



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101997900600701
Data Deposito	30/05/1997
Data Pubblicazione	30/11/1998

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
B	29	B		

Titolo

METODO ED APPARECCHIATURA PER LA PREPARAZIONE DI FILM MONOSTRATO DI PARTICELLE O MOLECOLE.

titolo:

"Metodo ed apparecchiatura per la preparazione di film monostrato di particelle o molecole"

a nome: Gilles PICARD, di nazionalità canadese, residente in 1775 Rue Bouchard - TROIS-RIVIERES - QUEBEC G8Y 5R5 (CANADA).

Depositata il 30 MAG. 1997

al n.

DESCRIZIONE

TO 97A 000466

La presente invenzione si riferisce ad un metodo ed un'apparecchiatura per la preparazione di film monostrato di particelle o molecole.

La fabbricazione di monostrati di particelle insolubili all'interfaccia gas-liquido ha avuto luogo finora soprattutto tramite l'utilizzo di un trogolo pieno di liquidi, di solito una soluzione acquosa. All'interfaccia gas-acqua si diffonde di solito una soluzione contenente molecole anfifiliche, cioè una molecola fatta da una testa polare ed una catena di acidi grassi. Dopo che il liquido volatile si è diffuso, esso evapora lasciando all'interfaccia gas-liquido le molecole anfifiliche. Infine, una barriera mobile comprime le molecole in un monostrato. Così, essenzialmente si ha un trogolo immobile contenente una sotto-fase

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

immobile su cui le molecole vengono trasportate lateralmente tramite l'utilizzo della differenza di tensione superficiale tra la sotto-fase e la soluzione depositata, ed una barriera mobile.

Il trasferimento del monostrato su un substrato solido è realizzato tramite vari metodi. Uno è il cosiddetto metodo di Langmuir-Blodgett, e comprende essenzialmente un'immersione verticale nella sotto-fase attraverso il monostrato di una piastra solida; tirando su tale piastra, si fa in modo che lo strato si trasferisca sulla piastra per compressione laterale. Si può ripetere ciò molte volte. Un altro metodo chiamato di Langmuir-Schaeffer comprende la discesa sul monostrato di una piastra orizzontale. Dopo il contatto, la piastra viene estratta di nuovo con il monostrato su di essa.

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

Allo scopo di migliorare la fabbricazione di particelle insolubili, si sono effettuati vari tentativi. Uno è stato quello di far ruotare un cilindro sotto la superficie dell'acqua. Ci si aspettava che tale movimento pilotasse le particelle insolubili in avanti in un monostrato di formatura. Tuttavia, nella maggior parte dei casi, questa tecnica richiede una precompressione di un

monostrato già preparato. Il cilindro che comprime lo strato è fatto di materiale idrofobo. Inoltre, sono utilizzabili soltanto molecole insolubili. Un altro dispositivo è stato presentato da G. Fuller, C. Franck e C. Robertson di recente (Langmuir, 10, 1251 (1994)). Esso comprende la compressione delle particelle insolubili con una sotto-fase scorrevole tra una superficie fissa e le superfici del monostrato. Di nuovo, si utilizzano soltanto molecole insolubili.

I limiti di questi metodi anteriori sono svariati: quello essenziale è che questi metodi sono stati previsti per particelle insolubili. I tentativi di estendere i metodi sopra citati alle particelle solubili hanno fornito risultati marginali. Lentezza, perdita di particelle, bassa riproducibilità e denaturazione delle proteine caratterizzano in generale questi metodi.

EUGENIO ROBBIA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

Il Richiedente della presente invenzione ed altri hanno presentato un nuovo metodo nel corso del 1997 (Picard G., Nevernov I., Alliata D. e Pazdernick L., Langmuir, 13, 264 (1997)). Il metodo è stato contrassegnato dalla sigla DTLF (Dynamic Thin Laminar Flow = Flusso Laminare Sottile Dinamico), e comprende un cilindro rotante che

comprime un monostrato di proteine solubili. Esso è stato progettato specificamente per fabbricare un monostrato di proteine solubili, anche se si possono realizzare facilmente monostrati di particelle solubili. Le qualità del metodo DTLF sono la produzione ad elevata velocità, le basse quantità di materiale utilizzato, la produzione continua e la preparazione di cristalli bidimensionali. Il monostrato appena preparato può essere depositato anche in ultima analisi su un substrato solido immobile. In altre parole, il dispositivo si può spostare su un substrato fisso per depositare i monostrati.

Anche se nel suddetto studio si è presentata una macchina che si è dimostrata funzionante sulle proteine, non si è in esso illustrato il principio alla base del suddetto metodo DTLF. Ciò significa che l'utilizzo di tale apparecchio può essere persino inutile se non si controllano le forze alla base.

Scopo della presente invenzione è quello di risolvere i suddetti problemi della tecnica anteriore, fornendo l'illustrazione dei principi di base del metodo DTLF in modo da estenderne l'applicazione alla preparazione di monostrati

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

amorfi o cristallini di tutti i tipi di particelle ed il loro successivo trasferimento su qualsiasi tipo di substrato liquido o solido.

Un ulteriore scopo della presente invenzione è quello di fornire un'apparecchiatura per realizzare in modo semplice, efficace e ad un costo ridotto il suddetto metodo inventivo.

I principi di base del metodo DTLF si fondano sulla combinazione di tre processi distinti. Il primo è che occorre utilizzare un film di liquido sottile: la sua sottigliezza deve essere nel campo dei micrometri. Il secondo è il controllo delle cariche elettriche delle particelle nel film di liquido sottile allo scopo di provocare l'adsorbimento delle particelle all'interfaccia gas-liquido senza provocare l'adsorbimento tra di loro all'interfaccia gas-liquido oppure nel film di liquido sottile stesso. Il terzo è che, allo scopo di creare una forza per guidare le particelle contro un bordo per la compressione, si sposta la superficie su cui si trova il film di liquido sottile, Questo movimento spinge il film di liquido sottile in avanti e crea, tramite la viscosità del liquido, una forza superficiale che spinge infine le particelle in avanti.

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

I suddetti ed altri scopi e vantaggi dell'invenzione, quali risulteranno dal seguito della descrizione, vengono raggiunti con un metodo come quello descritto nella rivendicazione 1 e con un'apparecchiatura come quella descritta nella rivendicazione 11. Forme di realizzazione preferite e varianti non banali della presente invenzione formano l'oggetto delle rivendicazioni da 2 a 10 e da 12 a 21.

La presente invenzione verrà meglio descritta da alcune forme preferite di realizzazione, fornite a titolo esemplificativo e non limitativo, con riferimento ai disegni allegati, nei quali:

- la Figura 1 è una vista laterale schematica di una prima realizzazione dell'apparecchiatura secondo la presente invenzione;

- la Figura 2 è una vista laterale schematica di una seconda realizzazione dell'apparecchiatura secondo la presente invenzione;

- le Figure 3 e 4 sono immagini al microscopio ottico di particelle sulla parte superiore dell'elemento rotante delle Fig. 1 e 2;

- le Figure 5 e 6 sono immagini al microscopio ottico di particelle piccole realizzate tramite il metodo DTLF della presente invenzione; e

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

- la Figure 7 è un'immagine al microscopio a forza atomica di particelle ultrapiccole realizzate tramite il metodo DTLF della presente invenzione.

Nel corso della presente descrizione, il termine "particella" indica qualsiasi tipo di molecole, polimeri ed aggregati avente una dimensione di diametro medio inferiore a 100 micron.

Principi di base del metodo DTLF

Il metodo DTLF necessita dell'esistenza contemporanea di due caratteristiche: una sotto-fase liquida spessa intorno ad $1 \div 10$ micron ed una superficie mobile. Questa sottigliezza è importante per il processo DTLF poichè le particelle all'interno del film liquido sottile incontreranno parecchie volte l'interfaccia gas-liquido durante il loro trasporto da parte della superficie mobile. Un altro aspetto importante del processo DTLF è che la sottigliezza del film significa dover trattare volumi di liquido molto piccoli, nel campo dei microlitri. Ciò significa inoltre che qualsiasi modifica delle caratteristiche fisico-chimiche del film liquido richiede di iniettare o pompare fuori piccole quantità di tamponi o soluzioni. Inoltre, la risposta qualitativa a qualsiasi modifica della

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

sotto-fase è rapida.

