



Università
Ca' Foscari
Venezia

Corso di Laurea magistrale
in Scienze Ambientali
D.M. 270/2004

Tesi di Laurea

QUANTIFICAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI MICROPLASTICHE
NELLE ACQUE E NEI SEDIMENTI DELLA LAGUNA DI VENEZIA

Relatore

Prof. Andrea Gambaro

Correlatrice

Dr.ssa Fabiana Corami
CNR-ISP

Laureanda

Veronica Rensi
Matricola 848561

Anno Accademico

2018 / 2019



INDICE

SCOPO E OBIETTIVI	5
INTRODUZIONE	7
1.1 Microplastiche: stato dell'arte	7
1.2 Tipologie di plastiche e loro proprietà	12
1.2.1 Processi di degradazione e frammentazione	17
1.2.3 Focus sulla Laguna di Venezia	19
1.3 Microplastiche e <i>European Chemicals Agency</i> (ECHA)	21
MATERIALI E METODI	23
2.1 Siti di campionamento	23
2.2 Modalità di campionamento	24
2.3 Fasi preanalitiche e metodi usati per campioni di acqua e sedimento	26
2.3.1 Metodo di estrazione delle microplastiche dai sedimenti lagunari	27
2.3.2 Metodo di estrazione delle microplastiche dalle acque lagunari	28
2.4 Analisi strumentale con μFT-IR	30
2.5 Analisi statistica	35
MESSA A PUNTO DEI METODI	39
3.1 Messa a punto del metodo di estrazione e purificazione per i sedimenti	39
3.2 Messa a punto del metodo di estrazione e purificazione per le acque	45
3.3 Analisi con μFT-IR ed elaborazione dei dati	48
RISULTATI E DISCUSSIONI	53
4.1 Microplastiche nei sedimenti e nelle acque lagunari	53
4.2 Microplastiche nelle acque e nei sedimenti di Sacca Sessola	54
4.2.1 Acque di Sacca Sessola	54
4.2.2 Sedimenti di Sacca Sessola	57
4.2.3 Confronto tra acque e sedimenti di Sacca Sessola	59

4.3 Microplastiche nelle acque e nei sedimenti di Petta di Bò	62
4.3.1 Acque di Petta di Bò	62
4.3.2 Sedimenti di Petta di Bò	64
4.3.3 Confronto tra acque e sedimenti di Petta di Bò	66
4.4 Microplastiche nelle acque e nei sedimenti di Sant’Erasmus	69
4.4.1 Acque di Sant’Erasmus	69
4.4.2 Sedimenti di Sant’Erasmus	71
4.4.3 Contro tra acque e sedimenti di Sant’Erasmus	73
4.5 Distribuzione spaziale di microplastiche nella Laguna di Venezia	76
4.5.1 Confronto delle acque nei tre siti	76
4.5.2 Confronto dei sedimenti nei tre siti	79
CONCLUSIONI	83
APPENDICE	87
BIBLIOGRAFIA	93

SCOPO E OBIETTIVI

Lo scopo di questo elaborato di tesi consiste nella messa a punto di una procedura di estrazione e purificazione delle microplastiche in matrici ambientali quali acqua e sedimento, oltre che, quantificazione e identificazione delle microplastiche nelle suddette matrici. L'obiettivo è quello di determinare i polimeri che presentano dimensioni comprese tra $1 \mu\text{m} \leq x \leq 100 \mu\text{m}$. I classici sistemi di campionamento riportati in letteratura prevedono l'utilizzo della *manta trawl* che presenta dimensioni della maglia pari a $330 \mu\text{m}$ e ampiezza di 1 mm (Frère 2017; Olivatto 2019; Pan 2019). In questo studio, quindi, ci si propone di indagare le microplastiche che possiedono dimensioni inferiori ai $330 \mu\text{m}$ che potrebbero rimanere più a lungo nel sistema acquatico, essere di più facile accesso agli organismi che vivono in esso e, di conseguenza, che potrebbero più facilmente entrare nella rete trofica con possibili effetti ecotossicologici al momento ancora poco conosciuti.

In particolare, saranno analizzate le acque superficiali e i sedimenti della Laguna di Venezia e saranno proposte possibili fonti di contaminazione di questi inquinanti emergenti.

I campioni di acqua superficiale e sedimento superficiale sono stati prelevati in differenti siti: Laguna sud, centro storico e Laguna nord per indagare differenti fonti e livelli di concentrazione.

Si procederà all'estrazione delle microplastiche dai campioni di acqua superficiale e dei sedimenti superficiali. Una volta estratte le microplastiche saranno purificate e depositate su appositi filtri. Infine, si procederà all'analisi quantitativa e all'identificazione polimerica delle microplastiche depositate sui filtri, a tale scopo sarà utilizzato lo spettrometro $\mu\text{FT-IR}$ (*Fourier Transformed Infrared Spectroscopy*) presso l'istituto di Scienze Polari del CNR (*Centro Nazionale Ricerche*), sede di Venezia (CNR-ISP).

L'obiettivo è quello di individuare la migliore metodica di estrazione e purificazione delle microplastiche dai campioni di acqua e sedimento superficiale della Laguna di Venezia. Tutte le fasi preanalitiche saranno svolte in *clean room* (ISO-7) *plastic free* (completamente priva di materiali plastici, anche nei filtri del sistema di ventilazione). Per minimizzare ogni eventuale contaminazione saranno utilizzati utensili in acciaio e vetreria opportunamente decontaminata. I camici utilizzati sono in cotone ed i guanti in nitrile.

La stima quantitativa di particelle e fibre microplastiche, classificate come inquinanti emergenti, permetteranno di approfondire le conoscenze e pianificare eventuali azioni correttive e/o preventive in un ecosistema di transizione, qual è la Laguna di Venezia.

INTRODUZIONE

1.1 Microplastiche: stato dell'arte

La plastica è stata, ed è tutt'ora, un materiale centrale nell'economia mondiale dal momento che ha sostituito metalli, ceramiche e vetro. Le plastiche utilizzate per le produzioni industriali derivano generalmente dal petrolio e dal trattamento di alcune frazioni di quest'ultimo.

Ogni anno vengono prodotte, a livello globale, dai 299 ai 320 milioni di tonnellate di plastica (Auta 2017; Brandon 2016; Gewert 2015; Peng 2017; Zhao 2018). La grande variabilità di plastica realizzata l'ha portata ad essere un materiale di successo (A. Andrady 2009). Il basso costo di produzione e la capacità che presenta come barriera contro ossigeno e l'umidità ne hanno confermato il successo. Oltre a questo, il peso leggero la rende anche un ottimo materiale da utilizzare nel *packaging* (Andrady, *Microplastics in the marine environment* 2011). Inizialmente per gli imballaggi veniva utilizzato l'alluminio in quale garantiva una totale barriera contro l'ambiente esterno (Lange 2003). Dopo l'invenzione della plastica è stato scoperto il suo utilizzo come imballaggio dal momento che garantisce una buona protezione con l'esterno mantenendo un ambiente privo di umidità (Lange 2003). Soprattutto per quanto riguarda plastiche come polietilene e polipropilene che rappresentano il *bulk* di mercato in tema imballaggi includendo prodotti come: buste, sacchetti e involucri fatti di materiale assottigliato che risultano in film, fogli o fogli di carta che una volta riempiti e sigillati acquisiscono una forma flessibile (McKeen 2012).

I primi rapporti relativi all'inquinamento da plastica negli oceani sono apparsi nella letteratura scientifica già nel 1970 ma l'incremento nella produzione ha fatto sì che si arrivasse a 288 milioni di tonnellate nel 2012, ossia un aumento del 620% dal 1975 (J. Jambeck 2015).

Questo incremento nella produzione di plastica a livello mondiale è avvenuto con andamento esponenziale dalla metà degli anni '70 all'inizio del 2000 per poi seguire una crescita lineare in continuo aumento fino al 2017 (fig. 1.1.1).

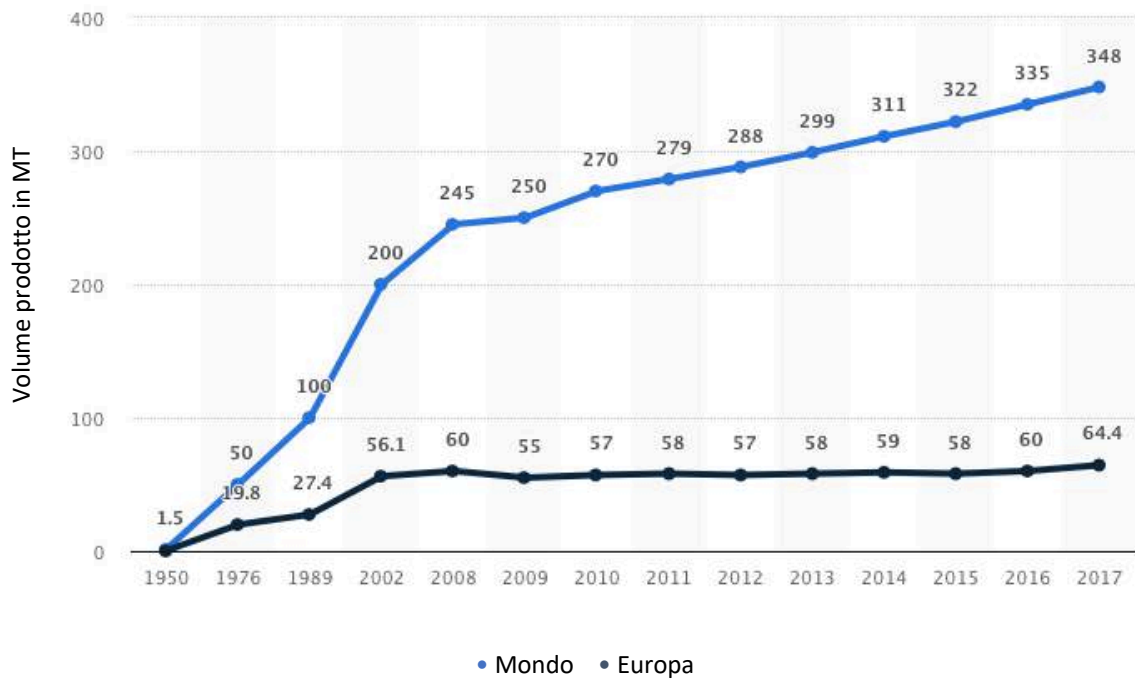


Fig.1.1.1: Crescita nella produzione mondiale di plastica dal 1950 al 2017 sia a livello mondiale che europeo. Circa il 25% della produzione mondiale avviene in Europa.

L'enorme consumo umano ha portato la plastica ad essere il materiale del futuro, tuttavia, solamente meno del 5% dei materiali plastici sono stati recuperati (Auta 2017), questo ha comportato che si accumulasse in ambiente, tanto da diventare un'emergenza mondiale da studiare e comprendere.

La plastica, infatti, è la componente principale dei rifiuti marini (Auta 2017), nella superficie del mare oltre che nel fondale, con grande variabilità nella distribuzione spaziale. I materiali plastici si decompongono molto lentamente o non completamente (Hidalgo-Ruz 2012). Circa l'80% dei rifiuti plastici provengono da una fonte di tipo terrestre (Zhang 2017) che può essere derivata da una cattiva gestione dei rifiuti e degli scarichi (Lebreton 2012). Il restante 20% deriva da attività prettamente marittime come pesca ricreativa o commerciale, navigazione e crociere. Una volta che i detriti raggiungono il mare, vengono messi in movimento dall'azione combinata del moto delle onde, vento e maree (Lebreton 2012). La superficie marina, tuttavia, non è la destinazione finale dei detriti plastici. Nano-frammenti, predazione, incrostazioni biologiche e deposizioni sulla spiaggia sono stati proposti come possibili meccanismi di rimozione dei polimeri dalla superficie oceanica (Garcia-de-Lomas 2014).

Si parla molto spesso di *isole di plastica* per definire quell'enorme accumularsi 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) (fig.1.1.2). Per comprendere la distribuzione spaziale di queste "isole" sono stati creati dei *modelli di circolazione oceanica* (Arias 2007; Lebreton 2012; Garcia-de-Lmas 2014;) mirati all'identificazione dei possibili accumuli di detriti nelle regioni subtropicali, corrispondenti generalmente a vortici oceanici, ossia il punto di incontro delle correnti marine.

Risulta interessante lo studio condotto da Eriksen (2014) nel quale è stato applicato un *modello di circolazione oceanica* per comprendere la totalità della plastica che galleggia nei mari anche in relazione alla dimensione che presenta (Fig. 1.1.3)

I polimeri che presentano una densità leggermente inferiore all'acqua marina, come polietilene (0,88-0,96 g/cm³) e polipropilene (0,92 g/cm³) (J. R. Zhao 2018), potrebbero, tuttavia, perdere la loro capacità di galleggiare a causa del peso degli inquinanti che possono essere adsorbiti sulla superficie (Bergmann, Gutow e Klages, Marine Anthropogenic Litter 2015).

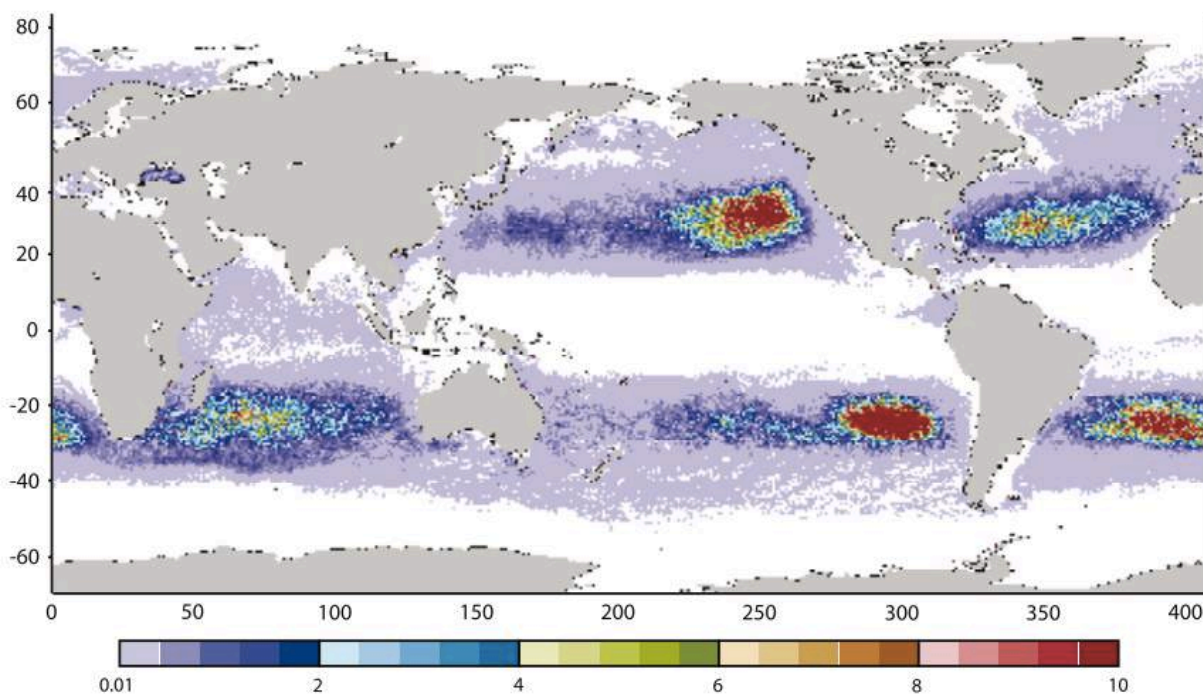


Fig. 1.1.2. Modello di simulazione della distribuzione dei rifiuti marini nell'oceano: vortice nell'oceano Indiano, vortice a nord del Sud Pacifico e vortice nell'Atlantico nord e sud (Arias 2007)

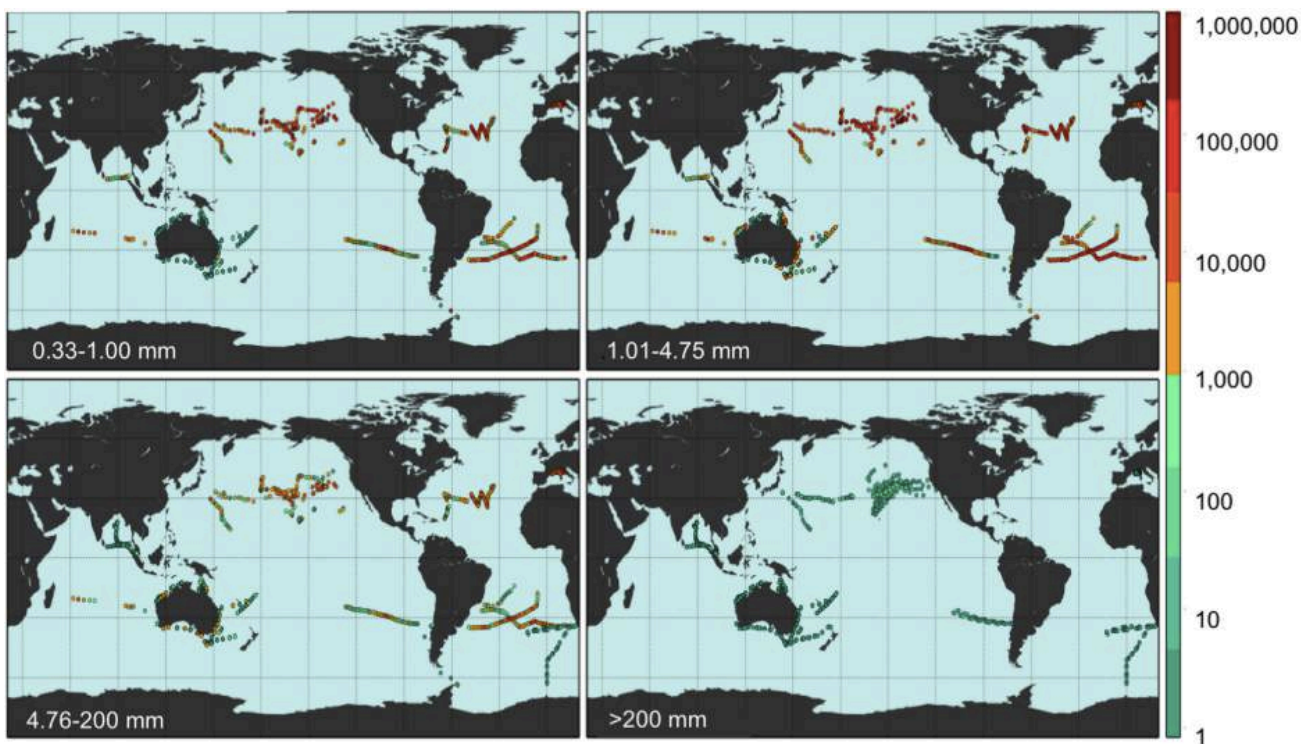


Fig. 1.1.3. Mappe contenenti l'abbondanza di plastiche (pezzi per km², barra colorata) di detriti plastici divisi in relazione alla dimensione (0,33-1,00 mm, 1,01-4,75 mm, 4,76-200 mm e >200 mm) (Eriksen 2014).

Se da un lato, quindi, vi è una crescente preoccupazione per i materiali plastici di grandi dimensioni dall'altro lato vi è un timore crescente, soprattutto negli ultimi anni, per quanto riguarda la presenza delle plastiche di dimensione minore, comunemente chiamate *microplastiche*.

Per quanto riguarda le dimensioni delle microplastiche, possono avere range dimensionali estremamente variabili tanto che molta confusione si è creata riguardo le classi dimensionali (Graham 2009; Claessens 2013). Prima del 2019, questa mancata capacità di riuscire a trovare un intervallo dimensionale riconosciuto a livello Europeo risultava in una vera difficoltà nel momento in cui si volevano confrontare studi diversi relativi alla presenza di microplastiche su varie matrici ambientali. L'*European Chemicals Agency* (ECHA) nel 2019 ha dato a livello normativo una definizione di microplastica e ha stabilito un range dimensionale. Con il termine microplastiche si intendono quindi particelle contenenti polimeri solidi alle quali possono essere aggiunti additivi o altre sostanze, e dove più dell'1% w/w delle particelle presentano le dimensioni comprese tra $1\text{nm} \leq x \leq 5\text{mm}$ o per fibre di lunghezza compresa tra $3\text{nm} \leq x \leq 15\text{mm}$, con 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 in due tipologie principali: *microplastiche primarie* e *microplastiche secondarie*.

Le *microplastiche primarie* sono quelle che vengono utilizzate direttamente dall'essere umano e che possono essere contenute in alcuni prodotti cosmetici come scrubs e abrasivi (Bergmann 2015; Barboza 2015). Ancora non si conosce bene il destino ambientale di tali particelle, pertanto, si cerca di valutarne i rischi potenziali associati (Gouin 2011).

Le *microplastiche secondarie*, invece, sono il risultato della frammentazione di plastiche di grandi dimensioni, in frammenti che possono originarsi sia durante l'uso, sia dalla degradazione del rifiuto (Andrady, *Microplastics in the marine environment* 2011; Cole 2011; Auta 2017; Jiang 2018). La frammentazione in ambiente naturale può essere causata da un'azione combinata tra forze meccaniche, come onde, e dai processi fotochimici attivati dalla luce solare (Bergmann, Gutow e Klages, *Marine Anthropogenic Litter* 2015).

Pertanto, l'insieme delle microplastiche (primarie e secondarie), che possono essere fibre o particelle (Hidalgo-Ruz 2012), entrano nell'ambiente e possono viaggiare attraverso gli scarichi delle città e, a causa delle loro piccole dimensioni che presentano, rischiano di sfuggire alla cattura dei sistemi di trattamento degli impianti di depurazione (Blair 2019, Magni 2019) ed entrare nei mari (Jiang 2018, Wolff 2019).

Pertanto, le tre principali variabili che determinano l'ingresso delle microplastiche nell'ambiente marino, risultano essere: scarichi delle fognature, densità delle popolazioni e attività marittime (Eriksen 2014).

1.2 Tipologie di plastiche e loro proprietà

La commissione IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) definisce la plastica come “l'insieme di materiali polimerici che possono contenere altre sostanze finalizzate a migliorarne le proprietà e a ridurre i costi” (Vert 2012).

I polimeri sono macromolecole che originano dalla polimerizzazione, ossia l'unione, delle unità base chiamate monomeri. Una volta che i monomeri reagiscono tra di loro si trovano a far parte di una molecola di dimensione maggiore che viene definita unità ripetente.

Esistono varie tipologie di polimeri distinte in tre categorie principali in relazione alla loro origine:

1. Polimeri naturali: sono macromolecole biologiche che presentano un ruolo rilevante soprattutto nei processi naturali. Si parte dai carboidrati, proteine e acidi nucleici che sono i costituenti fondamentali di tutti gli organismi viventi. Alcuni esempi sono la cellulosa, gomma naturale, cere, ecc.
2. Polimeri sintetici: sono prodotti mediante reazioni chimiche di sintesi o di addizione e presentano una maggiore versatilità in termini di utilizzo. Alcuni esempi di plastiche prodotte in questo modo sono: il polietilene, il teflon, plexiglas, nylon, ecc.. Molti polimeri sintetici vengono utilizzati per la loro resistenza fisica e chimica alla degradazione (Kyrikou 2007). È importante sottolineare che il termine polimero non è sinonimo di plastica. Il rayon per esempio, è una fibra tessile sintetica prodotta dalla cellulosa (Peng 2017).

I polimeri presentano un elevato peso molecolare poiché i monomeri sono uniti tra di loro da legami covalenti. Monomeri differenti possono combinarsi in modo diverso dando vita a vari prodotti in relazione alla tipologia di polimerizzazione che subiscono (Campbell 2000):

Polimerizzazione per addizione: tutti i monomeri che reagiscono per addizione devono presentare al loro interno un doppio legame carbonio-carbonio, come ad esempio le olefine (alcheni). Alcuni esempi sono l'etilene che polimerizza nel *polietilene* (PE), un materiale molto versatile che viene principalmente utilizzato come pellicola trasparente nel settore degli imballaggi

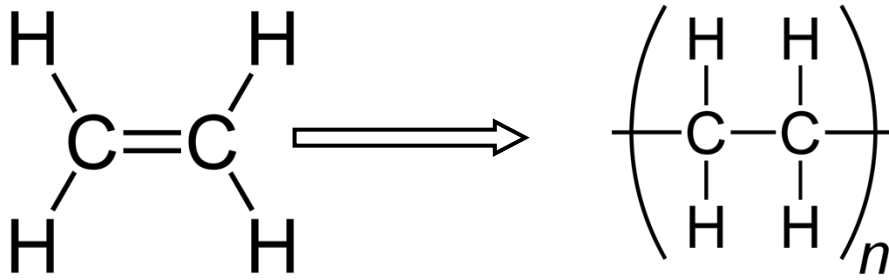


Fig. 1.2.1. formula chimica dell'etilene e del polietilene

Nel momento in cui si aggiungono dei sostituenti al monomero si possono ottenere materiali diversi come lo stirene che polimerizza nel *polistirene* (polistirolo) o il cloruro di vinile che polimerizza nel *polivinilcloruro* (PVC) usato negli infissi con ottime proprietà isolanti (Fig.1.2.2).

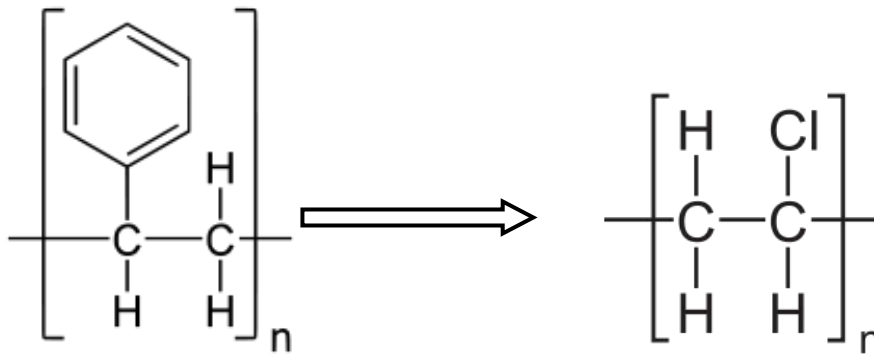


Fig. 1.2.2. formula chimica del polistirene e polivinilcloruro (in ordine)

Polimerizzazione per condensazione: si realizzano una serie di polimeri che, a differenza dei precedenti, sono in grado di reagire ulteriormente e quindi accrescere la catena.

L'aggiunta di acidi carbossilici e dioli porta ad avere poliesteri come il *polietilentereftalato* (PET) (Fig.1.2.3)

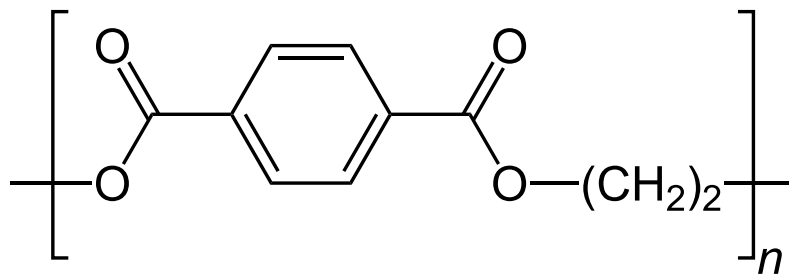


Fig. 1.2.3. formula chimica del polietilentereftalato

mentre l'aggiunta di acidi carbossilici e diammine porta ad avere come prodotto le poliammine, un esempio è il nylon 6,6 (Fig. 1.2.4).

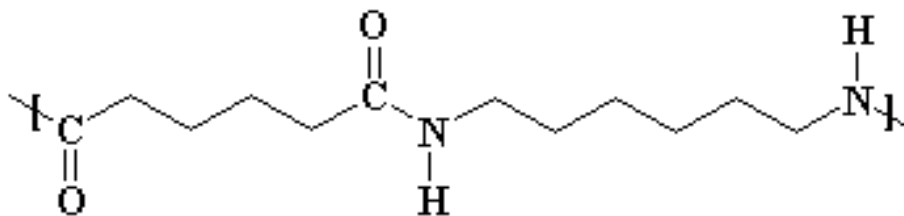


Fig. 1.2.4. formula chimica del nylon 6,6

I polimeri possono presentare caratteristiche di cristallinità e amorfismo. In generale le strutture polimeriche non sono mai completamente cristalline, con determinati gradi d'ordine avremo plastiche con caratteristiche differenti. Il grado di cristallinità dipende dalla struttura chimica del materiale (catene più lunghe possono avere più interazioni, gruppi funzionali e di conseguenza aumentare il grado di cristallinità) (Bower 2002).

La densità di un polimero cristallino, a parità di peso molecolare, è maggiore rispetto alla densità del corrispondente polimero amorfo (ossia privo di una distribuzione atomica ordinata).

Una volta sintetizzato il materiale polimerico, per dare vita al materiale plastico propriamente inteso, vengono aggiunti diversi additivi che possono essere per esempio pigmenti, per colorarlo, ma anche additivi di altro tipo che servono principalmente a renderlo più stabile, più resistente all'attacco esterno (un esempio sono le degradazioni di tipo fotochimico).

I biopolimeri ed i polimeri biodegradabili spesso sono confusi o scambiati come sinonimi. In realtà sono diversi. Un materiale viene definito *biopolimero* nel momento in cui le materie prime

provengono da fonte rinnovabile. Un materiale viene definito *biodegradabile* nel momento in cui viene degradato dall'azione enzimatica dei microorganismi, convertito completamente in diossido di carbonio, acqua, minerali e biomassa, senza impatti ambientali negativi o ecotossicologici (Kyrikou 2007).

Il fatto che una plastica sia degradabile nel suo insieme non è detto che In seguito a frammentazione possa mantenere questa sua caratteristica di degradabilità (Bergmann 2015).

Le cinque maggiori tipologie di plastiche commercializzate, che rientrano nella categoria dei *polimeri termoplastici*, sono: polietilene (PE), polipropilene (PP), polivinilcloruro (PVC), poliestere e polietilentereftalato (PET) (Andrady, The plastic in microplastics: A review 2017).

