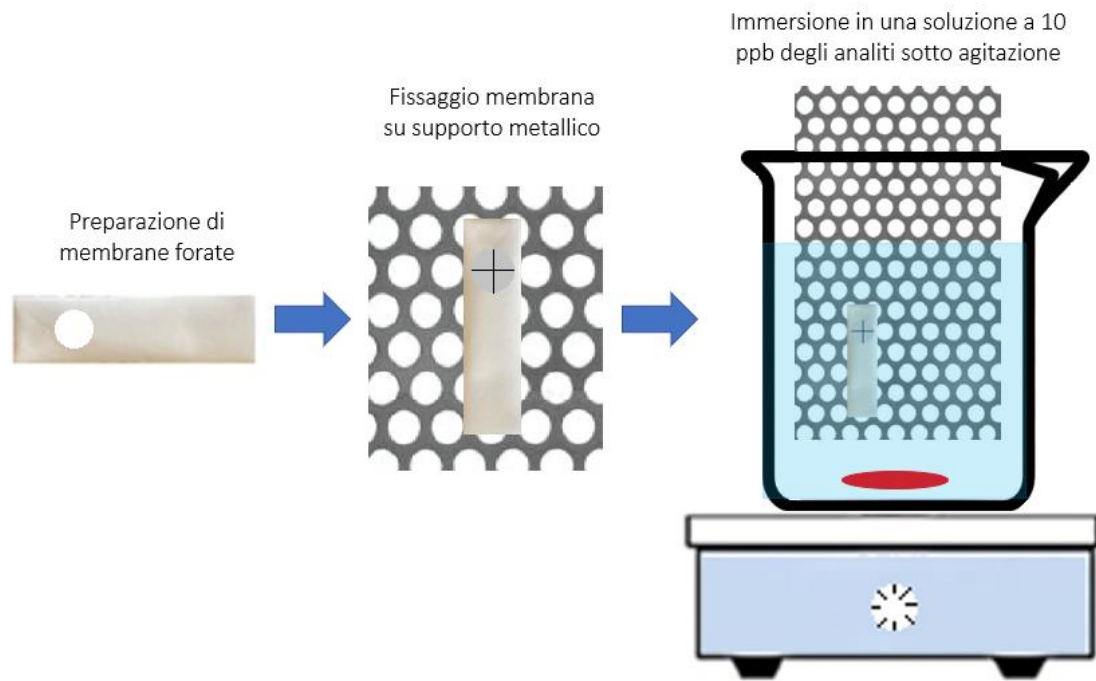


Figura 2.4 Procedura di esposizione per le prove di accumulo

2.7 Tecniche di caratterizzazione

2.7.1 Microscopia elettronica a scansione (SEM)

Il microscopio elettronico è uno strumento che permette di ottenere informazioni morfologiche e strutturali di un campione in seguito all'emissione di un fascio di elettroni, anziché di fotoni come in un microscopio ottico. La risoluzione raggiunta da un microscopio elettronico risulta essere maggiore rispetto a quello ottico in quanto i fotoni che compongono un raggio di luce possiedono una lunghezza d'onda maggiore rispetto a quella degli elettroni.

Nel seguente lavoro di tesi si è utilizzato un particolare modello del SEM (*Scanning electron microscope*), prodotto dall'azienda Zeiss®, identificato con il nome commerciale "Zeiss Supra 40VP".

Il fascio elettronico non viene generato tramite effetto termoionico (riscaldando un filamento di tungsteno o di esaboruro di lantanio) ma grazie all'applicazione di un forte campo elettrico sulla punta del filamento che abbassa la funzione lavoro del metallo e permette l'emissione di un'alta corrente elettronica (definito come emettitore di campo Schottky). Il solo effetto termoionico permette agli elettroni di raggiungere esigue energie di pochi eV.

L'emettitore di campo Schottky è stato sviluppato per superare i punti deboli degli emettitori tramite effetto termoionico, pur mantenendo i suoi punti di forza che sono l'elevata luminosità e la bassa diffusione di energia. Gli elettroni che vengono raccolti dal rivelatore provengono da un'area di emissione circa cento volte maggiore di quella dell'emettitore termoionico producendo una corrente di circa cinquanta volte superiore [53].

Il microscopio in dotazione è caratterizzato da un obiettivo GEMINI®, che è capace di acquisire tutti i segnali emessi dal campione, ma presenta in particolare un'elevata efficienza nell'acquisizione degli elettroni secondari e degli elettroni retrodiffusi.

Nel seguente lavoro di tesi, per osservare le sezioni trasversali al SEM, la membrana viene prima fratturata alla temperatura dell'azoto liquido (circa -200°C), quindi fissata perpendicolarmente al portacampione. Tutti i campioni sono stati rivestiti di carbonio sfruttando il processo di deposizione sputtering attraverso il Polaron E5100.

2.7.2 Reometro Brookfield

In questo lavoro di tesi si è sfruttato un viscosimetro identificato con il nome commerciale “Brookfield modello DV-II+”, prodotto dall’azienda Brookfield Engineering®. È un reometro rotazionale, nel quale il rotore (spindle) è immerso nel fluido in esame. Tramite un programma installato su di un computer collegato allo strumento, si impone una determinata velocità angolare con la quale il rotore si muove e si misura il momento torcente necessario per farlo ruotare in maniera costante. Attraverso il rapporto tra il momento torcente e la velocità angolare e facendo uso della costante di calibrazione si ricava la viscosità. È un reometro che fornisce una misura rigorosa della viscosità per i fluidi newtoniani ma valori indicativi per i fluidi non-newtoniani.

A partire dalla soluzione polimerica posta a 80°C cui si vuole determinare la viscosità, sono stati prelevati 8 ml che sono stati introdotti all’interno di una camera nella quale è stato aggiunto il girante. Tramite il software è stato impostato il programma di misura nel quale sono stati fissati determinati valori di velocità rotazionali necessari al fine di lavorare all’interno del regime newtoniano.

2.7.3 Spettroscopia UV-VIS

Per il lavoro di questa tesi si è utilizzato uno spettrofotometro identificato dal nome commerciale “Shimadzu UV-1800” prodotto dall’azienda Shimadzu®.

Come la maggior parte degli spettrofotometri esso è costituito [54]: da una sorgente di energia radiante, rappresentata nel caso dello Shimadzu da una lampada a deuterio e una a tungsteno/alogeno, da un filtro che seleziona un determinato intervallo di lunghezza d’onda, da due contenitori per il campione, da un fotodiodo a base di silicio che converte l’energia radiante in un segnale elettrico misurabile e infine da un processore e da un registratore del segnale.

Più precisamente lo Shimadzu UV-1800 è uno spettrofotometro a doppio raggio in quanto vengono emesse due radiazioni elettromagnetiche: un raggio attraversa la soluzione di riferimento fino al fotodiodo e invece il secondo attraversa la cuvetta nella quale c’è il campione per poi andare a finire in un secondo fotodiodo. Tramite un software, si determina il rapporto dei segnali recepiti dai due fotodiodi.

Prima di iniziare la misurazione, con i portacampioni vuoti, è necessario attendere circa venti minuti affinché venga effettuato un controllo delle componenti interne dello strumento e, successivamente, eseguire un’analisi del bianco in modo tale da sottrarlo

successivamente dagli spettri ottenuti. Tale misura è stata effettuata su due cuvette, aventi un cammino ottico di 0.2 cm, contenenti solo il riferimento, ovvero il solvente utilizzato per preparare la soluzione del campione da analizzare.

Terminata la misurazione, viene svuotata la cuvetta nella postazione vicina all'operatore e successivamente viene riempita fino ai $\frac{4}{5}$ della sua altezza con la soluzione soggetta in esame.

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

La spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier è una tecnica spettroscopica di assorbimento normalmente utilizzata nel campo della caratterizzazione dei materiali per lo studio dei legami chimici. Essa sfrutta la trasformata di Fourier al fine di ottenere uno spettro nel quale viene riportata la frequenza normalmente espressa in numero d'onda o lunghezza d'onda nell'asse delle ascisse e la trasmittanza in ordinata.

Lo spettrometro utilizzato è un FT-IR modello Vertex 70 prodotto dalla Bruker che permette di effettuare misure in un ampio intervallo spettrale (dall'ultravioletto fino al lontano infrarosso) ad alta risoluzione spettrale, inoltre permette di operare in condizioni di vuoto, abbattendo così i contributi generati dalla presenza di vapore d'acqua e anidride carbonica. Essa offre inoltre la possibilità di misurare sia nella configurazione di trasmissione che in modalità di riflettanza totale attenuata (ATR).

2.7.5 Analisi termogravimetrica (TGA)

L'analisi termogravimetrica (TGA) è una tecnica sperimentale usata per determinare la stabilità termica di un campione misurando la sua variazione di massa a seguito di un trattamento termico controllato e programmato. La variazione di peso viene misurata tramite una microbilancia mentre il campione è posto in una fornace in un'atmosfera controllata.

Per questo lavoro di tesi si è fatto riferimento a uno strumento identificato dalla sigla commerciale "TGA1 STARe System" prodotto dall'azienda Mettler Toledo®. Le misure sono state effettuate su campioni di peso di circa 10 mg, sottoposti a un riscaldamento ad una velocità di 10°C/min posto in un'atmosfera controllata di azoto.

2.7.6 Cromatografia liquida ad elevate prestazioni accoppiata allo spettrometro di massa a triplo quadrupolo (HPLC-MS-QQQ)

Le analisi effettuate nel corso del lavoro di tesi hanno richiesto, per via delle caratteristiche di matrice ed analiti e della bassa concentrazione di quest'ultimi, una sensibilità e una selettività raggiungibili solamente tramite l'accoppiamento di un cromatografo con la spettrometria di massa tandem. La cromatografia liquida è una tecnica che permette la separazione dei componenti di una miscela sfruttando la distribuzione di quest'ultimi tra due fasi, chiamate fase mobile (di natura liquida) e fase stazionaria (di natura solida).

A seconda delle interazioni che gli analiti hanno con la fase stazionaria, questi verranno trattenuti più o meno fortemente, portando quindi ad una loro diversa velocità all'interno della colonna cromatografica e quindi a tempi di permanenza (tempo di ritenzione) differenti.

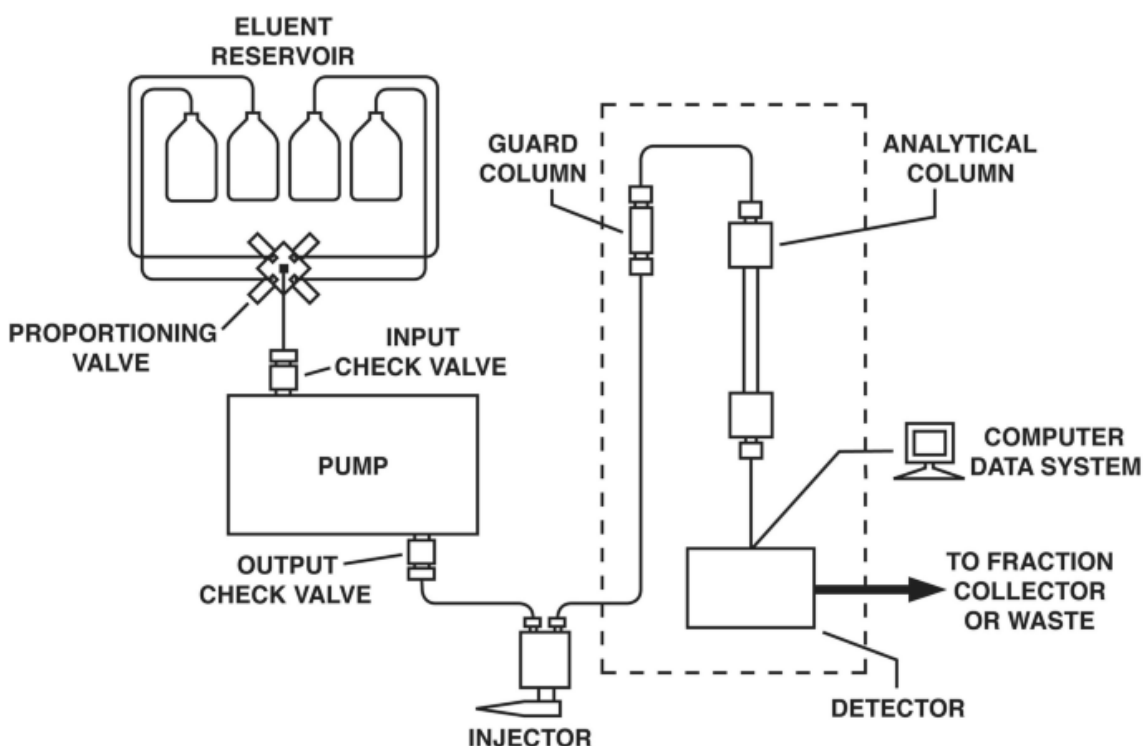


Figura 2.5 Schema a blocchi di un cromatografo liquido ad alte prestazioni [55]

Lo strumento utilizzato in laboratorio è un HPLC “Serie 1200” prodotto dall’azienda Agilent® in grado di lavorare con due eluenti differenti in contemporanea modificandone

durante l'analisi sia il rapporto (gradiente di concentrazione) e sia il flusso (gradiente di flusso).

Lo spettrometro di massa, che funge da rilevatore della tecnica cromatografica, è uno strumento che permette la rilevazione e la determinazione degli analiti sfruttando la ionizzazione e successiva frammentazione delle molecole del campione. Dalla frammentazione si ottengono gli ioni che vengono classificati in funzione del rapporto massa/carica. Ciascuna molecola presenterà un percorso di frammentazione diverso dando vita a dei ioni con un determinato rapporto massa/carica. Più precisamente si è fatto riferimento a uno strumento identificato dal nome commerciale "QQQ 6430" prodotto dall'azienda Agilent®.

Nel momento in cui la miscela di analiti viene separata tramite cromatografia, si giunge alla sorgente di ionizzazione dello spettrometro di massa. Per il lavoro di questa tesi si è utilizzata la ionizzazione elettrospray (ESI).

In questa tecnica l'analita immerso nel solvente viene fatto passare attraverso un capillare carico e quindi nebulizzato. Successivamente le gocce risultanti si rimpiccioliscono a causa della evaporazione del solvente, ciò porta ad una densità di carica sulla superficie sempre maggiore fino al punto che le gocce stesse vengono frammentate in parti più piccole dalle forze coulombiane (esplosione coulombiana).

Questo processo continua fino a che gli analiti non si ritrovano sotto forma di ioni desolvatati che vengono attratti da un elettrodo la cui polarità è inversa rispetto a quella del nebulizzatore e che determina il tipo di ionizzazione ESI effettuata (ioni negativi, positivi). A questo punto gli ioni che presentano una carica opposta rispetto all'elettrodo vengono quindi convogliati all'interno di un'ottica ionica mentre gli altri vengono respinti.

Infine, la corrente di ioni incontra un flusso trasversale di gas inerte, come per esempio azoto, che ha la funzione di rimuovere tutte le specie neutre che sono riuscite ad arrivare fino a questo punto ed elimina i residui di solvente eventualmente ancora presenti [56].

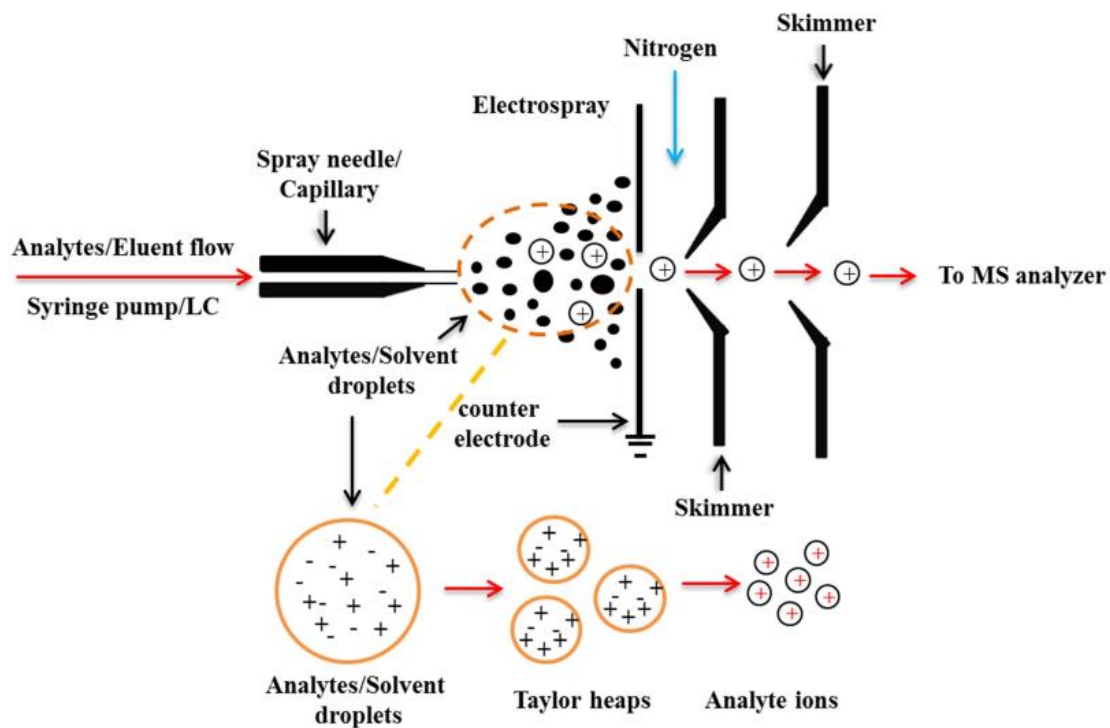


Figura 2.6 ionizzazione ESI

Il vantaggio principale di questa tecnica consiste nel fatto che si tratta di una ionizzazione di tipo “soft”; questo permette di ionizzare gli analiti senza provocarne un’eccessiva frammentazione e portando quindi alla formazione degli ioni molecolari.

Al fine di determinare al meglio gli analiti di interesse sono stati utilizzati due metodi di analisi differenti: uno durante il quale la polarità dell’ESI rimane negativa (ioni negativi) mentre durante il secondo la polarità continua ad invertirsi (polarity switch).

Lo spettrometro di massa utilizzato è un triplo quadrupolo, costituito da tre quadrupoli posizionati in sequenza. Questo tipo di selettore di massa è stato impiegato in modalità Multiple Reaction Monitoring (MRM). In MRM il primo quadrupolo seleziona un determinato rapporto massa su carica, corrispondente allo ione genitore, e lo trasporta fino al secondo quadrupolo. Questo è chiamato cella di reazione o collisione e ha la funzione di provocare la frammentazione dello ione genitore tramite l’impatto con delle molecole di gas inerte o tramite una vera e propria reazione. Infine, tra gli ioni prodotti (ioni figli) l’ultimo quadrupolo ne seleziona uno e lo convoglia verso il rivelatore [57].

