



Università  
Ca' Foscari  
Venezia

Corso di Laurea Magistrale  
in chimica e tecnologie sostenibili  
(LM-54)

Tesi di Laurea Magistrale

Small microplastic (5-100 $\mu$ m) e altre  
componenti del microlitter in esemplari di  
*Mytilus galloprovincialis*  
della Laguna di Venezia.

**Relatore**

Dr. Fabiana Corami

Ch. Prof. Andrea Gambaro

**Correlatore**

Dr. Elena Gregoris

**Laureando**

Marta Greco

Matricola 859944

**Anno Accademico**

2021 / 2022

<b>1. OBIETTIVI DELLA TESI</b>	<b>3</b>
<b>2. INTRODUZIONE</b>	<b>4</b>
2.1 STATO DELL'ARTE	4
2.2 MICROPLASTICHE: UN PROBLEMA EMERGENTE	5
2.3 MYTILUS GALLOPROVINCIALIS	8
2.3.1 IL RUOLO DEL <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> NELLA STORIA DELLA PESCA VENEZIANA	10
2.3.2 MYTILUS GALLOPROVINCIALIS COME ORGANISMO INDICATORE	12
2.3.3 ASSORBIMENTO DELLE MPs NEI MITILI	13
<b>3 MATERIALI E METODI</b>	<b>15</b>
3.1 AREA DI STUDIO	15
3.2 STAZIONI DI CAMPIONAMENTO E RACCOLTA DEI CAMPIONI	16
3.3 ESTRAZIONE, PURIFICAZIONE E FILTRAZIONE DELLE SMPs E ALTRE COMPONENTI DEL MICROLITTER	17
3.4 IDENTIFICAZIONE E QUANTIFICAZIONE	20
3.4.1 LA SPETTROSCOPIA INFRAROSSA A TRASFORMATA DI FOURIER MICRO-FTIR	20
3.4.2 PIROLISI-GAS CROMATOGRAFIA-SPETTROMETRIA DI MASSA	24
<b>4. DISCUSSIONE E RISULTATI</b>	<b>28</b>
<b>5. CONCLUSIONI</b>	<b>49</b>
<b>APPENDICE 1</b>	<b>52</b>
<b>APPENDICE 2</b>	<b>54</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>55</b>
<b>SITOGRAFIA</b>	<b>60</b>

# 1. OBIETTIVI DELLA TESI

Il seguente elaborato di tesi ha come obiettivo quello di affermare il ruolo del *Mytilus galloprovincialis* come organismo indicatore, dimostrando che l'accumulo di microplastiche avviene principalmente per ingestione. Il *Mytilus galloprovincialis* è stato raccolto in diversi siti con caratteristiche differenti nella laguna di Venezia; l'identificazione e la quantificazione è stata condotta tramite lo strumento Micro- FTIR.

Il *Mytilus galloprovincialis* funge da organismo-sentinella nel monitoraggio dell'inquinamento delle acque costiere come, in questo caso, la laguna di Venezia. Questo mitilo è un filtratore sedentario, che tramite l'accumulo di diversi inquinanti nei tessuti, fornisce una risposta specifica relativa al grado di inquinamento delle acque.

Il mare, infatti, considerato da sempre come uno "scarico naturale" è stato protagonista di un progressivo degrado a seguito della continua immissione di contaminanti. Ad oggi, la popolazione mondiale è più che triplicata, così come è salito vertiginosamente il quantitativo di xenobiotici in mare. Tutte queste sostanze producono effetti dannosi su flora e fauna, e a seguito della loro persistenza in natura, gli xenobiotici non rimangono localizzati nelle zone di scarico, ma è possibile ritrovarli anche a notevoli distanze. Tra gli xenobiotici troviamo la plastica, un polimero che, in base alle sue proprietà chimico-fisiche, è ampiamente utilizzato nella vita di tutti i giorni.

La costante immissione di plastiche da parte dell'uomo nell'ambiente, la sua persistenza e il suo continuo degradarsi in pezzi sempre più piccoli possono, non solo essere nocivi per molti organismi viventi, ma anche per l'uomo. Le *small microplastics* (< 100 µm), infatti, vengono scambiate per cibo dagli invertebrati marini e possono percorrere tutta la catena alimentare fino a raggiungere l'uomo.

L'altro obiettivo di questo elaborato è l'intercalibrazione tra due tecniche differenti: il Micro-FTIR e la pirolisi accoppiata alla gas cromatografia-spettrometria di massa (Pyr-GC/MS). Lo scopo finale è quello di dimostrare, tramite il confronto di queste tecniche, la presenza delle SMPs nella Laguna.

## 2. INTRODUZIONE

### 2.1. STATO DELL'ARTE

La crescente attenzione verso i temi “ambientali” è una delle conseguenze dirette del rapporto disfunzionale tra Uomo e Ambiente. Le terre così come gli oceani e l'atmosfera sopportano ogni anno la costante immissione di milioni di tonnellate di sostanze chimiche prodotte dalle attività umane capaci di produrre alterazioni misurabili della composizione pristina delle principali componenti della biosfera (Bacci & Vighi, 1998).

Lo stato chimico delle acque dei fiumi, dei laghi, delle acque marine costiere e delle falde sotterranee sono state per decenni utilizzate come discariche per smaltire (in maniera più o meno legale) i reflui delle lavorazioni industriali che si sono sviluppate nei nostri territori dall'inizio del secolo scorso (Sfriso et al., 2020).

A questo proposito, la produzione mondiale di plastica dal 1950 è passata da 1,7 a 348 milioni di tonnellate nel 2017, con un aumento proporzionale della produzione di rifiuti plastici (Sfriso et al., 2020). L'enorme quantità di plastica prodotta fino ad oggi e il fatto che la maggior parte di queste plastiche è scarsamente riciclata, fanno stimare un accumulo di rifiuti plastici in ambiente che nel 2050 sarà pari a 12.000 Mt. Una delle problematiche principali dello sversamento della plastica è data dal fatto che tende a sopravvivere per decenni e a diventare sempre più piccola (fino a raggiungere la scala nanometrica) a causa alla degradazione fisica e degli agenti atmosferici (Sarcelletti et al., 2021).

Le piccole dimensioni di queste sostanze chimiche le rendono, quindi, disponibili per una serie di invertebrati marini (Kolandhasamy et al., 2018). Gli invertebrati ingeriscono le particelle di cibo in base alle dimensioni del loro apparato boccale che presentano una dimensione inferiore alle 100 µm.

Le MP <100 µm (piccole microplastiche, SMP), così come gli additivi, i plastificanti e altri componenti di microlitter (ad esempio, fibre sintetiche naturali e non plastiche; APF), possono essere scambiati per particelle di cibo, ingeriti ed entrare nella rete trofica (Corami et al., 2022). In questo studio si vuole quantificare e identificare la presenza di *small microplastics* (SMPs, 5-100 µm) nella

laguna di Venezia analizzando alcuni esemplari di *Mytilus galloprovincialis* raccolti in diversi siti della Laguna stessa. In questo contesto il mitilo funge da “organismo indicatore” in quanto si nutre di sostanze filtranti e per questi motivi consente di avere una fotografia sul grado di contaminazione da SMPs. L’analisi effettuata sul *Mytilus galloprovincialis* permette di inquadrare il grado di contaminazione di SMPs attuale di un sistema acquatico di transizione: infatti, già a partire dagli anni ‘20 è stato protagonista di un progressivo deterioramento ambientale a seguito delle attività industriali, delle monoculture agricole, degli scarichi urbani, delle attività di pesca e di acquacoltura (Milan et al., 2016, Libralato et al., 2004, Sfriso et al., 2021).

Le *small microplastics* sono state quantificate e caratterizzate con la spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (Micro-FTIR, nota anche come  $\mu$ -FTIR). Il Micro-FTIR è una tecnica non distruttiva che consente la quantificazione e l’identificazione simultanea di MP > 100  $\mu$ m, SMP e altri componenti di microlitter (Corami et al., 2021). I risultati ottenuti sono stati confrontati con la pirolisi accoppiata alla gas cromatografia-spettrometria di massa (Pyr-GC/MS). Differentemente dalla prima tecnica di analisi, la Pyr-GC/MS è una tecnica distruttiva che permette di identificare i polimeri attraverso i loro prodotti di pirolizzazione.

## 2.2. MICROPLASTICHE: UN PROBLEMA EMERGENTE

Dalla fine del secolo scorso i prodotti delle industrie chimiche sono sempre più presenti nella vita quotidiana. Queste sostanze, sebbene contribuiscano in modo sostanziale agli elevati standard di vita, sono un nuovo tipo di inquinamento ambientale e un possibile rischio per la salute dei consumatori (Kümmerer, 2011).

Dagli anni ’50 la produzione di plastica è in continuo aumento e, dando uno sguardo al futuro, sembra inevitabile che il *trend* possa invertirsi. Solo nel 2016 sono stati prodotti 335 milioni di tonnellate, di cui 60 milioni provenienti dall’Europa. Sebbene la plastica sia un materiale fondamentale per ogni società, allo stesso tempo, risulta essere un pericolo per l’ambiente soprattutto quando viene smaltita e non correttamente riciclata (Iannilli et al., 2020).

L'UNEP (2011) definisce la contaminazione ambientale da detriti di plastica uno dei principali problemi globali emergenti per la sua persistenza, ubiquità e potenziale minaccia per gli organismi. Negli ambienti marini i detriti di plastica sono stati documentati fin dagli anni '70 e ora si notano dispersioni in tutti gli ambienti acquatici, compresi quelli incontaminati come le profondità marine, l'Oceano Artico e l'Antartide (Iannilli et al., 2020).

