



Università
Ca'Foscari
Venezia

Corso di Laurea magistrale in
Chimica e tecnologie sostenibili

LM-54



Consiglio Nazionale
delle Ricerche

Tesi di Laurea

Le microplastiche inquinanti emergenti: fonti, destino ed impatto per l'ambiente e per l'uomo

Relatore

Prof. Andrea Gambaro

Correlatrice / Correlatore

Dr. Fabiana Corami CNR-IDPA

Prof. Giovanni Finotto

Laureando

Alberto Danieli

Matricola 859126

Anno Accademico

2019 / 2020



INDICE

SCOPO E OBIETTIVI.....	1
PLASTICA E CONTAMINAZIONE.....	3
MICROPLASTICA E CONTAMINAZIONE.....	29
CARATTERIZZAZIONE MICROPLASTICHE.....	46
3.1 ACQUA E SEDIMENTO	46
3.2 MATRICE ARIA	57
3.3 MATRICE BIOTA.....	65
TOSSICITA' DELLE MICROPLASTICHE.....	74
ENVIRONMENTAL AND HEALT RISK ASSESSMENT.....	88
CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE.....	96
BIBLIOGRAFIA.....	98

SCOPO E OBIETTIVI

In questo lavoro di tesi si vogliono prendere in esame le metodologie e gli strumenti che vengono utilizzati per condurre analisi qualitative e quantitative relative alla contaminazione di suolo, acqua ed aria da microplastiche. Negli ultimi decenni la contaminazione da plastica è diventata una delle principali preoccupazioni di scienziati, politici e pubblico, in quanto la produzione di plastica annuale è aumentata vertiginosamente, poichè è impiegata in diversi ambiti: medico, sanitario, tecnologico, alimentare ecc. (Worldwide distribution and abundance of microplastic, 14 2018). “Plastica” è diventato ormai sinonimo di “malleabilità” e “flessibilità”, e i prodotti che si ottengono hanno caratteristiche eccezionali: sono economici, leggeri, durevoli e resistenti alla corrosione (Hammer et al., 2012). Una delle principali cause dell'inarrestabile aumento della produzione di materie plastiche, oltre alle caratteristiche chimico-fisiche è dettata dalla “shelf life”: il tempo di utilizzo di un prodotto di plastica è di circa quattro anni prima di diventare rifiuto e conseguentemente permane nell'ambiente per un lungo periodo (centinaia di anni). Solo il 9% di questi rifiuti viene riciclato, mentre il 12% viene incenerito e il 79% finisce nelle discariche. Conseguentemente nell'ambiente si va a frammentarsi in microparticelle ad alto indice di pericolosità per la nostra salute. Quello che viene preso in considerazione in questo elaborato di tesi sono, appunto, le microplastiche (MPs) ovvero frammenti di plastica con dimensioni minori a 5 mm ottenuti dalla degradazione chimica, fisica e meccanica della plastica a contatto con l'ambiente (Thompson et al., 2009). L'inquinamento provocato dalle microplastiche nell'ambiente è un argomento di crescente interesse in quanto a causa della loro lenta degradazione e per le loro ridotte dimensioni queste particelle possono anche essere ingerite da diverse specie animali e la loro ingestione può provocare complicazioni a livello fisiologico con la possibilità di trasporto in diversi distretti dell'organismo e lungo la rete trofica, dando luogo a bioaccumulo (Wright et al., 2013). Oltre alle tecniche analitiche per la quantificazione e la determinazione della microplastica nelle diverse matrici ambientali sarà studiata la distribuzione nel nostro pianeta.

Poiché le microplastiche sono inquinanti emergenti attualmente non esistono limiti di legge, ma verrà presentata una panoramica riguardante i possibili impatti riguardanti la salute umana e le eventuali misure di sicurezza, che possono essere messe in atto per la minimizzazione di questi impatti.

CAPITOLO 1

PLASTICA E CONTAMINAZIONE

Con il termine plastica si identifica una vasta gamma di materiali sintetici o semi sintetici che vengono utilizzati in un numero sempre più crescente di prodotti e applicazioni. La caratteristica fondamentale che accomuna questi materiali è la “plasticità”, ovvero la proprietà generale di deformarsi irreversibilmente senza rompersi. Questa caratteristica unita ad un basso costo e proprietà chimiche-fisiche eccezionali fanno di questo materiale innovativo uno dei più utilizzati al mondo (Auta 2017; Brandon 2016). Per questi motivi la domanda globale annuale di materie plastiche è aumentata costantemente negli ultimi anni arrivando ai giorni d’oggi a un valore di circa 245 milioni di tonnellate (A. Andradý 2009).

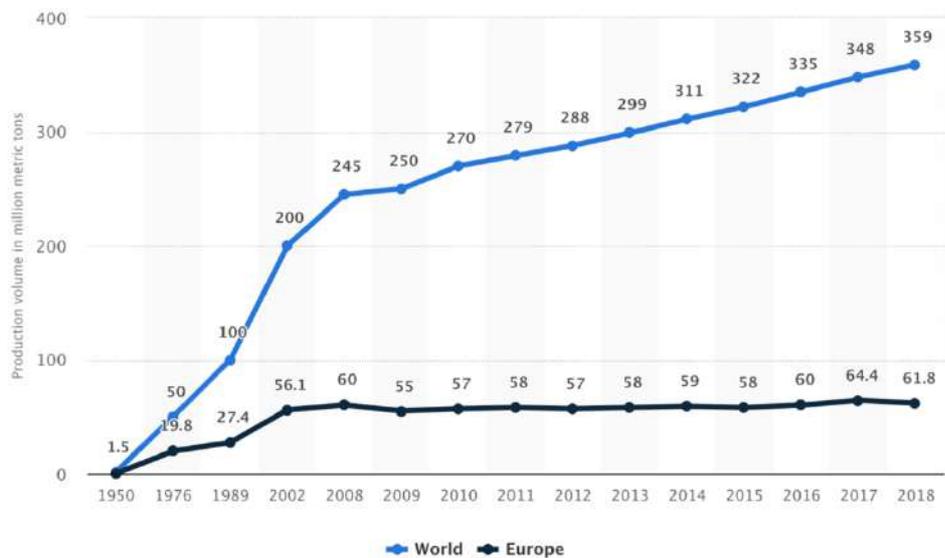


Figura 1.1: Crescita della produzione di plastica nel mondo e in Europa.

Le materie plastiche sono estremamente versatili, e ideali per una vasta gamma di applicazioni. Tra le importanti caratteristiche dei polimeri plastici, vanno ricordati l’isolamento termico e quello elettrico; va però ricordato che in particolari condizioni alcuni polimeri plastici potrebbero essere conduttori di elettricità (Andradý,

Microplastics in the marine environment 2011). Sono prodotti resistenti alla corrosione e all'usura e sono impiegati anche in ambienti difficili. Alcuni di questi, se lavorati appropriatamente, sono trasparenti, e quindi utilizzabili in dispositivi ottici (McKeen 2012). Possono essere inoltre sagomati con facilità in forme complesse, permettendo l'integrazione di altri materiali, e rendendo quindi la soluzione ideale per un'ampia varietà di funzioni. La plastica dunque, grazie agli innumerevoli vantaggi che offre, negli anni è andata a sostituire materiali più tradizionali come vetro, metallo e carta, soprattutto per quanto riguarda i prodotti monouso o gli imballaggi (Auta 2017). Sebbene si tratti di un materiale tipicamente "moderno", tanto da essere considerato uno dei simboli stessi della civiltà industriale, va sottolineato che sin dall'antichità l'uomo ha sempre ricercato e utilizzato propri polimeri di varia natura che trovava nell'ambiente in cui viveva; come ad esempio l'ambra. La storia della plastica come la conosciamo noi, inizia nel XIX secolo quando tra il 1861 e il 1862, l'Inglese Alexander Parkes, sviluppa gli studi sul *nitrato di cellulosa*, isola e brevetta il primo materiale plastico semisintetico, che battezza inizialmente Parkesine, e che si diffonderà poi come Xylonite. La Xylonite era un materiale che allo stato solido o liquido si presentava opaco, resistente all'acqua e colorabile. Le prime applicazioni sono state la produzione di manici e scatole, ma anche di manufatti dotati di una certa flessibilità come i polsini e i colletti delle camicie.

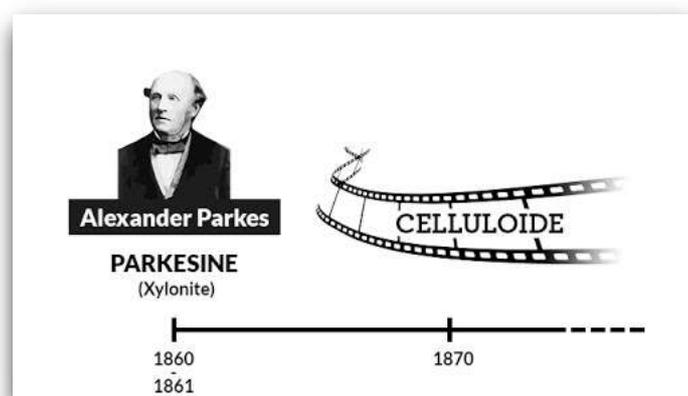


Figura 1.2: Nel 1860 Alexander Pankes brevetta il primo materiale plastico che battezza sotto il nome di Parkesine. Nel 1870 i fratelli Hyatt brevettano la formula della celluloida.

La prima vera affermazione del nuovo materiale si ha però solo qualche anno dopo, quando nel 1870 i fratelli Hyatt, americani, brevettarono la formula della *celluloide*. Questi avevano come obiettivo originario quello di sostituire l'avorio (costoso e difficilmente reperibile) nella produzione delle palle da biliardo.

Con il XX° secolo, la Rivoluzione Industriale entra nella sua seconda fase. È in questo scenario che nel 1907 il chimico belga Leo Baekeland ottiene in laboratorio la prima resina termoindurente di origine sintetica, che chiamerà nel 1910 con il nome di *Bakelite*. Dalla reazione derivava un prodotto resinoso che diventava plastico per riscaldamento al punto di poter essere compresso in stampi per ottenere oggetti di varia forma. Prolungando il riscaldamento nello stampo, il materiale induriva e manteneva permanentemente la forma data. Il successo del nuovo materiale fu travolgente e la Bakelite divenne in breve e per molti anni la materia plastica più diffusa ed utilizzata.

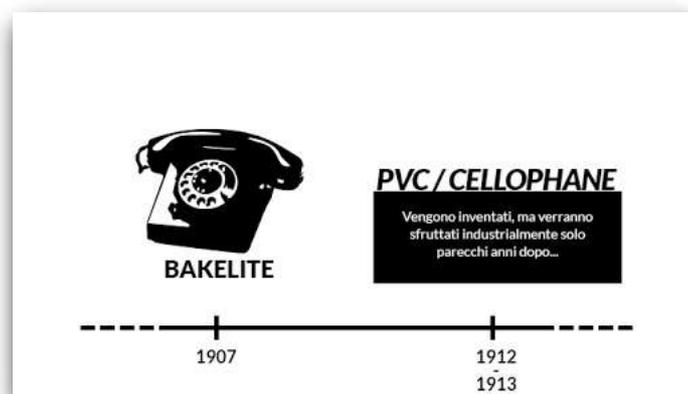
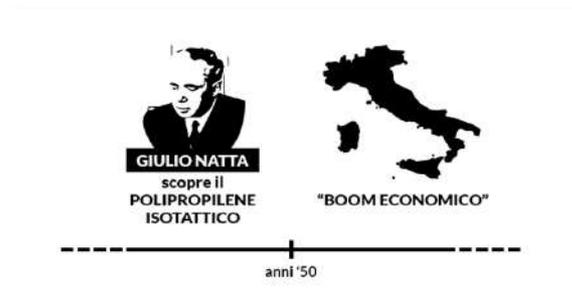


Figura 1.3: Nel 1907 il chimico Leo Baekeland sintetizza in laboratorio la Bakelite, la prima resina termoindurente della storia. Successivamente nel 1912 Fritz Klatte scopre il processo per la produzione del PVC e nel 1913 lo Svizzero Jacques Edwin Brandenberger scopre il Cellophane.

Da questo momento in poi la storia della plastica non conosce limiti ed è un continuo evolversi di scoperte ed invenzioni.

Di seguito vengono ricordate le principali date storiche:

- 1912 Il chimico Fritz Klatte, scoprì il processo per la produzione del *polivinilcloruro (PVC)*, questa scoperta avrà grandissimi sviluppi industriali solo molti anni dopo;
- 1913 Lo Svizzero Jacques Edwin Brandenberger scopre il *Cellophane* il primo materiale flessibile, trasparente ed impermeabile che trova subito applicazione nel campo dell'imballaggio;
- Nel 1930, e con la Seconda Guerra Mondiale, si ha il passaggio della plastica all'età così detta "adulta", questo grazie al miglioramento delle tecniche di produzione di massa;
- 1935 Wallace Carothers definisce per primo il *nylon (poliammide)*, un materiale che si diffonderà con la guerra al seguito delle truppe americane. Grazie alle sue caratteristiche che lo rendono assolutamente funzionale lo ritroviamo dall'industria tessile ai paracadute militari, inizia l'ascesa delle "fibre sintetiche";
- 1939 iniziano ad essere industrializzati i primi copolimeri cloruro-acetato di vinile. Saranno, da questo momento, in cloruro *polivinile (PVC)* i dischi fonografici.



Gli anni '50 vedono l'ascesa del Polietilene e nel 1954 il premio Nobel Giulio Natta scopre il Polipropilene isotattico.

Gli anni '60 vedono il definitivo affermarsi della plastica come materiale insostituibile della vita quotidiana.



Gli anni successivi sono segnati da un enorme impiego e sviluppo tecnologico grazie allo sviluppo dei "tecnopolimeri".

La plastica è un materiale non presente in natura ma ottenuto attraverso un processo industriale a più passaggi.

Tutte le materie plastiche sono polimeri, ma non tutti i polimeri sono materie plastiche. Il termine polimero e monomero derivano dalle parole greche: dove "poli" significa "molti", "mer" significa "unità ripetitiva" e la parola "mono" significa "uno". Questo significa letteralmente che un polimero è composto da molte unità ripetitive di monomeri. I polimeri sono molecole più grandi formate unendo covalentemente molte unità monomeriche insieme sotto forma di catene (Campbell 2000).

La parola plastica deriva da "plasticus" (in latino "in grado di modellare") e "plastikos" (in greco per "idoneo allo stampaggio").

La plastica quindi è un polimero organico ad alto peso molecolare composta da vari elementi come carbonio, idrogeno, ossigeno, azoto, zolfo e cloro. Può essere prodotta anche dall'atomo di silicio, noto come silicone, insieme al carbonio (Vert, 2012).

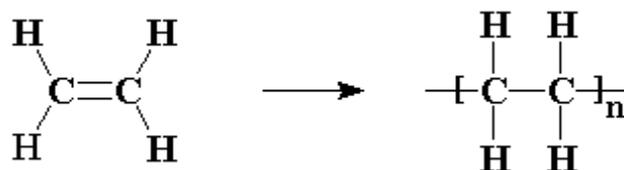


Figura 1.4: Esempio di formazione di un polimero partendo dal monomero base Etene e ottenendo alla fine del processo il Polietilene.

La lavorazione chimica ci consente di variare diversi parametri per ottimizzare le proprietà dei polimeri. Possiamo usare diversi elementi, cambiare il tipo di monomeri e riorganizzarli in diversi schemi per cambiare la forma del polimero, il suo peso molecolare o altre proprietà chimico-fisiche. Ciò consente alla plastica di essere progettata per avere le giuste proprietà per un'applicazione specifica (Andrady, The plastic in microplastics: A review 2017).

La maggior parte dei polimeri plastici proviene da idrocarburi derivati da petrolio greggio, gas naturale e carbone, ovvero fonti fossili.

Gli idrocarburi utilizzati per la produzione di polimeri plastici sono composti organici che contengono solamente atomi di carbonio e di idrogeno ampiamente usati come combustibili. Gli atomi di carbonio (C) sono legati tra loro a formare lo scheletro della molecola, mentre gli atomi di idrogeno (H) sporgono verso l'esterno di questa struttura. All'aumentare del numero di atomi di carbonio presenti nella catena idrocarburica aumenta il numero di composti idrocarburici possibili. La catena più corta possibile è composta da un solo atomo di carbonio, a cui corrisponde il metano, avente formula bruta CH_4 .

Gli idrocarburi aventi due atomi di carbonio ad esempio sono tre:

- l'etano, di formula C_2H_6
- l'etene (o etilene), C_2H_4
- l'etino (o acetilene), C_2H_2 .

Questi tre idrocarburi si differenziano per il numero di legami che tengono uniti i due atomi di carbonio contigui: un legame, per cui si parla di "legame semplice", nel caso

dell'etano. Due legami "legame doppio" nel caso dell'etilene, e tre legami "legame triplo" nel caso dell'acetilene.

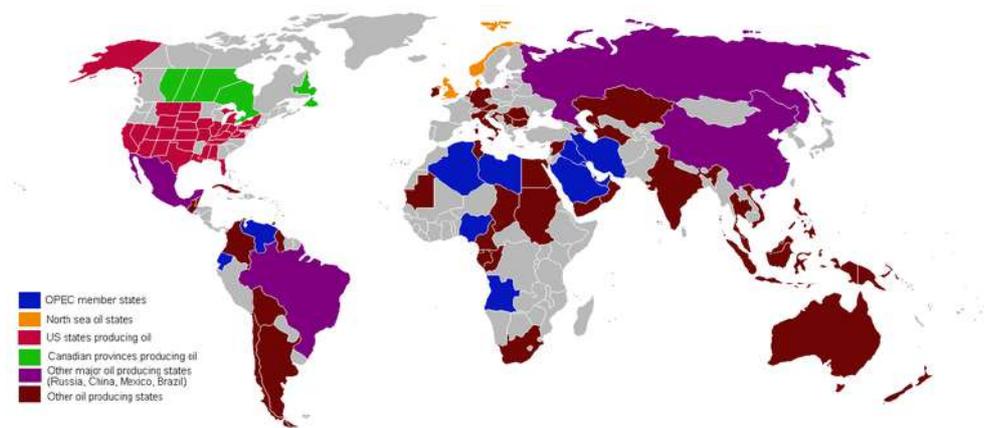


Figura 1.5: Cartina del planisfero che rappresenta I primi 20 paesi produttori di petrolio al mondo, dati relativi al 2011.

La plastica proviene da prodotti petrolchimici ed è prodotta dall'uomo attraverso un processo industriale.

Di seguito vengono riportati i passaggi della lavorazione del petrolio per ottenere alla fine del processo: il materiale plastico.

Processi di lavorazione del petrolio greggio:

- *Estrazione di petrolio:* Il petrolio viene pompato dal sottosuolo alla superficie dove viene poi inviato alle raffinerie. La trivellazione petrolifera può avvenire anche sotto l'oceano utilizzando il supporto di piattaforme.
- *Raffinazione del petrolio:* Il petrolio viene canalizzato attraverso un oleodotto che può essere lungo migliaia di chilometri e trasportato alla raffineria. Questo è un processo molto delicato in quanto la fuoriuscita di petrolio dalla condotta durante il trasferimento può avere conseguenze ambientali sia immediate che a lungo termine.



Figura 1.6: Oleodotto tra Tanzania e Zambia, uno degli ultimi ad essere stati progettati.

- *Distillazione di petrolio greggio e produzione di prodotti petrolchimici:* Il petrolio greggio è una miscela di centinaia di idrocarburi. Questo viene prima riscaldato in un forno, quindi la miscela risultante viene alimentata alla torre di distillazione frazionata. Questa colonna ha il compito di separare la miscela in diversi compartimenti chiamati frazioni. Esiste un gradiente di temperatura nella torre di distillazione in cui la parte superiore è più fredda rispetto alla base. La miscela di frazioni liquide e di vapore viene separata in base al peso e al punto di ebollizione. Quando i vapori incontrano una frazione liquida la cui temperatura è inferiore al punto di ebollizione del vapore si condensa parzialmente. Questi vapori di evaporazione del greggio si condensano a diverse temperature nella torre. I vapori di gas delle frazioni più leggere (benzina e gas di petrolio), fluttuano verso la cima della torre, le frazioni liquide di peso intermedio (distillati di cherosene e gasolio), restano nel mezzo, i liquidi più pesanti (chiamati gasoli) vengono separati in basso, mentre infine i solidi con i punti di ebollizione più alti rimangono alla base della torre. Ogni frazione della colonna contiene idrocarburi con un numero simile di atomi di carbonio. Molecole più piccole sono verso la parte superiore e molecole più lunghe vicino alla parte inferiore della colonna. In questo modo, il petrolio viene decomposto in gas di petrolio, benzina, paraffina (cherosene), nafta, olio leggero, olio pesante, etc. Dopo la fase di distillazione, gli idrocarburi a catena lunga ottenuti vengono convertiti in idrocarburi che possono quindi essere trasformati in molti importanti prodotti chimici che utilizziamo per la preparazione di una vasta gamma di prodotti applicabili dalla plastica ai prodotti farmaceutici.

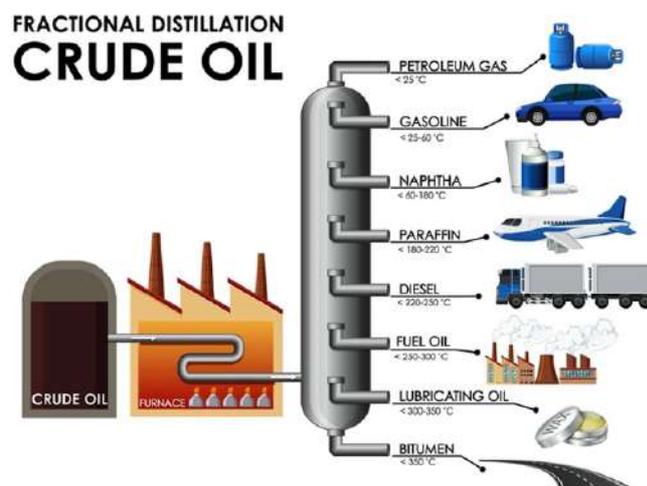


Figura 1.7: Schema illustrativo del processo di distillazione frazionata del greggio.

Il processo di *cracking* è il processo principale che scompone la miscela di idrocarburi complessi in alcheni, alcani, di massa molecolare relativamente bassa più semplici mediante l'alta temperatura e la pressione.

Il cracking può essere eseguito in due modi: *cracking termico* e *cracking catalitico*.

Lo “*steam cracking*”, (*cracking termico*), utilizza alte temperature e pressioni per rompere le lunghe catene di idrocarburi senza un catalizzatore. Mentre il “*cracking catalitico*” aggiunge un catalizzatore che consente al processo di avvenire a temperature e pressioni più basse. La materia prima utilizzata dall'industria petrolchimica è principalmente la nafta e il gas naturale provenienti dall'operazione di raffinazione del petrolio nella materia prima petrolchimica. Il cracking di vapore utilizza le materie prime della miscela di idrocarburi di varie frazioni come gas reagenti (etano, propano o butano) da gas naturale o liquidi (nafta o gasolio).

Polimerizzazione: Dopo il processo di cracking, a partire dalle diverse componenti appena separate è possibile ottenere polimeri differenti. Le molecole delle materie prime vengono convertite in monomeri come etilene, propilene, butene ed altri. Tutti

Di seguito vengono riportate le tecniche di polimerizzazione utilizzate:

Polimerizzazione per addizione: La polimerizzazione per addizione è uno dei processi più usati per sintetizzare polimeri. Nella polimerizzazione per addizione il polimero si forma attraverso la successiva unione di più molecole di monomero, che si aggiungono alla catena fino a costituire una molecola di peso molecolare elevatissimo, cioè una macromolecola. Il polimero così ottenuto è formato da una lunga serie di unità ripetitive legate tra loro attraverso legami covalenti. Tale processo può dar luogo alla formazione di ramificazioni, cioè catene secondarie, più corte, legate alla catena principale più lunga.

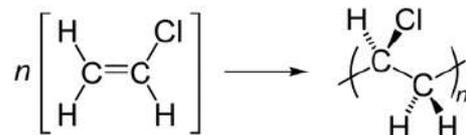


Figura 1.10: Esempio di prodotto della polimerizzazione per addizione, partendo dal vinilcloruro si ottiene il polivinilcloruro (PVC).

Polimerizzazione di condensazione: In questo caso, due monomeri si combinano per formare un dimero rilasciando un sottoprodotto. I sottoprodotti che si creano devono essere rimossi per il successo della reazione, il più comune che si va a formare è l'acqua, che viene trattata e smaltita facilmente. I sottoprodotti possono anche essere materie prime preziose che vengono riciclate nel flusso di alimentazione.

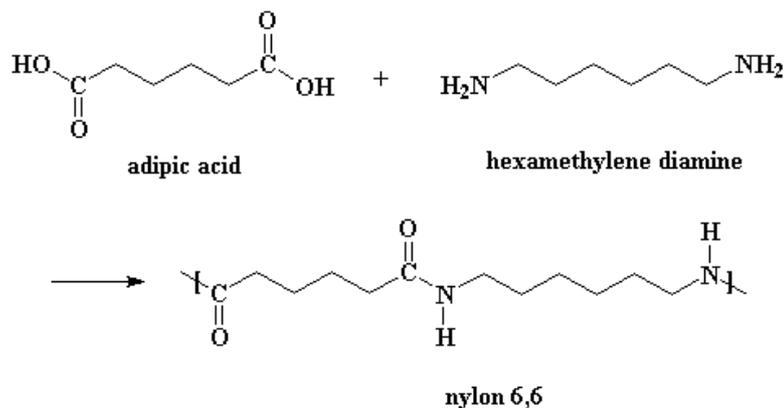


Figura 1.11: Un esempio di policondensazione è dato dalla formazione della molecola del nylon 6,6 a partire dall'acido adipico e dalla esametildimmina.

Esistono diverse tipologie di plastica, ognuna con delle proprietà specifiche che possono cambiare in colorazione, flessibilità, morbidezza e proprietà ottiche (Campbell, 200).

I prodotti in plastica sono polimeri che vengono poi miscelati con una serie di additivi e plasticizzanti. Questi composti conferiscono alla plastica delle proprietà specifiche per il loro utilizzo. Nel 1988 la SPI, Society of the Plastics Industry, ha istituito un sistema di classificazione per consentire l'identificazione dei diversi tipi di plastica in commercio ai fini, anche, di un corretto riciclo (Vert, 2012).

I produttori inseriscono un codice SPI in ogni singolo prodotto di plastica, solitamente stampato sul fondo. Questa guida fornisce uno schema di base dei diversi tipi di plastica associati a ciascun codice.

Plastic Type	General Properties	Common Household Uses
 PETE Polyethylene Terephthalate	Good gas & moisture barrier properties High heat resistance Clear Hard Tough Microwave transparency Solvent resistant	Mineral Water, fizzy drink and beer bottles Pre-prepared food trays and roasting bags Boil in the bag food pouches Soft drink and water bottles Fibre for clothing and carpets Strapping Some shampoo and mouthwash bottles
 HDPE High Density Polyethylene	Excellent moisture barrier properties Excellent chemical resistance Hard to semi-flexible and strong Soft waxy surface Permeable to gas HDPE films crinkle to the touch Pigmented bottles stress resistant	Detergent, bleach and fabric conditioner bottles Snack food boxes and cereal box liners Milk and non-carbonated drinks bottles Toys, buckets, rigid pipes, crates, plant pots Plastic wood, garden furniture Wheeled refuse bins, compost containers
 v Polyvinyl Chloride	Excellent transparency Hard, rigid (flexible when plasticised) Good chemical resistance Long term stability Good weathering ability Stable electrical properties Low gas permeability	Credit cards Carpet backing and other floor covering Window and door frames, guttering Pipes and fittings, wire and cable sheathing Synthetic leather products
 LDPE Low Density Polyethylene	Tough and flexible Waxy surface Soft – scratches easily Good transparency Low melting point Stable electrical properties Good moisture barrier properties	Films, fertiliser bags, refuse sacks Packaging films, bubble wrap Flexible bottles Irrigation pipes Thick shopping bags (clothes and produce) Wire and cable applications Some bottle tops
 PP Polypropylene	Excellent chemical resistance High melting point Hard, but flexible Waxy surface Translucent Strong	Most bottle tops Ketchup and syrup bottles Yoghurt and some margarine containers Potato crisp bags, biscuit wrappers Crates, plant pots, drinking straws Hinged lunch boxes, refrigerated containers Fabric/ carpet fibres, heavy duty bags/tarpaulins
 PS Polystyrene	Clear to opaque Glassy surface Rigid or foamed Hard Brittle High clarity Affected by fats and solvents	Yoghurt containers, egg boxes Fast food trays Video cases Vending cups and disposable cutlery Seed trays Coat hangers Low cost brittle toys
 OTHER	There are other polymers that have a wide range of uses, particularly in engineering sectors. They are identified with the number 7 and OTHER (or a triangle with numbers from 7 to 19).	Nylon (PA) Acrylonitrile butadiene styrene (ABS) Polycarbonate (PC) Layered or multi-material mixed polymers

Figura 1.12: Classificazione delle materie plastiche secondo SPI (Society of the Plastics Industry)

Ad ogni materia plastica inoltre è associata una sigla, che permette una identificazione univoca del materiale di cui si sta parlando. Di seguito vengono riportate le sigle più utilizzate impiegate(Figura 1.13).