Le proprietà principali di queste tipologie di plastiche sono (Tab. 1.2.1):

Tab. 1.2.1. Valori relativi a varie tipologie di plastiche in microplastiche (Andrady, The plastic in microplastics: A review 2017).

Proprietà	LDPE	HDPE	PP	PS	PET	PA-66
Transizione vetrosa (°C)	-100	-80	-25	+100	+69	+50
Cristallinità (%)	30-50	80-90	30-50	0	10-30	30-50
Resistenza agli UV	Bassa	Bassa	Bassa	Moderata	Buona	Buona
Forza (psi)	600-2300	5000-6000	4500-5500	5000-7200	7000-10500	14000
Energia superficiale (MJ/m ²)	32.4	32.4	33	40.6	45.1	41.4

Le plastiche prodotte ed utilizzate per il *packaging* sono principalmente: polietilene (PE), polipropilene (PP), poliestere (PS), polietilentereftalato (PET) e polivinilcloruro (PVC) (McKeen 2012) (Tab.1.2.2).

Tab. 1.2.2. *Differenti tipologie di plastica, con relativa densità e utilizzo (Wang 2016).*

Classificazione	Abbreviazione	Densità (g/L)	Prodotti
Polietilentereftalato	PET	1.37	Bottigliette d'acqua, succhi di frutta e bottiglie di birra
Polietilene ad alta densità	HDPE	0.94	Cartoni del latte, succhi, candeggina, detergenti e confezioni per prodotti di pulizia della casa, contenitori di burro e yogurt.
Polivinilcloruro	PVC	1.38	Contenitori per prodotti per la pulizia delle finestre, bottiglie di shampoo, olio da cucina, confezioni di cibo, equipaggiamento medico, stivali.
Polietilene a bassa densità	LDPE	0.91-0.93	Buste di plastica, anelli di plastica per lattine, cannucce.
Polipropilene	PP	0.85-0.93	Corde, tappi di bottiglie, reti, paraurti delle auto, vasi dei fiori, cartelline.
Polistirene	PS	1.05	Piatti e bicchieri di plastica, vassoi della carne, nylon, materiali antiproiettile.

Una seconda categoria di plastiche sono i polimeri termoindurenti, che una volta prodotti, non possono essere fusi senza andare incontro a carbonizzazione (degradazione chimica). Anche i polimeri termoindurenti contribuiscono alle microplastiche presenti negli oceani (Andrady, *The plastic in microplastics: A review 2017*). Esempi di polimeri termoindurenti sono il poliuretano a bassa densità, utilizzato per l'isolamento in edilizia, ma anche per imballaggi e refrigerazione, e il poliuretano ad alta densità, utilizzato ad esempio nell'arredo, nell'industria automobilistica e nell'industria navale.

Una delle proprietà importanti che si possono mettere in evidenza, in relazione a differenti tipologie di polimeri, è la densità. Le microplastiche, che flottano nei sistemi acquatici, possono iniziare ad adsorbire inquinanti modificando, in questo modo, la loro densità (Andrady, *The plastic in microplastics: A review 2017*). Infatti, l'aggregazione con particelle organiche ed inorganiche può aumentare sia la densità (particelle più leggere diventano più pesanti) sia la dimensione, della particelle microplastiche, e causare una rapida deposizione fino al sedimento (Zhang 2017). Successivamente, la risospensione del sedimento comporta la movimentazione delle particelle

risultando in un ciclo di galleggiamento/sprofondamento finché non si depositano nuovamente (Andrady, Microplastics in the marine environment 2011).

1.2.1 Processi di degradazione e frammentazione

La degradazione delle plastiche operata dall'ambiente marino consiste in un insieme di azioni chimiche-biologiche che va a ridurre drasticamente il peso molecolare del polimero. Molti detriti di plastica galleggiante nei mari possono essere dispersi 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) (il carbonio presente nelle plastiche viene convertito in CO₂ e incorporato nella biomassa marina (Andrady, Microplastics in the marine environment 2011; Wright 2013)).

Le diverse tipologie di degradazione sono (Andrady, Microplastics in the marine environment 2011):

- Fotodegradazione – azione della luce solare
- Biodegradazione – azione di organismi vivi (in genere microorganismi)
- Degradazione termo-ossidativa – ossidazione lenta causata da temperature moderate
- Degradazione termica – azione dovuta ad alte temperature
- Idrolisi – reazione con l'acqua

Le tipologie di degradazione che possono subire dipendono fortemente dalla causa che la genera. Possono ricevere un attacco di tipo foto-ossidativo dovuto all'azione dei raggi UV-B solari. Questo tipo di degradazione risulta particolarmente efficace, se le plastiche si trovano in aria o sulla superficie delle spiagge. Tuttavia, se le plastiche si trovano nella zona superficiale della colonna d'acqua, la degradazione sarebbe fortemente ritardata (Andrady, Microplastics in the marine environment 2011; Brandon 2016; Cooper 2010; Wang 2016) a causa delle basse temperature e della bassa concentrazione di ossigeno che caratterizza l'ambiente marino (Andrady, Microplastics in the marine environment 2011).

Oltre alla degradazione di tipo fotochimico le plastiche possono subire una frammentazione dovuta anche alla biodegradazione operata da batteri e funghi e possono incontrarsi adesi alle particelle di sedimento (Browne 2008).

Per quanto riguarda i polimeri più comuni (polietilene-PE, polipropilene-PP, polivinilcloruro-PVC, polistirene-PS, polietilentereftalato-PET e poliuretano-PU; rappresentati nella figura 1.2.1.2 in relazione alla percentuale di produzione Europea) a causa della loro stabilità, presentano dei tempi di degradazione abbastanza prolungati che causa, inevitabilmente, un accumulo in ambiente.

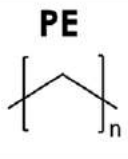
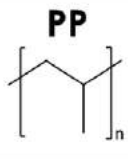
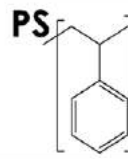
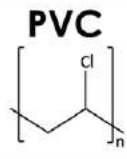
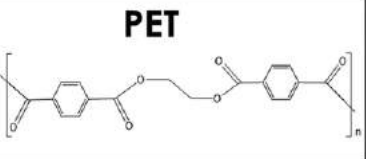
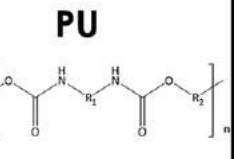
Plastics					
C-C backbone				Heteroatoms in backbone	
PE 	PP 	PS 	PVC 	PET 	PU 
29.6	18.9	7.1	10.4	6.9	7.4
fraction of total European demand [%]					

Fig. 1.2.1.2. Tipi di polimeri rappresentati col la loro formula strutturale in relazione alla domanda di produzione a livello Europeo (PE – polietilene, PP – polipropilene, PS – polistirene, PVC – polivinilcloruro, PET – polietilentereftalato, PU – poliuretano) (Gewert 2015)

Un'ulteriore problematica relativa alla presenza delle microplastiche in ambiente marino è l'eventuale adsorbimento di inquinanti organici persistenti (POPs - *Persistent Organic Pollutants*) come gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA), policlorobifenili (PCB) e diclorodifeniltricloroetano (DDT) (Andrady, *Microplastics in the marine environment* 2011; Roy 2011; Wright 2013; Eriksen 2014; Barboza 2015; Wang 2016; Auta 2017; Anbumani 2018), vi sono tuttavia evidenze anche per quanto riguarda l'adsorbimento degli elementi in tracce (Prunier 2019; Richard 2019).

L'adsorbimento fisico degli inquinanti sulle microplastiche dipende da una elevata superficie specifica, dalla diffusività, dalla cristallinità e dalle forze di Van der Waals; l'adsorbimento chimico dipende dalla maggiore affinità degli inquinanti organici per la superficie idrofobica delle microplastiche invece che per l'acqua marina (Wang 2016).

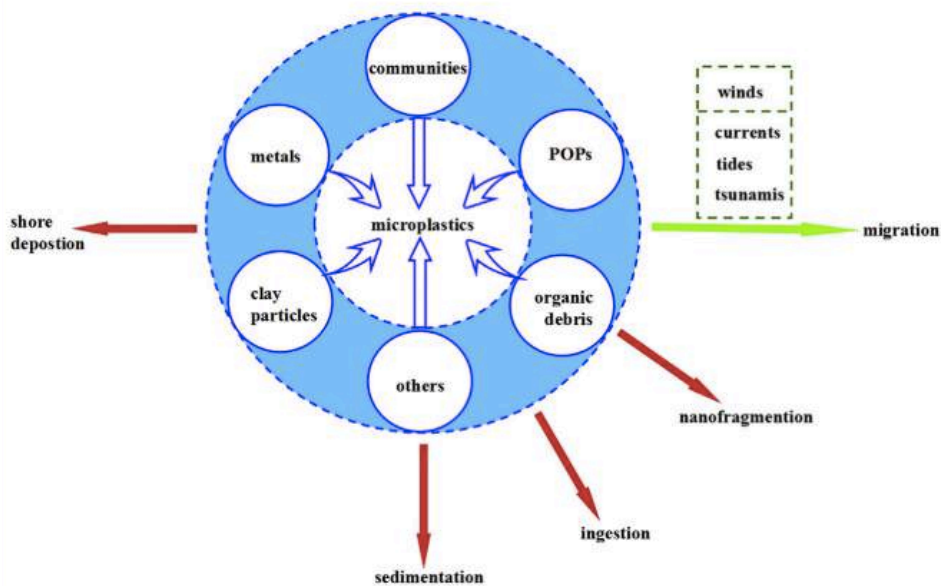


Fig. 1.2.1.1. Comportamento delle plastiche in ambiente marino. La zona blu rappresenta l'adsorbimento dall'ambiente circostante; le frecce rosse i possibili meccanismi di rimozione dei frammenti di plastica dalla superficie oceanica (Wang 2016).

Oltre alla valutazione dell'abbondanza e della dispersione nell'ambiente delle microplastiche, è importante quantificare l'eventuale ingestione da parte del biota (Derraik 2002; M.R. 2009; Claessens 2013; Eriksen 2014; Anbumani 2018) e l'adsorbimento degli inquinanti organici (Andrady, Microplastics in the marine environment 2011; Roy 2011; Wright 2013; Eriksen 2014; Barboza 2015; Wang 2016; Auta 2017; Anbumani 2018) ed il loro potenziale rilascio, che può generare effetti tossici nel biota. Gli organismi bentonici che vivono a stretto contatto col sedimento possono favorire i processi di risospensione delle microplastiche che, quindi, possono tornare in colonna d'acqua. Inoltre, in relazione alle loro dimensioni che presentano le microplastiche, possono essere ingerite dal biota (Fendall 2009; Claessens 2013) avendo come conseguenza: effetti cronici, trasporto nei vari tessuti e organi (Wright 2013) e si può verificare un eventuale progressivo accumulo lungo la rete trofica (Anbumani 2018) fino ad un possibile traferimento all'essere umano (Abidli 2017).

1.2.3 Focus sulla Laguna di Venezia

La Laguna di Venezia è una delle maggiori zone umide presenti nel Mediterraneo; con una superficie di 549 km² (A. P. Sfriso et al. 2006), è connessa col mare attraverso tre vie navigabili (Lido, Malamocco e Chioggia) (A. P. Sfriso, Macroalgae, Nutrient Cycles, and Pollutants in the Lagoon of

Venice 2006). Inoltre, è caratterizzata da bassi fondali (con una media di 1,5 m) e al suo interno contiene una varietà di habitat sia marini sia terrestri come paludi, risacche, canali e isole oltre che due grandi centri urbani, Venezia e Chioggia, e altri centri urbani dislocati nella gronda lagunare e nel la bacino scolante (Vianello 2013).

Nella Laguna di Venezia sono stati studiati i nutrienti (Sfriso 2006), inquinanti come POPs (Frignani 2001; Dalla Valle 2005; Guerzoni 2007; Cassin 2018) ed elementi in traccia (Perin 1997; Bellucci 2002; Caliceti 2002). In quanto inquinanti emergenti, le microplastiche sono state studiate in vari sistemi lagunari di tutto il mondo (Vianello 2013; S. Z. Zhao 2014; Klein 2015; Peng 2017; Abidli 2017; J. R. Zhao 2018), compresa la Laguna di Venezia. Vanno fatti ulteriori approfondimenti per quanto concerne l'abbondanza delle microplastiche in ogni componente ambientale e le fonti.

Le microplastiche che si possono incontrare possono essere di diverso tipo: *pellets*, detriti provenienti da reti da pesca e da scarichi industriali e/o urbani.

Non si sa con esattezza quali possano essere le fonti che permettono l'ingresso delle microplastiche in Laguna. Si pensa che potrebbero entrare poiché trasportate dal deflusso di acqua dolce (A. D. Vianello 2018) proveniente dal bacino scolante di 2000 km², oltre che eventuali fuoriuscite dagli scarichi industriali delle fabbriche ai confini della Laguna (Vianello 2013). Gli scarichi industriali non sversano direttamente in Laguna ma in un collettore che potrebbe non presentare dei sistemi di filtrazione in grado di trattenere le particelle microplastiche con ridotte dimensioni (Blair 2019, Magni 2019, Wolff 2019) e che, quindi, raggiungerebbero il sistema lagunare. Mentre si ipotizza che l'introduzione di nuovi materiali plastici più durevoli che vanno progressivamente sostituendo i pali di legno ormai degradati, tradizionalmente utilizzati per la navigazione e la marcatura delle acque profonde lungo i gradini, e per l'ormeggio di barche lungo le rive, possano essere una possibile fonte molto specifica di microplastiche in Laguna (Vianello 2013).

Lo scopo di questo studio è cercare di indagare ciò che non è ancora stato valutato, in tema microplastiche, per quanto concerne la Laguna di Venezia. L'obiettivo principale è la messa a punto di un metodo per valutare l'abbondanza (analisi quantitativa) delle microplastiche e la loro simultanea identificazione polimerica (analisi qualitativa). In particolare, sono oggetto dello studio le microplastiche le cui dimensioni permettono l'assunzione da parte del biota (0-100 µm) e quindi l'eventuale trasferimento lungo la rete trofica e che, con i classici sistemi di campionamento (*manta trawl*), non vengono campionate (A. D. Vianello 2018; M. M. Eriksen 2013; Pan 2019). Altro obiettivo dello studio è l'eventuale individuazione delle fonti di microplastiche.

1.3 Microplastiche e *European Chemicals Agency* (ECHA)

La preoccupazione relativa all'utilizzo di plastica negli ultimi anni, è aumentata in seguito all'inquinamento osservato in ambiente e alla paura della potenziale ricaduta negativa sulla salute umana.

Molti Stati dell'Unione Europea hanno deciso di emanare divieti per quanto riguarda l'inserimento intenzionale di microplastiche in prodotti come dentifrici o esfolianti. La Commissione Europea, ha deciso di pubblicare diversi studi che mettessero in evidenza il rischio di questi polimeri posti all'interno di prodotti di consumo quotidiano con lo scopo di riuscire a considerarne il rischio effettivo, sulla salute umana, ed emanare regolamenti a riguardo. In linea con le procedure del regolamento REACH per la restrizione delle sostanze che presentano un rischio per l'ambiente o la salute, la Commissione Europea ha chiesto all'ECHA di valutare i dati scientifici che giustificano un'azione normativa a livello di UE in merito alla microplastica aggiunta intenzionalmente a prodotti di qualsiasi tipo¹. L'intento principale è quello di riuscire a ridurre il più possibile l'inquinamento presente nell'ambiente acquatico e per fare questo dovranno essere poste una serie di azioni correttive che limitino l'emissione di microplastiche nel mercato e nell'ambiente.

Il 17 gennaio 2018, ad Helsinki, la commissione Europea ha fatto richiesta all'ECHA di emanare delle restrizioni, a livello Europeo, che limitassero l'impiego delle microparticelle in articoli commercializzati all'interno dell'UE e che potrebbero essere una possibile fonte di microplastiche in ambiente². Sono stati raccolti effettuati diversi studi per poter avere più informazioni possibili e per poter valutare i rischi effettivi sia come impatto ambientale sia come impatto socioeconomico relativo ad un'eventuale restrizione.

Nel maggio 2018 è stato svolto un seminario per discutere tra i membri dell'Unione Europea le problematiche chiave della restrizione e nel luglio 2018 è stata pubblicata una nota sulle sostanze da considerarsi potenzialmente soggette a restrizione nell'uso delle microplastiche³.

L'11 gennaio del 2019, ad Helsinki, è stata emanata la prima proposta di restrizione, la quale prevede di riuscire a definire una proposta di restrizione nell'impiego di microplastiche in prodotti di consumo. Inoltre in tale documento viene data una definizione delle microplastiche e viene definito in modo univoco un range dimensionale per le particelle e per le fibre (ECHA 2019).

¹<https://echa.europa.eu/it/hot-topics/microplastics>, su echa.europa.eu, URL consultato il 3 luglio 2019

²<http://www.isprambiente.gov.it/it/temi/crisi-emergenze-danno/rischio-sostanze-chimiche-reach-prodotti-fitosanitari/news-in-evidenza/echa-considera-restrizioni-sull2019uso-di-oxo-plastiche-e-microplastiche>, su isprambiente.gov.it, URL consultato il 3 luglio 2019

³<https://echa.europa.eu/it/hot-topics/microplastics>, su echa.europa.eu, URL consultato il 3 luglio 2019

MATERIALI E METODI

2.1 Siti di campionamento

Il campionamento di acqua e sedimenti è stato effettuato in tre diversi siti della Laguna di Venezia (Fig. 2.1.1): Sacca Sessola, Petta di Bò e Sant'Erasmus. Lo scopo è quello di validare i metodi per il trattamento e l'analisi di queste matrici e valutare sia la diversa abbondanza in acqua e sedimenti sia le eventuali fonti di microplastiche in Laguna.

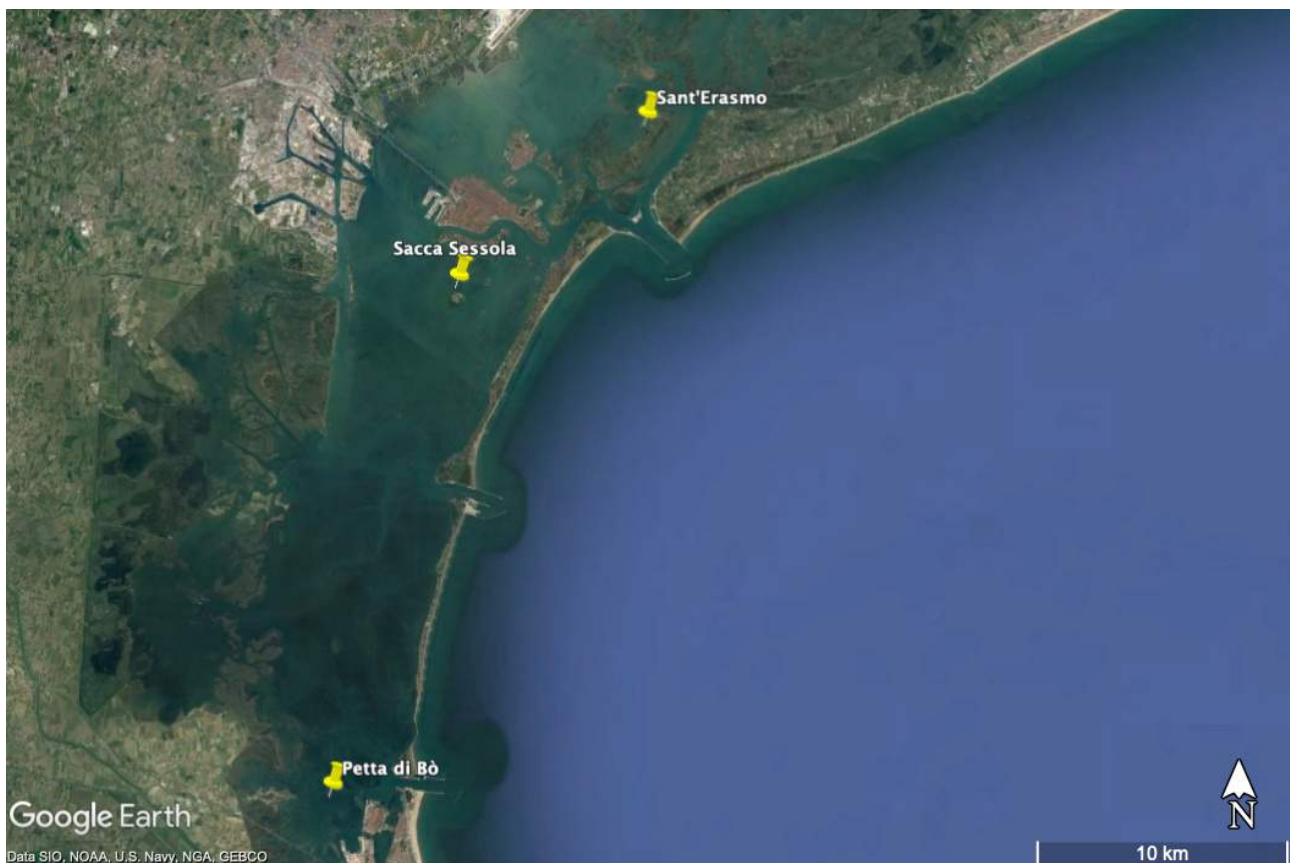


Fig 2.1.1. Mappa con contrassegnati i tre siti di campionamento interessati in questo lavoro di tesi

I tre siti in esame sono:

- *Sacca Sessola* (45° 24' 9.137" N, 12° 19' 10.095'): è un'isola artificiale tra le più grandi e di recente costruzione presenti nella Laguna di Venezia. È situata nella zona sud della Laguna.
- *Petta di Bò* (45°16'1.65" N, 12°15'0.32" E): sito situato vicino a Chioggia, città metropolitana della Laguna di Venezia, caratterizzata da bassi fondali.
- *Sant'Erasmo* (45°28' 22.12"N, 12°25'42.45"E): è un'isola della Laguna di Venezia settentrionale.

2.2 Modalità di campionamento

Per minimizzare la contaminazione da microplastiche sono stati utilizzati dei recipienti in acciaio per il campionamento delle acque superficiali (Fig. 2.2.1); il campione è stato prelevato nella zona superficiale della colonna d'acqua (30 cm al di sotto della superficie dell'acqua).

L'utilizzo di bottiglie in acciaio permette inoltre di campionare quelle plastiche che presentano dimensione inferiore ai 300 µm che verrebbero lasciate sfuggire dai classici metodi di campionamento che prevedono l'utilizzo della *manta trawl* (Frère 2017; Olivatto 2019; Pan 2019). La porosità della maglia di una *manta trawl* è pari a quella di una *rete da neuston* ossia di 300 µm. Una volta campionata, l'acqua, è stata trasportata in laboratorio dove è stata trasferita, dopo opportuna miscelazione, in bottiglie di vetro ambrata (capacità di 2,5 Litri). Ad ogni campione sono stati aggiunti 50 ml di perossido di idrogeno (H₂O₂) (30% Sigma (Merck, Darmstadt, Germany)), per la degradazione della materia organica. Le bottiglie sono state conservate in frigorifero a 4°C fino all'estrazione delle microplastiche dal campione.

Per i campioni di sedimento, invece, è stata utilizzata una *benna* in acciaio. Il campione viene conservato in vaschette in alluminio ricoperte con alluminio, sempre per minimizzare la contaminazione. Una volta in laboratorio il campione viene conservato in frigorifero a 4°C all'estrazione delle microplastiche dal campione.



Fig. 2.2.1. Nella prima foto sono rappresentate delle bottiglie in acciaio utilizzate per il campionamento dell'acqua superficiale, nella seconda foto è rappresentata la Benna utilizzata per il campionamento dei sedimenti.

2.3 Fasi preanalitiche e metodi usati per campioni di acqua e sedimento

La fase di preanalitica (estrazione, filtrazione e purificazione) è stata eseguita all'interno di una *Clean Room* (Fig. 2.3.1) per analisi di composti organici (ISO 7). Tale stanza è costituita completamente d'acciaio e nei prefiltri dell'aria non sono presenti polimeri plastici. Questo permette di minimizzare il più possibile contaminazioni esterne, che andrebbe sovrastimare i risultati delle analisi.



Fig. 2.3.1. Foto raffiguranti la *Clean Room* (ISO 7) in cui sono stati trattati i campioni di acqua e sedimento, laboratorio completamente privo di materiali plastici.

Inoltre sono stati utilizzati unicamente utensili di acciaio e vetreria decontaminati con acqua ultrapura (ELGA LabWater, UK), metanolo ($\geq 99,9\%$ (HPLC) Sigma (Merck, Darmstadt Germany)) ed etanolo ($\geq 99,8\%$ (HPLC) Sigma (Merck, Darmstadt Germany)).

Ad ogni estrazione, la pulizia della vetreria è stata effettuata con acqua ultrapura e *Contrad 2000* (Decon Laboratories Limited, UK) (emulsione acquosa di tensioattivi anionici e non ionici), seguita da una ulteriore decontaminazione con metanolo ed etanolo.

2.3.1 Metodo di estrazione delle microplastiche dai sedimenti lagunari

Il metodo per l'estrazione dei sedimenti è stato messo a punto ottimizzando il metodo di Crichton et al. (2017). È stato valutato il volume rappresentativo del campione, la migliore procedura di estrazione e di purificazione.

Il campione di sedimento, opportunamente omogeneizzato con il metodo dei quarti, viene posto all'interno di un imbuto separatore e agitato con *acqua ultrapura* (ELGA LabWater, UK) e 7 ml di *olio di semi di girasole (Crudolio biologico)* per estrarre le microplastiche presenti, sfruttandone la lipofilità. Dopo la separazione delle fasi (sedimento, acqua e olio), una parte dell'acqua e lo strato di olio sono recuperati in un secondo imbuto separatore, nel quale vengono aggiunti 10 ml *perossido di idrogeno* per degradare eventuale materia organica particolata che per affinità potrebbe essere stata estratta dal campione di sedimento, assieme alle microplastiche. Successivamente si lascia riposare per separare in maniera ottimale le due fasi (acqua e olio); si procede poi al recupero dell'olio in una beuta, scartando la fase acquosa. Viene utilizzata una miscela di alcoli (rapporto 7:3) composta da *etanolo-metanolo*, ed *esano*, per raccogliere tutta la fase oleosa dall'imbuto separatore.

Si procede alla filtrazione dell'estratto oleoso, utilizzando un sistema di filtrazione in vetro sottovuoto (Laboport ®) con filtro ANODISC (*Anopore Inorganic Membrane*) da 0,2 µm e con diametro di 47 mm della Whatman™. Durante la filtrazione, per la purificazione dei filtri è stato utilizzato *etanolo* (Sigma Merk, Germany) sia per la pulizia iniziale del filtro sia per la purificazione vera e propria, *esano* che permette di fluidificare l'olio facilitando la filtrazione, e una miscela di *etanolo-metanolo* (rapporto di 7:3).

Tutti i filtri sono conservati in capsule petri in vetro, rivestite da un foglio di alluminio per evitare contaminazioni, e sono stati lasciati ad asciugare a temperatura ambiente per 72 ore, sotto cappa aspirante. I filtri vengono poi chiusi nelle capsule, che vengono ulteriormente coperte con alluminio e conservati in clean room, fino al momento dell'analisi.

Successivamente all'essiccazione del filtro l'analisi strumentale è stata condotta con il Micro FT-IR Nicolet™iN™ 10 (*Thermo Fisher Scientific*), presso il laboratorio CNR-ISP di Venezia.

Prima di iniziare ogni operazione sono stati eseguiti dei bianchi sia dell'acqua ultrapura (ELGA LabWater, UK) utilizzata, che dei reagenti; per valutare che non vi fosse alcun tipo di contaminazione proveniente dall'ambiente di lavoro.

2.3.2 Metodo di estrazione delle microplastiche dalle acque lagunari

Nella messa a punto del metodo è stato valutato il volume rappresentativo del campione, la migliore procedura di estrazione e di purificazione.

Il campione viene diluito 1:1 con *acqua ultrapura* (ELGA LabWater, UK), per diminuire la salinità presente nel campione di acqua lagunare, all'interno di un imbuto separatore, nel quale vengono aggiunti 5 ml di *Perossido di idrogeno* (Sigma Merk, Germany) per disgregare ulteriormente la materia organica.

Per l'estrazione delle microplastiche è stata sfruttata la lipofilicità delle particelle, come indicato da (Crichton 2017); nell'imbuto separatore è stato aggiunto un volume di 5 ml di *olio di semi di girasole estratto (Crudolio biologico)*.

Trascorso il tempo sufficiente affinché l'olio e l'acqua lagunare raggiungano la completa separazione di fase, si procede col recupero dell'olio conservandolo all'interno di una beuta. Col campione di acqua si procede ad una successiva estrazione identica alla precedente.

Per il recupero dell'olio dall'imbuto separatore, la fase acquosa viene completamente scartata e vengono trasferite in una beuta entrambe le estrazioni della fase oleosa contenente le microplastiche. Per recuperare completamente l'olio dall'imbuto separatore, questo viene risciacquato con *etanolo* ed *esano* (puriss. $\geq 99\%$ (GC) Sigma (Merck, Darmstadt Germany)) che permette di fluidificare completamente la fase oleosa che rimane adeso alle pareti.

Si procede alla filtrazione dell'estratto oleoso, utilizzando un sistema di filtrazione in vetro sottovuoto (Laboport ®) con filtro ANODISC (*Anopore Inorganic Membrane*) da 0,2 μm e con diametro di 47 mm della Whatman™. Tale filtro è composto da una matrice di allumina di elevata purezza prodotta elettrochimicamente.

Durante la filtrazione, per la purificazione dei filtri è stato utilizzato *etanolo* (Sigma Merk, Germany) sia per la pulizia iniziale del filtro sia per la purificazione vera e propria, *esano* che permette di fluidificare l'olio facilitando la filtrazione, e una miscela di *etanolo-metanolo* (rapporto di 9:1).