La seconda caratteristica importante è che la superficie su cui si appoggia il film di liquido sottile si sposta. Questo movimento guida l'interfaccia solido-liquido e, a causa della viscosità del liquido, questo movimento si trasmette strato per strato fino all'interfaccia gas-liquido. Questi movimenti provocano la convezione nel film di liquido sottile che trasporta le particelle verso l'interfaccia gas-liquido in modo efficiente. Questo trasporto è facilitato inoltre dai moti Browniani quando le particelle sono a livello molecolare. L'efficienza della produzione può raggiungere facilmente il 100%.

Queste due caratteristiche sono state descritte nella suddetta pubblicazione anteriore (Picard G., Nevernov I., Alliata D. e Pazdernick L., Langmuir, 13, 264 (1997)). Tuttavia, queste caratteristiche sarebbero inutili senza altre considerazioni. L'apparecchio descritto in tale pubblicazione, ad esempio, porterebbe le particelle a ruotare senza fine intorno al cilindro, se non si effettuassero ulteriori manipolazioni del film di liquido sottile. Queste manipolazioni comprendono

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

essenzialmente la regolazione delle densità di carica superficiale delle particelle, che è un fattore importante nella determinazione dell'adsorbimento delle particelle all'interfaccia gas-liquido.

La stabilità delle particelle nella massa avviene poichè le forze di repulsione tra particelle sono maggiori delle forze di attrazione. Ad esempio, un'elevata densità di carica superficiale significa che le particelle rimarranno nella massa, in soluzione o in sospensione. In questa condizione, non è possibile alcuna formazione di monostato. L'indebolimento della densità di carica superficiale delle particelle indebolirà anche la forza di repulsione. Ad un certo punto, si è determinato che il primo fenomeno che ha luogo è l'adsorbimento delle particelle all'interfaccia gas-liquido. L'ulteriore riduzione delle forze di repulsione provoca contemporaneamente un secondo fenomeno che è l'adsorbimento particella-particella all'interfaccia gas-liquido. Così, si osservano aggregati sulla superficie del liquido, mentre nella massa le particelle rimangono in equilibrio. Continuando a ridurre la forza di repulsione tra le

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

particelle, si provocherà l'adsorbimento particella a particella nella massa. Ciò porterà alla precipitazione delle particelle nella massa.

Chiaramente, il metodo DTLF funziona non appena le particelle nella sospensione o nella soluzione raggiungono le condizioni di squilibrio. Nella maggior parte dei casi, questa condizione si trova vicino al punto isoelettrico. Esiste un campo elettrostatico di condizioni di sotto-fase per ogni tipo di particella dove l'adsorbimento all'interfaccia gas-liquido è ottimale. Il reperimento delle condizioni ottimali può essere effettuato iniettando e pompando via vari liquidi durante il trattamento del monostrato, e seguendo la produzione del monostrato in tempo reale.

Il fatto che la superficie su cui si appoggia il film di liquido sottile si sposta implica che le particelle appena assorbite sono compresse contro il bordo del monostrato in crescita. L'arrivo delle particelle ha luogo una dopo l'altra. Questa sequenza di arrivo è molto favorevole per la formazione di grandi cristalli bidimensionali con particelle. Tali cristalli sono stati osservati per particelle quali proteine e polistireni. In linea di principio, non si hanno limiti relativi alle

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

dimensioni ed alla natura del materiale, quale oro, argento, vetro, ecc.

L'apparecchiatura inventiva

Facendo riferimento alle Fig. 1 e 2, vengono illustrate due forme di realizzazione preferite di un'apparecchiatura per mettere in atto il metodo DTLF secondo la presente invenzione. L'apparecchiatura inventiva illustrata in Fig. 1 comprende un elemento rotante 1, in questo caso un cilindro in rotazione oraria, a cui è collegato un modulo di iniezione 8 dotato di tre aperture con rispettivi canali di entrata e di uscita del fluido: un canale 9 attraverso cui viene iniettato, tramite mezzi adeguati (non illustrati), un film di liquido sottile 2 contenente una sospensione di particelle o proteine 3; un canale 10' attraverso cui vengono iniettate, tramite mezzi adeguati (non illustrati), sostanze reagenti di adsorbimento 10 per metterle a contatto con le particelle 3 in sospensione nel film di liquido sottile 2; ed un canale 11 collegato ad una pompa di aspirazione (non illustrata) per l'aspirazione del film di liquido sottile 2 dopo la deposizione del monostrato 5.

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

L'apparecchiatura di Fig. 1 comprende inoltre

un substrato 7 su cui viene depositato il monostrato 5. Secondo quanto indicato in Fig. 1, le particelle 3, dopo che la loro densità di carica superficiale viene variata dal contatto con le sostanze reagenti 10, si portano alla superficie, cioè all'interfaccia gas-liquido, e vengono così adsorbite, come appare chiaro dalle particelle indicate con il numero di riferimento 4. La rotazione dell'elemento rotante (freccia A) spinge le particelle 4 una contro l'altra a formare un monostrato 5 continuo ed uniforme. Continuando la rotazione dell'elemento 1 e parallelamente spostandolo in direzione longitudinale ad un substrato 7 (in Fig. 1 nella direzione della freccia B che è discorde rispetto al senso di rotazione A dell'elemento 1), il monostrato 5 si deposita sul substrato 7 insieme al film di liquido sottile 2, che però viene aspirato via dai mezzi di aspirazione 11. Si avrà quindi un monostrato di particelle 6 trasferito sul substrato solido 7, che nel caso di Fig. 1 è un substrato idrofobo costituito da una lastra di vetro o di metallo.

La forma di realizzazione di Fig. 2 è identica a quella di Fig. 1 (e pertanto i particolari

EUGENIO ROBBIA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

analoghi sono indicati dagli stessi numeri di riferimento), tranne per il fatto che il substrato 7 è fatto di materiale idrofilo, cioè è costituito da una lastra di vetro pulito o un foglio di mica. Pertanto, in questo caso, la deposizione del monostrato 6 su di esso è effettuata facendo avanzare l'elemento rotante 1 nella direzione della freccia C, che è concorde al senso di rotazione dell'elemento 1 stesso.

L'apparecchiatura ed il metodo della presente invenzione funzionano in maniera ugualmente efficace se il substrato 7 è costituito da un qualsiasi tipo di liquido, sul quale sarà pertanto possibile depositare uno o più film monostrato (attraverso una o più passate successive di applicazione) di particelle o molecole.

Alcune applicazioni pratiche del metodo e dell'apparecchiatura secondo la presente invenzione prevedono che tali sostanze reagenti di adsorbimento 10 siano costituite da una soluzione acida ad un pH pari a circa 4,0 per particelle 2 di polistirolo o molecole di proteine. Secondo un altro esempio, le sostanze reagenti di adsorbimento 10 sono costituite da una soluzione al 70% di acetonitrile per particelle 2 di carbonio 60 in un

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

film di toluene. Secondo un ulteriore esempio, le sostanze reagenti di adsorbimento 10 possono essere una soluzione di sali, in particolare una soluzione di solfato di cadmio per molecole 2 di proteine di tipo oloferritina.

Esempi sperimentali

Il metodo DTLF verrà meglio descritto qui di seguito facendo riferimento ad una serie di prove sperimentali, i cui risultati sono presentati nelle Fig. da 3 a 7 . Tutti gli esperimenti sono stati effettuati in un ambiente pulito. Il livello di polvere è stato misurato tramite un rilevatore di polvere commerciale per controllo di qualità di stanze bianche.