CA - Acetato di cellulosa	PMI - Polimetacrilimmide
CAB - Acetobutirrato di cellulosa	PMMA - Polimetilmetacrilato
CN - Nitrato di cellulosa	PMP - Poli-4-metilpentene-1
CP - Propionato di cellulosa	POM - Polioossimetilene, Poliformaldeide, Poliacetale
EP - Epossidi	PP - Polipropilene
MF - Melamina-formaldeide	PPE - Polifenilettere
PA - Poliammidi	PPO - Polifenilenossido
PAI - Poliammidiimmide	PPS - Polifenilensolfuro
PAN - Poliacrilonitrile	PS - Polistirene
PB - Polibutene-1	PSU - Polisolfone
PBT - Polibutilentereftalato	PT - Politiofene
PC - Policarbonato	PTFE - Politetrafluoroetilene (Teflon)
PCTFE - Policlorotrifluoroetilene	PUR - Poliuretano
PDAP - Polidiallftalato	PVB - Polivinilbutirrale
PE - Polietilene	PVC - Polivinilcloruro

Figura 1.13: Elenco delle sigle più utilizzate per identificare il materiale plastico.

I polimeri possono essere suddivisi nel seguente modo:

- *Polimeri Termoplastici:* Sono materiali che acquistano malleabilità sotto l'azione del calore. Possono essere modellati o formati in oggetti finiti e quindi per raffreddamento tornano ad essere rigidi, tale processo può essere ripetuto più volte;

- *Polimeri Termoindurenti*: Durante il riscaldamento questi materiali subiscono trasformazioni chimiche;
Passano da uno stato plastico ad uno stato rigido, o meglio reticolato, con la formazione di legami covalenti tra molecole. Se questi materiali vengono riscaldati dopo la reticolazione, non “rammolliscono” e non fondono, ma si decompongono carbonizzandosi;
- *Elastomeri*: La loro caratteristica fondamentale è una grande deformabilità ed elasticità. Possono essere sia termoplastici che termoindurenti.

in genere si utilizzano miscele di uno o più materiali con l’aggiunta di additivi.

Le miscele possono essere ulteriormente classificate in:

- *Fibre*: Sono materiali dotati di una notevole resistenza meccanica e hanno scarsa duttilità rispetto ad altri polimeri. Le fibre si allungano poco se sottoposte a trazione ma resistono ad alti carichi di rottura;
- *Materie plastiche*: Sono formulate a partire da termoplastici e termoindurenti;
- *Resine*: Sono materie plastiche particolari formulate a partire da termoindurenti;
- *Gomme*: Sono formulate a partire da elastomeri.

I prodotti finiti dunque, a loro volta, possono essere classificati come materiali termoplastici, termoindurenti ed elastomeri.

Materiali Termoplastici:

I materiali termoplastici si presentano come polimeri amorfi o parzialmente cristallini. Sono composti da macromolecole lineari o ramificate, si ammorbidiscono in modo ripetibile al riscaldamento fino a fondere e si solidificano raffreddando. Le materie termoplastiche sono saldabili. I semilavorati di materie termoplastiche dure possono essere ampiamente deformati a caldo.

A seconda del campo di applicazione, le materie termoplastiche vengono suddivise in:

- Materie plastiche di serie, come ad esempio polietilene (PE), polistirene (PS), policloruro di vinile duro o tenero (PVC-H, PVC-W), polipropilene (PP), policarbonato (PC);
- Materiali tecnoplastici come poliammide (PA), poliossimetilene (POM);
- Polimeri ad elevate prestazioni, come per esempio poliacrileterechetone (PAEK).

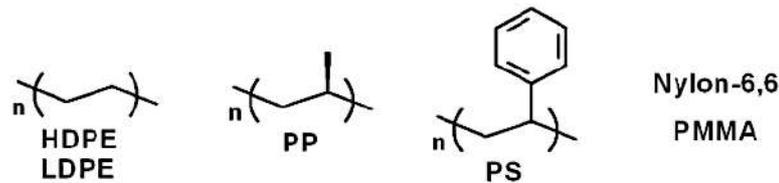


Figura 1.14: Esempi di materiali termoplastici.

Materiali Termoindurenti:

Se i materiali plastici termoindurenti vengono riscaldati, il loro comportamento meccanico non va a modificarsi di molto. Questi non sono reticolati prima della lavorazione e si induriscono nella forma definitiva per riscaldamento o con l'aggiunta di un "indurente".

Dopo questo passaggio le materie plastiche termoindurenti sono particolarmente resistenti al calore e ai prodotti chimici e non si possono più deformare in modo plastico. L'operazione non è ripetibile. Questi materiali sono più duri e più fragili di quelli termoplastici.

Le materie plastiche termoindurenti non sono saldabili, se indurite per invecchiamento in solventi organici non sono solubili, talvolta espansibili.

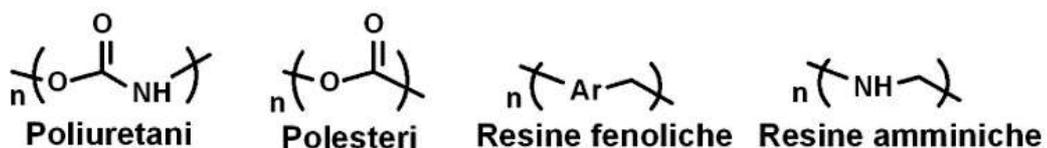


Figura 1.15: Esempi di materiali termoindurenti.

Elastomeri:

Gli elastomeri sono materiali plastici che si contraddistinguono per l'elevata elasticità in un ampio range di temperature. A seconda del tipo sono più o meno elastici, come l'ebanite o la gomma. Dopo la dilatazione, l'elastomero torna quasi completamente allo stato originario e riprendo le dimensioni iniziali.

La lavorazione degli elastomeri avviene di norma allo stato plastico prima della reticolazione, aggiungendo un acceleratore di reticolazione. Di seguito vengono riportati alcuni esempi di gomme:

- naturale (NR)
- cloroprene (CR)
- acrilonitrile-butadiene (NBR)
- terpolimero etilene-propilene (EPDM)
- stirene-butadiene (SBR)

Data la sua versatilità, la vasta gamma di prodotti, e le sue caratteristiche intrinseche non è difficile pensare quindi che la plastica negli anni ha visto la sua produzione aumentare in modo vertiginoso.

Nel 1950 si producevano “solo” 2 milioni di tonnellate all'anno, ma da allora la produzione annuale è aumentata di quasi 200 volte raggiungendo i 381 milioni di tonnellate nel 2015. (La breve flessione della produzione annuale tra il 2009 e il 2010 è principalmente il risultato della crisi finanziaria globale del 2008) (Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. 2017)

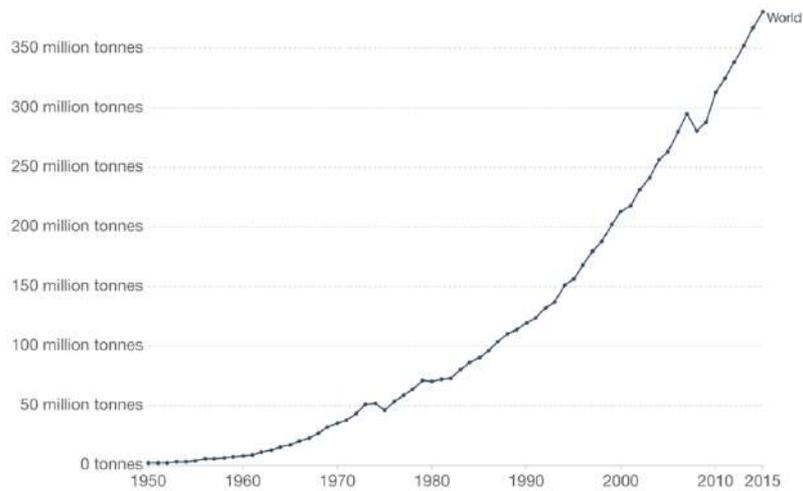


Figura 1.16: Produzione globale della plastica dal 1950 al 2015.

Grazie alle sue caratteristiche chimico-fisiche eccellenti è oggi impiegata in praticamente qualsiasi settore (Geyer et al., 2017). Tra tutti spicca di rilevante importanza il “packaging” dove secondo le stime vengono utilizzate ogni anno 141 milioni di tonnellate di materiale plastico. Il settore edile e delle costruzioni registrano invece il 19% del totale, e a seguire gli altri riportati nel grafico seguente (Geyer, R., Jambeck, J.R., Law., K. L. 2017).

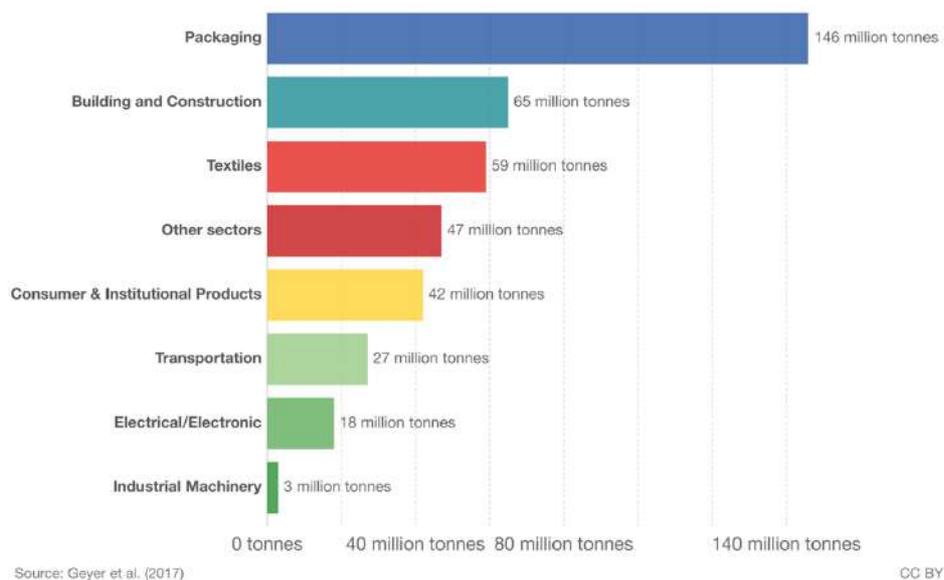


Figura 1.17: Produzione della plastica per i diversi settori industriali, calcolata in tonnellate per anno.

La plastica presenta dei vantaggi notevoli (flessibilità, durabilità, ecletticità, di utilizzo ecc.), ma è anche uno degli inquinanti più diffusi. È stato stimato che oltre 8 milioni di tonnellate di plastica entrano negli oceani ogni anno (Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady A. K.L. 2015). Per comprendere appieno gli impatti negativi di questa classe di materiali verso l'ambiente e in ultima analisi l'uomo è necessario studiare gli elementi della catena di produzione, distribuzione e gestione dei rifiuti di plastica. Questo è cruciale per valutare l'entità del problema e per progettare e attuare interventi efficaci.

La produzione globale di plastica primaria nel 2010 ammontava a 270 milioni di tonnellate (Figura 1.18). I rifiuti erano invece pari a 275 milioni di tonnellate. La produzione primaria annuale è quindi superata dai rifiuti e dal mancato riciclo di plastica.

Sempre riportando i dati relativi al 2010 i rifiuti di plastica in aree costiere (entro 50 chilometri dalla costa) ammontavano a circa 99,5 milioni di tonnellate. In quell'anno 8 milioni di tonnellate di plastica sono entrate nell'oceano attraverso diversi percorsi, compresi i fiumi.

Le materie plastiche nelle acque superficiali degli oceani sono di molti ordini di grandezza inferiori rispetto alla quantità totale emessa nel mare. Questa discrepanza è nota come "*problema di plastica mancante*". Nonostante questo, la quantità esatta di plastica, considerando sempre le acque superficiali, non è nota con sicurezza ma le stime parlano di un valore complessivo che va da 10.000 a 100.000 tonnellate (Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. 2017).



Figura 1.18: Stima della plastica globale che entra negli oceani da fonti terrestri, sulla base del percorso dalla produzione primaria (dati relativi al 2010).

Quindi, da quanto osservato, si comprende molto bene che non sono i materiali plastici il problema ma bensì la scorretta gestione di quest'ultimi da parte dell'uomo. Le stime sulla percentuale di rifiuti di plastica “*inadeguatamente gestiti*”, e quindi a rischio di penetrazione negli oceani e in altri ambienti sono rappresentati in figura 1.19.

I paesi così definiti ad “*alto reddito*”, come la maggior parte dell'Europa, del Nord America, dell'Australia, della Nuova Zelanda, del Giappone e della Corea del Sud, dispongono di infrastrutture e sistemi di gestione dei rifiuti molto efficaci. Ciò significa che i rifiuti di plastica eliminati, anche quelli che non sono riciclati o inceneriti, sono immagazzinati in discariche sicure e chiuse. Bisogna evidenziare però che ciò non significa che non vi sia plastica a rischio di penetrazione nell'ambiente naturale (Ambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., 2017).

In molti paesi a “*basso e medio reddito*”, le percentuali di rifiuti smaltiti in modo inadeguato sono invece molto elevati. In molti paesi dell'Asia meridionale e dell'Africa sub-sahariana, tra l'80% e il 90% dei rifiuti di plastica viene smaltita in modo inadeguato e quindi il rischio di inquinare fiumi e oceani è molto elevato. Tutto

questo si riflette fortemente nella distribuzione globale dei rifiuti (Eriksen M. et al. 2014).

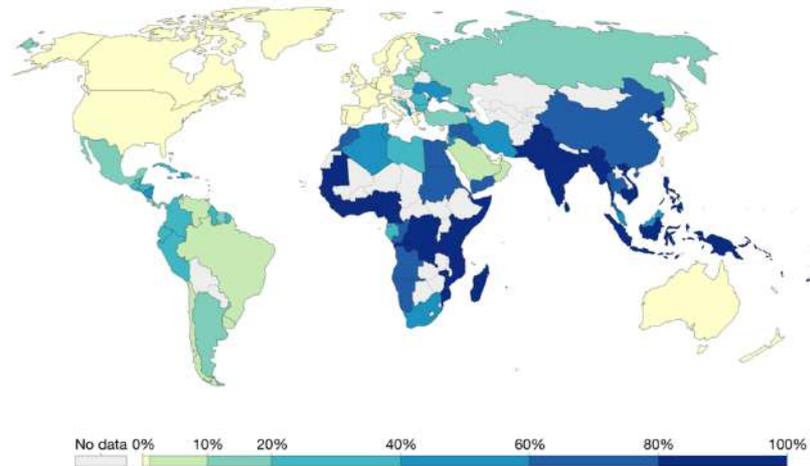


Figura 1.19: Distribuzione eterogenea dei rifiuti plastici nel mondo.

La Cina contribuisce alla più alta percentuale di rifiuti di plastica mal gestiti con circa il 28% del totale globale, seguita dal 10% dall'Indonesia, il 6% per le Filippine che per il Vietnam. Altri paesi leader includono la Thailandia (3,2%), Egitto (3%) Nigeria (2,7%) e Sudafrica (2%) (Ambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., Law, K. L. 2015).

Le previsioni per l'anno 2025, è mostrata in figura 1.20:

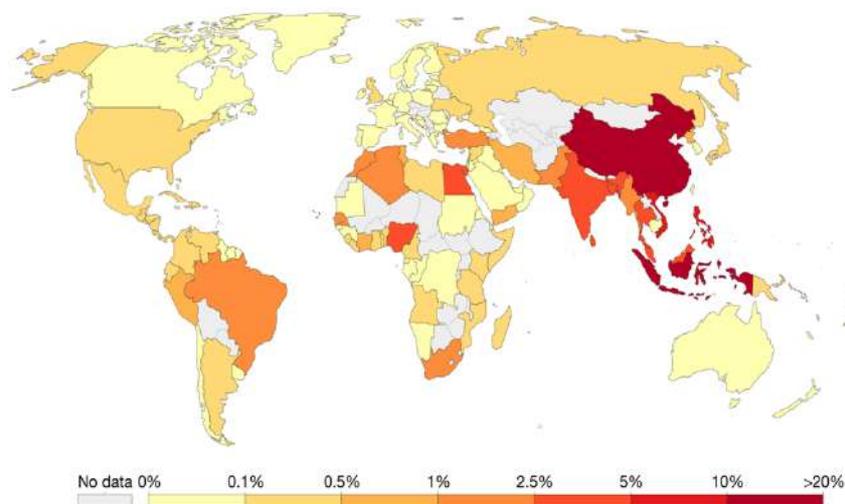


Figura 1.20: Previsioni future per la distribuzione di rifiuti plastici nel mondo.

Mentre il contributo della Cina dovrebbe diminuire di un paio di punti percentuali, l'Asia orientale e il Pacifico manterranno circa il 60% del totale. Il contributo dell'Asia meridionale, in gran parte guidato dall'India, potrebbe aumentare leggermente, così come l'Africa sub-sahariana. America Latina, Medio Oriente e Nord Africa, Europa e Nord America cadono tutti in termini relativi (Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., Law, K. L. (2015).

A livello globale, le migliori stime suggeriscono che circa l'80% delle materie plastiche oceaniche proviene da fonti terrestri e il restante 20% da fonti marine.

L'inquinamento è quello dalle flotte da pesca che rilasciano reti da pesca, corde, e talvolta navi abbandonate. Questo è supportato dai dati del Programma delle Nazioni Unite per l'ambiente (UNEP) che suggerisce che gli attrezzi da pesca abbandonati, persi o scartati contribuiscono per circa il 10% al totale delle materie plastiche oceaniche.

Altre stime assegnano un contributo leggermente superiore delle fonti marine, pari a 28% della plastica totale degli oceani.

Nel dettaglio, della plastica proveniente direttamente dagli oceani e dai mari si stima che le corde e le reti da pesca costituiscano per il 52% della massa plastica nel "Great Pacific Garbage Patch" (GPGP), e comprende il 46% della componente megaplastica del GPGP.

Un altro parametro molto importante da considerare è il contributo relativo all'inquinamento che possono dare i fiumi *Figura 1.21* (Lembreton et al. 2017).

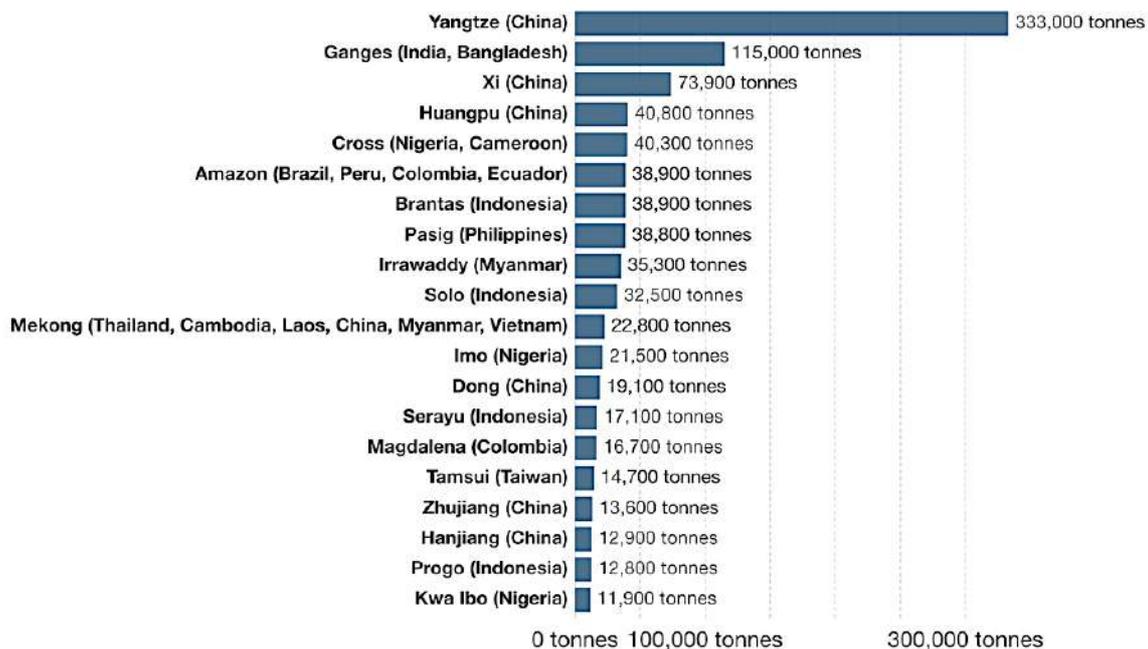


Figura 1.21: Lista dei fiumi più inquinanti e relativi valori dei materiali presenti.

La maggior parte dei fiumi si trova in Asia. Il fiume Yangtze risulta il più inquinato con circa 333.00 tonnellate di plastica nel 2015, cioè oltre il 4% dell'inquinamento plastico oceanico annuale (Lebreton, L. C., Van der Zwet, J., Damsteeg, J. W., Slat, B., Andrady, A., & Reisser, J. (2017).

La distribuzione e l'accumulo di materie plastiche oceaniche è fortemente influenzato dalle correnti oceaniche superficiali e dal vento.

In relazione alla loro densità, le plastiche possono galleggiare sulla superficie o rimanere nella colonna d'acqua; così possono accumularsi nei "gyres" oceanici, con alte concentrazioni nelle zone centrali degli oceani. Dopo l'ingresso negli oceani dalle regioni costiere, le materie plastiche tendono quindi a migrare verso il centro dei bacini oceanici.

Nel grafico vengono riportate le stime relative alla quantità di plastica nelle acque oceaniche superficiali (Figura 1.22) (Eriksen et al. (2014). Con 269.000 tonnellate di plastica sono presenti nelle acque oceaniche il Pacifico settentrionale risulta l'area oceanica con più plastica (Eriksen, M., Lebreton, L. C., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C., Reisser, J. 2014).

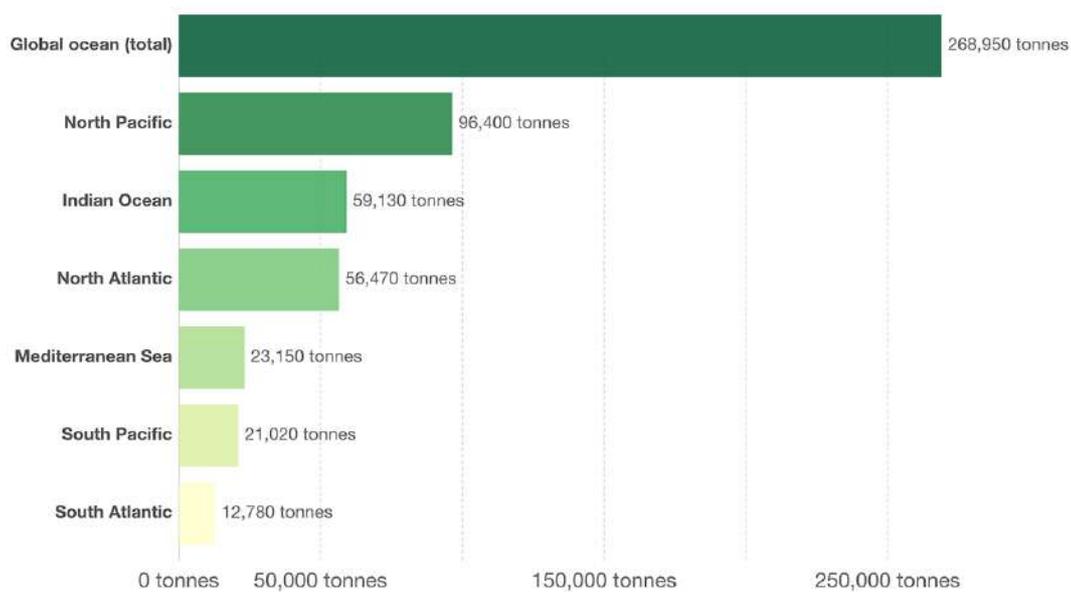


Figura 1.22: Stime relative alla quantità di materiale plastico nelle acque superficiali degli oceani e stima globale complessiva.

Tutto questo materiale proveniente da fonti di contaminazione differenti quindi, con il passare del tempo, si è andato ad accumulare andando a creare delle vere e proprie *isole di plastica* negli oceani.

Con il termine *isole di plastica* si definisce un enorme accumulo di rifiuti plastici galleggianti negli oceani che vanno a formare delle vere e proprie “isole”, perché mantenuti lì dall’azione delle correnti oceaniche (Arias 2007; Njuguna 2018).

Per comprendere la distribuzione spaziale di queste “isole” sono stati utilizzati dei *modelli di circolazione oceanica* (Arias 2007; Garcia-de-Lmas 2014) mirati all’identificazione dei possibili accumuli di plastiche nelle regioni subtropicali. La presenza di *isole di plastica* è generalmente in corrispondenza con vortici oceanici, ossia il punto di incontro delle correnti marine.

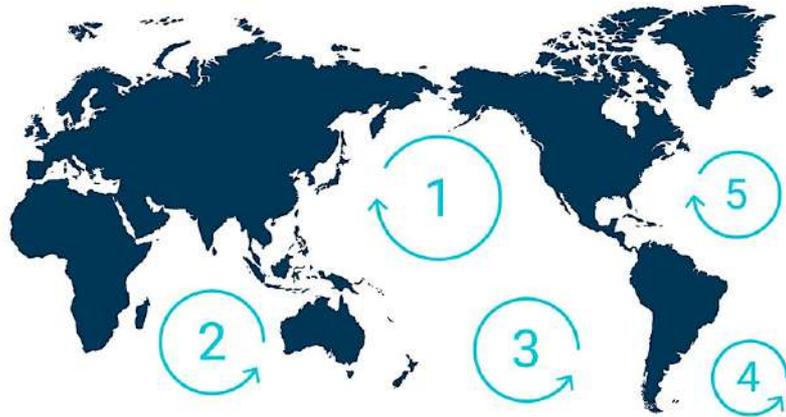


Figura 1.23: Principali zone di accumulo di materie plastiche negli oceani.

L'esempio più noto di questi grandi accumuli di plastica nelle acque superficiali è il "Great Pacific Garbage Patch" (GPGP).

Questo rappresenta la più grande delle cinque zone di accumulo di plastica *offshore* negli oceani del mondo e si trova a metà strada tra le Hawaii e la California (Bergmann and Klages, 2012).

A causa delle variabilità stagionale dei venti e delle correnti, la posizione e la forma del GPGP cambiano costantemente. Si stima che copra una superficie pari a 1,6 milioni di chilometri quadrati, una dimensione che risulta essere doppia rispetto allo stato del Texas o tripla se riportata a quella della Francia, per una massa totale di 80.000 tonnellate (Pichel et al., 2012). Attraverso studi condotti direttamente sul campo il modello di concentrazione di massa ha evidenziato che i livelli di concentrazione diminuiscono gradualmente di ordini di grandezza verso i confini esterni del GPGP.

Al centro sono contenuti materiali con densità più alta, raggiungendo i 100 di kg/ km² e diminuendo fino a 10 kg / km² nella regione più esterna. Questi risultati, dimostrano che l'inquinamento da plastica in mare, sebbene densamente distribuito all'interno della zona, è sparso, e non forma una massa solida, demistificando così il concetto di isola dei rifiuti. Questo modello risulta valido anche per le altre isole di plastica.

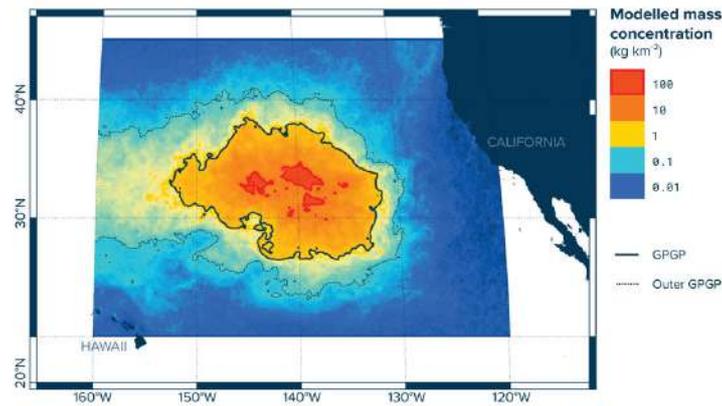


Figura 1.24: Densità di concentrazione delle plastiche nel GPGP.

Nella GPGP la maggioranza delle materie plastiche che sono state recuperate ed analizzate sono in polietilene rigido (PE), polipropilene (PP), e sono stati ritrovati molti attrezzi da pesca abbandonati, in particolare reti e corde (Lebreton, L., Slat, B. Ferrari, Noble K. 2018).