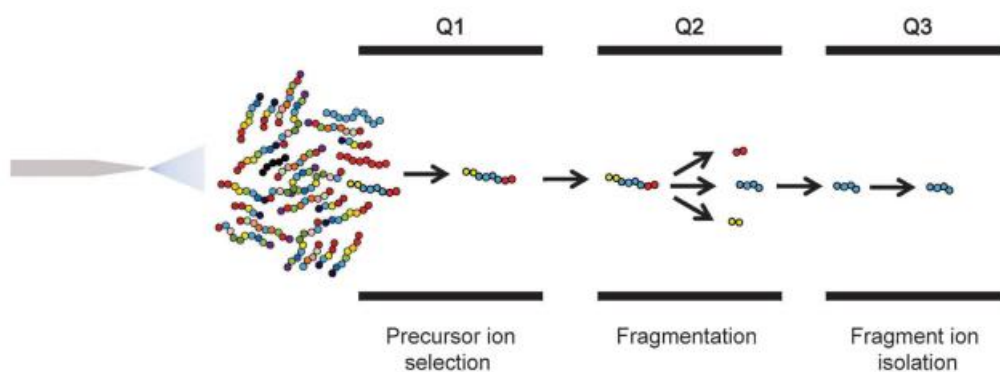


Figura 2.6 triplo quadrupolo in modalità MRM

Il vantaggio di questo tipo di analizzatore di massa consiste nel fatto che è in grado di discernere tra ioni che presentano lo stesso rapporto massa su carica ma che provengono da composti differenti; infatti, se a causa di ciò il primo quadrupolo non è in grado di discernere tra due sostanze differenti, queste vengono frammentate nel secondo quadrupolo portando a ioni figli diversi e, di conseguenza, permettendo al terzo analizzatore di determinare il contributo dato da una sola delle sostanze iniziali.

Grazie a questa caratteristica è possibile individuare, per ognuno degli analiti indagati, una serie di coppie caratteristiche di ioni genitori e ioni figli (transizioni).

Lo ione figlio che genera il segnale con intensità maggiore viene selezionato per quantificare l'analita e la transizione che porta a questo ione viene definita quantifier. Inoltre, se sono presenti altre transizioni, è possibile andare ad indagare anche queste (qualifier) al fine di essere certi che il segnale del quantifier sia dato esclusivamente dall'analita. Ciò è possibile in quanto il rapporto di intensità tra le transizioni provenienti dalla stessa molecola è costante.

Tabella 2.6 percentuali e flusso degli eluenti durante la corsa cromatografica in polarity switch

Tempo (min)	Acqua + 0.001% Acido acetico (%)	Acetonitrile + 0.001% Acido acetico (%)	Flusso (ml/min)
2.00	30.0	70.0	0.300
6.00	30.0	70.0	0.300
7.00	30.0	70.0	0.400
9.00	30.0	70.0	0.400
10.00	60.0	40.0	0.300

Tabella 2.7 percentuali e flusso degli eluenti durante la corsa cromatografica in ioni negativi

Tempo (min)	Acqua (%)	Acetonitrile (%)	Flusso (ml/min)
0.20	60.0	40.0	0.300
5.00	10.0	90.0	0.300
6.00	10.0	90.0	0.300
7.00	60.0	40.0	0.300

Tabella 2.8 tempi di ritenzione, tipologia di analisi e transizioni indagate degli analiti indagati in polarity switch

analita	quantifier	qualifier 1	qualifier 2	tempo di ritenzione (min)	polarità
ACS	162→82	162→78	-	0.7	Negativa
BP3	229→151	229→105	-	5.5	Positiva
CAFF	195→138	195→110	-	1.01	Positiva
CBZ	237→194	237→165	-	1.81	Positiva
CLBT	277→203	277→132	-	9.3	Positiva
DFC	294→250	294→214	-	5	Negativa
EHMC	291→179	291→161	-	9	Positiva
EHS	251→139	-	-	9.4	Positiva
FRSM	329→285	329→205	-	1.5	Negativa
GEM	249→121	249→106	-	5.8	Negativa
HCTZ	295→269	295→205	-	1.14	Negativa
IBU	205→161	-	-	5.2	Positiva
KET	255→209	253→209	-	2.9	Positiva
NAP	229→170	229→169	-	3.1	Negativa
OC	362→250	362→232	-	9.7	Positiva
OD-PABA	278→166	278→151	-	9.2	Positiva
PRX+TEOP	181→124	413→369	-	0.9	Positive
PFOA	413→369	413→169	-	1.05	Negativa
PFOS	499→99	499→80	-	1.85	Negativa
SLBT	240→222	240→148	-	3.8	Positiva
SCL	457→397	455→395	431→395	1.04	Negativa

Tabella 2.8 tempi di ritenzione, tipologia di analisi e transizioni indagate degli analiti indagati in ioni negativi

analita	quantifier	qualifier 1	qualifier 2	tempo di ritenzione (min)
EE2	295→159	295→145	-	4

E2	271→183	271→145	-	3.1
BPA	227→212	227→133	-	2.6
E1	269→145	269→143	-	4.2
TCS	289→37	289→35	287→35	6.9

Tutti i campioni indagati tramite questo strumento sono stati analizzati effettuando due repliche strumentali.

3 Risultati e discussioni

Il lavoro di questa tesi ha due diversi obiettivi:

- il primo riguarda lo sviluppo e la caratterizzazione di film porosi a base di PLA e a base di un blend costituito da PLA e PCL.
- il secondo riguarda lo studio dell'applicazione dei film così prodotti come campionatori passivi per la determinazione di contaminanti emergenti nelle acque

3.1 Preparazione e caratterizzazione delle membrane

Come già illustrato nel paragrafo 2.2, tutte le membrane sono state preparate tramite la tecnica dell'inversione di fase indotta da non solvente (NIPS). In questo processo, si sfrutta la precipitazione del polimero che avviene quando quest'ultimo (presente sotto forma di soluzione polimerica) è immerso in un non solvente, ottenendo così un sistema poroso.

La formazione di una membrana e la sua morfologia dipendono principalmente dai seguenti fattori [58]: la concentrazione della soluzione polimerica, il rapporto tra solvente e non solvente, la temperatura della soluzione polimerica e del bagno di coagulazione ed infine il tipo di solvente e di non solvente utilizzato.

Per questi motivi, in questo lavoro di tesi, sono state effettuate delle caratterizzazioni con il fine di determinare i fattori sopradescritti ed il loro impatto sulla membrana risultante.

3.1.1 Valutazione della porosità delle membrane a base di PLA

Sono stati realizzati dodici film porosi a partire da tre solventi differenti: quattro partendo da una soluzione di PLA in DMF, altri quattro solubilizzando il PLA in cyrene e gli ultimi quattro utilizzando astrobio come solvente. Ogni gruppo di soluzioni è stato preparato a quattro concentrazioni differenti: 5, 10, 15, 20 utilizzando la percentuale massa su volume (% m/V).

Si è quindi determinato il grado di porosità delle membrane a base di PLA risultanti facendo riferimento alla seguente equazione (3.1):

$$Porosità (\%) = \frac{V_m - V_p}{V_m} * 100 = \left(1 - \frac{W_m}{D * A * p_p}\right) * 100 \quad (\text{equazione 3.1})$$

Dove V_m è il volume del campione, che è determinato dal prodotto tra l'area (A) e lo spessore del campione (D); mentre V_p è il volume del polimero all'interno della membrana che è calcolato come il rapporto tra la massa del campione (W_m) e la densità del PLA (p_p).

Nella [Tab. 3.1] vengono riportati i valori di porosità per le membrane a base di PLA.

Tabella 3.1 Grado di porosità delle differenti membrane a base di PLA

CODICE DEL CAMPIONE	POROSITA' (%)	CODICE DEL CAMPIONE	POROSITA' (%)	CODICE DEL CAMPIONE	POROSITA' (%)
PLA_5_DMF	92	PLA_5_CYR	-	PLA_5_AST	-
PLA_10_DMF	85	PLA_10_CYR	-	PLA_10_AST	-
PLA_15_DMF	81	PLA_15_CYR	-	PLA_15_AST	-
PLA_20_DMF	80	PLA_20_CYR	85	PLA_20_AST	-

Come riportato successivamente nel paragrafo 3.1.4 che tratta dell'analisi morfologica delle membrane, è stato possibile quantificare la porosità solo per i campioni ottenuti a partire dal DMF e per il campione preparato dalla soluzione di PLA in cyrene a una concentrazione del 20% (m/V). I campioni derivanti dalle altre soluzioni polimeriche non presentavano una struttura omogenea impedendo così lo svolgimento di questa analisi.

Nella [Tab. 3.1], focalizzandoci sulle prime due colonne, si osserva una diminuzione del grado di porosità all'aumentare della concentrazione polimerica. Il medesimo risultato è stato ottenuto anche da Chinyerenwa e collaboratori [59] in uno studio condotto nel 2018 dove sono state analizzate diverse membrane preparate tramite il metodo NIPS a partire da soluzioni a concentrazioni differenti di PLA. La formazione dei pori, in una membrana preparata mediante questo processo, è causata dalla precipitazione del polimero quando quest'ultimo entra in contatto con il non solvente. Nello specifico, in una soluzione ad elevata concentrazione, la limitata mobilità delle macromolecole si traduce in una maggiore difficoltà di precipitazione e in una riduzione della porosità del film.

In base a questo comportamento, Maggay e collaboratori [60] sono riusciti ad ottenere delle membrane caratterizzate da una ridotta quantità di cavità semplicemente utilizzando soluzioni polimeriche ad elevata concentrazione. Più precisamente, la porosità delle membrane è stata gradualmente ridotta dall'88% al 76% aumentando la concentrazione del polimero e portandolo dall'8% al 15% in peso.

3.1.2 Valutazione della viscosità delle soluzioni polimeriche per le membrane a base di PLA

Nella [Fig. 3.1] è riportato l'andamento della viscosità in funzione della concentrazione ottenuta attraverso misure effettuate tramite il viscosimetro Brookfield ed indagando soluzioni costituite dal PLA in DMF a differenti concentrazioni e mantenute ad 80°C. In particolare, sono state effettuate quattro differenti misure, dove nella prima la concentrazione polimerica era del 5%, nella seconda del 10%, nella terza del 15% e nell'ultima del 20%.

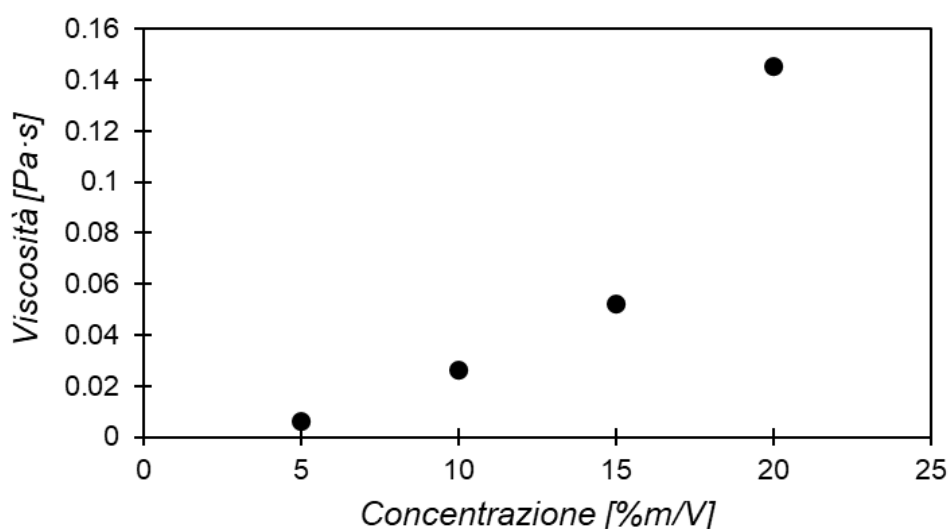


Figura 3.1 Variazione della viscosità della soluzione del PLA in DMF in funzione della concentrazione

I valori ottenuti sono riassunti nella [Tab. 3.2].

Tabella 3.2 Valori di viscosità delle soluzioni di PLA in DMF

CODICE DEL CAMPIONE	VISCOSITA' (Pa·s)
PLA_5_DMF	0.006
PLA_10_DMF	0.026
PLA_15_DMF	0.052
PLA_20_DMF	0.145

Nella [Fig. 3.2] è riportata la stessa curva, ottenuta però solubilizzando il PLA in cyrene. Bisogna rimarcare che il cyrene è un solvente aprotico bio based e biodegradabile, tali

caratteristiche risultano interessanti per lo scopo di questo lavoro di tesi in quanto rendono possibile la preparazione di un campionario passivo non solo partendo da un polimero *bio-based*, ma utilizzando anche un solvente a basso impatto ecologico.

Nella [Tab. 3.3], vengono mostrati i valori della viscosità determinati dal viscosimetro.

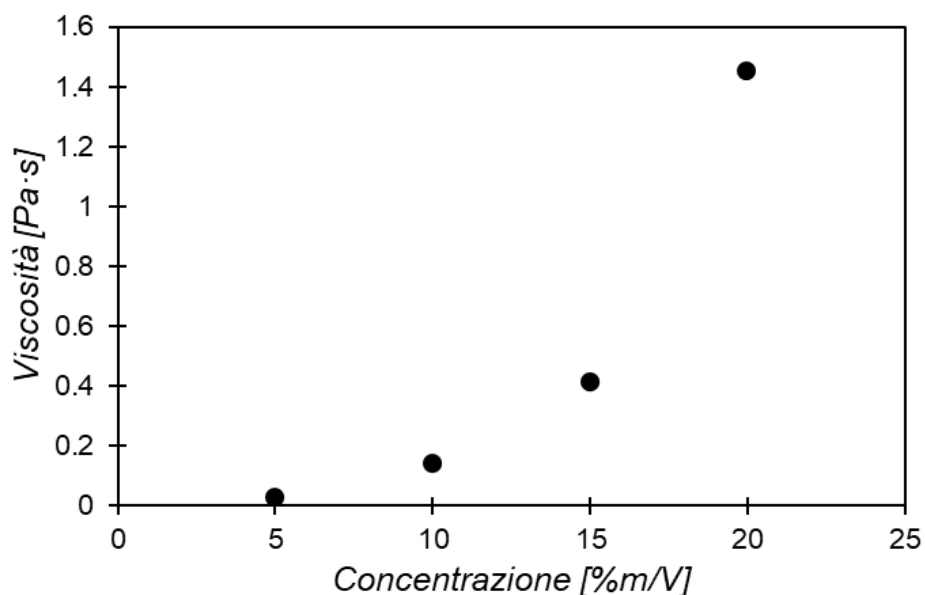


Figura 3.2 Variazione della viscosità della soluzione del PLA in cyrene in funzione della concentrazione

Tabella 3.3 Valori di viscosità delle soluzioni di PLA in cyrene

CODICE DEL CAMPIONE	VISCOSITA' (Pa·s)
PLA_5_CYR	0.030
PLA_10_CYR	0.142
PLA_15_CYR	0.416
PLA_20_CYR	1.452

Nella [Fig. 3.3] è riportato l'andamento a partire da soluzioni costituite da PLA in astrobio a differenti concentrazioni sempre a 80°C. L'astrobio è un solvente non ancora commercializzato, interessante in quanto, al pari del cyrene, è biodegradabile e preparato da fonti rinnovabili.

Infine, la [Tab. 3.4] riporta i valori della viscosità relativi a quest'ultimo solvente.

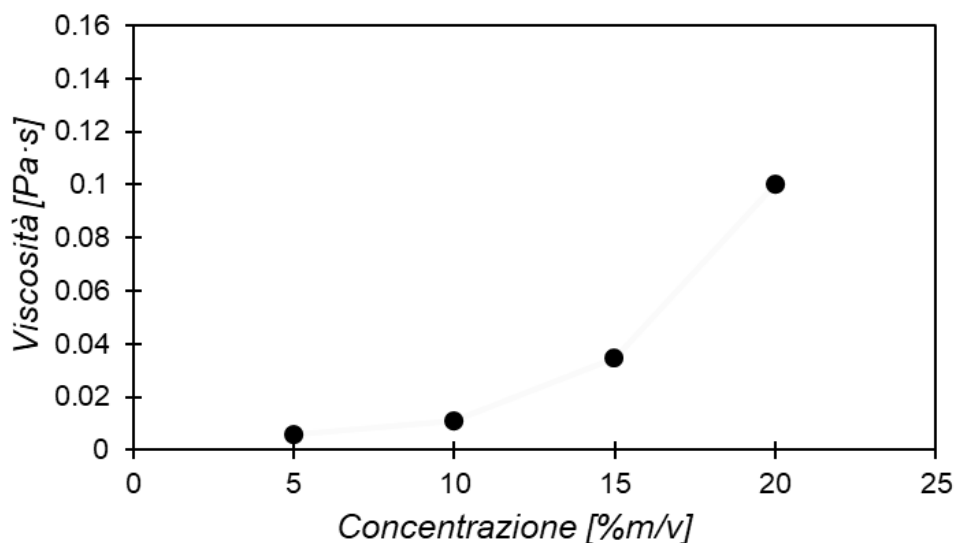


Figura 3.3 Variazione della viscosità della soluzione del PLA in astrobio in funzione della concentrazione

Tabella 3.4 Valori di viscosità delle soluzioni di PLA in astrobio

CODICE DEL CAMPIONE	VISCOSITA' (Pa·s)
PLA_5_AST	0.005
PLA_10_AST	0.010
PLA_15_AST	0.034
PLA_20_AST	0.100

Per tutte le soluzioni è possibile osservare un andamento esponenziale della viscosità rispetto all'aumento della concentrazione polimerica. Inoltre, esaminando la [Tab. 3.2] e la [Tab. 3.4], è possibile notare dei valori piuttosto simili di viscosità tra le soluzioni preparate con DMF e con astrobio, mentre dalla [Tab. 3.3] si può evidenziare una netta differenza dei valori di viscosità delle soluzioni polimeriche precedentemente citate e quelle preparate utilizzando il cyrene.

Per comprendere meglio questi risultati è possibile fare riferimento alla viscosità del solvente tal quale. Infatti, il cyrene è caratterizzato da un valore di viscosità di $11.6 \text{ mm}^2/\text{s}$ a 20°C [61] contro il valore di $0.8947 \text{ mm}^2/\text{s}$ a 20°C del DMF [62]. Di conseguenza la resistenza allo scorrimento offerta dal solvente biodegradabile risulta essere notevolmente maggiore rispetto quella garantita dal solvente ammidico.

3.1.3 Determinazione dei coefficienti di diffusione

Per analizzare nel dettaglio la formazione del film poroso, è necessario considerare che nel momento in cui la soluzione polimerica viene immersa nel bagno costituito dal non solvente, avvengono movimenti diffusivi tra il solvente e il non solvente: quest'ultimo andrà a occupare lo spazio lasciato libero dal solvente e viceversa [63].

In questo lavoro sono stati determinati unicamente i coefficienti di diffusione per le varie coppie di solvente-non solvente utilizzando tentando di comprendere la relazione tra il loro valore e le caratteristiche del film poroso conseguito.

Per una soluzione binaria costituita da un soluto A nel solvente B, il coefficiente di diffusione $D_{A,B}^0$ in condizioni di infinita diluizione viene calcolato tramite il metodo di Tyn e Calus [64], come riportato nell'equazione (3.2):

$$D_{AB}^0 = 8.93 \times 10^{-8} \frac{V_B^{0.267}}{V_A^{0.433}} \frac{T}{\eta_B} \left(\frac{\sigma_B}{\sigma_A} \right)^{0.15} \quad (\text{equazione 3.2})$$

Dove V_B e V_A sono rispettivamente il volume molare del solvente e del soluto, T è la temperatura del processo, η_B è la viscosità del solvente e σ_B e σ_A sono, rispettivamente, la tensione superficiale del solvente e del soluto.