I test sono stati effettuati su prototipi delle apparecchiature descritte in precedenza. Il cilindro era di vetro con diametro di 6 mm e lunghezza di 50 mm. La superficie del cilindro di vetro è stata levigata con abrasivi fini per lenti commerciali fino al mancato rilevamento di graffi ad un ingrandimento di $1000X$ con un microscopio ottico. Si è ottenuto un trogolo semi-cilindrico tagliando e forando una piastra di politetrafluoroetilene (PTFE) da $10 \times 3,5 \times 0,5$ cm. Si è utilizzato un motore elettrico in c.c. con

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

controllo di velocità fino a 3 Hz per comandare il cilindro di vetro. Il motore elettrico in c.c. ed il cilindro di vetro sono stati connessi meccanicamente tramite un tubo in gomma spessa, allo scopo di trasmettere la coppia smorzando le vibrazioni. Il cilindro è stato tenuto orizzontale tramite due piastre circolari di PTFE perforate a 2 mm dal centro. Lo spazio tra il cilindro e il trogolo semicilindrico è stato regolato a circa 300 μm facendo semplicemente ruotare le piastre circolari. Dopo aver trovato una posizione verticale, le piastre circolari sono state strette solidamente su una struttura in Plexiglass rigida.

Le particelle di polistirene utilizzate per i test provengono dalla Interfacial Dynamics Corporation (IDC), Portland, OR, U.S.A. La concentrazione di particelle è stata sempre del 4% in peso. Soltanto le particelle fluorescenti da $\emptyset,22 \mu\text{m}$ provenivano dalla Polysciences, Warrington, PA, U.S.A. I tamponi ed il NaCl (99,99%) provenivano dalla Merck. L'acqua è stata distillata (Aquatron BS I) e demineralizzata (Elgastat UHW II) prima dell'uso. La sua tensione superficiale era maggiore di 72 mN m^{-1} e la sua conduttività era uguale a $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$.

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

Sei canali che controllavano l'ingresso di volume delle sotto-fasi, il pH e lo spessore del film di liquido sottile al di sopra del cilindro sono stati ricavati nelle parti laterali del trogolo semicilindrico in PTFE. Una scanalatura è stata ricavata sul fondo del trogolo e parallela all'asse del cilindro per connettere tutti i canali in modo da poter miscelare più facilmente i fluidi iniettati. Quando si è utilizzato sale per la formazione del monostrato in particelle di lattice, la sotto-fase è stata lavata a fondo iniettando simultaneamente acqua pura e pompando via la diluizione. Il prototipo è stato montato su un banco con microscopio ottico per l'osservazione in situ dei monostrati di particelle e delle procedure di lavaggio.

Le sotto-fasi sono state preparate regolando il pH o la concentrazione di sale con una siringa e controllando lo spessore del film di liquido sottile intorno al cilindro tramite l'utilizzo di una profondità focale del microscopio ottico. Le condizioni delle sotto-fasi sono illustrate in Tabella 1 con le corrispondenti osservazioni.

La preparazione di monostrati di particelle da $6-0,6 \mu\text{m}$ è stata relativamente facile, poichè i

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

monostrati possono essere visti come materiale di rivestimento bianco sul cilindro. Così, la procedura ha comportato soltanto l'iniezione delle particelle nel film di liquido sottile con una pipetta e l'esame del film bianco crescente. L'iniezione di particelle è stata graduale, tenendo costante la velocità di preparazione del monostrato. Quando si è coperta totalmente la superficie semi-cilindrica, si è interrotta l'iniezione. Si è osservato il film durante il processo di crescita e lo si è successivamente trasferito su un substrato solido per ulteriori osservazioni. La riduzione della dimensione delle particelle ha reso sempre più difficile l'osservazione visiva diretta del monostrato. Il film bianco ha perso colore sotto il diametro della sfera di $1 \mu\text{m}$ ed è diventato traslucido con quelli da 250 nm . A questo punto si è effettuata la procedura di osservazione tramite un microscopio ottico.

Un microscopio ottico con la lente al di sopra del cilindro, con luce incidente, ed illuminazione di modo a campo scuro è stato utilizzato per le particelle inferiori a 250 nm . L'osservazione in situ dei monostrati di particelle ha richiesto un

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

intervallo di tempo tra l'iniezione di particelle e l'installazione del microscopio, a causa della breve distanza tra obiettivo ed acqua di circa 1 mm. Dopo il trasferimento su un substrato solido, si sono effettuate fotografie con una pellicola commerciale da 100 ASA.

Quando si è utilizzato sale, si è impiegata una sotto-fase di lavaggio. Si è utilizzato un microscopio con ingrandimento 200X posizionato in verticale al di sopra del cilindro per l'osservazione dei preparati di monostrato in polistirene. Con il microscopio ottico messo a fuoco sul film, si è dato inizio alla sequenza di pulizia. Ciò ha consentito al liquido di scorrere in senso assiale da un'estremità della base del cilindro all'altra. Si sono pompati di solito da 4 a 16 ml di acqua pura.

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

Il metodo di trasferimento del monostrato di particelle è stata la deposizione orizzontale. Essa consisteva nel portare un film d'acqua su una superficie idrofila bagnata a contatto con il film d'acqua intorno al cilindro rotante. La superficie interessata era un vetrino idrofilo di microscopio con la sua superficie asciutta sulla superficie di PTFE e la sua superficie superiore bagnata. Il

contatto è stato effettuato alla base del cilindro facendo scivolare il vetrino di microscopio fino alla fusione dei due film d'acqua per forza capillare. Non appena si è effettuato il contatto, il monostrato di particelle sulla superficie di film sottile cilindrica, fino ad allora bloccato dal bordo idrofobo in PTFE, è stato guidato in avanti dal cilindro sulla superficie di vetro bagnata.

Dopo questo movimento orizzontale, il liquido in eccesso che collegava il cilindro ed il vetrino di microscopio è stato pompato via utilizzando una pompa a 2 vie, ed il monostrato di particelle è stato infine scollegato dal cilindro. Il monostrato di particelle è stato quindi lasciato libero di galleggiare su un film di liquido sottile, che rivestiva la superficie del vetro. Il film di liquido sottile è evaporato attraverso il monostrato di particelle, che ha quindi effettuato una lenta discesa sul vetrino di microscopio, cioè un monostrato di particelle si è trasferito tramite deposizione orizzontale sul vetrino.

EUGENIO ROBBIA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

Dinamica dei film di liquido sottili

Un cilindro di vetro in rotazione sotto un monostrato di particelle con un film sottile

d'acqua tra essi può essere rappresentato da due cilindri concentrici, quello centrale rotante e quello esterno fisso, con fluido tra essi. Questo è il noto viscometro di Couette. La matematica che collega questo viscometro al metodo DTLF è già stata sviluppata per gli esperimenti con le proteine nel suddetto documento di Picard et al. Anche se le condizioni sperimentali erano con sfere in polistirene, il numero di Taylor rimanente $Ta = 1,48 \times 10^{-5}$. Dato che l'instabilità compare al numero di Taylor critico $Ta_c = 1,712$, ciò certifica che il flusso tra il monostrato di particelle e la superficie del cilindro di vetro sarà laminare. La sottigliezza del film di liquido è largamente responsabile di questa elevata stabilità.

Le dimensioni del monostrato di particelle essendo in un rapporto di 10000:1 con lo spessore del film, si possono trascurare gli effetti terminali e si può considerare il cilindro come infinito. Di nuovo, utilizzando lo stesso argomento, il raggio del cilindro essendo in un rapporto di 1000:1 con lo spessore del film, il modello con cilindro dentro a cilindro può essere ridotto matematicamente ad una piastra in movimento parallelo al di sopra di una piastra fissa, con un

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

fluido tra esse. Nel sistema dell'invenzione, la piastra in movimento era la superficie del cilindro e la piastra fissa il monostrato di particelle. La forza creata dal cilindro rotante sul monostrato di particelle è stata inserita nella seguente equazione:

$$\Gamma = 2\pi\mu R_c f x/z \quad 0 \leq x \leq L_h$$

dove μ è la viscosità del liquido (per l'acqua, 10^{-3} kg/m s), R_c il raggio del cilindro, f la frequenza di rotazione del cilindro, x la lunghezza del monostrato, e z lo spessore del film di liquido sottile. L_h è la circonferenza semi-cilindrica. Si è dimostrato che si può raggiungere una pressione superficiale fino al punto di rottura.