Sono, però, le plastiche di dimensioni inferiori a 100  $\mu\text{m}$  a destare più preoccupazione in quanto vengono ingerite da una varietà di organismi: invertebrati, pesci, uccelli e mammiferi. Negli ambienti marini, va sottolineato, che gli organismi ingeriscono particelle di plastica e altri componenti di microlitter (ad esempio, additivi, plastificanti, fibre naturali, fibre sintetiche non plastiche (APF)) in base alle dimensioni del loro apparato boccale. Il risultato è che gli invertebrati, prede di altri organismi della rete alimentare, ingeriscono solitamente particelle di dimensioni inferiori a 100  $\mu\text{m}$  (*small microplastics* SMPs); queste particelle possono quindi entrare nella rete alimentare, accumularsi e rappresentare una minaccia per gli organismi di livelli trofici superiori, compresi gli esseri umani (Corami et al. 2022).

Un esempio lo fornisce lo studio di Iannilli et al, (2019), che ha fornito la prima testimonianza di ingestione di microplastiche da parte di *Gammarus setosus* dell'arcipelago delle Svalbard. Secondo lo studio la specie in esame ingerisce particelle di microplastica, se presenti nel suo habitat, scambiandole per cibo. Le particelle di microplastica ingerite possono essere disponibili per l'assorbimento da parte dei predatori che consumano questo anfipode artico, producendo conseguenze sulla rete alimentare (Iannilli et al., 2019).

Il termine microplastica è entrato nell'uso comune solo da un decennio e vuole descrivere una miscela eterogenea di particelle con dimensioni che vanno da pochi micron a diversi millimetri di diametro, comprese particelle di varie forme, da quelle completamente sferiche alle fibre allungate (Thompson, 2019). Secondo la definizione data dall'ECHA (2019), vengono classificate come un materiale composto da particelle solide contenenti polimeri, a cui possono essere stati aggiunti additivi o altre sostanze, con dimensioni delle particelle comprese tra 1 nm e 5 mm, lunghezze delle fibre comprese

tra 3 nm e 15 mm e un rapporto lunghezza/diametro  $>3$  (Corami et al., 2022).

Le microplastiche (MPs) si possono dividere in: primarie, prodotte come tali, che si diffondono direttamente in ambiente, e secondarie che derivano dalla degradazione di materiali plastici primari di maggiori dimensioni provenienti principalmente dalla fotodegradazione (Corami et al., 2020).

La concentrazione di microplastiche primarie in ambiente supera quelle secondarie e il contributo maggiore è costituito dallo spargimento di indumenti sintetici nelle lavatrici durante il bucato (35%), mentre altri contributi provengono dall'usura degli pneumatici (28%), dalla polvere urbana (24%) e, su scala minore, dai rivestimenti protettivi marini e dai prodotti per la cura personale (Corami et al., 2020).

A livello mondiale è il Mar Mediterraneo ad avere le più alte concentrazioni di MP, dovuto al flusso costante delle acque superficiali insieme con l'aumento della pressione antropica lungo le coste. Il Mar Mediterraneo contiene tra le 4,8 e le 30,3 mila tonnellate di plastica circa, pari al 5-10% della massa globale di plastica (Said et al., 2022). Il Mar Adriatico, braccio del Mar Mediterraneo, è caratterizzato anch'esso da una consistente contaminazione da detriti plastici, e studi recenti suggeriscono che la costa settentrionale dell'Adriatico sia vulnerabile all'accumulo di plastica sulle coste (Mistri et al., 2021).

La laguna di Venezia, localizzata nel Mar Adriatico, non è esente dalla contaminazione da microplastiche. Come tutti gli ambienti costieri, l'inquinamento può provenire sia da fonti terrestri che marini. In particolare, sono i volumi crescenti di affluenti agricoli, industriali o domestici, le attrezzature, le reti da pesca, il rivestimento e gli scafi delle barche ad incidere maggiormente nell'inquinamento dell'ambiente estuarino (Corami et al., 2022, Juhmani et al., 2021, Corami et al., 2021).

Negli ambienti di transizione, come la laguna di Venezia, solo le MPs più grandi sono state studiate in modo esaustivo, mentre le piccole particelle di microplastica (SMPs  $<100 \mu\text{m}$ ) sono sempre state trascurate (Corami et al., 2021). Le SMPs però, sono ampiamente distribuite nella colonna d'acqua e a causa delle ridotte dimensioni, come già descritto precedentemente, possono interagire con gli

organismi bentonici (Qu et al., 2018). Alcuni studi hanno osservato che a seguito dell'ingestione delle SMPs, da parte del biota si sono manifestati danni fisici come, ad esempio, intasamento, perforazione dell'intestino, lesioni ulcerative e rottura gastrica (Corami et al., 2020). Le MPs e le SMPs sono “contaminanti emergenti” in quanto ad oggi non esistono limiti di legge relativi alla loro abbondanza in ambiente o ai potenziali effetti tossici (Gogoi et al., 2018; Mistri et al., 2021). La parola “emergente”, tuttavia, si riferisce non solo al contaminante in sé, ma anche ad una preoccupazione emergente riguardo al contaminante: infatti, la scarsa regolamentazione e la poca conoscenza sulle caratteristiche chimico-fisiche e tossicologiche rendono queste sostanze un potenziale pericolo per tutte le specie (Rosenfeld, & Feng, 2011).

### 2.3. MYTILUS GALLOPROVINCIALIS

Il mitilo o muscolo o cozza (*Mytilus galloprovincialis* LAMARCK, 1819), Regolamento (CE) N. 1638/2001 e Regolamento (CE) N. 216/2009) è un mollusco bivalve presente nel Mar Mediterraneo e su tutta la fascia del Mare del Nord, in Atlantico sino alle isole Britanniche ([www.ilgiornaledemarinai.it](http://www.ilgiornaledemarinai.it), 2013).

Vive in colonie fissato sulle rocce dei litorali marini e viene riconosciuto per la conchiglia color nero-bluastro che ha il compito di proteggere il mitilo (Ghirardelli et al., 1971). Il *Mytilus galloprovincialis*, insieme alla vongola verace (*Ruditapes philippinarum*) e ai lupini (*Chamelea gallina*) è una delle specie di gran lunga più allevate/pescate nella laguna di Venezia e anche in altre aree costiere ([www.izsvenezie.it](http://www.izsvenezie.it)). A livello anatomico è formata da due valve tenute assieme da un legamento elastico posizionato nella parte dorsale del bivalve. Osservando attentamente, le valve presentano delle strie di accrescimento, indice di uno sviluppo discontinuo, dal momento che, nei periodi freddi, quando il cibo scarseggia, i mitili interrompono la crescita per poi riprenderla quando la temperatura dell'acqua ritornerà più mite (Ghirardelli et al., 1971).

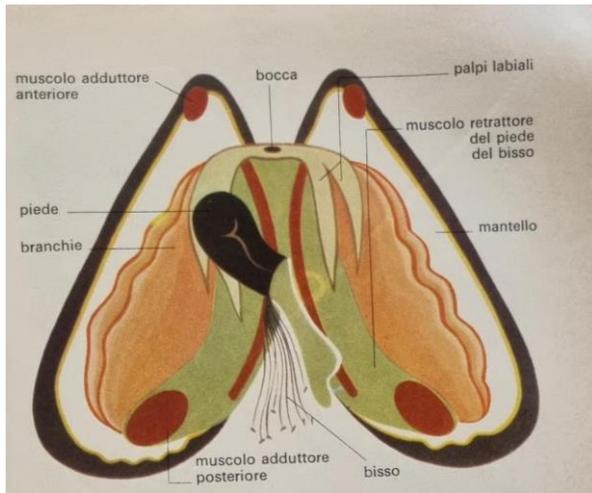


Figura 1 Organizzazione interna del mitilo (Ghirardelli et al., 1971)

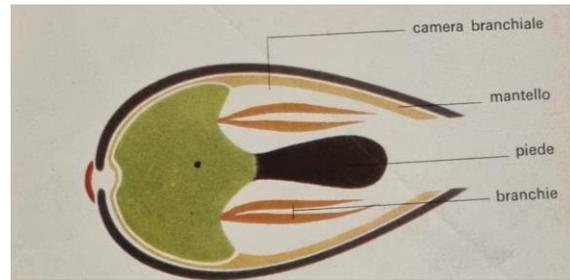


Figura 2 Mitilo in sezione trasversal (Ghirardelli et al., 1971)

Come si può osservare in *figura 1* e in *figura 2* il mitilo presenta due muscoli, un adduttore posteriore e un adduttore anteriore che hanno il compito di tenere le due valve chiuse (Ghirardelli et al., 1971). A seguire c'è il mantello, sede della gametogenesi, membrana giallastra che ricopre la superficie interna delle valve. Esso è formato da due lobi di tessuto connettivo, ricco di vasi emolinfatici, fibre muscolari e fibre nervose. All'interno, il mantello delimita la cavità palleale, mentre all'esterno, grazie a delle fibre muscolari, prende contatto con la conchiglia lungo una linea detta linea palleale. Nei mitili, una volta raggiunta la maturazione, il mantello diviene trasparente, ed è possibile osservare le gonadi, che assumono un colore rosa salmone negli esemplari "femminili" (*figura 3*) e bianco-giallastre o gialle negli esemplari "maschili" (*figura 4*). La maturità sessuale è raggiunta attorno ai 6 - 7 mesi di età (<http://www.biologiamarina.eu>, 2022).

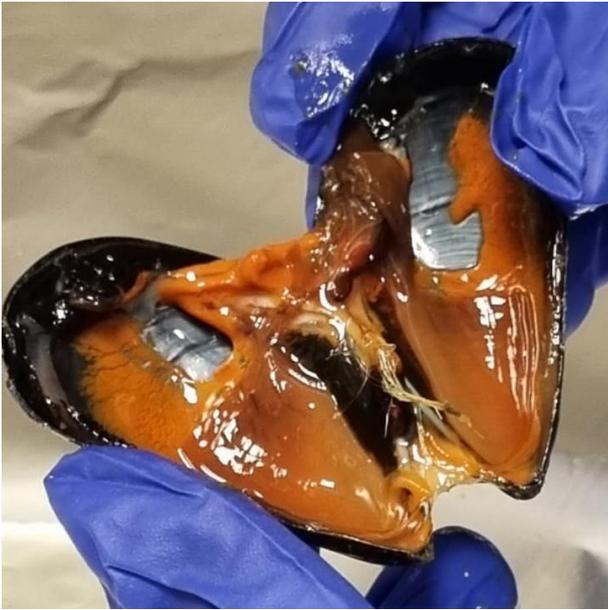


Figura 3 Esemplare femmina di *Mytilus galloprovincialis*



Figura 4 Esemplare maschile di *Mytilus galloprovincialis*

Verso il centro del bivalve si può osservare il piede da cui partono i filamenti del bisso, il quale consente alla cozza di rimanere ancorata alla superficie. Le branchie sono due per ogni lato del corpo, hanno forma lamellare e sono coperte da ciglia vibratili che, muovendosi, consentono gli scambi respiratori a livello dei vasi sanguigni. Infine, intestino, cuore e fegato possono essere osservati in trasparenza (Ghirardelli et al.,1971).