Circa il 52% delle materie plastiche proviene dall'attività di pesca e comprende lenze, reti e corde da pesca. Un ulteriore 47% proviene da plastica dura, fogli pellicole e il restante 1% è rappresentato da frammenti di differenti dimensioni. La maggioranza di lenze, reti, materie plastiche dure e film nel GPGP indica la presenza di una gran quantità di particelle che possono essere catalogate in base alla loro dimensione come mesoplastiche e macroplastiche (Lebreton, L., Slat, B. Ferrari, Noble K. 2018).

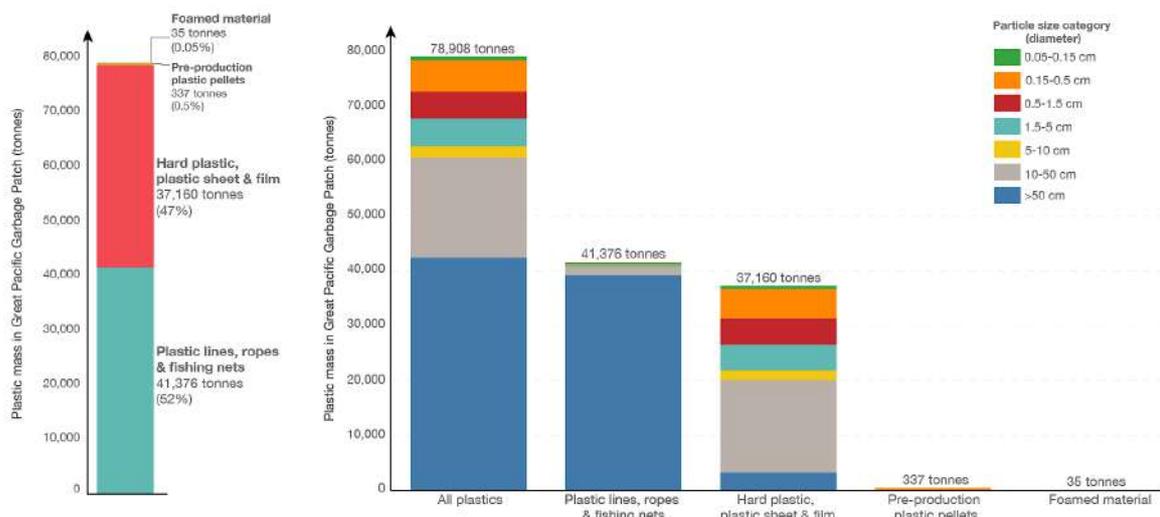


Figura 1.25: Catalogazione delle plastiche in base alla loro dimensione e in base alla loro provenienza nel GPGP.

Le plastiche sono state infatti catalogate in base alle loro dimensioni, sebbene non ci sia una concordanza univoca tra le varie fonti bibliografiche:

- Macroplastiche ($> 2,5$ cm)
- Mesoplastiche (tra 2,5 cm e 1 mm)
- Microplastiche (tra 5 mm e 1 μm)
- Nanoplastiche (tra 1 μm e 1 nm)

(Andrady et al., 2011; GESAMP, 2015)

Prendendo sempre in esame il caso del GPGP, le analisi hanno evidenziato che il 92% dei detriti trovati nella patch è costituito da oggetti più grandi di 0,5 cm e tre quarti della massa totale è costituita da macro e mega plastiche. Tuttavia, però, in termini di conteggio complessivo, il 94% del totale è rappresentato da microplastiche.

Uno dei problemi correlato all'accumulo di plastica negli oceani è legato a una delle proprietà migliori della plastica: la sua lentissima degradazione nell'ambiente in cui si trova. L'esposizione al sole, l'azione delle onde e del vento, della vita marina, nonché i cambiamenti di temperatura frammentano le macroplastiche in microplastiche.



Figura 1.26: Un agglomerato di plastica nell'oceano è costantemente esposto ad agenti degradanti che lo frammentano in dimensioni più piccole e a potenziale di pericolosità maggiore per gli organismi viventi.

CAPITOLO 2

MICROPLASTICA E CONTAMINAZIONE

Di “*microlitter*” o di “*plastic debris*”, ovvero di rifiuti marini, si comincia a parlare agli inizi degli anni '70 (Fowler, 1987, Carpenter et al., 1972, Carpenter e Smith, 1972, Coe e Rogers, 1996, Colton e Knapp, 1974). Inizialmente, questi studi non hanno attirato l'attenzione sperata da parte della comunità scientifica.

Nei decenni successivi, con l'accumulo di dati, l'argomento ha ricevuto un crescente interesse da parte della ricerca. Da allora è iniziato uno studio intenso, che si è concentrato anche sugli effetti che la plastica e i suoi frammenti di diverse dimensioni procurano agli organismi acquatici, come pesci e crostacei, ma anche agli organismi terrestri come uccelli e mammiferi (Laist, 1997, Clapham et al., 1999, Erikson e Burton, 2003).

L'ingestione di materiale plastico da parte di uccelli e tartarughe è documentata, e almeno il 44% delle specie di uccelli marini è venuto in contatto con materie plastiche (Mallory, 2008, Cadee, 2002, Mascarenhas et al., 2004, Bugoni e Krause, 2001, Tomas e Guitart, 2002). L'elevata incidenza di rifiuti plastici nel Pacifico settentrionale ha sottolineato la gravità della problematica ambientale negli oceani (Derraik, 2002, Page e McKenzie, 2004, Arthur et al., 2009). L'ingestione di materiale plastico da parte degli organismi viventi rappresenta un rischio per il biota; le microplastiche possono causare stress patologico, falsa sazietà, complicazioni riproduttive, blocco della produzione di enzimi, riduzione del tasso di crescita e stress ossidativo. Le microplastiche sono il risultato di vari processi di frammentazione un a causa di azioni biologiche e meccaniche (Andrady, *Microplastics in the marine environment* 2011; Brandon 2016; Cooper 2010; Wang 2016). La degradazione della plastica è un cambiamento chimico che riduce drasticamente il peso molecolare medio del polimero.

Poiché l'integrità meccanica delle materie plastiche dipende dal loro elevato peso molecolare medio, ogni grado significativo di degradazione indebolisce inevitabilmente il materiale (Andrady, 1994, Andrady, 1998, Eubeler et al., 2009).

La plastica galleggiante nei mari può essere dispersa per lunghe distanze dai venti e dalle correnti oceaniche (Eriksen 2014). Durante questa dispersione i polimeri subiscono un'azione di frammentazione dovuta all'interazione di processi fototermici e degradazione batterica (Cooper 2010).

Si possono distinguere diverse tipologie di degradazione della plastica:

- *Fotodegradazione*: Azione della luce (solitamente luce solare nell'esposizione esterna);
- *Biodegradazione*: Azione da parte di organismi viventi (microbi);
- *Degradazione termo ossidativa*: Degradazione ossidativa a temperature moderate;
- *Degradazione termica*: Azione dovuta ad alte temperature;
- *Degradazione meccanica*
- *Idrolisi*: Reazione con acqua.

Fotodegradazione: La fotodegradazione, detta anche degradazione foto-ossidativa, si verifica quando le materie plastiche sono esposte a radiazioni UV e ossigeno. Per essere in grado di assorbire energia luminosa e iniziare la reazione, la struttura polimerica della plastica deve contenere gruppi insaturi di cromofori. Tuttavia, nella maggior parte dei casi non è la catena polimerica stessa ad assorbire la luce UV, ma additivi come i pigmenti, ed impurità come residui di catalizzatore. L'intensità delle radiazioni UV dipende da molti fattori, come: la posizione geografica, il tempo e le stagioni. La radiazione UV in ogni caso rappresenta una delle principali cause di degrado dei materiali plastici presenti nell'ambiente.

Biodegradazione: La biodegradazione è il processo mediante il quale le sostanze organiche vengono scomposte dagli organismi viventi. Il materiale organico può essere degradato in aerobiosi (presenza di ossigeno) o in anaerobiosi (assenza di ossigeno). Microrganismi come batteri, funghi, e microbi sono coinvolti nella degradazione della plastica (Gu et al., 2000). Le materie plastiche che entrano nell'ambiente marino sono rapidamente colonizzate da microrganismi nativi, che portano alla biodegradazione del materiale, ma la loro biodegradazione è comunque un processo lento. Infatti, i polimeri plastici, come: PE, PP, PS, PVC e PET, sono considerati persistenti.

Degradazione termo-ossidativa: lenta degradazione derivante dall'ossidazione a temperature moderate.

Degradazione termica: La degradazione termica è il deterioramento molecolare dovuto al surriscaldamento. Ad alte temperature i componenti della catena del polimero possono iniziare a separarsi (scissione molecolare) e a reagire tra loro per modificare le proprietà del polimero. Le reazioni chimiche coinvolte nella degradazione termica portano a cambiamenti di proprietà fisiche e ottiche. Il degrado termico comporta cambiamenti nel peso molecolare del polimero e cambiamenti di proprietà come: ridotta duttilità, sfarinamento, variazioni di colore, screpolature e riduzione generale della maggior parte delle altre proprietà fisiche desiderabili (Olayan et al., 1996). La plastica contiene generalmente antiossidanti per prevenire l'ossidazione termica e il processo di degradazione termico può essere quindi lento alla temperatura ambiente, sebbene ogni 10 °C di aumento della temperatura ambiente determina un aumento doppio relativo alla velocità della reazione chimica. La degradazione termica può influenzare anche la mobilità della catena polimerica, che, a sua volta influenza l'attività enzimatica durante la biodegradazione. All'aumentare della temperatura le catene diventano più mobili e così diventa anche più facile per un enzima legarsi al gruppo funzionale giusto sulla catena polimerica.

Degradazione meccanica: Nell'ambiente marino, i polimeri plastici possono subire una frammentazione meccanica dovuta ad abrasione da parte di sabbia e pietre, onde o anche alta marea. Questa frammentazione meccanica porta alla formazione di pezzi

di plastica più piccoli. A differenza degli altri meccanismi di degradazione, nessun legame chimico specifico viene rotto durante tale degradazione meccanica.

Idrolisi: In questo processo il materiale polimerico reagisce con l'acqua. La reazione può essere catalizzata da acidi, basi o enzimi, e non è limitata alla superficie del materiale plastico, in quanto l'acqua può penetrare nel materiale. Ad esempio, per il PET l'idrolisi è lenta a causa dell'effetto stabilizzante dell'anello aromatico. L'idrolisi è un processo autocatalitico ed è molto più lento rispetto alla fotodegradazione. È importante sottolineare che i processi di degradazione ossidativa e idrolitica portano a una riduzione del peso molecolare delle catene polimeriche, causando la modifica delle proprietà meccaniche del materiale che diventa più fragile. Questo promuove la deformazione meccanica e determina la formazione di frammenti nanoplastici.

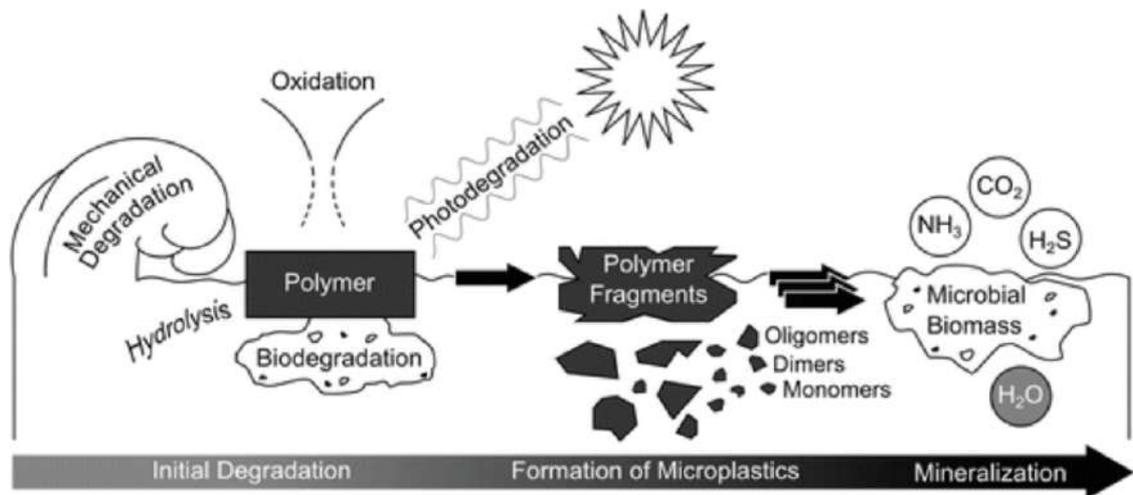


Figura 2.1: Rappresentazione dei vari processi di degradazione che agiscono in un polimero plastico in mare.

Le aree costiere e marine sono costantemente sottoposti ad impatti negativi da parte delle attività umane. Inquinanti organici persistenti (POPs), idrocarburi, elementi in tracce, e microplastiche possono avere impatti anche molto negativi sull'ecosistema (Andy et al., 2017).

Il "microlitter", il "plastic debris" e più in generale i rifiuti dispersi nel mare e negli oceani sono diventati un problema ambientale e globale (Shim e Thompson, 2015).

Il carico di rifiuti marini nei mari è un problema crescente e causa delle conseguenze biologiche ed ecologiche sempre più gravi (Alomar et al., 2016). La plastica entra nell'ambiente acquatico in una vasta gamma di dimensioni (Hidalgo-Ruz et al., 2012, Cole et al., 2011).

Le origini delle microplastiche possono essere attribuite a due fonti principali:

- introduzione diretta con deflusso.
- degradazione da parte di agenti atmosferici di meso e macroplastici.

Le microplastiche, possono entrare nell'ecosistema marino come microplastiche primarie, provenienti da diverse fonti, come ad esempio dai prodotti di bellezza (Maynard, 2006). Questi includono le particelle di plastica delle dimensioni di un micron che vengono generalmente utilizzate nei prodotti esfolianti, nelle formulazioni cosmetiche (Gregory, 1996, Fendall e Sewell, 2009), quelle generate nell'industria navale o dagli abrasivi industriali nella "sabbatura" sintetica (Reddy e Shaik, 2006).

Il principale meccanismo con il quale si generano la maggior parte delle microplastiche è senza dubbio l'erosione in situ di materiali mesoplastici e macroplastici nell'ambiente marino (Gregory and Andrady, 2003).

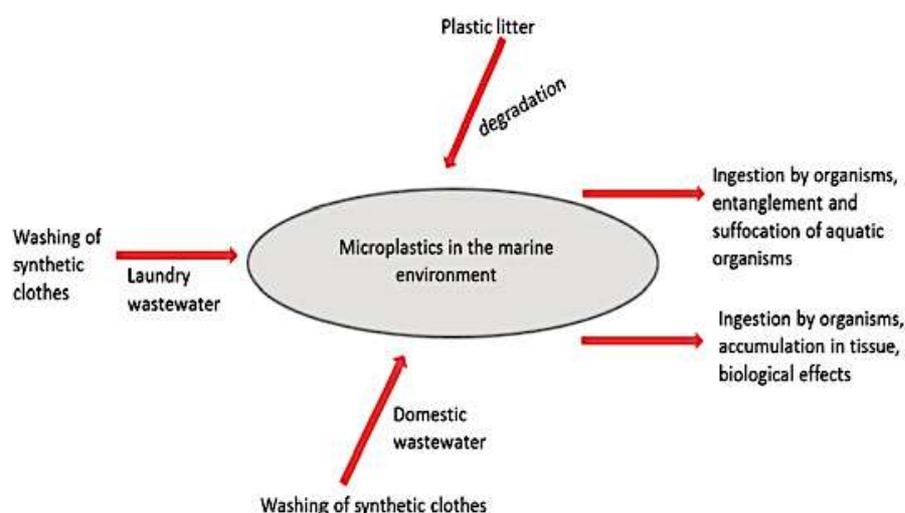


Figura 2.2: Rappresentazione delle fonti principali che generano microplastiche e gli effetti che queste provocano.

Tutte queste particelle possono raggiungere facilmente gli oceani e i mari di tutto il mondo tramite il deflusso. I rifiuti di plastica gestiti in modo non appropriato, si riversano su spiagge, acque superficiali e acque profonde, ma i tassi di azione da parte di agenti atmosferici in questi tre siti saranno molto diversi l'uno dall'altro cambiando anche dal luogo geografico in cui si trovano. A differenza di quelli che galleggiano nell'acqua, i rifiuti di plastica che si trovano sulle spiagge sono soggetti a temperature molto elevate. Con polimeri comuni come LDPE, HDPE, PP e nylon esposti all'ambiente marino, è principalmente la radiazione UV-B del sole che avvia il degrado foto-ossidativo. Una volta iniziata, la degradazione può anche procedere termo ossidativamente senza la necessità di ulteriore esposizione alle radiazioni UV. La sequenza di reazione di degradazione autocatalitica può progredire fino a quando l'ossigeno è disponibile per il sistema. Al momento della degradazione, il peso molecolare del polimero viene ridotto e nel polimero vengono generati gruppi funzionali ricchi di ossigeno. La degradazione avviene più rapidamente nei pellet vergini che non contengono stabilizzanti UV rispetto a quelli dei prodotti in plastica. Il risultato di questa modalità di degradazione ossidativa è uno strato superficiale debole e fragile che sviluppa numerose microfessurazioni come mostrato nelle microfotografie seguenti (Qayyum e White, 1993, Blaga e Yamasaki, 1976, Blaga, 1980).

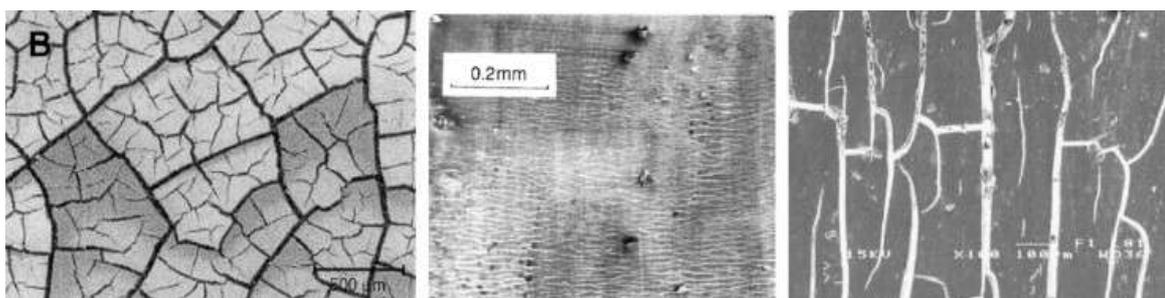


Figura 2.3: Fotografie al microscopio che mettono in evidenza la degradazione nelle superfici plastiche.

Altri tipi di processi di degradazione sono ordini di grandezza più lenti rispetto all'ossidazione indotta dalla luce. L'idrolisi di solito non è un meccanismo significativo nell'acqua di mare. Mentre tutti i biomateriali, compresa la plastica,

invariabilmente biodegraderanno nell'ambiente marino, il tasso di questo processo, anche nel sedimento bentonico, è più lento di parecchi ordini di grandezza rispetto alla degradazione ossidativa della plastica indotta dalla luce. La degradazione iniziata dalla radiazione UV solare è un meccanismo molto efficiente nelle materie plastiche esposte all'aria o sdraiate su una superficie della spiaggia. Un aspetto molto importante da considerare quando si parla della velocità di degradazione in ambiente marino è considerare se il materiale si trova nella terraferma o se galleggia in mare. Quando lo stesso materiale plastico viene esposto alla luce solare mentre si ritrova a galleggiare nell'acqua di mare, il degrado è molto ritardato. Questo rallentamento è dovuto principalmente a temperature relativamente più basse e alla minore concentrazione di ossigeno negli ambienti acquatici. A differenza dei campioni esposti in aria, le temperature dei campioni vengono mantenute a temperature più basse per effetto dell'acqua, ritardando così la reazione di degradazione. La discrepanza nei tassi di degrado (tra esposizioni aeree e galleggianti) è ulteriormente aggravata da effetti di incrostazione. Le materie plastiche galleggianti sviluppano, con il tempo, un ampio incrostamento superficiale, e si ritrovano rapidamente ricoperte superficialmente prima da un biofilm, in seguito da un tappeto di "alghe" e per ultimo una colonia di minuscoli microorganismi invertebrati (Muthukumar et al., 2011). I detriti plastici attaccati da agenti contaminanti, aumentano di densità con il progredire della sporcizia. Una volta che la densità supera quella dell'acqua di mare, il materiale può affondare ben al di sotto della superficie dell'acqua (Costerton e Cheng, 1987, Andrady e Song, 1991, Railkin, 2003). La successiva azione da parte di microorganismi nei fondali marini può ridurre notevolmente la densità del materiale causando così il ritorno dei detriti in superficie. Questo lento meccanismo di movimento ciclico dei rifiuti plastici fluttuanti, attribuito a questo cambiamento ciclico di densità, fu proposto da Andrady e Song (1991) e successivamente confermato da studi successivi (Stevens e Gregory, 1996, Stevens, 1992). I detriti "sporchi" possono aumentare di densità abbastanza da raggiungere le regioni bentoniche così che la plastica si ritrova comunemente nel benthos (Stefatos and Charalampakis, 1999, Katsanevakis et al., 2007, Backhurst and Cole, 2000).

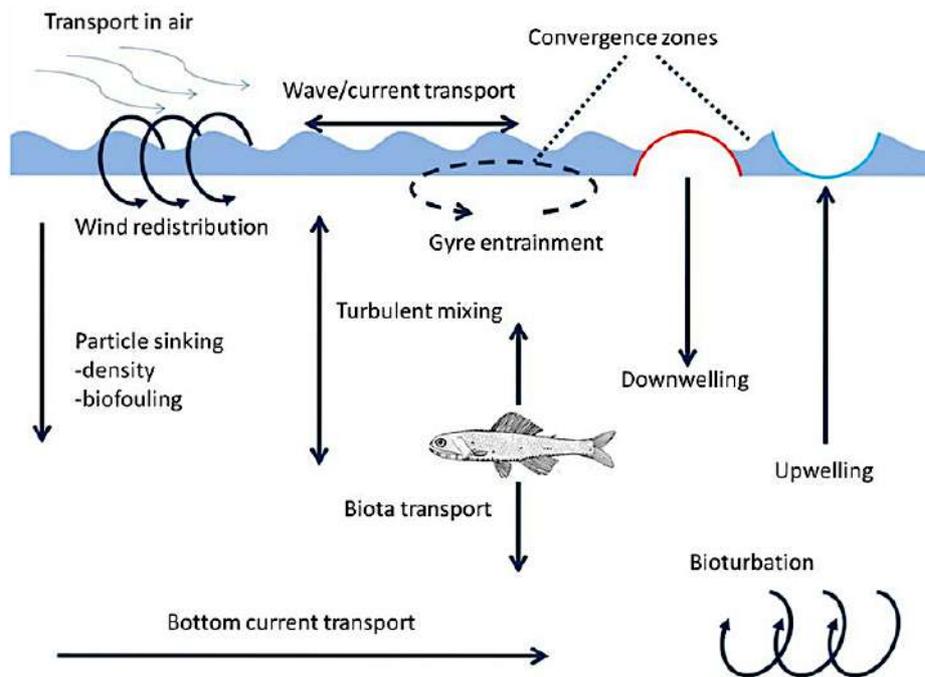


Figura 2.4: Rappresentazione dei processi che subiscono le particelle di microplastica in un ambiente marino.

Il sito più probabile per la generazione di microplastiche nell'ambiente marino è dunque la spiaggia. Il riconoscimento che le microparticelle sono generate molto probabilmente sulle spiagge, sottolinea l'importanza della pulizia di queste come efficace strategia di mitigazione. La rimozione di grandi pezzi di detriti plastici dalle spiagge prima che questi siano abbastanza fragili da subire degrado dalla superficie può avere un valore considerevole nel ridurre la quantità di microplastiche che altrimenti finirebbero nell'oceano. La pulizia della spiaggia può quindi avere un vantaggio ecologico che va ben oltre i miglioramenti estetici delle spiagge e, riducendo la microplastica, contribuisce alla salute della intera rete alimentare marina.



Figura 2.5: Frammenti plastici di diverse dimensioni provenienti da campioni di zone costiere.

Con il termine microplastica si intendono particelle contenenti polimeri solidi alle quali possono essere aggiunti additivi o altre sostanze per migliorarne le caratteristiche. Uno dei parametri che però deve essere rispettato è che queste presentino più dell'1% w/w con dimensioni comprese tra $1\text{nm} \leq x \leq 5\text{mm}$ o per fibre di lunghezza compresa tra $3\text{nm} \leq x \leq 15\text{mm}$, rapporto lunghezza/diametro >3 . Polimeri naturali che non hanno subito modificazioni chimiche (come l'idrolisi) sono esclusi da questa definizione (ECHA 2019).

Le microplastiche possono essere suddivise essenzialmente in due tipologie principali:

- Microplastiche primarie
- Microplastiche secondarie

Le *microplastiche primarie* sono materiali prodotti per particolari applicazioni industriali o per essere impiegate in molti materiali di uso domestico. Queste infatti vengono utilizzate in una lista infinita di prodotti come: detersivi per il viso, dentifricio, pellet di resina e cosmetici come: gel bagnodoccia, scrub e peeling (Cole et al., 2011), ombretti, deodoranti, cipria, fondotinta, mascara, crema da barba, prodotti per bambini, lozioni per bagnoschiuma, colorazione per capelli, smalto per unghie, repellenti per insetti e creme solari (Castañeda et al., 2014, Fendall e Sewell, 2009, Cole et al., 2011, Costa et al., 2010, Duis and Coors, 2016). Altri includono

anche nella lista l'abbigliamento sintetico, materiali abrasivi presenti in prodotti per la pulizia, e mezzi di sabbiatura (Gregory, 1996, Alomar et al., 2016). Questi prodotti di consumo sono caratterizzati da un "uso aperto" poiché sono destinati a essere lavati via e finire nelle fognature dopo un tempo molto breve dal loro utilizzo (Castañeda et al., 2014). Anche l'uso di microplastiche in medicina come vettori di farmaci è sempre più segnalato (Patel et al., 2009). Gli "scrubbers" in microplastica, utilizzati in prodotti esfolianti detergenti per le mani e per il viso, hanno sostituito materiali naturali tradizionalmente usati, come la pomice (Fendall e Sewell, 2009). L'uso di detergenti esfolianti contenenti materie plastiche è aumentato esponenzialmente quando negli anni '70 furono brevettati gli scrubber in microplastica all'interno dei cosmetici (Fendall e Sewell, 2009). Le analisi confermano la presenza di polietilene, polipropilene in granuli (<5 mm) e sfere di polistirene (<2 mm) in prodotti cosmetici (Gregory, 1996). Tipicamente commercializzati come materiali contenuti "microsfere" o "microesfoliati". Le materie plastiche variano in composizione, dimensioni e forma a seconda del prodotto. Le microplastiche sono state prodotte e utilizzate anche per nuove tecnologie di lavorazione come ad esempio nella sabbiatura ad aria. Pertanto, le microplastiche primarie, che possono essere fibre o particelle (Hidalgo-Ruz 2012), entrano nell'ecosistema acquatico anche viaggiando attraverso gli scarichi delle città. A causa delle loro piccole dimensioni infatti rischiano di sfuggire alla cattura dei sistemi di depurazione ed entrare nei mari (Jiang 2018, Wolff 2019, Blair 2019, Magni 2019).

Le *microplastiche secondarie*, invece, sono il risultato della frammentazione di plastiche di grandi dimensioni, in frammenti che possono originarsi sia durante l'uso, sia dal processo di degradazione nell'ambiente (Andrady, *Microplastics in the marine environment* 2011; Cole 2011; Auta 2017; Jiang 2018). I detriti di plastica più grandi sul mare e sulla terra si frammentano nel tempo in particelle più piccole fino a diventare microplastiche (Norwegian Environment Agency, 2015). Questi tipi di microparticelle vengono definite microplastiche secondarie. Un culmine di processi fisici, chimici e biologici riduce l'integrità strutturale dei detriti macroplastici, portando così alla frammentazione (Cole et al., 2011). Una combinazione di diversi fattori diversifica la modalità con cui possono frammentarsi i detriti più grandi.

L'esposizione della plastica alle radiazioni ultraviolette (UV) del sole provoca ad esempio la fotodegradazione della plastica.

Man mano che i grandi articoli di plastica si dividono in microplastiche, la loro abbondanza nell'ambiente marino aumenta, il che probabilmente aumenta il potenziale impatto sulla fauna selvatica. Quando la dimensione delle particelle diminuisce, aumenta, di conseguenza, la diversità degli organismi che possono ingerire i detriti. Pertanto, le particelle di plastica più piccole sono più facili da ingerire, aumentando così il rischio da parte degli organismi viventi (Law and Thompson, 2014, Shim and Thompson, 2015).