Da sottolineare che l'acqua funge da non solvente e il DMF, cyrene e astrobio rappresentano i sistemi solventi. Pertanto, tramite l'equazione di Tyn e Calus, si è potuto determinare il coefficiente di diffusione del non solvente (A) nel soluto (B) e viceversa [Tab. 3.5].

Tabella 3.5 Determinazione del coefficiente di diffusione per la coppia acqua/DMF e acqua/cyrene

NON SOLVENTE	SOLVENTE	COEFFICIENTE DI DIFFUSIONE DEL NON SOLVENTE NEL SOLVENTE (m^2/s)	COEFFICIENTE DI DIFFUSIONE DEL SOLVENTE NEL NON SOLVENTE (m^2/s)
ACQUA	CYRENE	0.003	0.001
	DMF	0.260	0.110

Dai risultati ottenuti si osserva che i valori dei coefficienti di diffusione per la coppia acqua/cyrene risultano essere inferiori rispetto a quelli della coppia acqua/DMF, questo determina tempi di formazione della membrana più lunghi. È importante sottolineare che bassi valori dei coefficienti di diffusione, cioè bassa velocità di trasferimento di materia, possono limitare la precipitazione del polimero e quindi la formazione di una membrana. Invece ad elevati valori del coefficiente di diffusione corrisponde la formazione di una membrana ad elevata porosità, le cui cavità sono di forma simile a delle dita, detta “*finger-like*” [63].

Nel caso dell’astrobio, non essendo un solvente commerciale, non si sono avuti a disposizione i valori delle grandezze necessarie per applicare il metodo di Tyn e Calus.

3.1.4 Morfologia dei film porosi a base di PLA

I film porosi ottenuti utilizzando diversi tipi di solventi e partendo da concentrazioni polimeriche differenti sono stati caratterizzati preliminarmente analizzandone la struttura visiva e poi per mezzo di misure FE-SEM. Di seguito, [Fig. 3.4], sono riportate delle foto che mettono a confronto i campioni ottenuti tramite la tecnica NIPS a partire dal DMF, cyrene o astrobio al variare della concentrazione del polimero.

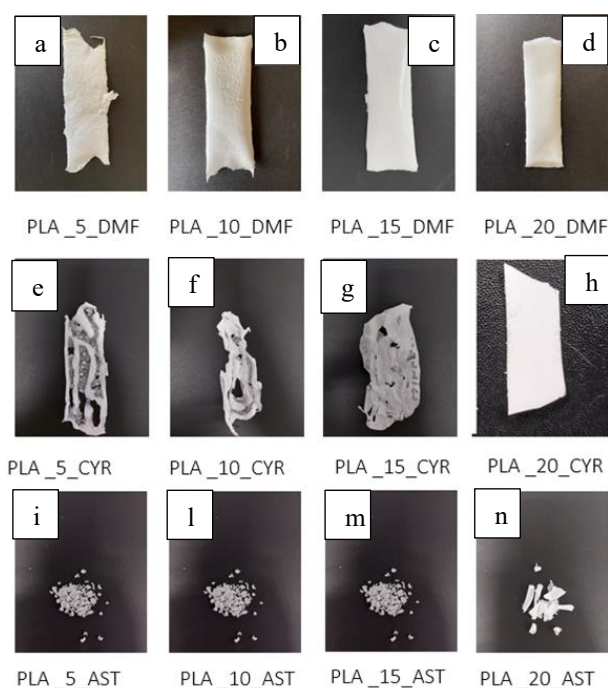


Figura 3.4 Aspetto morfologico delle membrane ottenute dalle soluzioni del PLA in DMF a una concentrazione del 5% (a), del 10% (b), del 15% (c) e del 20% (d); dei film porosi preparati a partire dalle soluzioni del PLA in cyrene a una concentrazione del 5% (e), del 10% (f), del 15% (g), del 20% (h); e infine di quelle ottenute a partire dalle soluzioni del PLA in astrobio a una concentrazione del 5% (i), del 10% (l), del 15% (m) e del 20% (n)

Focalizzandoci sui campioni preparati con DMF, [Fig. 3.4 a,b,c,d], i film risultano tutti integri e quelli ottenuti partendo da soluzioni con una bassa concentrazione di PLA (PLA_5_DMF; PLA_10_DMF; PLA_15_DMF) risultano essere molto sottili (650 μm), mentre quelli preparati a partire dalla soluzione più concentrata (PLA_20_DMF) risultano essere più spessi (800 μm).

Considerando i campioni preparati con cyrene [Fig. 3.4 e,f,g,h], i film preparati da soluzioni con una bassa concentrazione di PLA risultano essere totalmente disomogenei (con alcune zone prive di matrice polimerica). Tale risultato può essere correlato alle caratteristiche della coppia acqua/cyrene, che, come precedentemente descritto, è caratterizzata da coefficienti di diffusioni minori rispetto alla coppia acqua/DMF. Solo nel caso del campione ottenuto da una soluzione di PLA in cyrene al 20%, il film appare omogeneo ed integro, nonostante ciò, sulla superficie del film si forma un *layer* che tende a distaccarsi dal resto della struttura. Sulla base dei risultati ottenuti, possiamo supporre che l'elevata viscosità del cyrene può essere un limite per applicare il solvente nella fabbricazione di film porosi.

L'astrobio, [Fig. 3.4 i,l,m,n], non risulta essere il solvente ideale con il quale si può effettuare il processo NIPS. Infatti, dopo aver colato la soluzione sul supporto vetroso ed averla livellata con una lama, si è potuto osservare che la soluzione polimerica rimaneva adesa sulla superficie rendendo impossibile l'ottenimento di una struttura porosa sfruttabile a livello applicativo [Fig. 3.5].



Figura 3.5 Residuo di soluzione di PLA in astrobio rimasto adeso sul supporto vetroso

Dai risultati ottenuti, possiamo ipotizzare dei valori dei coefficienti di diffusione della coppia astrobio/acqua notevolmente inferiori rispetto a quelli calcolati per il DMF e il cyrene, in quanto, in questo lavoro di tesi, non si è riuscito ad ottenere delle membrane integre utilizzando questo solvente.

Come riportato nei paragrafi precedenti la natura superficiale e la struttura dei pori risultano essere dipendenti dalle condizioni con le quali è stato condotto il processo NIPS. Tramite l'analisi al FE-SEM, si è cercato di dedurre la correlazione tra morfologia e i parametri sperimentali utilizzati. La caratterizzazione SEM ha permesso di analizzare in dettaglio la sezione trasversale dei film a base PLA, preparati a partire da soluzioni a differente concentrazione in DMF ([Fig. 3.6]).

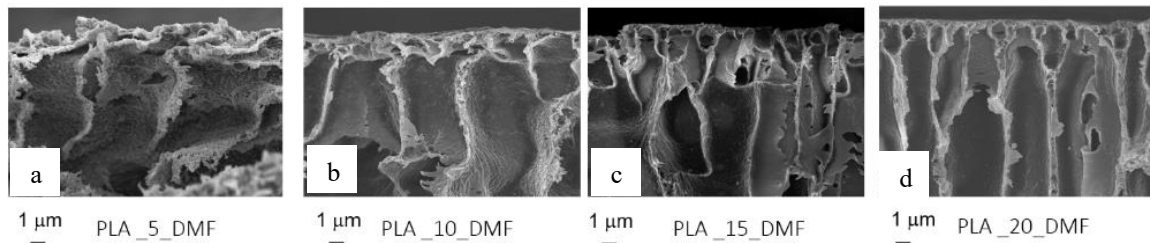


Figura 3.6 Analisi FE-SEM dei film a base PLA in DMF ottenuti da una soluzione a una concentrazione del 5% (a); 10% (b), 15% (c) e 20% (d)

Per osservare le sezioni trasversali al SEM, la membrana viene prima fratturata alla temperatura dell'azoto liquido, quindi fissata perpendicolarmente al portacampione.

In tutti i campioni la struttura delle membrane risulta essere asimmetrica, con una parte più densa superficiale ed una zona caratterizzata da pori di forma allungata simile a delle dita, “*finger-like*”. Tutto ciò indica che la precipitazione del polimero avviene poco dopo l'immersione della soluzione nel bagno costituito dal non solvente: possiamo quindi ipotizzare che a contatto con l'acqua il sistema rapidamente passa da una condizione di elevata stabilità (tutti i componenti sono miscibili) a una condizione di elevata instabilità con conseguente formazione di una struttura costituita da pori di forma allungata.

I risultati ottenuti da Maggay e collaboratori [60], secondo cui all'aumentare della concentrazione polimerica risulta essere maggiore la probabilità di avere una membrana caratterizzata da una struttura “spugnosa”, sono stati raggiunti anche nel seguente lavoro [Fig. 3.6 a,d].

La [Fig. 3.7] mostra la micrografia a differenti ingrandimenti della sezione trasversale della PLA_20_CYR. Possiamo notare che la morfologia ottenuta concorda con quanto riportato sull'argomento in letteratura, ovvero che la conformazione morfologica del film poroso possa essere variata al variar delle condizioni sperimentali. Il più basso coefficiente di diffusione che si è calcolato per la coppia cyrene/acqua rispetto alla coppia DMF/acqua si traduce in un lento movimento diffusivo che comporta una precipitazione ritardata e maggior tempo nella formazione della membrana. Tutto ciò porta ad una struttura "spugnosa" priva di pori allungati che attraversano l'intera membrana da una parte all'altra come peraltro anche confermato dalla letteratura di riferimento [30,46,49].

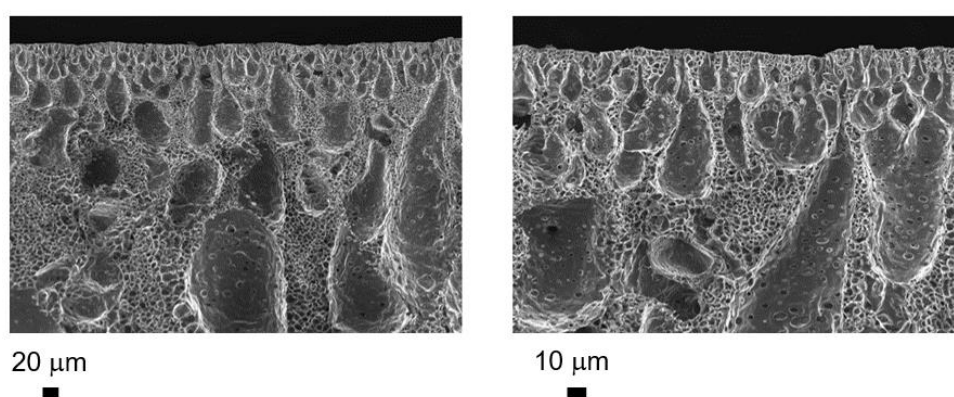


Figura 3.7 Analisi FE-SEM della membrana PLA_20_CYR a due differenti ingrandimenti

3.1.5 Valutazione della porosità delle membrane a base di PLA/PCL

Come già descritto nei paragrafi precedenti, nel seguente lavoro di tesi sono state preparate anche delle membrane a base di PLA e un PCL commerciale lineare ad elevato peso molecolare, per la cui preparazione è stata scelta una concentrazione di soluzione polimerica del 10% (m/V) adoperando come solvente il DMF. Tale concentrazione è stata scelta considerando i risultati ottenuti dalla preparazione dei film a base di solo PLA.

Sono state ottenute tre diverse membrane a partire da tre differenti soluzioni polimeriche nelle quali è stato varato solo il rapporto della composizione del *blend* polimerico: la prima è stata preparata utilizzando un rapporto PLA/PCL di 95:5, per la seconda è stato utilizzato un rapporto 90:10 e per l'ultima 80:20. Per poter quantificare il grado di porosità delle membrane ottenute da tale blend, si è fatto riferimento all'equazione (3.3):

$$Porosità\% = 1 - \frac{\rho_{film}}{\rho_{polimero}} \times 100\% \quad (\text{equazione 3.3})$$

$$\rho_{polimero} = \frac{m}{V} = \frac{m_1 + m_2}{V_1 + V_2} = \frac{m_1 + m_2}{\frac{m_1}{\rho_1} + \frac{m_2}{\rho_2}} = \frac{1}{\frac{X_1}{\rho_1} + \frac{X_2}{\rho_2}}$$

Dove ρ_{film} è la densità del film che è stata determinata dalla massa e dal volume del campione invece la densità del polimero ($\rho_{polimero}$) è stata trovata sfruttando la percentuale in peso di PLA e PCL (X_1 e X_2) e le loro densità (ρ_1 e ρ_2). Utilizzando questa equazione è stato quindi possibile calcolare il grado di porosità, i cui valori sono espressi nella [Tab. 3.6].

Tabella 3.6 Grado di porosità delle tre membrane a base di PLA/PCL

CODICE DEL CAMPIONE	POROSITA' (%)
PLA_PCL_95_5	90
PLA_PCL_90_10	88
PLA_PCL_80_20	88

I dati riportati in [Tab. 3.6] denotano una leggera diminuzione della porosità all'aumentare del contenuto del policaprolattone all'interno del blend polimerico. Inoltre, la porosità offerta da queste membrane è circa pari al 90 %, un valore di poco superiore al grado di porosità offerto dalla membrana PLA_10_DMF con la stessa concentrazione polimerica, che è pari all'85% [Tab. 3.2].

3.1.6 Valutazione della viscosità delle soluzioni polimeriche per le membrane a base di PLA/PCL

Le medesime condizioni sperimentali sono state mantenute per quantificare la viscosità delle tre soluzioni polimeriche dalle quali si sono ottenuti i tre diversi film porosi (PLA_PCL_95_5; PLA_PCL_90_10 e PLA_PCL_80_20).

Al fine di ottenere i dati sulla viscosità è stato utilizzato lo stesso strumento menzionato nel paragrafo 3.1.2, un viscosimetro Brookfield, e l'andamento della viscosità al variare del contenuto in percentuale del PCL nel blend è riportato nel grafico di [Fig. 3.8].

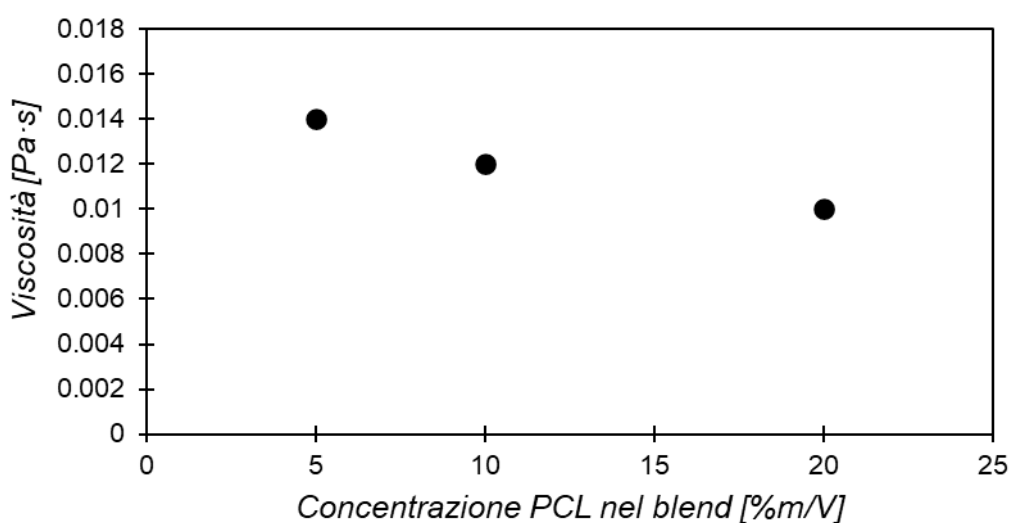


Figura 3.8 Andamento della viscosità della soluzione PLA/PCL in DMF al variar del contenuto del PCL

Esaminando i relativi valori, riassunti nella [Tab. 3.7], si può notare come la viscosità del blend aumenti, anche se non in modo significativo, all'aumentare della percentuale di PLA. Tale risultato può essere correlato al maggior peso molecolare del PLA rispetto al PCL e quindi alla maggiore viscosità della soluzione. Invero, a parità di concentrazione polimerica, soluzioni di solo PLA mostrano una viscosità di circa 0.03 Pa·s.

Tabella 3.7 Valori di viscosità offerti dalle soluzioni PLA/PCL in DMF

CODICE DEL CAMPIONE	VISCOSITA'(Pa·s)
PLA_PCL_95_5	0.014
PLA_PCL_90_10	0.012
PLA_PCL_80_20	0.010

3.1.7 Morfologia dei film porosi a base di PLA/PCL

Confrontando le foto dei film a base del blend PLA/PCL [Fig. 3.9], si nota un aumento significativo della disomogeneità strutturale all'aumentare della concentrazione di PCL nella miscela polimerica. Questo effetto può essere legato alla scarsa compatibilità tra le due matrici polimeriche.

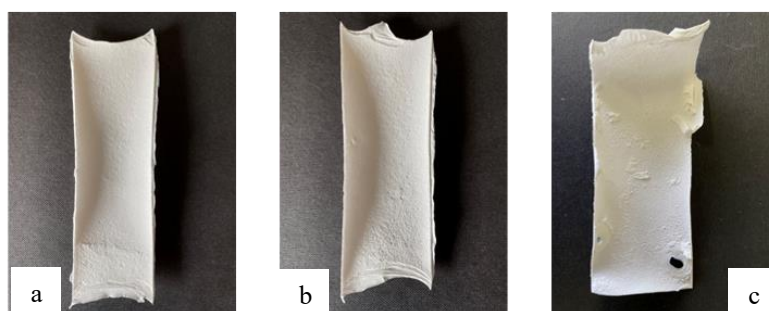


Figura 3.9 Foto di a) PLA_PCL_95_5; b) PLA_PCL_90_10; c) PLA_PCL_80_20

Le medesime caratteristiche osservate per le membrane a base di PLA in DMF possono essere riscontrate nelle immagini SEM dei campioni a base di PLA e PCL: nella [Fig. 3.10] sono state messe a confronto le analisi delle sezioni, a due differenti ingrandimenti, di tre differenti membrane dove si possono notare chiare somiglianze strutturali. In particolare, è stata valutata la sezione dei film PLA_PCL_90_10, PLA_PCL_95_5 confrontandola con quella del film PLA_10_DMF.