Tutti i filtri sono conservati in capsule petri in vetro, rivestite da un foglio di alluminio per evitare contaminazioni, e sono stati lasciati ad asciugare a temperatura ambiente per 72 ore, sotto cappa aspirante. I filtri vengono poi chiusi nelle capsule, che vengono ulteriormente coperte con alluminio e conservati in *clean room*, fino al momento dell'analisi.

Successivamente all'essiccazione del filtro l'analisi strumentale è stata condotta con il Micro FT-IR Nicolet™iN™ 10 (*Thermo Fisher Scientific*), presso il laboratorio CNR-ISP di Venezia.

Anche in questo caso, come per i campioni di sedimento, prima di iniziare ogni operazione sono stati eseguiti i bianchi dell'acqua ultrapura (ELGA LabWater, UK) utilizzata e dei reagenti, per valutare che non vi fosse alcun tipo di contaminazione esterna al campione.

2.4 Analisi strumentale con μ FT-IR

La spettroscopia infrarossa è una tecnica spettroscopica di assorbimento utilizzata per lo studio dei legami chimici. Un fotone infrarosso che colpisce un materiale viene assorbito da una molecola la quale passa dal suo stato vibrazionale fondamentale al suo stato eccitato. Rappresenta quindi l'interazione esistente tra luce infrarossa e materia (Harris 2017).

Un tipico spettro infrarosso mostra sull'asse delle ascisse il numero d'onda del fotone (cm^{-1}) mentre nell'asse delle ordinate la trasmittanza (%) (Fig. 2.4.1).

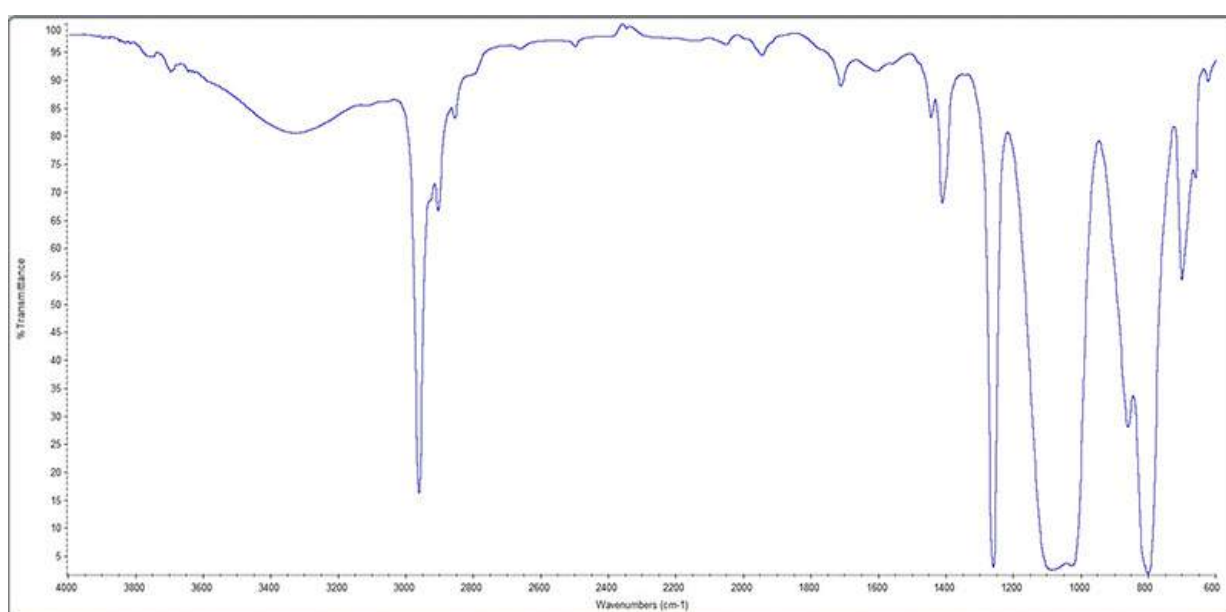


Fig. 2.4.1. tipico spettro infrarosso nel quale si osserva che per l'asse delle ascisse viene rappresentata la lunghezza d'onda del fotone mentre nelle ordinate il valore di trasmittanza.

Nello spettro IR possono essere distinte due zone di particolare importanza:

1. La zona dei gruppi funzionali che si estende da 3800 a 1300 cm^{-1} che comprende bande di stiramenti e deformazioni dei gruppi funzionali.
2. La zona del fingerprint che va dai 1300 ai 650 cm^{-1} . Tale zona assume questo nome grazie alla presenza di bande caratteristiche per ciascuna molecola poiché determinate dalla vibrazione dello scheletro molecolare.

Gli spettri che vengono ottenuti con μ FTIR utilizzato per le analisi dei campioni relativi a questo lavoro di tesi mostrano evidenziate le zone relative ai gruppi funzionali e al *fingerprint* (Fig. 2.4.2).

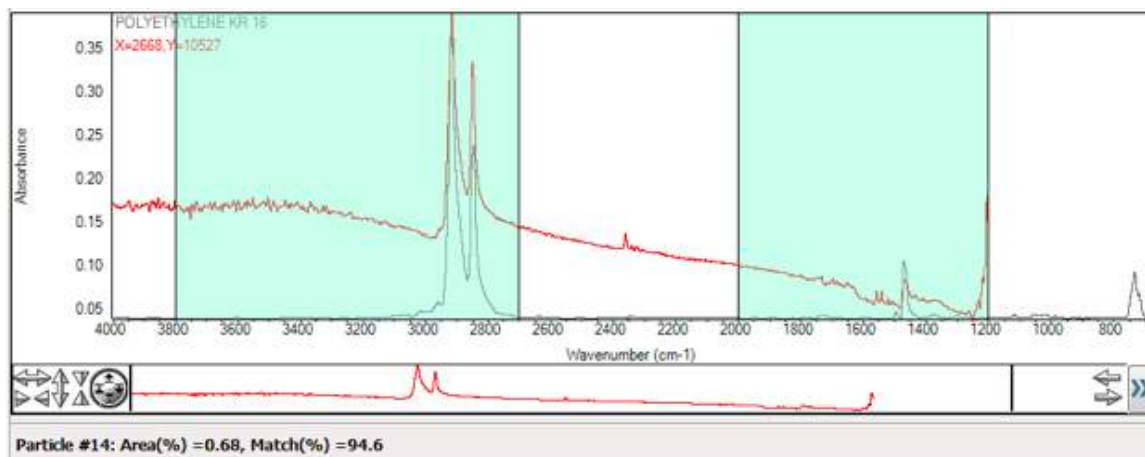


Fig. 2.4.2. Spettro ottenuto col μ FTIR utilizzato presso il laboratorio CNR-ISP di Venezia nel quale è possibile osservare la zona relativa ai gruppi funzionali (3800-2650cm⁻¹) e la zona relativa al *fingerprint* (2000-1200 cm⁻¹) messe in evidenza con delle bande verdi.

Il μ FTIR (*Micro-Fourier transform infrared spectrometry*) (Fig. 2.4.3) è uno strumento che permette di coniugare un microscopio ottico con la spettroscopia a infrarossi; permette di analizzare campioni senza distruggerli e, sfruttando la radiazione infrarossa, permette di raccogliere spettri in più punti del campione, fornendo poi una identificazione del composto o del polimero.

Il μ FTIR permette inoltre di analizzare campioni di dimensioni relativamente piccole fino ad arrivare alla dimensione di 5-10 μ m.

Ha la possibilità di funzionare sia a temperatura ambiente (detector DTG (Deuterato Triglicina solfato)), sia raffreddato ad azoto liquido (*Mercury Cadmium Telluride (MCT)* detto anche *cooled detector*) che permette di coprire range spettrali molto ampi che vanno da 8000 numeri d'onda a 450 numeri d'onda.

Lavorare a temperatura ambiente, tuttavia, potrebbe portare ad avere una sensibilità minore e un livello di rumore di circa 2 o 3 ordini di grandezza più alti rispetto a utilizzare il detector raffreddato ad azoto liquido (*Mercury Cadmium Telluride (MCT)* detto anche *cooled detector*).

Poiché, per lo studio della seguente analisi è necessario avere una sensibilità più alta possibile, viene utilizzato il detector MCT che prevede il raffreddamento con azoto liquido.



Fig. 2.4.3. μ FTIR (Micro-Fourier transform infrared spectrometry) presso il CNR-ISP di Venezia col quale sono state eseguite le analisi.

Attraverso il μ FTIR è possibile lavorare sfruttando tre modalità per la caratterizzazione chimica delle particelle: *trasmissione*, *riflessione* e *ATR*.

La *trasmissione* permette di analizzare campioni in modo estremamente rapido con il massimo di energia IR; il campione viene attraversato da un fascio di luce, ma deve essere sufficientemente sottile da permettere la trasmissione della stessa, che risulterà in uno spettro di alta qualità. La trasmissione può essere utilizzata per numerosi scopi e in differenti discipline che vanno dal campo ambientale a quello medico oltre che geologico.

La modalità *riflessione* permette di lavorare con una minore energia IR, la luce viene riflessa sulla superficie del campione, anziché passarci attraverso, ma è necessario che il campione sia lucido e ne permetta una buona riflessione.

La modalità *ATR* invece consiste in un raggio di luce che passa attraverso un cristallo (ATR) che si trova a contatto col campione e ne riflette la superficie interna; è possibile lavorare utilizzando questa modalità, quando il campione presenta uno spessore superiore ai 35 μm .

Attraverso il software di gestione OMNICTM PictaTM (Thermo Fisher Scientific), è possibile misurare lo spettro infrarosso in un punto qualsiasi del campione, ottenendo le aree dei picchi e la mappa della distribuzione dei gruppi funzionali target.

Le particelle di microplastiche depositate su filtri ANODISC sono analizzate in trasmissione in modalità *Wizard*; tale modalità permette di analizzare l'*imaging* delle particelle, raccogliendo parametri come la lunghezza, la larghezza e l'area, di raccogliere lo spettro infrarosso delle particelle, confrontandolo poi con opportune librerie e fornendo un match di riconoscimento in

percentuale; sono considerati buoni match compresi tra 55% e 65% e ottimi match compresi tra il 65% e il 75%. Si possono però raggiungere anche match superiori al 75%, in relazione alla procedura di purificazione utilizzata (Fig. 2.4.4).

Il tempo di analisi dipende dal numero di mosaici (o campi conta) da osservare, dalla grandezza del campo conta, dalla numerosità delle particelle presenti nel campo conta e dalle scansioni eseguite su ogni particella.

Per i filtri dei campioni di acqua e di sedimenti le impostazioni sono:

- 20 campi conta (dimensioni 2000 μm x 1200 μm , area 2,40 mm^2)
- Apertura 100 μm x 100 μm
- Risoluzione spaziale (step size scanning) 100 μm
- 32 scansioni per particella con risoluzione 4 cm^{-1}
- Range spettrale 4000-1200 cm^{-1}

Collected Spectra

ID	Particle/Spectrum	Cl	Identified Component Name	Matc	Are	Length	Width
1	X=-7737,Y=-3838	23	POLYETHYLENE KR 16	78.4	0.95	56.8	29.1
4	X=-7617,Y=-4850	21	POLYETHYLENE TYPE F	88.7	0.35	32.2	18.7
5	X=-6948,Y=-4768	21	POLYETHYLENE TYPE F	63.6	0.31	37.4	14.5
6	X=-6226,Y=-4593	21	POLYETHYLENE TYPE F	88.1	0.46	37.7	21.2
1	X=-6596,Y=-5034	20	POLYTETRAFLUOROETHYLENE #4	74.9	0.35	32.8	18.7
4	X=-7129,Y=-4981	20	POLYTETRAFLUOROETHYLENE #4	83.6	0.4	38	18.3
1	X=-6602,Y=-3898	20	POLYTETRAFLUOROETHYLENE #4	62.8	0.53	40	22.8
6	X=-5903,Y=-4558	14	TETRAFLUOROETHYLENE-PERFLUORO(PROPYL VINYL ET	64.9	1.77	74.4	41.3

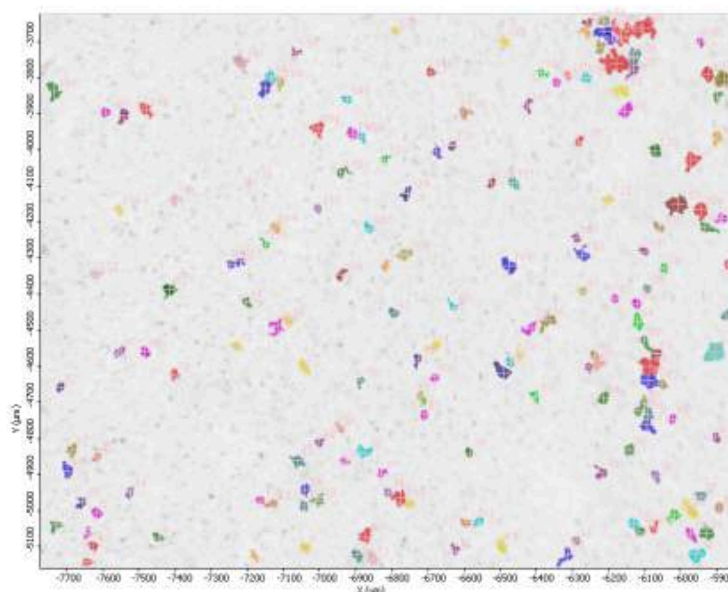
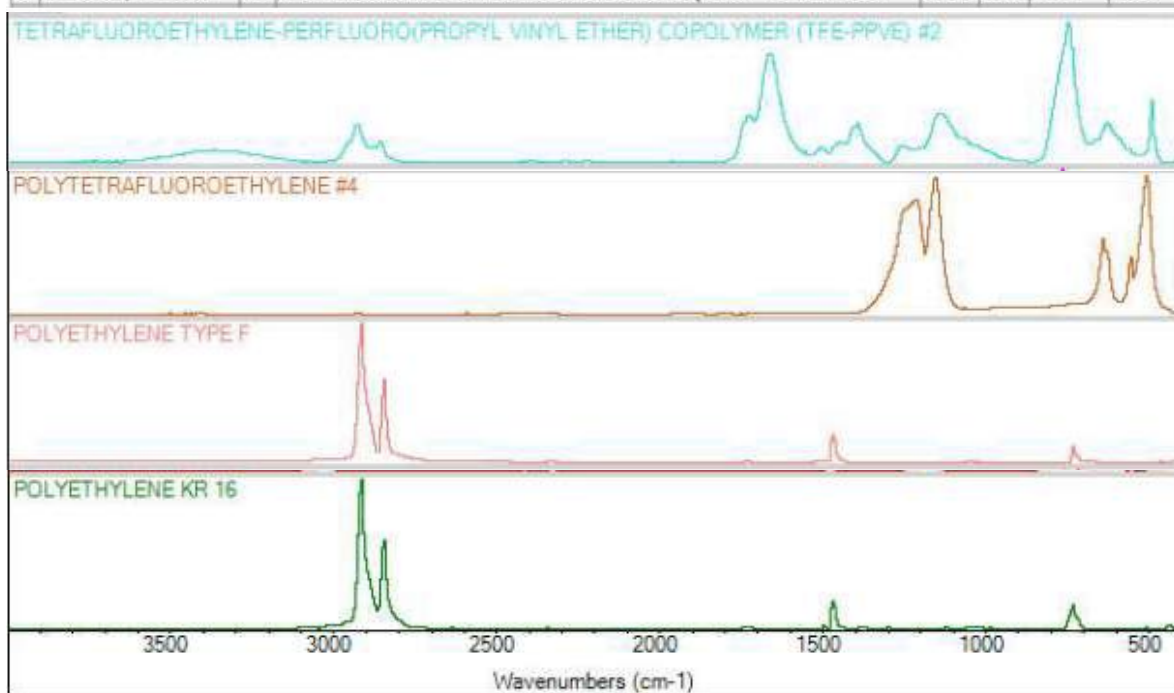


Fig. 2.4.4. Estratto di un report ottenuto con μ FTIR a seguito dell'analisi col software "Wizard"

2.5 Analisi statistica

Nel caso delle scienze naturali, biologiche ed ambientali, eventi come la distribuzione dell'inquinamento in una determinata area geografica, la crescita dei microorganismi in una determinata piastra di coltura, la conta di microorganismi come le microalghe, il decadimento radioattivo, seguono la distribuzione di Poisson.

Quando sono rispettati i tre assiomi di indipendenza, omogeneità e regolarità, cioè la probabilità di presenza di un organismo/una particella è la stessa in ogni infinitesimo punto dello spazio e non modifica la probabilità che ce ne sia un altro nello stesso punto o nelle vicinanze, allora la distribuzione di frequenza del numero di individui/particelle osservati in un campione di sottoaree uguali definite nell'area studiata tenderà alla distribuzione di Poisson.

E' quindi fondamentale comprendere la stretta analogia tra sottoaree rappresentative e porzioni di una curva, di un volume, di un intervallo di tempo o di campioni rappresentativi rispetto al *bulk*.

La distribuzione di microplastiche in matrici ambientali, quali acqua e sedimento, è casuale. Infatti, la loro presenza in ambiente può dipendere da vari eventi, come ad esempio gli scarichi dei reflui in mare (Blair 2019, Magni 2019, Jiang 2018, Wolff 2019), il passaggio di navi e l'attività della pesca (Hinojosa 2009). Questi eventi possono essere casuali rispetto al tempo, ovvero l'intervallo di tempo tra un evento e l'altro è imprevedibile.

Inoltre, nel momento in cui il campione viene omogeneizzato e aliquotato, estratto e poi filtrato, la probabilità che le particelle di plastica si trovino in un punto preciso del filtro rientra negli assiomi di Poisson. Quindi, la distribuzione delle particelle di plastica in un campione segue la distribuzione di Poisson.

Alle repliche dell'analisi quantitativa (conteggio delle particelle microplastiche) dei campioni di acqua e sedimenti è stata applicata la distribuzione di Poisson, per determinare lo scarto tipo (σ o s), lo scarto tipo relativo (coefficiente di variazione CV o RSD, spesso espresso in %), l'incertezza stimata e i limiti fiduciali IF.

Poiché nella distribuzione di Poisson la media campionaria C_m è la varianza σ^2 (1)

$$\text{media} \rightarrow C_m = \frac{\sum_1^n C_i}{n} \quad \text{varianza} \rightarrow \sigma^2 = C_m \quad (1)$$

è necessario stabilire se i risultati ottenuti possono essere espressi come media campionaria oppure no. In questo caso ai dati si applica il test di Huber, che calcolando il rapporto delle differenze dei singoli conteggi D_i e la mediana delle differenze D_m permette di individuare gli outliers:

- a) Calcolando la mediana (C_M) della tre repliche (C_i) ordinate in senso crescente
- b) Calcolando le differenze delle singole repliche (C_i) dalla mediana (C_M)
- c) Le differenze (D_i) vengono ordinate in senso crescente e in valore assoluto
- d) Viene calcolata la mediana delle differenze (D_M)
- e) Infine si confrontano le differenze (D_i) rispetto alla mediana delle differenze (D_M) applicando la relazione $D_i \leq 4,5 \times D_M$ ossia se:

$$\frac{D_i}{D_M} \leq 4,5 \rightarrow \text{il dato è accettabile} \quad (2)$$

$$\frac{D_i}{D_M} \geq 4,5 \rightarrow \text{il dato è anomalo} \quad (3)$$

Stabilito che nessun conteggio è un outlier, il risultato può essere espresso come C_m .

Quindi, secondo la distribuzione di Poisson, lo scarto tipo sarà

$$s = \sqrt{\sigma^2} = \sqrt{C_m} \quad (4)$$

Il coefficiente di variazione sarà

$$RDS = CV = \frac{s}{C_m} = \frac{\sqrt{C_m}}{C_m} = \sqrt{\frac{1}{C_m}} \quad (5)$$

L'incertezza stimata con una probabilità di successo del 95% ($p=0,95$) sarà

$$\text{Incetezza stimata} \pm 1,96 \times \sqrt{\frac{C_m}{n}} \quad (6)$$

Dove n = numero di repliche e 1.96 è il k_p .

Il k_p è il *coefficiente di Poisson*, che può assumere diversi valori:

- $K_p \leq 1,96$ → il risultato della distribuzione è accettabile
- $1,96 < K_p < 2,576$ → il risultato è critico
- $K_p \geq 2,576$ → il risultato è inaccettabile

Quando il risultato della distribuzione è accettabile, i limiti fiduciali IF sono dati dalla seguente equazione:

$$IF = C_m \pm 1,96 \times \sqrt{\frac{C_m}{n}} \quad (7)$$

MESSA A PUNTO DEI METODI

3.1 Messa a punto del metodo di estrazione e purificazione per i sedimenti

La flottazione è tra le procedure più studiate per l'estrazione delle microplastiche dai sedimenti (Y. O. R. Thompson 2004; Claessens 2013; Vianello 2013; Nuelle 2014; Karlsson 2017; Mintenig 2017; Peng 2017; J. R. Zhao 2018; Li 2018). In genere è impiegata una soluzione di *Cloruro di Sodio* (NaCl), con densità di 1.2 g cm^{-3} (Vianello 2013; Claessens 2013; Narayanaswamy 2014; Peng 2017; J. R. Zhao 2018). Una volta aggiunta la soluzione di NaCl al sedimento in una beuta, il campione viene sottoposto ad agitazione e lasciato poi sedimentare, per separare completamente il sedimento dalla soluzione salina. Per flottazione le microplastiche passano dal sedimento nella soluzione salina. Però questo vale solo per le microplastiche che hanno una densità minore della soluzione salina. Con la flottazione con NaCl, quindi, si estrarrebbero solo polimeri plastici con densità $<1.2 \text{ g cm}^{-3}$, tutti gli altri rimarrebbero nel sedimento e verrebbe sottostimata la quantità di microplastiche presenti. In letteratura sono indicate soluzioni alternative al NaCl, per coprire un range di densità più ampio (Thompson 2004; Nuelle 2014; Rocha-Santos 2015, Y. O. R.; Quinn 2017). Si utilizzano infatti *Ioduro di Sodio* (NaI), *Cloruro di Zinco* (ZnCl) e altri Sali, in soluzione con densità superiore a 1.2 g cm^{-3} ; l'inconveniente è il costo più elevato di questi sali rispetto al NaCl. Nella messa a punto del metodo di estrazione delle microplastiche dai sedimenti della Laguna di Venezia, sono state effettuate diverse prove; tra queste è stata anche sperimentata la flottazione con una soluzione di *Cloruro di Zinco* (1.9 g/cm^3); la densità era sufficiente per garantire la flottazione della maggior parte dei polimeri che avrebbero potuto essere nei sedimenti campionati. In una beuta precedentemente decontaminata (con acqua ultrapura, *Contrad 2000* (Decon Laboratories Limited, UK), metanolo ed etanolo) sono stati pesati 25 g di sedimento fresco e omogeneizzato per quartazione, ai quali sono stati aggiunti 50 ml della soluzione di ZnCl_2 preparata in precedenza; la beuta è stata poi messa in agitazione per 15 minuti a 150 RPM, su un agitatore orbitante. Dopo 2 ore e mezza, si è osservata la separazione tra sedimenti e soluzione ed è stato recuperato il surnatante, avendo cura di non risospingere il sedimento. Tale procedura è stata ripetuta per tre volte, recuperando ogni volta il surnatante. Tutto il surnatante è stato raccolto in un imbuto separatore precedentemente

decontaminato con ed è stato fatto riposare per almeno 12 ore, per far sedimentare il sedimento residuo, che è poi stato scartato. Per ossidare l'eventuale materia organica rimasta adesa alle particelle di plastica, sono stati aggiunti 5 ml di H_2O_2 . Il surnatante si è colorato di arancio, dopo l'aggiunta di H_2O_2 ; dopo la decantazione, è stato comunque filtrato su un filtro Anodisc, preventivamente risciacquato con etanolo, ma la filtrazione era estremamente lenta e la purificazione con etanolo e con la miscela etanolo-metanolo (rapporto 7:3 v/v) non ha sortito alcun effetto. Dopo aver atteso 72 ore il filtro è risultato illeggibile al $\mu FTIR$, anche per la formazione di cristalli di $ZnCl_2$ sulla superficie del filtro (Fig. 3.1.1).



Fig. 3.1.1. Campione trattato con soluzione di zinco cloruro. Foto prima e dopo essiccazione del filtro

In un secondo esperimento sono state accoppiate la flottazione con l'estrazione delle microplastiche con olio (oleo-estrazione), sfruttando la lipofilità delle particelle. Quindi si è proceduto nel modo descritto in precedenza, aggiungendo però anche olio vegetale (15 ml) nell'imbuto separatore. Questo step avrebbe dovuto separare in modo efficace le particelle dalla soluzione salina. Per evitare che l'olio formasse una sorta di tappo sul filtro, nella purificazione era stato aggiunto esano (rapporto olio:esano 1:13 v/v). Anche in questo caso, la filtrazione risultava estremamente lenta e difficoltosa. Terminata la filtrazione, il filtro era ancora di colore arancione. Al termine delle 72 ore si era formata una patina cristallina e arancione che si distaccava dalla superficie del filtro (Fig. 3.1.2)

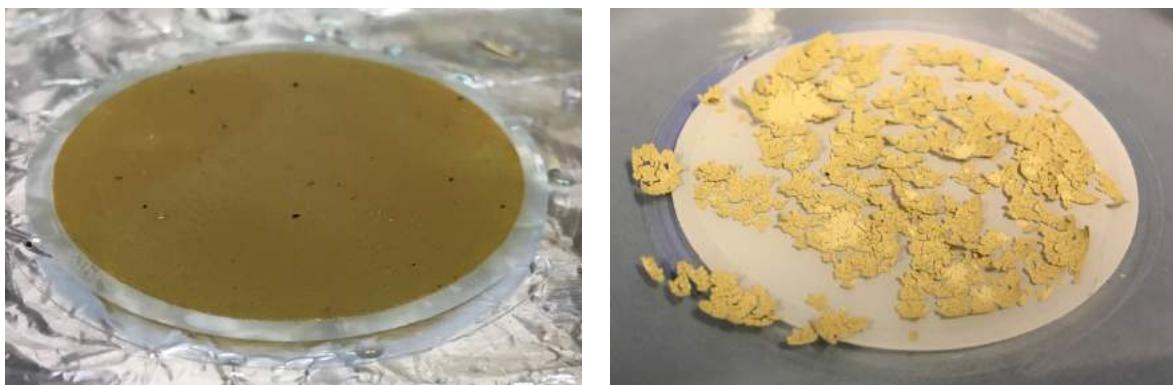


Fig. 3.1.2. Filtro del campione trattato con soluzione di $ZnCl_2$ e olio, con una colorazione arancione intenso (a sinistra, prima dell'essiccazione, a destra dopo l'essiccazione).

Prima di scartare completamente la flottazione con $ZnCl_2$ come procedura di estrazione, è stata fatta una ulteriore prova, utilizzando la soluzione di $ZnCl_2$ sempre con la densità precedentemente indicata, ma sostituendo all' H_2O_2 il Triton X-100. Il Triton X-100 è un tensioattivo non ionico, che permette la solubilizzazione delle proteine, senza interferire con altre componenti presenti in soluzione; per le sue proprietà si è quindi pensato di impiegarlo per pulire le particelle di plastica da eventuale materiale adesivo. La procedura di estrazione era identica a quella precedentemente descritta con la sola soluzione di $ZnCl_2$ e l'aggiunta di H_2O_2 . Anche in questo esperimento si è osservata una filtrazione molto lenta, la purificazione è risultata inefficace e il filtro è risultato illeggibile al $\mu FTIR$ (fig. 3.1.3).

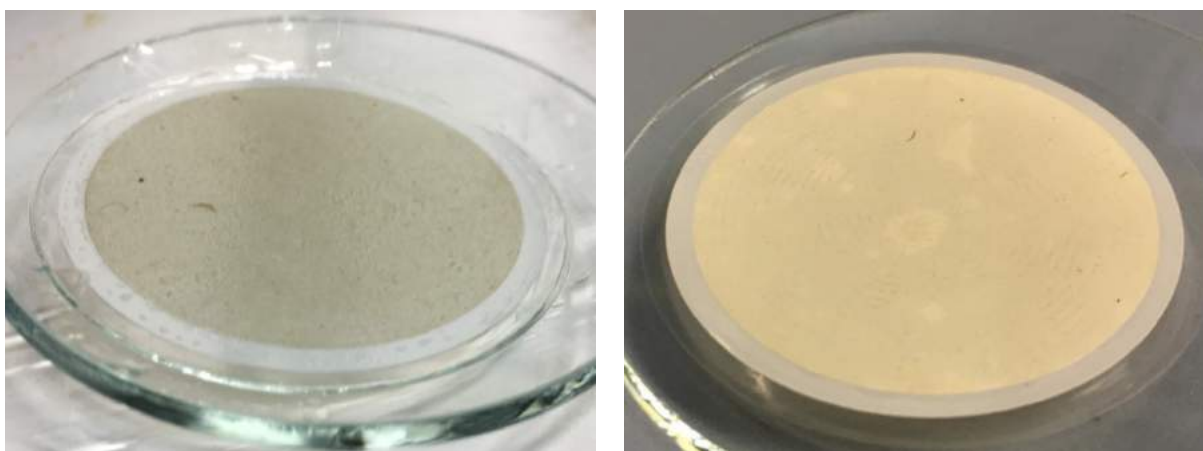


Fig. 3.1.3 Procedura di estrazione con $ZnCl_2$, olio e Triton X-100; la filtrazione lenta e la purificazione non ottimale danno un filtro illeggibile al $\mu FTIR$ (a sinistra dopo la filtrazione, a destra dopo 72 ore prima di essere visto al $\mu FTIR$).

Dopo queste prove si è deciso di scartare la flottazione con la soluzione di $ZnCl_2$ e di procedere con l'oleo-estrazione (Crichton 2017), sfruttando – come scritto in precedenza – la lipofilia delle particelle di plastica.