### 2.3.1 IL RUOLO DEL *Mytilus galloprovincialis* NELLA STORIA DELLA PESCA VENEZIANA

Differentemente da quanto ci si potrebbe aspettare il ruolo del *Mytilus galloprovincialis* nella storia della pesca nella laguna di Venezia non è sempre stato lo stesso. Sebbene l'attività di pesca sia una pratica di origine antica, stupisce che questo bivalve sia entrato nella dieta veneziana solo nel 1939, grazie al pescatore marchigiano Alfredo Gilebbi, che fu il primo ad istituire un allevamento di mitili lagunari. Prima dell'introduzione della mitilicoltura, i pescatori consideravano la "cozza" come un parassita, una pulce, tanto da schiacciarli quando si impigliavano nelle reti da pesca. La connotazione

negativa della cozza è dovuta al fatto che in Europa era percepita come un alimento malsano e velenoso.

Fortunatamente questa concezione venne meno nei decenni successivi; infatti, si iniziò a credere che con l'uso di sostanze acide, come l'aceto o il vino, potessero neutralizzare il “veleno” presente in questi molluschi. Inoltre, vivendo in “*acqua mestisa*”, un misto di acqua di mare e di acqua dolce portata dai fiumi ricca di sostanze nutritive, le cozze sono state rivalutate dal punto di vista alimentare, trasformandosi da molluschi indigeribili in un sinonimo di cibo sano e naturale per i mangiatori di oggi.

Negli anni '70 l'agricoltura e il commercio di cozze divenne un vero e proprio successo socioeconomico: Venezia raggiunse un benessere fino ad allora mai conosciuto e destinato a durare nei decenni successivi.

Da quel momento in poi, la cultura della pesca, così come quella della mitilicoltura, vengono tramandate di generazione in generazione tanto da utilizzare gli stessi strumenti e tecniche usati nel passato. (Vianello, 2021). La pesca, sebbene abbia portato in laguna un benessere socio-economico importante, è stata riconosciuta come l'attività umana più diffusa per lo sfruttamento dell'ambiente marino lagunare (Jennings e Kaiser, 1998) ed attualmente come una delle cause del cambiamento della biodiversità acquatica (NRC, 1995).

La continua risospensione dei sedimenti causata dalle tecniche di raccolta ha fortemente influenzato l'habitat bentonico, riducendo la trasmissione della luce e alterando la compattezza e la consistenza del sedimento e l'ossigenazione (Facca et al., 2014). Il risultato di questa attività, via via sempre più intensa, ha portato alla riduzione delle comunità fito e zoobentoniche (Sfriso et al., 2004). La mancanza di un'adeguata regolamentazione e di un piano di sfruttamento sostenibile ha determinato una costante e drammatica diminuzione della produzione, sino alla trasformazione della raccolta libera nell'attività di coltivazione impostata sulla gestione del seme naturale (Boscolo Brusá et al., 2013).

Ad oggi una delle più importanti leggi a livello Europeo per la protezione dell'ambiente lagunare è “*La Direttiva Quadro sulle acque*” (2000/60/EC) che richiede agli Stati Membri dell'Unione Europea di stabilire obiettivi di qualità ecologica e standard di qualità ambientale per tutte le acque superficiali, che comprendono le acque di transizione e le acque marine costiere ([www.sistemavenezia.regione.veneto.it](http://www.sistemavenezia.regione.veneto.it), 2022).

Grazie all'attenzione rivolta verso questo ambiente “delicato” e alla volontà di salvaguardare la biodiversità mediante la conservazione degli habitat naturali, sono nate le valli da pesca. Le valli da pesca sono allevamenti estensivi nei quali l'accrescimento del pesce è subordinato unicamente alla naturale produttività dell'habitat acquatico. Queste tecniche colturali a basso contenuto energetico, rispetto a quelle più produttive costituite dai sistemi intensivi, presentano l'indubbio vantaggio di contribuire in modo fattivo, attraverso la gestione dell'ambiente vallivo, alla conservazione dell'habitat lagunare (Granzotto et al., 2015).

### 2.3.2 *Mytilus galloprovincialis* COME ORGANISMO INDICATORE

Quanto riportato sopra è relativo al *Mytilus galloprovincialis* come alimento e fonte di profitto all'interno della attività di pesca. In questo paragrafo, invece, lo si vuole analizzare come “organismo indicatore”. Il termine “organismo indicatore” o “bioindicatore”, intende un organismo biologico che, grazie alle sue strutture biologiche è in grado di indicare, attraverso una relazione di causa-effetto, lo stato ecologico ambientale (Mariné Oliveira et al., 2016, Li et al. 2019).

L'utilizzo del bioindicatore consente di valutare direttamente lo stato di salute delle comunità biologiche di un corpo d'acqua, grazie alla variazione di parametri biochimici, fisiologici o comportamentali (Bacci & Vighi, 1998). Sicuramente la scelta dell'“organismo indicatore” non è così facile in quanto, si deve tener conto non solo della sensibilità degli organismi agli stress ambientali, ma anche all'*optimum* ecologico, alla loro distribuzione nell'area di interesse, alla scarsa mobilità, all'uniformità genetica e al lungo ciclo di vita. Fra gli organismi più utilizzati si ritrovano i macrovertebrati bentonici, poiché sono facilmente campionabili e consentono di conoscere, in modo

esclusivo, le condizioni ecologiche locali (Bacci & Vighi, 1998).

Il *Mytilus galloprovincialis*, rientra ampiamente nella definizione di bioindicatore proprio per la sua abilità di accumulare metalli e contaminanti organici, per la sua immobilità e per la sua limitata capacità di metabolizzare i contaminanti accumulati (Andreotti, 2012).

### 2.3.3 ASSORBIMENTO DELLE MP<sub>s</sub> NEI MITILI

Come descritto nei paragrafi precedenti la cozza è un ottimo organismo sentinella che riesce a rappresentare in modo esaustivo la condizione ecologica di un ambiente. Tuttavia, essendo le microplastiche (MP) un contaminante emergente, oltre a mancare una normativa chiara, è assente una linea guida per il mondo scientifico che propone un metodo di analisi e di quantificazione standard con l'obiettivo di ottenere risultati comparabili (Fernández et al., 2019; Andrady, 2017; Iannilli et al., 2020).

Questi metodi differiscono per molti aspetti, come la strategia di campionamento, l'elaborazione dei campioni in laboratorio (ad esempio, metodo di digestione, separazione della densità, filtrazione, setacciatura, selezione e separazione) e la caratterizzazione e quantificazione delle MP (frazioni dimensionali, morfologia, caratterizzazione fisica, composizione chimica) (Fernández et al., 2019).

Alcuni studi in laboratorio hanno effettuato delle indagini di esposizione per comprendere i meccanismi principali di assorbimento di plastiche da parte dei mitili. È stato rinvenuto che, a seguito dell'esposizione di microplastiche > 100 µm, queste non potevano entrare nel sistema circolatorio ed essere trasferite agli organi non deputati all'ingestione. Questi risultati suggeriscono che è impossibile che le MP vengano assorbite negli organi non ingerenti attraverso il processo di ingestione. Pertanto, le MP > 100 µm potrebbero essere presenti nel *body burden* per adesione. Allo stesso modo, tuttavia, la concentrazione di MP > 100 µm non è indicativa dell'effettiva quantificazione di MP presenti in ambiente dal momento che, così come le particelle si sono adese, possono anche staccarsi dal mitilo a causa di fattori esterni (Kolandhasamy et al. 2018). Viceversa, le particelle di MP <100 µm vengono ingerite: una parte di queste si bioaccumula nell'organismo, mentre il restante viene espulso come

feci o pseudo feci (Li et al. 2021).

È importante mettere in luce che gli studi di esposizione da microplastiche negli invertebrati bentonici in condizioni di laboratorio mancano di realismo ambientale, tuttavia, consentono di avere un'idea su quanto potrebbe avvenire in ambiente (Corami et al., 2020).

In condizioni di campo lo studio di Corami et al. (2020) mostra che i bivalvi in esame, *Crassostrea gigas*, ingeriscono SMPs. La selezione da parte dell'ostrica viene giustificata con la sua alimentazione. Infatti, le ostriche del Pacifico si nutrono di seston, composto da organismi (bioseston) e materia non vivente (tripton) che nuotano o galleggiano nell'acqua. A causa delle loro dimensioni, le small microplastics possono far parte del tripton e quindi essere ingerite da molluschi bivalvi come le ostriche (Corami et al., 2020).

### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1. AREA DI STUDIO

Laguna di Venezia è il più grande corpo idrico salmastro del Mediterraneo e si è formata 6000 anni fa dal lavoro sincrono dei processi continentali e marini. È un sistema costiero poco profondo (circa 1m) con una superficie di 550 km<sup>2</sup>. Situata nel Mar Adriatico settentrionale tra le foci dei fiumi Piave e Brenta si presenta come un bacino semichiuso, salmastro e comunica con il mare attraverso tre bocche di porto: Lido, Malamocco, Chioggia (Ghinassi et al. 2018).