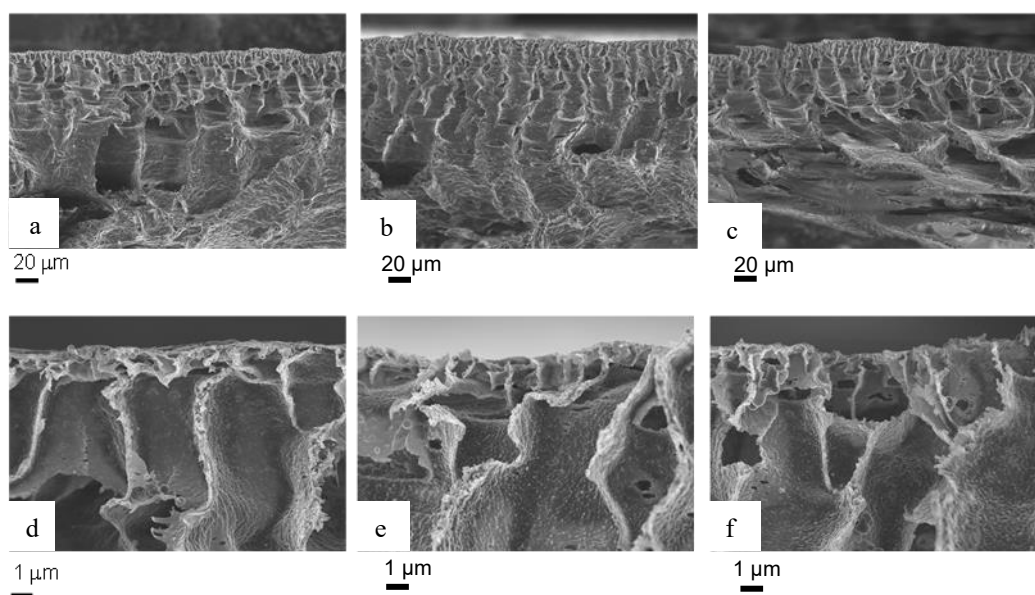


Figura 3.10 Analisi FE-SEM: a) PLA_10_DMF a minor ingrandimento; b) PLA_PCL_90_10 a minor ingrandimento; c) PLA_PCL_95_5 a minor ingrandimento; d) PLA_10_DMF a maggior ingrandimento; e) PLA_PCL_90_10 a maggior ingrandimento; f) PLA_PCL_95_5 a maggior ingrandimento e quelle a base di PLA/PCL

Confrontando i film a base di PLA/PCL con quello di PLA tal quale, si nota che la presenza del PCL influisce leggermente sulla morfologia delle sezioni. La sezione del film a base di PLA/PCL risulta essere sempre caratterizzata, in prevalenza, dalla presenza di cavità *finger-like* anche se si osserva che il PCL contribuisce allo sviluppo di una struttura “spugnosa” caratterizzata da pori di dimensione inferiore [Fig. 3.10 d,e,f].

3.2 Studio della funzionalizzazione superficiale

I film porosi a base di PLA presentano due principali criticità: l'elevata fragilità e la mancanza di gruppi funzionali. Al fine di ovviare alla prima è stato aggiunto il PCL [46], mentre per poter risolvere la seconda è stata effettuata una amminolisi in modo da inserire dei gruppi amminici sulla superficie della membrana. La presenza di gruppi funzionali amminici e ammidici favorisce l'interazione selettiva con specie chimiche cariche negativamente: così facendo è stato possibile creare una membrana biodegradabile che possa funzionare come prototipo di un campionatore passivo selettivo.

Il processo di amminolisi è stato applicato solo sui campioni ottenuti a partire dalla soluzione di PLA in DMF e sui campioni ottenuti a partire dal blend polimerico PLA/PCL in DMF. Si è deciso di escludere le membrane ottenute a partire da una soluzione di PLA in cyrene in quanto esse sono risultate fragili e disomogenee. Come descritto nei paragrafi precedenti, l'amminolisi è una reazione di sostituzione nucleofila nella quale il reattivo caratterizzato da gruppi amminici funge da nucleofilo, e il gruppo estereo del PLA funge da gruppo uscente.

L'accesso dell'ammina nei confronti dell'atomo di carbonio che subisce la sostituzione è facilitato quanto più il nucleofilo è stericamente poco impedito ed è caratterizzato da una buona basicità. Pertanto, in questo studio, per effettuare l'amminolisi è stata scelta l'etilendiammina, come nucleofilo, e l'isopropanolo, come solvente. La scelta di questo specifico nucleofilo è dettata dalla sua conformazione (è un composto lineare) e dalla sua basicità (con un pKa di 10.06).

Anche il solvente ha un significativo impatto sull'andamento della reazione. Come viene suggerito da Zhu e collaboratori [65], la scelta del solvente nel quale è condotta una sostituzione nucleofila ha un marcato effetto sulla reazione. In particolare, quanto è più solvatato il nucleofilo, quanto più si favorisce il contatto tra la molecola amminica e i carboni carbonilici dei legami esterei. Pertanto, la scelta è ricaduta sull'isopropanolo, un solvente polare protico noto per la sua capacità di solvatare le molecole diamminiche.

L'andamento cinetico dell'amminolisi è influenzato da diversi parametri: la durata della reazione, la concentrazione del nucleofilo, la temperatura del processo e il rapporto film-reagente. Nel seguente lavoro, è stata analizzata come la durata del processo possa influenzare l'andamento della reazione, tenendo costante tutti gli altri parametri. In particolare, è stata analizzata l'influenza del tempo di contatto con la soluzione di diammina sulla struttura delle membrane ottenute da una soluzione di PLA al 10% (m/V) in DMF [Fig. 3.11].

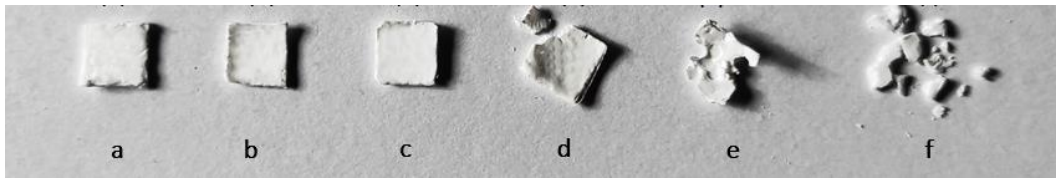


Figura 3.11 Foto di: a) PLA_10_DMF tal quale; e PLA_10_DMF sottoposto a un processo di amminolisi per b) 15 minuti; c) 30 minuti; d) 60 minuti; e) 120 minuti e f) 180 minuti

Più precisamente l'immagine raffigura sei differenti porzioni di membrana PLA_10_DMF, di cui una tal quale [Fig. 3.11 a] e le restanti funzionalizzate a differenti tempi di reazione pari a 15, 30, 60, 120 e 180 minuti [Fig. 3.11 b,c,d,e,f]. Le foto mostrate in figura dimostrano come già applicando tempi di reazione di 60 minuti [Fig. 3.11 d], la membrana si infragilisce in modo rivelante. È importante sottolineare che il processo di amminolisi comporta la rottura delle catene macromolecolari che si trovano sulla superficie del film polimerico. Questo fenomeno causa un'erosione, in quanto macromolecole a basso peso molecolare possono passare in soluzione.

3.2.1 Spettroscopia FT-IR

I medesimi campioni raffigurati nella [Fig. 3.11], sono stati sottoposti a spettroscopia FT-IR al fine di evidenziare l'avvenuta funzionalizzazione superficiale. Più in dettaglio la [Fig. 3.12] confronta lo spettro infrarosso del film di PLA tal quale con le misure dello stesso film amminolizzato per diversi tempi di reazione pari a 15, 30, 60, 120 e 180 minuti.

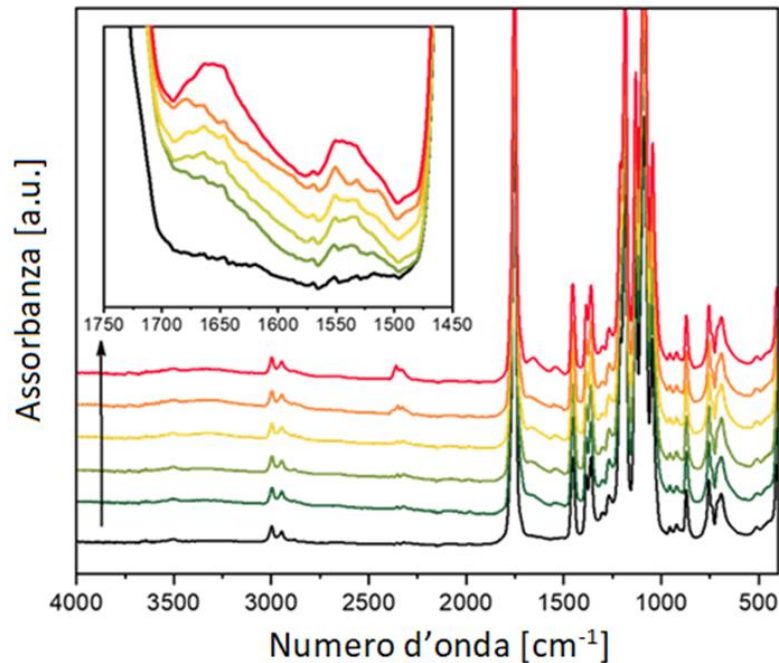


Figura 3.12 Lo spettro in nero viene prodotto dal film PLA tal quale (—); quello in verde scuro dal film di PLA funzionalizzato per 15 minuti (—), quello in verde chiaro dal film di PLA funzionalizzato per 30 minuti (—), quello in giallo per 60 minuti (—), quello in arancione per 120 minuti (—) e infine quello in rosso per 180 minuti (—)

Nel campione tal quale si osservano segnali intensi a 1760 cm^{-1} , che possono essere associati allo stretching del gruppo carbonilico, e i segnali a 2900 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} corrispondenti rispettivamente allo stretching del legame sigma C-H e quello C-C. Nei campioni amminolizzati, oltre ai segnali citati sono presenti bande a circa 1660 cm^{-1} e 1530 cm^{-1} , che sono dovute allo stretching del legame C=O e al bending del legame sigma N-H, entrambi appartenenti al gruppo ammidico e la cui intensità aumenta all'aumentare del tempo di reazione.

Pertanto, in questo lavoro di tesi, considerando sia i risultati relativi alla caratterizzazione morfologica che quelli IR, è stato deciso di far durare il processo di funzionalizzazione per trenta minuti, in quanto tale tempistica consente lo sviluppo di film con migliori caratteristiche di tenacità-rigidità e allo stesso tempo si raggiunge un grado di funzionalizzazione sufficiente.

3.2.2 Analisi FE-SEM

Per evidenziare, quindi, l'effetto del trattamento sulla morfologia dei film, sono state effettuate misure FE-SEM. In particolare, in [Fig. 3.13] sono state messe a confronto delle micrografie che ritraggono l'aspetto superficiale e la sezione di una membrana

PLA_10_DMF tal quale e di una PLA_10_DMF sottoposta ad amminolisi per il tempo di 30 minuti.

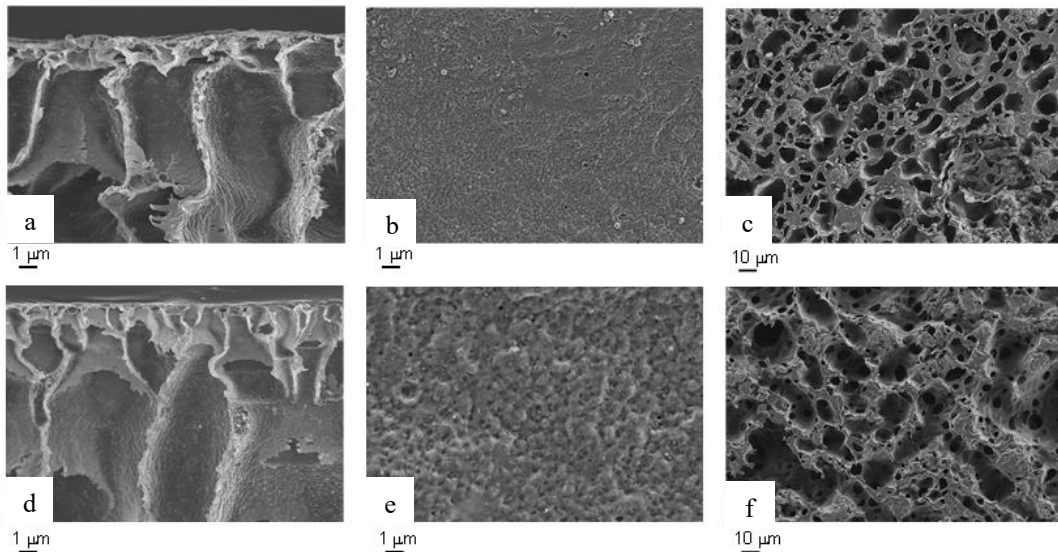


Figura 3.13 Analisi FE-SEM: a) della sezione di una membrana PLA_10_DMF tal quale; b) e c) della superficie di una membrana PLA_10_DMF tal quale; d) della sezione di una membrana PLA_10_DMF amminolizzata per 30 minuti; e) e f) della superficie di una membrana PLA_10_DMF amminolizzata per 30 minuti

Nelle figure *a,b,c* dell'immagini superiore sono raffigurate tre micrografie della membrana tal quale (nella figura *a* viene raffigurata la sezione del campione invece nelle figure *b* e *c* la superficie a due differenti ingrandimenti) e nelle figure *d,e,f* vengono rappresentate tre micrografie della membrana amminolizzata nelle stesse condizioni di analisi. Confrontando la sezione dei due differenti campioni si può concludere che la morfologia finger-like non viene perturbata dal trattamento chimico [Fig. 3.13 a], [Fig. 3.13 d], a conferma che il fenomeno si verifica prevalentemente sulla superficie, senza modificare il bulk della membrana. Invece, dalle micrografie che mostrano la superficie del film, si nota come l'amminolisi conferisce una maggiore rugosità, dovuto al fenomeno di erosione tipico di tale funzionalizzazione, e una maggiore porosità. In realtà, come suggerito da Zhu e collaboratori [65], l'erosione superficiale indotto da tale processo chimico è un fenomeno tipico del PLA e il PET ma non del PCL, la cui morfologia superficiale non viene alterata in modo significativo.

3.2.3 Analisi Termogravimetrica (TGA)

Al fine di indagare se l'amminolisi potesse influenzare la stabilità termica dei campioni, quest'ultimi sono stati sottoposti all'analisi termogravimetrica (TGA). Nello specifico, in

[Fig. 3.14], sono riportati i termogrammi del film PLA_10 tal quale e amminolizzato con un tempo di 30 minuti. Sull'asse delle ascisse è riportata la temperatura in °C e sull'asse delle ordinate la variazione di massa in percentuale (%). Generalmente per quantificare la degradazione, si fa riferimento alla temperatura di massima di velocità di degradazione (T_{vmax}) che corrisponde al punto di flesso del termogramma.

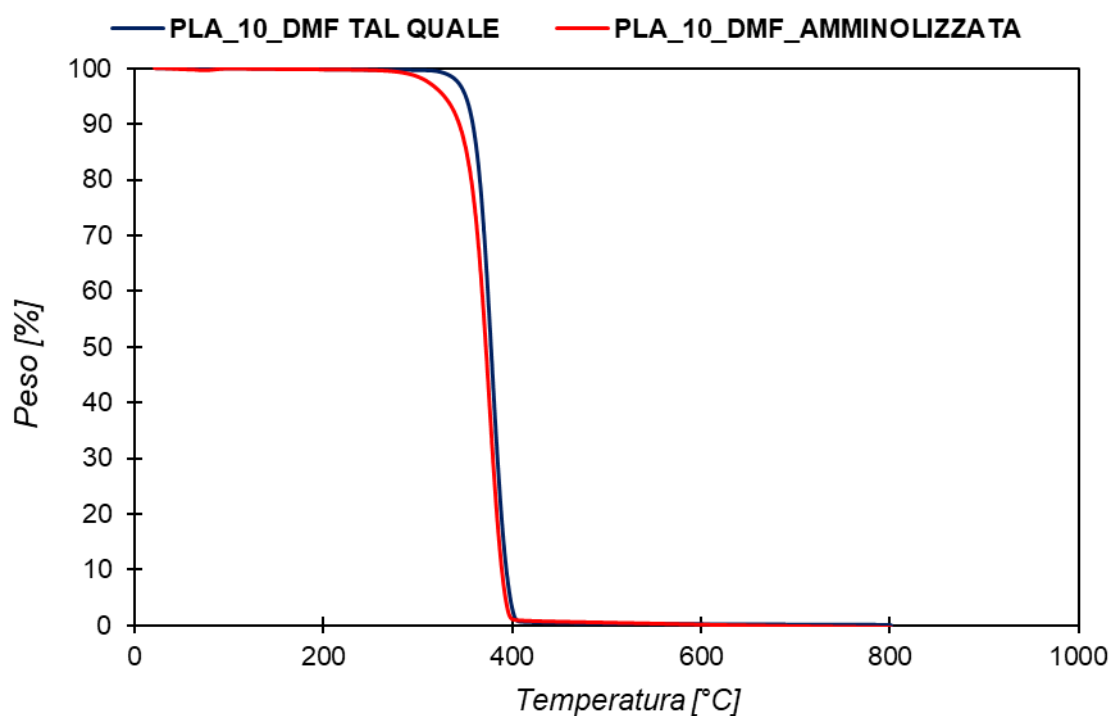


Figura 3.14 Termogrammi di PLA_10_DMF tal quale rappresentata in blu e PLA_10_DMF amminolizzata per il tempo di 30 minuti in rosso

Dalla [Fig. 3.14] è possibile osservare come la temperatura di massima velocità di degradazione (T_{vmax}) del polimero messo a contatto con la diammina per 30 minuti (330 °C) sia simile rispetto a quella del polimero tal quale (335 °C). Questo risultato indica che l'amminolisi ha uno scarso effetto sulle proprietà termiche del film oltre ad essere un fenomeno prettamente superficiale per il PLA.

3.2.4 Prove di adsorbimento con la fluoresceina sodica

Al fine di studiare le interazioni specifiche tra le funzionalità create sulla superficie dei film porosi a seguito della reazione di amminolisi e specie cariche negativamente, sono state effettuate delle prove di accumulo utilizzando fluoresceina sodica, una sostanza colorata e carica negativamente [Fig. 3.15].

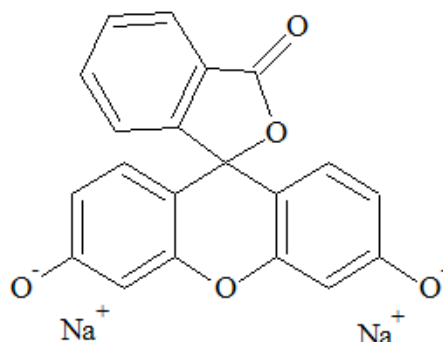


Figura 3.15 Struttura chimica della fluoresceina sodica

A partire da una membrana PLA_PCL_95_5_DMF tal quale e da una membrana PLA_PCL-95_5_DMF sottoposta al processo di amminolisi per il tempo di trenta minuti, sono state ricavate tre porzioni del medesimo diametro di 6 mm. Quest'ultimi sono stati immersi in una soluzione di fluoresceina sodica ad una concentrazione di 5 μM per 24 ore. Al termine del tempo di accumulo, la concentrazione del colorante adsorbito dai due film porosi è stata quantificata tramite la spettroscopia UV-VIS [Fig. 3.16].