Per la oleo-estrazione si è proceduto così: in una beuta a 25 g di sedimento fresco, omogeneizzato per quartazione, sono stati aggiunti 50 ml di acqua ultrapura e 5 ml di olio. L'imbuto è stato agitato con un agitatore orbitale per 30 minuti e fatto poi riposare per circa 1 ora e 30 minuti, attendendo la separazione tra sedimento, acqua e olio. Trascorso questo tempo, la fase oleosa e la fase acquosa sono state recuperate in un imbuto separatore. La procedura è stata riprodotta dall'inizio per altre quattro volte. Nell'imbuto separatore è stato aggiunto il Triton X-100 e la soluzione è stata fatta riposare per almeno 24 ore. Trascorso questo tempo, tutta la fase acquosa è stata scartata e si è proceduto con la filtrazione. Il filtro è stato inizialmente decontaminato con etanolo. La fase oleosa è stata filtrata in tre step, alternati alla filtrazione di etanolo e della miscela di etanolo-metanolo (rapporto 7:3 v/v); nell'ultimo step la fase oleosa è stata recuperata con 20 ml di esano, per essere certi di aver raccolto ogni eventuale residuo dall'imbuto separatore. Anche in questo caso, però, la filtrazione è stata estremamente lenta e la purificazione non ha ottenuto l'effetto sperato, tanto che anche questo filtro risultava illeggibile al $\mu FTIR$. Nonostante la presenza del tensioattivo e dell'esano, l'olio non veniva completamente filtrato, ma restava sulla superficie del filtro.

Poiché l'utilizzo del Triton X-100 non è risultato essere di aiuto, è stata effettuata una prova di oleo-estrazione identica alla precedente, ma con l'aggiunta di H_2O_2 , per digerire il materiale particolato adeso sulle plastiche. In questo caso la filtrazione è risultata meno lenta rispetto a tutte le prove effettuate, sebbene il filtro risultasse ancora coperto da un velo di olio e quindi ancora illeggibile al microFTIR.

Nella successiva prova di oleo-estrazione, in un imbuto separatore una aliquota di 25 g di sedimento fresco e omogeneizzato per quartazione è stata diluita con 75 ml di acqua ultrapura. Dopo 15 minuti di agitazione con agitatore orbitale, sono stati aggiunti 5 ml di olio ed è stato agitato nuovamente, per poi lasciare riposare per 72 ore, per separare completamente i sedimenti dalla fase acquosa e la fase oleosa. Trascorso questo tempo, assieme a 10ml della fase acquosa è stata recuperata tutta la fase oleosa in una beuta e sono stati aggiunti 5 ml di H_2O_2 . Dopo aver lasciato riposare per 48 ore, per far sì che la superficie delle plastiche sia liberata di eventuali impurezze,

nella beuta sono stati aggiunti etanolo ed esano (per entrambi rapporto 1:3 v/v). Il contenuto della beuta viene filtrato su filtro Anodisc, già decontaminato, in tre riprese, sciacquando il filtro con pari volume di esano e della miscela di etanolo – metanolo (rapporto 7:3 v/v). Al termine della filtrazione, il filtro viene risciacquato ulteriormente con pari volume di esano e della miscela di alcoli (per almeno 5 volte). Dopo aver atteso 72 ore che il filtro si asciugasse, è stata effettuata l'analisi al μ FTIR; nonostante il contenuto di particolato sul filtro, è stato possibile effettuare l'analisi, ma molte particelle non sono analizzate, in quanto coperte dal particolato (Fig. 3.1.4)



Fig. 3.1.4. immagine catturata col microscopio dello strumento dove si può notare il particolato presente sul filtro.

Per evitare che le microplastiche siano coperte dalle particelle di sedimento è stata effettuato un altro esperimento di estrazione con 15 g di sedimento fresco e omogeneizzato col metodo dei quarti, al quale sono aggiunti 85 ml di acqua ultrapura. Dopo una agitazione di 15 minuti sull'agitatore per inversione, nell'imbuto separatore sono aggiunti 7 ml di olio ed è stato agitato ancora, prima di lasciar riposare per 72 ore. Trascorso questo tempo, la fase oleosa e parte della fase acquosa (rapporto 1:5) sono stati recuperati in un secondo imbuto separatore, dove sono stati aggiunti 10 ml di H_2O_2 . Dopo il riposo di 48 ore, è stata scartata la fase acquosa e raccolta tutta la fase oleosa, che viene poi diluita con 60 ml della miscela di etanolo – metanolo (rapporto 7:3 v/v) e con pari volume di esano. La filtrazione su filtri Anodisc è stata quindi effettuata in tre riprese, alternando pari volume di esano e di miscela di alcoli (rapporto 7:3 v/v); inoltre all'ultima ripresa l'imbuto separatore è stato completamente risciacquato con 60 ml di esano, che sono poi stati filtrati ed il filtro è stato ulteriormente purificato per 5 volte alternando pari volume di esano e

miscela di alcoli. Al μ FTIR questo filtro è risultato leggibile, il particolato era notevolmente diminuite e le particelle non ne erano coperte; quindi è stata effettuata sia l'analisi quantitativa sia l'identificazione polimerica.

Inoltre, questa aliquota di campione è stata estratta con lo stesso procedimento una seconda volta, ma dall'analisi del filtro non sono risultate microplastiche. Questa è stata la procedura di oleo-estrazione adottata per i campioni di sedimento.



Fig. 3.1.5. immagine catturata col microscopio dello strumento del filtro purificato e leggibile per l'analisi quantitativa e l'identificazione polimerica.

Ogni campione è stato quindi analizzato almeno in triplicato; poiché le particelle seguono la distribuzione di Poisson, sono stati calcolati lo scarto tipo, lo scarto tipo relativo e i limiti fiduciali (superiore ed inferiore).

3.2 Messa a punto del metodo di estrazione e purificazione per le acque

Così come per i sedimenti, anche per i campioni di acqua la flottazione risulta essere tra le procedure maggiormente studiate (Narayanaswamy 2014; Karlsson 2017; A. D. Vianello 2018). Nonostante questo, per la messa a punto del metodo di estrazione delle microplastiche dalle acque della Laguna di Venezia, sono state effettuate diverse prove di oleo-estrazione sfruttando la caratteristica lipofilica che presentano le particelle di plastica (Crichton 2017).

Inizialmente è stata prelevata un'aliquota di 500 ml di acqua lagunare omogeneizzata per agitazione, ed è stata trasferita in un imbuto separatore con 10 ml di olio di semi di girasole (Crudolio biologico). L'imbuto separatore è stato agitato manualmente per 3 minuti in modo che tutta la fase oleosa entrasse a contatto col campione di acqua. Dopo 2 ore, si è osservata la separazione di fase, lo strato di acqua è stato raccolto in un secondo imbuto separatore mentre la fase oleosa è stata recuperata in una beuta con 20 ml di esano e pari volume di etanolo. Tale procedura è stata ripetuta per tre volte con lo stesso campione di acqua lagunare, recuperando ogni volta il surnatante. L'olio recuperato durante ogni procedura di estrazione, è stato aggiunto all'olio dell'estrazione precedente.

Tutto il surnatante è stato filtrato su filtro Anodisc, preventivamente risciacquato con etanolo. La fase oleosa è stata filtrata in tre step, alternati alla filtrazione di esano e di una miscela di etanolo-metanolo (rapporto 9:1 v/v); nell'ultimo step di filtrazione l'olio è stato raccolto con 10 ml di esano, per essere certi di aver recuperato ogni eventuale residuo dalla beuta.

Dopo aver atteso 72 ore che il filtro si asciugasse, l'analisi al μ FTIR è risultata impossibile a causa della purificazione inefficace (filtro coperto da un velo di olio) e presenza di particolato sul filtro (Fig. 3.2.1).



Fig. 3.2.1. immagine catturata col microscopio dello strumento del filtro non purificato e ricoperto di particolato, impossibile da analizzare.

Per evitare che le microplastiche venissero coperte dal particolato presente nel campione di acqua è stato effettuato un secondo esperimento di estrazione con 300 ml di acqua omogeneizzata e 5 ml di olio per la fase di estrazione. Si è proceduto come descritto in precedenza, aggiungendo però nell'imbutto separatore 3 ml di H₂O₂ per digerire il particolato adeso sulle plastiche.

Per evitare che il filtro risultasse poco purificato, sono stati effettuati cinque step di filtrazione e si è aumentato il volume di esano (20 ml), utilizzato per recuperare l'olio dalla beuta, durante l'ultimo step di finale.

Al termine delle 72 ore il filtro è risultato leggibile al μ FTIR, nonostante l'elevato contenuto di particolato sul filtro, ma molte particelle non sono state analizzate poiché coperte dal particolato (Fig. 3.2.2).



Fig. 3.2.2. immagine catturata col microscopio dello strumento del filtro impossibile da analizzare poiché le particelle risultano coperte dal particolato.

Trattandosi di acqua lagunare, la problematica del particolato in essa contenuta risulta essere particolarmente insistente e di difficile rimozione. Nella successiva prova di oleo-estrazione, si è deciso di procedere utilizzando un'aliquota di 200 ml di campione, inserita all'interno di un imbuto separatore, e diluita con acqua ultrapura 50 ml di acqua ultrapura. Dopo aver agitato manualmente per tre minuti sono stati aggiunti 5 ml di H₂O₂ e 5 ml di olio ed è stato agitato ancora prima di lasciar riposare per tre ore attendendo la separazione tra acqua e olio. Trascorso questo tempo la fase oleosa è stata raccolta in una beuta e recuperata con 40 ml di esano e pari volume della miscela di etanolo-metanolo (9:1 v/v). La procedura è stata riprodotta dall'inizio, a meno del perossido di idrogeno, per altre tre volte con lo stesso campione di acqua.

Al μ FTIR il filtro è risultato leggibile, il particolato era notevolmente diminuito anche se la salinità ne impediva la lettura strumentale. Per evitare che i cristalli di sale impediscano l'analisi strumentale si è pensato di diluire maggiormente il campione utilizzando sempre 200 ml di acqua lagunare ma diluendo (1:1) con altri 200 ml di acqua ultrapura ed eseguendo le fasi successive come in precedenza.

L'analisi strumentale al μ FTIR è avvenuta con successo, il filtro risulta essere ben purificato e con una quantità di particolato nettamente inferiore rispetto ai filtri precedenti (Fig. 3.2.3). Fenomeno che si è riflesso su un'acquisizione di spettri con match di detenzione molto alti.



Fig. 3.2.3. immagine catturata col microscopio dello strumento del filtro analizzabile al μ FTIR.

3.3 Analisi con μ FT-IR ed elaborazione dei dati

Per l'analisi in μ FTIR il filtro Anodisc, sul quale gli oleo-estratti sono stati filtrati, è stato analizzato in modalità trasmissione con il detector MTC (Mercury Cadmium Telluride detector), raffreddato con azoto liquido.

Per l'analisi quantitativa delle microplastiche in acqua e nei sedimenti della Laguna di Venezia, è stato seguito il metodo per le fibre microplastiche messo a punto da Corami et al. (2019, in press). Utilizzando il microscopio del μ FTIR sono scelti in modo randomizzato, almeno 20 campi conta, che statisticamente coprono tutta l'area del filtro; ogni campo conta ha dimensioni $2000 \mu\text{m} \times 1200 \mu\text{m}$, con un'apertura di $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$, L'obiettivo dell'assetto microscopico dello strumento è di 100x. Per ogni filtro è stata calcolata il n di particelle totali come (Corami et al., 2019 in press):

$$\frac{N \text{ totale particelle}}{\text{litro}} = \frac{N \text{ particelle} \times F \times 1000}{V \text{ acqua filtrata}}$$

$$\frac{N \text{ totale particelle}}{\text{kg}} = \frac{N \text{ particelle} \times F \times 1000}{g \text{ sedimento}}$$

Dove con N si intende in numero di particelle contate, V il volume di acqua utilizzata e g il peso del sedimento. Per quanto riguarda il fattore ottico, indicato come F , è dato da:

$$F = \frac{\text{Area filtro}}{\text{Area campo} \times n \text{ campi}}$$

Dove l'area del filtro corrisponde a $1734,065 \text{ mm}^2$ e l'area del campo di conta è di $2,4 \text{ mm}^2$. (Fig. 3.3.1)

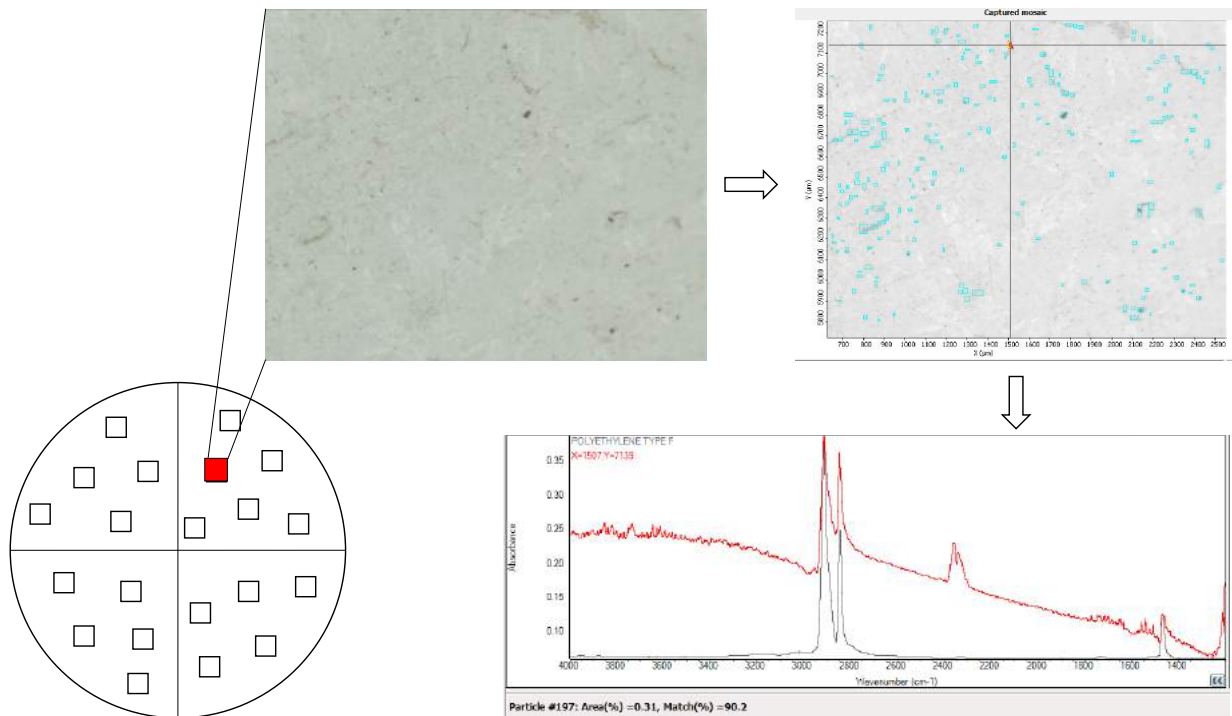


Fig. 3.3.1. Schema riassuntivo della conta delle particelle effettuata con μ FT-IR. Scelta randomizzata dei campi. Ad ogni campo di conta corrisponde un mosaico, sul quale tramite il software è possibile evidenziare delle particelle (quadrati in azzurro), su ogni particella verrà raccolto lo spettro IR che sarà confrontato con specifici database di riferimento.

Ogni campo ottico è stato analizzato attraverso la modalità Wizard del software Omnic™ Picta™. In questa modalità l'imaging del campo conta permette di raccogliere l'area, ma anche la lunghezza e la larghezza di ogni particella presente per poter poi valutare l'elongazione. In massima parte le particelle erano comprese tra $1\mu\text{m}$ e $100\mu\text{m}$, che corrisponde al range dimensionale che non è possibile campionare con il manta trawl, ma è anche il range dimensionale delle particelle che vengono ingerite dal biota, soprattutto da piccoli invertebrati; l'ingestione delle microplastiche da parte del biota ne permette il passaggio nella rete trofica.

A priori è impossibile identificare le particelle di plastica da altre particelle presenti in acqua o nei sedimenti. Tramite lo spettrometro FTIR del μ FTIR su ogni particella presente nel campo conta si raccoglie lo spettro IR; per 16 co-scansioni il range spettrale è compreso tra 4000 e 1200 cm^{-1} , con una risoluzione spaziale (step size scanning) di $100\mu\text{m}$, una risoluzione spettrale di 5 cm^{-1} e con una apertura di $100\mu\text{m} \times 100\mu\text{m}$. Lo spettro è stato poi confrontato con specifiche banche dati, per ottenere un match di riconoscimento. Sono considerati buoni match compresi tra 55% e 75% (sono considerati ottimi match compresi tra 65% e 75%).

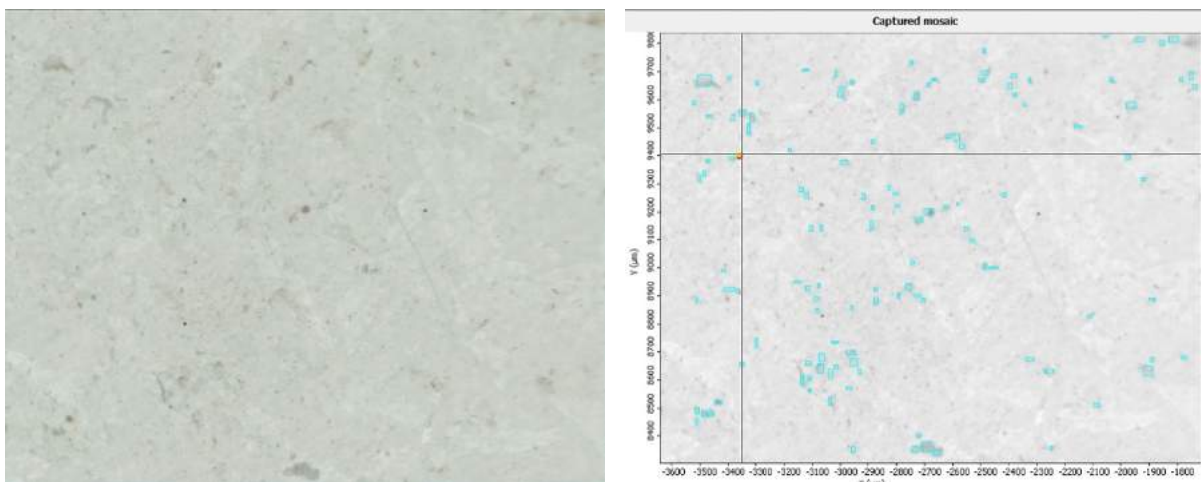


Fig. 3.3.2. Esempio di mosaico o campo conta, nel quale sono presenti particelle (a destra i quadrati in azzurro); su ogni particella è raccolto uno spettro IR. Gli spettri raccolti su queste particelle saranno successivamente confrontati con opportune librerie di riconoscimento.

Alla fine dell'analisi IR, il software fornirà una tabella riassuntiva, dove è presente il nome del polimero o del composto identificato, la lunghezza e la larghezza della particella ed il match di riconoscimento (Fig. 3.3.3).

15	X=16702,Y=11462	6	POLYETHYLENE TYPE F	86.67	0.32	39	23.8
22	X=-896,Y=5989	27	POLYETHYLENE, LOW-DENSITY	70.7	0.7	42.2	21.7
2	X=-482,Y=5861	40	1,1,2-TRICHLOROTRIFLUOROETHANE, PTFE BLEND	75.84	0.42	27.5	20.3

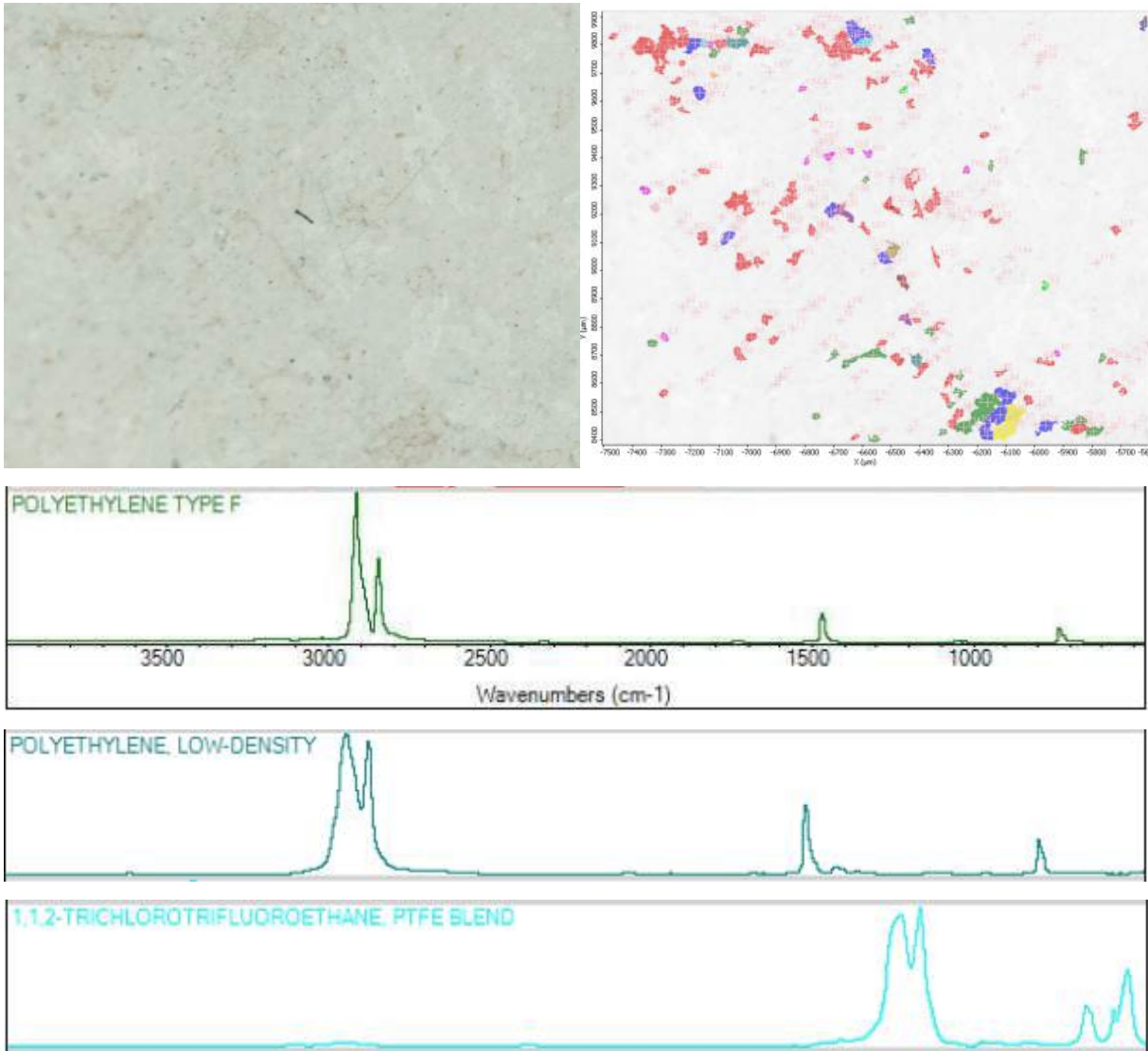


Fig. 3.3.3. Esempio di rapporto analitico

Quindi, tramite lo spettro IR sarà identificata ogni particella, che potrà essere plastica oppure altro materiale. Ai fini dell'analisi quantitativa si terrà conto delle sole particelle di plastica riconosciute ed identificate. Inoltre, le dimensioni lunghezza e larghezza permetteranno la valutazione dell'elongazione. Tanto più simile a 1 sarà il rapporto tra lunghezza e larghezza, tanto più la particella sarà sferica; tanto più il rapporto tra lunghezza e larghezza sarà ≥ 3 , tanto più la particella sarà di forma allungata. L'elongazione quindi permette di valutare sia la forma delle particelle sia la presenza di fibre, in analogia con quanto osservato per le particelle di aerosol, dove le fibre sono identificate da un rapporto di elongazione >3 (L. Barcherini et al., Micron, ARPA Umbria Ed., 2007, 8, 19.)

RISULTATI E DISCUSSIONI

4.1 Microplastiche nei sedimenti e nelle acque lagunari

Nei tre siti Sacca Sessola, Petta di Bò e Sant'Erasmus, sono stati raccolti campioni di acqua e sedimento superficiale, come precedentemente descritto nella sezione Materiali e Metodi.

Ogni campione è stato analizzato almeno in triplicato. Poiché le microplastiche (*small microplastics*) si distribuiscono secondo la distribuzione di Poisson, si riporta la media delle tre repliche, dopo aver valutato la presenza di potenziali outlayer con il test di Huber (descritto in 2.5), accompagnata dai limiti fiduciali e dal CV%.

I bianchi del filtro e dei reagenti utilizzati sono stati effettuati per ogni campione e sono stati analizzati al μ FT-IR; non sono state ritrovate microplastiche nei bianchi, quindi la contaminazione è stata minimizzata.

4.2 Microplastiche nelle acque e nei sedimenti di Sacca Sessola

4.2.1 Acque di Sacca Sessola

Nelle acque del sito di Sacca Sessola la media delle microplastiche (*small microplastics*) è 21515 particelle L⁻¹, con limiti fiduciali pari a 21515 ± 166 particelle L⁻¹ e con CV% di 0,68%.

I polimeri principalmente presenti sono (Fig. 4.2.1.1):

- polietilene (76%)
- polimeri fluorurati (68%)
- poliftalammide (67%)
- poliammide o nylon (62%)
- plastiche acriliche (96%)
- poliestere (71%)
- poliarilammide (70%)
- polipropilene (89%)
- poliossimetilene (62%)

Per ogni polimero indentificato è riportato il match medio; per quanto concerne le dimensioni delle microplastiche ritrovate, sono tutte al di sotto dei 100 µm, con una lunghezza media di 42 µm e una larghezza media di 23 µm (per le misure dettagliate, vedere tabella A.1 in appendice).

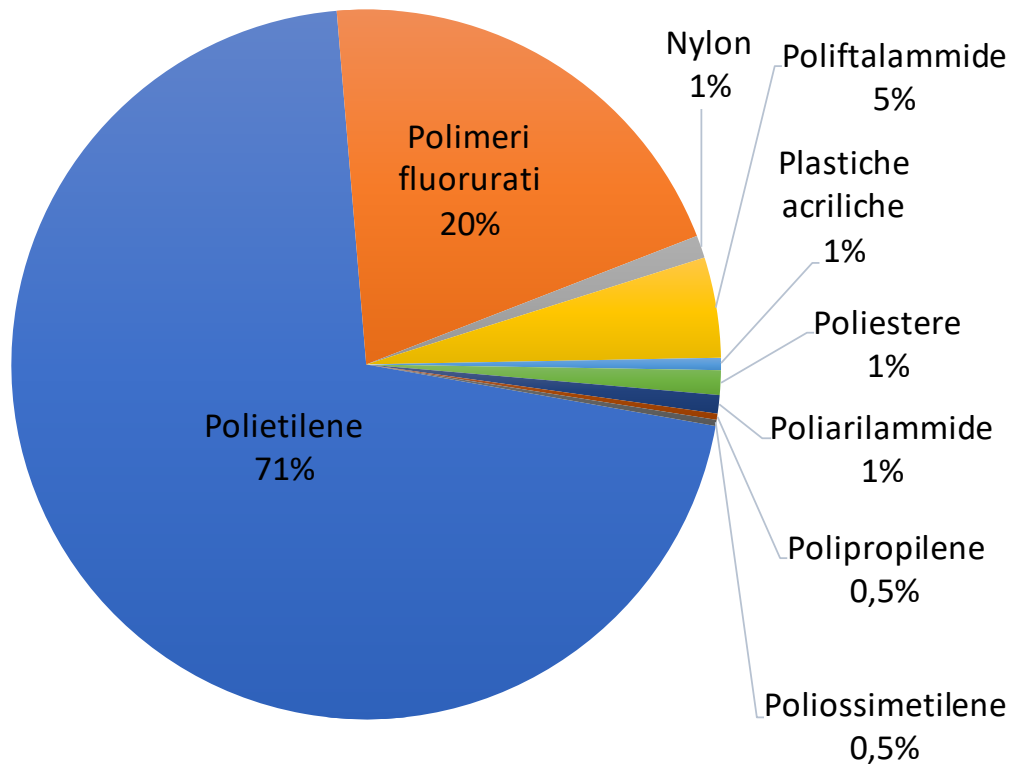


Fig. 4.2.1.1. Differenti tipologie di particelle di microplastiche trovate nell'acqua della stazione di Sacca Sessola con relative percentuali di abbondanza.

Il polietilene (PE) è il polimero più abbondante nelle acque di Sacca Sessola; come osservato in altri studi il PE è tra i polimeri più abbondanti presenti nei sistemi acquatici (Cole 2011; M. M. Eriksen 2013; Klein 2015; Peng 2017) ed è uno tra i materiali più utilizzati per il *packaging* (McKeen 2012) e per numerose altre applicazioni (Peacock 2000). Il PE ha una densità più bassa di quella dell'acqua (0,92-0,95 g cm⁻³) ed è presente nella parte più superficiale della colonna d'acqua. L'elongazione, il rapporto tra lunghezza e larghezza della particella, permette di valutarne la forma; quando è pari a 1, la particella è tondeggiante, per valori compresi tra 1,5 e 3 la particella ha una forma allungata, quando il valore è >3 si tratta di fibre. Nel caso del polietilene l'elongazione è 2,1, quindi le particelle hanno una forma allungata.

Il PE osservato nelle acque di questo sito (71%) può derivare da una immissione diretta nelle acque sotto forma di *small microplastics* oppure può derivare dalla frammentazione di macro- e microplastiche di più grandi dimensioni (Frère 2017; A. D. Vianello 2018). Il polietilene (PE) copre più del 55,7% della domanda di plastica a livello Europeo (Klein 2015); essendo uno dei polimeri più abbondanti in relazione all'utilizzo, è plausibile che sia anche quello più abbondantemente ritrovato nei sistemi acquatici. Inoltre, poiché ha una bassa densità rispetto ad altri polimeri plastici, il PE può

essere facilmente trasportato dalle acque interne verso le acque lagunari e marine (Hidalgo-Ruz 2012; M. L. Eriksen 2014; Bains 2018).