Figura 5 Laguna di venezia (<https://www.mosevenezia.eu/ecosistema/>, 2022)

### 3.2. STAZIONI DI CAMPIONAMENTO E RACCOLTA DEI CAMPIONI

In questo elaborato di tesi sono stati campionati esemplari di *Mytilus galloprovincialis* raccolti nelle bricole di quattro stazioni della laguna di Venezia (tabella 1). Gli esemplari campionati sono stati avvolti nella carta stagnola e conservati in una ghiacciaia fino all'arrivo in laboratorio.

Tabella 1 stazioni di campionamento

STAZIONE	BACINO	MAPPA
<b>PALUDE MAGGIORE 4</b>	nord	B
<b>OTTAGONO SAN PIETRO 4</b>	centro	M
<b>7 MORTI 2</b>	sud	N
<b>PELLESTRINA 4</b>	sud	O

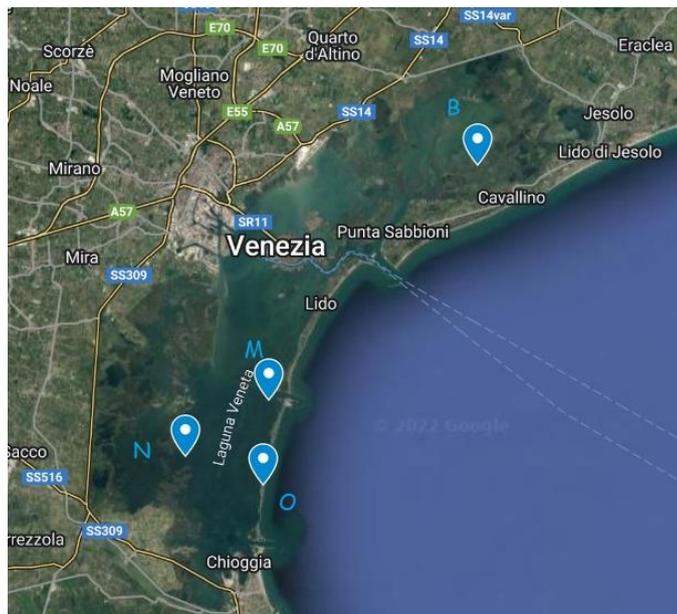


Figura 6 Mappa delle stazioni di campionamento del *Mytilus galloprovincialis*

### 3.3. ESTRAZIONE, PURIFICAZIONE E FILTRAZIONE DELLE SMPs E ALTRE COMPONENTI DEL MICROLITTER

La fase di estrazione, purificazione e filtrazione delle SMPs è stata effettuata in una camera bianca ISO 7 priva di plastica per ridurne al minimo la contaminazione. Prima di ogni operazione, vetreria e strumenti sono stati lavati, risciacquati con acqua ultra-pura (UW) e decontaminati con una soluzione di 50% (v/v) metanolo (per HPLC  $\geq 99,9\%$  Sigma Aldrich, Merck, Darmstadt, Germania) ed etanolo (assoluto, per HPLC,  $\geq 99,8\%$  Sigma Aldrich, Merck, Darmstadt, Germania) e infine con etanolo puro. Sono stati indossati camici di cotone e guanti in nitrile.

Dopo l'apertura della conchiglia del *Mytilus galloprovincialis*, l'organismo intero è stato messo in un contenitore di vetro precedentemente decontaminato. La procedura è stata ripetuta fino al raggiungimento di un peso complessivo tra i 13 e i 15 grammi (appendice 1). La procedura di estrazione è stata successivamente eseguita aggiungendo etanolo/metanolo,  $H_2O_2$  e  $H_2O$  (rispettivamente 75 ml, 30ml, 95ml per un volume finale di 200 ml). La soluzione con gli organismi è stata messa in agitazione a temperatura ambiente per 96 ore a 140 rpm.



Figura 7 *Mytilus galloprovincialis* dopo il campionamento

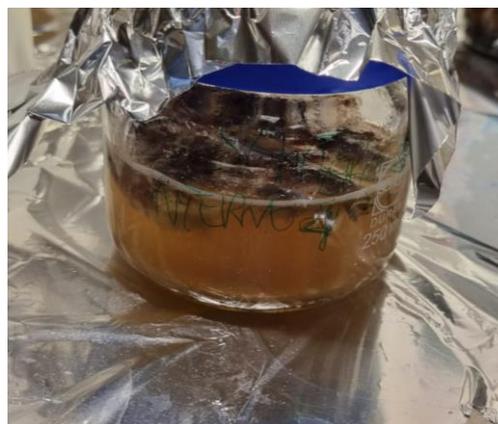


Figura 8 soluzione di estrazione

La procedura di estrazione è stata eseguita per rimuovere i residui di materia organica e i materiali biologici dalle MP, poiché la presenza di questi può interferire fortemente con la loro identificazione. In questo metodo è stato utilizzato il perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ , 30%, Merck, Germania) e non

acidi o alcali forti in quanto reagenti aggressivi che potrebbero denaturare o degradare i polimeri, così come temperature elevate e tempi prolungati. In particolare, è il Nylon (PA6) che potrebbe essere perso maggiormente in quanto la sua temperatura di transizione vetrosa ( $T_g$ ) è di 55-60 °C. Una temperatura  $> 50$  °C e un tempo prolungato della procedura di estrazione possono denaturare i polimeri, soprattutto quelli con una bassa tolleranza al pH (come il PA 6). La temperatura di transizione vetrosa ( $T_g$ ) è la temperatura critica alla quale un materiale cambia le sue caratteristiche da "materiale vetroso" a "materiale gommoso"; quando, infatti, un polimero plastico viene gradualmente riscaldato, sviluppa un grado di morbidezza o flessibilità a una specifica  $T_g$ . Conseguentemente, la temperatura impiegata nella procedura di estrazione può influenzare le caratteristiche di un polimero in base alla sua  $T_g$  (Corami et al., 2020, 2021). Per tali motivi l'identificazione delle SMPs potrebbe non essere ottimale quando si utilizza lo spettrometro FTIR (spettro infrarosso a trasformata di Fourier) o Micro-FTIR (Corami et al., 2020)

Per evitare la sottostima di MP e SMPs e una cattiva identificazione dei polimeri, quando vengono raccolti gli spettri FTIR/Micro-FTIR, dopo la procedura di digestione/estrazione, viene eseguita una procedura di purificazione. La procedura di purificazione avviene durante la fase di filtrazione, secondo Corami et al. (2020). Nella fase di diluizione sono stati presi 5 ml di digerito e sono stati aggiunti isopropanolo, 50% metanolo – etanolo, *n*-esano ed acqua. Per le stazioni di Pellestrina e Ottagono San Pietro 4, la diluizione è avvenuta in rapporto 1:17 mentre per le stazioni di, 7 morti 2 e Palude maggiore 4 la diluizione è avvenuta in rapporto 1:30. La differenza nelle diluizioni è giustificata dal fatto che, essendo la matrice biologica complessa, il filtrato di alcune stazioni risultava troppo carico di sostanze impedendo un'analisi ottimale al FTIR/Micro-FTIR.

Per la filtrazione è stato utilizzato un apparecchio di filtrazione in vetro e una pompa da vuoto Laboport® su filtri ANODISC (Supported Anopore Inorganic Membrane, 0,2  $\mu$ m, 47 mm, Whatman™, Merck, Darmstadt, Germania;). Prima della filtrazione i filtri ANODISC sono stati lavati con una soluzione 50% (v/v) etanolo/ metanolo. Durante la filtrazione, invece, una ulteriore soluzione 50% (v/v) etanolo/ metanolo e isopropanolo sono state aggiunte per rimuovere i residui di lipidi dal

filtro e dagli SMP. Infine, al termine della filtrazione il filtro è stato risciacquato con una soluzione di etanolo-metanolo al 50% (v/v).



*Figura 9 Filtro ANODISC al termine della filtrazione e purificazione*

Dopo la filtrazione e la purificazione, tutti i filtri sono stati conservati in piastre di Petri di vetro, coperti con fogli di alluminio e asciugati per 72 ore a temperatura ambiente nella camera bianca ISO 7.

### 3.4. IDENTIFICAZIONE E QUANTIFICAZIONE

#### 3.4.1 LA SPETTROSCOPIA INFRAROSSA A TRASFORMATATA DI FOURIER MICRO-FTIR

La spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR) è una tecnica spettroscopica di assorbimento non distruttiva che consente di determinare, attraverso l'interazione della luce nella regione dell'IR (lunghezza d'onda compresa tra 700 nm e 1 mm), la sostanza chimica presente nel campione. In particolare, attraverso questa tecnica, le molecole assorbono selettivamente le radiazioni di lunghezze d'onda specifiche che causano il cambiamento del momento di dipolo delle molecole del campione. Di conseguenza, i livelli di energia vibrazionale delle molecole si trasferiscono dallo stato fondamentale allo stato eccitato.

Negli spettrometri FTIR non ci sono elementi dispersivi e tutte le lunghezze d'onda sono rilevate e misurate contemporaneamente dall'interferometro (interferometro di Michelson) che produce il profilo di interferenza che contiene l'informazione spettrale infrarossa.