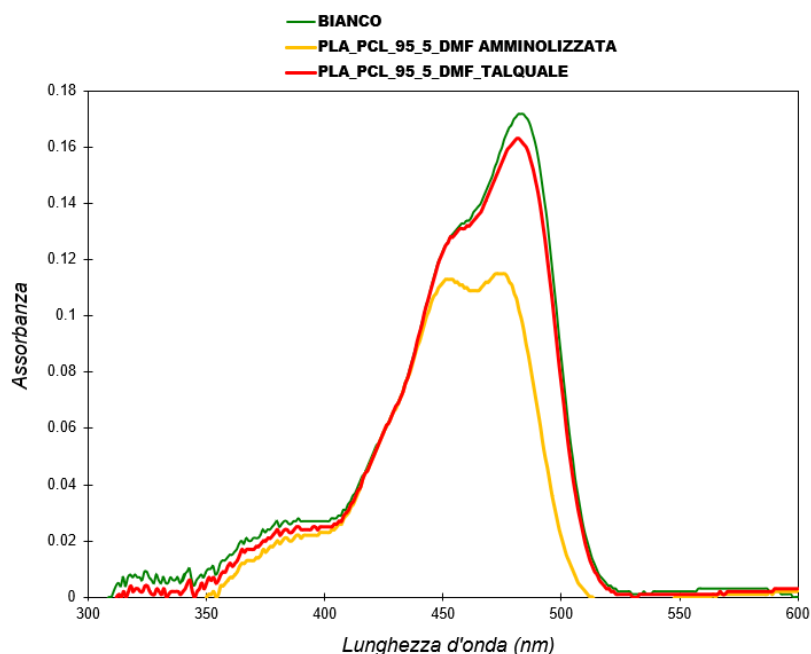


Figura 3.16 Confronto spettri UV-VIS delle soluzioni a base di fluoresceina su cui sono state immerse tre porzioni di membrana PLA_PCL_95_5_DMF tal quale (—) o amminolizzata (—); in verde (—) è raffigurato lo spettro UV-VIS del bianco

In [Fig. 3.16] sono riportate le curve relative all'analisi UV-VIS delle due soluzioni a base di fluoresceina nelle quali sono stati immersi i tre campioni ottenuti da due membrane diverse. Gli spettri UV sono in buon accordo con quelli riportati in precedenti lavori [66],

con un massimo di assorbanza ben evidenziato ad una lunghezza d'onda di 483 nm. Confrontando lo spettro in arancione con quello in rosso, si può notare che la membrana amminolizzata ha maggiormente adsorbito la fluoresceina. Questo risultato può essere correlato alle interazioni di natura elettrostatica tra i gruppi amminici introdotti sulla superficie del film poroso e i gruppi carichi negativamente della fluoresceina. Il diverso accumulo di fluoresceina nei due campioni è stato evidenziato anche visivamente, confrontando la colorazione assunta dal campione amminolizzato rispetto a quello del film tal quale [Fig. 3.17].

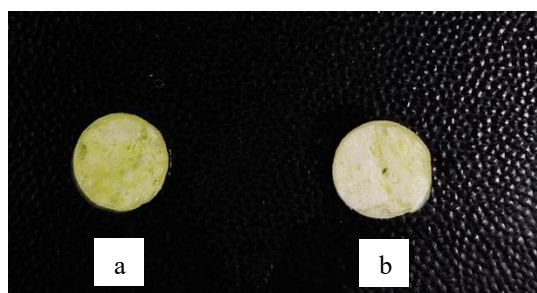


Figura 3.17 Foto di: a) membrana PLA_PCL_95_5_DMF amminolizzata; b) membrana PLA_PCL_95_5_DMF tal quale

Attraverso la retta di calibrazione e facendo riferimento alla misura del bianco, si è potuto risalire alla quantità di colorante adsorbita dai due diversi campioni [Tab. 3.8].

Tabella 3.8 Valori di massimo di assorbanza del bianco, delle soluzioni in cui sono state immerse tre porzioni della membrana PLA_PCL_95_5_DMF tal quale e quella della membrana PLA_PCL_95_5_DMF sottoposta al processo di amminolisi per il tempo di 30 minuti e concentrazione di fluoresceina adsorbita da parte di ciascun campione

CAMPIONE	ASSORBANZA	CONCENTRAZIONE DI COLORANTE ADSORBITO (ppm)
BIANCO	0.17	-
PLA_PCL_95_5_DMF TAL QUALE	0.16	46.63
PLA_PCL_95_5_DMF AMMINOLIZZATA	0.11	225.76

Da questi risultati si può concludere che la funzionalizzazione superficiale contribuisce ad aumentare la capacità del film poroso di trattenere la fluoresceina.

3.3 Applicazione delle membrane come campionatori passivi

Una volta che i film polimerici sono stati sintetizzati e caratterizzati, il focus di questo lavoro di tesi si è spostato sulla loro possibile applicazione nel campo dei campionatori passivi.

Come descritto precedentemente nel paragrafo 1.1.3, questo tipo di strumenti può essere diviso in due macrocategorie: i campionatori “single-phase” e quelli “dual-phase” [23]. Le membrane in PLA e PLA-PCL utilizzate rientrano nella categoria dei campionatori passivi “single-phase” essendo utilizzate senza la presenza di membrane protettive.

Al fine di poter determinare l’effettiva applicabilità dei film polimerici come strumento per il campionamento sono stati valutati i seguenti parametri: effetto matrice, recupero e capacità di accumulo degli analiti.

3.3.1 Studio dell’effetto matrice

Per la determinazione dell’effetto matrice sono stati preparati tre campioni provenienti da due film porosi differenti:

- Membrana funzionalizzata tramite amminolisi per un tempo di 30 minuti e preparata a partire da una soluzione polimerica di PLA in DMF al 10 % in massa su volume.
- Membrana funzionalizzata tramite amminolisi per un tempo di 30 minuti e preparata a partire da una soluzione polimerica di PLA/PCL in un rapporto composizionale di 95:5 in DMF al 10 % in massa su volume.

Una volta ottenuti i film polimerici, è stato preparato un campione da ogni film seguendo la procedura descritta nel paragrafo 2.5 ed utilizzando metanolo come solvente di lavaggio. Il terzo campione invece è stato preparato a partire dalla seconda membrana e seguendo sempre la stessa procedura sostituendo però il solvente di lavaggio iniziale con isopropanolo. e sono state effettuate due repliche delle analisi all’HPLC-MS-QQQ

Nella [Fig. 3.18] sono riportati gli effetti matrice percentuali calcolati tramite l’equazione (2.4) descritta nel paragrafo 2.5. L’assenza delle barre di errore è dovuta al fatto che, per effettuare questa determinazione, è stato preparato un solo film polimerico per tipologia di campione.

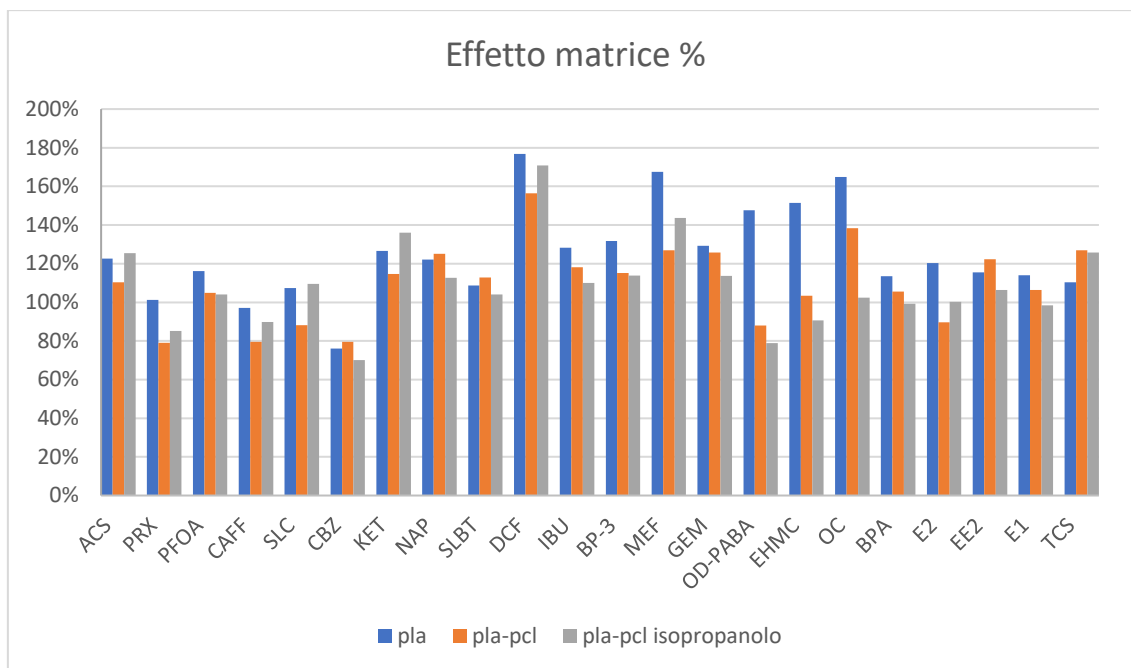


Figura 3.18 confronto dell'effetto matrice percentuale dato dai campioni di PLA lavato in metanolo (■), PLA/PCL lavato in metanolo (■) e PLA/PCL lavato in isopropanolo (■).

Dalla [Fig. 3.18] si può notare che i tre campioni differenti presentano tutti dei valori molto simili. Inoltre, l'effetto matrice percentuale ricade al di fuori del range di 80%-120% solo in pochi casi. Ciò indica che le membrane sotto indagine non interferiscono significativamente nella determinazione analitica.

Inoltre, data la somiglianza dei risultati rispetto ai diversi campioni esaminati, è possibile selezionare il tipo di film polimerico che presenta le migliori caratteristiche meccaniche, più precisamente la membrana preparata a partire dalla soluzione polimerica composta da PLA/PCL a 95/5.

Infine, considerando i due campioni preparati a partire dal blend polimerico di PLA e PCL, è stato selezionato il lavaggio in isopropanolo. Questa scelta è stata dettata dal fatto che il metanolo, a differenza dell'isopropanolo, è in grado di dare metanolisi alterando di conseguenza le proprietà meccaniche della membrana.

Nonostante i buoni risultati evidenziati dalla caratterizzazione della funzionalizzazione superficiale nel paragrafo 3.2 e dai dati ottenuti indagando l'effetto matrice, la fragilità dei film porosi amminolizzati a base di PLA non li rende idonei all' utilizzo come campionatore passivo [Fig. 3.19].



Figura 3.19 Notevole fragilità di una membrana PLA_10_DMF amminolizzata per il tempo di 30 minuti

La notevole fragilità mostrata dai film a base di PLA in seguito all'amminolisi ha quindi portato all'esclusione di questo tipo di membrane dalle successive determinazioni analitiche, portando quindi unicamente allo studio dei film preparati a partire dal blend polimerico PLA/PCL 95:5.

3.3.2 Studio dei recuperi percentuali

Per quanto riguarda lo studio dei recuperi percentuali, sono stati preparati due campioni provenienti da una membrana funzionalizzata tramite amminolisi per un tempo di 30 minuti e preparata a partire da una soluzione polimerica di PLA/PCL in un rapporto composizionale di 95:5 in DMF al 10 % in massa su volume.

Questi due campioni sono stati sottoposti alla procedura riguardante i recuperi percentuali descritta nel paragrafo 2.5 ed i dati risultanti sono riportati nella [Fig. 3.20].

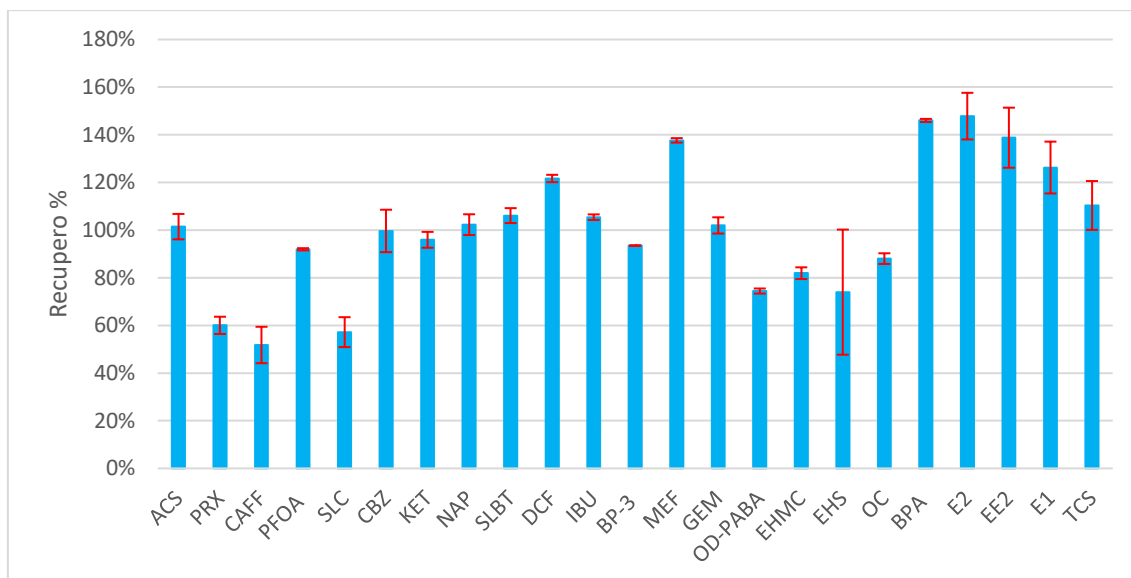


Figura 3.20 recuperi percentuali dei vari analiti

Esaminando questo grafico è possibile notare che alcuni composti, come PRX e BPA, presentano un recupero che ricade al di fuori del range 80%-120%. Nonostante ciò, circa la metà parte degli analiti non si discosta in maniera altrettanto marcata dal 100% mentre quelli che si ritrovano sopra al 120% o sotto all'80% non si allontanano particolarmente da questi limiti.

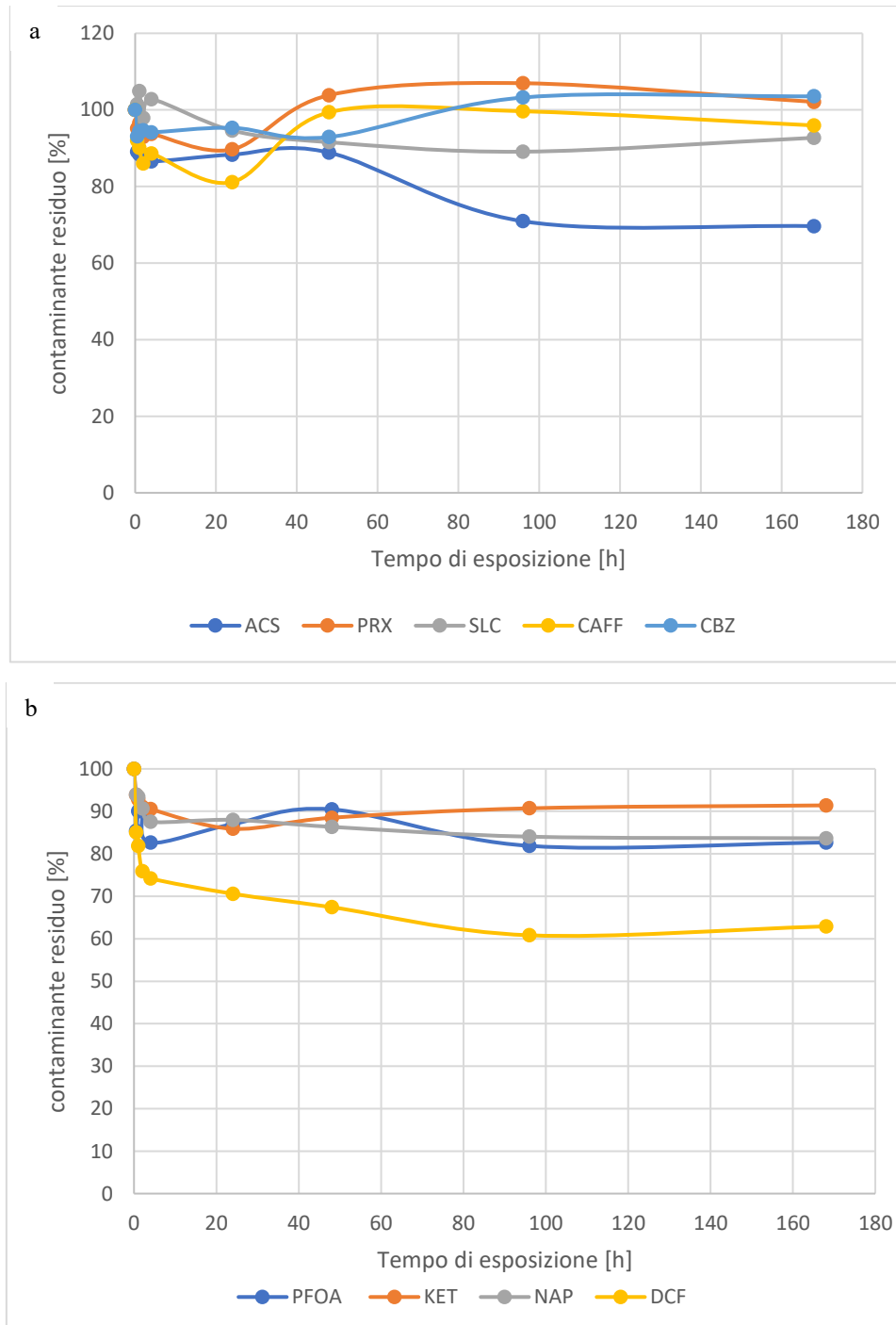
Considerando questi dati, uniti all'elevato numero di composti indagati, la procedura di estrazione presa in esame è stata determinata sufficientemente efficace per gli scopi legati a questo lavoro di tesi.

3.3.3 Studio dell'accumulo in acqua milli-Q

Al fine di stabilire l'efficacia dei film polimerici in PLA/PCL utilizzati come campionatori passivi, è stata indagata la loro capacità di accumulo all'interno dell'ambiente acquoso.

Per poter effettuare questa determinazione sono state preparate due membrane a partire da una soluzione polimerica di PLA/PCL in rapporto compositivo di 95:5. Uno di questi film polimerici è stato funzionalizzato tramite l'amminolisi superficiale mentre l'altro è stato mantenuto tal quale. Infine, entrambe le membrane sono state sottoposte alla procedura per la determinazione dell'accumulo in acqua milli-Q descritta nel paragrafo 2.6.

I risultati relativi ai campioni di acqua provenienti dalla soluzione nella quale sono stati immersi i film amminolizzati e prelevati durante il tempo di esposizione sono stati raggruppati nella [Fig. 3.21].