I polimeri fluorurati sono i secondi polimeri più abbondanti nelle acque di questo sito. Questi polimeri sono conosciuti con una varietà di nomi commerciali per i rivestimenti antiaderenti delle pentole (Teflon®, DuPont), indumenti impermeabili (Goretex®, WL Gore) e sono soprattutto impiegati in un'ampia gamma di applicazioni tecnologiche (Andrew 2013); è anche in aumento il loro utilizzo nelle applicazioni mediche (Harsanyi 2015). Tra i polimeri fluorurati il politetrafluoroetilene (PTFE) è quello più abbondante. Nel caso dei polimeri fluorurati il valore medio di elongazione è 1,7; quindi, queste particelle hanno una forma debolmente allungata. La presenza nelle acque dei polimeri fluorurati potrebbe dipendere da varie fonti (come ad esempio gli scarichi delle lavastoviglie), poiché tali particelle potrebbero non essere trattengono dagli impianti di depurazione (Blair 2019).

Presenti in percentuali molto più basse sono stati ritrovati diversi polimeri plastici, come il polipropilene (elongazione 1,9), la poliftalammide (1,7), le plastiche acriliche (1,5), il polioossimetilene (POM; elongazione 1,1) e anche fibre sintetiche come il poliestere (1,6) e il nylon (2,5).

In relazione all'elongazione, le particelle di polioossimetilene, un polimero particolarmente utilizzato in sostituzione a parti metalliche di precisione (viti, leve, cerniere, ecc.), hanno una forma approssimabile ad una sfera. Invece, per le altre *small microplastics*, la forma è piuttosto allungata (ad esempio la poliarilammide (2,3) o del polietilene). Il nylon mostra una elongazione di 2,5; è possibile che questa fibra possa frammentarsi in ambiente, pur mantenendo la forma allungata, che invece sembra sparire per il poliestere (elongazione 1,6), che potrebbe essere frammentato in particelle più tondeggianti.

Considerata la varietà dei polimeri plastici osservati nelle acque di Sacca Sessola, le microplastiche potrebbero essere immesse in acqua attraverso gli scarichi di acque reflue dell'isola medesima e del centro storico più in generale. Infatti, nel centro storico di Venezia potrebbero ancora esserci abitazioni o esercizi che non siano allacciati alla rete fognaria, ma che abbiano il permesso di poter sversare in Laguna gli scarichi⁴. Sia queste abitazioni/esercizi sia quelli allacciati agli impianti fognari potrebbero essere una fonte di microplastiche in Laguna, come potrebbero esserlo gli scarichi urbani provenienti dalla gronda lagunare. Le *small microplastics* hanno un range dimensionale di 1 µm - 100 µm; queste particelle/fibre possono non essere trattengono dai filtri dei depuratori delle

⁴<https://www.comune.venezia.it/it/content/scarichi-reflui-0>, su www.comune.venezia.it, URL consultato il 2 agosto 2019

acque di scarico, come riportato in letteratura (Blair et al., 2019; Gatidou et al., 2019, Kazour et al., 2019; Magni et al., 2019).

4.2.2 Sedimenti di Sacca Sessola

Nei sedimenti di Sacca Sessola la concentrazione media di *small microplastics* è 199995 particelle kg⁻¹, con limiti fiduciali pari a 199995 ± 505 particelle kg⁻¹ e CV% dello 0,22%.

I polimeri più abbondantemente ritrovati sono (Fig. 4.2.2.1):

- polimeri fluorurati (65%)
- polietilene (82%)
- plastiche acriliche (81%)
- poliossimetilene (57%)
- poliftalamide (64%)
- polipropilene (81%)
- poliarilammide (70%)
- poliammide o nylon (60%)

Per ogni polimero indentificato è riportato il match medio; per quanto concerne le dimensioni delle microplastiche ritrovate, sono tutte al di sotto dei 100 µm, con una lunghezza media di 50 µm e una larghezza media di 25 µm (per le misure dettagliate, vedere tabella A.2 in appendice)

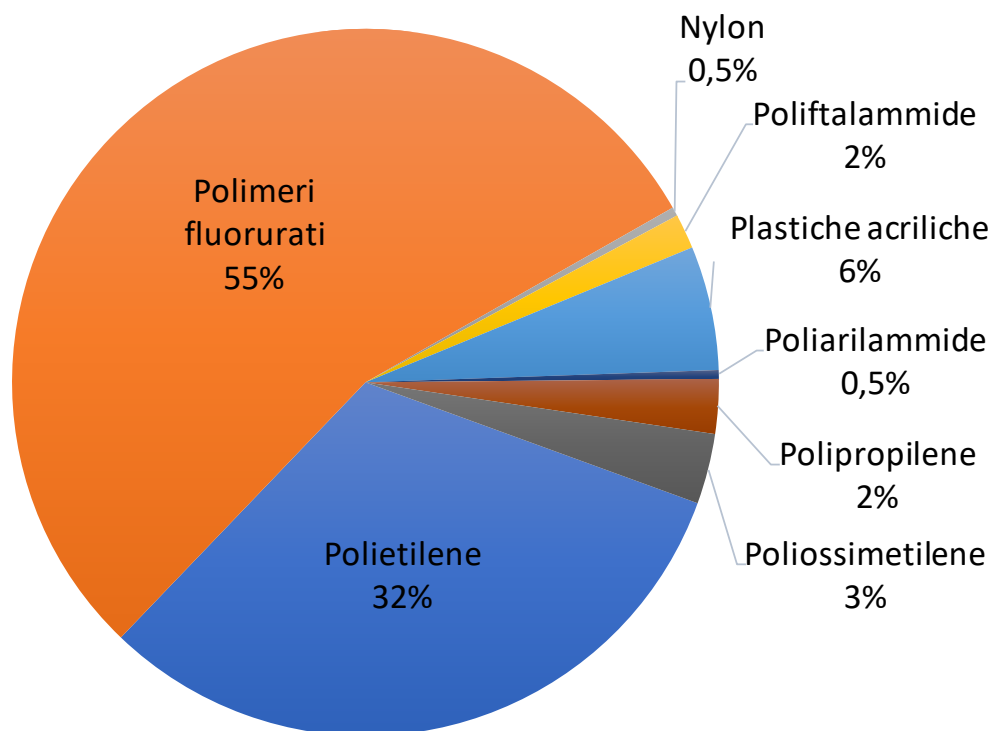


Fig. 4.2.2.1. *Differenti tipologie di particelle di microplastiche trovate nel sedimento della stazione di Sacca Sessola con relative percentuali di abbondanza*

I polimeri fluorurati risultano essere i polimeri maggiormente presenti nei sedimenti di questo sito; tra questi, quello maggiormente presente nei sedimenti di Sacca Sessola è il politetrafluoroetilene (PTFE) indicato con il nome commerciale di Teflon® (DuPonted) utilizzato in una vasta gamma di applicazioni tecnologiche, poiché è in grado di resistere alle alte temperature. L'elongazione di questi polimeri risulta pari a 1,77, quindi le particelle hanno una forma leggermente allungata.

Come osservato per le acque di questo sito, la presenza di polimeri fluorurati nei sedimenti potrebbe essere dovuta alla frammentazione di macro- e microplastiche (Frère 2017) oppure derivare dalle acque di scarico del centro abitato di Venezia, e da quelle degli impianti di depurazione della gronda lagunare. Sebbene il PE tenda a flottare nella colonna d'acqua (0,92-0,93 g/cm³ (Quinn 2017)), non è da escludersi il possibile sprofondamento fino ai sedimenti (A. B. Vianello 2013; Klein 2015); infatti il PE ha un'abbondanza del 32%. In questo sito, il PE presenta un'elongazione pari a 1,98, che corrisponde ad una forma tendenzialmente allungata.

La densità del polimero è una caratteristica importante, soprattutto legata alle dimensioni della particella, perché ne determina il galleggiamento/sprofondamento. Nei sedimenti di questo sito la dimensione massima ritrovata in termini di lunghezza è di 90 µm; perciò le dinamiche di

galleggiamento/sprofondamento potrebbero risultare molto più complesse, la densità apparente potrebbe non risultare sufficiente a mantenere la particella in galleggiamento e potrebbero formarsi degli aggregati che facilitano lo sprofondamento delle *small microplastics* fino al sedimento (Wright 2013; Peng 2017).

Anche le plastiche acriliche presentano una buona abbondanza nei sedimenti di questa stazione (6%). Il rapporto lunghezza/larghezza che presentano queste particelle risulta pari a 2,25, di conseguenza sono polimeri che presentano una forma allungata. Questo materiale plastico potrebbe essere rilasciato in ambiente direttamente come *small microplastics* oppure subire dei processi di frammentazione in seguito al rilascio. Viene utilizzato soprattutto come rivestimento (Xia Zheng-bin 2001), ha densità maggiore dell'acqua marina (1,09-1,2 g/cm³ (Hidalgo-Ruz 2012)) e quindi tende a sprofondare verso il sedimento.

Nei sedimenti di questo sito sono presenti, in percentuali molto minori, diversi polimeri plastici, come il polioossimetilene (POM - elongazione 1,6), il polipropilene (2,4), la poliftalammide (2,5), la poliarilammide (1,4) e anche la fibra sintetica nylon (1,9).

In relazione all'elongazione, le particelle di polioossimetilene (1,6) e quelle di poliarilammide (1,4), hanno una forma leggermente allungata ma più approssimabile ad una sfera. Il nylon, essendo una fibra sintetica, dovrebbe presentare una forma allungata cosa che non corrisponde all'elongazione delle particelle ritrovate in questa stazione; è possibile che abbia subito dei processi di frammentazione, una volta rilasciata in ambiente, che l'hanno portata a perdere l'allungamento caratteristico. Invece, per le altre *small microplastics*, la forma è piuttosto allungata (ad esempio il polipropilene (2,4) e la poliftalammide (2,5)).

In questa stazione nessun polimero presenta un rapporto di elongazione pari a 1; quindi nessuna particella ha una forma sferica. Considerate le dimensioni delle *small microplastics* presenti nei sedimenti e considerate le dimensioni delle particelle che possono essere ingerite da microinvertebrati bentonici (Dauer 1983; Defossez et al. 1997; Komorita et al. 2014) si potrebbe ipotizzare che particelle possano essere scambiate dal biota come "cibo" (Derraik 2002; M.R. 2009; Claessens 2013; Eriksen 2014; Anbumani 2018) ed entrare quindi nella catena trofica.

4.2.3 Confronto tra acque e sedimenti di Sacca Sessola

Nelle acque del sito di Sacca Sessola la concentrazione media di *small microplastics* è 21515 particelle L⁻¹, con limiti fiduciali pari a 21515 ± 166 particelle L⁻¹ e CV% dello 0,68%, mentre nel

sedimento dello stesso sito la concentrazione di particelle è $199995 \text{ particelle kg}^{-1}$, con limiti fiduciali di $199995 \pm 505 \text{ particelle kg}^{-1}$ e CV% dello 0,22% (Fig. 4.2.3.1).

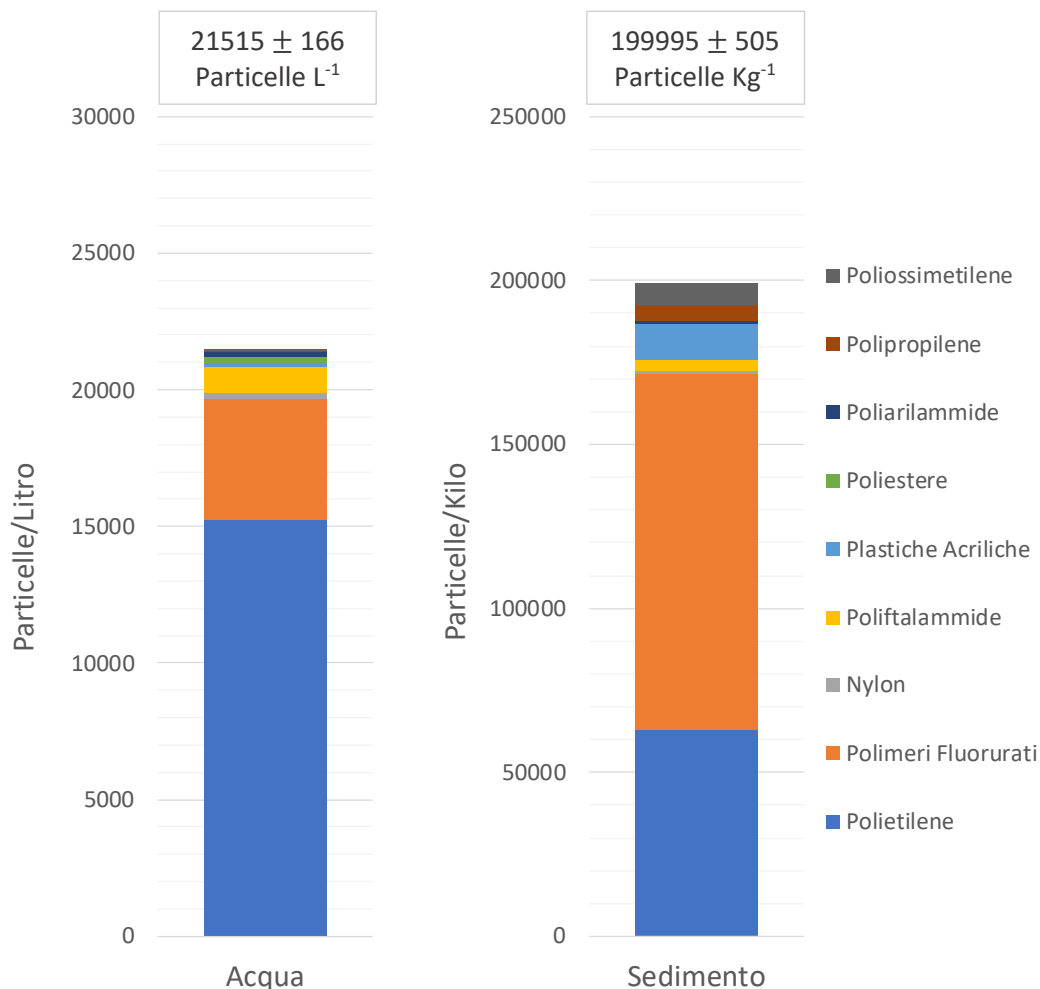


Fig. 4.2.3.1. Confronto tra particelle L^{-1} e particelle kg^{-1} di microplastiche, nella stazione di Sacca Sessola, rispettivamente per la matrice acqua e sedimento.

Nel grafico è riportata la concentrazione (particelle L^{-1} e particelle kg^{-1} di *small microplastics*), i differenti polimeri identificati ed il valore medio di abbondanza col relativo limite fiduciale.

Si osserva che i polimeri maggiormente presenti in questo sito risultano essere il polietilene e i polimeri fluorurati. La presenza di questi polimeri potrebbe rispecchiare l'impatto antropico che caratterizza questo sito dal momento che si trova in una zona centrale, limitrofa al centro storico. Poiché questi polimeri presentano una vastissima gamma di applicazioni, le possibili fonti potrebbero essere diverse, come ad esempio l'intenso traffico marittimo che insiste nella Laguna di

Venezia, gli scarichi reflui diretti in laguna, gli scarichi provenienti dalla gronda lagunare, nei quali le *small microplastics* possono essere presenti perché non trattenute dai filtri degli impianti di depurazione, le attività turistiche, come anche le attività industriali che insistono nel polo di Porto Marghera (Fincantieri S.p.A., Ex Agrimont - destinate alla costruzione di navi - e Ausimont S.p.A. - specializzata in prodotti fluorurati). Sacca Sessola potrebbe risentire della presenza di Porto Marghera che è l'area industriale di Venezia. Gli ultimi dieci anni hanno visto la trasformazione della zona industriale in termini di ristrutturazione e riconversione produttiva⁵.

Va sottolineato che la concentrazione di *small microplastics* nel sedimento è dieci volte più elevata di quella osservata in acqua. Questa differenza può essere messa in relazione con le diverse densità dei polimeri plastici. Infatti, alcune plastiche come ad esempio le plastiche acriliche, i polimeri fluorurati e il nylon possono avere una densità maggiore dell'acqua marina e quindi tendono ad affondare e a depositarsi nel sedimento; il sedimento diventa quindi un *sink*, dal quale le *small microplastics* - ma tutte le microplastiche in genere - possono poi essere risospese (e il sedimento diventa *source*). Però i polimeri come il polipropilene e il polietilene possono avere una densità più bassa dell'acqua marina; in questo caso la densità apparente può non essere sufficiente per il galleggiamento o si possono formare degli aggregati e questi polimeri possono quindi sprofondare verso il sedimento, dove possono subire dei processi di frammentazione (diventando anche *small microplastics*) e dei processi di risospensione. Inoltre, tutti i polimeri possono essere ricoperti da biofilm (Browne 2008; Cooper 2010; Lobelle 2011) e sono una superficie di adsorbimento per gli inquinanti (Andrady, *Microplastics in the marine environment* 2011; Roy 2011; Wright 2013; Eriksen 2014; Barboza 2015; Wang 2016; Auta 2017; Anbumani 2018).

Nonostante la densità maggiore dell'acqua marina, il poliestere è ritrovato nella colonna d'acqua e non nei sedimenti. Dall'elongazione si osserva che le particelle di poliestere sono tondeggianti e hanno dimensioni tali da essere scambiate come particelle di cibo; perciò può essere possibile che il poliestere presente in acqua sia "mangiato" dai microinvertebrati planctonici e dagli organismi filtratori presenti in acqua.

Le dimensioni delle *small microplastics* osservate confermano che queste particelle possano essere intercettate dagli organismi acquatici e scambiate come *food particles* (Derraik 2002; Fendall 2009; M.R. 2009; Claessens 2013; Eriksen 2014; Anbumani 2018).

⁵<http://www.comune.venezia.it/it/content/larea-di-portomarghera>, su [comune.venezia.it](http://www.comune.venezia.it), URL consultato il 2 agosto 2019

4.3 Microplastiche nelle acque e nei sedimenti di Petta di Bò

4.3.1 Acque di Petta di Bò

Nelle acque di Petta di Bò la concentrazione media di microplastiche è 12822 particelle L⁻¹, con limiti fiduciali pari a 12822 ± 128 particelle L⁻¹ e CV% dello 0,88%.

I polimeri plastici maggiormente abbondanti sono (Fig. 4.3.1.1):

- polimeri fluorurati (75%)
- polietilene (79%)
- plastiche acriliche (88%)
- poliossimetilene (60%)
- poliftalamide (63%)
- nylon (68%)
- poliestere (60%)
- poliarilammide (69%)
- polipropilene (90%)

Per ogni polimero indentificato è riportato il match medio; per quanto concerne le dimensioni delle microplastiche ritrovate, sono tutte al di sotto dei 100 µm, con una lunghezza media di 50 µm e una larghezza media di 24 µm (per le misure dettagliate, vedere tabella A.3 in appendice).

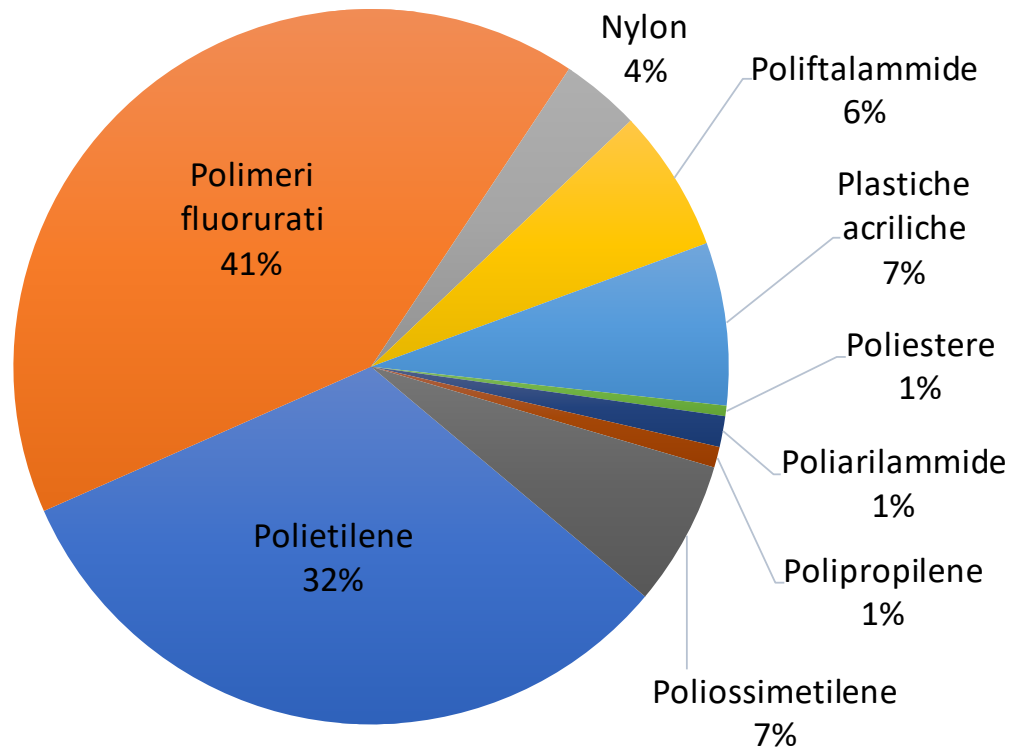


Fig. 4.3.1.1. *Differenti tipologie di particelle di microplastiche trovate nell'acqua della stazione di Petta di Bò con relative percentuali di abbondanza.*

Nelle acque di questo sito i polimeri plastici più abbondanti sono i polimeri fluorurati (41%) e il polietilene (32%). Questi due polimeri hanno un ampio spettro di utilizzo, come osservato per il polietilene in precedenza per le acque di Sacca Sessola. I polimeri a base fluorurata sono utilizzati in un'ampia varietà di applicazioni che vanno da materiale per indumenti a materiale per attrezzature di diverso genere (Harsanyi 2015).

Osservando l'elongazione delle *small microplastics* ritrovate, per i polimeri fluorurati si tratta di particelle allungate (2), come per il propilene (2) ed il polietilene (2,2). Anche nel caso del nylon e del poliestere l'elongazione è pari a 2; quindi queste fibre possono essere ulteriormente frammentate nelle acque.

Le plastiche acriliche e la poliftalammide hanno una elongazione più elevata (2,5 e 2,7, rispettivamente), come anche le particelle di poliossimetilene (3,1), tanto che queste ultime sono direttamente approssimabili ad una fibra in termini di elongazione. Invece, la poliarilammide mostra un rapporto lunghezza/larghezza di 1,3, valore che si approssima ad una particella completamente sferica.

I polimeri presenti nelle acque di questo sito potrebbero essere correlati all'attività nautica di diporto presente in questa zona e anche alla presenza di un polo turistico che potrebbe, tramite le acque reflue, essere fonte di *small microplastics* e più in generale di microplastiche in laguna.

4.3.2 Sedimenti di Petta di Bò

Nei sedimenti di Petta di Bò la concentrazione media di microplastiche osservata è 238185 particelle kg^{-1} , con limiti fiduciali pari a 238185 ± 552 particelle kg^{-1} e CV% dello 0,23%.

I polimeri plastici più abbondanti sono (Fig. 4.3.2.1):

- polimeri fluorurati (66%)
- poliossimetilene (60%)
- polietilene (84%)
- poliftalammide (66%)
- poliestere (74%)
- poliarilammide (66%)
- nylon (60%)
- plastiche acriliche (78%)

Per ogni polimero indentificato è riportato il match medio; per quanto concerne le dimensioni delle microplastiche ritrovate, sono tutte al di sotto dei 100 μm , con una lunghezza media di 65 μm e una larghezza media di 31 μm (per le misure dettagliate, vedere tabella A.4 in appendice).

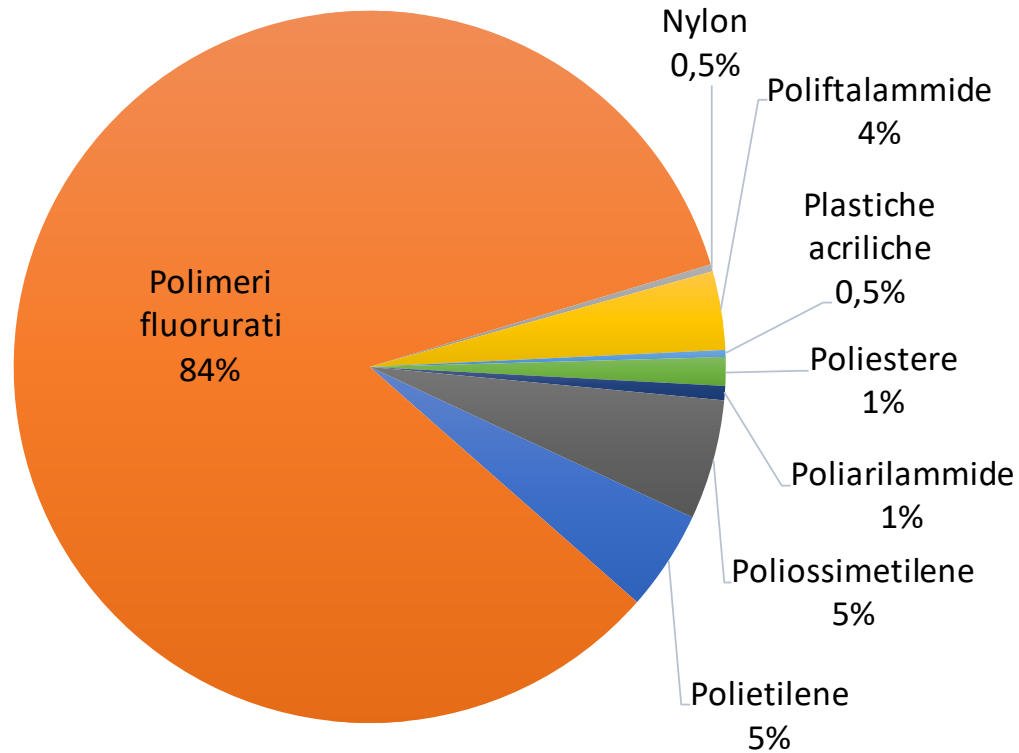


Fig. 4.3.2.1. Differenti tipologie di particelle di microplastiche trovate nel sedimento della stazione di Petta di Bò con relative percentuali di abbondanza

Come osservato nei sedimenti di Sacca Sessola, anche in quelli di Petta di Bò polimeri fluorurati sono i più abbondanti, sebbene nei sedimenti della Laguna di Venezia (Vianello et al. 2013) e in quelli di altre aree del globo risulti essere il polietilene il polimero più abbondante (Klein et al., 2015; Zhao et al., 2018). Nel caso di Petta di Bò il polietilene ha un'abbondanza pari al 5% e con la stessa percentuale sono stati ritrovati altri polimeri come il polioossimetilene (5%) che viene utilizzato come materiale per attrezzature da sub, parti di biciclette, valvole per erogare acqua calde e fredde, e la poliftalamide (4%) che viene impiegato nella costruzione di veicoli come materiale per i tubi di alimentazione o per gas. Va però sottolineato che negli altri studi erano raccolte le microplastiche, mentre in questo studio l'attenzione è sulle *small microplastics*, ovvero quelle particelle che possono poi entrare nella rete trofica, poiché scambiate come cibo. Perciò è probabile che i processi di frammentazione possano influire sulla presenza dei polimeri fluorurati.

L'elongazione relativa ai polimeri fluorurati in questo sito risulta essere pari a 1,7, così come per il poliestere (1,7), polioossimetilene (1,9) e poliftalamide (1,9); queste *small microplastics* presentano una forma leggermente allungata ma tendenzialmente sferica. Per quanto concerne

microplastiche come polietilene (2,1), plastiche acriliche (2,1) e poliarilammide (2,3) la forma risulta maggiormente sviluppata in lunghezza rispetto alle precedenti anche se non approssimabili a fibre. Dall'elongazione si evince che le microplastiche tendono ad assumere una forma leggermente allungata. Il rapporto di elongazione supera il valore caratteristico delle fibre (> 3) nel caso del nylon che presenta un rapporto lunghezza/larghezza di 4,9. Questo risultato appare coerente col fatto che il nylon nasce come fibra sintetica; pur essendosi degradato (come si evince dal match di riconoscimento), il nylon potrebbe essersi frammentato in *small microplastic fibers*, perché potrebbe provenire da fibre più lunghe, perse dalle reti utilizzate per la pesca.

Come osservato nelle acque, le attività antropiche che insistono nell'area del sito influenzano il rilascio di *small microplastics* e microplastiche in genere non soltanto nelle acque, ma anche nel sedimento.

4.3.3 Confronto tra acque e sedimenti di Petta di Bò

Nel sito di Petta di Bò la concentrazione media di *small microplastics* nelle acque è 12822 particelle L^{-1} , con limiti fiduciali pari a 12822 ± 128 particelle L^{-1} e CV% dello 0,88%, e nel sedimento è 238185 particelle kg^{-1} , con limiti fiduciali di 238185 ± 552 particelle kg^{-1} e CV% dello 0,23% (Fig. 4.3.3.1). Le acque hanno una concentrazione media circa 20 volte più bassa rispetto ai sedimenti.