Osservazioni con microscopio ottico all'interfaccia aria-acqua

L'iniezione di sfere di polistirene da 6 μm nel film liquido sottile di acqua ha prodotto un film solido bianco in crescita di particelle di polistirene. Ad un pH neutro, le cariche elettriche intorno alle particelle hanno creato forze di repulsione che hanno fornito in modo efficiente qualsiasi tipo di adsorbimento di particelle. Come conseguenza, le particelle giravano con il cilindro ma senza realizzare monostrati. L'abbassamento del

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

pH a 4,0 ha ridotto le cariche superficiali delle particelle. Quindi, si è verificato un adsorbimento progressivo di particelle all'interfaccia aria-acqua. La rotazione regolare del cilindro ha compresso le particelle appena emerse, portando alla preparazione di un monostrato uniforme. Ad un pH 4,0, le forze di repulsione ioniche sono ancora sufficienti a tenere le particelle separate all'interfaccia aria-acqua. E' noto che questa repulsione è importante per la formazione di cristalli bidimensionali. Si sono infatti osservati cristalli bidimensionali in particolare quando l'iniezione era più uniforme (vedere Figura 3). L'ulteriore riduzione delle cariche elettriche delle particelle che ha abbassato il pH a 3,5 ha portato all'aggregazione superficiale. Infatti, si sono osservati frattali bidimensionali (Figura 4). Ad un pH di 3,0, erano chiaramente visibili gli aggregati tridimensionali. Ciò indica che l'adsorbimento tra particelle nella massa ha avuto luogo rapidamente.

Questa dipendenza dei preparati in monostrato dalle condizioni ioniche delle sotto-fasi è stata provata vera per tutti i lattici rivestiti di solfato o carbossile; tuttavia, le condizioni

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

variavano con le dimensioni (vedere Tabella 1). Quest'osservazione sarà analizzata ulteriormente nel paragrafo "Discussione". Un'altra osservazione rilevante è che la riduzione del pH a 0,0 non ha provocato l'aggregazione delle particelle CML da 0,250 μm mentre una quantità di 1 M di sale in acqua pura ha provocato il loro adsorbimento all'interfaccia aria-acqua. L'aumento della concentrazione di sale, che scherma le cariche superficiali delle particelle, ha portato anche ad aggregati superficiali e di massa.

Osservazioni con microscopio ottico all'interfaccia aria-solido

I monostrati all'interfaccia aria-acqua hanno potuto essere asciugati sulla superficie in vetro del cilindro ed esaminati con un microscopio ottico. In caso contrario, il film poteva essere trasferito su un vetrino o un foglio di mica. In ogni caso, l'osservazione dell'interfaccia aria-solido ha consentito una miglior valutazione del pacco di particelle.

La Figura 5 illustra le particelle da 1,17 μm che sono state assemblate tramite il metodo DTLF. E' del tutto chiaro che il buon impaccamento delle particelle è avvenuto a causa dell'introduzione

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

delle particelle nel monostrato una dopo l'altra. La Figura 6 illustra particelle più piccole, cioè di $0,614 \mu\text{m}$, che sono anch'esse ben impaccate. Occorre notare che la velocità di preparazione del monostrato di particelle da $0,614 \mu\text{m}$ ha potuto raggiungere 1 mm/s .

Osservazioni con microscopio AFM all'interfaccia aria-solido

Le nanosfere sono state viste con il microscopio AFM. La Figura 7 illustra un'immagine AFM di un monostrato di particelle da 127 nm . In quest'immagine, il monostrato di particelle è del tutto uniforme. E' possibile inoltre vedere piccoli cristalli bidimensionali di nanosfere. In questo caso, la velocità di preparazione del monostrato è stata di circa 1 mm/s .

La Tabella 1 illustra il riepilogo dei risultati. I dati sono presentati in ordine decrescente di diametro delle particelle. L'idroaffinità è stata l'unico parametro che è prevalso a causa della scelta delle condizioni ioniche. Una delle caratteristiche principali è che le condizioni delle sotto-fasi per la preparazione dei monostrati di particelle non erano molto diverse tra le sfere più grandi e quelle più

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI).

piccole.

EUGENIO ROBBA.
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

Tabella 1. Caratteristiche delle particelle, condizioni iniziali delle sotto fasi, ed osservazione dei preparati di monostato

diametro (μm) ^a	tempo(s) ^b	tipo di particella ^c	carica superficiale ($\mu\text{C}/\text{cm}^2$) ^d	(NaCl) (M)	pH	aspetto visivo sull'acque	aspetto visivo su un solido ^e	osservazioni al microscopio
6,240	30	solfato	4	zero	7,0	bianco opaco	bianco opaco	niente cristalli in 2D
1,170	30	carbossilico	19		4,0	ghiacciato	ghiacciato	aggregati in 2D
1,010	30	CNL	923		3,5	granulare	granulare	aggregati in 3D
0,833					3,0	bianchiccio	colorato	cristalli in 2D
0,614					4,0-3,0			niente
0,250					2,0	bianchiccio	colorato	cristalli in 2D
					7,0			
					4,0			
					4,0-0,0			
					2,5-1,5	bianco gran.	bianco gran.	niente
0,220 ^g	<30	carbossi yg	sconosciuta	1,0	7,0	trasparente	bluastro	aggregati in 3D
0,127		carbossilico	4	1,5				cristalli in 2D
				1,0			blu	
				zero	9,0-8,0			
					7,0-4,0	appena visibile		aggregati in 2D
					3,5-3,0	bianchiccio		aggregati in 3D
0,053	<30		0,2		5,0			niente
					4,0	trasparente	blu	cristalli in 2D

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

Note

a = Stimato dall'azienda IDC utilizzando un TEM. Si è effettuata una media con 500 particelle scelte a caso. Tuttavia, la nostra stima basata sull'osservazione al microscopio di cristalli di particelle in 2D ed utilizzando una griglia standard per la taratura ha indicato che le particelle erano leggermente più grandi.

b = Questi tempi sono i più brevi misurati con la quantità minima di particelle per realizzare un monostrato. Per i cristalli in 2D, si è rallentata la velocità di preparazione del monostrato allo scopo di aumentare le proporzioni di cristalli in 2D. Con nanoparticelle si è utilizzato un microscopio ottico. Tuttavia, nonostante questa approssimazione, i valori danno chiaramente un'idea relativa ai meccanismi che agiscono nel metodo DTLF.

c = Le caratteristiche delle particelle di polistirene dipendono dai gruppi funzionali superficiali che sono stati creati. Un parametro rilevante è il CCC, per lattici idrofobi esso è ad una concentrazione di ioni univalenti da 0,25 M ad un pH di 7,0 oppure ad un pH inferiore a 4,0; per il CML, è una concentrazione di ioni univalenti

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

maggiore di 1,0 M ad un pH di 7,0.

d = La densità di carica superficiale, fornita dal produttore, è calcolata dal contenuto di cariche stoichiometrico. In realtà, le particelle rivestite di carbossile e solfato hanno le loro cariche sulla superficie. Tuttavia, le particelle di CML hanno la maggior parte delle loro cariche nel volume.

e = L'aspetto visivo come si vede direttamente da 6,24 μm fino a 0,250 μm . A dimensioni inferiori, la procedura seguita è già stata descritta.

f = I colori appaiono tramite interferenza luminosa. Alla luce del sole, si sono potuti vedere i colori dell'arcobaleno brillanti inclinando il monostrato di particelle. Ogni colore copriva alternativamente ed in modo uniforme l'intera superficie del monostrato secondo l'angolo di inclinazione. Questa semplice osservazione indica l'omogeneità del film stesso.

g = Questa è l'unica particella a provenire da un produttore diverso. La sua concentrazione era del 2,5% in peso. La sua superficie non era caratterizzata, ma tuttavia si è potuta facilmente realizzare la produzione di un monostrato di particelle.

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

Discussione

La crescita del monostrato di particelle è risultata visibile ad occhio nudo fino a 250 nm. Essa era regolata dall'iniezione delle particelle ed ha potuto essere tarata in modo da risultare costante. La risposta all'iniezione è stata una crescita immediata, che all'interruzione dell'iniezione è cessata in un minuto. Il monostrato in crescita ha ridotto l'interfaccia aria-acqua libera disponibile per l'adsorbimento di particelle. Tuttavia, non sembra che questa riduzione abbia cambiato la velocità di preparazione, che è rimasta stabile. Queste due osservazioni di per sè indicano già che la convezione nel film di liquido sottile sotto l'interfaccia libera aria-acqua era il processo principale per le particelle da micro a nano fino a 250 nm. Per preparati a monostrato con particelle inferiori, non si è potuta regolare la velocità di preparazione, e così si è effettuata un'iniezione e si è osservato un monostrato di particelle in situ tramite un microscopio ottico, come nel caso delle proteine. Tuttavia, il tempo di preparazione è stato molto breve (circa 30 s) anche per loro (vedere Tabella 1). Ciò suggerisce che per

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

particelle fino a 55 nm il movimento Browniano era ancora dominato dalla convezione.