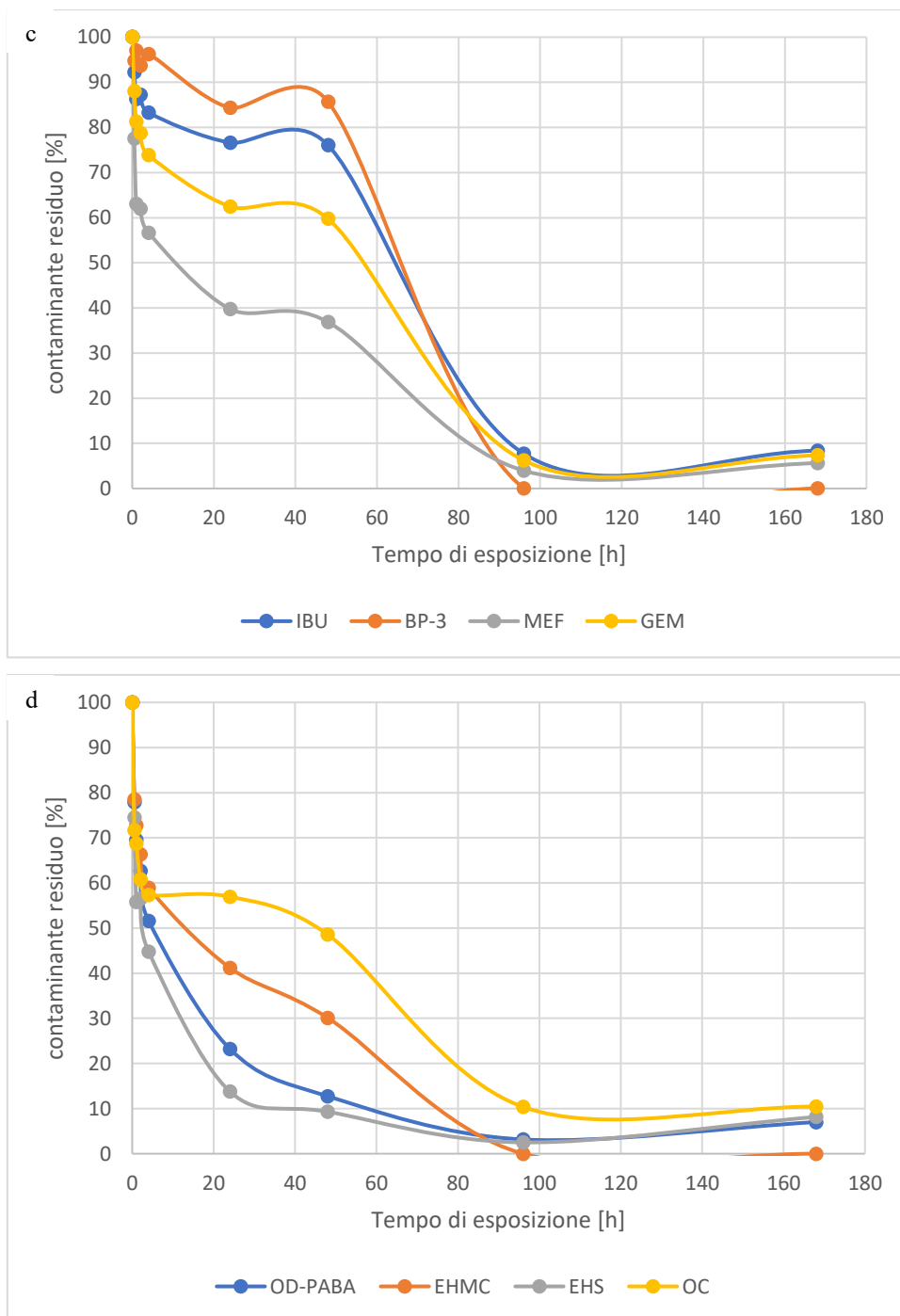


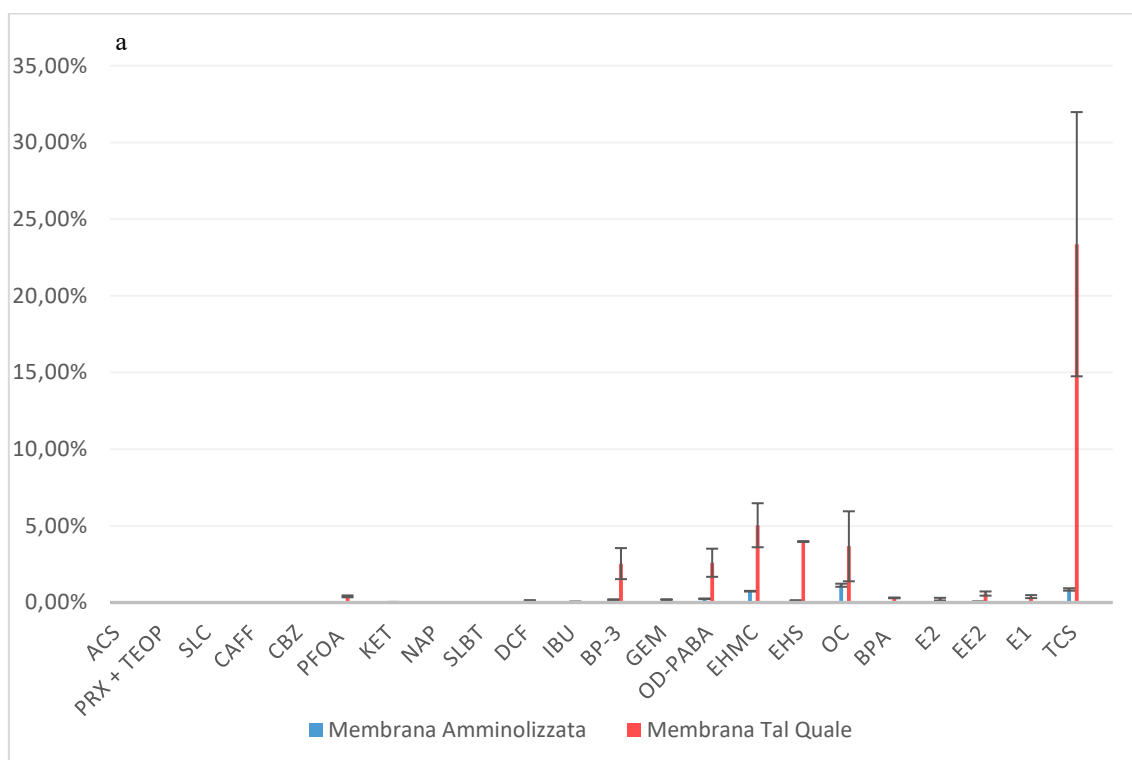
Figura 3.21 variazione nel tempo della percentuale degli analiti rimasti in soluzione

Esaminando la [Fig. 3.21 a] e la [Fig. 3.21 b] è possibile notare che la concentrazione in acqua di questi analiti non varia durante il tempo di esposizione. Questi composti rappresentano i contaminanti più polari tra quelli indagati in questo studio ed il loro comportamento indica che la membrana amminolizzata non è stata in grado di accumularli significativamente.

Al contrario osservando la [Fig. 3.21 c] e la [Fig. 3.21 d], che contengono i dati relativi al gruppo di composti più apolari ($\text{Log } K_{ow} > 3$), si nota che la concentrazione di questi

ultimi è diminuita nel tempo. Ciò può essere il risultato dell'effettivo accumulo degli analiti sul film polimerico ma può anche essere legato alla degradazione dei composti stessi, in particolare per quanto riguarda i filtri UV come OD-PABA o EHMC [67] [68]. Questi dati sono stati impiegati per valutare le tempistiche di accumulo e il possibile raggiungimento di una condizione di equilibrio. Osservando i risultati ottenuti è stato stabilito che un tempo di 4 giorni è sufficiente per la valutazione della capacità di accumulo delle membrane utilizzate.

Al fine di stabilire l'effettiva capacità di accumulo dei film polimerici, sono stati utilizzati i risultati ottenuti dalle analisi effettuate sui campioni derivanti dalle estrazioni delle membrane riassunti nella [Fig. 3.22].



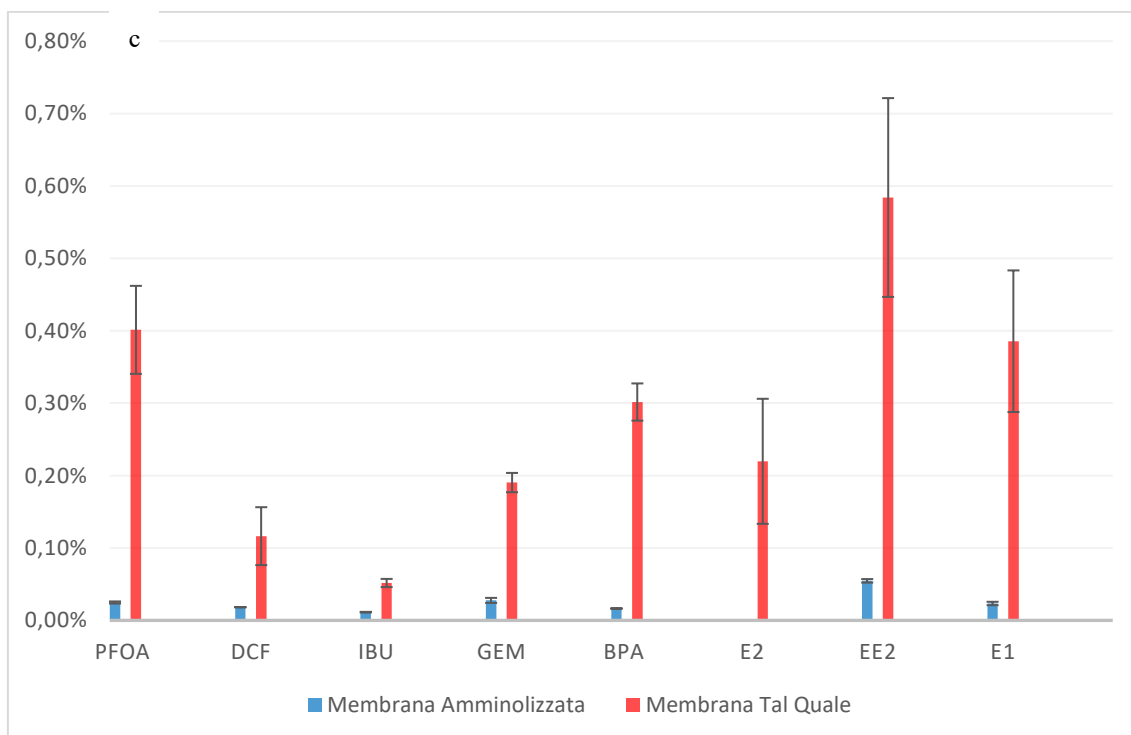
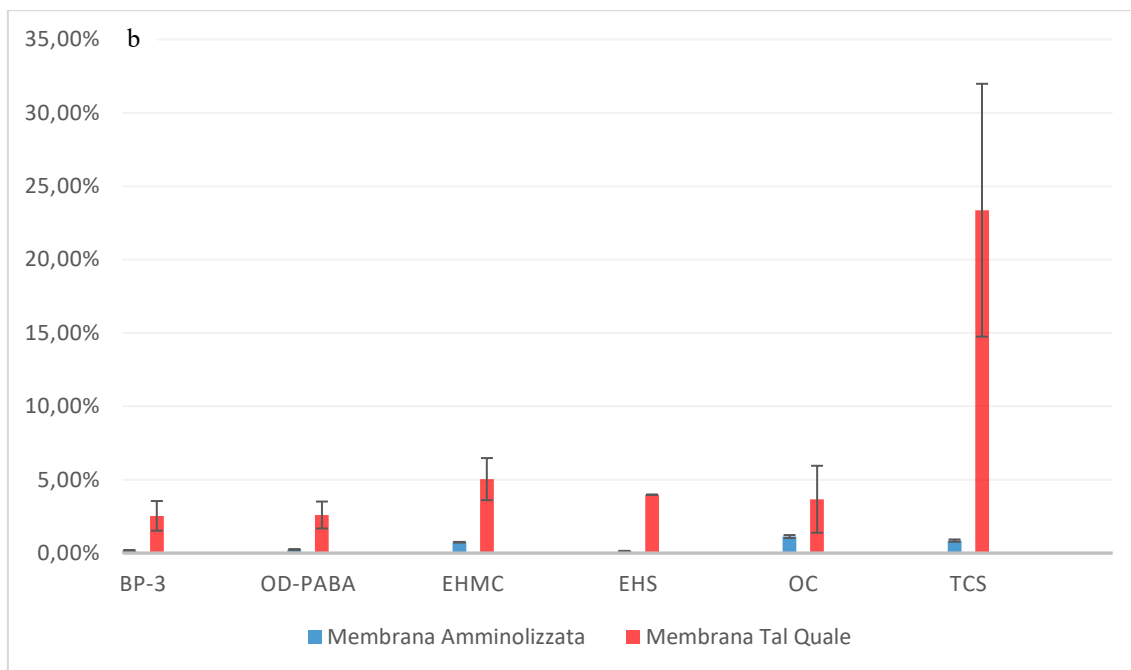


Figura 3.22 a) percentuale del contaminante disciolto in acqua accumulato sulla membrana, b) ingrandimento dei composti accumulati in quantità maggiore, c) ingrandimento dei composti accumulati in quantità minore

Osservando in particolare la figura b, è possibile affermare che la membrana tal quale riesce ad accumulare gli analiti in quantità maggiore rispetto alla membrana amminolizzata. Analizzando invece la figura a, vengono confermati i risultati ottenuti tramite l'analisi delle acque illustrate nella [Fig. 3.21]. Più precisamente, si può affermare

che i film polimerici sono in grado di accumulare in maniera significativa unicamente i composti più apolari.

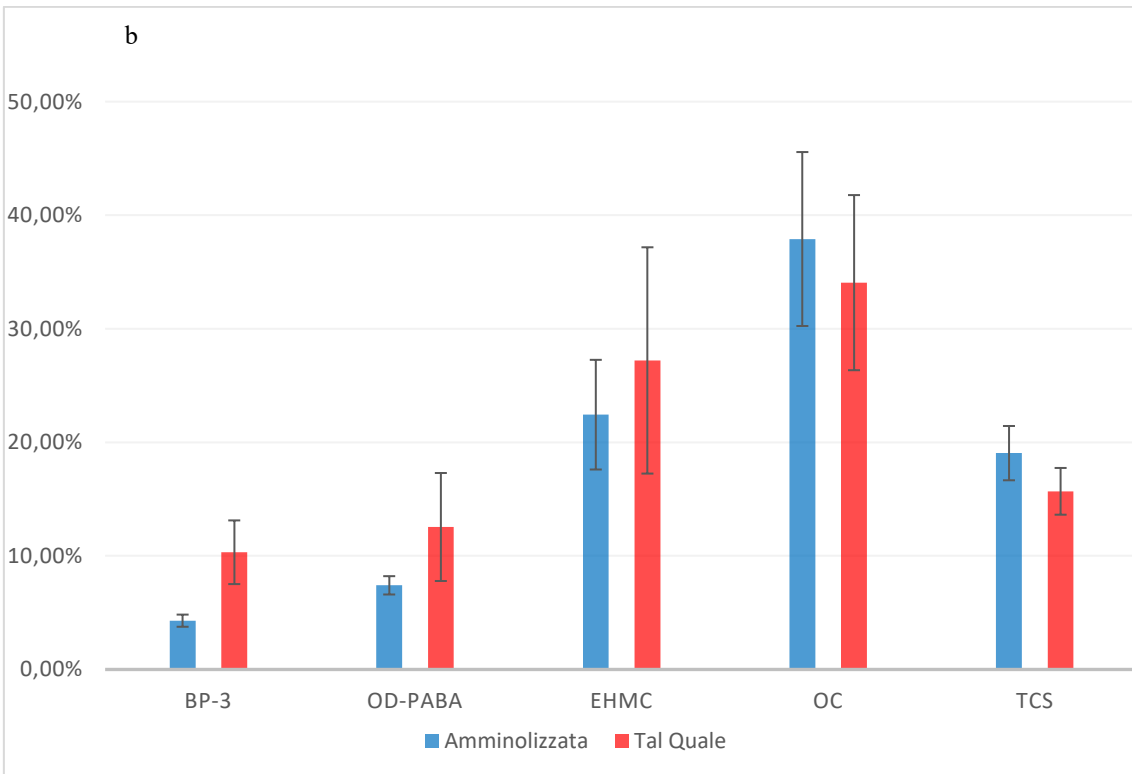
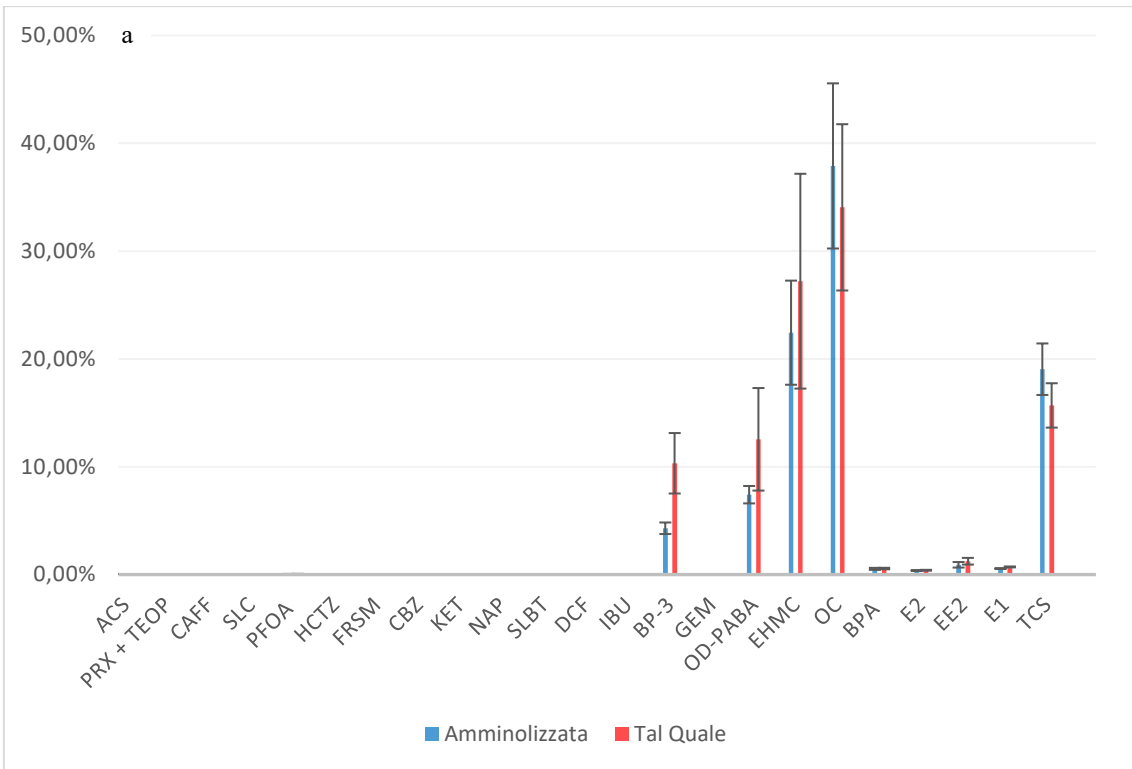
3.3.4 Studio dell'accumulo a pH 7.5

Data la presenza di acidi deboli tra gli analiti di interesse e considerando che il pH dell'acqua di mare si aggira intorno a 8, è stata effettuata una seconda prova di accumulo aumentando il pH della soluzione nella quale sono state immerse le membrane al fine di verificare l'influenza del pH sull'accumulo. Come affermato nel paragrafo 2.6, l'umidità presente all'interno dell'idrossido di sodio ha impedito il raggiungimento del pH 8 e, di conseguenza tutte le prove effettuate tramite questo tampone sono state fatte a pH 7.5.

Per poter effettuare questa determinazione sono stati preparati due campioni come descritto nel paragrafo 3.3.3 che sono stati sottoposti alla procedura per la determinazione dell'accumulo in acqua milli-Q a pH 7.5 descritta nel paragrafo 2.6.

Come descritto nel paragrafo precedente, sono stati prelevati dei campioni di acqua durante l'esposizione; data però la presenza di sali nella soluzione dovuti all'inserimento del sistema tampone, è stato impossibile costruire dei grafici in grado di correlare gli inquinanti residui ed il tempo di esposizione, in quanto gli ioni presenti in soluzione interferiscono con l'analisi HPLC-MS-QQQ modificando sia i tempi di ritenzione sia i segnali degli analiti.

I dati relativi all'accumulo dei contaminanti sulle membrane sono stati riassunti nella **[Fig. 3.23]**.