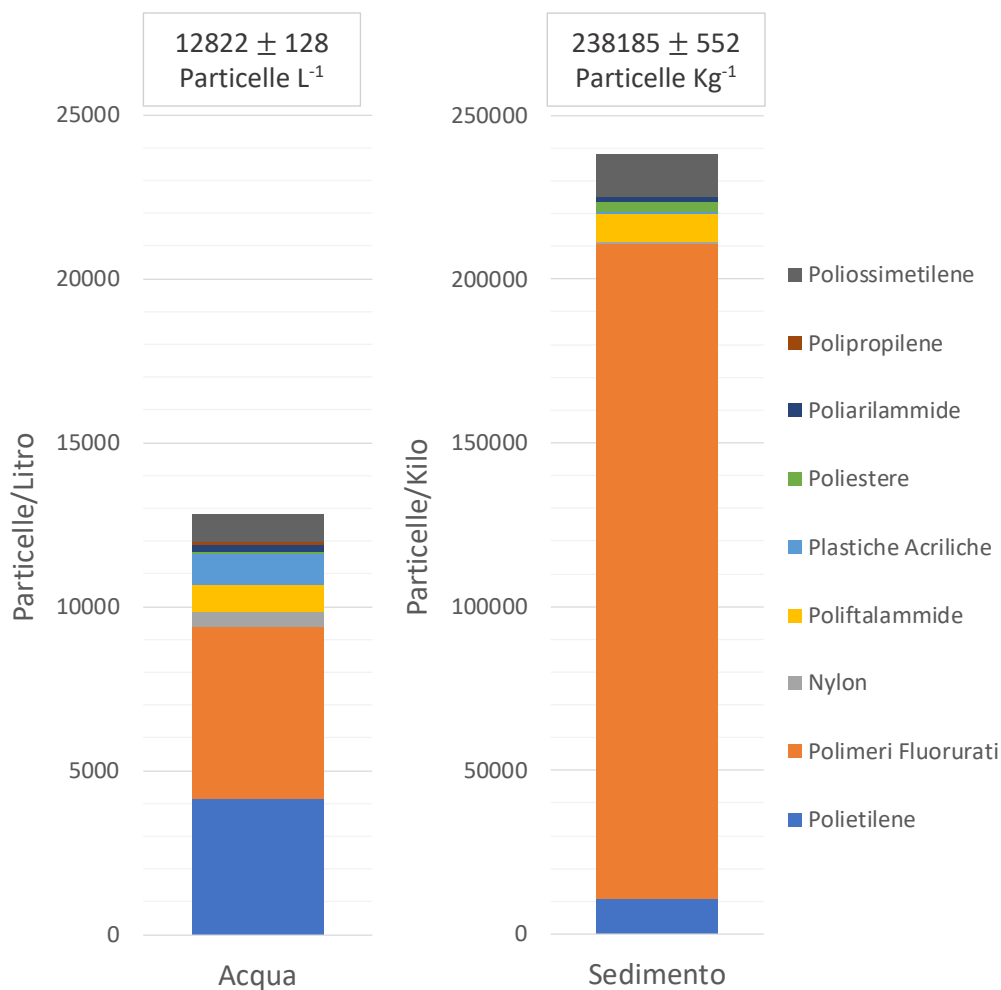


Fig. 4.3.3.1. Confronto tra particelle L⁻¹ e particelle Kg⁻¹ di microplastiche, nella stazione di Petta di Bò, rispettivamente per la matrice di acqua e di sedimento.

Anche per i grafici relativi alla stazione di Petta di Bò è riportata la concentrazione (particelle L⁻¹ e particelle kg⁻¹ di *small microplastics*), i differenti polimeri identificati ed il valore medio di abbondanza col relativo limite fiduciale.

Nelle acque i polimeri fluorurati assieme al polietilene sono i più abbondanti, mentre nei sedimenti è netta la predominanza dei polimeri fluorurati. Interessante è anche la presenza del nylon nelle acque e nei sedimenti del sito dal momento che potrebbe essere relazionato con le attività di pesca (Hinojosa 2009) che insistono nell'area e in prossimità della stessa, data anche la vicinanza del porto di Chioggia. Inoltre dalla letteratura è noto che il nylon può essere intercettato e scambiato come *food particle* dal biota (Derraik 2002; Fendall 2009; M.R. 2009; Claessens 2013; Eriksen 2014; Anbumani 2018), e questo potrebbe anche verificarsi per le particelle di nylon presenti nei sedimenti e nelle acque di Petta di Bò.

Come osservato per il nylon, anche il polioossimetilene (POM) è presente in percentuali simili nelle acque e nei sedimenti; invece, le plastiche acriliche sono presenti solo nelle acque e non nei sedimenti.

In maniera più evidente di quanto osservato nel sito di Sacca Sessola, le *small microplastics* risultano significativamente più abbondanti nei sedimenti di Petta di Bò; questa abbondanza può essere dovuta alla densità dei polimeri, ma, come nel caso del nylon, può anche essere in relazione con la formazione di un biofilm sulle particelle/fibre (Browne 2008; Cooper 2010; Lobelle 2011) e/o con l'adsorbimento di inquinanti (Andrady, *Microplastics in the marine environment* 2011; Roy 2011; Wright 2013; Eriksen 2014; Barboza 2015; Wang 2016; Auta 2017; Anbumani 2018). Quindi, il sedimento diventa un *sink* per le *small microplastics*, ma può essere anche *source* in relazione alla risospensione del sedimento stesso.

Petta di Bò è situata nella laguna sud, vicino a Chioggia; per questo potrebbe risentire della presenza del porto che si trova in prossimità. Le attività portuali vedono il passaggio di navi che potrebbero rilasciare in ambiente marino microplastiche come resine acriliche (polioossimetilene) oltre che nylon. Questo risulta legato anche con la presenza di polioossimetilene (7%) e nylon (4%) ritrovato nelle acque di questa stazione. L'intensa attività portuale potrebbe gravare sulla qualità delle acque e sulla contaminazione di microplastiche ritrovate in questo sito. Inoltre, in prossimità di Petta di Bò, sono localizzati numerosi campeggi, che rendono la zona fortemente antropizzata. Attrezzature sportive rivestite di materiale indicato con il nome commerciale di Goretex® vengono spesso utilizzate in attività di campeggio, e potrebbero riflettere l'elevata percentuale di polimeri a base fluorurata rilevati in questo sito. Le microplastiche, in questo modo, possono entrare nel sistema acquatico secondo diversi input per poi accumularsi nei sedimenti. Dal momento che il mercato dei polimeri trovati in questi sedimenti ricopre un range di applicazione molto ampio che caratterizzano attività industriali (cantieri navali), portuali (pesca commerciale, ricreativa e passaggio di navi) e turistiche (campeggi), si potrebbe affermare che la contaminazione rifletta le suddette attività antropiche.

4.4 Microplastiche nelle acque e nei sedimenti di Sant'Erasmus

4.4.1 Acque di Sant'Erasmus

Nelle acque di Sant'Erasmus la concentrazione media di microplastiche è 9092 particelle L⁻¹, con limiti fiduciali pari a 9092 ± 108 particelle L⁻¹ e CV% dell'1,05 %.

I polimeri più abbondanti sono (Fig. 4.4.1.1):

- polimeri fluorurati (76%)
- poliestere (66%)
- nylon (60%)
- polietilene (76%)
- poliftalamide (60%)
- poliarilammide (67%)
- polipropilene (84%)

Per ogni polimero indentificato è riportato il match medio; per quanto concerne le dimensioni delle microplastiche ritrovate, sono tutte al di sotto dei 100 µm, con una lunghezza media di 51 µm e una larghezza media di 20 µm (per le misure dettagliate, vedere tabella A.5 in appendice).

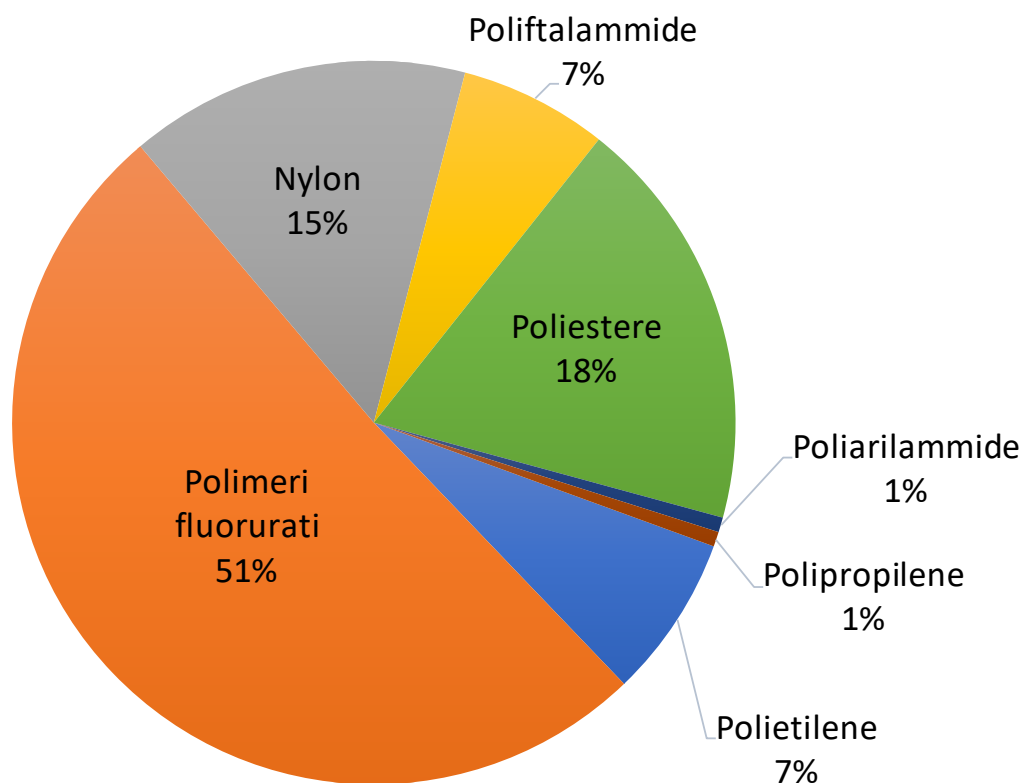


Fig. 4.4.1.1. Differenti tipologie di particelle di microplastiche trovate nell'acqua della stazione di Sant'Erasmus con relative percentuali di abbondanza

Come osservato nelle acque di Petta di Bò, anche nelle acque di questo sito i polimeri fluorurati sono risultati i più abbondanti. Sono abbondanti anche il poliestere (18%) ed il nylon (15%). Il poliestere è una fibra tra le più utilizzate nell'industria dell'abbigliamento convenzionale e tecnico (Cameron 2011; Smith 2019); il polietilentereftalato (PET) utilizzato soprattutto come materiale per contenitori di cibi e bevande⁶, ma anche per la produzione di tessuti (noti con i nomi commerciali di Dracon e Terylene), fa parte delle resine poliesteree, così come ne fa parte il policarbonato (PC) derivato dal bisfenolo A, utilizzato in vari ambiti di applicazione (lenti degli occhiali, caschi, come sostituto di vetri, ecc.). Invece, il polietilene (7%) e la poliftalamide (7%) sono presenti con una percentuale inferiore rispetto agli altri polimeri.

L'elongazione delle *small microplastics* nelle acque di Sant'Erasmus conferma l'aspetto allungato di queste particelle: poliestere (2,6), poliarilamide (2,4), nylon (2,2), polietilene (2,1) e, in misura

⁶<https://web.archive.org/web/20100606041742/http://www.icis.com/V2/chemicals/9076426/polyethylene-terephthalate/uses.html>, su icis.com, URL consultato il 24 agosto 2019 (archivio dell'URL originale il 6 giugno 2010)

minore, poliftalamide (1,9) e polimeri fluorurati (1,8). Solo l'elongazione del POM è >3 (5,3) quindi questo polimero può essere presente sotto forma di filamento/fibra.

Sant'Erasmus è un'isola della Laguna di Venezia settentrionale, dove si svolgono diverse attività agricole e dove è comunque presente un nucleo abitativo. La presenza di polimeri come il nylon e il poliestere potrebbe essere in relazione con gli scarichi urbani da lavatrici (Corami et al. 2020), ma potrebbe anche essere in relazione con il dilavamento dai campi agricoli (Rillig 2012), poiché il nylon è una fibra utilizzata anche nelle aree agricole. Poiché le *small microplastics* non sono trattate dagli impianti di trattamento, come osservato in precedenza, possono essere presenti nei fanghi di depurazione, che a loro volta possono essere utilizzati come ammendanti per il suolo (Horton 2017).

4.4.2 Sedimenti di Sant'Erasmus

Nei sedimenti del sito di Sant'Erasmus la media delle particelle microplastiche è 211280 particelle Kg⁻¹, con limiti fiduciali pari a 211280 ± 520 particelle Kg⁻¹ e CV% dell'0,25 %.

Le categorie principalmente presenti sono (Fig. 4.4.2.1):

- polimeri fluorurati (66%)
- polietilene (78%)
- poliestere (64%)
- poliossimetilene (59%)
- plastiche acriliche (81%)
- poliarilammide (63%)
- nylon (64%)

Per ogni polimero indentificato è riportato il match medio; per quanto concerne le dimensioni delle microplastiche ritrovate, sono tutte al di sotto dei 100 µm, con una lunghezza media di 47 µm e una larghezza media di 22 µm (per le misure dettagliate, vedere tabella A.6 in appendice).

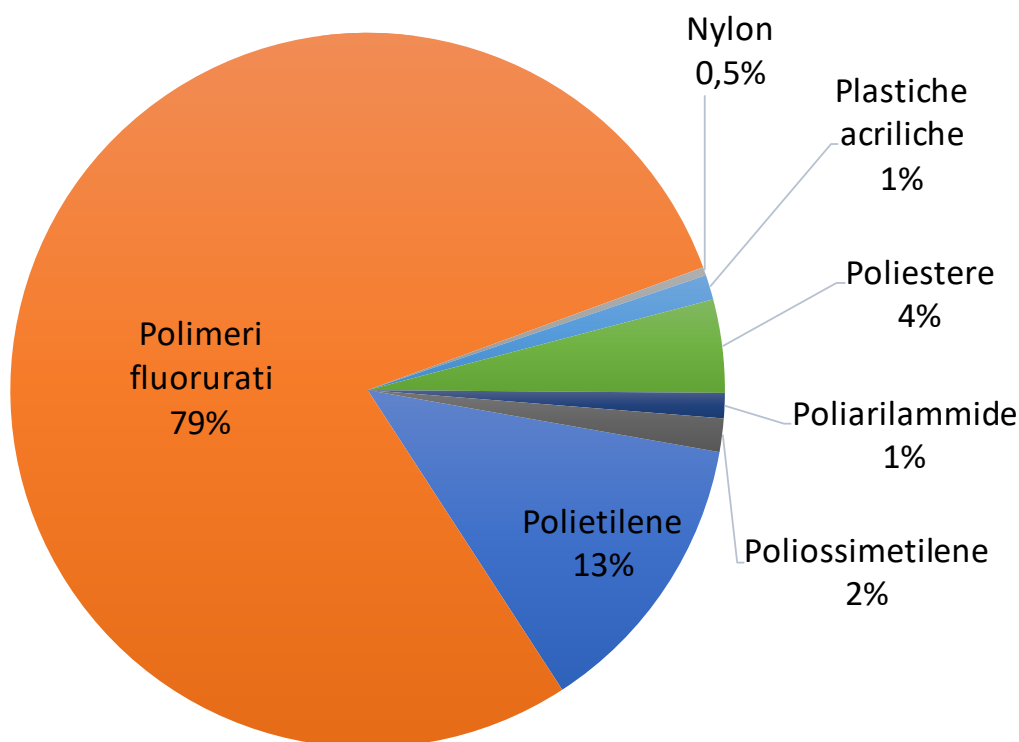


Fig. 4.4.2.1. *Differenti tipologie di particelle di microplastiche trovate nel sedimento della stazione di Sant'Erasmus con relative percentuali di abbondanza*

Così come nelle acque di questo sito, la maggior parte delle microplastiche ritrovate nel sedimento di Sant'Erasmus sono polimeri fluorurati (nello specifico politetrafluoroetilene - PTFE e perfluoroalcoxi - PFA) con un'abbondanza del 79%. Si trovano in percentuale inferiore il polietilene (13%) e il poliestere (4%). *Small microplastics* come polioossimetilene (2%), poliarilammide (1%), plastiche acriliche (1%) e nylon (0,5%) si trovano in quantità minime rispetto agli altri polimeri.

Come già descritto per i siti precedenti, i polimeri fluorurati e il polietilene sono le microplastiche maggiormente presenti nel fondale di questo sito e sono tra i materiali plastici con maggior applicazione nel mercato grazie al loro grande impiego su una vastissima gamma di prodotti.

Il poliestere, che è la fibra più utilizzata per i tessuti sintetici (ad esempio il vestiario da lavoro), è presente nei sedimenti, come già osservato per le acque di questo sito.

Dall'elongazione le particelle trovate nei sedimenti di Sant'Erasmus presentano per lo più una forma allungata: polietilene (2), poliestere (2), polioossimetilene (2) mentre, in misura minore, polimeri fluorurati (1,7) e plastiche acriliche (1,7). Il rapporto di elongazione del nylon (2,8) è vicino a 3; seppur frammentato, si può quindi affermare che il nylon sia presente sotto forma di fibra.

La poliarilammide è l'unica *small microplastics* che presenta un'elongazione pari a 3 ed è quindi presente sotto forma di filo/fibra .

In questo sito la presenza delle *small microplastics* è funzione delle attività agricole e di quelle relative al piccolo centro urbano; ad esempio polimeri come il PTFE e il PFA potrebbero far parte delle valvole dei tubi utilizzati in agricoltura. Minuscoli pezzi di plastica potrebbero raggiungere il suolo e in seguito al dilavamento superficiale queste potrebbero inoltre arrivare fino all'ambiente marino (Horton 2017).

4.4.3 Contro tra acque e sedimenti di Sant'Erasmus

Nel sito di Sant'Erasmus confrontando la concentrazione di *small microplastics* nelle acque con quella dei sedimenti (Fig. 4.4.3.1), si osserva che le acque hanno una concentrazione media circa 20 volte più bassa rispetto ai sedimenti.

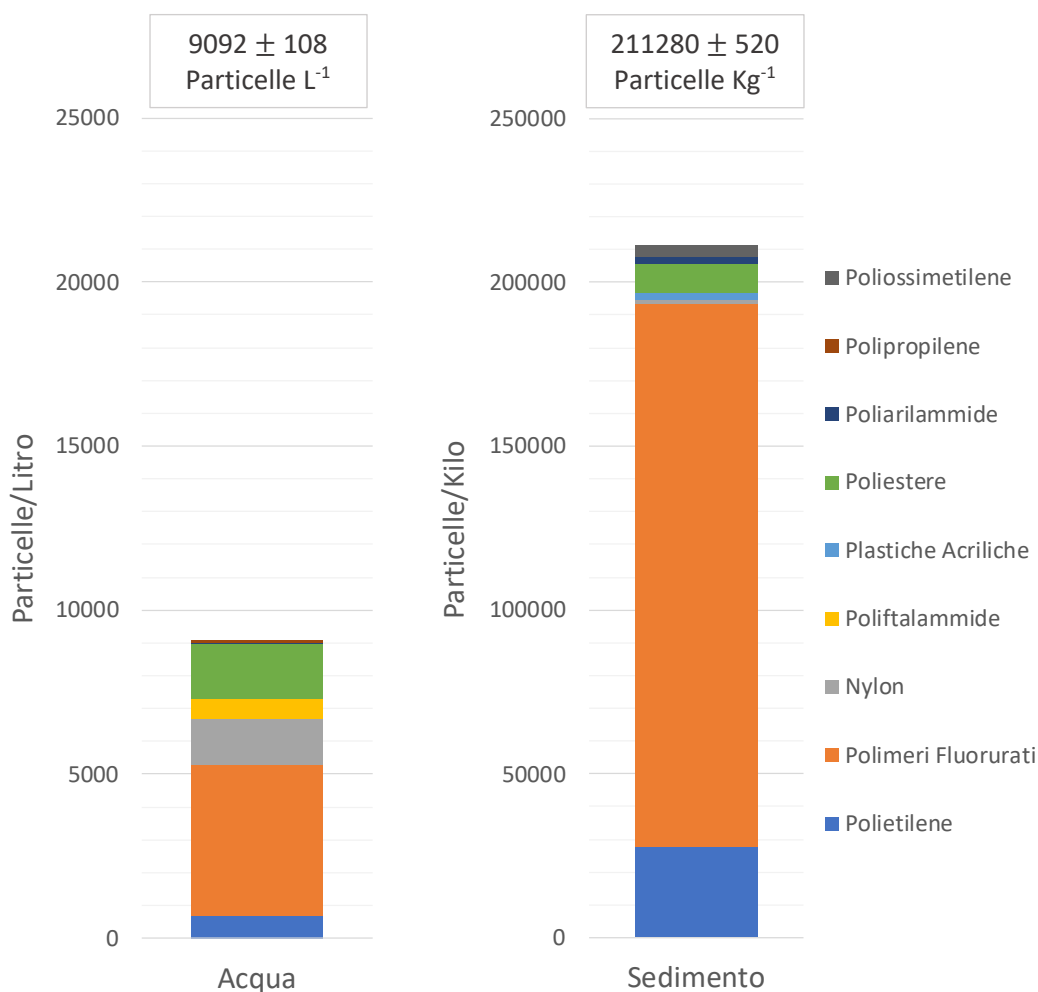


Fig. 4.4.3.1. Confronto tra particelle L⁻¹ e particelle Kg⁻¹ di microplastiche, nella stazione di Sant'Erasmus, rispettivamente per la matrice di acqua e di sedimento.

I grafici relativi al sito di Sant'Erasmus riportano, così come per gli altri siti, la concentrazione (particelle L⁻¹ e particelle kg⁻¹ di *small microplastics*), i differenti polimeri identificati ed il valore medio di abbondanza col relativo limite fiduciale.

Nelle acque i polimeri fluorurati sono i più abbondanti come lo sono anche nel sedimento. Risulta interessante la presenza di poliestere (18%) e di nylon (15%) che supera la percentuale di polietilene (7%) ritrovato nelle acque. Nei sedimenti sono comunque presenti polietilene (13%), poliestere (4%) e, sebbene in percentuale minore (0,5%) anche nylon. La poliftalamide è presente solamente nelle acque di questo sito ma non è stata ritrovata nei sedimenti.

Come già detto, il poliestere e il nylon sono dei filati sintetici utilizzati nell'abbigliamento o in attrezzature da lavoro e la loro presenza nelle acque e nei sedimenti di Sant'Erasmus si può porre in

relazione con le attività agricole che insistono in questa area e/o con gli eventuali scarichi delle lavatrici (Corami et al., 2020).

Dalla letteratura è evidente che fibre e particelle filiformi di *small microplastics* potrebbero essere scambiate come *food particles* dal biota in acqua (Derraik 2002; Fendall 2009; M.R. 2009; Claessens 2013; Eriksen 2014; Anbumani 2018); di conseguenza solamente una piccola percentuale potrebbe raggiungere il sedimento. Inoltre, in relazione alle dimensioni dell'apparato boccale, non è da escludere che il benthos presente nei sedimenti possa comunque ingerire le *small microplastics* scambiandole come food particles.

Come osservato nel sito di Petta di Bò, anche per Sant'Erasmus le *small microplastics* risultano significativamente più abbondanti nel sedimento rispetto a quelle presenti nell'acqua. La differenza può essere dovuta sia alla propensione dei polimeri a sprofondare nella colonna d'acqua dal momento che la maggior parte presenta una densità superiore all'acqua marina. Allo stesso tempo però polimeri con densità inferiore, come nel caso del polietilene, che dovrebbero restare flottanti nella colonna d'acqua tendono a sprofondare fino al sedimento a causa dell'adsorbimento di inquinanti (Andrady, Microplastics in the marine environment 2011; Roy 2011; Wright 2013; Eriksen 2014; Barboza 2015; Wang 2016; Auta 2017; Anbumani 2018) o formazione di biofilm (Browne 2008; Cooper 2010; Lobelle 2011) sulle particelle/fibre che va ad aumentare la loro densità apparente. Questo potrebbe essere uno dei motivi per cui il polietilene risulta più abbondante nel sedimento di questo sito piuttosto che nell'acqua.

Tubazioni utilizzate in agricoltura per l'irrigazione dei campi potrebbero essere composte da poliftalammide che risulta correlato con la presenza riscontrata nelle acque di questa stazione. Il mercato dei polimeri ritrovati nelle acque e nei sedimenti di Sant'Erasmus rispecchia le attività che insistono nell'isola e questo porta a relazionare la contaminazione ritrovata con le pressioni antropiche descritte.

4.5 Distribuzione spaziale di microplastiche nella Laguna di Venezia

Sono state confrontate le concentrazioni delle *small microplastics* rilevate nei tre siti (Sacca Sessola, Petta di Bò e Sant'Erasmus) per valutare la distribuzione spaziale e ipotizzare le eventuali sorgenti di contaminazione.

4.5.1 Confronto delle acque nei tre siti

Procedendo dalla parte meridionale della Laguna verso quella settentrionale, le concentrazioni delle *small microplastics* nelle acque sono:

- 12822 ± 128 particelle L^{-1} per Petta di Bò CV% del 0,88%
- 21515 ± 166 particelle L^{-1} per Sacca Sessola e CV% del 0,68%
- 9092 ± 108 particelle L^{-1} per Sant'Erasmus e CV% del 1,05%

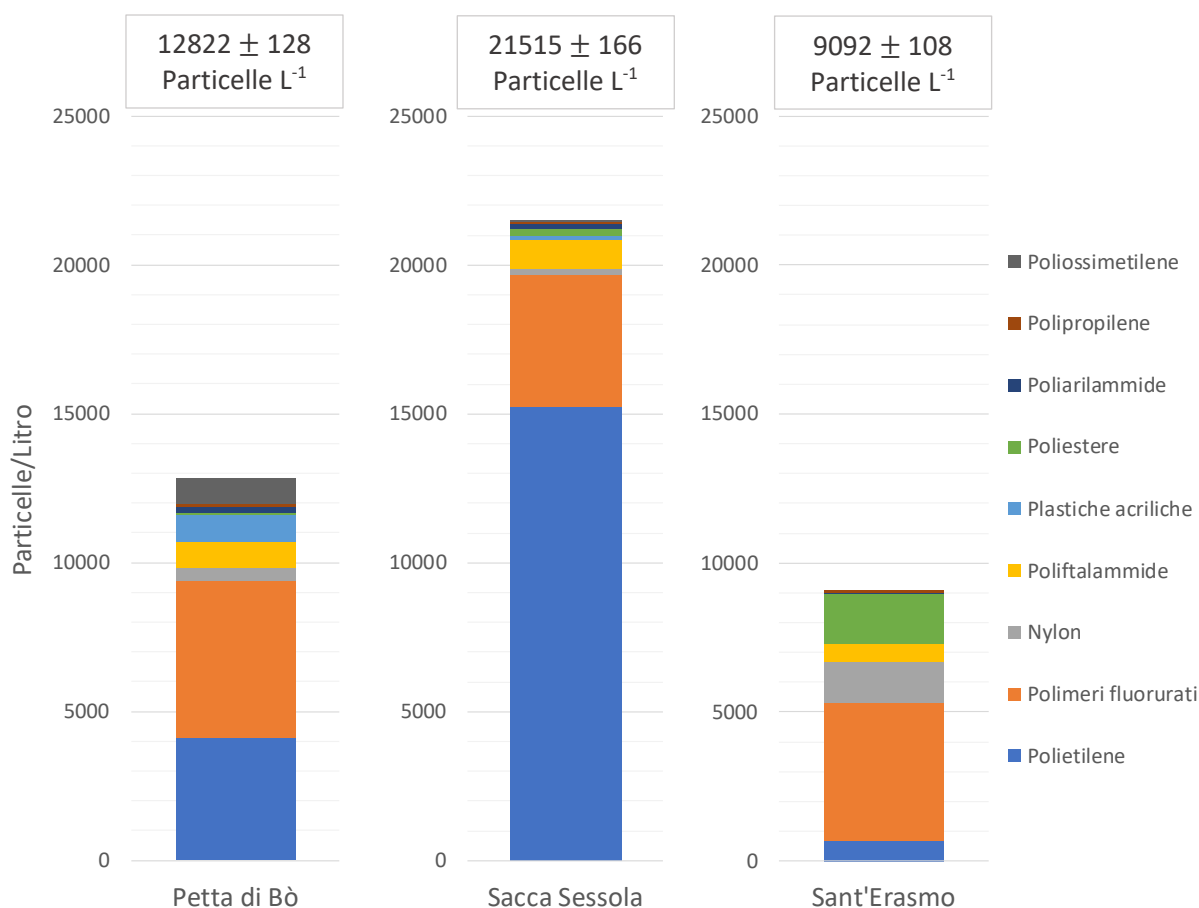


Fig. 4.5.1.1. Grafici rappresentanti le microplastiche divise per categoria polimerica e le particelle L⁻¹ totali, presenti nelle acque dei tre siti campionati (Sacca Sessola, Petta di Bò e Sant'Erasmus)

I tre siti mostrano delle concentrazioni molto diverse (Fig. 4.5.1.1); a Sacca Sessola (SS) la concentrazione media delle *small microplastics* è più abbondante rispetto alle altre due e nel sito di Sant'Erasmus la concentrazione è la più bassa.

Le differenze osservate nei tre siti (Sacca Sessola, Petta di Bò e Sant'Erasmus), non sono risultate statisticamente significative (Anova ad una via $p > 0,05$). Data la complessità del sistema lagunare e delle diverse attività antropiche che avvengono in prossimità dei siti studiati, è probabile che il test Anova ad una via non sia in grado di descrivere in maniera chiara le differenze osservate nei tre siti studiati.

Sacca Sessola è vicina al centro storico di Venezia e potrebbe essere anche influenzata dalle attività presenti nella zona industriale. Il centro storico di Venezia è una zona urbanizzata, con un elevato tasso di turismo; queste attività possono incidere sulla contaminazione delle acque e sulla presenza di *small microplastics* provenienti da polimeri di largo uso. Un esempio è il PE, polimero più abbondante in questo sito e anche il polimero di più largo impiego (pellicole, sacchetti o in generale

nel packaging, oltre che contenitori, chiusure a tappi, giocattoli e una molteplicità di altre applicazioni (Brydson 1999)).