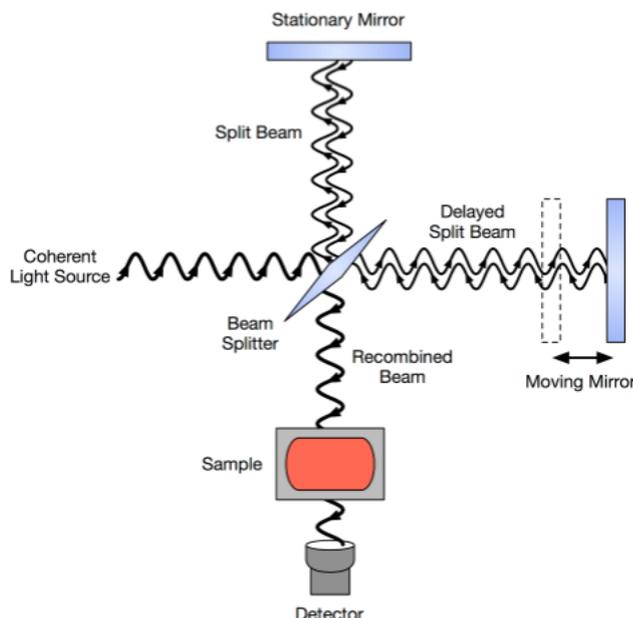
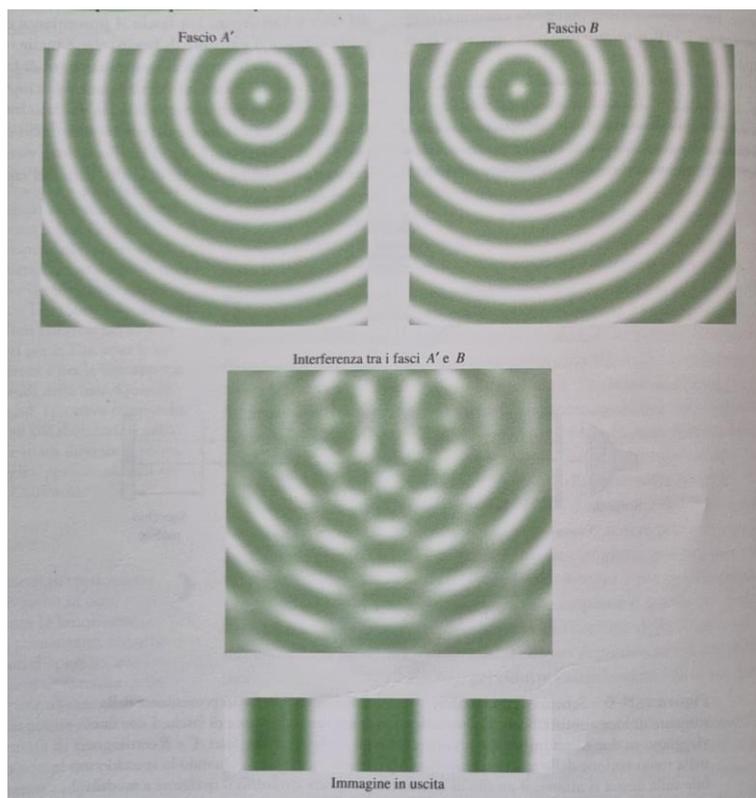


Figura 10 schema di un interferometro di Michelson (Crouch et al., 2015)

Come si osserva dalla figura 10 l'interferometro di Michelson consiste in una sorgente di luce continua, uno specchio fisso in alto, uno mobile a destra, un partitore di fascio e un rivelatore. Il punto chiave del funzionamento dell'interferometro è il partitore di fascio che, solitamente, è uno specchio

parzialmente argentato e fa sì che una frazione della luce passi attraverso di esso e raggiunga lo specchio mentre l'altra viene riflessa. Il dispositivo lavora in entrambe le direzioni, affinché la luce, colpendo entrambe i partitori del fascio, venga parzialmente riflessa e parzialmente trasmessa. In *figura 10*, se poniamo il *focus* sul percorso del raggio incidente, si nota che l'obiettivo di questo strumento, grazie al partitore di fascio e allo specchio mobile, è quello di ottenere un profilo di interferenza. Il profilo di interferenza si origina dalla divisione in due fasci del raggio incidente, questi si muovono su percorsi separati e solo in un secondo tempo si ricombinano in prossimità del rivelatore. Si ottiene così un'immagine con bande luminose nella regione dove le onde interferiscono costruttivamente e bande nere dove le onde interferiscono distruttivamente (*Figura 11*) (Crouch et al., 2015).



*Figura 11* Rappresentazione bidimensionale dell'interferenza di due fronti d'onda (Crouch et al.,2015)

Il profilo di interferenza arriverà al rivelatore sottoforma di profilo di intensità sinusoidale chiamato interferogramma. Per ottenere lo spettro delle frequenze l'interferogramma sarà decodificato dalla trasformata di Fourier che prende i segnali delle ampiezze del dominio del tempo e li converte in segnali di potenza nel dominio delle frequenze.

La microspettroscopia FT-IR (Micro-FTIR) è uno strumento che combina la spettroscopia FT-IR con la microscopia. Il Micro-FTIR è una tecnica innovativa dal momento che consente di identificare e confrontare le bande infrarosse con campioni sempre più piccoli grazie al miglioramento della risoluzione spaziale (Tagg et al., 2015). Per tali motivi è possibile quantificare e identificare simultaneamente i polimeri (Corami et al., 2021). Questa tecnica, inoltre, è particolarmente utile perché può essere utilizzata per identificare le microplastiche direttamente sui filtri. In questo lavoro di tesi è stato utilizzato il Micro-FTIR Nicolet™ iN™10 Infrared Microscope Thermo Scientific.

Il microscopio è dotato di due detector, il primo che lavora a temperatura ambiente (detector Deuterato Triglicina solfato (DTG)), il secondo raffreddato ad azoto liquido (Mercury Cadmium Telluride (MCT), detto anche cooled detector). L'analisi in micro-FTIR può essere condotta in trasmissione, riflessione e ATR. Il limite strumentale di rilevamento (LOD) delle dimensioni delle particelle in lunghezza è di 5  $\mu\text{m}$  (Corami et al., 2021).

Ogni filtro è stato posizionato sullo stadio automatizzato del Micro-FTIR ed è stato analizzato in modalità trasmittanza con la sezione Particle Wizards del software Omnic™ Picta™ (intervallo spettrale di 4000-1200  $\text{cm}^{-1}$ , scansione con passo di 100  $\mu\text{m}$  (risoluzione spaziale) con apertura di 100-100  $\mu\text{m}$  e 32 scansioni co-aggiunte alla risoluzione spettrale di 4  $\text{cm}^{-1}$ ; Corami et al., 2020). Sono stati selezionati 14 campi di conteggio (1,56  $\text{mm}^2$ ) senza sovrapposizioni e il fondo spettrale, ossia il bianco, è stato acquisito su un punto pulito di ciascun campo di conteggio. (Corami et al., 2020).

Al termine delle analisi si ottiene uno spettro IR dato dalla differenza tra l'interferogramma del campione e quello di riferimento. In uno spettro IR si possono distinguere due zone: la prima rappresenta i gruppi funzionali, mentre la seconda rappresenta le impronte digitali (*finger-print*)

uniche per ogni sostanza:

- Zona dei gruppi funzionali, si estende da 3800 a 1300  $\text{cm}^{-1}$  e comprende bande dovute sia a stiramenti che a deformazioni di gruppi funzionali (es. legami N-H, O-H, C-H, C=C, C=O, ecc.),
- Zona delle impronte digitali (*finger print*), da 1300 a 650  $\text{cm}^{-1}$ , che deve il suo nome alla presenza di bande caratteristiche di ciascuna molecola perché originate da vibrazioni dell'intero scheletro molecolare (Crouch et al., 2015).

Ogni spettro raccolto è stato identificato per confronto con una serie di librerie di riferimento e sono stati accettati solo gli spettri con una percentuale di corrispondenza (match %)  $\geq 65\%$ . Le dimensioni degli SMP (lunghezza e larghezza) sono state raccolte utilizzando la sezione Wizards (Corami et al., 2020).

Il numero totale di SMP per grammo ( $N_{tot}$ ) negli organismi è stato calcolato secondo l'equazione 1

$$(Eq. 1) \quad N_{tot} = \frac{(n * F)}{w}$$

dove n indica le microplastiche contate su ogni campo, w è il peso umido (espresso in grammi) degli organismi totali analizzati e F rappresenta il fattore di conteggio, calcolato come segue:

$$(Eq. 2) \quad F = \frac{\text{Area filtro}}{(\text{Area campo} * \text{numero campi})}$$

Le particelle di plastica sono state divise in base alle loro dimensioni in: sfera, ellissoide, cilindro e fibra. Per calcolare la grandezza delle SMPs è stata determinata l'area.

Di seguito è stato calcolato il peso (P) delle SMPs in accordo con l'equazione 3

$$(Eq. 3.) \quad P = \frac{W_{SMPs}}{w}$$

dove  $W_{SMPs}$  è il peso totale di piccole microplastiche,  $\mu\text{g}$ , e w è il peso umido (espresso in grammi) degli organismi analizzati. Il peso di ciascuna particella e/o fibra microplastica viene calcolato in base al suo volume (V) e alla sua densità ( $\rho$ ).

Il volume di ciascuna particella e/o fibra microplastica viene calcolato in base al rapporto di aspetto (rapporto di allungamento).

L' *aspect ratio* (o elongazione, E) è il rapporto tra la lunghezza massima (L) e la larghezza massima (W) del rettangolo più piccolo (riquadro di delimitazione) che racchiude la forma

( Eq. 4) 
$$E = \frac{L_{max}}{W_{max}}$$

Quando E =1, le particelle sono considerate sferiche, mentre quando E = 2, le particelle sono allungate e considerate ellittiche. Se E = 3 ma <5, le particelle sono considerate cilindriche. Se E >5, si possono considerare come fibre, ma sono sempre assimilate alla forma cilindrica. I volumi di particelle e fibre vengono quindi calcolati in base alla loro forma geometrica (cioè sfera, ellisse e cilindro) (Corami et al., 2020).

#### 3.4.2 PIROLISI-GAS CROMATOGRAFIA-SPETTROMETRIA DI MASSA

Per avere un'ulteriore certezza sui risultati ottenuti dall'analisi con il Micro- FTIR, in questo elaborato finale è stata utilizzata anche la tecnica di pirolisi accoppiata alla gascromatografia – spettrometria di massa (Pyr- GC/MS).

Questa tecnica analitica sfrutta il calore (in assenza di ossigeno) per decomporre il materiale polimerico in modo prevedibile. Come si osserva in *figura 12* i frammenti di polimero generati possono, quindi, essere separati mediante gascromatografia. La separazione avviene in base alla diversa velocità con la quale i prodotti di pirolizzazione vengono trasportati. In questa tecnica il rivelatore è lo spettrometro di massa che quantifica gli ioni in base al rapporto massa/carica (m/z). (Peters et al., 2018, Hendrickson et al., 2018).