Essenzialmente la fisico-chimica del metodo DTLF è il controllo delle forze di repulsione elettrostatiche tra particelle per pH o concentrazione di sale. E' importante sapere che le cariche superficiali fornite in Tabella 1 sono il risultato di un calcolo basato sul contenuto di cariche stoichiometriche. Per le particelle rivestite di carbossile e solfato, il calcolo corrisponde del tutto alla realtà. Tuttavia, per le particelle CML, la maggior parte delle cariche sono sepolte, lasciando una densità di carica superficiale confrontabile con gli altri tipi. Questa distribuzione di volume fa sì che le particelle CML si comportino in maniera interessante. Prendendo come esempio le sfere CML da $0,833 \mu\text{m}$, la carica elettrica superficiale calcolata è di $1135 \mu\text{C}/\text{cm}^2$. L'aumento dell'acidità di sotto-fase fino ad un pH di $0,0$ non ha potuto provocare l'adsorbimento delle particelle all'interfaccia aria-acqua. Ciò significa chiaramente che le cariche elettriche sepolte hanno continuato a lavorare contro l'adsorbimento di particelle all'interfaccia aria-acqua. Si è dovuto

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

aggiungere sale per schermare le forze elettrostatiche. Per le sfere CML da $1,10 \mu\text{m}$ con una carica superficiale di $923 \mu\text{C}/\text{cm}^2$, la preparazione di monostrati di particelle ha avuto luogo ad un pH di sotto-fase di $2,0$. Tuttavia, per le sfere CML da $0,250 \mu\text{m}$ con una carica superficiale di $226 \mu\text{C}/\text{cm}^2$, sono prevalse le stesse condizioni delle sfere da $0,833 \mu\text{m}$ con carica elevata. Queste variazioni possono essere dovute a distribuzioni assiali diverse delle cariche elettriche all'interno delle particelle.

Per le particelle carbossiliche con cariche superficiali inferiori a $20 \mu\text{C}/\text{cm}^2$, il semplice aumento dell'acidità di sotto-fase ad un pH di $4,0$ è stato sufficiente a provocare l'adsorbimento superficiale senza creare la formazione di aggregati bidimensionali. Nel caso delle particelle da $0,127 \mu\text{m}$, il pH di sotto-fase ha dovuto essere leggermente basico. In due casi, non si sono potuti preparare monostrati di particelle con cariche elevate aumentando soltanto l'acidità delle sotto-fasi.

Globalmente, la schermatura delle forze elettrostatiche con l'aggiunta di sale si è dimostrata molto efficace in tutti i casi, laddove

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

per le particelle carbossiliche e di solfato, le condizioni leggermente acide delle sotto-fasi ad un pH di 4,0 sono risultate sufficienti.

Può essere sorprendente che per le particelle da 0,127 μm nella sottofase ad un pH di 9,0, si sia preparato un monostrato di particelle. Sembra che il comportamento di tali particelle cambi dalla scala macroscopica a quella nanoscopica. Tra parentesi, è stato impossibile osservare le particelle sulla superficie dell'acqua ad occhio nudo. Tuttavia, utilizzando il microscopio ottico, come nel caso delle proteine, si è potuto osservare il monostrato. L'iniezione di particelle ha prodotto un monostrato di particelle del tutto rapidamente; fondamentalmente il loro comportamento assomigliava ad un tensioattivo. Inoltre, ad un pH di sotto-fase al di sotto di 4,0, le particelle adsorbivano all'interfaccia aria-acqua e realizzavano aggregati bidimensionali. L'abbassamento dei livelli di pH ha provocato l'aggregazione della massa. Questi due comportamenti sono stati osservati nel caso di altre particelle carbossiliche.

I dati sperimentali per il tempo di preparazione sono stati confrontati con i due

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

modelli matematici basati sui modelli Browniano e di convezione meccanica (vedere la Tabella 2).

Tabella 2. Tempi sperimentali e simulati per la copertura completa dell'interfaccia aria-acqua con microsfere

tempo di copert. completa dell'interf. (s)			

diam.	DTLF	simulazione numerica	
partic. sperimentale		-----	
(μm)	tale ^a	Browniana ^b	convezione

6,240	c.30	1646	34
1,170		554	27
1,010		512	27
0,833		458	26
0,614		400	27
0,250	< 30	230	24

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

^a Il tempo sperimentale rappresenta la preparazione più rapida del monostrato per la quantità minima di particelle iniettate. ^b Le simulazioni sono per una quantità iniettata di particelle appena sufficiente a preparare un singolo monostrato.

La concentrazione utilizzata nei modelli è fornita dal produttore, cioè il 4% in peso, ed iniettata nel menisco da 25 μ l. Occorre notare che il tempo di sperimentazione è del tutto approssimato. L'iniezione di particelle è stata relativamente lenta, allo scopo di rendere uniforme la preparazione del monostrato di particelle. Per le particelle da 6,24 μ m fino alla dimensione di 250 nm, la convezione nel film di liquido sottile era chiaramente come le particelle raggiungevano l'interfaccia aria-acqua. Il solo moto Browniano sarebbe stato troppo lento per la produzione dell'intero strato.

Tuttavia, per meglio valutare il potenziale del metodo DTLF, che è la preparazione di monostrati cristallini di particelle o molecole in modo continuo, una situazione realistica può essere che la linea tripla aria/acqua monostrato si trova da qualche parte tra i due menischi. In pratica, sarebbe meglio se questa linea tripla fosse a metà strada. Da questa linea tripla, il preparato rimane a contatto con il flusso laminare sottile per metà della circonferenza superiore prima di trasferirsi, per esempio, ad un substrato solido. Qui si può ipotizzare una frequenza di rotazione di 1 Hz ed un

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

film di liquido sottile spesso $5 \mu\text{m}$. Dati questi parametri, si ha che, con il metodo DTLF, la convezione sposta le particelle da micro a sub-micrometriche all'interfaccia aria-acqua, mentre per le particelle nanometriche, come le proteine, il moto Browniano diventa efficace quanto il moto convettivo. Per quanto riguarda le particelle subnanometriche, è chiaro che l'auto-diffusione diventerà il processo principale. In tutti i casi, il risultato finale, che è l'assemblaggio delle particelle in un monostrato, rimane identico. Essenzialmente, con il metodo DTLF, i soli due parametri da controllare sono l'adsorbimento aria-acqua delle particelle, cioè la carica elettrica sulla particella, che dipende dal pH o dalla concentrazione di sale nella sotto-fase e dalla forza superficiale che sta premendo il monostrato di particelle, la forza superficiale dipendendo soltanto dalla velocità di rotazione del cilindro e dallo spessore del film di liquido sottile.

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

I preparati di monostrato di particelle hanno prodotto effetti colorati. L'effetto dell'iridescenza è stato il più spettacolare nel caso di un monostrato fatto di particelle aventi un diametro di circa $0,8 \mu\text{m}$. L'interferenza dovuta ad

una differenza di percorso luminoso ottico fatta dall'indice di rifrazione del polistirene ha potuto spiegare i colori. Un semplice modello matematico basato sull'interferenza di una luce monocromatica riflessa sulla parte superiore del monostrato di particelle e sull'interfaccia particella/oro al di sotto del monostrato ha completato le osservazioni. Tuttavia, in questo lavoro si è effettuato un semplice esperimento per testare ulteriormente questo modello matematico. Il monostrato è stato riscaldato dolcemente a 90°C e raffreddato parecchie volte, ed ogni volta osservato con un microscopio ottico. I colori scomparivano nello stesso momento in cui le sferette cominciavano ad ammorbidirsi e fondere, fornendo una superficie di monostrato con leggeri rigonfiamenti. Occorre notare che questo riscaldamento dolce non ha variato il percorso ottico. Così si è dovuto rivedere a fondo il modello matematico. Le osservazioni effettuate con la luce monocromatica potrebbero ben spiegarsi con l'interferenza della luce, ma l'interferenza non può spiegare i colori osservati. Invece, si deve tener presente la diffrazione di Bragg come meccanismo primario, dato che la forma e gli insiemi bidimensionali di

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

sferette rivestono probabilmente un ruolo chiave.