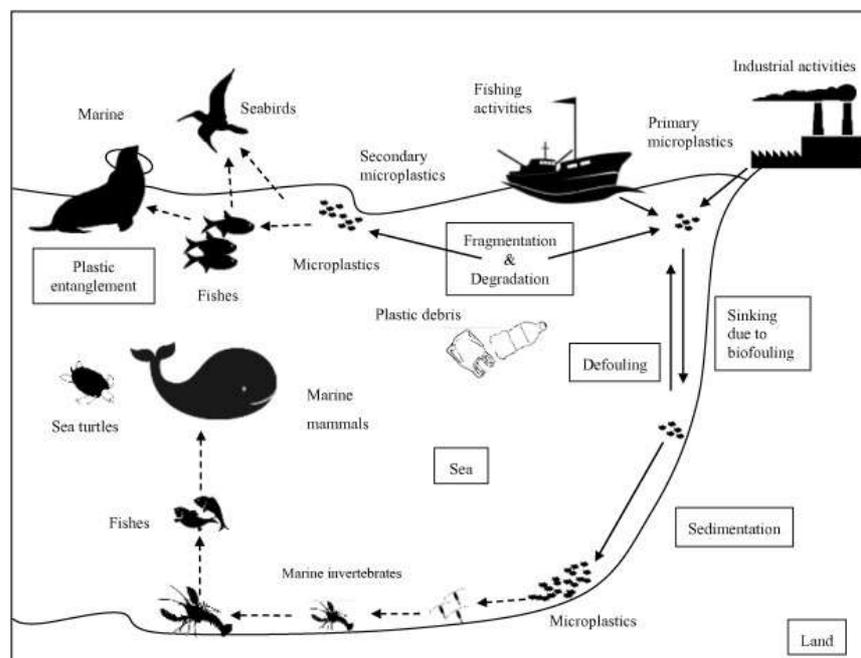


Figura 2.6: Ingestione delle microplastiche primarie e secondarie da parte degli organismi marini.

Entrambi i tipi di microplastica (primaria e secondaria) sono presenti, con certezza scientifica, negli ecosistemi marini ad alte concentrazioni.

È stato stimato che ogni anno vengono prodotte circa 245 tonnellate di microplastiche che finiscono nei bacini idrici dove vengono ingerite e incorporate nei corpi e nei tessuti degli organismi marini (Morris, 2015, Grossman, 2015).

Poiché le microplastiche sono state osservate in ogni comparto ambientale (acque marine e acque dolci, sedimenti, suoli e biota) è fondamentale poter conoscere le fonti ed i percorsi delle microplastiche nell'ambiente, ma per farlo sono necessari metodi standardizzati che permettono la quantificazione e la caratterizzazione (riconoscimento del polimero) delle microplastiche (Liu et al., 2018; Rillig, 2012, Faure et al., 2015; Morritt et al., 2014).

A causa della loro enorme quantità possiamo ritrovarle in tutte le matrici ambientali, come aria, acqua suolo e sedimento, ovviamente con concentrazioni diverse a seconda delle aree geografiche prese in esame. Anche il biota viene preso in considerazione in studi riguardanti la concentrazione di microplastiche. Di seguito, quindi, si prenderanno in considerazione le aree maggiormente colpite provando anche a capirne le ipotetiche cause. Le microplastiche sono trasportate e disperse negli oceani del mondo. Queste si possono trovare sulle coste, sulle spiagge, nei sedimenti dei fondali marini e sulle acque superficiali degli oceani, dall'Artico fino ad arrivare all'Antartico (IMO, 2015). La distribuzione nell'ambiente marino è influenzata dalla densità delle particelle, dalla posizione delle fonti e dal trasporto con le correnti e le onde oceaniche (Kukulka et al., 2012, Magnusson et al., 2016). La natura galleggiante e persistente delle microplastiche consentono loro di disperdersi facilmente e ampiamente attraverso processi idrodinamici e correnti oceaniche (Carvalho e Baptista Neto, 2016). La loro presenza comunque è stata ormai confermata in tutti gli ambienti marini. Spesso sono state trovate persino nei ghiacciai e nei luoghi più isolati del pianeta (Lusher et al., 2015, Lusher et al., 2015b, Gallagher et al., 2015) e). Studi hanno riportato che le microplastiche sono state rilevate a livello globale in numero crescente in fiumi e laghi a concentrazioni molto elevate. Sono principalmente composte da polivinilcloruro (PVC), nylon e polietilentereftalato (PET), che hanno maggiori probabilità di affondare nell'acqua di mare, mentre polietilene (PE), polipropilene (PP) e polistirene (PS), galleggiano con facilità. Altri polimeri includono: alcool polivinilico (PA) e poliammide (PA) (Avio et al., 2016, Carr et al., 2016). Queste materie persistono nell'ambiente a causa della resistenza al degrado dei microrganismi (Yoshida et al., 2016). La presenza di queste piccole particelle di plastica è stata osservata sulla superficie degli oceani, delle colonne

d'acqua e nei sedimenti di acque profonde di tutto il pianeta, con concentrazioni maggiori nelle zone maggiormente urbanistiche e industrializzate (Van Cauwenberghe et al., 2015a, Van Cauwenberghe et al., 2015b). Le microplastiche sono state recentemente identificate come un importante problema globale emergente che colpisce gli organismi marini e infine anche gli esseri umani (Sutherland et al., 2010, Caruso, 2015, Wang et al., 2016). Negli ultimi quattro decenni si è verificato un aumento significativo delle concentrazioni di particelle di microplastica nelle acque superficiali degli oceani e di conseguenza è aumentata la preoccupazione per il potenziale impatto sull'ambiente marino. Le ricerche scientifiche sull'impatto delle microplastiche si sono intensificate, insieme, d'altro canto, all'interesse pubblico (GESAMP, 2015, Shim e Thompson, 2015).

Le microparticelle plastiche con densità maggiore di quella dell'acqua di mare affondano nei sedimenti dove si accumulano (Woodall et al., 2014, Alomar et al., 2016), mentre quelle a bassa densità galleggiano sulle superfici (Suaria e Aliani, 2014). L'aumento della densità, attraverso il “biofouling” da parte di organismi nell'ambiente marino, può provocare l'affondamento di microplastiche. Man mano che il biofouling avanza, aumenta anche la densità del materiale plastico e una volta che la densità diventa maggiore di quella dell'acqua di mare, il materiale plastico affonda in profondità (Andrady, 2011, Reisser et al., 2013, Jorissen, 2014). I sedimenti marini hanno un potenziale elevato di accumulo di microplastiche, e studi recenti hanno evidenziato una crescita sempre maggiore di questo fenomeno riscontrando, a lungo termine, elevate quantità di materiale nei fondali oceanici (Cozar et al., 2014, Nuelle et al., 2014). Concentrazioni molto elevate di microplastiche sono presenti oggi nei sedimenti marini: questi possono costituire il 3,3% del peso dei sedimenti su spiagge fortemente colpite da questo fenomeno (Van Cauwenberghe et al., 2015a, Van Cauwenberghe et al., 2015b, Boucher et al., 2016). È un dato di fatto ormai che aree di mare profondo, canyon sottomarini e i sedimenti marini costieri poco profondi sono diventati veri e propri giacimenti (Alomar et al., 2016, Pham et al., 2014). Le indagini sulla presenza di microplastiche nell'ambiente marino sono iniziate negli anni 2000. Recentemente, la ricerca ha dimostrato che queste hanno permeato in qualsiasi punto del nostro

ecosistema andando a contaminare anche il mare profondo e le isole dell'oceano centrale (Lusher et al., 2015a, Lusher et al., 2015b, Barnes et al., 2009, Ivar do Sul et al., 2013, Claessens et al., 2013).

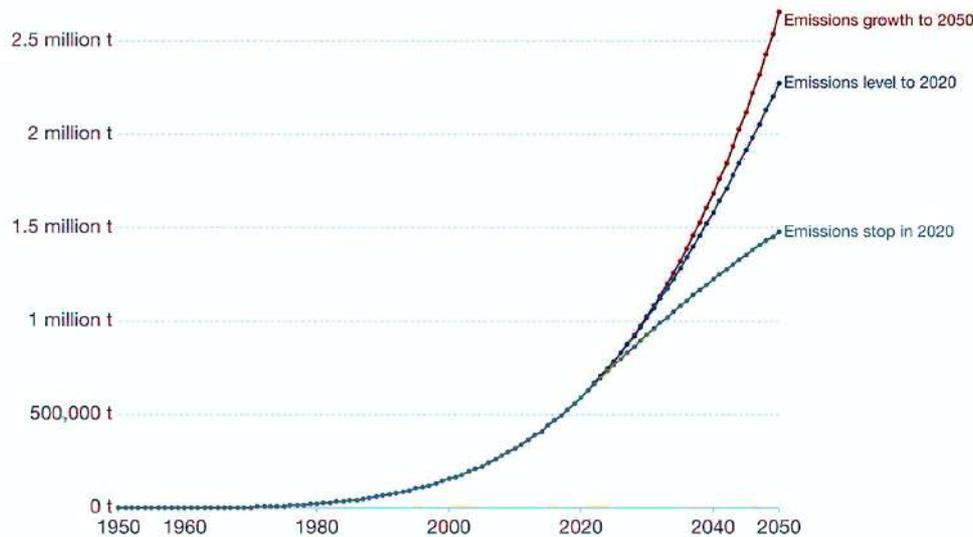


Figura 2.7: Rappresentazione grafica del futuro accumulo globale di microplastiche sulla superficie degli oceani (dal 1950 al 2050)

Di seguito vengono riportati alcuni esempi relativi alle concentrazioni di microplastiche in diverse aree geografiche del pianeta, più o meno industrializzate. Questi studi quantitativi permettono di avere una stima sul numero di particelle plastiche presenti in una matrice di un determinato ecosistema e consentono di capire in che situazione questo si trovi. Se risulta essere particolarmente gravosa, analisi più approfondite, a livello qualitativo, consentono di identificare una sorgente prima e quindi poi di operare su questa per ridurre le emissioni.

La distribuzione microplastica sulla superficie e sulle aree sub-superficiali delle acque artiche, a sud e sud-ovest delle Svalbard è stata stimata tra 0 e 1,31 particelle m^3 , in Norvegia invece i valori sono compresi tra 0 e 11,5 particelle m^3 (Lusher et al., 2015a, Lusher et al., 2015b). La composizione delle particelle ha suggerito che

potrebbero derivare dalla rottura di frammenti di macroplastiche andate in contro a degradazione o da acque reflue. Alte concentrazioni di microplastiche sono state ritrovate nei sedimenti nel Mare di Wadden e nell'estuario del Reno. Isobe et al. (2015) hanno studiato le concentrazioni nei mari dell'Asia orientale vicino al Giappone e sono stati registrati valori per un conteggio totale di circa 1,72 milioni di frammenti al km² (10 volte maggiore rispetto al Nord Pacifico e 27 volte maggiore rispetto agli oceani del mondo). In Sudafrica, le densità microplastiche nei sedimenti di spiagge variano da 340,7 a 4757 particelle m³, mentre quelle nella colonna d'acqua sono comprese tra 204,5 e 1491,7 particelle m³ (Nel e Froneman, 2015). Le concentrazioni di microplastica variavano da 8 a 9200 particelle m³ anche per le acque del Pacifico, e aumentano da 6 a 27 volte nelle isole West Coast di Vancouver, Straights of Georgia e Queen Charlotte Sound, British Columbia, Canada (Desforges et al., 2013). Una densità microplastica media di 20.264 particelle km² è stata registrata nel Lago di Hovsgol, in Mongolia (Free et al., 2014). Lusher et al. (2014), hanno studiato i livelli di microplastica nell'Oceano Atlantico nord-orientale e l'abbondanza media di microplastica che è stata calcolata si aggira circa a 2,46 particelle al m³. Questo studio è stato il primo a segnalare la natura onnipresente dell'inquinamento da microplastica nell'Oceano Atlantico settentrionale. Sono stati condotti inoltre studi sulla distribuzione, l'abbondanza e il possibile scarico di microplastiche attraverso le acque reflue urbane trattate negli estuari urbani. È stato osservato che gli impianti di trattamento delle acque reflue in Cina scaricano quotidianamente valori per circa 7 milioni di particelle di microplastica, mentre quelle trovate nel Midwest e nel nord-est degli Stati Uniti hanno registrato un totale di 2 milioni di particelle al giorno. La distribuzione di microplastiche nelle acque superficiali nella baia di San Francisco varia da 15.000 a 2.000.000 di particelle km² (Sutton et al., 2016). Gli studi hanno riferito che la Danimarca invece emette circa 21.500 tonnellate di microplastiche su base annuale che provengono da fonti primarie e secondarie, e circa 2000-5600 tonnellate che vengono scaricate annualmente nelle acque reflue da pneumatici e tessuti (Lassen et al., 2015). La Norvegia genera circa 8000 tonnellate all'anno (NEA, 2015). Antunes et al. (2013) hanno riferito che i detriti marini plastici medi lungo la costa portoghese sono pari a 2421 pezzi m².

La classe più dominante sono i pellet di resina, che rappresentano il 53% del totale dei detriti marini raccolti. Campioni di microplastica sono stati identificati e quantificati usando FTIR e SEM.

Tutti questi studi permettono di capire molto bene la gravità della situazione. Le statistiche sulla distribuzione della microplastica nell'ambiente acquatico mondiale sono, dunque, preoccupanti poiché le concentrazioni di inquinanti rilevate dagli esperti sono elevate. Questo crea preoccupazione soprattutto per quanto riguarda l'impatto di un'enorme distribuzione sulla vita acquatica. La *Tabella 1.2* mostra la distribuzione di microplastiche, nei diversi siti di studio sopracitati, in percentuale, e le loro concentrazioni nell'ambiente marino.

Marine environment	Distribution (%)	Concentration	Reference
North East Atlantic Ocean	89	2.46 particles m ⁻³	Lusher et al. (2014)
Arctic Polar Waters	95	0–1.31 particles m ⁻³	Lusher et al., 2015a, Lusher et al., 2015b
Laurentian Great Lake	20	43,000 particles km ⁻² to 466,000 particles km ⁻²	Eriksen et al. (2013)
Jade Bay, Southern North Sea	70	1770 particles L ⁻¹	Dubaish and Liebezeit (2013)
Northwestern Atlantic	60	2500 particles km ⁻²	Law et al. (2010)
Portuguese Coast	53	332–362 items m ⁻²	Antunes et al. (2013)
Mediterranean Sea	74	0.90 ± 0.10 microplastics g ⁻¹	Alomar et al. (2016)
Yangtze Estuary and East China Sea	90	0–144 particles m ⁻³	Zhao et al. (2014)
Beaches of Guanabara Bay, Southeast Brazil	56	12–1300 particles m ⁻²	Carvalho and Baptista Neto (2016)
Swedish Coast	–	150–2400 particles m ⁻³ to 68,000–102,000 particles m ⁻³	Lönnstedt and Eklöv (2016)
Chinese Bohai Sea	–	63–201 items kg ⁻¹	Yu et al. (2016)

Tabella 2.1: Distribuzione delle microplastiche in diversi ambienti marini, con relative percentuali e concentrazioni di contaminazione

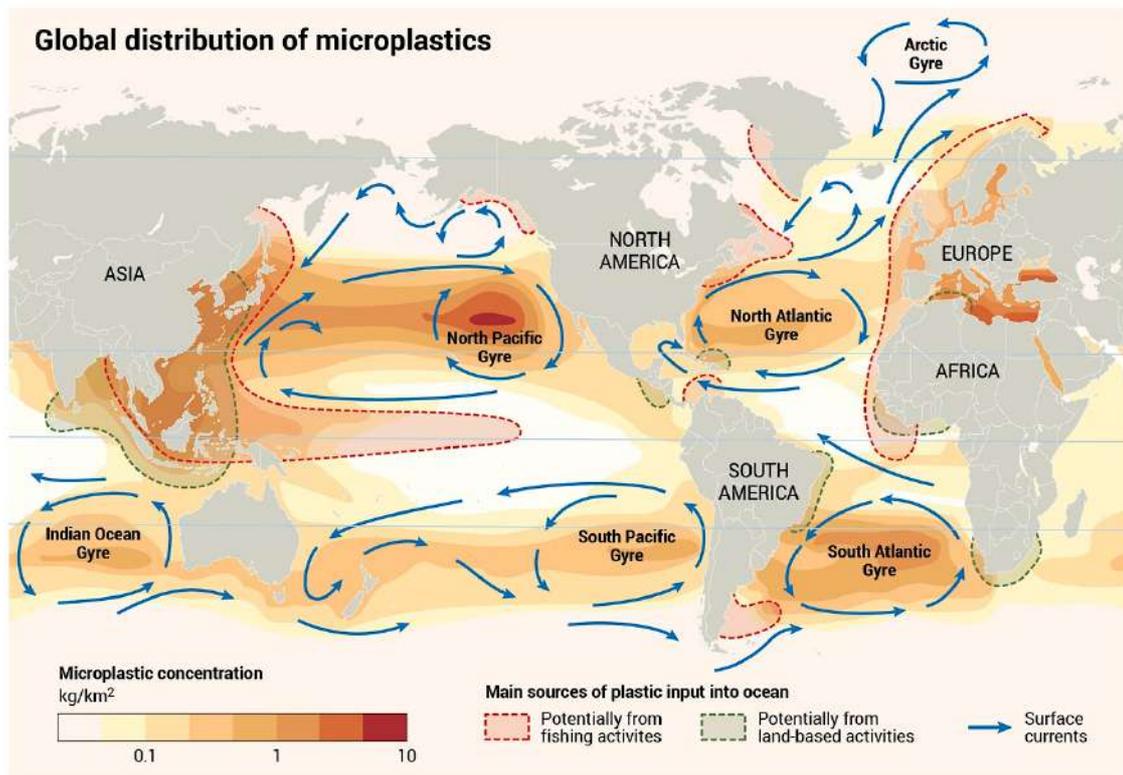


Figura 2.8: Distribuzione delle microplastiche a livello globale.

Alle microplastiche, dunque, sono correlati una serie di problematiche che riguardano la loro persistenza nell'ambiente e gravano sull'intero ecosistema. Quello che risulta di fondamentale importanza è l'uso di metodi analitici e strumentazioni adatte ad una corretta analisi in tutte le matrici in cui queste possono insediarsi. L'analisi quantitativa e qualitativa permette infatti di avere un'idea sul numero di particelle presenti in un determinato campione. Queste analisi però, non risultano essere semplici in quanto c'è bisogno di una metodologia specifica e adatta ad ogni situazione. Questa parte dal campionamento nel sito ipoteticamente contaminato fino ad arrivare alla interpretazione dei dati ottenuti dagli strumenti (Woodall et al., 2018; Turner e Renegar, 2017; Foden et al., 2008). La serie di passaggi eseguita ci consente poi di avere valori comparabili e discutibili, anche se questa cambia in base alla matrice che si va a prendere in considerazione. Ancora oggi infatti alcuni metodi sono in fase di sperimentazione e convalidazione. La complessità di questi processi quindi lascia un elevato margine di studio e sviluppo per i prossimi anni.

CAPITOLO 3

CARATTERIZZAZIONE MICROPLASTICHE

Di seguito verranno discussi i metodi e le strumentazioni adottate per determinare quantitativamente e qualitativamente le microplastiche nelle matrici ambientali, compreso il biota, con particolare attenzione al metodo e alla tecnica utilizzata.

3.1 ACQUA E SEDIMENTO

Il campionamento di microplastiche nelle acque superficiali, in colonna d'acqua e nei sedimenti richiede approcci diversi per ciascuno di questi. I campionamenti possono essere selettivi, ovvero il materiale viene campionato visivamente e raccolto direttamente dal campo d'azione, oppure ridotto in volume, ovvero concentrato rispetto al volume di partenza, questo per frammenti non visibili ad occhio nudo. Il campionamento selettivo consiste nell'estrazione diretta dall'ambiente di oggetti riconoscibili, generalmente sulla superficie di sedimenti (Andrady, 2011, Cole et al., 2011, Pham et al., 2014). Questo vale soprattutto per macroplastiche, in quanto la loro gamma dimensionale li rende facilmente riconoscibili nei depositi di galleggiamento delle spiagge. Tuttavia, quando i materiali plastici sono mescolati con altri detriti ci può essere il rischio di non campionarle.

Un'altra tecnica di campionamento può essere il campionamento in blocco. L'intero volume del campione viene prelevato, senza ridurlo durante il processo di campionamento. Questo è particolarmente favorevole quando le particelle non possono essere facilmente identificate visivamente, in quanto ricoperte da particelle di sedimento.

Campioni a volume ridotto si riferiscono invece a campioni in cui il volume globale viene solitamente ridotto, preservando solo la parte che è interessante per l'ulteriore elaborazione.

CAMPIONAMENTO DI ACQUE

Il campionamento di microplastiche nell'ambiente acquatico può essere differenziato tra il campionamento delle acque superficiali e quello della colonna d'acqua.

La distribuzione delle microplastiche è influenzata da fattori meteorologici, temporali e geografici (Facets, 2017). I risultati sono generalmente espressi come microplastiche totali per unità di campione, fornendo anche classificazioni dettagliate di classi dimensionali, colore e forma (fibra, particella, frammento).

Le microplastiche sono distribuite nella colonna d'acqua in base alle loro proprietà, quali densità, forma, dimensioni, e in relazione al vento, alle correnti e al moto ondoso. La quantità e la qualità delle microplastiche recuperate dipendono fortemente dalla posizione e dalla profondità del campionamento (Mar. Pollut. Bull, 2014).

I metodi di campionamento sono simili per entrambi i campioni di acqua dolce e salata, sebbene si possano trovare differenze nella distribuzione di microplastiche in ciascun sistema, influenzate da caratteristiche ambientali, come i profili idrodinamici e la densità. Le differenze di densità di acqua dolce e salata, rispettivamente di $1,00 \text{ g cm}^{-3}$ e $1,03 \text{ g cm}^{-3}$, possono portare a una distinta distribuzione di microplastiche nella colonna d'acqua in ciascun sistema (generalmente le microplastiche saranno a profondità più elevate nelle colonne d'acqua dolce). Pertanto, potrebbe essere necessario regolare la profondità e la posizione in base alla posizione e alla salinità del campionamento (Water Res, 2017). La rappresentatività può dipendere dal campionamento di grandi volumi di acqua, spesso ottenuto mediante riduzione in situ attraverso l'uso di reti, setacci o pompe. Il campionamento della superficie dell'acqua viene effettuato nella maggior parte dei casi con reti neuston o plancton supportate da un flussimetro per determinare il volume accurato del campione.

Queste reti sono utilizzate in maglie di dimensioni diverse che vanno da 50 a 3.000 micron, 300 micron è la dimensione di maglie più comunemente usata. Questo approccio porta al campionamento di microplastiche con particelle di dimensioni $<300 \mu\text{m}$ (Facets, 2017).



Figura 3.1.1: Rappresentazione di una rete Manta.

Meno frequentemente, un campione della fase acquosa viene prelevato sotto la superficie dell'acqua. Il campionamento della colonna d'acqua viene effettuato mediante filtrazione diretta dell'acqua con pompe sommerse.

Il traino di reti neuston o mante ($333 \mu\text{m}$) consente rispettivamente il campionamento di acque superficiali.

Le reti di plancton utilizzate nella manta trawl vengono solitamente trainate o rimorchiate a bassa velocità. Oltre al rimorchio o al trasporto orizzontale, queste reti consentono il campionamento verticale o obliquo. Un misuratore di portata viene collegato a tutte queste reti per consentire la stima del volume d'acqua campionato e l'espressione dei risultati per m^3 . Un'alternativa alle reti comprendono pompe che possono essere utilizzate dalla nave, o persino in vicinanza alle zone costiere.



Figura 3.1.2: Rappresentazione di una rete Plancton.

Le dimensioni delle maglie possono influenzare ampiamente le concentrazioni riportate. Ad esempio, una rete di nylon (100 μm) rileva concentrazioni quasi cento volte superiori a una manta (333 μm), rispettivamente 0,1 e 0,00135 MP L⁻¹ (Vermaire et al., 2016). Tuttavia, le mante consentono il campionamento di grandi volumi di acqua e sono ampiamente utilizzate consentendo una certa standardizzazione dei metodi. Le reti di plancton hanno anche maglie di dimensioni inferiori ($\sim 100 \mu\text{m}$), consentendo il campionamento in meno di un minuto e il recupero di concentrazioni 30 volte superiori rispetto alle mante. Tuttavia, le reti di plancton devono essere utilizzate per un breve periodo di tempo a causa del possibile intasamento con materiale organico e minerale in sospensione, limitando il volume di acqua campionata. Per quanto riguarda le fibre, una rete da 80 micron è in grado di filtrare 250 volte in più di fibre di una rete da 330 micron (Water Res, 2017).

I campioni d'acqua possono anche essere raccolti in bottiglie di vetro ed elaborati in laboratorio. Studi però hanno segnalando un'elevata variabilità del metodo. Pertanto, per ottenere rappresentatività potrebbe essere necessaria la raccolta di maggiori volumi di acqua. La riduzione della dimensione del campione può anche essere ottenuta in laboratorio mediante un pretrattamento con maglie di acciaio di dimensioni decrescenti. Per quanto riguarda la contaminazione, le reti di nylon e i sistemi di pompaggio possono essere una fonte di contaminazione microplastica mentre i setacci metallici e le bottiglie di vetro evitano l'uso di materiali plastici. Tuttavia, questi materiali privi di plastica sono generalmente associati alla

lavorazione di volumi limitati di acqua. Pertanto, può portare a una scelta difficile tra rappresentatività ed evitare potenziali contaminazioni. La definizione di un volume minimo di campione per raggiungere la rappresentatività potrebbe facilitare questa decisione e alleviare gli sforzi di campionamento.

CAMPIONAMENTO DI SEDIMENTO

La distribuzione di microplastiche sui sedimenti è irregolare, in gran parte influenzata dalle loro proprietà e fattori ambientali, come venti e correnti. I risultati dipendono in gran parte dall'area di campionamento (ad es. linea di alta marea, aree intertidali, transetti) e dalla profondità, poiché alcune aree possono contenere concentrazioni più elevate di microplastiche (Anal. Meth. 2017). Ad esempio, la raccolta di sedimenti sul bagnasciuga, che rappresenta un'area ad alto accumulo per le microplastiche, può comportare ad una sovrastima di queste. La raccolta di microplastiche sulle spiagge comprende il campionamento diretto con una pinza, la setacciatura e la raccolta di campioni di sedimenti. La raccolta di campioni dal fondo del mare richiede l'aiuto di una nave e l'uso di attrezzature specializzate che vengono abbassate sul fondale per raccogliere i campioni. Una stima accurata della concentrazione di microplastica nei campioni di sedimenti può richiedere la definizione della profondità di campionamento. I primi 1–5 cm presentano concentrazioni più elevate rispetto a profondità più elevate. I sedimenti costieri vengono raccolti paralleli, perpendicolari o selezionati casualmente in diverse distanze dalla linea costiera. La maggior parte degli studi riporta la raccolta di campioni di griglia con profondità di campionamento di 2-5 cm dello strato di sedimento superiore. Il prelievo del campione viene generalmente eseguito con cucchiai, spatole o pale in acciaio inossidabile (Mar. Pollut. Bull. 2017). Inoltre, la procedura di campionamento utilizzata influirà sulla modalità di comunicazione dei risultati corrispondenti. Ad esempio, studi che utilizzano campionamento a griglia riportano i risultati per superficie campionata (m^2), mentre gli studi basati su campioni di massa aerea forniscono i risultati riferiti al volume o alla massa del campione raccolto (m^3 o kg).

Durante il campionamento e la preparazione del campione, è importante evitare il contatto con materie plastiche per minimizzare la contaminazione.

Se i contenitori di plastica sono inclusi per il trasporto, è necessario analizzare anche i campioni vuoti per quantificare il loro contributo al carico microplastico del campione. In generale, negli studi di microplastica è necessario prendere in considerazione campioni bianchi per stimare il limite di quantificazione di ciascun metodo utilizzato, poiché il limite di quantificazione (LOQ) è principalmente influenzato dalla contaminazione di fondo. Inoltre, l'intero metodo a partire dalla preparazione del campione fino alla rilevazione analitica deve essere valutato criticamente. Pertanto, deve essere eseguita una corretta validazione, che consente anche una buona comparabilità tra diversi studi. Questo include, ad esempio, la determinazione delle variabilità all'interno del sito per il processo di campionamento o la determinazione dei tassi di recupero per i metodi di separazione utilizzati durante la preparazione del campione.

Le microplastiche devono essere successivamente separate dai campioni di acqua e sedimenti per essere quantificate e caratterizzate (European Commission, 2013). I campioni possono essere sottoposti a due fasi di separazione: una fase di riduzione che consente di ridurre il volume del campione mediante l'uso di reti durante la raccolta. Oppure la raccolta in serie seguita da setacciatura, e una fase di separazione che solitamente avviene attraverso filtrazione o separazione per densità. La separazione della densità mediante l'uso di NaCl è raccomandata sia dal sottogruppo tecnico MSFD (2013) che dal NOAA (Miller et al 2017). Sono stati sviluppati diversi metodi che consentono la separazione meccanica delle microplastiche dal sedimento e la rimozione dei detriti naturali nel campione prima dell'analisi delle particelle separate. Sono utilizzate inoltre diverse tecniche durante il trattamento del campione e l'identificazione della microplastica. Poiché non tutti gli studi hanno condotto ad una validazione del metodo, inclusa la determinazione del recupero delle particelle microplastiche, i dati che si ottengono possono mancare di comparabilità.