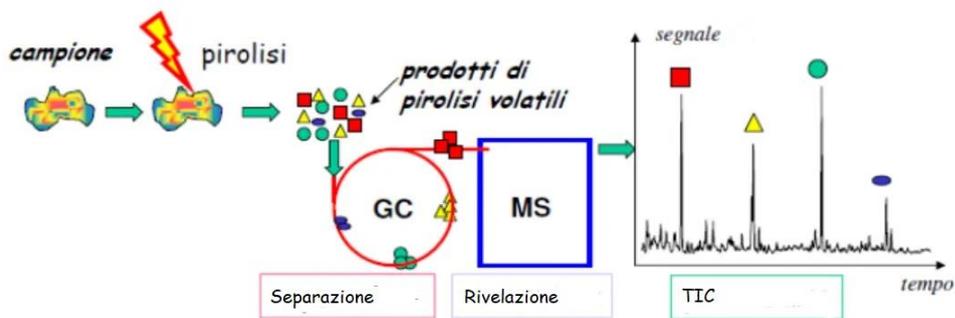


Figure 12 Schema Pyr- GC/MS (Petrucci, 2009)

La tecnica di pirolisi si basa sulla temperatura poiché controlla la reazione di *cracking* della catena polimerica. Infatti, quando la temperatura del sistema aumenta la vibrazione delle molecole sarà maggiore portando alla rottura dei legami polimerici (Williams & Williams, 1999). La rottura tramite cracking non è casuale e i traccianti che si formano sono caratteristici per ogni plastica. I frammenti ottenuti consentono di risalire poi al polimero originale (i frammenti caratteristici sono riportati in appendice 2). In questo studio le temperature utilizzate sono: per la sonda una temperatura di 750°C per un tempo di 15 secondi, mentre l'interfaccia presenta una temperatura iniziale di 200°C mantenuta per 3 minuti e una temperatura finale di 280°C mantenuta per 5 minuti. I prodotti di pirolizzazione vengono introdotti nel gascromatografo attraverso un sistema di iniezione *split* 20:1.

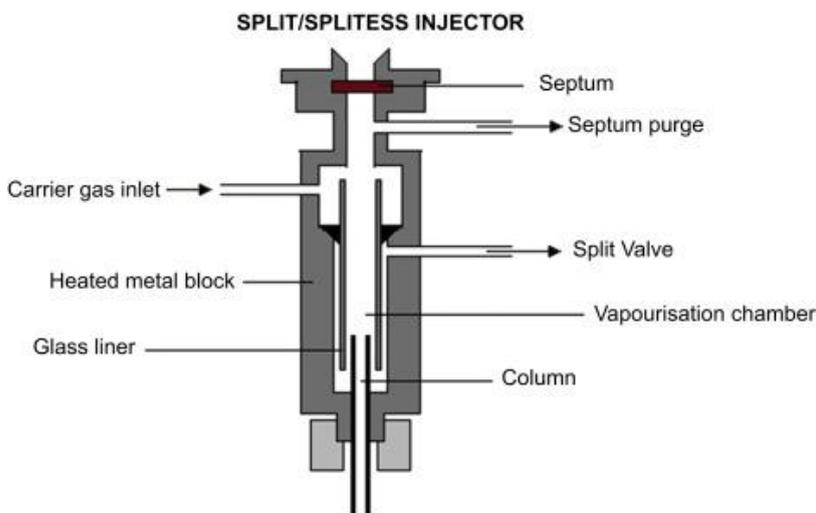


Figure 13 iniettore split/ splitless (Lorenzo & Pico, 2017)

Questo iniettore, chiamato *split/splitless* (figura 13), ha la capacità di far entrare in colonna solo una parte del campione in stato vapore (temperatura iniettore 300°C), mentre il restante viene espulso dalla valvola. In questo modo si evita il sovraccarico della colonna, il campione entra in breve tempo e senza allargamento di picco.

Nel gas-cromatografo è il gas di trasporto, chimicamente inerte, a condurre il campione lungo la colonna capillare fino ad arrivare al rivelatore (in questo studio è stato utilizzato l'elio).

Le colonne cromatografiche possono essere impaccate, tubolari aperte o capillari e presentano una lunghezza variabile dai 2 ai 60 metri. Condizione importante per questa tecnica è la temperatura della colonna che deve essere regolata in base ai punti di ebollizione delle sostanze chimiche. Durante l'eluizione in colonna la temperatura è in continuo aumento in base al programma di temperatura stabilita. In questo caso la rampa di temperatura per l'analisi delle microplastiche è stata suddivisa come segue:

- 50°C, per 2 min
- 10°C/min fino a 320°C, mantenuto per 3 min
- Post-run a 320°C per 10 min

Al termine della separazione degli ioni, questi vengono direttamente portati allo spettrometro di massa. L'analizzatore di massa utilizzato in questo studio è il quadrupolo in modalità scansione. Il quadrupolo è costituito da quattro aste cilindriche: 2 caricate positivamente e 2 caricate negativamente. L'analizzatore di massa a quadrupolo separa gli ioni aventi rapporto  $m/z$  diverso in base alla diversa stabilità all'interno di un campo elettrico quadrupolare a radiofrequenza (Fox et al., 2000, Crouch et al., 2015). Gli ioni aventi diversi rapporti  $m/z$  sono rilevati in modo sequenziale. Da questa tecnica si ottiene uno spettro di massa dove l'abbondanza degli ioni viene riportata contro il rapporto massa su carica. Lo spettro di massa ottenuto consente di identificare, attraverso il confronto in libreria, il frammento ottenuto dalla pirolisi. In questo caso-studio la libreria utilizzata è la NIST05. La somma di tutti gli spettri di massa eluiti nel tempo portano all'elaborazione del cromatogramma

*total ion current* (TIC) dove nell'asse delle Y è riportata la concentrazione mentre nell'asse delle X è riportato il tempo di ritenzione. Questo cromatogramma riporta la corrente ionica totale in ogni istante della corsa cromatografica. Come si osserva in *figura 14* in ogni punto del cromatogramma può essere estratto lo spettro di massa corrispondente a quello specifico tempo di ritenzione (Nadeau et al., 2010).

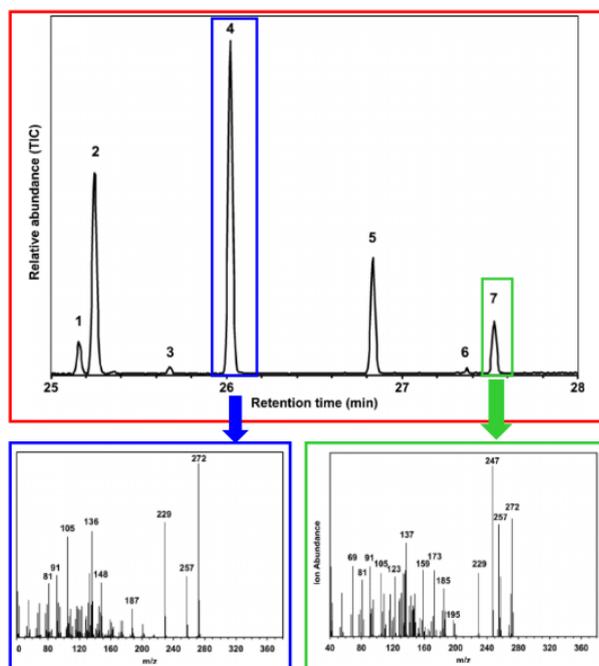


Figura 14 TIC con visualizzazione dei due spettri di massa (<http://puccini.chimica.uniba.it>, accessed on 22.09.2022)

Di seguito sono state riportate la temperatura sia del quadrupolo che della sorgente e l'intervallo spettrale utilizzato per l'analisi.

- Temperatura quadrupolo: 150°C
- Temperatura sorgente: 230°C
- Intervallo: 45-400 m/z

## 4. DISCUSSIONE E RISULTATI

Durante l'analisi effettuata con il Micro-FTIR nelle quattro stazioni di studio sono state identificate le seguenti plastiche (Tabella 2):

Table 2 Elenco delle plastiche trovate nelle quattro stazioni in esame

Nylon (PA6)
Nylon 6/6 (PA6,6)
Nylon 6/12 (PA6,12)
polifitalammide (PPA)
poliaramide (PARA)
politetrafluoroetilene (PTFE)
poliolefine
fluoruro di polivinilidene (PVDF)
polipropilene (PP)
polietersulfone (PES)
cloruro di polivinile (PVC)
copolimero di acetato di etilene vinilico (EVA)
poliestere, MW 850
gomma uretanica
modacrylic

Di seguito sono state riportate alcune informazioni sulle plastiche trovate.

Il Nylon è un polimero ottenuto dalla condensazione di diammine con acidi organici bicarbossilici, o da omega-aminoacidi. Si tratta di una poliammide, ossia una classe di polimeri in cui le catene molecolari sono formate da gruppi -CONH- ammidici regolarmente distanziati. Come tutte le poliammidi, il Nylon è prodotto mediante polimerizzazione a gradini (la massa molecolare aumenta in funzione del tempo di reazione). Le caratteristiche di ogni Nylon sono: la sua unità strutturale e il numero medio di unità per molecola, ovvero il grado di polimerizzazione. Il Nylon è stato inventato da Carothers nel 1935. Convenzionalmente il Nylon viene accompagnato da uno o più numeri che identificano il numero degli atomi di carbonio nelle unità strutturali.

Il Nylon 6/6 è composto da due unità strutturali con 6 atomi di carbonio ciascuna, ovvero esametildiammina  $-\text{[H}_2\text{N(CH}_2\text{)}_6\text{H}_2\text{N]-}$  e l'acido adipico  $-\text{[HOOC(CH}_2\text{)}_4\text{COOH]-}$ .

Il Nylon 6/12 anch'esso costituito da due unità strutturali la prima contenente 6 atomi di carbonio mentre la seconda 12, ovvero esametilendiammina  $-\text{[H}_2\text{N(CH}_2\text{)}_6\text{H}_2\text{N]-}$  e l'acido adipico  $-\text{[HOOC(CH}_2\text{)}_{10}\text{COOH]-}$ .