A differenza di quanto osservato per Sacca Sessola, dove questi polimeri sono presenti, negli altri due siti sono i polimeri fluorurati ad essere la classe di polimeri più abbondanti nelle acque. I polimeri fluorurati (come politetrafluoroetilene (PTFE), fluoro elastomeri, perfluoroalcooli (PFA), ecc.) hanno un range di applicazione molto ampio; si passa da prodotti di uso comune come vestiario, rivestimenti antiaderenti per pentole, a prodotti tecnici di uso biomedico o applicazioni mediche (Harsanyi 2015). La presenza di questi polimeri nelle acque potrebbe essere dovuta ad un eventuale rilascio da parte degli impianti di depurazione che non trattengono le *small microplastics* (Blair 2019, Magni 2019), ma anche dai reflui di alcune abitazioni che ancora oggi non sono allacciate ad una rete di trattamento centralizzata, ma che riversano direttamente in Laguna. Un'altra fonte di questa classe di polimeri potrebbe essere l'area portuale di Chioggia e l'area industriale dove sono presenti diversi cantieri navali dislocati in prossimità del sito di campionamento (Cantiere Navale Rossetti Franco, Cantiere Nautico di Voltolina Simone, Cantiere Nautico F.lli Sparissi snc e il Cantiere Actv). Per resistere alla corrosione e al trasporto di sostanze aggressive, nei cantieri navali vengono spesso utilizzate delle tubazioni rivestite in PTFE⁷, ma con l'usura queste tubazioni potrebbero essere una fonte di questi polimeri in Laguna. Per quanto riguarda il sito di Sant'Erasmus, è presente un collettore per la gestione degli scarichi dei reflui civili con impianti di depurazione dedicati; però, le *small microplastics* potrebbero non essere trattenute in modo efficiente da questi impianti e, assieme al dilavamento del suolo agricolo, potrebbero essere quindi rilasciate nelle acque e nei sedimenti.

La presenza di nylon è stata osservata a Petta di Bo e a Sant'Erasmus, dove è stata anche osservata la presenza di poliestere. Mentre il nylon a Petta di Bò può essere presente soprattutto in funzione delle attività portuali e di pesca, a Sant'Erasmus la presenza potrebbe essere messa in relazione con gli scarichi urbani, ma anche con le attività agricole. Infatti, fili di poliammide (nylon) vengono spesso utilizzati in agricoltura per il contenimento in fase di crescita delle piante, o come film protettivo (Agnes 2007). Inoltre, va ricordato che il nylon ha una densità compresa tra (1,02-1,15 g cm⁻³); quindi tende a sprofondare verso il sedimento (Crichton et al. 2017; Quinn et al. 2017). In relazione alla grandezza delle particelle ritrovate va detto che queste, mentre sprofondano, possono essere scambiate come *food particles* dai microinvertebrati planctonici e dagli organismi filtratori presenti

⁷<https://wwwimpianto.it/category/applicazioni/cantieristica-navale/>, su impianto.it, URL consultato il 26 agosto 2019 (archivio dell'URL originale il 15 marzo 2016)

sia nelle acque sia nei sedimenti (Derraik 2002; M.R. 2009; Claessens 2013; Eriksen 2014; Anbumani 2018) ed entrare in rete trofica (Abidli 2017; Anbumani 2018).

Poiché il poliestere è la fibra più utilizzata per i tessuti sintetici, sia gli scarichi urbani sia l'uso di vestiario da lavoro per le attività agricole possono essere fonti di questo polimero.

Le microplastiche potrebbero arrivare in acqua anche attraverso il trasporto atmosferico (Dris et al. 2016; Gasperi et al. 2017; Liu et al. 2019). Le *small microplastics* potrebbero essere infatti presenti in atmosfera in seguito all'incenerimento dei rifiuti, al trasporto da discariche e alla degradazione di macro- e microplastiche (Dris et al., 2016).

4.5.2 Confronto dei sedimenti nei tre siti

Procedendo dalla parte meridionale della Laguna verso quella settentrionale, le concentrazioni delle *small microplastics* nei sedimenti sono:

- 249632 ± 565 particelle Kg^{-1} per Petta di Bò CV% del 0,23%
- 199195 ± 505 particelle Kg^{-1} per Sacca Sessola e CV% del 0,68%
- 211280 ± 520 particelle Kg^{-1} per Sant'Erasmo CV% del 0,25%

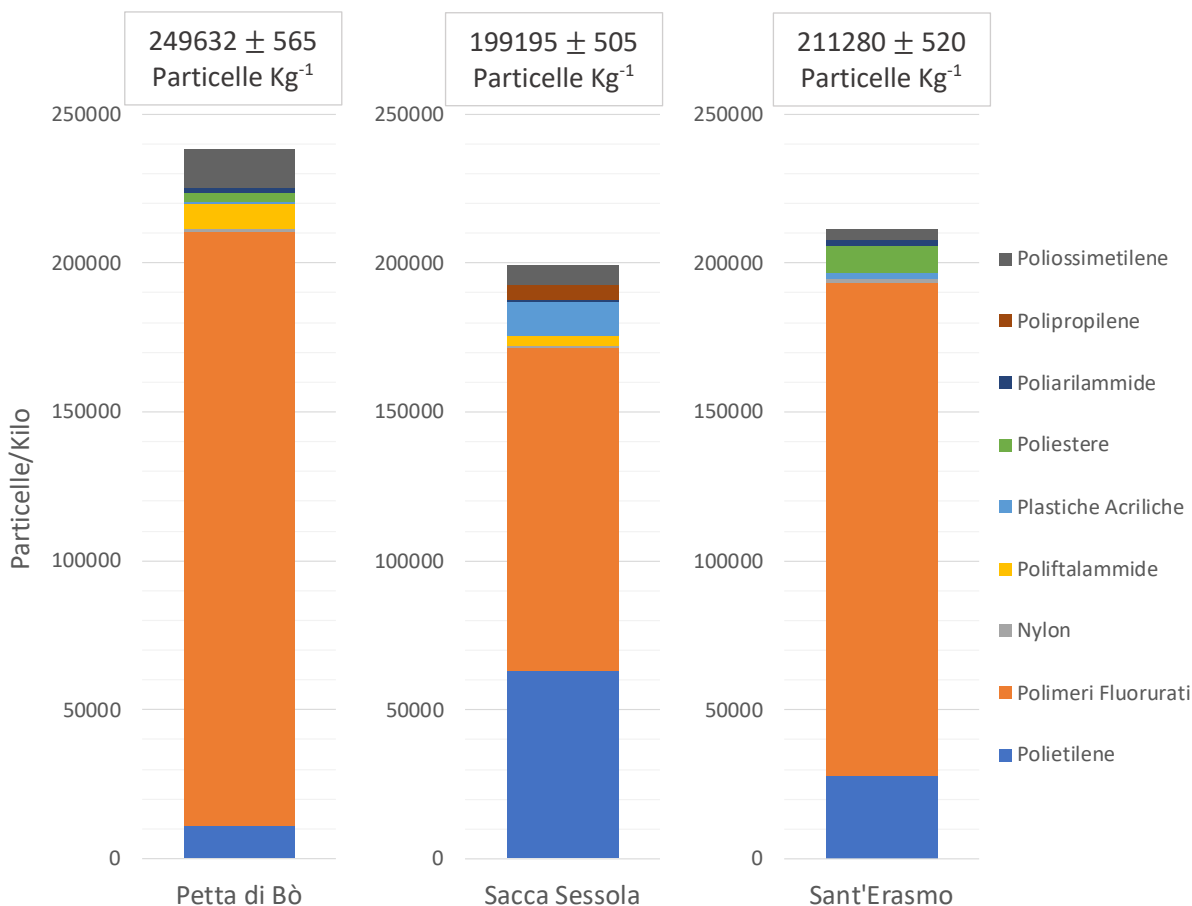


Fig. 4.5.2.1. Grafici rappresentanti le microplastiche divise per categoria polimerica e le particelle Kg⁻¹ totali, presenti nei sedimenti dei tre siti campionati (Sacca Sessola, Petta di Bò e Sant'Erasmus)

I sedimenti di Petta di Bò (PB) presentano un'abbondanza maggiore di *small microplastics* rispetto a Sant'Erasmus (SE) e Sacca Sessola (SS) (Fig. 4.5.2.1), che risulta avere la concentrazione più bassa. Dal test Anova ad una via per le concentrazioni di *small microplastics* nei tre siti in esame (Petta di Bò, Sacca Sessola e Sant'Erasmus) le differenze osservate non risultano statisticamente significative (Anova ad una via $p > 0,05$). Come già detto per le acque, questo test può non essere in grado di descrivere al meglio le differenze osservate, data la complessità del sistema lagunare e considerate le diverse attività presenti nei siti studiati.

Le *small microplastics* con una densità bassa, che permette loro di flottare nella colonna d'acqua, possono però sprofondare fino al fondale a causa dell'adsorbimento di inquinanti organici (Andrady, *Microplastics in the marine environment* 2011; Roy 2011; Wright 2013; Eriksen 2014; Barboza 2015; Wang 2016; Auta 2017; Anbumani 2018) o per la formazione di biofilm sulla superficie (Browne

2008; Cooper 2010; Lobelle 2011). Nei sedimenti dei tre siti studiati sono stati infatti osservate *small microplastics* con diverse densità.

La presenza di polimeri fluorurati si osserva in tutti e tre i siti. Il polietilene (PE), invece, è maggiormente abbondante soprattutto nei sedimenti di Sacca Sessola. Essendo il PE una delle plastiche con più larga applicazione (Brydson 1999; McKeen 2012), l'elevata concentrazione osservata nei sedimenti di SS può essere in relazione con la vicinanza del sito al centro storico e quindi alle attività che in esso si svolgono. Va anche sottolineato che nell'isola di SS è presente un hotel aperto tutto l'anno con un intenso flusso turistico; quindi una fonte locale di *small microplastics* possono essere gli scarichi dell'hotel. Il polietilene risulta abbondante anche nei sedimenti di Sant'Erasmus. Nel fondale di SS risulta presente anche il polipropilene che, in accordo con la bibliografia (A. B. Vianello 2013), è uno tra i polimeri che risulta presente nei sedimenti della Laguna di Venezia. Potrebbe derivare dalla rottura di frammenti di più grandi dimensioni (A. D. Vianello 2018), e può essere applicato nella costruzione di tubazioni per acqua e gas o come fibra per pavimenti, tappeti, abbigliamento sportivo (J. R. Zhao 2018) e reti da pesca (A. B. Vianello 2013). Diverso invece il caso di Petta di Bò dove dopo i polimeri fluorurati, è il poliossimetilene (POM) ad essere più abbondante. Petta di Bò è soggetto a diverse tipologie di impatto antropico un esempio è il porto di Chioggia il quale ospita un grande quantitativo di navi ogni giorno, sia per scopi turistici che commerciali, oltre che i diversi cantieri navali dislocati nell'intorno. Tali attività potrebbero contribuire ad un rilascio in ambiente di microplastiche quali polimeri fluorurati, POM, plastiche acriliche e nylon. Essendo il POM un polimero particolarmente utilizzato in sostituzione di parti metalliche di precisione (viti, valvole, cerniere, ecc.), la sua presenza nei sedimenti è in relazione con le attività antropiche presenti nell'area. Inoltre, Petta di Bò possiede campeggi turistici nella zona costiera limitrofa al sito di campionamento, che potrebbero perciò essere una fonte di *small microplastics*.

Il poliestere è una fibra sintetica che è stata osservata nei sedimenti sia di Petta di Bò sia di Sant'Erasmus. La presenza nel fondale di Petta di Bò potrebbe essere relativo al suo utilizzo in abbigliamento (soprattutto sportivo) (Cameron 2011; Smith 2019) che può essere utilizzato nel polo turistico di Chioggia mentre per Sant'Erasmus la sua presenza potrebbe essere attribuita sia agli scarichi del centro urbano sia all'attività agricola che insiste su questa isola che prevede l'utilizzo di tute da lavoro o attrezzatura tecnica composta da questa microfibrilla che potrebbero essere la fonte della contaminazione delle *small microplastics* ritrovate nei sedimenti di questo sito.

CONCLUSIONI

In questo lavoro di tesi sono state messe a punto procedure analitiche di estrazione e purificazione delle microplastiche in matrici ambientali quali acqua e sedimento, oltre che, simultanea quantificazione e caratterizzazione chimica delle microplastiche attraverso il μ FT-IR (*Fourier Transformed Infrared Spectroscopy*).

Nella letteratura scientifica sono presenti diversi metodi analitici basati sulla flottazione delle particelle/fibre microplastiche in una soluzione salina (Y. O. R. Thompson 2004; Claessens 2013; Vianello 2013; Narayanaswamy 2014; Nuelle 2014; Karlsson 2017; Mintenig 2017; Peng 2017; Li 2018; A. D. Vianello 2018; J. R. Zhao 2018) che hanno come obiettivo quello di determinare la quantità e tipologia di micropolimeri presenti in campioni ambientali. Questi metodi tuttavia presentano problematiche in termini di sottostima di microplastiche presenti e sono privi di un'ottimale purificazione.

Il nuovo metodo presentato si basa sull'oleo-estrazione delle *small microplastics* (Crichton 2017), sfruttando la caratteristica lipofila che presentano le particelle polimeriche, al quale è stata applicata una successiva procedura di purificazione che ha permesso un'efficiente analisi qualitativa e quantitativa delle microplastiche (con *match* di detenzione fino al 90%, vedi immagini in appendice Fig. A.2 e A.3). Inoltre, tutte le fasi preanalitiche (estrazione, filtrazione e purificazione) sono state condotte in *clean room* (ISO 7) per minimizzare ogni possibile contaminazione.

Per quanto riguarda l'analisi strumentale l'obiettivo principale è stato quello di riuscire a determinare quei polimeri che presentano dimensioni comprese tra $1 \mu\text{m} \leq x \leq 100 \mu\text{m}$ dal momento che i sistemi di campionamento usualmente utilizzati (es. manta trawl) presentano una grandezza della maglia pari a $330 \mu\text{m}$ e ampiezza di 1mm (Frère 2017; Olivatto 2019; Pan 2019). L'innovazione di questo studio è stata quella di riuscire a determinare, in matrici come acqua e sedimento, quei micropolimeri che presentano dimensioni che normalmente sfuggono ai classici sistemi di campionamento e che tendono a rimanere nel sistema acquatico.

I polimeri trovati attraverso l'analisi delle acque e dei sedimenti dei tre siti della Laguna di Venezia (Sacca Sessola, Petta di Bò e Sant'Erasmus), vengono utilizzati in un'ampia gamma di applicazioni civili e industriali (packaging, tessile ed elettronico) che vanno ad indicare diverse fonti di rilascio. Risulta particolarmente difficile stabilire con certezza quale possa essere l'origine precisa delle microplastiche ritrovate nei campioni di acqua e sedimento.

In entrambe le matrici ambientali analizzate, le microplastiche maggiormente presenti risultano i polimeri fluorurati, fatta eccezione per le acque di Sacca Sessola (SS) che presentano una grande concentrazione di polietilene (PE) al loro interno. Questo potrebbe rispecchiare la forte pressione turistica che grava sull'isola di Venezia che si trova in prossimità di questo sito di campionamento. Osservando i dati ottenuti si può notare come nei sedimenti le microplastiche risultino molto più concentrate rispetto a quelle presenti nella colonna d'acqua. Questo è dovuto principalmente alla natura dei sedimenti, i quali tendono ad accumulare le microplastiche come conseguenza dell'idrodinamica che caratterizza la zona (A. B. Vianello 2013) e in relazione alle varie fonti che rilasciano nell'intorno.

La densità dei frammenti polimerici è sicuramente uno dei fattori che influenza la loro flottazione o il loro sprofondamento nel sistema acquatico. Perciò alcuni polimeri (politetrafluoroetilene, perfluoroalcooli, nylon, plastiche acriliche, poliestere e poliossimetilene) tendono ad accumularsi nei sedimenti anziché rimanere flottanti nella colonna d'acqua. Il loro sprofondamento dipenderà dal tempo di deposizione della microplastica nel sistema acquatico e dall'eventuale ingestione delle *small microplastics* da parte del biota; in questo modo le particelle di densità più bassa potrebbero arrivare nei sedimenti sotto forma di *fecal pellets*.

Le particelle osservate hanno una lunghezza massima pari a 275 μm e una lunghezza minima pari a 11,8 μm . Risulta evidente che per particelle così piccole lo sprofondamento verso i sedimenti può essere funzione di altri fattori, non soltanto funzione della densità. Le *small microplastics* potrebbero avere dei comportamenti, in sistemi naturali, che non sono ancora conosciuti appieno: potrebbero formare degli aggregati, o adsorbire inquinanti organici (Andrady, *Microplastics in the marine environment* 2011; Roy 2011; Wright 2013; Eriksen 2014; Barboza 2015; Wang 2016; Auta 2017; Anbumani 2018) che permetterebbero anche a plastiche a bassa densità di sprofondare così come potrebbero risentire del moto ondoso o delle dinamiche marine che potrebbero mantenerle sospese nella colonna d'acqua.

Il tema delle microplastiche nei sistemi acquatici risulta di particolare interesse negli ultimi anni dal momento che ancora non si conoscono appieno i rischi potenziali associati (Gouin 2011) sia per l'ambiente marino sia per la potenziale ricaduta sulla salute umana.

Effettuare studi di questo tipo può essere utile anche dal punto di vista sociale per fare in modo che la comunità sia pienamente cosciente di una problematica attuale e di difficile interruzione dal momento che la plastica viene utilizzata in ogni campo e settore. La coscienza civile deve comunque essere guidata dal settore pubblico, in particolare da politiche sociali, che siano in grado di ridurre

il più possibile l'inquinamento presente nell'ambiente acquatico attraverso azioni correttive che limitino l'immissione di microplastiche nel mercato e prevedano una buona gestione del rifiuto. In conclusione, per gestire al meglio la contaminazione di microplastiche, risulterebbe particolarmente efficace l'applicazione di ciò che si intende con *sostenibilità* che prevede l'integrazione tra sviluppo economico, sviluppo sociale e sviluppo ambientale. L'ambiente rappresenta la base che sostiene l'economia e la società; di conseguenza il suo studio approfondito seguito da una buona regolazione e gestione della contaminazione con politiche pubbliche, porterebbe indirettamente ad un beneficio in termini sociali ed economici.

APPENDICE

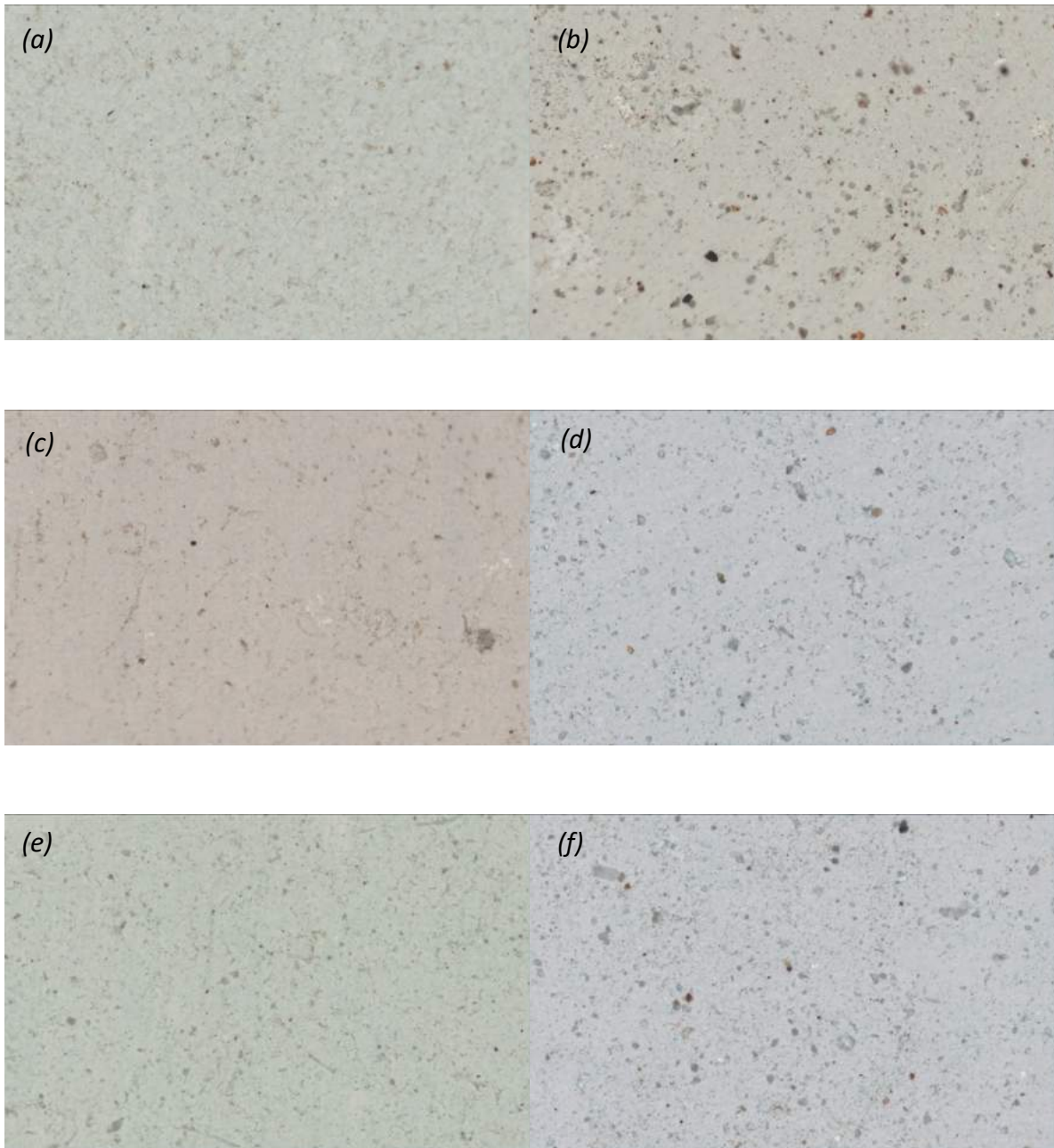


Fig. A.1. Mosaici ottenuti con μ FTIR dei campioni di acqua e sedimento dei tre siti campionati. La figura (a) acqua e (b) sedimento, corrispondono al sito di Sacca Sessola; la figura (c) acqua e (d) sedimento, corrispondono al sito di Petta di Bò; la figura (e) acqua e (f) sedimento, corrispondono al sito di Sant'Erasmus.

Tab. A.1. Tipologie di polimeri relativi all'acqua di Sacca Sessola con: media match (%), dati relativi alle lunghezze (μm) e dati relativi alle larghezze (μm)

	Match medio	Lunghezza media	Lunghezza min	Lunghezza max	Larghezza media	Larghezza min	Larghezza max
Polietilene	76	45,6	24,0	117,0	21,9	13,5	47,1
Polimeri fluorurati	68	41,0	26,4	71,5	24,1	11,8	46,5
Nylon	62	39,6	33,6	45,5	15,8	15,5	16,1
Poliftalamide	67	37,1	29,4	50,0	21,2	16,9	25,2
Plastiche acriliche	96	45,8	45,8	45,8	29,6	29,6	29,6
Poliestere	71	42,1	33,9	33,9	26,7	19,9	34,2
Poliarilammide	70	65,2	40,0	90,3	28,8	18,6	39,0
Polipropilene	89	33,8	33,8	33,8	17,4	17,4	17,4
Poliossimetilene	58	25,9	25,9	25,9	22,6	22,6	22,6

Tab. A.2. Tipologie di polimeri relativi al sedimento di Sacca Sessola con: media match (%), dati relativi alle lunghezze (μm) e dati relativi alle larghezze (μm)

	Match medio	Lunghezza media	Lunghezza min	Lunghezza max	Larghezza media	Larghezza min	Larghezza max
Polietilene	82	44,3	27,9	90,0	22,6	13,7	46,6
Polimeri fluorurati	65	46,6	25,9	165,5	26,3	13,5	103,4
Nylon	56	31,3	31,3	31,3	16,6	16,6	16,6
Poliftalamide	64	47,9	29,7	56,7	19,3	14,6	26,3
Plastiche acriliche	81	54,1	32,0	168,7	24,0	16,5	43,2
Poliarilammide	70	51,8	51,8	51,8	37,0	37,0	37,0
Polipropilene	81	80,1	32,0	178,0	33,7	18,0	55,5
Poliossimetilene	57	37,9	26,9	57,8	23,2	18,4	29,8

Tab. A.3. Tipologie di polimeri relativi all'acqua di Petta di Bò con: media match (%), dati relativi alle lunghezze (μm) e dati relativi alle larghezze (μm)

	Match medio	Lunghezza media	Lunghezza min	Lunghezza max	Larghezza media	Larghezza min	Larghezza max
Polietilene	79	52,1	25,8	147,7	23,2	13,0	53,4
Polimeri fluorurati	75	48,6	25,0	137,9	24,0	12,6	92,2
Nylon	68	40,3	26,7	69,6	21,2	15,2	27,3
Poliftalamide	63	61,9	36,5	256,2	23,3	14,3	33,3
Plastiche acriliche	88	49,5	32,1	98,8	20,8	15,8	24,7
Poliestere	53	56,4	56,4	56,4	29,7	29,7	29,7
Poliarilammide	69	35,7	26,4	44,9	26,5	22,9	30,1
Polipropilene	90	56,6	49,6	63,6	30,4	25,5	35,2
Poliossimetilene	59	50,4	31,6	65,0	16,5	12,9	22,3

Tab. A.4. Tipologie di polimeri relativi al sedimento di Petta di Bò con: media match (%), dati relativi alle lunghezze (μm) e dati relativi alle larghezze (μm)

	Match medio	Lunghezza media	Lunghezza min	Lunghezza max	Larghezza media	Larghezza min	Larghezza max
Polietilene	84	47,1	27,5	108,3	22,5	16,8	39,2
Polimeri fluorurati	66	45,5	14,7	216,1	26,0	0,2	81,6
Nylon	50	91,3	91,3	91,3	18,8	18,8	18,8
Poliftalamide	66	38,6	28,8	45,6	20,1	13,7	25,6
Plastiche acriliche	78	42,5	42,5	42,5	19,8	19,8	19,8
Poliestere	74	150,7	29,8	29,8	90,8	21,2	275,0
Poliarilammide	66	66,1	62,5	69,7	28,9	25,9	31,8
Poliossimetilene	59	37,5	27,5	71,5	19,7	16,2	24,3

Tab. A.5. Tipologie di polimeri relativi all'acqua di Sant'Erasmo con: media match (%), dati relativi alle lunghezze (μm) e dati relativi alle larghezze (μm)

	Match medio	Lunghezza media	Lunghezza min	Lunghezza max	Larghezza media	Larghezza min	Larghezza max
Polietilene	76	40,5	30,7	61,5	19,0	15,1	24,2
Polimeri fluorurati	68	38,7	24,5	57,1	21,3	12,6	165,0
Nylon	60	48,3	28,5	85,1	22,1	13,5	36,5
Poliftalamide	60	38,8	26,9	65,6	20,7	15,6	27,4
Poliestere	66	53,5	32,7	32,7	20,8	15,7	33,6
Poliarilammide	67	65,2	65,2	65,2	27,1	27,1	27,1
Polipropilene	84	72,2	72,2	72,2	13,6	13,6	13,6

Tab. A.6. Tipologie di polimeri relativi al sedimento di Sant'Erasmo con: media match (%), dati relativi alle lunghezze (μm) e dati relativi alle larghezze (μm)

	Match medio	Lunghezza media	Lunghezza min	Lunghezza max	Larghezza media	Larghezza min	Larghezza max
Polietilene	78	43,7	25,8	91,1	21,6	12,7	58,8
Polimeri fluorurati	66	41,6	24,2	119,0	24,3	10,9	75,1
Nylon	64	58,0	58,0	58,0	20,6	20,6	20,6
Plastiche acriliche	81	47,4	36,5	62,4	28,0	19,0	41,2
Poliestere	64	44,3	30,7	30,7	21,7	12,6	37,4
Poliarilammide	63	56,8	31,8	104,7	19,1	16,2	21,7
Poliossimetilene	59	37,8	30,8	52,4	18,5	10,6	23,2