Un'altra osservazione interessante finale deriva dalla suddetta pubblicazione di Picard et al. che introduce il metodo DTLF con le proteine. Si è preparato un monostrato in modo efficace, anche se le proteine utilizzate erano notevolmente idrofile. Esse sono state sciolte in acqua con della glicerina per permetterne la conservazione a bassa temperatura. La glicerina ha impedito loro di cristallizzare, ma la sua rimozione ha portato a cristalli tridimensionali, come nel caso delle particelle aveva fatto l'aggiunta di sale. Combinato con il controllo del pH della sotto-fase, si sono prodotti cristalliti monodimensionali con il metodo DTLF. La preparazione di monostrati di proteine è più difficile della preparazione di monostrati di particelle, e ciò è dovuto all'auto-cristallizzazione. Tuttavia, gli esperimenti con particelle e proteine indicano che si sono ben compresi i principi di base del metodo DTLF.

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

RIVENDICAZIONI

1. Metodo per la preparazione di film monostrato di particelle o molecole (3), detto metodo comprendendo le fasi di:

- iniettare un film di liquido sottile (2) contenente dette particelle o molecole (3) disperse in esso sulla superficie esterna di un elemento rotante (1);

- regolare la densità di carica superficiale di dette particelle o molecole (3) tramite l'iniezione di sostanze reagenti di adsorbimento (10), detta fase di regolazione della densità di carica portando dette particelle o molecole (3) sulla superficie di detto film di liquido (2);

- trascinare dette particelle o molecole (3) poste sulla superficie di detto film di liquido (2) in modo che formino un film monostrato (5) sostanzialmente uniforme;

- mettere a contatto detto film monostrato (5) sulla superficie di detto film di liquido (2) con un substrato (7); e

- far avanzare detto elemento rotante (1) in direzione longitudinale rispetto a detto substrato (7), detto film monostrato (5) distaccandosi da detto film di liquido (2) ed attaccandosi a detto

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

substrato (7).

2. Metodo secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che detto substrato (7) è idrofilo, detto film di liquido (2) attaccandosi anch'esso a detto substrato (7), detta fase di avanzamento longitudinale di detto elemento rotante (1) essendo effettuata nella direzione concorde con il senso di rotazione di detto elemento rotante (1), detto metodo comprendendo inoltre la fase di aspirare detto film di liquido (2) attaccato a detto substrato (7) lontano da detto substrato (7).

3. Metodo secondo la rivendicazione 2, caratterizzato dal fatto che detto substrato (7) è costituito da una lastra di vetro pulito o un foglio di mica.

4. Metodo secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che detto substrato (7) è idrofobo, detto film di liquido (2) non attaccandosi a detto substrato (7) ma rimanendo sulla superficie esterna di detto elemento rotante (1), detta fase di avanzamento longitudinale di detto elemento rotante (1) essendo effettuata nella direzione discorde con il senso di rotazione di detto elemento rotante (1), detto metodo comprendendo inoltre la fase di aspirare detto film

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

di liquido (2) lontano da detto substrato, (7).

5. Metodo secondo la rivendicazione 4, caratterizzato dal fatto che detto substrato (7) è costituito da una lastra di vetro o di metallo.

6. Metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto che dette sostanze reagenti di adsorbimento (10) sono una soluzione acida ad un pH pari a circa 4,0 per particelle (2) di polistirolo o molecole di proteine.

7. Metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto che dette sostanze reagenti di adsorbimento (10) sono costituite da una soluzione al 70% di acetonitrile per particelle (2) di carbonio 60 in un film di toluene.

8. Metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 5, caratterizzato dal fatto che dette sostanze reagenti di adsorbimento (10) sono una soluzione di sali.

9. Metodo secondo la rivendicazione 8, caratterizzato dal fatto che detta soluzione di sali è una soluzione di solfato di cadmio per molecole (2) di proteine di tipo oloferritina.

10. Metodo secondo una qualsiasi delle

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto che detto film di liquido sottile (2) ha uno spessore dell'ordine del micron.

11. Apparecchiatura per la preparazione di film monostrato di particelle o molecole (3), detta apparecchiatura comprendendo sostanzialmente:

- mezzi per iniettare un film di liquido sottile (2) contenente dette particelle o molecole (3) disperse in esso sulla superficie esterna di un elemento rotante (1);

- mezzi per regolare la densità di carica superficiale di dette particelle o molecole (3) tramite l'iniezione di sostanze reagenti di adsorbimento (10), detti mezzi per regolare la densità di carica portando dette particelle o molecole (3) sulla superficie di detto film di liquido (2);

- mezzi per mantenere detto elemento rotante (1) in rotazione in modo da trascinare dette particelle o molecole (3) poste sulla superficie di detto film di liquido (2) cosicchè esse formino un film monostrato (5) sostanzialmente uniforme, detto elemento rotante (1) essendo azionato in modo da mettere a contatto detto film monostrato (5) sulla superficie di detto film di liquido (2) con un

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

substrato (7); e

- mezzi per far avanzare detto elemento rotante (1) in direzione longitudinale rispetto a detto substrato (7), detto film monostrato (5) distaccandosi da detto film di liquido (2) ed attaccandosi a detto substrato (7).

12. Apparecchiatura secondo la rivendicazione 11, caratterizzata dal fatto che detto substrato (7) è idrofilo, detto film di liquido (2) attaccandosi anch'esso a detto substrato (7), detta mezzi per far avanzare longitudinalmente detto elemento rotante (1) effettuata detto avanzamento nella direzione concorde con il senso di rotazione di detto elemento rotante (1), detta apparecchiatura comprendendo inoltre mezzi (11) per aspirare detto film di liquido (2) attaccato a detto substrato (7) lontano da detto substrato (7).

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

13. Apparecchiatura secondo la rivendicazione 12, caratterizzata dal fatto che detto substrato (7) è costituito da una lastra di vetro pulito o un foglio di mica.

14. Apparecchiatura secondo la rivendicazione 11, caratterizzata dal fatto che detto substrato (7) è idrofobo, detto film di liquido (2) non attaccandosi a detto substrato (7) ma rimanendo

sulla superficie esterna di detto elemento rotante (1), detti mezzi per far avanzare longitudinalmente detto elemento rotante (1) effettuata detto avanzamento nella direzione discorde con il senso di rotazione di detto elemento rotante (1), detta apparecchiatura comprendendo inoltre mezzi (11) per aspirare detto film di liquido (2) lontano da detto substrato (7).

15. Apparecchiatura secondo la rivendicazione 14, caratterizzata dal fatto che detto substrato (7) è costituito da una lastra di vetro o di metallo.

16. Apparecchiatura secondo la rivendicazione 11, caratterizzata dal fatto che detto substrato (7) è costituito da un liquido.

17. Apparecchiatura secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzata dal fatto che dette sostanze reagenti di adsorbimento (10) sono una soluzione acida ad un pH pari a circa 4,0 per particelle (2) di polistirolo o molecole di proteine.

18. Apparecchiatura secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzata dal fatto che dette sostanze reagenti di adsorbimento (10) sono costituite da una soluzione al 70% di acetonitrile per particelle (2) di carbonio 60 in


EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIO E PER GLI ALTRI)

un film di toluene.

19. Apparecchiatura secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 11 a 15, caratterizzata dal fatto che dette sostanze reagenti di adsorbimento (10) sono una soluzione di sali.

20. Apparecchiatura secondo la rivendicazione 18, caratterizzata dal fatto che detta soluzione di sali è una soluzione di solfato di cadmio per molecole (2) di proteine di tipo oloferritina.

21. Apparecchiatura secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzata dal fatto che detto film di liquido sottile (2) ha uno spessore dell'ordine del micron.


EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIETÀ PER GLI ALTRI)



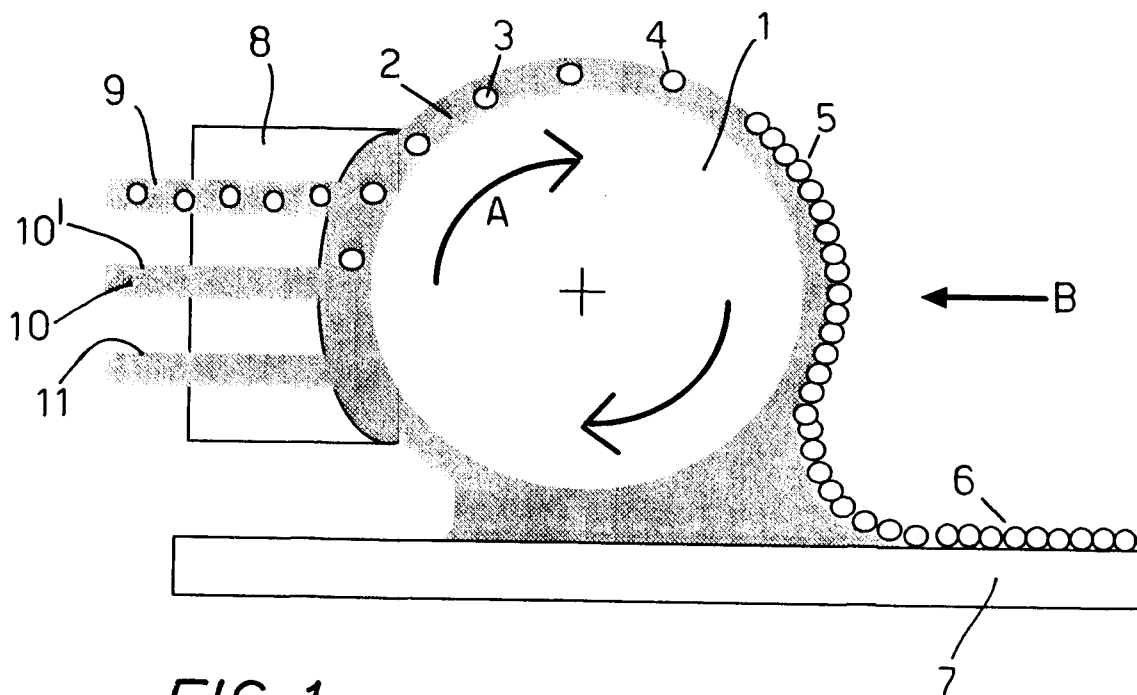


FIG. 1

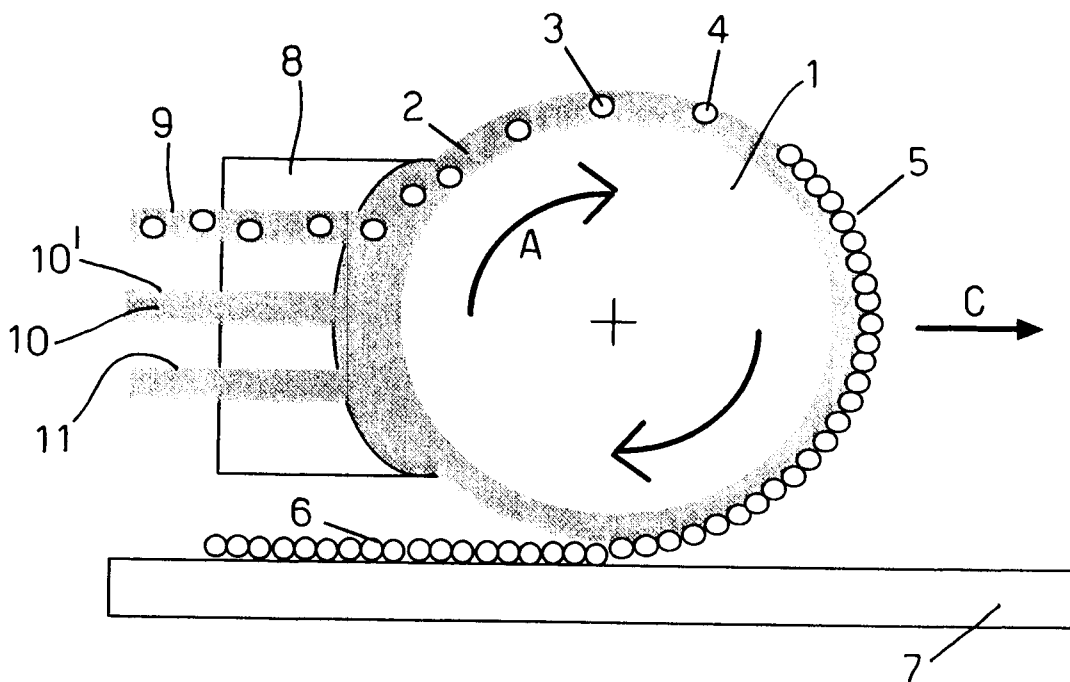


FIG. 2

EUGENIO ROBBA
(IN PROPRIETÀ PER GLI ALTRI)