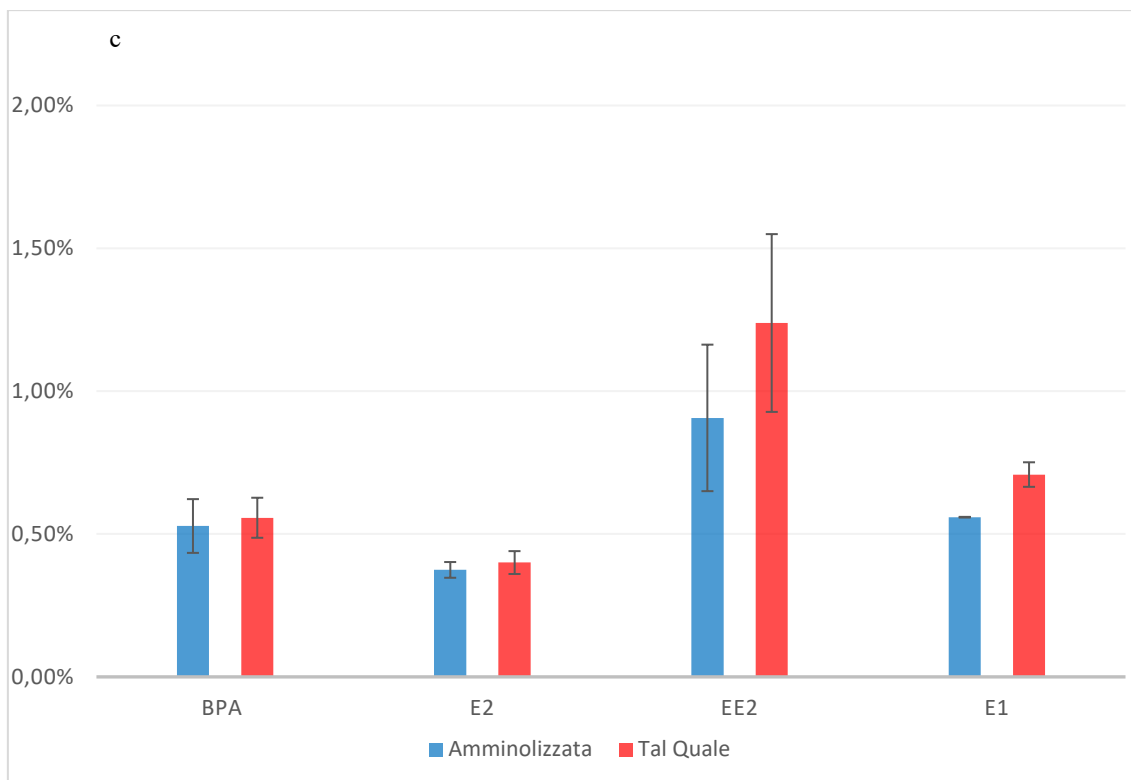


Figura 3.23 a) percentuale del contaminante disciolto in acqua accumulato sulla membrana, b) ingrandimento dei composti accumulati in quantità maggiore, c) ingrandimento dei composti accumulati in quantità minore

Come nella situazione descritta nel paragrafo 3.3.3, anche in questo caso è possibile notare che i film polimerici sono in grado di accumulare principalmente gli analiti più apolari. Infatti, dalla figura b, si può notare che sono presenti gli stessi composti mostrati nella [Fig. 3.22 b]; inoltre, osservando la [Fig. 3.22 a], è possibile notare che, come nei dati relativi alle prove a pH 5, il campionatore non sembra in grado di accumulare i composti più polari e che presentano un carattere acido. Ciò accade nonostante il fatto che, aumentando il pH, l'equilibrio di questi composti risulta più spostato verso la forma deprotonata consentendo di interagire con i gruppi amminici presenti sul film polimerico. Contrariamente però a quanto affermato in precedenza, i campioni provenienti dalle due membrane differenti hanno presentato un comportamento simile. In aggiunta a ciò, non sono presenti i dati relativi alla percentuale dell'EHS in quanto la sua determinazione risulta complessa data la presenza di un interferente che si sovrappone al suo segnale, unita all'assenza di una transizione che possa funzionare da qualifier.

Infine, in questa analisi, si può notare che esiste un'altra serie di analiti che sono stati accumulati, anche se in quantità inferiore, all'interno dei film polimerici che appartengono tutti alla classe degli interferenti endocrini.

3.3.5 Studio dell'accumulo in acqua di mare surrogata

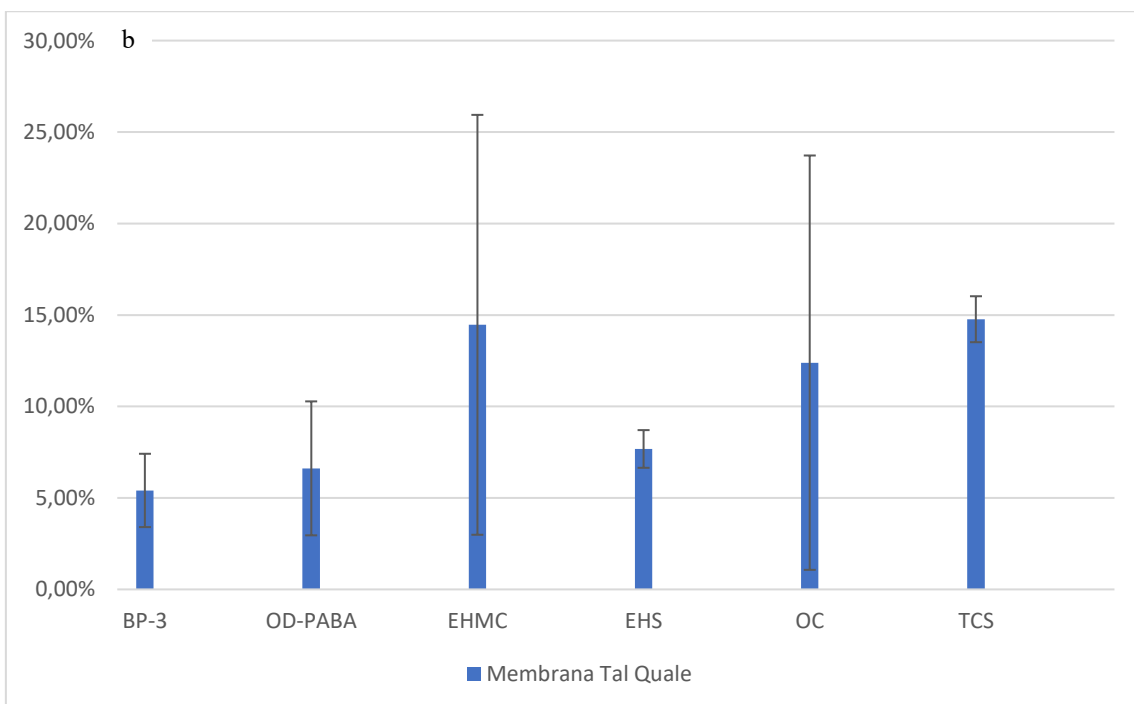
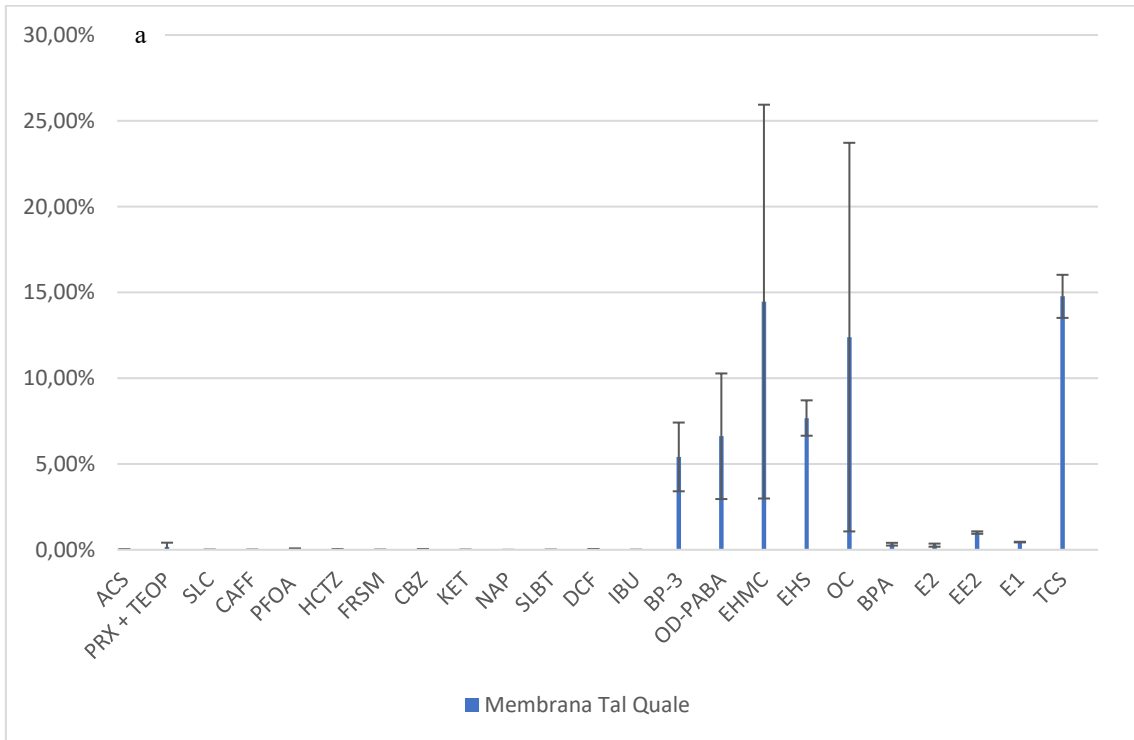
Come ultimo studio, al fine di imitare il più possibile le condizioni reali di utilizzo del campionatore, sono state effettuate delle prove di accumulo in acqua di mare surrogata preparata come descritto nel paragrafo 2.6.

I campioni, sottoposti alla procedura per la determinazione dell'accumulo in acqua di mare surrogata descritta nel paragrafo 2.6, sono stati preparati nello stesso modo descritto nei paragrafi 3.3.3 e 3.3.4 con un'unica differenza: la preparazione del campione, e la successiva analisi, è stata effettuata unicamente sui campioni provenienti dalle membrane che non hanno subito la funzionalizzazione superficiale tramite amminolisi. Questo è dovuto al fatto che tutti i film amminolizzati che sono stati esposti all'accumulo si sono rotti come mostrato dalla [Fig. 3.24].



Figura 3.24 stato delle membrane amminolizzate al termine del tempo di accumulo

Data la grande presenza di sali all'interno delle soluzioni di esposizione, le problematiche relative al prelievo delle acque descritte nel paragrafo precedente sono presenti anche in questa analisi ed il loro impatto è ancora maggiore. Per questo motivo non si sono effettuati i prelievi delle acque e si è passati direttamente alla determinazione dei contaminanti accumulati sulle membrane i cui risultati sono stati esposti nella [Fig. 3.25].



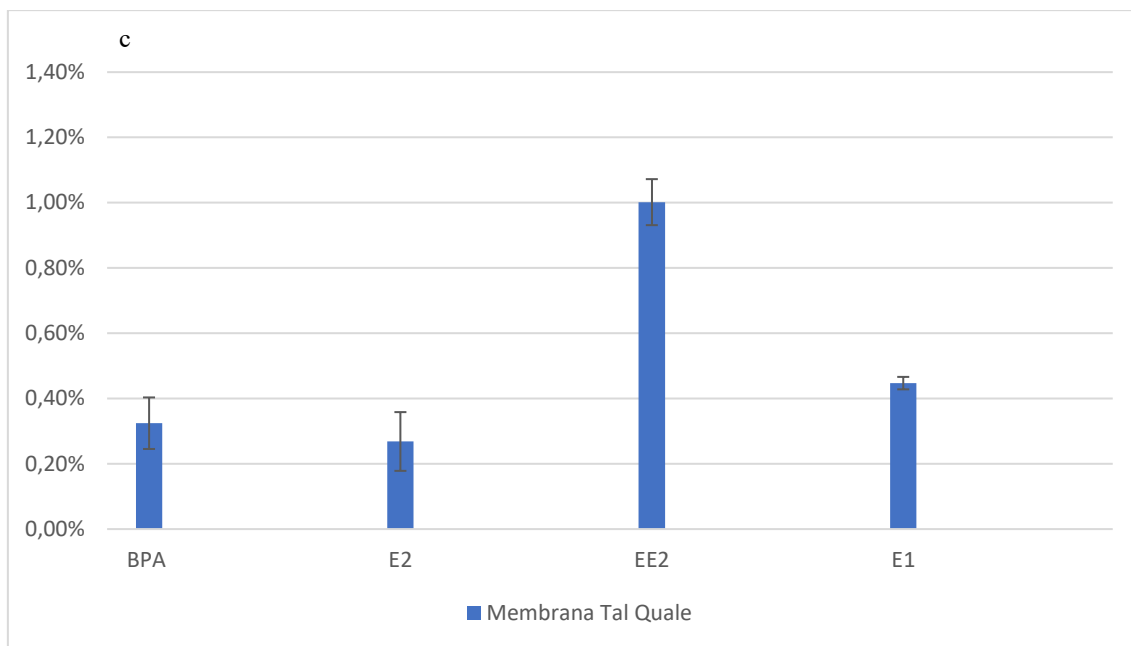


Figura 3.25 a) percentuale del contaminante disciolto in acqua accumulato sulla membrana, b) ingrandimento dei composti accumulati in quantità maggiore, c) ingrandimento dei composti accumulati in quantità minore

Come nei casi descritti nei due paragrafi precedenti, è possibile notare il maggior accumulo dei composti più apolari sulla membrana. Sono sempre presenti i due gruppi distinti di analiti: quelli accumulati in quantità maggiore evidenziati dalla figura b, e quelli accumulati in quantità minore riportati nella figura c. L'elevata incertezza dei dati riguardanti alcuni composti, può essere spiegata dall'impatto che i sali presenti in soluzione hanno sulla determinazione: non solo sono in grado di alterare i tempi di ritenzione, ma possono anche modificare l'intensità del segnale influenzando sull'efficienza di ionizzazione e, di conseguenza, provocando un abbassamento della riproducibilità.

Come si può notare dalla [Fig. 3.26], nonostante le differenze tra le prove effettuate date dalla forza ionica e dal pH delle soluzioni dovute all'aggiunta dei sali, le tipologie di contaminanti accumulate in quantità maggiore risultano le stesse. Per quanto riguarda le percentuali di accumulo, alcuni analiti, come per esempio il triclosan, presentano valori molto simili per tutte le prove mentre altri, come octocrilene e EHMC, presentano delle grandi differenze. Ciò può essere spiegato dall'elevata incertezza che questi composti dimostrano nelle prove effettuate nell'acqua di mare surrogata e nella soluzione a pH 7.5: i sali presenti in queste soluzioni possono andare ad interferire con l'analisi modificando i segnali e, di conseguenza portando a risultati meno riproducibili.

Per quanto riguarda i dati relativi all'EHS, come spiegato nel capitolo precedente, la presenza di un interferente unita al basso segnale dell'analita, rende la determinazione di questo composto difficile impedendone la quantificazione quando l'interferente, misurato tramite il bianco, sovrasta il segnale dell'analita.

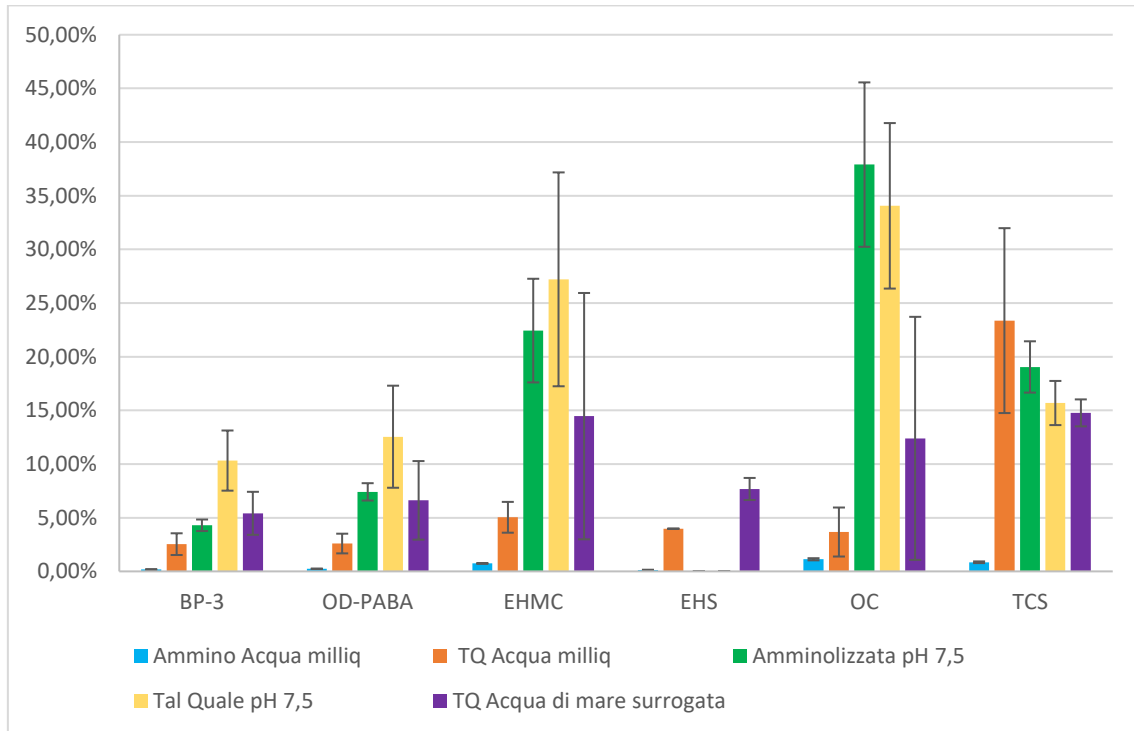


Figura 3.26 Confronto tra le varie prove delle percentuali dei contaminanti disciolti in acqua accumulati sulle membrane

4 Conclusioni

In questo lavoro di tesi, al fine di ottenere un prototipo di campionatore passivo, sono state preparate diverse membrane tramite il metodo dell'inversione di fase indotta dal non solvente, a partire da soluzioni costituite da PLA (o da una miscela bifasica PLA e PCL commerciale ad alta massa) e da diversi tipi di solventi, quali DMF, Cyrene e Astrobio. La caratterizzazione dei sistemi preparati ha evidenziato che le membrane che presentano le migliori caratteristiche di rigidità-tenacità-porosità sono quelle ottenute da una soluzione polimerica di PLA/PCL in DMF, in rapporto compositivo di 95:5, con una percentuale in peso del 10% m/V.

Al fine di funzionalizzare i film porosi è stato applicato un trattamento di amminolisi. Dalla spettroscopia in assorbimento nell'infrarosso, si è dimostrato che l'amminolisi risulta essere un processo capace di innestare nella superficie del film poroso gruppi funzionali amminici e ammidici. In particolare, si è optato nel far durare il processo di funzionalizzazione per 30 minuti, tempo necessario al fine di introdurre una sufficiente densità di gruppi amminici e allo stesso tempo di preservare le caratteristiche meccaniche della membrana.