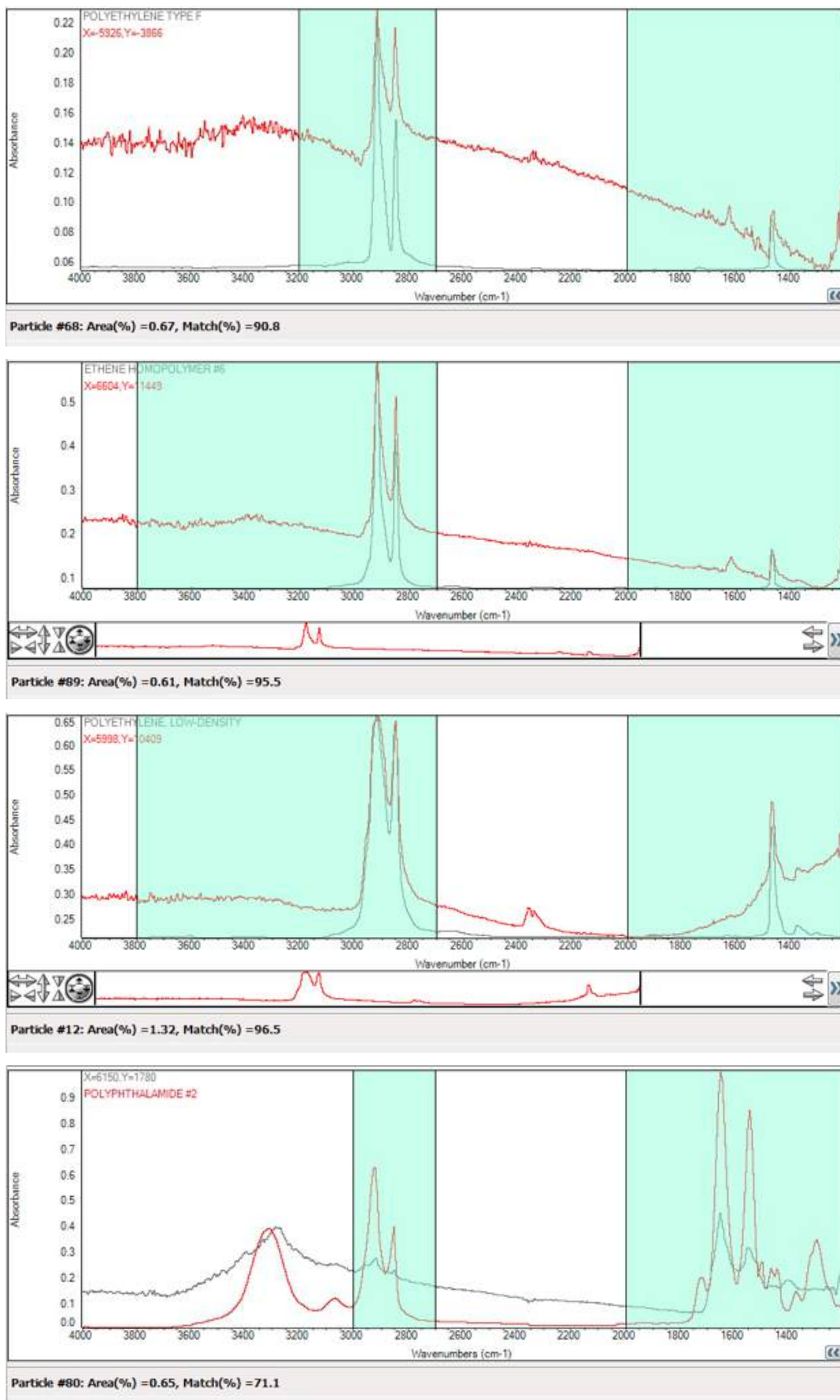


Fig. A.2. Spettri ottenuti dai campioni di acqua della Laguna di Venezia

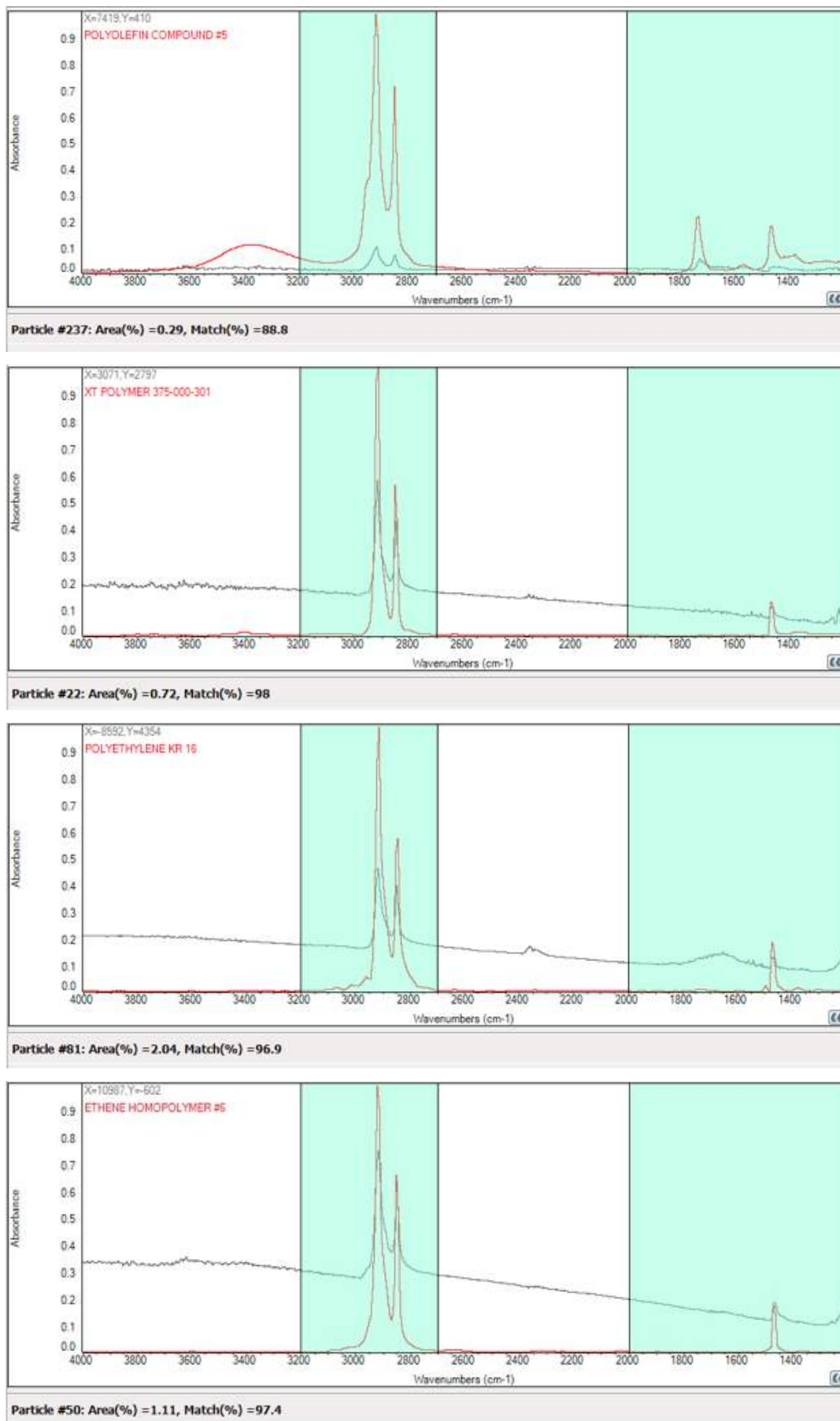


Fig. A.3. Spettri ottenuti dai campioni di sedimento della Laguna di Venezia

BIBLIOGRAFIA

- A. Andrady, M. Neal. 2009. «Applications and societal benefits of plastics.» *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 1977-1984.
- Abidli, Sami Toumi, Hela Lahbib, Youssef Trigui El Menif, Najoua. 2017. «The First Evaluation of Microplastics in Sediments from the Complex Lagoon-Channel of Bizerte (Northern Tunisia).» *Water, Air, and Soil Pollution*.
- Agnes, Marcel Constant Broeckx, Frans Be, Zaventem Knippenberg, Bjorn Peter Van. 2007. Barrier Agricultural Fumigation Film.
- Anbumani, Sadasivam Kakkar, Poonam. 2018. «Ecotoxicological effects of microplastics on biota: a review.» *Environmental Science and Pollution Research* 14373-14396.
- Andrady, Anthony L. 2011. «Microplastics in the marine environment.» *Marine Pollution Bulletin* 1596-1605.
- Andrady, Anthony L. 2017. «The plastic in microplastics: A review.» *Marine Pollution Bulletin* 12-22.
- Andrew, William. 2013. *Introduction to Fluoropolymers*. London: S. Ebnesajjad.
- Arias, Jagoba Marin, Itziar Zuloaga, Aitzol. 2007. « Plastic Debris in the Ocean Every.» *Wireless Communications Research Trends* 123-163.
- Auta, H. S. Emenike, C. U. Fauziah, S. H. 2017. «Distribution and importance of microplastics in the marine environmentA review of the sources, fate, effects, and potential solutions.» *Environment International* 165-176.
- Bäumler, Erica R. Carrín, María E. Carelli, Amalia A. 2016. «Extraction of sunflower oil using ethanol as solvent.» *Journal of Food Engineering* 190-197.
- Baini, Matteo Fossi, Maria Cristina Galli, Matteo Caliani, Ilaria Campani, Tommaso Finioia, Maria 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* 543-552.
- Ballati, Lido. 2004. «ARPA Marche.» www.arpa.marche.it. 25 novembre. Consultato il giorno luglio 23, 2019. <http://www3.arpa.marche.it/doc/Pdf/eventi/nov04/Ballati.pdf>.
- Barboza, Luís Gabriel Antão Gimenez, Barbara Carolina Garcia. 2015. «Microplastics in the marine environment: Current trends and future perspectives.» *Marine Pollution Bulletin* 5-12.

- Bellucci, Luca Giorgio Frignani, Mauro Paolucci, Daniele Ravanelli, Marzia. 2002. «Distribution of heavy metals in sediments of the Venice Lagoon: The role of the industrial area.» *Science of the Total Environment* 35-49.
- Bergmann, Melanie, Lars Gutow, e Michael Klages. 2015. *Marine Anthropogenic Litter*. Cham: Springer International Publishing.
- Blair, Reina M. Waldron, Susan Gauchotte-Lindsay, Caroline. 2019. «Average daily flow of microplastics through a tertiary wastewater treatment plant over a ten-month period.» *Water Research* 114909.
- Bower, David I. 2002. *An Introduction to Polymer Physics*. United States of America: Cambridge University Press.
- Brandon, Jennifer Goldstein, Miriam Ohman, Mark D. 2016. «Long-term aging and degradation of microplastic particles: Comparing in situ oceanic and experimental weathering patterns.» *Marine Pollution Bulletin* 299-308.
- Browne, Mark Anthony Crump, Phillip Niven, Stewart J. Teuten, Emma Tonkin, Andrew Galloway, Tamara Thompson, Richard. 2011. «Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: Sources and sinks.» *Environmental Science and Technology* 9175-9179.
- Browne, Mark Anthony Galloway, Tamara Thompson, Richard. 2008. «MicroLastic—an EMERging contaMinant of potEntial concErn?» *Integrated Environmental Assessment and Management* 4: 2007-2008.
- Brydson, J. A. 1999. *Plastics Materials*. University of North London: Butterworth-Heinemann.
- Calafut, Teresa. 2012. *Plastic film in food packaging: Polypropylene Films*. USA: Elsevier Inc.
- Caliceti, M. Argese, E. Sfriso, A. Pavoni, B. 2002. «Heavy metal contamination in the seaweeds of the Venice lagoon.» *Chemosphere* 443-454.
- Cameron, Donald J.A. Shaver, Michael P. 2011. «Aliphatic polyester polymer stars: Synthesis, properties and applications in biomedicine and nanotechnology.» *Chemical Society Reviews* 1761-1776.
- Campbell, Ian M. 2000. *Introduction to synthetic polymers*. U.S.A.: Oxford University Press.
- Cassin, Daniele Dominik, Janusz Botter, Margherita Zonta, Roberto. 2018. «PAH and PCB contamination in the sediments of the Venice Lagoon (Italy) before the installation of the MOSE flood defence works.» *Environmental Science and Pollution Research* 24951-24964.
- Claessens, Michiel Van Cauwenberghe, Lisbeth Vandegheuchte, Michiel B. Janssen, Colin R. 2013. «New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms.» *Marine Pollution Bulletin* 227-233.

- Cole, Matthew Lindeque, Pennie Halsband, Claudia Galloway, Tamara S. 2011. «Microplastics as contaminants in the marine environment: A review.» *Marine Pollution Bulletin* 2588-2597.
- Cooper, David A. Corcoran, Patricia L. 2010. «Effects of mechanical and chemical processes on the degradation of plastic beach debris on the island of Kauai, Hawaii.» *Marine Pollution Bulletin* 650-654.
- Crichton, Ellika M. Noël, Marie Gies, Esther A. Ross, Peter S. 2017. «A novel, density-independent and FTIR-compatible approach for the rapid extraction of microplastics from aquatic sediments.» *Analytical Methods* 1419-1428.
- Dalla Valle, Matteo Marcomini, Antonio Jones, Kevin C. Sweetman, Andrew J. 2005. «Reconstruction of historical trends of PCDD/Fs and PCBs in the Venice Lagoon, Italy.» *Environment International* 1047-1052.
- Dauer, D. M. 1983. «Functional morphology and feeding behavior of *Scolecipis squamata* (Polychaeta: Spionidae).» *Marine Biology* 279-285.
- Defosse, J. M. Hawkins, A. J.S. 1997. «Selective feeding in shellfish: Size-dependent rejection of large particles within pseudofaeces from *Mytilus edulis*, *Ruditapes philippinarum* and *Tapes decussatus*.» *Marine Biology* 139-147.
- Derraik, José G B. 2002. «The pollution of the marine environment by plastic debris: a review.» *Marine pollution bulletin* 842-52.
- Dris, Rachid Gasperi, Johnny Saad, Mohamed Mirande, Cécile Tassin, Bruno. 2016. «Synthetic fibers in atmospheric fallout: A source of microplastics in the environment?» *Marine Pollution Bulletin* 290-293.
- ECHA, European Chemicals Agency. 2019. «Annex xv restriction report proposal for a restriction.» Report version number 1, Helsinki, Finland.
- Eriksen, Marcus Lebreton, Laurent C.M. Carson, Henry S. Thiel, Martin Moore, Charles J. Borerro, Jose C. Galgani, Francois Ryan, Peter G. Reisser, Julia Eriksen, Marcus Lebreton, Laurent C.M. Carson, Henry S. Thiel, Martin Moore, Charles J. Borerro, Jose C. 2014. «Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea.» *PLoS ONE* 1-15.
- Eriksen, Marcus Mason, Sherri Wilson, Stiv Box, Carolyn Zellers, Ann Edwards, William Farley, Hannah Amato, Stephen. 2013. «Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes.» *Marine Pollution Bulletin* 177-182.
- Fendall, Lisa S. Sewell, Mary A. 2009. «Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers.» *Marine Pollution Bulletin* 1225-1228.

- Frère, L. Paul-Pont, I. Rinnert, E. Petton, S. Jaffré, J. Bihannic, I. Soudant, P. Lambert, C. Huvet, A. 2017. «Influence of environmental and anthropogenic factors on the composition, concentration and spatial distribution of microplastics: A case study of the Bay of Brest (Brittany, France).» *Environmental Pollution* 211-222.
- Frignani, Mauro Bellucci, Luca G. Carraro, Claudio Favotto, M. 2001. «Accumulation of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in sediments of the Venice Lagoon and the industrial area of Porto Marghera.» *Marine Pollution Bulletin* 544-553.
- Garcia-de-Lomas, J. Palma, A. T. Hernandez-Leon, S. Echevarria, F. Irigoien, X. Duarte, C. M. Fernandez-de-Puelles, M. L. Navarro, S. Ubeda, B. Gonzalez-Gordillo, J. I. Cozar, A. Ruiz, A. 2014. «Plastic debris in the open ocean.» *Proceedings of the National Academy of Sciences* 10239-10244.
- Gasperi, Johnny Wright, Stephanie L. Dris, Rachid Collard, France Mandin, Corinne Guerrouache, Mohamed Langlois, Valérie Kelly, Frank J. Tassin, Bruno. 2017. «Microplastics in air: Are we breathing it in?» *Current Opinion in Environmental Science & Health* 1-5.
- Gewert, Berit Plassmann, Merle M. Macleod, Matthew. 2015. «Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment.» *Environmental Sciences: Processes and Impacts* 1513-1521.
- Gouin, Todd Roche, Nicola Lohmann, Rainer Hodges, Geoff. 2011. «A thermodynamic approach for assessing the environmental exposure of chemicals absorbed to microplastic.» *Environmental Science and Technology* 1466-1472.
- Graham, Erin R. Thompson, Joseph T. 2009. «Deposit- and suspension-feeding sea cucumbers (Echinodermata) ingest plastic fragments.» *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 22-29.
- Gregorio García, Ana Muñoz-Vera. 2015. «Characterization and evolution of the sediments of a Mediterranean coastal lagoon located next to a former mining area.» *Marine Pollution Bulletin* 249-263.
- Guerzoni, Stefano Rossini, Paolo Sarretta, Alessandro Racanelli, Stefano Ferrari, Giorgio Molinaroli, Emanuela. 2007. «POPs in the Lagoon of Venice: budgets and pathways.» *Chemosphere* 1776-1785.
- Halden, Rolf U. 2010. «Plastics and Health Risks.» *Annual Review of Public Health* 179-194.
- Harris, Daniel C. 2017. *Chimica Analitica Quantitativa*. Bologna: Zanichelli.
- Harsanyi, Antal Sandford, Graham. 2015. «Organofluorine chemistry: Applications, sources and sustainability.» *Green Chemistry* 2081-2086.

- Hidalgo-Ruz, Valeria Gutow, Lars Thompson, Richard C. Thiel, Martin. 2012. «Microplastics in the marine environment: A review of the methods used for identification and quantification.» *Environmental Science and Technology* 3060-3075.
- Hinojosa, Iván A. Thiel, Martin. 2009. «Floating marine debris in fjords, gulfs and channels of southern Chile.» *Marine Pollution Bulletin* 341-350.
- Horton, Alice A. Walton, Alexander Spurgeon, David J. Lahive, Elma Svendsen, Claus. 2017. «Microplastics in freshwater and terrestrial environments: Evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities.» *Science of the Total Environment* 127-141.
- J. Arias, I. Marin, A. Zuloaga. 2007. «Energy aware medium access control protocols.» *Wireless Communications Research Trends* 123-163.
- J. Jambeck, R. Geyer, C. Wilcox et al. 2015. «Plastic waste inputs from land into the ocean.» *Marine pollution* 768-771.
- Jiang, Jia Qian. 2018. «Occurrence of microplastics and its pollution in the environment: A review.» *Sustainable Production and Consumption* 16-23.
- Karlsson, Therese M. Vethaak, A. Dick Almroth, Bethanie Carney Ariese, Freek van Velzen, Martin Hassellöv, Martin Leslie, Heather A. 2017. «Screening for microplastics in sediment, water, marine invertebrates and fish: Method development and microplastic accumulation.» *Marine Pollution Bulletin* 403-408.
- Klein, Sascha Worch, Eckhard Knepper, Thomas P. 2015. «Occurrence and spatial distribution of microplastics in river shore sediments of the rhine-main area in Germany.» *Environmental Science and Technology* 6070-6076.
- Komorita, Tomohiro Kajihara, Rumiko Tsutsumi, Hiroaki Shibamura, Seiichiro Yamada, Toshiro Montani, Shigeru. 2014. «Food sources for *Ruditapes philippinarum* in a coastal Lagoon determined by mass balance and stable isotope approaches.» *PLoS ONE*.
- Kyrikou, Ioanna Briassoulis, Demetres. 2007. «Biodegradation of agricultural plastic films: A critical review.» *Journal of Polymers and the Environment* 125-150.
- Lange, By J Wyser, Yves. 2003. «Recent Innovations in Barrier Technologies for Plastic Packaging – a Review.» *Packaging Technology and Science* 149-158.
- Lebreton, L. C.M. Greer, S. D. Borrero, J. C. 2012. «Numerical modelling of floating debris in the world's oceans.» *Marine Pollution Bulletin* 653-661.

- Li, Jingyi Liu, Huihui Paul Chen, J. 2018. «Microplastics in freshwater systems: A review on occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection.» *Water Research* 362-374.
- Liu, Kai Wang, Xiaohui Fang, Tao Xu, Pei Zhu, Lixin Li, Daoji. 2019. «Source and potential risk assessment of suspended atmospheric microplastics in Shanghai.» *Science of the Total Environment* 462-471.
- Lobelle, Delphine Cunliffe, Michael. 2011. «Early microbial biofilm formation on marine plastic debris.» *Marine Pollution Bulletin* 197-200.
- Loreti, Maurizio. 2006. *Teoria degli Errori e Fondamenti di Statistica: introduzione alla fisica sperimentale*. Padova: Dipartimento di Fisica: Università degli Studi di Padova.
- Luca Barcherini, David Cappelletti, Laura Cartechini, Fabio Marmottini, Beatrice Moroni, Francesco Scardazza. s.d. «Caratterizzazione morfologica e chimica delle polveri sottili in alcune realtà umbre.»
- M. Bergmann, L. Gutow, M. Klages. 2015. *Marine antropogenic litter*. Springer Open.
- M.R., Gregory. 2009. «Environmental implications of plastic debris in marine settings-entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions.» *Phil. Trans. R. Soc. B.* 369.
- Magni, Stefano Binelli, Andrea Pittura, Lucia Avio, Carlo Giacomo Della Torre, Camilla Parenti, Camilla Carla Gorbi, Stefania Regoli, Francesco. 2019. «The fate of microplastics in an Italian Wastewater Treatment Plant.» *Science of the Total Environment* 602-610.
- McKeen, L. W. 2012. *Plastic Films in Food Packaging: Materials, Technology and Applications*. USA: Sina Ebnesajjad.
- Mintenig, S. M. Int-Veen, I. Löder, M. G.J. Pimpke, S. Gerdt, G. 2017. «Identification of microplastic in effluents of waste water treatment plants using focal plane array-based micro-Fourier-transform infrared imaging.» *Water Research* 365-372.
- Moore, David S. 2013. *Statistica di base*. Milano (Italy): APOGEO.
- Narayanaswamy, B. E. Paterson, G. L. J. Calafat, A. Canals, M. Thompson, R. C. Sanchez-Vidal, A. Woodall, L. C. Sleight, V. Rogers, A. D. Coppock, R. 2014. «The deep sea is a major sink for microplastic debris.» *Royal Society Open Science* 140317-140317.
- Njuguna, John Kariuki. 2018. «The Efficacy of the ban on use of plastic bags in Kenya.» *Journal of cmsd* 91-101.
- Nuelle, Marie-theres Dekiff, Jens H Remy, Dominique Fries, Elke. 2014. «A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments.» *Environmental Pollution* 161-169.

- Olivatto, Glauca P. Martins, Maria Clara T. Montagner, Cassiana C. Henry, Theodore B. Carreira, Renato S. 2019. «Microplastic contamination in surface waters in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil.» *Marine Pollution Bulletin* 157-162.
- Pan, Zhong Guo, Huige Chen, Hongzhe Wang, Sumin Sun, Xiuwu Zou, Qingping Zhang, Yuanbiao Lin, Hui Cai, Shangzhan Huang, Jiang. 2019. «Microplastics in the Northwestern Pacific: Abundance, distribution, and characteristics.» *Science of the Total Environment* 1913-1922.
- Peacock, Andrew J. 2000. *Handbook of polyethylene: structures, properties, and applications*. CRC Press.
- Peng, Guyu Zhu, Bangshang Yang, Dongqi Su, Lei Shi, Huahong Li, Daoji. 2017. «Microplastics in sediments of the Changjiang Estuary, China.» *Environmental Pollution* 283-290.
- Perin, G. Bonardi, M. Fabris, R. Simoncini, B. Manente, S. Tosi, L. Scotto, S. 1997. «Heavy metal pollution in central venice lagoon bottom sediments: Evaluation of the metal bioavailability by geochemical speciation procedure.» *Environmental Technology (United Kingdom)* 593-604.
- Prunier, Jonathan Maurice, Laurence Perez, Emile Gigault, Julien Pierson Wickmann, Anne Catherine Davranche, Mélanie Halle, Alexandra ter. 2019. «Trace metals in polyethylene debris from the North Atlantic subtropical gyre.» *Environmental Pollution* 371-379.
- Qiu, Qiongquan Peng, Jinping Yu, Xubiao Chen, Fangchaizi Wang, Jundong Dong, Fenqiang. 2015. «Occurrence of microplastics in the coastal marine environment: First observation on sediment of China.» *Marine Pollution Bulletin* 274-280.
- Qiu, Qiongquan 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* 102-109.
- Quinn, Brian Murphy, Fionn Ewins, Ciaran. 2017. «Validation of density separation for the rapid recovery of microplastics from sediment.» *Analytical Methods* 1491-1498.
- R. Thompson, S. Swan, C. Moore et al. 2009. «Our plastic age.» *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 1973-1976.
- R. Thompson, Y. Olson, R. Mitchell et al. 2004. «Lost at Sea: Where Is All the Plastic?» *Science* 838.
- Richard, Heather Carpenter, Edward J. Komada, Tomoko Palmer, Peter T. Rochman, Chelsea M. 2019. «Biofilm facilitates metal accumulation onto microplastics in estuarine waters.» *Science of the Total Environment* 600-608.
- Rillig, Matthias C. 2012. «Microplastic in terrestrial ecosystems and the soil?» *Environmental Science and Technology* 6453-6454.

- Rocha-Santos, Teresa Duarte, Armando C. 2015. «A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment.» *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 47-53.
- Rochman, Chelsea M. Kross, Sara M. Armstrong, Jonathan B. Bogan, Michael T. Darling, Emily S. Green, Stephanie J. Smyth, Ashley R. Veríssimo, Diogo. 2015. «Scientific Evidence Supports a Ban on Microbeads.» *Environmental Science and Technology* 10759-10761.
- Roy, Prasun K. Hakkarainen, Minna Varma, Indra K. Albertsson, Ann Christine. 2011. «Degradable polyethylene: Fantasy or reality.» *Environmental Science and Technology* 4217-4227.
- Sfriso, A. Marcomini, A. Pavoni, B. 1987. «Relationships between macroalgal biomass and nutrient concentrations in a hypertrophic area of the Venice Lagoon.» *Marine Environmental Research* 297-312.
- Sfriso, A. Pavoni, B. Marcomini, A. Orio, A. A. 1988. «Annual variations of nutrients in the Lagoon of Venice.» *Marine Pollution Bulletin* 54-60.
- Sfriso, A. Pavoni, B. Marcomini, A. Orio, A. A. 2006. «Macroalgae, Nutrient Cycles, and Pollutants in the Lagoon of Venice.» *Estuaries* 517-528.
- Smith, Luke G. F. Hoang, Nguyen Shaikhouni, Ammar Viljoen, Stephanus. 2019. «Sublaminar polyester bands as a salvage fixation method in the cervical spine: novel application in two patients.» *Journal of Neurosurgery: Spine* 729-861.
- Vert, Michel Doi, Yoshiharu Hellwich, Karl-heinz Hess, Michael Hodge, Philip Kubisa, Przemyslaw Rinaudo, Marguerite Schué, François. 2012. «Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012).» *Pure and Applied Chemistry*, 11 01: 377-410.
- Vianello, A. Boldrin, A. Guerriero, P. Moschino, V. Rella, R. Sturaro, A. Da Ros, L. 2013. «Microplastic particles in sediments of Lagoon of Venice, Italy: First observations on occurrence, spatial patterns and identification.» *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 54-61.
- Vianello, Alvise Da Ros, Luisa Boldrin, Alfredo Marceta, Tihana Moschino, Vanessa. 2018. «First evaluation of floating microplastics in the Northwestern Adriatic Sea.» *Environmental Science and Pollution Research* 28546-28561.
- Viti, Angelo. 2017. «L'Ente Italiano di Accreditamento.» *accredia.it*. Consultato il giorno luglio 23, 2019. https://www.accredia.it/app/uploads/2005/10/290_18b_viti_incerteza_metodi_microbiologici.pdf.
- Wang, Jundong Tan, Zhi Peng, Jinping Qiu, Qiongquan Li, Meimin. 2016. «The behaviors of microplastics in the marine environment.» *Marine Environmental Research* 7-17.

- Wolff, Sebastian Kerpen, Jutta Prediger, Jürgen Barkmann, Luisa Müller, Lisa. 2019. «Determination of the microplastics emission in the effluent of a municipal waste water treatment plant using Raman microspectroscopy.» *Water Research X* 100014.
- Wright, Stephanie L Thompson, Richard C Galloway, Tamara S. 2013. «The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review.» *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* 483-492.
- Xia Zheng-bin, Tu Wei-ping, Yang Zhuo-ru, Chen Huan-qin. 2001. «Application of Solubility Parameters in the Development of High Performance Acrylic-Urethane Coatings.» *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities* 2001-01.
- Zhang, Hua. 2017. «Transport of microplastics in coastal seas.» *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 74-86.
- Zhao, Jianmin Ran, Wen Teng, Jia Liu, Yongliang Liu, Hui Yin, Xiaonan Cao, Ruiwen Wang, Qing. 2018. «Microplastic pollution in sediments from the Bohai Sea and the Yellow Sea, China.» *Science of The Total Environment* 637-645.
- Zhao, Shiye Zhu, Lixin Wang, Teng Li, Daoji. 2014. «Suspended microplastics in the surface water of the Yangtze Estuary System, China: First observations on occurrence, distribution.» *Marine Pollution Bulletin* 562-568.

RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare il relatore di questa tesi, il professor Andrea Gambaro, per l'aiuto e la disponibilità che mi ha fornito durante il periodo di tirocinio. Soprattutto per la grande passione che mette nel suo lavoro e per avermi insegnato (già nel suo corso *metodologie chimico-analitiche applicate all'ambiente*) la grande soddisfazione che può dare un lavoro sperimentale, se affrontato con impegno e dedizione, attraverso la sua nota frase "la ricerca è sofferenza". Ringrazio la Dott.ssa Fabiana Corami per avermi presentato questo progetto innovativo e per avermi dato la possibilità di mettermi in gioco. La ringrazio inoltre per l'aiuto datomi nel proseguimento delle analisi.

Un doveroso ringraziamento va ovviamente alla mia famiglia senza la quale non sarei mai riuscita a portare a termine questo percorso. Li ringrazio per essere sempre stati consapevoli del valore dell'istruzione e per avermi sempre sostenuto. Dedico a loro questo ultimo passo nella carriera accademica in segno di riconoscimento per gli sforzi sostenuti.

Un grazie sincero va a tutti i miei compagni di corso in particolare a Beatrice, Silvia e Mattia per aver condiviso con me questo percorso universitario, per l'amicizia e per i consigli che hanno sempre saputo darmi durante questi anni. Ringrazio i ricercatori del Delta per il clima di amicizia ed entusiasmo che sono riusciti a trasmettermi durante le pause pranzo condivise che mi caricavano sempre di quella gioia necessaria, soprattutto ringrazio Matteo e Elena A. per avermi saputo ascoltare e consigliare.

Un particolare grazie va alla mia amica e coinquilina Chiara per avermi sempre sostenuta in ogni mia scelta e per aver condiviso assieme momenti di gioia quotidiana ma anche di ansia che, si sa, ad uno studente universitario non manca mai.

Un sentito ringraziamento va al mio amico Lorenzo per tutti i momenti di condivisione davanti ad un caffè, per le lunghe chiacchierate che riuscivano in pochi minuti a riportare quel clima di serenità di cui avevamo bisogno.

Per ultimo, ma non meno importante, ringrazio Mauro per esserci sempre stato, per aver affrontato con me ogni momento di questo percorso, per aver festeggiato insieme ogni vittoria e per aver rappresentato un punto sicuro per rialzarmi ad ogni difficoltà.