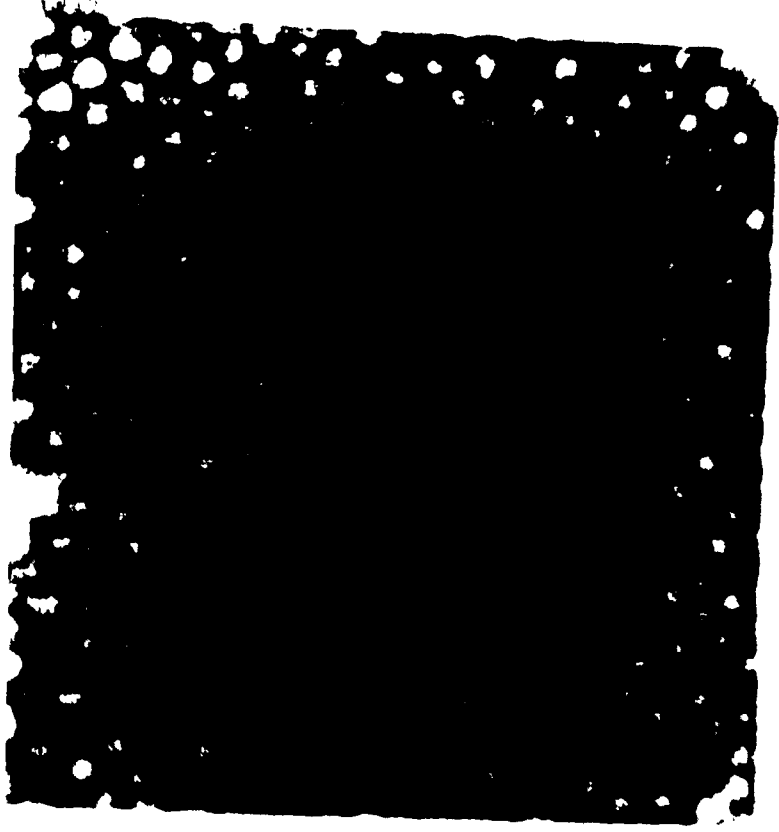


FIG. 7



FIG. 5

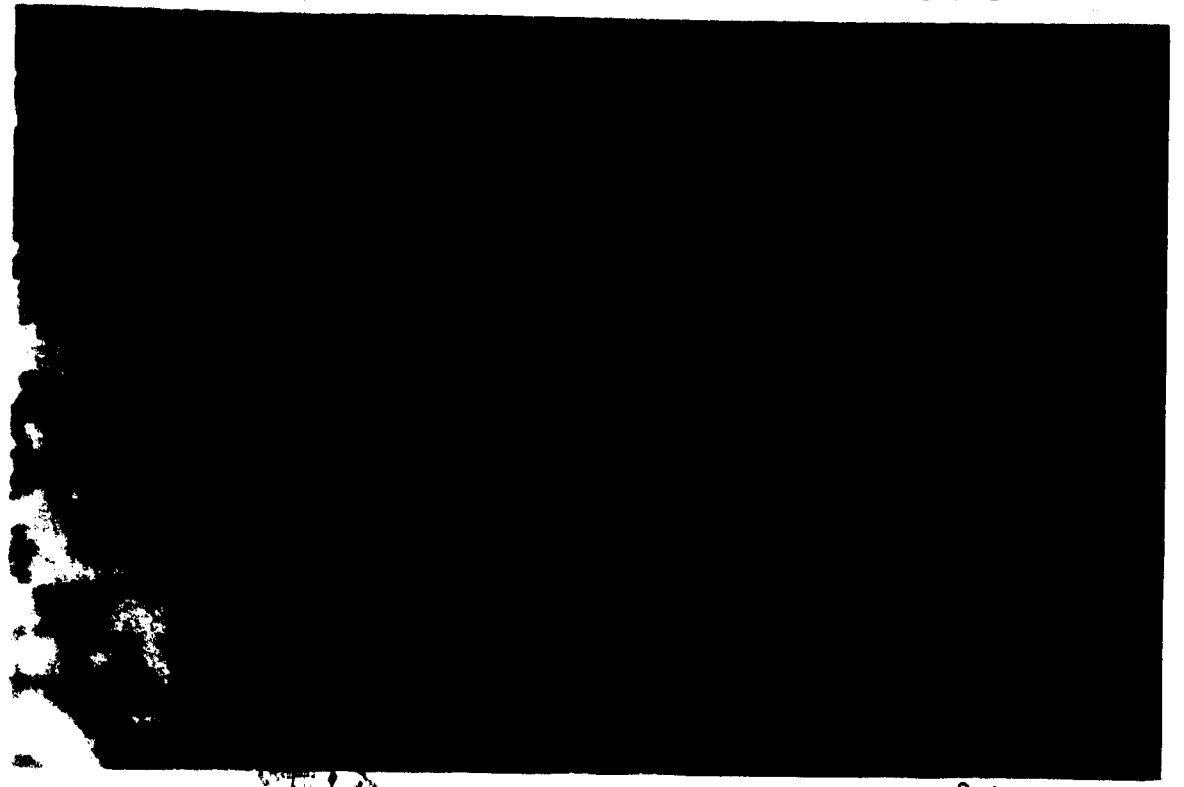


FIG. 4

EDGENIO ROBBA
(IN PROPRIETÀ E PER GLI ALTRI)

077 00466

FIG. 6

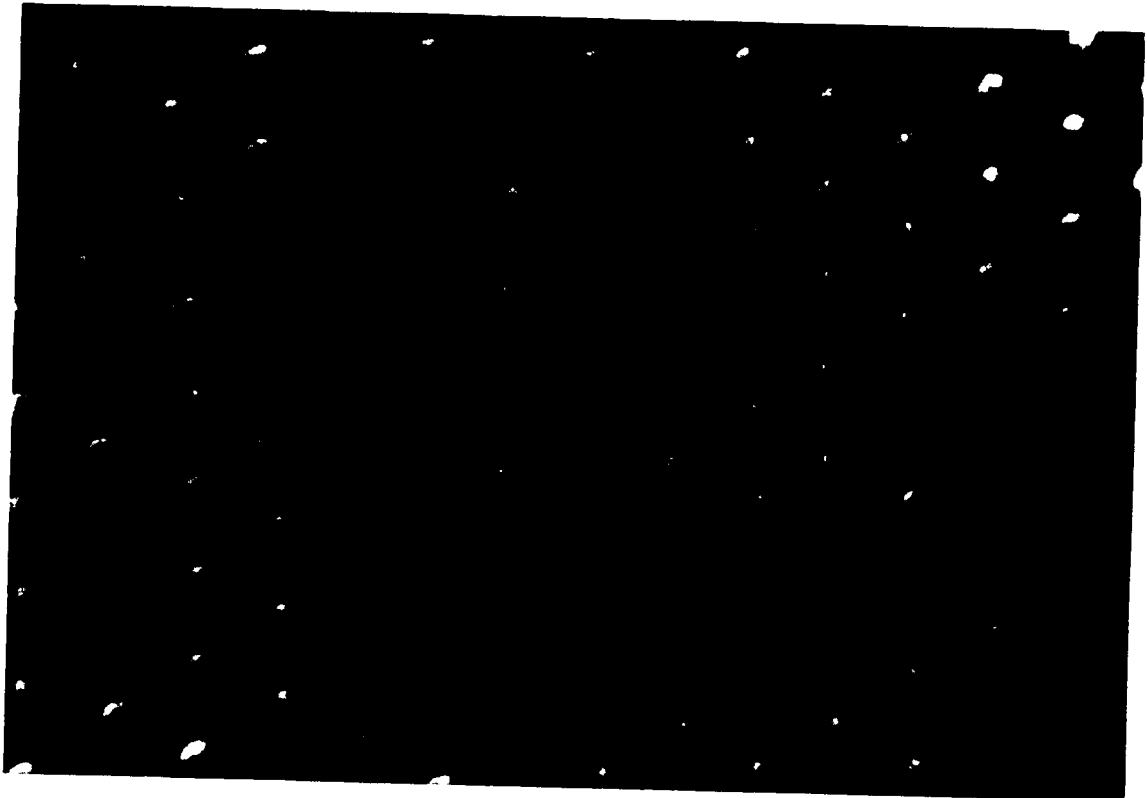
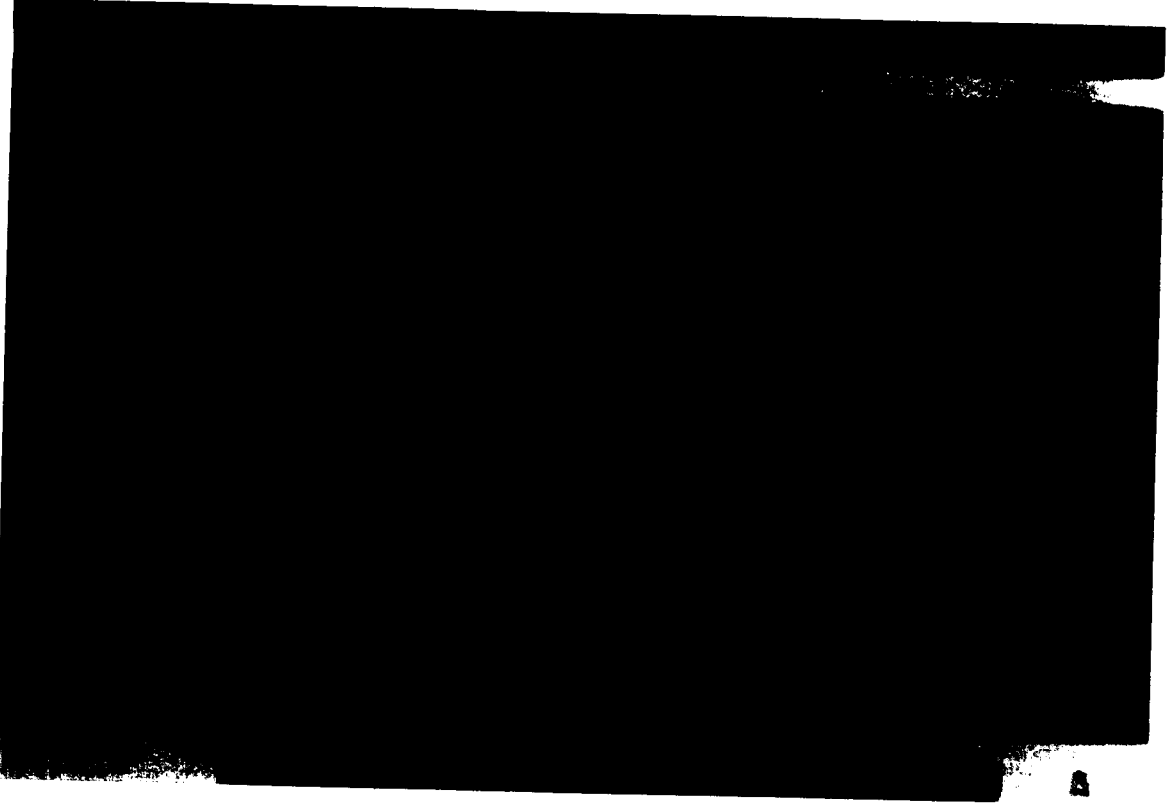


FIG. 3

EUGENIO ROBBA
(NEL PROPRIO E PER GLI ALTRI)