Nylon 6 diversamente dal Nylon 6/6 e dal Nylon 6/12 è composto da un'unica unità strutturale, vale a dire, il residuo apparente dell'acido 6-aminocaproico ( $\text{H}_2\text{N(CH}_2\text{)}_4\text{COOH}$ ) (Trossarelli, 2010).

Il gruppo ammidico presente nel Nylon conferisce alle fibre poliammidiche un carattere leggermente idrofilo, mentre i gruppi metilenici conferiscono alla fibra il carattere paraffinico ossia idrorepellente.

Le poliammidi prive di trattamento si presentano con un aspetto lucido e bianco, un'elevata resistenza meccanica ed un'ottima elasticità. Hanno un basso valore del peso specifico consentendo in ambito tessile di ottenere tessuti leggeri. Resistono bene alle muffe, ai batteri ed agli insetti. Hanno un ottimo comportamento fisiologico, cioè non sono tossiche né danno allergie cutanee.

Presentano inoltre una buona duttilità (allungamento del 15-300%), tenacità, resistenza all'abrasione e un basso coefficiente di attrito. Queste eccellenti proprietà meccaniche consentono al Nylon di avere molteplici utilizzi sia in ambito tecnologico che in applicazioni di consumo, tra cui cerniere, tessuti, calze, tappeti, maniglie, pettini, sacchetti da cucina e lenze da pesca. Il Nylon viene utilizzato anche per i rivestimenti di cavi e fili a causa dell'elevata resistenza elettrica, e dell'elevata resistenza alla rottura dielettrica (l'intensità del campo elettrico a cui un isolante non è più elettricamente isolante), pari a 2000-3000 kV/m (Baker, 2018).

La poliarilammide (PARA) è una poliammide aromatica, semi-cristallina ed è un prodotto termoplastico. Essa presenta un'elevata resistenza alla rottura al pari di molti metalli a temperatura ambiente. La sua produzione avviene per polimerizzazione diretta del monomero arilammide. Comunemente viene impiegata nel settore delle automobili e dei trasporti come parti della frizione, comandi dei tergicristalli, scatole per il filtro dell'olio, maniglie per portiere, freni per biciclette e componenti del sistema frenante, inoltre viene impiegata nei settori elettrici ed elettronici, in

particolare per il controllo meccanismi interni e interruttori. Questo uso è giustificato da buone proprietà di isolamento elettrico del materiale (www.xpolymers.it, 2022).

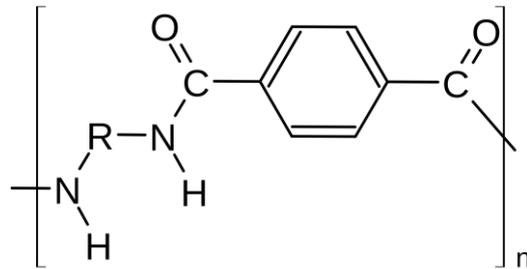


Figura 15 monomero della poliarilammide

Le poliftalammidi (PPA), originariamente sviluppate per essere utilizzate come fibre, attualmente hanno trovato applicazione in altri settori come quello delle auto e dell'elettronica. Sono poliammidi semi-aromatiche basate sulla polimerizzazione di acido tereftalico o isoftalico e un'ammina. Si presentano sia amorfe che cristalline. Sono materiali polari con un punto di fusione vicino ai 310°C e una temperatura di transizione vetrosa di 127°C.

Le poliftalammidi possono essere attaccate da acidi forti o da agenti ossidanti e sono solubili in cresolo e fenolo. Le poliftalammidi sono più resistenti, meno sensibili all'umidità e possiedono migliori proprietà termiche rispetto alle poliammidi alifatiche, come il Nylon 6/6. Tuttavia, rispetto a quest'ultima la poliftalamide è meno duttile.

Ad oggi le poliftalammidi sono utilizzate nel campo delle automobili per la loro resistenza chimica e la stabilità alle temperature (Harper, 2002).

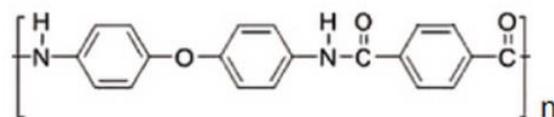


Figura 16 monomero di poliftalamide

Il politetrafluoroetilene (PTFE) è un polimero appartenente alla classe dei perfluorocarburi (PFC) e viene realizzato a partire dal tetrafluoroetilene.

Normalmente viene più conosciuto con il nome commerciale Teflon. Durante la sintesi per migliorarne le possibilità applicative vengono aggiunti altri componenti come stabilizzanti e fluidificanti oppure cariche a base di silice, carbone, bronzo, inox e solfato di bario per incrementare le prestazioni in ambito meccanico, pneumatico o chimico, così come per applicazioni farmaceutiche. Il PTFE è un cristallino lineare con punto di fusione di 327°C e presenta una buona resistenza chimica, infatti, la maggior parte dei prodotti chimici ha difficoltà nel degradare il polimero eccetto i metalli alcalini allo stato fuso.

Il PTFE presenta un basso coefficiente d'attrito e come altri fluoropolimeri ha un'eccellente resistenza al calore fino alla temperatura di 260°.

Grazie all'elevata stabilità termica, la meccanica e le proprietà elettriche del PTFE rimangono stabili a lungo fino alla temperatura di 250°C. Tuttavia, il PTFE può essere degradato da radiazioni ad alta energia.

Esso presenta delle eccellenti proprietà elettriche e per tali motivi viene utilizzato per l'isolamento di fili e cavi per motori, condensatori, bobine, e trasformatori, mentre nell'industria chimica viene utilizzato per la realizzazione di guarnizioni e parti destinate al contatto con agenti corrosivi. Tuttavia, l'applicazione più importante del PTFE è in campo casalingo. Questo materiale si ritrova nelle pentole antiaderenti e consente ai cibi di non attaccarsi durante la cottura (Harper, 2002).

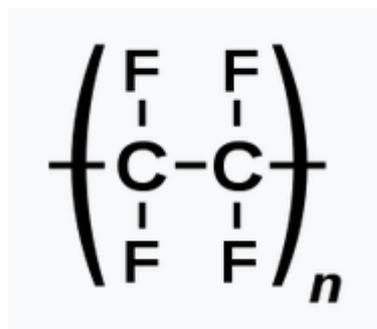


Figura 17 Monomero di PTFE

Insieme al politetrafluoroetilene (PTFE) nella classe dei perfluorocarburi (PFC) si inserisce il fluoruro di polivinilidene (PVDF). Il PVDF è un polimero cristallino con punto di fusione vicino a 170°C, ha una buona resistenza chimica e agli agenti atmosferici.

Nonostante la buona resistenza chimica, il polimero può essere influenzato da solventi molto polari come ammine primarie.

Il PVDF ha proprietà piezoelettriche, ossia genera corrente elettrica quando viene compresso. Questa particolare caratteristica viene utilizzata per la generazione di onde ultrasoniche.

Il PVDF può essere lavorato allo stato fuso con la maggior parte delle tecniche di lavorazione convenzionali.

In ambito applicativo questo polimero viene utilizzato per applicazioni in guarnizioni, rivestimenti, fili e guaine per cavi, tubazioni per processi chimici (Harper, 2002).

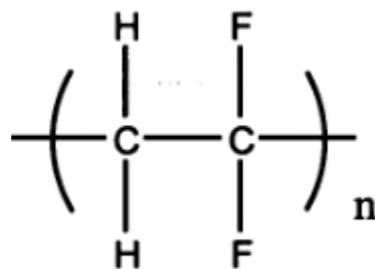


Figura 18 Monomero di PVDF (Harper, 2002)

Un'altra classe di composti plastici sono le poliolefine che si ottengono generalmente per *cracking* del petrolio e sono costituite da monomeri di olefine. Le poliolefine sono la più grande classe di polimeri termoplastici organici. Sono materiali non polari, inodori e non porosi, vengono spesso utilizzati in beni di consumo come plastiche strutturali, imballaggi alimentari e prodotti industriali.

Sono anche chiamate “materiali termoplastici di base”. Il nome significa “simile all’olio” e si riferisce alla consistenza oleosa o cerosa di questa classe di resine plastiche.

Le olefine semplici, note anche come alcheni, sono idrocarburi organici contenenti un doppio legame C=C e aventi formula bruta C<sub>N</sub>H<sub>2</sub>. Gli altri tipi di olefine più complesse includono sostituenti vari o ramificazioni. Tutti quelli naturali sono derivati dal petrolio e dal gas naturale ([www.plasticseurope.it](http://www.plasticseurope.it), 2022).

Il polipropilene si presenta come un polimero versatile utilizzato in molti ambiti, dai film alle fibre. Simile per struttura al polietilene fatta eccezione per la sostituzione di un gruppo idrogeno con un gruppo metile sul carbonio. In apparenza, questo cambiamento sembrerebbe banale, ma questa sostituzione cambia la simmetria della catena polimerica. Ciò consente la preparazione di diversi stereoisomeri, cioè catene sindiotattiche, isotattiche e atattiche.

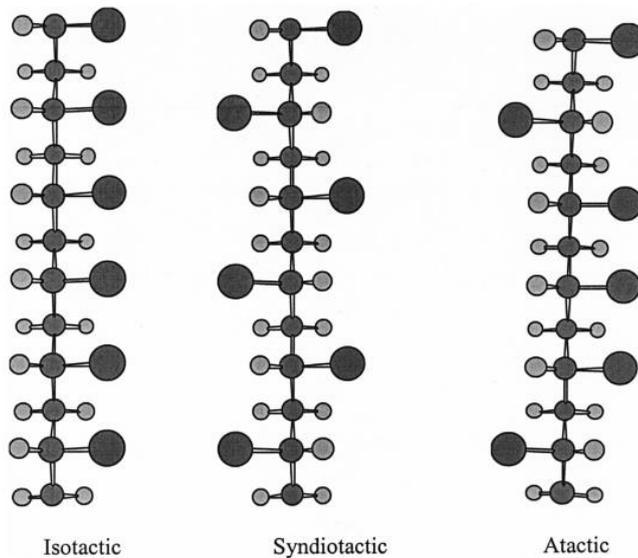


Figura 19 Stereoisomeri del polipropilene (Harper, 2002)

Gli stereoisomeri sono ottenuti grazie ai catalizzatori Ziegler-Natta che, grazie all'opportuna scelta dei leganti ancillari sullo zirconio, permette di indirizzare la tatticità del polimero risultante.