SEPARAZIONE DI MICROPLASTICHE DAL CAMPIONE DI SEDIMENTO

Contrariamente alle microplastiche in acqua, che sono facilmente filtrate dal campione durante il processo di campionamento, una tecnica per la separazione di particelle di plastica da particelle di sedimenti è la separazione per densità. In una soluzione ad alta densità, le particelle di microplastica si separano dal sedimento e galleggiano sulla superficie della soluzione. Numerose tecniche sono descritte in letteratura, molte delle quali basate sulla separazione introdotta da Thompson et al.. Oltre al cloruro di sodio, possono essere utilizzati ioduro di sodio e cloruro di zinco. Lo ioduro di sodio, il tungstato di sodio e il cloruro di zinco offrono la possibilità di produrre soluzioni con densità più elevate rispetto al cloruro di sodio. Poiché la densità di una soluzione satura di cloruro di sodio è piuttosto limitata e non offre una separazione coerente di polimeri a densità più elevata come poliossimetilene, polivinilcloruro (PVC) e polietilentereftalato (PET), ioduro di sodio, sodio politungstato e cloruro di zinco sono scelte praticabili. Le separazioni per densità nella ricerca sulla microplastica usano raramente il politungstato di sodio nonostante la possibilità di ottenere soluzioni ad alta densità, poiché è troppo costoso per l'applicazione in campioni di grandi volumi. Lo ioduro di sodio viene solitamente combinato con una pre-separazione basata sull'elutriazione, che separa le particelle meno dense dalle particelle più pesanti in un flusso diretto di gas o di acqua verso l'alto. Questa procedura è necessaria per ridurre al minimo il volume necessario per la separazione della densità a causa degli elevati costi dello ioduro di sodio. L'applicazione del cloruro di zinco consente soluzioni con densità di $\rho > 1,6-1,7 \text{ g/cm}^3$ ed è adatta per la separazione della maggior parte dei tipi di polimeri. A causa dei costi inferiori rispetto al sodio tungstato e allo ioduro di sodio, il cloruro di zinco è frequentemente riportato in studi recenti. Tuttavia, i pericoli ecologici del cloruro di zinco complicano lo smaltimento delle soluzioni usate. Pertanto, il riciclaggio di soluzioni contenenti cloruro di zinco, ioduro di sodio o politenstato di sodio offre la possibilità di superare il problema di gestione dei rifiuti e ridurre i costi del materiale. I recenti sviluppi si concentrano su alternative alle tecniche di separazione basate sulla densità. L'elutriazione sembra essere un'alternativa adatta ed economica anche

senza seguire la separazione della densità ottenendo buoni recuperi dei polimeri (Thompson et al. 2004).

Un approccio diverso prevede l'estrazione accelerata del solvente (ASE) per la separazione delle materie plastiche dai suoli. L'estrazione da parte di ASE viene eseguita ad un livello superiore di pressione per aumentare il punto di ebollizione del solvente di estrazione, che aumenterà la velocità di estrazione. Il processo di solito utilizza celle metalliche di piccolo volume che possono resistere alle pressioni esercitate. Questo metodo elude alla necessità di ulteriore purificazione del campione e vantaggi legati ad un elevato grado di automatizzazione.

RIMOZIONE DEI DETRITI NATURALI

Per poter analizzare le microplastiche in campioni di acqua e di sedimenti è necessario rimuovere o eliminare il particolato che può anche essere adeso alle particelle stesse. A tale scopo sono utilizzati agenti ossidanti o enzimi. La degradazione chimica del materiale particolato si ottiene attraverso il trattamento del campione con perossido di idrogeno. Miscele di perossido di idrogeno e acido solforico, o reattivo di Fenton, vengono utilizzate prima o dopo la separazione della densità. Poiché si tratta di reattivi aggressivi, si possono verificare fenomeni di denaturazione o degradazione dei polimeri (Environ. Pollut. 2018).

Per evitare la perdita di polimeri sintetici, non resistenti ai trattamenti acidi, è stato proposto l'uso di idrossido di sodio. Tuttavia, il trattamento alcalino con idrossido di sodio porta al danneggiamento di alcuni polimeri sintetici. È dimostrato però che l'applicazione dell'idrossido di potassio è preferibile per la distruzione di materiale organico, poiché attacca i polimeri sintetici meno rispetto agli altri metodi (Mar. Pollut. Bull 2017).

Sono stati sviluppati trattamenti enzimatici per campioni di acque marine superficiali ricche di biota, che consentono il rilevamento di polimeri sensibili al pH. Approcci a singolo enzima con proteinasi K o miscele di enzimi tecnici (lipasi amilasi, proteinasi, chitinasi, cellulasi) sono state utilizzate per la rimozione di materiale biologico, poiché la digestione enzimatica può essere effettuata in condizioni sperimentali

moderate in termini di pH e di temperatura. Sfortunatamente, l'uso di enzimi comporta diversi svantaggi. I trattamenti enzimatici sono, rispetto ai trattamenti chimici, costosi e richiedono molto tempo e non comportano alla completa rimozione dei detriti naturali.

IDENTIFICAZIONE

Le microplastiche vengono identificate visivamente mediante microscopi binoculari o microscopia elettronica a scansione (SEM). A seconda dell'efficienza del trattamento del campione e della dimensione delle particelle, l'identificazione visiva è considerata non all'avanguardia e spesso insufficiente con risultati falsi positivi. Per questo motivo, sono necessari ulteriori metodi spettroscopici o spettrometrici per garantire l'identificazione inequivocabile di particelle costituite da polimeri sintetici (Sarkar, 2012).

I metodi di identificazione spettroscopica comprendono la spettroscopia infrarossa con trasformata di Fourier (FTIR) e la spettroscopia Raman. Questi metodi si basano sull'assorbimento di energia da parte di gruppi funzionali caratteristici delle particelle di polimero. Per particelle più grandi ($> 500 \mu\text{m}$), FTIR può essere eseguita utilizzando un'unità di riflessione trasversale attenuata (ATR). L'accoppiamento di strumenti FTIR a microscopi come la trasmissione di micro-FTIR consente il rilevamento di microplastiche più piccole. L'uso della microscopia FTIR in modalità di trasmissione è applicabile solo per particelle più piccole o pellicole sottili che non assorbono completamente il raggio IR. I metodi basati su FTIR e Raman sono limitati nella dimensione minima delle particelle che può essere determinata e dalla diffrazione fisica della luce. Le misurazioni FTIR in modalità di trasmittanza sono limitate per particelle tra 10 e 20 μm , mentre gli strumenti Raman possono misurare particelle con dimensioni inferiori di uno o due ordini di grandezza. L'identificazione dei polimeri da parte di FTIR e Raman è suscettibile ai cambiamenti ambientali della superficie del polimero o all'applicazione di additivi durante la lavorazione dei polimeri. Pertanto, incrostazioni microbiche, sporco, adsorbimento di acidi e materie plastiche colorate possono interferire con l'assorbimento, la riflessione o l'eccitazione

delle molecole polimeriche. Tutto questo può portare a errori di identificazione o impedire totalmente l'identificazione delle particelle. Oltre all'identificazione del tipo di polimero, le immagini visive delle particelle consentono la determinazione della forma.

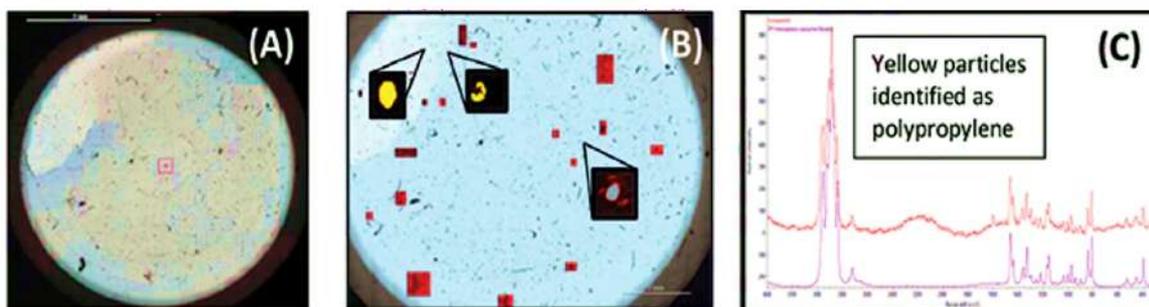


Figura 3.1.3: Microplastiche catturate dal filtro.

L'applicazione della gas-cromatografia / spettrometria di massa (Pyr-GC / MS) consente la determinazione simultanea del tipo di polimero e degli additivi polimerici, mediante la combustione del campione e il rilevamento dei prodotti di degradazione termica dei polimeri. L'identificazione dei prodotti di degradazione termica funge da marcatore specifico per ciascun polimero.

Contrariamente alle tecniche spettroscopiche, Pyr-GC / MS è un metodo distruttivo, che impedisce qualsiasi ulteriore analisi delle particelle di plastica. I risultati ottenuti attraverso l'analisi Pyr-GC / MS sono generalmente forniti come frazione di massa o concentrazione di massa di materie plastiche (*Senckenbergiana Marit.*, 2008).

Pertanto, il conteggio delle particelle non è possibile a causa della combustione del campione. Il desorbimento termico GC / MS (TDS-GC / MS) in combinazione con l'analisi termogravimetrica (TGA) accoppiato con un adsorbitore in fase solida consente di analizzare un campione con classe dimensionale più elevata rispetto a Pyr-GC / MS (M. Majewsky, H. Bitter, E. Eiche, H. Horn, 2016). Per questo motivo, è possibile ottenere risultati più rappresentativi per campioni disomogenei con matrici complesse (Blackwell Scientific Publications, 1997).

Il microscopio elettronico a scansione (SEM) può essere abbinato alla spettroscopia a raggi X (SEM-EDS), per produrre immagini ad alta risoluzione delle particelle e

fornire un'analisi elementare degli oggetti misurati. Con questa tecnica la superficie delle particelle del campione viene scansionata da un raggio di elettroni.

Pertanto, può essere creata un'immagine della particella, e può essere identificata la composizione elementare. È possibile, quindi, distinguere tra microplastiche e particelle che sono composte da elementi inorganici, come i silicati di alluminio.

In alternativa, test di durezza sono utili come metodo di ispezione delle particelle separate, e consistono nell'applicazione di una determinata pressione alle particelle tramite aghi. Questo impedisce l'identificazione errata di microplastiche con particelle di carbonio che non sono state rimosse durante il trattamento del campione. Tuttavia, questi test richiedono molto tempo, non forniscono un'identificazione esatta del polimero e sono meno accurati di altri metodi strumentali (S. Huppertsberg, T.P. Knepper, 2018).

Un'ultima tecnica descrive la misurazione e l'identificazione delle microplastiche mediante spettrometria di massa di ioni secondari. Una tecnica “*imaging*” che consente la visualizzazione delle particelle. Come per la microscopia Raman, questa consente l'identificazione di particelle inferiori a 10 μm .

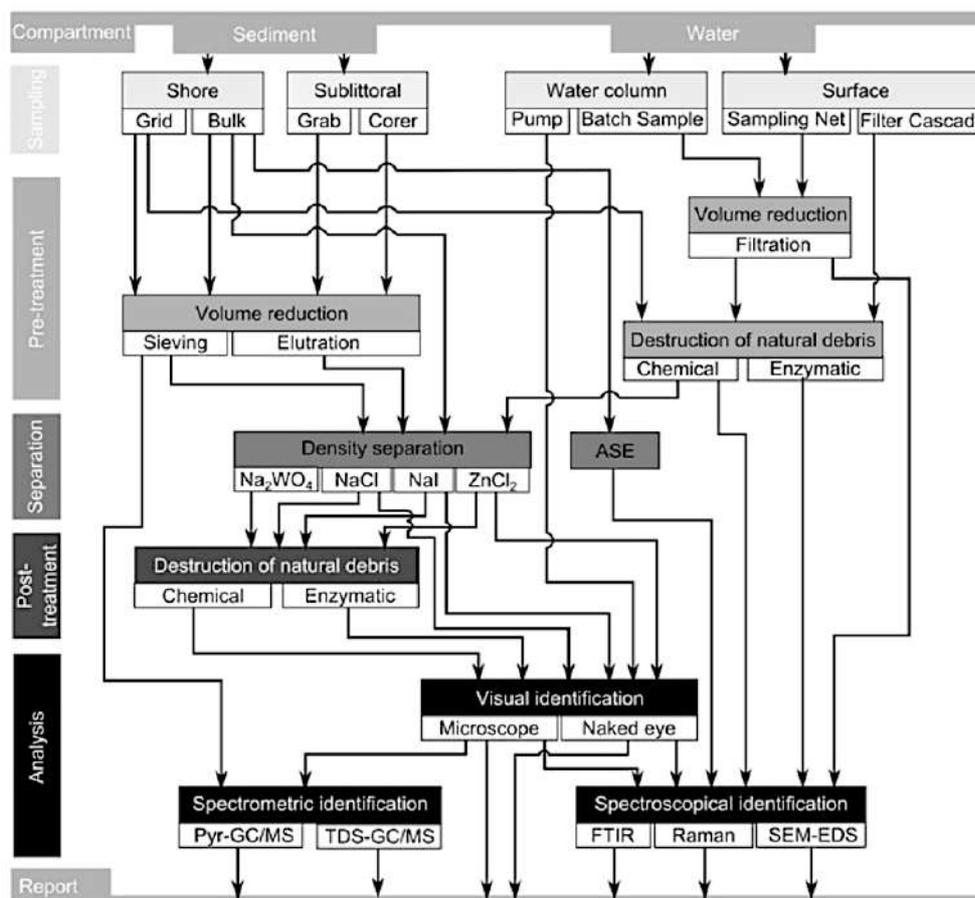


Figura 3.1.4: Rappresentazione dei diversi metodi di analisi in base alla tipologia di matrice (acqua e sedimento).

3.2 MATRICE ARIA

Vi sono prove evidenti che le microplastiche stanno entrando nell'ambiente in tutte le fasi del ciclo di vita con potenziale per il trasferimento trofico e l'esposizione alla salute umana (Bank and Hansson, 2019; GESAMP, 2016).

Le microplastiche sono state recentemente rilevate nell'atmosfera di aree urbane, suburbane e persino in zone lontane da fonti che le possono produrre. Questo suggerisce il potenziale trasporto atmosferico a lunga distanza. L'atmosfera è un comparto ambientale importante attraverso il quale molti materiali sospesi vengono trasportati a livello regionale o globale (Camarero et al., 2017; GESAMP, 2016). Studi recenti hanno dimostrato che le particelle di microplastica atmosferica possono essere trasportate dall'aria anche in aree remote del nostro pianeta (Allen et al., 2019;

Ambrosini et al., 2019; Klein and Fischer, 2019; Liu et al., 2019, Liu et al., 2019; Zhang et al., 2019). L'atmosfera include processi che la rendono la matrice meno conservatrice di tutte, come: la velocità e le direzioni del vento, le correnti ascendenti e discendenti, la convezione e le turbolenze. Questi sono importanti vettori che incidono sul trasporto di microplastiche e che influenzano ulteriormente il meccanismo di flusso e le dinamiche di assorbimento delle fonti di inquinamento di plastica sia in ambienti marini che terrestri (Bank e Hansson, 2019; Liu et al., 2019; Zhang et al., 2019).

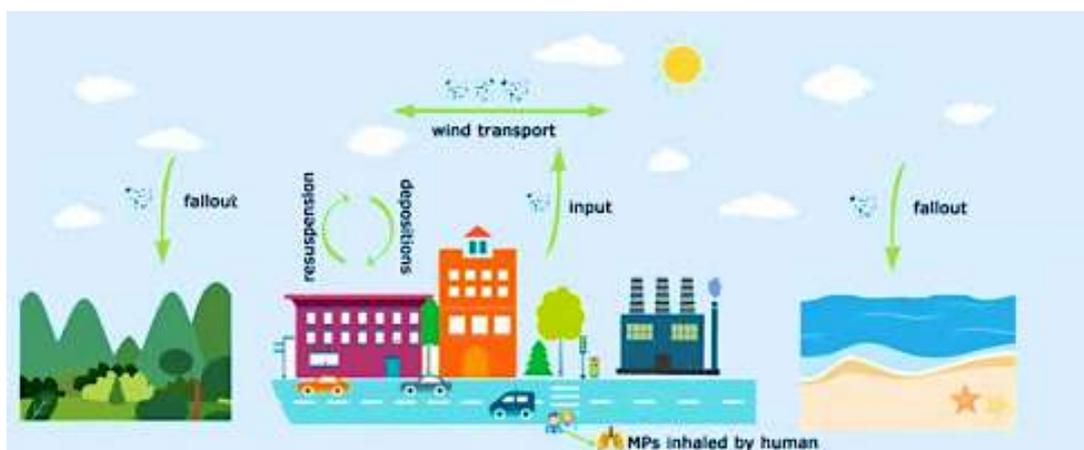


Figura 3.2.1: Rappresentazione delle forze esterne a cui sono sottoposte le microplastiche in aria.

Attualmente, a causa della loro combinazione con altri inquinanti (mercurio o IPA), si ritiene che le microplastiche siano una componente emergente dell'inquinamento atmosferico (Barboza et al., 2018; Gasperi et al., 2018; Liu et al., 2019; Rochman et al., 2019; Tourinho et al., 2019; Wright and Kelly, 2017).

La maggior parte degli studi pubblicati si concentra sulla deposizione atmosferica, ovvero: una raccolta passiva di materiale depositato in una posizione selezionata. Numerosi studi sono longitudinali (estendendosi per più stagioni fino a 12 mesi) (Dris, 2016; Klein e Fischer, 2019) ma il monitoraggio esteso o a lungo termine per una prospettiva globale dell'inquinamento da microplastica atmosferica non sono ancora stati intrapresi (Allen et al., 2019; Dris et al., 2015; Klein e Fischer, 2019). Dris et al. 2017 e Liu et al. 2019).

Sono presenti però, studi riguardanti le fibre nell'aria interna ed esterna, identificando la polvere interna come una fonte non trascurabile di esposizione umana alle microplastiche. Per comprendere meglio lo stato attuale delle microplastiche atmosferiche, è necessario analizzare i risultati della ricerca attuale, determinare lo stato attuale delle conoscenze e confrontare le caratteristiche della microplastica atmosferica con le microplastiche di altri ambienti.

CAMPIONAMENTO DELLE MICROPLASTICHE IN ARIA

Uno degli strumenti utilizzati per il campionamento di microplastiche in aria è il collettore passivo a deposizione totale (Allen et al. 2017). I primi studi hanno utilizzato apparecchiature di raccolta non standardizzate, raccogliendo una serie di depositi umidi o asciutti per periodi e quantità di precipitazione variabili. I recenti progressi nel campionamento passivo della deposizione atmosferica hanno portato a un sistema standardizzato metallo - vetro progettato dal NILU (Norwegian Institute for Air Research). Questo sistema fornisce un metodo standardizzato privo di plastica per la deposizione atmosferica passiva. I vantaggi di questi campionatori di deposizione totale sono: la facilità d'uso, la standardizzazione della metodologia e nessun requisito per l'alimentazione del sito di studio. L'implementazione di questo metodo di campionamento standardizzato consente di eseguire studi in località remote con un'infrastruttura minima a un costo molto basso, ma usando un protocollo standard per la raccolta.

La polvere stradale e quella interna, è campionata utilizzando diversi metodi, ad esempio spazzamento, e campionamento attivo pompato, che possono successivamente causare difficoltà nel confronto dei dati. Alcuni studiosi hanno raccolto la deposizione di polvere all'interno usando spazzole e trasferito la polvere raccolta nei sacchi di campionamento. Sebbene questo metodo sia facilmente replicabile, è difficile determinare la quantità d'aria campionata o se le microplastiche raccolte siano esclusivamente derivanti da deposizione atmosferica. È importante considerare, inoltre, le condizioni meteorologiche prima e durante il campionamento.

I campionatori a pompaggio attivo vengono utilizzati con successo nel campionamento di volumi d'aria noti per periodi definiti (Hayward et al., 2010). Questo è un metodo di raccolta del campione altamente efficace che segue un protocollo standard per la raccolta, può essere correlato a condizioni meteorologiche specifiche del sito e condizioni della superficie terrestre e oceaniche note. Il campionamento attivo dell'aria pompata è un metodo consolidato per il monitoraggio dell'inquinamento atmosferico (microplastica e altri inquinanti atmosferici consolidati).

I campionatori passivi di deposizione atmosferica forniscono un'indicazione specifica per luogo e tempo della quantità di microplastica che cade sulla superficie. I campionatori attivi campionano l'aria pompata e quindi forniscono un campione di microplastiche nella massa d'aria, piuttosto che l'inquinamento microplastico depositato. I campioni di aria pompata attiva forniscono un'indicazione della quantità di microplastiche nella massa d'aria che potrebbero non depositarsi. Di conseguenza, si raccomanda l'uso di campionatori passivi per raccogliere i depositi atmosferici insieme al campionamento attivo dell'aria pompata per ottenere un quadro completo del contenuto di MP dell'aria. Il tipo di apparecchiatura utilizzata per campionare le microplastiche, la durata, le date di tutti i campionamenti (che rappresentano il periodo di tempo) e la posizione spaziale dei campioni devono essere segnate al momento dell'analisi. Queste informazioni, insieme ai limiti analitici delle apparecchiature garantiranno che i risultati della ricerca possano essere confrontati con altri studi internazionali sulla microplastica. Inoltre, l'uso di più metodi di campionamento in una posizione fornirà campioni di microplastica rappresentativi sia della massa d'aria che della deposizione, e consentirà inoltre di fare previsioni future.

RIMOZIONE DELLA MATRICE ORGANICA

È in corso un'evoluzione e un progresso nella preparazione dei campioni per l'analisi microplastica nella matrice aria.

La rimozione della materia organica è stata intrapresa attraverso una varietà di metodi, tra cui KOH, NaOH, HNO₃, HCl, H₂O₂, H₂O₂ + H₂SO₄, H₂O₂ + Fe e metodi enzimatici (Hanvey et al., 2017; Löder et al., 2017; Renner et al., 2018). Questo è particolarmente importante poiché la materia organica crea interferenze nell'analisi, causando un aumento del rumore negli spettri, schermatura e bio-rivestimento nelle particelle di plastica (Löder e Gerdts, 2015). Studi sulla deposizione atmosferica hanno utilizzato l'ipoclorito di sodio (NaClO) o il perossido di idrogeno (H₂O₂) come metodi di digestione per la rimozione organica (Allen et al., 2019a; Dris, 2016; Klein e Fischer, 2019; Stanton et al., 2019). Recenti ricerche hanno identificato il reagente Fenton come un efficace progresso nella metodologia di preparazione dei campioni (Hurley et al., 2018; Prata et al., 2019; Tagg et al., 2017).

SEPARAZIONE DI DENSITÀ

I metodi di preparazione del campione non sono ancora standardizzati e sono utilizzati diversi metodi di rimozione organica e separazione per densità. Ad oggi, la separazione della densità per i campioni atmosferici è stata completata con cloruro di zinco (S. Allen et al., 2019; Dris et al., 2017).

METODI DI ANALISI

METODO VISIVO

Le prime ricerche sulla microplastica atmosferica hanno comportato una semplice segnalazione microscopica visiva (Dris et al., 2015). Sebbene sia efficace per particelle microplastiche evidenti di grandi dimensioni, può essere difficile determinare con precisione quando si considerano particelle <500 µm (Käppler et al., 2016; Silva et al., 2018).

Questo limita gravemente le frazioni dimensionali che possono essere esaminate utilizzando solo rapporti visivi, poiché l'abbondanza di particelle microplastiche sembra aumentare quasi esponenzialmente con la riduzione della dimensione delle

particelle (Araujo et al., 2018). Per la determinazione di particelle <500 µm, è consigliato utilizzare metodi spettroscopici.

METODO TERMICO

L'uso della pirolisi abbinata alla spettrometria di massa è uno dei metodi utilizzati per determinare la presenza di microplastiche in un campione. Ad oggi però, l'analisi della spettrometria di massa con pirolisi (Py / GC / MS) non è eseguita su campioni atmosferici. (Fries et al., 2013; Gillibert et al., 2019; Käßler et al., 2016; Löder e Gerds, 2015). Tuttavia, ci sono significativi progressi nei metodi associati alle tecniche di spettrometria (Fischer e Scholz-Böttcher, 2017; Käßler et al., 2018; Materić et al., 2019; Materić et al., 2017).

SPETTROSCOPIA FTR

La Spettroscopia IR a trasformata di Fourier (FTIR) è ampiamente utilizzata come strumento per la caratterizzazione e la distribuzione delle microplastiche (Bergmann et al., 2019; Primpke et al., 2017). Questa tecnica riesce a determinare la composizione delle particelle attraverso l'esame del campione usando un intervallo di lunghezze d'onda IR di 400–4000 cm⁻¹. Una parte delle lunghezze d'onda viene assorbita dalla particella analizzata, determinando così quali lunghezze d'onda sono assorbite e trasformando l'assorbimento, utilizzando la Trasformata di Fourier, in uno spettro che descrive la composizione delle particelle. Questo spettro è referenziato rispetto a librerie di riferimento (Everall et al., 2007; Ribeiro-Claro et al., 2017). La popolarità dello strumento FTIR per la ricerca sulle microplastiche derivava potenzialmente dalle librerie facili da consultare e dalla velocità di funzionamento analitico delle apparecchiature.

L'FTIR equipaggiato con un microscopio confocale (noto come µFTIR) ed un Plane Array focale (FPA) con rivelatori raffreddati ad azoto liquido Mercury Cadmium Telluride (MCT) ha permesso di ridurre le dimensioni pratiche delle particelle

analizzabili. Per gli infrarossi (IR) questo limite è teoricamente di 10 μm (diametro delle particelle) poiché l'intera lunghezza d'onda deve passare attraverso il materiale. Tuttavia, data la superficie normalmente alterata dei campioni di microplastica ambientale, è difficile ottenere segnali affidabili al di sotto di 20 μm (Gillibert et al., 2019). L'applicazione di μFTIR per la microplastica atmosferica è limitata da questo limite di diffrazione ed è stato dimostrato che sottostima illecitamente il 35% delle particelle inferiori a 20 μm (Käppler et al., 2016). I rivelatori devono essere raffreddati usando azoto liquido per ridurre al minimo il rumore creato dall'energia che passa attraverso il rivelatore (Bergmann et al., 2019; Primpke et al., 2017).

SPETTROSCOPIA RAMAN

Sebbene sia la spettroscopia Raman che la spettroscopia FTIR siano considerate spettroscopie vibrazionali, la Raman presenta delle differenze rispetto alla FTIR. La Spettroscopia FTIR utilizza un laser a frequenza più elevata (normalmente 532 nm) per eccitare la superficie di un materiale fino a quando non emette fotoni. La spettroscopia Raman è relativamente nuova nella ricerca sulle microplastiche. I limiti teorici sulle dimensioni rivelabili con la spettroscopia Raman sono inferiori al micron, tuttavia 10 μm è il più piccolo attualmente pubblicato (Allen et al., 2019; Araujo et al., 2018)

Il problema principale riguardante il laser Raman è relativo alla fluorescenza. Le lunghezze d'onda tradizionalmente utilizzate per il Raman sono molto vicine a molte lunghezze d'onda di eccitazione massime che causano la fluorescenza delle particelle. Questa offusca il segnale e nega l'analisi dei legami chimici. Per ovviare a questo problema è ora utilizzato un laser a infrarossi vicino di 785 nm (Allen et al., 2019). Sebbene i costi di acquisto iniziali di μRaman siano superiori all'equivalente μFTIR , il Raman utilizza generalmente rivelatori Thermo Electrically Cooled (TEC) che ovviano alla necessità di raffreddamento ad azoto liquido. Questo semplifica il funzionamento, riduce i costi e aumenta l'autonomia giornaliera.

Le prospettive future rivelano che con l'ulteriore sviluppo di librerie e tecniche, μ Raman sarà lo strumento più utilizzato per le microplastiche atmosferiche.

Le spettroscopie μ FTIR e μ Raman consentono l'analisi di microplastiche di piccole dimensioni direttamente sui filtri senza alcun ordinamento visivo, e apre quindi le porte alla possibilità di automatizzazione. L'attuale filtro preferito è di tipo Anodisc (ossido di alluminio) con una dimensione dei pori di 0,2 μm (Allen et al., 2019; Bergmann et al., 2019). L'uso di filtri in plastica (come policarbonato, PTFE, ecc.) è sconsigliato per FTIR poiché in trasmissione la luce deve passare attraverso il filtro. Allo stesso modo, quando ci si avvicina ai limiti di rilevamento, la luce diffusa dal laser Raman può ottenere il segnale dal filtro e oscurare il segnale dalla particella bersaglio. I filtri di tipo celluloso tendono a deformarsi durante l'essiccamento, il che rende difficile l'automazione della messa a fuoco. Rispetto alla spettroscopia μ FTIR, le tecniche di μ Raman possono teoricamente analizzare particelle fino al sub- μm , fornendo un'analisi con risoluzione più elevata (Araujo et al., 2018; Renner et al., 2018).