Considerando i risultati ottenuti dai test sull'effetto matrice e sui recuperi percentuale, si è potuto concludere che sia la membrana PLA_10_DMF che quella PLA_PCL_95_5 risultano essere adatti all'utilizzo come campionatori passivi. In particolare, la membrana PLA_PCL_95_5 è risultata la formulazione migliore rispetto agli altri campioni testati.

Dai risultati ottenuti dalle prove di accumulo possiamo suggerire l'utilizzo della membrana PLA_PCL_95_5 come campionatore passivo biodegradabile in grado di accumulare principalmente i filtri UV e secondariamente gli interferenti endocrini in un ambiente acquoso. Inoltre, data la similitudine tra i campioni amminolizzati e quelli tal quali, è stato dimostrato che la funzionalizzazione superficiale tramite amminolisi non è necessaria al fine di applicare il film polimerico come campionatore passivo, portando quindi alla selezione delle membrane tal quali per questo scopo in quanto presentano caratteristiche meccaniche superiori.

4.1 Sviluppi futuri

L'elevata fragilità e la notevole erosione superficiale sono i principali fattori che ci hanno spinto a valutare un altro processo di funzionalizzazione superficiale: il trattamento al plasma. È noto che i trattamenti fisici basati su tecnologie di irradiazione al plasma, oltre

ad essere ecosostenibili, modificano selettivamente gli strati più superficiali del materiale non provocando cambiamenti sulle sue proprietà di *bulk* [69].

La Plasmapps Srl è un'azienda italiana ubicata a Modugno (BA), con la quale è nata una collaborazione volta ad effettuare un trattamento superficiale di natura plasmico-chimico sui film a base di PLA.

In un lavoro di tesi parallelo sono state effettuate delle prove di adsorbimento con fluoresceina sodica al fine di determinare il grado di funzionalizzazione superficiale di film polimerici, sia densi che porosi, a base di PLA.

Nonostante il decisivo aumento delle proprietà meccaniche delle membrane funzionalizzate con il plasma rispetto a quelle amminolizzate per via chimica, i test preliminari di adsorbimento con la fluoresceina sodica non hanno mostrato una differenza apprezzabile tra i film funzionalizzati con il plasma e i campioni tal quali, per questo motivo la loro applicazione non è stata studiata.

Uno successivo studio può essere effettuato sulle condizioni operative della funzionalizzazione tramite plasma al fine di ottenere un film che presenti una quantità di gruppi amminici sufficiente. Inoltre, è possibile aggiungere dei monomeri funzionali insieme all'acido lattico durante il processo di polimerizzazione al fine di ottenere dei siti attivi all'interno del polimero che possono rendere più facile l'inserimento dei gruppi amminici.

Infine, per poter utilizzare questi film polimerici come campionatori passivi, è necessario effettuare uno studio sulla cinetica di accumulo al fine di stabilire i limiti dell'utilizzo del campionatore in regime cinetico e in regime di equilibrio e di conseguenza calcolare il sampling rate.

Ringraziamenti

Durante questo ciclo di studi sono stato assistito da molte persone, senza le quali non sarei mai riuscito ad arrivare fino a questo punto.

Come prima cosa è necessario che io ringrazi i miei genitori, che mi hanno supportato e sopportato tutti questi anni, e mia sorella che, nonostante le sporadiche discussioni, si è sempre schierata al mio fianco soprattutto nei momenti più difficili.

Ringrazio inoltre tutto il resto della mia grande famiglia che, anche se non comprende molto la chimica, si è sempre interessata al mio lavoro. In particolare, vorrei ringraziare i miei nonni anche se non tutti hanno potuto vedere la fine di questo lungo percorso.

Ringrazio tutti i dottorandi e i tesisti, sia appartenenti al gruppo di chimica industriale, sia appartenenti al gruppo di chimica analitica, per la pazienza che hanno dimostrato aiutandomi in tutti gli ambiti nei quali non ero particolarmente esperto.

Ringrazio anche tutti gli amici incontrati durante questa esperienza che, grazie alla compagnia che mi hanno regalato, l'hanno resa non solo interessante ma anche divertente grazie a tutte le cene, aperitivi e partite a calcio che abbiamo organizzato negli anni.

Ultimi ma non per importanza, ringrazio tutti i miei amici di lunga data che mi hanno reso la persona che sono oggi grazie alle, alle truccatissime partite a Magic, alle interminabili campagne di D&D, agli staticissimi assalti di schermo e alle quali ho fatto venire malditesta suonando i piatti.

Ringrazio infine tutti coloro che ho incontrato durante la mia vita ma che non ho nominato esplicitamente perché, anche se non sempre ricordo nomi e facce, è grazie al supporto di tutti quanti che sono arrivato dove sono ora e sono pronto ad andare avanti.

Bibliografía

- [1] M. Puri, K. Gandhi, M. S. Kumar, *Emerging environmental contaminants: A global perspective on policies and regulations*. Journal of Environmental Management vol. 332, 2023.
- [2] S. Khan, M. Naushad, M. Govarthanan, J. Iqbal, S. M. Alfadul, *Emerging contaminants of high concern for the environment: Current trends and future research*. Environmental Research, vol. 207, 2022.
- [3] BJ Cisneros, *Safe Sanitation in Low Economic Development Areas*. Treatise on Water Science, pp. 147–200, 2011.
- [4] <https://www.sciencedirect.com/search?qs=water%20pollutants&subjectAreas=1600&lastSelectedFacet=subjectAreas>.
- [5] K. H. Esbensen, C. Wagner, *Theory of sampling (TOS) versus measurement uncertainty (MU) – A call for integration*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, vol. 57, pp 93-106, 2014.
- [6] <https://goldbook.iupac.org/terms/view/R05303>.
- [7] F. E. Grubbs, *Procedures for Detecting Outlying Observations in Samples*. Technometrics, vol. 11, pp. 1–21, 1969.
- [8] P. Rosario, J. L. Martínez, J. M. Silván, *Comparison of different statistical methods for evaluation of proficiency test data*. Accred Qual Assur vol. 13, pp. 493–499, 2008.
- [9] B. A. Warren, *Nansen-bottle stations at the Woods Hole Oceanographic Institution*. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, vol. 55, pp. 379-395, 2008.
- [10] Britannica, T. Editors of Encyclopaedia, *Nansen bottle*. Encyclopedia Britannica, 2014.
- [11] R. Zhang, J. Zhang, J. Ren, J. Li, F. Li, Z. Wang, X. Zhu, *X-Vane: A sampling assembly combining a Niskin-X bottle and titanium frame vane for trace metal analysis of sea water*. Marine Chemistry, vol. 177, pp. 653-661, 2015.
- [12] S. Wu, X. Wang, S. Wang, B. Zhang, C. Yang, H. Zhi, *Active temperature-preserving deep-sea water sampler configured with a pressure-adaptive thermoelectric cooler module*, Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, vol. 181, 2022.
- [13] M. Muñoz-Ortuño, Y. Moliner-Martínez, S. Cogollos-Costa, R. Herráez-Hernández, P. Campíns-Falcó, *A miniaturized method for estimating di(2-ethylhexyl) phthalate in bivalves as bioindicators*. Journal of Chromatography A, vol. 1260, pp. 169-173, 2012.
- [14] <https://www.thewom.it/culture/wompower/bioaccumulo-biomagnificazione>.
- [15] D. Peakall, J. Burger, *Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors*. Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 56, pp 110-121, 2003.
- [16] E. Franco-Fuentes, N. Moity, J. Ramírez-González, S. Andrade-Vera, A. Hardisson, S. Paz, C. Rubio, V. Martín, Á. J. Gutiérrez, *Mercury in fish tissues from the Galapagos marine*

- reserve: Toxic risk and health implications*. Journal of Food Composition and Analysis, vol. 115, 2023.
- [17] T. Go'reck, J. Namies'nik, *Passive sampling*. Trends in analytical chemistry, vol. 21, pp. 276-291, 2002.
- [18] C.S. Gordon, J.T. Lowe, US Patent 1,644,014, 1927.
- [19] E. D. Palmes, A. F. Gunnison, *Personal Monitoring Device for Gaseous Contaminants*. American Industrial Hygiene Association Journal, vol 34:2, pp. 78-81, 1973.
- [20] K. Godlewska, P. Stepnowski, M. Paszkiewicz, *Pollutant analysis using passive samplers: principles, sorbents, calibration and applications. A review*. Environmental Chemistry Letters, vol. 19, pp. 465–520, 2021.
- [21] G. D. Castle, G. A. Mills, A. Gravell, et al. *Comparison of different monitoring methods for the measurement of metaldehyde in surface waters*. Environ Monit Assess, vol. 191, 2019
- [22] G. Azcune, L. Griffero, L. Pareja, J. M. Ríos, C. Galbán-Malagón, A. Pérez-Parada, *Trends in the monitoring of legacy and emerging organic pollutants in protected areas*. Trends in Environmental Analytical Chemistry, vol. 34, 2022.
- [23] A. C. Taylor, G. R. Fones, B. Vrana, G. A. Mills, *Applications for Passive Sampling of Hydrophobic Organic Contaminants in Water—A Review*. Critical Reviews in Analytical Chemistry, vol. 51, pp. 20-54, 2019.
- [24] R. F. A. Robinson, G. A. Mills, G. R. Fones, *Monitoring of polar organic compounds in fresh waters using the Chemcatcher passive sampler*. MethodsX, vol. 10, 2023.
- [25] B. M. da Costa Filho, A. C. Duarte, T. A.P. Rocha-Santos, *Environmental monitoring approaches for the detection of organic contaminants in marine environments: A critical review*. Trends in Environmental Analytical Chemistry, vol. 33, 2022.
- [26] H. Ahkola, S. Herve, J. Knuutinen, *Overview of passive Chemcatcher sampling with SPE pretreatment suitable for the analysis of NPEOs and NPs*. Environ Sci Pollut Res vol. 20, pp. 1207–1218, 2013.
- [27] D. A. Alvarez, J. D. Petty, J. N. Huckins, T. L. Jones-Lepp, D. T. Getting, J. P. Goddard, S. E. Manahan, *Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments*. Environmental Toxicology and Chemistry, vol. 23, pp. 1640-1648, 2004.
- [28] Z. Zhang, A. Hibberd, J. L. Zhou, *Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling*. Analytica Chimica Acta, vol. 607, pp. 37-44, 2008.
- [29] R. G. Adams, R. Lohmann, L. A. Fernandez, J. K. MacFarlane, P. M. Gschwend, *Polyethylene Devices: Passive Samplers for Measuring Dissolved Hydrophobic Organic Compounds in Aquatic Environments*. Environmental Science & Technology, vol. 41, pp. 1317-1323, 2007.

- [30] T. P. Rusina, F. Smedes, J. Klanova, K. Booij, I. Holoubek, *Polymer selection for passive sampling: A comparison of critical properties*. Chemosphere, vol. 68, pp. 1344-1351, 2007.
- [31] A. Martin, C. Margoum, J. Randon, M. Coquery, *Silicone rubber selection for passive sampling of pesticides in water*. Talanta, vol. 160, pp. 306-313, 2016.
- [32] <https://goldbook.iupac.org/terms/view/A00190>.
- [33] <https://www.norman-network.net/?q=node/19>.
- [34] B. Benedetti, M. Baglietto, H. MacKeown, C. Scapuzzi, M. Di Carro, E. Magi, *An optimized processing method for polar organic chemical integrative samplers deployed in seawater: Toward a maximization of the analysis accuracy for trace emerging contaminants*. Journal of Chromatography A, vol. 1677, 2022.
- [35] V. Geissen, H. Mol, E. Klumpp, G. Umlauf, M. Nadal, M. van der Ploeg, S. E.A.T.M. van de Zee, C. J. Ritsema, *Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management*. International Soil and Water Conservation Research, vol. 3, pp. 57-65 2015.
- [36] <http://www.norman-network.net/?q=node/190>.
- [37] J. Hollender, B. van Bavel, V. Dulio, et al, *High resolution mass spectrometry-based non-target screening can support regulatory environmental monitoring and chemicals management*. Environmental Sciences Europe, vol. 31, 2019.
- [38] Y. Tang, M. Yin, W. Yang, H. Li, Y. Zhong, L. Mo, Y. Liang, X. Ma, X. Sun, *Emerging pollutants in water environment: Occurrence, monitoring, fate, and risk assessment*. Water environment research, vol. 91, pp. 984-991, 2019.
- [39] C. F. Poole, *New trends in solid-phase extraction*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, vol. 22, pp. 362-373, 2003.
- [40] R. M. Milton, *New Trends in Chemical Analysis of Disinfection By-Products*. 2018.
- [41] <http://www.norman-network.net/?q=node/59>.
- [42] L. Ranakoti, B. Gangil, S. K. Mishra, T. Singh et al., *Critical review on polylactic acid: properties, structure, processing, biocomposites, and nanocomposites*. Materials. Vol. 15, 2022.
- [43] K. Athanasiou and G. Niederauer, *Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers*. Biomaterials. Vol. 17, pp. 93-102, 1996
- [44] N. More, M. Avhad, S. Utekar and A. More, *Polylactic acid (PLA) membrane—significance, synthesis, and applications a review*. Polymer bulletin. Vol. 80, pp. 1117-1153, 2023.
- [45] Q.-Z. Zheng, P. Wang, Y.-N. Yang, *Rheological and thermodynamic variation in polysulfone solution by PEG introduction and its effect on kinetics of membrane formation via phase-inversion process*. Journal of membrane science. Vol. 279, pp. 230-237, 2006.

- [46] G. Damonte, R. Spotorno, D. Di Fonzo and O. Monticelli, *Multifunctional porous films based on polylactic acid/polycaprolactone blend and graphite nanoplatelets*. ACS Applied polymer material. Vol. 4, pp. 6521-6530, 2022.
- [47] E. M. Arnett, J. G. Miller, A. R. Day, *Effect of structure on reactivity: aminolysis of esters with primary amines*. Journal of the american chemical society. Vol. 12, pp. 5635-5638, 1950.
- [48] W. Brown, B.L. Iverson, E.V. Anslyn, C.S. Foote, *Chimica organica*. Edises. Napoli, IT, 2014, ISBN: 978-8879598309.
- [49] <https://goldbook.iupac.org/terms/view/M03759>.
- [50] F. Gosetti, E. Mazzucco, D. Zampieri, M. C. Gennaro, *Signal suppression/enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, vol. 1217, pp. 3929-3937, 2010,
- [51] B. K. Matuszewski, M. L. Constanzer, C. M. Chavez-Eng, *Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC-MS/MS*. Analytical Chemistry, vol. 75, pp. 3019 – 30301, 2003.
- [52] Y. Jeong, A. Schäffer, K. Smith, *Equilibrium partitioning of organic compounds to OASIS HLB® as a function of compound concentration, pH, temperature and salinity*. Chemosphere, vol. 174, pp. 297-305, 2017.
- [53] Zeiss, SUPRA® Series. <https://wiki.smfi.unipr.it/dokuwiki/lib/exe/fetch.php?media=lmn:brochure.pdf>.
- [54] J. F. Holler, S. R. Crouch, *Fondamenti di chimica analitica di Skoog e West*. Edises. Napoli, IT, 2015, ISBN: 978-8879598651.
- [55] B.L. Reuhs, *High-Performance Liquid Chromatography*. Food Analysis, pp. 213–226, 2017
- [56] C. Guilin, F. Minxia, L. Ye, S. Baoqing, L. Meixian, W. Jianlin, L. Na, G. Mingquan, *Advances in MS Based Strategies for Probing Ligand-Target Interactions: Focus on Soft Ionization Mass Spectrometric Techniques*. Frontiers in Chemistry, vol. 7, 2019
- [57] T. Angel, U. Aryal, S. Hengel, E. Baker, R. Kelly, E. Robinson, R. Smith, *Mass Spectrometry-Based Proteomics: Existing Capabilities and Future Directions*. Chemical society reviews, vol. 41, 2012.
- [58] Unipi, *Membrane e fibre cave*. <https://www.centropiaggio.unipi.it/sites/default/files/course/material/2014-05-22%20-%20Membrane%20e%20Fibre%20Cave.pdf>.
- [59] A. C. Chinyerenwa, H. Wang, Q. Zhang, Y. Zhuang, *Structure and thermal properties of porous polylactic acid membranes prepared via phase inversion induced by hot water droplets*. Polymer. Vol. 141, pp. 62-69, 2018.

- [60] I. V. Maggay, M.-L. Yu, D. M. Wang, C. H. Chiang, *Strategy to prepare skin-free and macrovoid-free polysulfone membranes via the NIPS process*. Journal of membrane science. Vol. 655, 2022.
- [61] Carloth, *Scheda dati di sicurezza: Diidrolevoglucosenone*.
<https://www.carloth.com/medias/SDB-IE89-IT-IT.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyNDc0OTh8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oYjcvaDMYLzkwNjEyOTMINTU3NDIucGRmfDFmYjZkY2UyODZmZDY0ZWJhMmEyMmZlNDdmYWwMjg2NDkNzkwZDYyODAyMwVWmNWFIN2M3NTYzNmM5MGI2MzE>.
- [62] Carloth, *Scheda dati di sicurezza: N,N-Dimetilformamide*.
<https://www.carloth.com/medias/SDB-CP79-IT-IT.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wzMDc0MTV8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oNzkvaDczLzkwODk3NTM2MTIzMTgucGRmfDI4YzU0MwVWmNzc3ZmUyNGFmNTBjZjgzODNiYTllODEzYzY1ZmRlOTRhN2IxOGI0NDI5ZjA5MGNhZDM3ZWZmZDA>.
- [63] G. R. Guillen, Y. Pan, M. Li, V. Hoek, *Preparation and characterization of membranes formed by nonsolvent induced phase separation: a review*. Industrial engineering chemistry research. Vol. 7, pp. 3798-3817, 2011.
- [64] B.E. Poling, J.E. Prausnitz, J.P. O'Connell, *The properties of gases and liquids*. McGraw-Hill education. Stati Uniti d'America, USA, 2005, ISBN: 978-0071189712.
- [65] Y. Zhu, Z. Mao, G. Changyou, *Aminolysis-based surface modification of polyesters for biomedical applications*. RSC advances. Vol. 3, pp. 2509-2519, 2012.
- [66] R. Sjöback, J. Nygren, M. Kubista, *Absorption and fluorescence properties of fluorescein*. Spectrochimica acta Part A: molecular and biomolecular spectroscopy. Vol. 51, pp. L7-L-51, 1995.
- [67] F. Jentsch, M. Reich, K. Kümmerer, O. Olsson, *Photolysis of mixtures of UV filters octocrylene and ethylhexyl methoxycinnamate leads to formation of mixed transformation products and different kinetics*. Science of The Total Environment, vol. 697, 2019.
- [68] P. Calza, D. Vione, F. Galli, D. Fabbri, F. Dal Bello, C. Medana, *Study of the photochemical transformation of 2-ethylhexyl 4-(dimethylamino)benzoate (OD-PABA) under conditions relevant to surface waters*. Water Research, vol. 88, pp. 235-244, 2016.
- [69] I. R. Durán, S. Vanslambrouck, P. Chevallier, C. A. Hoesli et al., *Atmospheric pressure cold plasma versus wet-chemical surface treatments for carboxyl functionalization of polylactic acid: A first step toward covalent immobilization of bioactive molecules*. Colloids and surfaces: biointerfaces. Vol. 189, 2020.