L'analisi μ FTIR ha il vantaggio di estese risorse della libreria di polimeri per l'identificazione e l'analisi comparativa. Tuttavia, con l'aumento dell'utilizzo della spettroscopia μ Raman si prevede una risorsa di libreria equivalente a quella disponibile per μ FTIR.

Le prospettive mirano ad un'analisi della microplastica atmosferica effettuata utilizzando metodi di analisi spettroscopica, poiché i metodi visivi sono inefficaci per particelle di piccole dimensioni. L'analisi della microplastica nei campioni ambientali è ancora nelle prime fasi del progresso tecnologico. Sono essenziali ulteriori ricerche per supportare le tecniche di analisi microplastiche submicroniche. Lo sviluppo di metodi per l'analisi termochimica (Py-GCMS, TD) forniscono una via alternativa per identificare la concentrazione e il tipo di plastica in campioni contenenti microplastiche. Utilizzando queste tecniche però non è possibile avere informazioni sul conteggio delle particelle in quanto risultano essere metodologie di analisi distruttive (Young and Elliott, 2016).

3.3 MATRICE BIOTA

La plastica ha dimostrato di essere ingerita da una grande varietà di specie marine (Wright et al., 2013; Setälä et al., 2014). Studi più approfonditi però dimostrano che la microplastica può essere assorbita anche attraverso altre vie, come ad esempio le branchie nei pesci (Watts et al., 2014, Browne et al., 2008). L'intera analisi dei tratti viscerali risulta essere quindi rilevante, in particolare per gli studi sul trasferimento trofico. Alcuni metodi recentemente sviluppati consentono di analizzare l'intero corpo degli organismi attraverso la digestione di acidi (Van der Horst, 2013). Tuttavia, l'applicazione di alcuni di questi acidi per le analisi ha dimostrato di alterare le particelle di plastica presenti all'interno degli organismi (Enders et al., 2017). Sono stati studiati così altri metodi meno aggressivi, basati sulla digestione enzimatica (Cole et al., 2014). Questi potrebbero rivelarsi preziosi per isolare le microplastiche e per condurre successivamente le dovute analisi.

CAMPIONAMENTO DEL BIOTA

Osservazioni sull'assorbimento di microplastiche da parte di organismi sono state segnalate in una serie di habitat, tra cui la superficie del mare, la colonna d'acqua, il benthos, gli estuari, le spiagge e l'acquacoltura. La diversità degli organismi studiati e gli habitat da cui vengono campionati richiedono una serie di tecniche di raccolta. Il metodo di campionamento impiegato è determinato dalla domanda di ricerca, dalle risorse disponibili, dall'habitat e dall'organismo bersaglio (T.M. Karlsson, A.D. Vethaak, B.C. Almroth, F. Ariese, M. van Velzen, M. Hasselov, H.A. Leslie). Specie di invertebrati bentonici come *Nephrops Norvegicus* possono essere raccolti attraverso pinze, trappole, o mediante reti a strascico. Le specie ittiche sono generalmente recuperate in reti da traino di superficie, mezz'acqua e bentoniche, a seconda dei loro habitat. Le reti da posta sono utilizzate nei sistemi fluviali. Alcune specie vengono raccolte manualmente dal campo, questa è una pratica comune per bivalvi, crostacei e anellidi. Un altro metodo è la raccolta diretta di molluschi da

allevamenti ittici o da mercati ittici commerciali, dove il metodo di cattura è spesso però sconosciuto. Per evitare la contaminazione durante il campionamento e l'analisi del campione sono fondamentali i protocolli di mitigazione che tendono a non mettere in contatto il biota con probabili fonti microplastiche (G. Vandermeersch, L. Cauwenberghe, C.R. Janssen, A. Marques, K. Granby, G. Fa it, M.J. Kotterman, J. Diogene, K. Bekaert, J. Robbens, L. Devriese).

PERDITE DI MICROPLASTICHE DURANTE IL CAMPIONAMENTO SUL CAMPO

Gestire lo stress, il movimento fisico, le specificità fisiologiche e comportamentali dell'organismo campionato può provocare la perdita di microplastiche prima della conservazione degli animali. Pertanto, alcuni animali potrebbero emettere detriti microplastici prima dell'analisi. In questi casi, il tempo tra la raccolta del campione e la conservazione dell'animale deve essere il più breve possibile. È inoltre necessario prestare attenzione per ridurre al minimo lo stress da manipolazione e i danni fisici. Questo ridurrà il potenziale di rigurgito microplastico. Si ritiene che la causa principale del rigurgito, nei pesci, sia correlato all'espansione di gas nella vescica natatoria: questo causa la compressione dello stomaco e può, in casi estremi, provocare un'inversione totale dello stomaco (A.L. Lusher, N. A. Eelden, P. Sobral, M. Cole, 2017). La compressione nella cattura nel merluzzo potrebbe indurre il rigurgito e quindi la perdita di campione analizzabile. La probabilità aumenta con la profondità di cattura. Lavorare con attenzione evitando questo fenomeno può fare in modo di non falsare la stima del contenuto dello stomaco, influenzando poi i valori relativi al consumo e alla presenza di detriti di plastica.

CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

La scelta della tecnica di conservazione dipende in gran parte dalla domanda di ricerca considerata. Il fissativo che può essere utilizzato per conservare al meglio il campione influenza la struttura, le comunità microbiche sulla superficie della pelle,

la composizione chimica, il colore e le proprietà di eventuali microplastiche all'interno del campione. 4% di formaldeide e 70% di etanolo sono fissativi comunemente usati, tuttavia, la consultazione delle tabelle di resistenza suggerisce che questi conservanti, sebbene a concentrazioni più elevate, possono danneggiare alcuni polimeri, come ad esempio, la poliammide. Questa è solo parzialmente resistente alla soluzione di formaldeide al 10%, mentre il polistirene può essere danneggiato dall'alcol. Metodi alternativi per la conservazione degli organismi includono l'essiccazione ed il congelamento.

METODI DI ESTRAZIONE DELLE MICROPLASTICHE DAL BIOTA

Negli ultimi anni si sono sviluppate un numero crescente di tecniche per estrarre le microplastiche consumate dal biota. Questi metodi comprendono: la dissezione, la depurazione, l'omogeneizzazione e la digestione dei tessuti con sostanze chimiche o enzimi (V. Hidalgo-Ruz, L. Gutow, R.C. Thompson, M. Thiel, 2012).

DISSEZIONE

In un'ampia percentuale di studi i ricercatori prendono di mira tessuti specifici, di cui principalmente il tratto digerente (inclusi stomaco e intestino). Negli animali più grandi, come: calamari, balene, tartarughe e uccelli marini, la dissezione del tratto gastrointestinale, e la successiva quantificazione delle particelle sintetiche dell'intestino, è il metodo predominante per valutare il consumo di plastica. Le microplastiche con classi dimensionali elevate non passano attraverso la parete intestinale senza danni preesistenti, e la probabilità di traslocazione nei tessuti è molto bassa. La localizzazione di microplastiche <0,5 mm può essere determinata asportando organi, come il fegato o le branchie. Le microplastiche presenti nei tessuti sezionati possono essere isolate mediante lavaggi salini, galleggiamento di densità, ispezione visiva, o digestione.

DEPURAZIONE

Se l'obiettivo principale è determinare solamente l'ingestione di microplastiche, risulta essere fondamentale rimuovere qualsiasi frammento plastico presente esternamente prima del trattamento. Tipicamente questo si ottiene lavando il biota con acqua pura, soluzione saline oppure meccanicamente utilizzando una pinza. È possibile utilizzare una fase di depurazione per eliminare le microplastiche transitorie presenti nel tratto intestinale. La depurazione è facilitata inserendo gli organismi in mezzi in cui le microplastiche sono assenti (acqua dolce, acqua di mare, sedimenti), in un tempo sufficiente per l'evacuazione completa dell'intestino. La depurazione assicura il fatto che verranno prese in considerazione solo le microplastiche trattenute nei tessuti o intrappolate nel tratto intestinale. Questa offre anche l'opportunità per la raccolta di materiale fecale, tipicamente campionato tramite sifone, setaccio o pipetta. Le feci possono successivamente essere omogeneizzate o visualizzate direttamente per valutare e quantificare le microplastiche. L'analisi fecale è utilizzata per determinare il consumo di microplastica in una serie di organismi, tra cui cetrioli di mare, copepodi, isopodi, anfipodi, policheti e molluschi.

DIGESTIONE

La determinazione di microplastiche presenti nel biota, nei tessuti escissi o nei campioni ambientali può essere impegnativa perché la plastica può essere mascherata da materiale biologico, biofilm microbici, alghe e detriti. Per isolare le microplastiche, la materia organica può essere digerita, lasciando solo i materiali d'interesse per le analisi (M.B. Zobkov, E.E. Esiukova). Tradizionalmente, la digestione viene condotta utilizzando forti agenti ossidanti. Tuttavia, i polimeri sintetici possono essere danneggiati da questi trattamenti chimici, in particolare a temperature più elevate (C.B. Crawford, B. Quinn).

DIGESTIONE CON ACIDO NITRICO

L'acido nitrico (HNO_3) è un acido minerale fortemente ossidante, capace di scissione molecolare e rapida dissoluzione di materiale biogenico (J.P. Desforges, M. Galbraith, P.S. Ross, 2017). Se confrontato rispetto all'acido cloridrico (HCl), al perossido di idrogeno (H_2O_2) e all'idrossido di sodio (NaOH), HNO_3 ha la massima efficacia nella digestione, con perdite di peso $>98\%$ nel tessuto biologico (F. Collard, B. Gilbert, 2017). Sebbene ampiamente efficace nel digerire il materiale organico, una serie di studi ha osservato che residui oleosi e resti di tessuto rimangono dopo la digestione. Questi hanno il potenziale di oscurare le microplastiche durante le analisi. In risposta, alcuni studiosi, quali De Witte et al., hanno proposto l'utilizzo di una miscela di HNO_3 al 65% e acido perclorico al 68% (HClO_4), questo ha comportato alla rimozione del residuo oleoso (M. Claessens, L. Van Cauwenberghe, M.B. Vandeguchte, C.R. Janssen). Un altro problema legato all'acido nitrico è dovuto alle alte concentrazioni di acido e le temperature applicate. Queste portano alla distruzione di fibre di nylon e alla fusione di microsferi di polistirene dopo esposizione diretta.

DIGESTIONE CON ALTRI ACIDI

Sono suggeriti anche acido formico e acido cloridrico (HCl) come agenti digestivi. L'acido formico (3%) viene utilizzato per decalcificare i polipi e per assistere nella visualizzazione dei trucioli di polipropilene blu ingeriti. HCl è usato come digestivo di microplastiche per campioni pelagici e di sedimenti. Tuttavia, questo acido non ossidante si dimostra incoerente e inefficiente nel digerire il materiale organico.

DIGESTIONE CON ALCALI

Basi solide possono essere usate per rimuovere materiale biologico idrolizzando i legami chimici e denaturando le proteine. I tessuti del pesce, inclusi l'esofago, lo stomaco e l'intestino, vengono digeriti con successo usando idrossido di potassio

(KOH) dopo un'incubazione di 2-3 settimane. Come per HNO_3 però, un residuo oleoso e frammenti ossei possono rimanere dopo la digestione.

Un'altra base forte che viene utilizzata con successo è l'idrossido di sodio (NaOH). Questa può rimuovere il materiale biogenico (ad esempio zooplancton) dalle reti da traino di superficie, con un'efficienza del 90% basata sulla perdita di peso del campione.

DIGESTIONE CON AGENTI OSSIDANTI

Il perossido di idrogeno (H_2O_2) e il perossodisolfato di potassio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) sono agenti ossidanti. Alcuni studi hanno utilizzato H_2O_2 (30%) a 55–65 ° C per digerire tessuti molli di crostacei e bivalvi e, sebbene ampiamente efficaci, gli autori hanno notato che rimanevano "fiocchi di detriti" nel campione. Altri hanno rilevato che si andava a formare un'eccessiva quantità di schiuma durante la reazione, e che questa poteva andare ad oscurare i campioni o portare alla perdita del campione stesso (G. Vandermeersch, L. Van Cauwenberghe, C.R. Janssen, A. Marques, K. Granby, G. Fait, M.J. Kotterman, J. Diogene, K. Bekaert, J. Robbens, L. Devriese).

DIGESTIONE CON ENZIMI

La digestione enzimatica viene discussa come mezzo biologicamente specifico per idrolizzare le proteine e abbattere i tessuti. Per rimuovere il materiale biologico dai campioni raccolti sul campo, è presente un protocollo di digestione che impiega una proteasi, la serina proteasi (Proteinasi K). Il materiale viene essiccato (60 °C), macinato e omogeneizzato prelevando ripetutamente i campioni attraverso una siringa. Con campioni marini, il metodo della proteinasi K dimostra un'efficacia della digestione > 97% ed il metodo è utilizzato per isolare microsfeere di polistirene ingerite da copepodi marini. L'enzima pepsina non provoca danni ai polimeri, ma si dimostra solo parzialmente efficace nella digestione di materiale biogenico. È stato recentemente riportato che gli enzimi sono applicati con successo nell'isolamento di microplastiche da: tratti intestinali di tartarughe con proteinasi K, tessuti di cozze con

Corolase® 7089 (enzimi AB), e tratti digestivi di aringhe con Proteinase K e H₂O₂. Contrariamente alle tecniche di digestione chimica, gli enzimi assicurano l'assenza di perdita di materiale per degradazione o alterazione della superficie delle materie plastiche presenti, e risultano essere meno pericolosi per la salute umana.

FILTRAZIONE DEI DIGESTIVI

Dopo la digestione, gli agenti chimici possono essere filtrati per trattenere qualsiasi materiale recalcitrante. I filtri possono essere in fibra di vetro da 0,2 e 0,7 µm, filtri in nitrato di cellulosa da 5 µm, membrane in acetato di cellulosa da 5 µm e maglie da 50 µm (M.B. Zobkov, E.E. Esiukova, 2018). Le dimensioni dei pori più grandi facilitano il filtraggio rapido ma si ha la perdita di plastica più piccola. I filtri in fibra di vetro possono staccarsi e sono considerati una fonte di contaminazione (C.B. Crawford, B. Quinn, 2017). Filtri più lisci (filtri a membrana) sono in genere più facili da raschiare e meno inclini a frammentarsi. Le microplastiche trattenute dai filtri possono essere visualizzate direttamente, trasferite su vetrini o estratte (V. Hidalgo-Ruz, L. Gutow, R.C. Thompson, M. Thiel).

SEPARAZIONE PER DENSITÀ

Sebbene più comunemente utilizzata negli studi su campioni di acqua e sedimenti, la separazione per densità è comunque utilizzata anche per il biota. Le soluzioni saline sature, come NaCl (aq), consentono la separazione di particelle meno dense dove c'è una grande quantità di materia inorganica che non è stata disciolta. La separazione della densità è stata raccomandata dalla MSFD (UE) per l'Europa. Soluzioni di NaI e ZnCl₂ sono state considerate valide alternative a NaCl (aq). La loro alta densità le rende capaci di separare plastiche ad elevata densità, incluso il polivinilcloruro (PVC) (M. T. Nuelle, J.H. Dekiff, D. Remy, E. Fries, 2014).

IDENTIFICAZIONE DI MICROPLASTICHE

Dopo la preparazione dei tessuti bersaglio, è necessario accertare la quantità e il tipo di microplastiche.

I ricercatori possono utilizzare caratteristiche quali: morfologia e densità, per identificare la presenza di microplastiche. L'identificazione visiva si basa sulle caratteristiche morfologiche e fisiche delle particelle, mentre le caratteristiche chimiche sono determinate da tecniche analitiche più avanzate (Mathalon and Hill, 2014).

IDENTIFICAZIONE VISIVA

I primi rapporti si basano principalmente sull'identificazione visiva. Questo metodo rimane un passaggio essenziale nella classificazione delle microplastiche ed è perfettamente accettabile se supportato dalla successiva analisi polimerica. L'identificazione visiva può essere condotta mediante microscopia ottica, polarizzata o elettronica (C.B. Crawford, B. Quinn, 2017). I metodi semiautomatici, tra cui ZooScan, consentono di analizzare rapidamente un gran numero di campioni. I microscopi elettronici a scansione (SEM) producono immagini ad alta risoluzione e sono stati implementati in diversi studi sia per l'immagine della plastica recuperata sia come un modo per identificare la colonizzazione microbica (Y.K. Song, S.H. Hong, M. Jang, G.M. Han, M. Rani, J. Lee, W.J. Shim). L'identificazione visiva è rapida e relativamente economica. I criteri per l'identificazione visiva delle microplastiche comprendono: l'assenza di strutture cellulari o organiche, uno spessore omogeneo attraverso le particelle, colori e lucentezza omogenei. La selezione manuale della plastica al microscopio è più efficace per particelle > 500 micrometri. Lo sforzo e l'accuratezza richiesta aumentano con la diminuzione della dimensione delle particelle (M.G.J. Loder, G. Gerds, 2015).

IDENTIFICAZIONE DEI POLIMERI

A causa delle difficoltà nell'identificazione visiva delle microplastiche, è necessario utilizzare analisi secondarie per confermare l'identità del materiale polimerico sospetto. La tecnica più semplice è l'uso di un ago caldo per osservare i punti di fusione delle materie plastiche. Sebbene sia economico e veloce, questo metodo non consente l'identificazione accurata del polimero (S.C. Gall, R.C. Thompson, 2015). Tuttavia, l'intervallo di temperatura in cui avviene la fusione fornisce un intervallo specifico sul tipo di polimero che stiamo analizzando. Un'altra tecnica prevede l'esame di microplastiche al microscopio ottico polarizzato per osservare le proprietà birifrangenti del polimero sospetto. La birifrangenza di un polimero è il risultato della sua struttura chimica e dei suoi metodi di fabbricazione che si traducono in proprietà anisotropiche uniche. Facendo passare la luce polarizzata attraverso un campione si creano spettri dai quali è possibile confermare l'identità delle materie plastiche. Vengono utilizzate anche tecniche analitiche spettroscopiche tra cui: spettrometria infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR), spettrometria Raman e la pirolisi gas cromatografia combinata con la spettroscopia di massa (Pyr-GC-MS) (A. Kappler, M. Fischer, B.M. Scholz-Bottcher, S. Oberbeckmann, M. Labrenz, D. Fischer, K.J. Eichhorn, B. Voit, 2018). Una delle caratteristiche che favoriscono l'uso delle tecniche spettroscopiche è il fatto che queste non sono distruttive come la PYr-GS-MS. Inoltre, un'altra caratteristica che va a svantaggio della PYr-GS-MS è dovuta al posizionamento manuale della particella nello strumento, che può comportare limitazioni di dimensione, e dal fatto che può essere analizzata una sola particella per campione (A.S. Tagg, M. Sapp, J.P. Harrison, J.J. Ojeda, 2015).

CAPITOLO 4

TOSSICITA' DELLE MICROPLASTICHE

Oltre agli impatti fisiologici sugli organismi marini, causati dall'ingestione di microplastiche, la tossicità causata dalla lisciviazione di sostanze plastiche nell'ambiente richiede un'indagine approfondita. Quello che si è potuto riscontrare è che le microplastiche ingerite possono essere ritrovate nell'intestino, nel fegato e nei tratti renali degli esseri viventi. A causa di una contaminazione sempre più diffusa, le microplastiche vengono ingerite da molti organismi in diverse aree geografiche del nostro pianeta. Poiché le sostanze ingerite non sono digeribili e degradabili, c'è una preoccupazione sempre maggiore relativa alla tossicità fisica e chimica che la plastica può avere. Stanno emergendo infatti, sempre più, prove riguardanti la tossicità della microplastica. La gravità degli effetti derivanti da esposizioni dipende dalla natura della sostanza chimica, dalle caratteristiche dell'esposizione e dalla sensibilità individuale.

Qualsiasi tossicità associata alla plastica in generale, comprese le meso o le microplastiche, può essere attribuita ad uno o più dei seguenti fattori:

- I monomeri residui dalla produzione presenti nella plastica o gli additivi tossici utilizzati possono fuoriuscire dalla plastica ingerita. Un esempio di monomero residuo è illustrato dal recente studio sul bis-fenolo A (BPA), residuo nei prodotti in policarbonato (Vandenberg et al., 2007). La potenziale tossicità dei plastificanti ftalati utilizzati nel PVC è stata discussa in letteratura (Latini et al., 2004);
- Tossicità di alcuni intermedi ottenuti da una parziale degradazione della plastica. Ad esempio, la combustione del polistirolo può produrre stirene;
- I POP presenti nell'acqua di mare vengono assorbiti e concentrati nei frammenti di microplastica. I detriti di plastica "puliscono" l'acqua di mare

dalle sostanze chimiche inquinanti disciolte fungendo da microspugne e da vettori per inquinanti ancor più pericolosi. Tuttavia, se ingeriti, queste sostanze tossiche possono diventare biodisponibili per gli organismi (Endo et al., 2005).

I composti organici idrofobici nell'ambiente acquatico hanno un'elevata tendenza ad essere associati a particelle di sedimenti sospesi (Eek et al., 2010, Xia et al., 2006). Con proprietà fisiche simili e un'idrofobicità superficiale ancora maggiore rispetto alla materia organica sospesa presente in natura, i frammenti di plastica, hanno una capacità di assorbimento ancora maggiore e possono influenzare ulteriormente il destino ambientale degli inquinanti organici persistenti idrofobici (POP) (Lee et al., 2014, Mato et al. al., 2001). Grandi quantità di POP idrofobici, inclusi idrocarburi policiclici aromatici (IPA), bifenili policlorurati (PCB) ed eteri di difenile polibromurato (PBDE), possono essere trasportati da particelle di plastica di scarto (Hirai et al., 2011, Mato et al., 2001, Rios et al., 2007). Particolarmente significativo è quindi il rischio rappresentato dalle alte concentrazioni di sostanze captate nell'acqua di mare. Gli inquinanti organici persistenti (POP) che si trovano universalmente nell'acqua di mare vengono captati dalle microplastiche. È l'idrofobicità dei questi che ne facilita la concentrazione ad un livello di diversi ordini di grandezza superiore a quello dell'acqua di mare. Queste plastiche contaminate quando vengono ingerite dalle specie marine rappresentano un percorso attraverso il quale i POP possono entrare nella rete alimentare marina. L'acqua di mare contiene, tipicamente a bassi livelli, una miriade di sostanze chimiche come: insetticidi, pesticidi e prodotti chimici industriali che entrano nell'oceano attraverso le acque reflue e il deflusso (Wurl e Obbard, 2004). Sostanze organiche persistenti come i bifenili policlorurati (PCB), gli eteri di difenile polibromurato (PBDE) e l'acido perfluorooottanoico (PFOA) hanno un coefficiente di distribuzione acqua-polimero molto elevato, a favore della plastica.

L'ingestione di particelle microplastiche è stata osservata nelle regioni oceaniche a livello globale e in un'ampia gamma di organismi marini (Ferreira et al., 2016, Setälä et al., 2015, Devriese et al., 2015, Green, 2016). L'ingestione di microplastiche da parte di organismi marini nella maggior parte dei casi è accidentale perché la

particella viene spesso scambiata per cibo (Lönstedt e Eklöv, 2016). Le microplastiche, se ingerite, provocano danni chimici e fisici e il consumo di queste da parte di organismi marini può causare effetti meccanici alle superfici esterne degli organi. Questo può ostacolare la mobilità e può causare l'ostruzione del tubo digerente. Il consumo di microplastiche è comune a un'ampia gamma di organismi marini che rappresentano diversi livelli trofici, inclusi invertebrati ed in particolare i lugworms, i mitili, cetrioli di mare, anfipodi e zooplancton (Rehse et al., 2016, Cole et al., 2013, Goldstein e Goodwin, 2013, von Moos et al., 2012, Avio et al., 2016). Non sono esclusi dalla lista uccelli, pesci, tartarughe e mammiferi che si nutrono di pesce (Ferreira et al., 2016, Batel et al., 2016, Fossi et al., 2016, Caron et al., 2016). Organismi che possono interferire con la catena alimentare, poiché presenti nel livello trofico inferiore, sono zooplancton e copepodi (Hollman et al., 2013). Le microplastiche contengono inquinanti organici, aggiunti durante la produzione di plastica (dietalesilftalato (DEHP)) o assorbiti dall'acqua di mare. Le microplastiche fungono quindi da spazzini e trasportatori (Bakir et al., 2014). L'adsorbimento è sia un comportamento fisico che chimico. L'adsorbimento fisico dipende dalla grande superficie specifica e dalle forze di Van der Waals, mentre l'adsorbimento chimico è principalmente dovuto alla maggiore affinità degli inquinanti organici alle superfici idrofobiche delle microplastiche rispetto all'acqua di mare (Teuten et al., 2007, Wang et al., 2016).

L'ingestione di microplastiche da parte di organismi può avvenire anche attraverso processi di ventilazione, ovvero assorbimento di piccole particelle attraverso le branchie mediante il movimento dell'acqua (Watts et al., 2014).

Studi sull'ingestione marina di microplastiche hanno spiegato le implicazioni tossiche che le microplastiche possono provocare agli organismi acquatici che sono maggiormente esposti. I cambiamenti patologici nell'intestino includono una riduzione della secrezione di muco, disfunzione della barriera intestinale e infiammazione intestinale. Le patologie epatiche documentate includono infiammazione e accumulo di lipidi o cambiamenti del profilo lipidico, nonché cambiamenti nei marcatori del metabolismo lipidico. Altri problemi metabolici

rilevati includono disturbi nel metabolismo energetico e nel metabolismo degli acidi biliari.

Oltre ad un contatto con gli organismi marini e terrestri sopracitati, la diffusione delle microplastiche nei livelli trofici e nell'ecosistema in cui viviamo porta all'inevitabile esposizione umana a questo nuovo e diffuso inquinante. Anche se sono in fase di studio gli effetti delle microplastiche sulla salute umana, verranno esposte le prove dei potenziali effetti negativi delle microplastiche nel corpo umano, concentrandosi sui percorsi di esposizione e tossicità. L'esposizione, a cui l'uomo è costantemente sottoposto, può avvenire per ingestione, inalazione e contatto cutaneo a causa della presenza di microplastiche nei prodotti, negli alimenti e nell'aria. In tutti i sistemi biologici, l'esposizione alle microplastiche può causare tossicità da particelle, con stress ossidativo, lesioni infiammatorie e traslocazione. L'incapacità del sistema immunitario di rimuovere le particelle sintetiche può portare a infiammazioni croniche e aumentare il rischio di neoplasia. Inoltre, le microplastiche possono rilasciare i loro costituenti, contaminanti adsorbiti e organismi patogeni. Tuttavia, la conoscenza sulla tossicità delle microplastiche è ancora limitata e largamente influenzata dalla concentrazione di esposizione, dalle proprietà delle particelle, dai contaminanti adsorbiti, dai tessuti coinvolti e dalla suscettibilità individuale, che richiedono ulteriori ricerche. La natura onnipresente delle microplastiche nell'ambiente e nei prodotti di consumo porta all'inevitabile esposizione umana a queste particelle. Tuttavia, le conseguenze di questa esposizione non sono ancora ben comprese. Le informazioni sull'impatto delle microplastiche sugli esseri umani sono limitate a causa di vincoli etici, dalle rigorose misure di sicurezza per la manipolazione di campioni umani e dalle tecniche di rilevamento limitate.

Il corpo umano è esposto alle microplastiche attraverso l'ingestione di alimenti, l'inalazione di microplastiche nell'aria e il contatto cutaneo di queste particelle, contenute nei prodotti, nei tessuti o nella polvere (Revel et al., 2018).



Figura 4.1: Effetti sulla salute umana delle microplastiche.

INGESTIONE DI MICROPLASTICHE

L'ingestione è considerata la principale via di esposizione umana alle microplastiche (Galloway, 2015). Sulla base del consumo di prodotti alimentari, l'assunzione stimata di microplastiche è di 39.000-52.000 particelle per persona l'anno (Cox et al., 2019). Le particelle possono raggiungere il sistema gastrointestinale attraverso il cibo contaminato o attraverso la clearance mucociliare dopo l'inalazione. Questa provoca una risposta infiammatoria, una maggiore permeabilità e cambiamenti nella composizione e nel metabolismo dei microbi intestinali (Salim et al., 2013). Sono state segnalate microplastiche in prodotti alimentari, come nelle cozze, nel sale da cucina, nello zucchero e nell'acqua in bottiglia (Oßmann et al., 2018, Li et al., 2016). Tuttavia, studi prevedono che la deposizione della polvere sui piatti durante i pasti potrebbe essere ancora più impattante delle microplastiche già presenti negli alimenti. Dopo l'ingestione, le particelle possono essere adsorbite nell'intestino da cellule M specializzate, coprendo un tessuto linfoide intestinale a seconda anche dell'aderenza al muco gastrointestinale, dove l'elevata aderenza aumenta il tasso di eliminazione delle particelle (Ensign et al., 2012). Un altro possibile meccanismo di internalizzazione delle particelle è l'assorbimento, ovvero il trasferimento paracellulare di particelle attraverso il singolo strato dell'epitelio intestinale

(Volkheimer, 1977). Le microplastiche possono essere soggette a questi meccanismi in quanto la loro traslocazione nel sistema circolatorio dopo la somministrazione orale è stata dimostrata in vivo. L'esposizione umana per ingestione è molto probabile poiché il cibo e l'ambiente sono contaminati da microplastiche.

INALAZIONE

Le microplastiche vengono rilasciate nell'aria da numerose fonti, inclusi i tessuti sintetici, abrasione dei materiali (pneumatici per auto), e la risospensione delle microplastiche nelle superfici. Sulla base del campionamento dell'aria, si prevede che una persona di sesso maschile con attività leggera, inali 272 microplastiche al giorno (Vianello et al., 2019). Stime diverse dipendono dalle metodologie di campionamento e dai fattori di utilizzo dello spazio, come il programma di pulizia, le attività, i materiali dei mobili e la stagione. Le proprietà delle particelle, come le dimensioni e la densità, influenzano la deposizione sul sistema respiratorio, con particelle meno dense e più piccole che arrivano in profondità nei polmoni. Dopo la deposizione, la clearance da parte dei macrofagi, la migrazione nella circolazione o nel sistema linfatico possono portare alla traslocazione delle particelle. Tuttavia, l'ampia superficie delle particelle può indurre nel sistema respiratorio un intenso rilascio di fattori chemiotattici che impediscono la migrazione dei macrofagi e aumentano la permeabilità. Questa può portare ad un'inflammatione cronica, nota come sovraccarico di polvere (Donaldson et al., 2000). I sintomi respiratori associati allo sviluppo delle vie aeree e della malattia polmonare interstiziale si riscontrano nell'esposizione professionale a microplastiche aerodisperse nei lavoratori dell'industria tessile sintetica, e nelle industrie del cloruro di vinile o del cloruro di polivinile (Atis et al., 2005, Agarwal et al., 1978, Pimentel et al., 1975, Porter et al., 1999, Xu et al., 2004). Fibre di 250 μm sono state rilevate anche nelle biopsie polmonari umane, comprese le biopsie tumorali, anche se il nesso di causalità non è stato ancora dimostrato (Pauly et al., 1998). Pertanto, è probabile che in condizioni di alta concentrazione o elevata suscettibilità individuale, le microplastiche aerodisperse possano causare lesioni al sistema respiratorio.

CONTATTO CUTANEO

Il contatto cutaneo con le microplastiche è considerata la via di esposizione meno significativa, sebbene sia stato ipotizzato che le nanoplastiche (<100 nm) possano attraversare la barriera dermica (Revel et al., 2018). Questa via è più spesso associata, invece, all'esposizione di monomeri e additivi della plastica, come: bisfenolo A e ftalati. Tuttavia, la possibilità che le microplastiche possano attraversare la barriera cutanea e causare tossicità non dovrebbe essere abbandonata senza prove. In medicina, la plastica è nota per indurre basse reazioni infiammatorie e reazioni da corpo estraneo, con incapsulamento fibroso. Anche se le microplastiche potrebbero indurre infiammazioni e reazioni da corpi estranei, le differenze nelle proprietà della superficie potrebbero anche portare a risultati distinti (Schirinzi et al., 2017). Pertanto, i potenziali effetti negativi delle microplastiche e la diffusa esposizione cutanea a particelle di plastica (polvere, fibre sintetiche e microsfele nei cosmetici) supportano la necessità di ulteriori ricerche in questo settore.

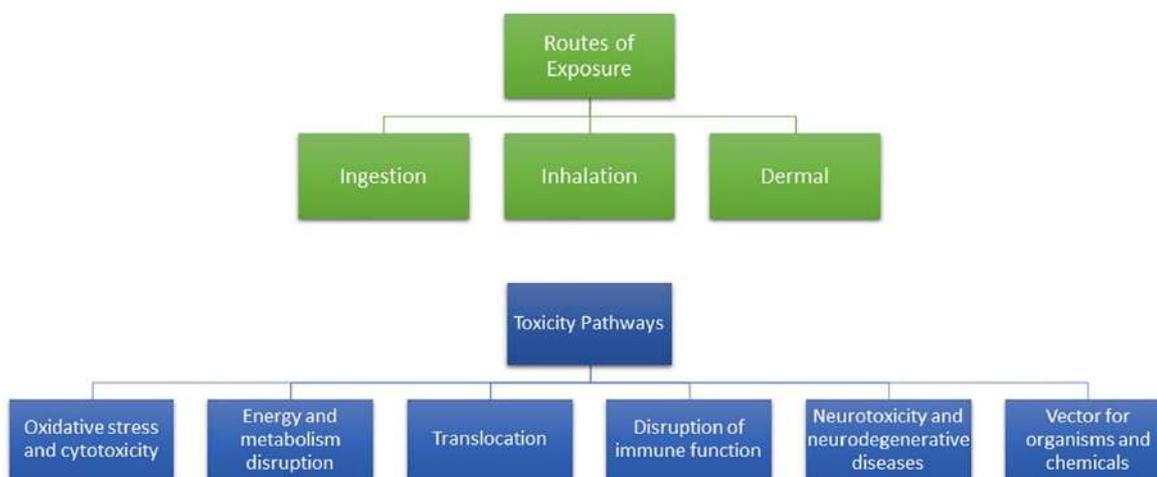


Figura 4.2: Potenziali vie di esposizione e vie di tossicità per le microplastiche nel corpo umano.

TOSSICITÀ DELLE MICROPLASTICHE PER L'UOMO

Considerate per molto tempo particelle inerti e prive di tossicità, le microplastiche sono viste ora come particelle potenzialmente dannose per gli organismi, a seconda dell'esposizione e della suscettibilità (Anbymani e Kakkar, 2018, Galloway, 2015). L'elevata area superficiale delle microplastiche può portare a stress ossidativo, citotossicità e traslocazione ad altri tessuti, mentre la loro natura persistente ne limita la rimozione dall'organismo, determinando infiammazioni croniche, che aumentano il rischio di cancro. D'altra parte, le microplastiche, come parte del particolato, possono anche essere coinvolte nella crescente incidenza di malattie immunitarie o neurodegenerative. Inoltre, possono rilasciare sostanze chimiche, o agire come vettori di microrganismi pericolosi (Kirstein et al., 2016, Crawford e Quinn, 2017).

STRESS OSSIDATIVO E CITOTOSSICITÀ

La risposta antiossidante può provocare stress ossidativo. Le microplastiche possono essere all'origine di questo stress ossidativo, causato dalla loro elevata area superficiale, dal rilascio di specie ossidanti adsorbite sulla loro superficie (metalli) o a causa di specie reattive dell'ossigeno rilasciate durante la risposta infiammatoria (Kelly e Fussel, 2012, Valavanidis et al., 2013). Nelle protesi in polipropilene (PP), dopo l'inserimento, la risposta infiammatoria acuta culmina con il rilascio di ossidanti (ad esempio perossido di idrogeno, acido ipocloroso) che inducono degradazione, idrolisi, cracking e lisciviazione additiva del polimero, producendo un ciclo di feedback positivo della produzione di radicali liberi e rivelando potenziali meccanismi di rimozione della plastica dall'organismo (Sternschuss et al., 2012).

La citotossicità è il risultato di tossicità da particelle, stress ossidativo e infiammazione. L'internalizzazione cellulare della microplastica è stata descritta in colture cellulari. All'interno della cellula, le microplastiche non sono legate alla membrana, e possono potenzialmente interagire con le strutture intercellulari (Geiser

et al., 2005). I test in vitro sono stati in grado di mostrare la citotossicità causata da particelle di plastica raccolte dall'ambiente (Furukuma e Fuji, 2016). D'altra parte, l'esposizione a 0,05-10 mg L⁻¹ di sostanze quali polistirene o polietilene nelle cellule umane cerebrali ed epiteliali, non è stata in grado di indurre citolisi, ma ha aumentato le specie reattive dell'ossigeno (ROS) ad alte concentrazioni, contribuendo alla citotossicità (Schirinzi et al., 2017). Pertanto, la citotossicità e lo stress ossidativo possono essere importanti meccanismi di tossicità microplastica (Chiu et al., 2015).

INTERRUZIONE DELL'OMEOSTASI ENERGETICA E DEL METABOLISMO

L'omeostasi energetica è influenzata dall'equilibrio tra l'energia disponibile, dall'assunzione dalle riserve, e il dispendio. Diversi studi hanno dimostrato che le microplastiche possono avere un impatto sull'omeostasi energetica. Ad esempio, le microplastiche possono ridurre l'apporto energetico a causa di:

- Ridotta attività di alimentazione (in vermi marini, granchi e vongole) (Xu et al., 2017, Watts et al., 2015, Wright et al., 2013).
- Riduzione delle prestazioni predatorie, probabilmente derivante dalla neurotossicità (ad esempio nei pesci) (Wen et al., 2018).
- Deficit delle capacità digestive attraverso la modulazione delle attività degli enzimi digestivi, con conseguente diminuzione dell'assunzione di nutrienti (ad es. aumento dell'amilasi e diminuzione dell'attività della tripsina nei pesci) (Wen et al., 2018).

D'altra parte, le microplastiche possono avere un effetto opposto, aumentando l'assunzione di cibo in risposta all'aumento della domanda di energia o diminuendo l'efficienza di assorbimento (Deng et al., 2017). Inoltre, possono portare ad un bilancio energetico negativo a causa dell'aumento del consumo di energia. Negli studi in vivo sulle microplastiche, è stato osservato un aumento del consumo di energia derivante da: reazioni infiammatorie che richiedono energia, aumento del tempo di permanenza intestinale con costi energetici più elevati, aumento dei meccanismi di

escrezione, come l'escrezione di ammoniaca o la produzione di pellet fecali o pseudofeci (Xu et al., 2017, Watts et al., 2015, Wright et al., 2013).

Nel fegato dei topi le microplastiche hanno portato ad una diminuzione dei livelli di ATP e ad una diminuzione del metabolismo dei lipidi (Deng et al., 2017). Nell'uomo, possono avere effetti simili, aumentando il dispendio energetico, diminuendo l'assunzione di nutrienti o la modulazione del metabolismo. Tuttavia, l'osservazione di questi effetti può essere limitata considerando le basse concentrazioni di esposizione e le maggiori esigenze energetiche degli esseri umani rispetto agli organismi testati.

TRASLOCAZIONE DELLE MICROPLASTICHE NEL SISTEMA CIRCOLATORIO E NEI TESSUTI

Dopo l'esposizione, le microplastiche possono agire localmente o traslocare, portando all'esposizione tessuti distanti. La traslocazione è particolarmente probabile durante l'infiammazione, a causa della maggiore permeabilità delle barriere epiteliali. La mucosa gastrointestinale può anche avere una maggiore permeabilità a causa della malnutrizione e nelle diete ricche di grassi saturi e zuccheri ad alto contenuto di fruttosio (attraverso i cambiamenti nel microbioma intestinale) (West-Eberhard, 2019). La traslocazione di microplastiche è stata segnalata dopo l'inalazione e l'ingestione di microplastiche, raggiungendo la circolazione e tessuti distanti, come il fegato o la milza (Eyles et al., 2001, Jani et al., 1990). Nell'uomo, un modello di perfusione della placenta ha dimostrato che le microplastiche sono in grado di attraversare la barriera placentare (Wick et al., 2010). In circolazione queste possono causare infiammazione, ipertensione polmonare, occlusioni vascolari, aumento della coagulabilità e citotossicità delle cellule del sangue (Canesi et al., 2015). Possono raggiungere anche il fegato e i reni, responsabili del metabolismo e dell'escrezione degli xenobiotici. Dopo una soglia, l'accumulo continuo di particelle nelle cellule renali potrebbe portare a una significativa compromissione della funzione renale.

Quando raggiungono le ossa, particelle di PE e PS possono essere responsabili della perdita ossea a causa di una maggiore attività degli osteoclasti, le cellule responsabili del riassorbimento osseo (Liu et al., 2015, Ormsby et al., 2016).

INTERRUZIONE DELLA FUNZIONE IMMUNITARIA

Dopo l'esposizione, le microplastiche possono causare risposte immunitarie locali o sistemiche, a seconda della loro diffusione. Tuttavia, in alcuni casi l'esposizione ambientale è sufficiente per interrompere la funzione immunitaria, favorendo malattie autoimmuni o immunosoppressione. Le malattie autoimmuni possono essere causate dall'inalazione di particolato attraverso meccanismi di traslocazione di particelle, stress ossidativo, rilascio di immunomodulatori e attivazione di cellule immunitarie. Con conseguente esposizione ad autoantigeni e produzione di autoanticorpi (Farhat et al., 2011).

Le microplastiche, potrebbero contribuire a questa interruzione della funzione immunitaria, anche se non è stata ancora riscontrata sugli esseri umani. Tuttavia, i mitili *Mytilus* mostrano immunosoppressione e modulazione dipendente dai tessuti della risposta immunitaria dopo l'esposizione a microplastiche (Détrée e Gallardo-Escárate, 2018). Sono necessarie ulteriori indagini sugli effetti delle microplastiche sul sistema immunitario.

NEUROTOSSICITÀ E CRESCENTE INCIDENZA DI MALATTIE NEURODEGENERATIVE

L'esposizione a contaminanti quali microplastica può portare a neurotossicità, che è correlata a malattie di tipo neurodegenerative. La neurotossicità è stata segnalata in vivo dopo l'esposizione al particolato, probabilmente a causa dello stress ossidativo e dell'attivazione della microglia nel cervello (cellule immunitarie) a causa del contatto diretto con le particelle traslocate (MohanKummar et al., 2008). L'esposizione all'inquinamento del traffico, compreso il particolato, associato a un lieve deterioramento cognitivo negli anziani, aumentando il rischio di Alzheimer e

una maggiore incidenza di demenza (Chen et al., 2017, Ranft et al., 2009). Attraverso gli stessi meccanismi, e in base alla suscettibilità individuale, le microplastiche potrebbero contribuire alla crescente incidenza di malattie neurodegenerative. Infatti, i test di tossicità in vivo hanno dimostrato che le microplastiche possono influire sulla funzione e sul comportamento dei neuroni. Nel cervello della spigola europea (*Dicentrarchus labrax*), è stato riportato che le microplastiche causano l'inibizione dell'acetilcolinesterasi (AChE), stress ossidativo con aumento dei livelli di perossidazione lipidica e aumento nella via anaerobica della produzione di energia (Barboza et al., 2018a). È stato segnalato che l'esposizione a PS causa effetti avversi sulla neurotrasmissione nei topi, come anche una maggiore attività di AChE e cambiamenti nei neurotrasmettitori sierici (Deng et al., 2017). A causa dell'evidenza di neurotossicità durante i test di microplastiche derivante dall'esposizione umana al particolato, è necessario capire come queste potrebbero essere coinvolte nella neurotossicità negli esseri umani, contribuendo ad un aumento del rischio di malattie neurodegenerative.

MICROPLASTICHE COME VETTORI DI MICRORGANISMI E SOSTANZE CHIMICHE POTENZIALMENTE TOSSICHE

Oltre alla tossicità delle particelle, le microplastiche possono anche rappresentare rischi chimici e biologici. Il monomero e gli additivi possono lisciviare dalla matrice microplastica all'interno dell'organismo, esponendo i tessuti a sostanze chimiche come ftalati e bisfenolo A, noti come interferenti endocrini. Queste sono sostanze anche a concentrazioni molto basse interferiscono con gli ormoni endogeni (Cole et al., 2011). Oltre ai loro costituenti, l'elevata superficie delle microplastiche le rende inclini a funzionare come vettori di microrganismi o sostanze chimiche con cui vengono a contatto. Se ingerite, le microplastiche potrebbero esporre gli organismi a concentrazioni più elevate di queste sostanze chimiche potenzialmente tossiche. Tuttavia, il contributo delle microplastiche all'esposizione ai POP sembra trascurabile se paragonato all'assunzione di cibo e acqua (Bakir et al., 2016).

I microrganismi inoltre possono anche colonizzare le superfici delle microplastiche. (Kirstein et al., 2016). In questo caso, le microplastiche potrebbero agire come veri e propri “vettori”, trasportando microrganismi ai tessuti, e creare così infezioni. Inoltre, in diversi studi è stato riportato che le microplastiche, con il tempo, hanno alterato la diversità del microbioma intestinale negli organismi che ne erano a contatto (Zhu et al., 2018). Lo stesso effetto potrebbe verificarsi nell'uomo dopo l'ingestione di una quantità significativa di microplastiche. Le alterazioni del microbioma intestinale possono portare effetti avversi, come: la proliferazione di specie nocive, l'aumento della permeabilità intestinale e l'endotossiemia (West-Eberhard, 2019). Tuttavia, gli effetti negativi dovuti al rilascio di sostanze chimiche o di microrganismi adsorbiti alle microplastiche dipendono fortemente dai tipi di particelle ingerite, dal tempo di eliminazione, dalla traslocazione delle microplastiche vettoriali, dalla velocità di rilascio e dall'entità del contaminante, dalla sua traslocazione e dagli effetti nocivi nei tessuti umani.

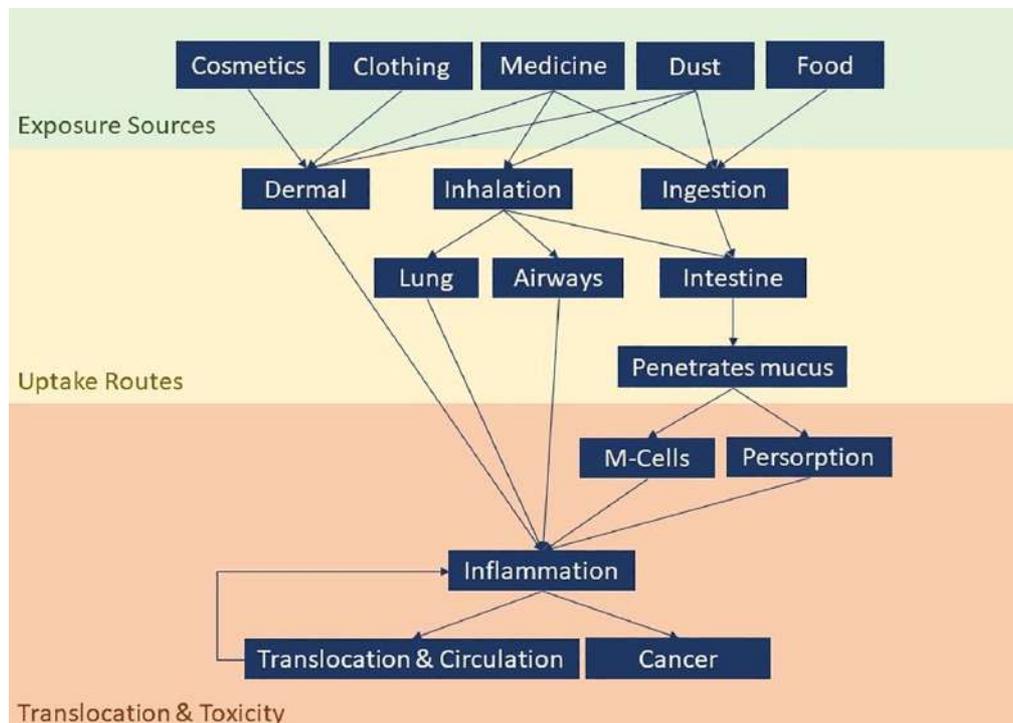


Figura 4.3: Potenziali vie di esposizione e tossicità delle microplastiche nel corpo umano.

POSSIBILI SVILUPPI FUTURI DELLA RICERCA SULLE MICROPLASTICHE NELLA SALUTE UMANA

Anche se attualmente non ci sono prove di un rischio diffuso per la salute umana, è necessario comprenderne l'esposizione, specialmente per le microplastiche più piccole (<10µm) (SAPEA, 2019). Questa conclusione è supportata da rapporti, in cui l'ingestione di microplastiche è messa in prospettiva rispetto all'esposizione ambientale ad altri additivi e contaminanti. La necessità di ulteriori ricerche è dichiarata sulla base dell'attuale mancanza di informazioni per la valutazione del rischio (SAM, 2018, Group of Chief Scientific Advisors, 2018). La valutazione del rischio è inoltre limitata dalla complessità della tossicologia microplastica, dall'interazione con altri contaminanti (ad esempio metalli) o dall'inclusione dei suoi effetti sulla salute in altre categorie di contaminanti (particolato). Inoltre, le plastiche utilizzate nei test tossicologici sono spesso diverse dalle controparti ambientali, in termini di proprietà della superficie, agenti atmosferici, sostanze chimiche e organismi adsorbiti, portando così a conclusioni imprecise. Pertanto, i rischi per la salute pubblica devono essere ulteriormente esplorati, includendo test non solo sulle concentrazioni rilevanti per l'ambiente, ma anche sulle proprietà delle microplastiche rilevanti per l'ambiente.

CAPITOLO 5

ENVIRONMENTAL AND HEALTH RISK ASSESSMENT

Le microplastiche microplastiche hanno il potenziale per interagire con gli organismi biologici, e rappresentano sempre più un rischio per la società globale. Operativamente, il rischio può essere visto come la “possibilità di un danno” derivante da un insieme specifico di condizioni. Queste condizioni possono essere: l'entità, la durata e la frequenza di esposizione ad un agente (Hester e Harrison 2006). La caratterizzazione, la valutazione e la quantificazione del rischio si verifica in molte discipline. La caratterizzazione del rischio comprende sia la valutazione dell'esposizione che quella della dose-risposta e funge da intermediario tra la valutazione e la gestione del rischio. Tipicamente, vengono utilizzati approcci deterministici per stimare i rischi ambientali calcolando il rapporto tra l'esposizione e un criterio di tossicità (sebbene valutazioni più complesse spesso facciano uso di metodi probabilistici). L'approccio deterministico tipico si basa sul presupposto che, per un rischio non canceroso, esiste un livello di esposizione al di sotto del quale esiste una probabilità trascurabile che venga osservato un effetto avverso (Williams e Paustenbach 2002). Un metodo comune per la valutazione del rischio ambientale, ad esempio, prevede la stima di un quoziente di rischio (RQ). Questo è un rapporto tra la concentrazione ambientale prevista (PEC) e la concentrazione prevista senza effetto (PNEC) (Predicted No Effect Concentration) (European Chemicals Bureau 2003).

Stime di valutazione del rischio chimico in genere utilizzano ipotesi molto conservative, in modo tale che un $RQ < 1$ indichi una probabilità a basso rischio e un $RQ > 1$ indichi una priorità per intraprendere una valutazione del rischio di livello superiore. Come la valutazione del rischio chimico anche caratterizzare i potenziali rischi ambientali e della salute associati alle particelle microplastiche richiede componenti di studio simili (Cole et al. 2011). Questi sono utilizzati per derivare

stime di rischio-esposizione. La sfida nel caratterizzare il rischio di particelle microplastiche, tuttavia, è dovuta al fatto che questi materiali non rientrano nel campo di applicabilità per gli attuali sistemi di valutazione standardizzati e l'ottimizzazione del dosaggio è spesso necessaria per garantire l'affidabilità e l'applicabilità dei risultati dei test (Connors et al. 2017; ECETOC 2019).

Tuttavia, numerosi studi condotti sulle particelle microplastiche nell'ultimo decennio riportano effetti avversi associati all'esposizione di queste (Connors et al.2017; Burns and Boxall 2018; ECETOC 2019; Science Advice for Policy by European Academies 2019).

Le preoccupazioni associate al rilevamento di microplastiche in numerosi sistemi acquatici e in specie selvatiche, nonché in vari prodotti alimentari e bevande, hanno portato a una maggiore copertura mediatica sulle esposizioni di particelle microplastiche e una crescente consapevolezza all'interno del dominio pubblico (Science Consigli per la politica delle accademie europee 2019). Quantificare le relazioni dose-risposta è fondamentale per caratterizzare il rischio chimico (National Research Council 1983). Per le particelle microplastiche, tuttavia, l'interpretazione delle relazioni concentrazione dose-risposta non è semplice e può essere piuttosto impegnativa poichè gli OAE (Observed Adverse Effects) associati alle particelle microplastiche sembrano essere influenzati dalle interazioni fisiche tra organismi e la quantità di particelle. Esempi di OAE includono vari effetti indiretti, come l'inibizione della crescita e la riproduzione, in cui le particelle microplastiche impediscono la capacità di un organismo di accedere ai nutrienti (Watts et al.2016; Choi et al.2018). Pertanto, un fattore chiave da considerare è l'applicabilità di derivare un valore RQ per particelle microplastiche utilizzando una relazione PEC / PNEC rappresentativa.

$$RQ = \frac{PEC}{PNEC}$$

COME VIENE ESEGUITA UNA VALUTAZIONE DEL RISCHIO AMBIENTALE?

Sebbene l'obiettivo di qualsiasi ERA (Environmental Risk Assessment) sia generalmente lo stesso (identificare il pericolo, stimare il rischio posto e prendere in considerazione le misure per ridurlo se necessario), ci sono una serie di quadri differenti utilizzati da diversi gruppi per condurre una valutazione del rischio corretta. Indipendentemente dalle metriche utilizzate, la maggior parte delle ERA coinvolge diverse fasi comuni: pianificazione e definizione dell'ambito, formulazione del problema, analisi e caratterizzazione della valutazione del rischio.

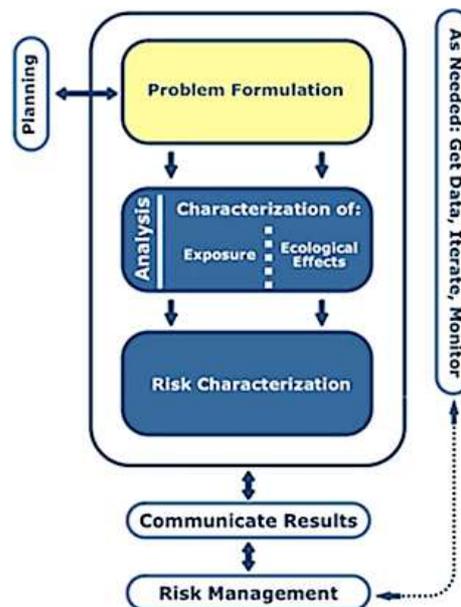


Figura 5.1: Schema rappresentante la valutazione del rischio ambientale. Questa richiede diversi passaggi per caratterizzare, modellare, valutare, comunicare e gestire il rischio.

Pianificazione e definizione dell'ambito: Chi deve svolgere una valutazione del rischio deve iniziare generalmente affrontando una serie di domande di base. Chi o cosa è a rischio? Qual è il fattore di stress ambientale che preoccupa? Qual è la fonte di questo agente di stress? Come si propaga l'esposizione a questo agente dello stress attraverso gli ambienti e le popolazioni? Quali sono gli impatti dell'esposizione a questo agente di stress? Quanto tempo ci vuole per la comparsa degli impatti?

Formulazione del problema: L'obiettivo della fase di formulazione del problema è raccogliere tutti i dettagli necessari. Questo aiuta a definire l'entità ecologica per la quale si desidera valutare il rischio ed elaborare un piano esatto. Bisogna inoltre specificare se l'obiettivo è valutare il rischio per una particolare specie, un gruppo funzionale di specie, un habitat specifico o una posizione geografica di interesse. È necessario anche esporre tutte le domande o le preoccupazioni specifiche che devono essere incluse nella valutazione.

Sviluppo del modello: Prima di stimare l'entità e la probabilità del rischio, è utile sviluppare un modello che dia un diagramma delle relazioni e dei percorsi che colleghi la fonte del pericolo e i recettori a rischio di danno. Tale modello aiuta a identificare i pezzi chiave di dati o informazioni necessari per completare la valutazione.

Valutazione del rischio: Qui viene stimato il rischio effettivo per le componenti chiave identificate nello sviluppo del modello. I calcoli vengono utilizzati per determinare i livelli di esposizione che porteranno a effetti dannosi.

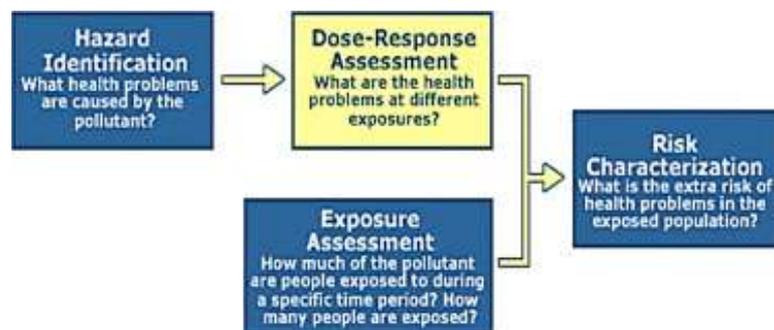


Figura 5.2: Schema rappresentante i passaggi nel processo di valutazione del rischio.

Gestione del rischio: Se un ERA identifica un rischio significativo, il passaggio successivo consiste nello sviluppare un approccio di gestione per ridurre o eliminare il rischio. Riportando un esempio, se viene determinato che una sostanza chimica rappresenta un rischio per la vita acquatica, potrebbero essere necessarie tecnologie

di rimozione più efficaci presso l'impianto o, in caso contrario, si potrebbe decidere di non produrre più quella determinata sostanza. Se il pubblico è esposto a un rischio, la comunicazione del rischio e le misure proposte per gestirlo sono una componente importante del processo.

La valutazione dei potenziali effetti delle particelle microplastiche richiede la valutazione di molti fattori. Questi influenzano l'esposizione all'interno del sistema di test (cioè la dose) e la caratterizzazione di un effetto rilevante (cioè la risposta). Le proprietà fisico-chimiche delle particelle microplastiche possono influenzare sia l'esposizione che l'effetto (ECETOC 2019). Fattori come aggregazione, agglomerazione e sedimentazione possono funzionare da soli o in combinazione per complicare la capacità di controllare una dispersione di particelle stabile e omogenea (Römer et al.2011; Kaur et al.2017; Organization for Economic Co - operation and Development 2017).

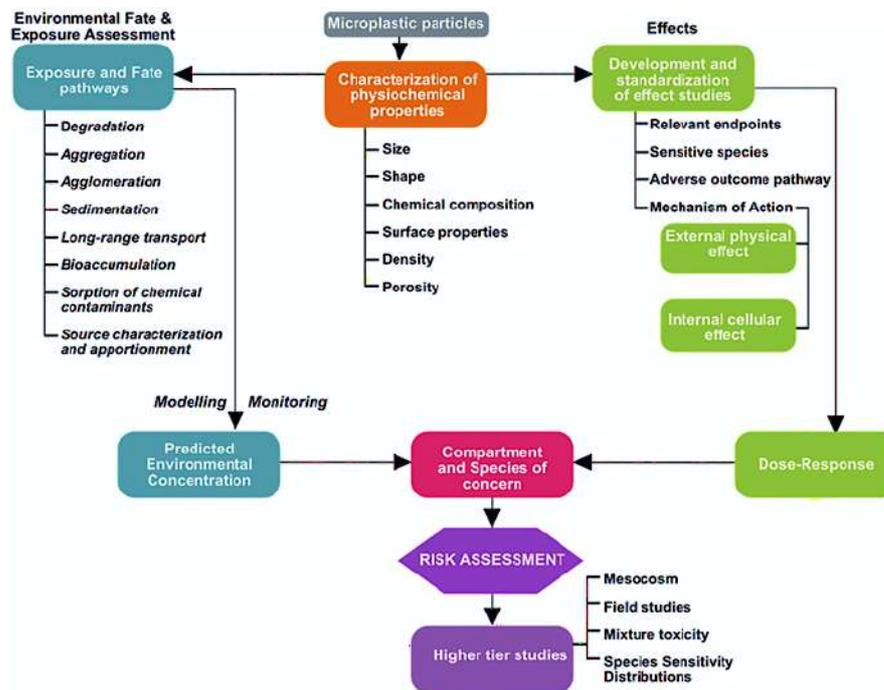


Figura 5.3: Rappresentazione schematica per la valutazione del rischio ambientale per le particelle microplastiche. Si basa sul consentire la caratterizzazione della relazione tra la concentrazione ambientale prevista e la concentrazione prevista priva di effetti.

Attualmente non esiste dunque un modello sistematico e standardizzato per la valutazione del potenziale rischio ecologico che sia completamente adatto all'inquinamento da microplastiche. Di conseguenza, è stato sviluppato un metodo di valutazione preliminare nel tentativo di comprendere meglio i potenziali rischi ecologici delle microplastiche. Questa valutazione è stata recentemente applicata all'inquinamento nei sedimenti, nelle colonne d'acqua e anche alla contaminazione di aerosol (Hakanson, 1980). Una versione modificata del modello di valutazione è stata calcolata come segue:

$$RI = \sum_{i=1}^n E_i$$
$$E_i = T_i \times \left(\frac{C_i}{C_0} \right)$$

“RI” ed “E_i” corrispondono rispettivamente ai singoli indici di rischio ecologico potenziale e di potenziale pericolo ecologico. “T_i”, rappresentava il coefficiente di tossicità dei metalli pesanti nel modello originale, ed è stato sostituito dal coefficiente di tossicità chimica per i polimeri, come descritto da Lithner et al. (2011). Il rapporto tra “C_i” e “C₀” corrisponde al quoziente delle concentrazioni di polimero osservate rispetto a quelle del fondo. Un valore C₀ ideale sarebbe quello di un campione d'aria prima del rapido sviluppo dell'economia delle fibre sintetiche. Tuttavia, a causa della mancanza di tali dati, l'abbondanza di SAMP all'aperto per un valore di 0,9 n / m³ è stato scelto come valore di fondo (Dris et al., 2017). I livelli dei criteri per il potenziale indice di rischio ecologico sono riportati nella tabella seguente:

Ecological risk assessment	RI^a	Ecological risk assessment by single factor	E_i^b
Minor	<150	Minor	<40
Medium	150–300	Medium	40–80
High	300–600	High	80–160
Danger	600–1200	Danger	160–320
Extreme danger	≥ 1200	Extreme danger	≥ 320

a

Potential ecological risk.

b

Potential ecological hazardous single indices.

Tabella 5.1: Criteri di inquinamento e potenziale rischio ecologico da microplastiche.

Studi recenti hanno dimostrato, inoltre, gli impatti negativi delle microplastiche sulla fauna selvatica. La conoscenza degli effetti negativi sulla salute umana dovuti al consumo di organismi marini contenenti microplastiche è limitata e difficile da valutare. Pertanto, la valutazione del rischio per l'uomo risulta essere particolarmente impegnativa. La ricerca è urgentemente necessaria, soprattutto per quanto riguarda la potenziale esposizione e il rischio per la salute associato alle plastiche di dimensioni micro e nanometriche.

Negli ultimi anni, esperimenti di laboratorio hanno fornito risultati importanti mostrando che gli organismi marini assorbono microplastiche, e che le sostanze chimiche contenute in queste inducono ad effetti negativi che si accumulano in un numero elevato di specie.

Studi recenti hanno documentato, inoltre, il trasferimento trofico di microplastiche in natura e in condizioni di laboratorio, suggerendo che queste possono essere trasferite all'interno di reti alimentari diverse (Farrell e Nelson, 2013; Setälä et al., 2014; Mattsson et al., 2017; Nelms et al., 2018). Questi risultati sollevano preoccupazioni per quanto riguarda il bioaccumulo, aumentando i rischi e gli effetti tossici (Fonte et

al., 2016; Carbery et al., 2018; Ferreira et al., 2018). È ormai noto che le microplastiche sono altamente persistenti nell'ambiente e si accumulano in diversi ecosistemi a velocità crescenti (Andrady, 2017). Per questo motivo sono considerate un problema emergente di grande preoccupazione. Tuttavia, l'incertezza e la variabilità dei dati sono considerati uno dei principali fattori che ostacolano una valutazione realistica dei rischi ambientali associati a queste microparticelle. Pertanto, i rischi ambientali reali rimangono incerti (Koelmans et al., 2017).

Considerando l'inquinamento globale da microplastiche, gli effetti tossici che sono stati riscontrati e i potenziali rischi per l'uomo, sono necessarie ulteriori ricerche riguardanti l'esposizione umana alle microplastiche e la tossicità di queste per l'uomo.

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE

La presenza, l'accumulo di microplastiche e la costante esposizione da parte degli organismi a queste particelle rappresentano un problema ambientale a livello globale sempre più importante. Oltre agli organismi che popolano una determinata regione sono anche gli ecosistemi ad essere in pericolo, come lo sono, infine, anche gli esseri umani. I potenziali effetti delle microplastiche sul biota acquatico sono stati riconosciuti dalla comunità scientifica, come dimostrato anche dal crescente numero di studi che negli ultimi anni è andato ad intensificarsi. Il contributo di quest'ultima sarà determinante nei prossimi anni per cercare di comprendere il reale impatto di questi microcontaminanti emergenti attraverso ulteriori indagini. Sono necessarie valutazioni critiche costanti e divulgazione delle conoscenze sui rischi di contaminazione da microplastiche. Questo lavoro di tesi ha descritto lo stato dell'arte delle ricerche sulle microplastiche in diverse matrici ambientali. È importante valutare le fonti ed i percorsi per comprenderne meglio gli impatti sull'ambiente, sugli organismi e sulla salute umana. Molto è ancora da studiare, poiché mancano ancora metodi standardizzati per l'analisi quantitativa e la caratterizzazione delle microplastiche. Manca un'analisi esaustiva del rischio rappresentato dalle microplastiche per l'ambiente e per l'uomo. Non è presente, anche, una legislazione relativa alle microplastiche, poiché come per tutti gli inquinanti emergenti non esiste un limite di legge. Grazie alla "*citizen science*" e alle campagne di sensibilizzazione, piccoli passi importanti sono stati fatti, come il ban sulle "microbeads" nei cosmetici. Oppure la sostituzione delle bottigliette di plastica per l'acqua con l'utilizzo di borracce di alluminio. Oggi, ad esempio, alcuni stabilimenti balneari vietano l'uso di plastica monouso (Puglia prima regione d'Italia a bandire la plastica monouso dalle spiagge). Questo studio ha confermato, quindi, che l'inquinamento da microplastiche nell'ambiente è presente e costituisce un importante problema socio-ambientale, che si è diffuso diventando un problema a scala globale, dopo mezzo secolo di utilizzo dei materiali plastici. La produzione di materie plastiche probabilmente continuerà ad aumentare nei prossimi decenni, in merito a questo le strategie di gestione e di

monitoraggio dovrebbero essere affrontate valutando e indagando le fonti e gli ingressi della plastica nei diversi ambienti, al fine di evitare il rilascio di scarti nell'ambiente e di salvaguardare il nostro pianeta.

BIBLIOGRAFIA

- Alicia K. Terepocki. Alex T. Brush. Lydia U. Kleine. Gary W. Shugart. Peter Hodum. "Size and dynamics of microplastic in gastrointestinal tracts of Northern Fulmars (*Fulmarus glacialis*) and Sooty Shearwaters (*Ardenna grisea*)" *Elsevier Marine Pollution Bulletin* 116 (2017) 143-150
- Anbumani, Sadasivam Kakkar, Poonam. 2018. "Ecotoxicological effects of microplastics on biota: a review." *Environmental Science and Pollution Research* 14373-14396.
- Andrady, A. L., 2015. "Persistence of plastic litter in the oceans. In: Marine anthropogenic litter." Springer, pp. 57–72.
- Andrady, A. L., Neal, M. A., 2009. "Applications and societal benefits of plastics." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364 (1526), 1977–1984.
- Anthony L. Andrady. "Microplastics in the marine environment" *Elsevier Marine Pollution Bulletin* 62 (2011) 1596-1605
- Arthur, C., Baker, J., Bamford, H., 2009. "Proceedings of the international research workshop on the occurrence, effects, and fate of microplastic marine debris." Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, Technical Memorandum NOS-OR&R-30.
- Atsuhiko Isobe. Kaori Uchiyama-Matsumoto. Keiichi Uchida. Tadashi Tokai. "Microplastics in the Southern Ocean" *Elsevier Marine Pollution Bulletin* 114 (2017) 623-626
- Auta, H. S. Emenike, C. U. Fauziah, S. H. 2017. "Distribution and importance of microplastics in the marine environment A review of the sources, fate, effects, and potential solutions." *Environment International*.
- Barboza, Luís Gabriel Antão Gimenez, Barbara Carolina Garcia. 2015. "Microplastics in the marine environment: Current trends and future perspectives." *Marine Pollution Bulletin* 5-12.

Barnes, D. K., Galgani, F., Thompson, R. C., Barlaz, M., 2009. “Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments.” *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364 (1526), 1985–1998.

Barnes, D. K., Walters, A., Gonçalves, L., 2010. “Macroplastics at sea around antarctica.” *Marine Environmental Research* 70 (2), 250–252.

Besseling, E., Wegner, A., Foekema, E. M., van den Heuvel-Greve, M. J., Koelmans, A. A., 2012. “Effects of microplastic on fitness and pcb bioaccumulation by the lugworm *arenicola marina*.” *Environmental science & technology* 47 (1), 593–600.

Bethoux, J., Gentili, B., Morin, P., Nicolas, E., Pierre, C., Ruiz-Pino, D., 1999. “The mediterranean sea: a miniature ocean for climatic and environmental studies and a key for the climatic functioning of the north atlantic.” *Progress in Oceanography* 44 (1), 131–146.

Betts, K., 2008. “Why small plastic particles may pose a big problem in the oceans.” *Environmental science & technology* 42 (24), 8995–8995.

Browne, M. A., 2015. “Sources and pathways of microplastics to habitats. In: *Marine anthropogenic litter*.” Springer, pp. 229–244.

Browne, M. A., Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., Thompson, R., 2011. “Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks.” *Environmental science & technology* 45 (21), 9175–9179.

Browne, M. A., Galloway, T., Thompson, R., 2007. “Microplastic emerging contaminant of potential concern?” *Integrated environmental assessment and Management* (4), 559–561.

C. G. Avio. S. Gorbi. F. Regoli “Plastics and microplastics in the oceans: From emerging pollutants to emerged threat” *Elsevier Marine Environmental Research* 2016 1-10

Cesa F., S., Turra A., Baroque-Ramos J., 2017. “Synthetic fibers as microplastics in the marine environment: A review from textile perspective with a focus on domestic washings.” *Science of the Totale Environment* 598: 1116-1129.

Chen, Y., Zou, C., Mastalerz, M., Hu, S., Gasaway, C., and Tao, X., 2015 “Applications of Micro-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) in the Geological Sciences-A Review” *International Journal of Molecular Sciences* 16(12): 30223–30250 doi: 10.3390/ijms161226227

Cincinelli A., Scopetani C., Chelazzi D., Lombardini E., Martellini T., Katsoyiannis A., Fossi MC., Corsolini S., 2017. "Microplastic in the surface waters of the Ross Sea (Antarctica): Occurrence, distribution and characterization by FTIR." *Chemosphere* 175:391-400. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.02.024

Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T., S., 2011. "Microplastics as contaminants in the marine environment: A review." *Marine pollution Bulletin* 62(12).

Dautel, S. L., 2009. Transoceanic trash: International and united states strategies for the great pacific garbage patch. *Golden Gate U. Envntl. LJ* 3.

Davidson, T. M., 2012. Boring crustaceans damage polystyrene floats under docks polluting marine waters with microplastic. *Marine pollution bulletin* 64.

De Falco, F., Gullo, M., P., Gentile, G., Di Pace, E., Cocca, M., Gelabert, L., M. Brouta- Agnesa, M., Rovira, A., Escudero, R., Villalba, R., Mossotti, R., Montarsolo, A., Gavignano, S., Tonin, C., Avella, M., 2017 "Evaluation of microplastic release caused by textile washing processes of synthetic fabrics." *Environmental Pollution* 236.

Do Sul and Costa, 2014. "The present and future of microplastic pollution in the marine environment". *Environ. Pollut.*

Engler, R. E., 2012. "The complex interaction between marine debris and toxic chemicals in the ocean." *Environmental science & technology* 46 (22).

Eriksen, M., Lebreton, L. C., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C., Galgani, F., Ryan, P. G., Reisser, J., 2014. "Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea." *PloS one* 9 (12).

Fauziah Shahul Hamid. Mehran Sanam Bhatti. Norkhairiyah Anual. Norkhairah Anual. Priya Mohan. Agamuthu Periathamby. "Worldwide distribution and abundance of microplastic: How dire is the situation?" *Waste Management & Research* 2018, Vol. 36(10).

Fowler, C. W., 1987. "Marine debris and northern fur seals: a case study." *Marine Pollution Bulletin* 18 (6).

G. Caruso “Microplastics as vectors of contaminants” Elsevier Marine Pollution Bulletin 146 (2019).

Gabrielides, G., Golik, A., Loizides, L., Marino, M., Bingel, F., Torregrossa, M., 1991. “Man-made garbage pollution on the mediterranean coastline.” Marine Pollution Bulletin 23.

Gayathri Jaikumar. Nadja R. Brun. Martina G. Vijver. Thijs Bosker. “Reproductive toxicity of primary and secondary microplastics to three cladocerans during chronic exposure” Elsevier Environmental Pollution 249 (2019)

Grazia Panti, Cristina. 2018. “Abundance and characterization of microplastics in the coastal waters of Tuscany (Italy): The application of the MSFD monitoring protocol in the Mediterranean Sea.” *Marine Pollution Bulletin*.

Ho, K.-L. G., Pometto III, A. L., Hinz, P. N., 1999. “Effects of temperature and relative humidity on polylactic acid plastic degradation.” *Journal of environmental polymer degradation* 7.

IUCN, 2017. “Primary Microplastics in the Oceans: A Global Evaluation of Sources”. Rep. The International Union for Conservation of Nature (IUCN).

Jort Hammer Michiel. H.S. Kraak John R. Parsons. “Plastics in the Marine Environment: The Dark Side of a Modern Gift” Springer Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Chapter First Online 23 April 2012.

Juliana A. Ivar do Sul. Monica F. Costa. Mário Barletta. Francisco José A. Cysneiros. “Pelagic microplastics around an archipelago of the Equatorial Atlantic” Elsevier Marine Pollution Bulletin 75 (2013).

Kai Liu. Xiaohui Wang. Nian Wei. Zhangyu Song. Daoji Li. “Accurate quantification and transport estimation of suspended atmospheric microplastics in megacities: Implications for human health. Elsevier Environment International, 132 (November 2019).

Lima, A., Costa, M., Barletta, M., 2014. “Distribution patterns of microplastics within the plankton of a tropical estuary.” *Environmental research* 132.

Lisa S. Fendall. Mary A. Sewell. “Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers”. Elsevier Marine Pollution Bulletin 58 (2009).

Lisbeth Van Cauwenberghe. Ann Vanreusel. Jan Mees. Colin R. Janssen. "Microplastic pollution in deep-sea sediments" Elsevier Environmental Pollution 20 August 2013 Volume 182.

Lithner, D., Damberg, J., Dave, G., Larsson, Å., 2009. "Leachates from plastic consumer products—screening for toxicity with daphnia magna." Chemosphere 74 (9).

Lithner, D., Larsson, Å., Dave, G., 2011. "Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition." Science of the Total Environment 409 (18).

Lozano, R., Mouat, J., 2009. "Marine litter in the north-east atlantic region: Assessment and priorities for response." KIMO International.

Lusher Amy, 2015 "Microplastics in the Marine Environment: Distribution, Interactions and Effects". In: Bergmann, M., Gutow, L., Klages, M. (Eds.), Marine Anthropogenic Litter. Springer International Publishing in *Marine Anthropogenic Litter*.

Lusher, A., 2015a. "Microplastics in the marine environment: distribution, interactions and effects. In: Marine anthropogenic litter." Springer.

Lusher, A., 2015b. "Microplastics in the marine environment: distribution, interactions and effects." In: Marine anthropogenic litter. Springer.

Lynge, E., Anttila, A., Hemminki, K., 1997. "Organic solvents and cancer. Cancer Causes & Control".

Löder, M., G., J., Kuczera, M., Mintenig, A., S., Lorenz, A., C. and Gerdts, G., 2015. "Focal plane array detector-based micro-Fourier-transform infrared imaging for the analysis of microplastics in environmental samples" *Environmental Chemistry*, 12.

M. Carere. M. Corti. K. D. Domenico, W. Cristiano. "CONTAMINANTI EMERGENTI NEGLI ECOSISTEMI ACQUATICI" Istituto Superiore di Sanità ISSN.

M.A. Nadal. C. Alomar. S. Deudero. "High levels of microplastic ingestion by the semipelagic fish bogue Boops boops (L.) around the Balearic Islands" Elsevier Environmental Pollution 214 (2016).

Madeleine Smith. David C. Love. Chelsea M. Rochman. Roni A. Neff. "Microplastics in seafood and the implications for human health." Springer.

Marcus Eriksen. Sherri Mason. Stiv Wilson. Carolyn Box. Ann Zellers. William Edwards. Hannah Farley. Stephen Amato. "Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes" Elsevier Marine Pollution Bulletin 77 (2013).

Martinez-Ribes, L., Basterretxea, G., Palmer, M., Tintoré, J., 2007. "Origin and abundance of beach debris in the balearic islands." *Scientia Marina* 71 (2).

Martinez, E., Maamaatuaiahutapu, K., Taillandier, V., 2009. "Floating marine debris surface drift: convergence and accumulation toward the south pacific subtropical gyre." *Marine Pollution Bulletin* 58 (9).

Mato, Y., Isobe, T., Takada, H., Kanehiro, H., Ohtake, C., Kaminuma, T., 2001. "Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment." *Environmental science & technology* 35 (2).

Matthew Cole. Hannah Webb. Pennie K. Lindeque. Elaine S. Fileman. Claudia Halsband. Tamara S. Galloway. "Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms" *Scientific reports*.

Maximenko, N., Hafner, J., Niiler, P., 2012. "Pathways of marine debris derived from trajectories of lagrangian drifters." *Marine Pollution Bulletin* 65 (1).

Merrell, T. R., 1980. "Accumulation of plastic litter on beaches of amchitka island, alaska." *Marine Environmental Research* 3 (3).

Moore, C. J., 2008. "Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long-term threat." *Environmental research*, 108.

Nuelle, Marie-theres Dekiff, Jens H Remy, Dominique Fries, Elke. 2014. "A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments." *Environmental Pollution*.

Oehlmann, J., Fioroni, P., Stroben, E., Markert, B., 1996. "Tributyltin (tbt) effects on *ocinebrina aciculata* (gastropoda: Muricidae): imposex development, sterilization, sex change and population decline." *Science of the Total Environment* 188.

Ogata, Y., Takada, H., Mizukawa, K., Hirai, H., Iwasa, S., Endo, S., Mato, Y., Saha, M., Okuda, K., Nakashima, A., et al., 2009. "International pellet watch: Global monitoring of persistent organic pollutants (pops) in coastal waters." Initial phase data on pcbs, ddts, and hchs. *Marine pollution bulletin* 58 (10).

Oliveira, M., Ribeiro, A., Guilhermino, L., 2012. “Effects of exposure to microplastics and pahs on microalgae rhodomonas baltica and tetraselmis chuii.” *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 163, S19–S20.

Pacia, 2011. National plastics recycling. Tech. rep., Pacia.

Papaleo, B., Caporossi, L., Bernardini, F., Cristadoro, L., Bastianini, L., De Rosa, M., Capanna, S., Marcellini, L., Loi, F., Battista, G., 2011. “Exposure to styrene in fiberglass-reinforced plastic manufacture: Still a problem.” *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 53 (11), 1273–1278.

Pegram, J. E., Andrady, A. L., 1989. Outdoor weathering of selected polymeric materials under marine exposure conditions. *Polymer Degradation and Stability* 26 (4), 333–345.

Qiu, Qiongxuan Tan, Zhi Wang, Jundong Peng, Jinping Li, Meimin Zhan, Zhiwei. 2016. “Extraction, enumeration and identification methods for monitoring microplastics in the environment.” *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.

Rochman, C. M., 2015. “The complex mixture, fate and toxicity of chemicals associated with plastic debris in the marine environment.” In: *Marine anthropogenic litter*. Springer.

Rochman, C. M., Browne, M. A., Halpern, B. S., Hentschel, B. T., Hoh, E., Karapanagioti, H. K., Rios-Mendoza, L. M., Takada, H., Teh, S., Thompson, R. C., 2013a. “Policy: Classify plastic waste as hazardous.” *Nature* 494 (7436), 169–171.

Rochman, C. M., Hoh, E., Hentschel, B. T., Kaye, S., 2013b. “Long-term field measurement of sorption of organic contaminants to five types of plastic pellets: implications for plastic marine debris.” *Environmental science & technology* 47 (3), 1646–1654.

Rochman, C. M., Hoh, E., Kurobe, T., Teh, S. J., 2013c. “Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress.” *Scientific reports* 3.

Rucha V. Moharir. S. Kumar. “Challenges associated with plastic waste disposal and allied microbial routes for its effective degradation: A comprehensive review” *Elsevier Journal of Cleaner Production* 208 (2019)

Ryan, P. G., 2015. A brief history of marine litter research. Springer.

Ryan, P. G., Moore, C. J., van graneker, J. A., Moloney, C. L., 2009.” Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment.” *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364 (1526).

Ryan, P., Moloney, C., 1990. “Plastic and other artefacts on south african beaches: Temporal trends in abundance and composition.” *S. AFR. J. SCI./S.-AFR. TYDSKR. WET.* 86 (7), 450–452.

Sadasivam Anbumani. Poonam Kakkar. “Ecotoxicological effects of microplastics on biota: a review”. Springer.

Sascha Klein. Ian K. Dimzon. Jan Eubeler. Thomas P. Knepper. “Analysis, Occurrence, and Degradation of Microplastics in the Aqueous Environment” Springer Open Volume 58

Stephanie L. Wright. Richard C. Thompson. Tamara S. Galloway. “The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review” *Elsevier Environmental Pollution* 178 (2013).

Therese M. Karlsson. Dick Vathaak. Bethanie Carney Almroth. Freek Ariese. Martin van Velzen. Martin Hasselov. Heather A. Leslie. “Screening for microplastics in sediment, water marine, marine invertebrater and fish: Method development and microplastic accumulation.” *Marine Pollution Bulletin* 112 (September 2017).

Thompson, R. C., Swan, S. H., Moore, C. J., Vom Saal, F. S., 2009. “Our plastic age.” *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364 (1526), 1973–1976.

Todd Gouin. Richard A. Becker. Anne-Gaelle Collot. John W. Davis. Brett Howard. Kunifumi Inawaka. Mark Lampi. Blanca Serrano Ramon. Jay Shi. Philipp W. Hopp. “Toward the development and application of an environmental risk assessment framework for microplastic.” *Environmental Toxicology and chemistry*.

Turra, A., Manzano, A. B., Dias, R. J. S., Mahiques, M. M., Barbosa, L., Balthazar-Silva, D., Moreira, F. T., 2014. “Three-dimensional distribution of plastic pellets in sandy beaches: shifting paradigms.” *Scientific reports* 4.

UNEP, 2009. “Marine litter: A global challenge.” United Nations Environment Program - Nairobi, Kenya, 232 pp.

UNEP, 2015. "Biodegradable plastics and marine litter, misconceptions, concerns and impacts on marine environments." United Nations Environment Program - Nairobi, Kenya.

UNEP/MAP-PlanBleu, 2009. "State of the environment and development in the mediterranean." United Nations Environment Program - Mediterranean Action Plan - Plan Bleu, Athens, 2009.

Van Cauwenberghe, L., Vanreusel, A., Mees, J., Janssen, C. R., 2013. "Microplastic pollution in deep-sea sediments." *Environmental Pollution* 182.

Venrick, E., Backman, T., Bartram, W., Platt, C., Thornhill, M., Yates, R., 1973. "Man-made objects on the surface of the central north pacific ocean."

Veronique Adam. Tong Yang. Bernd Nowack. "Toward an ecotoxicological risk assessment of microplastics: Comparison of available hazard and exposure data in freshwaters". *Environmental Toxicology and Chemistry* (29 November 2018).

Von Moos, N., Burkhardt-Holm, P., Köhler, A., 2012. "Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *mytilus edulis* after an experimental exposure." *Environmental science & technology* 46 (20).

Wei, C.-L., Rowe, G. T., Nunnally, C. C., Wicksten, M. K., 2012. "Anthropogenic "litter" and macrophyte detritus in the deep northern gulf of mexico." *Marine pollution bulletin* 64 (5).

Won Joon Shim. Richard C. Thompson. "Microplastics in the Ocean" *Springer* 69 265-268 (2015) 02 September 2015.

Xu, H., Vanhooren, H. M., Verbeken, E., Yu, L., Lin, Y., Nemery, B., Hoet, P. H., 2004. "Pulmonary toxicity of polyvinyl chloride particles after repeated intratracheal instillations in rats. elevated cd4/cd8 lymphocyte ratio in bronchoalveolar lavage." *Toxicology and applied pharmacology* 194 (2).

Ye, S., Andrady, A. L., 1991. "Fouling of floating plastic debris under biscayne bay exposure conditions." *Marine Pollution Bulletin* 22 (12).

Yoon, J.-H., Kawano, S., Igawa, S., 2010. "Modeling of marine litter drift and beaching in the japan sea." *Marine pollution bulletin* 60 (3).

Zarfl, C., Fleet, D., Fries, E., Galgani, F., Gerdt, G., Hanke, G., Matthies, M., 2011. "Microplastics in oceans." *Marine Pollution Bulletin* (62).

Zarfl, C., Matthies, M., 2010. "Are marine plastic particles transport vectors for organic pollutants to the arctic?" *Marine Pollution Bulletin* 60 (10).

Zettler, E. R., Mincer, T. J., Amaral-Zettler, L. A., 2013. "Life in the "plastisphere": microbial communities on plastic marine debris." *Environmental science & technology* 47.

Zitko, V., Hanlon, M., 1991. "Another source of pollution by plastics: skin cleaners with plastic scrubbers." *Marine Pollution Bulletin* 22.