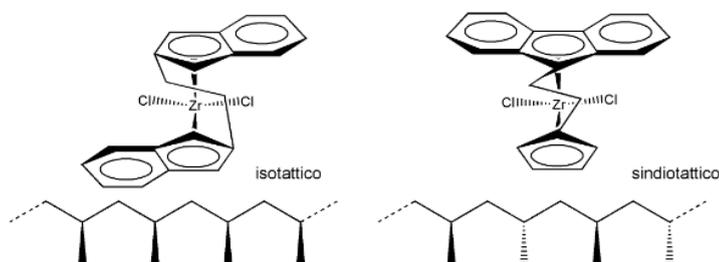


Figura 20 Catalizzatori Ziegler- Natta per la sintesi del polipropilene

A livello commerciale il polipropilene è isotattico e, differentemente dal polietilene che si presenta in forma planare, il PP cristallizza nella forma elicoidale a causa dei gruppi metilici.

Il polipropilene isotattico è più duro rispetto al polietilene anche se è meno resistente ai processi di degradazione dovuta alla presenza del carbonio terziario che facilita l'estrazione dell'idrogeno a lui legato. Per questo motivo vengono aggiunti degli antiossidanti per migliorarne la resistenza.

Il polipropilene è resistente e viene preferito come materiale nella produzione di corde, nastri, fibre.

Un punto debole del polipropilene è che risulta fragile a bassa temperatura, in special modo vicino a 0°C. Questo può essere migliorato mediante copolimerizzazione con altri polimeri come l'etilene (Harper, 2002).

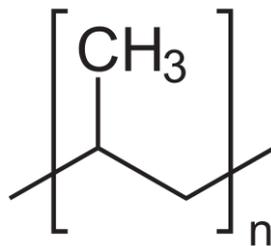


Figura 21 unità monomerica del polipropilene (Wikipedia, 2022)

Il polietersulfone (PES) è un tecnopolimero resistente al calore, ambrato e non cristallino. A temperatura ambiente è una resina dura e rigida simile ai tecnopolimeri convenzionali, come il policarbonato. Il polietersulfone viene spesso utilizzato come sostituto del policarbonato, in quanto risulta più performante. La caratteristica principale del polietersulfone è la resistenza alle alte temperature, superando ampiamente le plastiche convenzionali. In particolare, resiste a temperature fino a 200°C in condizioni soddisfacenti in uso continuo e a lungo termine (fino a 20 anni), senza che si registrino variazioni dimensionali o deterioramento fisico.

Il PES presenta un'ottima resistenza alla degradazione chimica ed è inerte, pertanto, risulta un buon materiale se posto a contatto con alimenti anche caldi. In ambito chimico viene utilizzato per le membrane filtranti perché consente eccellenti velocità di flusso abbinate a volumi filtrabili elevati. Le membrane, inoltre, possono essere usate anche per filtrazioni biologiche poiché adsorbono poco le proteine e pertanto consentono la filtrazione di soluzioni biologiche e farmaceutiche nell'ampio

intervallo di pH da 2 a 12 (www.xpolymers.it, 2022).

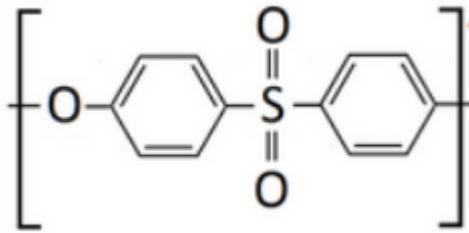


Figura 22 Monomero di PES (www.xpolymers.it)

Il cloruro di polivinile (PVC), fa parte delle resine viniliche, viene sintetizzato partendo dal cloruro di vinile. È il polimero più importante ottenuto da monomeri vinilici ed è una delle materie plastiche di maggior consumo al mondo. È un materiale rigido e deve la sua versatilità applicativa grazie alla possibilità di essere miscelato con composti inorganici e a prodotti plastificanti, come per esempio gli esteri dell'acido ftalico, che gli conferiscono maggior flessibilità e modellabilità. Si presenta stabile e sicuro nelle applicazioni tecnologiche a temperatura ambiente, ma estremamente pericoloso se bruciato o scaldato a elevate temperature.

Il PVC viene sintetizzato attraverso una reazione radicalica partendo dal cloruro di vinile. La reazione di polimerizzazione è esotermica e per questi motivi la temperatura all'interno del reattore deve essere controllata al fine di evitare il surriscaldamento che potrebbe portare ad una reazione esplosiva. La reazione di polimerizzazione viene condotta in soluzione o in emulsione o in sospensione. È il mezzo liquido che neutralizza il calore prodotto dalla reazione.

Gli utilizzi del PVC sono innumerevoli, le applicazioni più rilevanti sono la produzione di tubi per edilizia (per esempio grondaie e tubi per acqua potabile), cavi elettrici, profili per finestra, pavimenti vinilici, pellicola rigida e plastificata per imballi e cartotecnica. In ambito tessile veniva utilizzato per il pigiama dei bambini e per la produzione di parrucche perché è un materiale ignifugo. Tuttavia, è stato conosciuto in tutto il mondo per la produzione dei dischi, infatti il “vinile” è costituito da PVC (Hirschler, 2017, Harper, 2002)

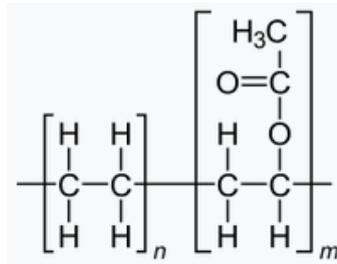


Figura 23 Monomero di PVC (Wikipedia, 2022)

L'etilene vinil acetato (spesso indicato con la sigla EVA), comunemente chiamato Materassina, è una materia plastica copolimerica di etilene e acetato di vinile.

Il copolimero risultante viene utilizzato come film grazie alla sua flessibilità e lucentezza superficiale. È un polimero poco costoso e poco tossico, per questi motivi è utilizzato nel confezionamento alimentare.

Quotidianamente lo conosciamo come “pellicola trasparente”, si presenta come un film sottile leggermente appiccicoso e termicamente stabile.

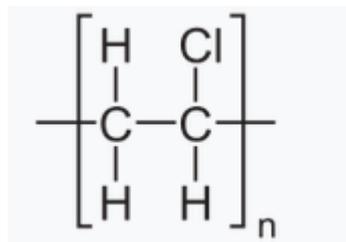


Figura 24 Monomero di EVA (wikipedia, 2022)

Il poliestere è una classe di polimeri sintetici costituiti da gruppi esterei. Utilizzato in molteplici ambiti dai tessuti agli pneumatici grazie alla elevata resistenza all'abrasione e alle sostanze chimiche.

La maggior parte dei poliesteri viene preparata da una reazione di condensazione tra un alcol organico e un acido carbossilico formando un legame estereo.

L'esatta composizione e la struttura di queste unità ripetitive variano notevolmente, ma generalmente sono catene alifatiche (cioè con struttura aperta) con eventuali sostituenti aromatici.

I poliesteri ad anello sono il gruppo più grande e più importante dal punto di vista commerciale. Il membro di gran lunga più importante di questa classe è il polietilene tereftalato (PET).

In generale, più gruppi aromatici sono presenti nelle unità ripetitive, più il polimero è rigido. Questa regola può essere illustrata dal policarbonato, una resina rigida, tenace e cristallina con cui si producono i *compact disc*, e dai poliariilati, una classe di tecnopolimeri che spesso sostituiscono i metalli nelle parti delle macchine (Enciclopedia Britannica, 2022).

La gomma uretanica è un polimero forte e flessibile, ritorna alla sua forma originale quando viene allungata o piegata. Per questa proprietà le gomme uretaniche sono utilizzate per la fabbricazione delle ruote.

Conosciuta anche come spandex, la gomma uretanica presenta blocchi di polietere, che conferisce una migliore resistenza al calore, una maggiore forza e una maggiore elasticità.

La gomma uretanica ha una resistenza all'abrasione fino a 10 volte superiore rispetto ad altri elastomeri. L'intrinseca resistenza all'abrasione, l'eccellente resistenza alla trazione e alla lacerazione e l'elevata capacità di carico rendono l'uretano il materiale ideale per una serie di applicazioni difficili. Vanta un'elevata capacità di carico a taglio, tensione e compressione. Questo attributo consente di creare componenti più leggeri, più sottili e più duraturi ([www.franklowe.com](http://www.franklowe.com), 2022).

Il modacrylic è una fibra acrilica composta tra il 35% e l'85% in peso di acrilonitrile. I monomeri tipici che compongono il polimero sono: il cloruro di vinile, il cloruro di vinilidene o il bromuro di vinile. Queste sostanze vengono aggiunte alla fibra per conferirle migliori proprietà ignifughe.

Questa fibra ha un'eccezionale resistenza a molti prodotti chimici e solventi e non viene attaccata da tarme e muffe.

La maggior parte delle sue proprietà sono simili a quelle delle fibre acriliche. Possono essere facilmente tinte, sono forti, resistenti e hanno una buona stabilità dimensionale. A differenza dell'acrilico, il modacrylic è ignifugo. Tuttavia, la sua resistenza all'abrasione e la sua tenacia sono piuttosto basse ([polymerdatabase.com](http://polymerdatabase.com), 2022).

Le microplastiche identificate tramite Micro-FTIR sono state suddivise in funzione della loro

abbondanza per bacino (figura 25) e per stazione di campionamento (figura 26):

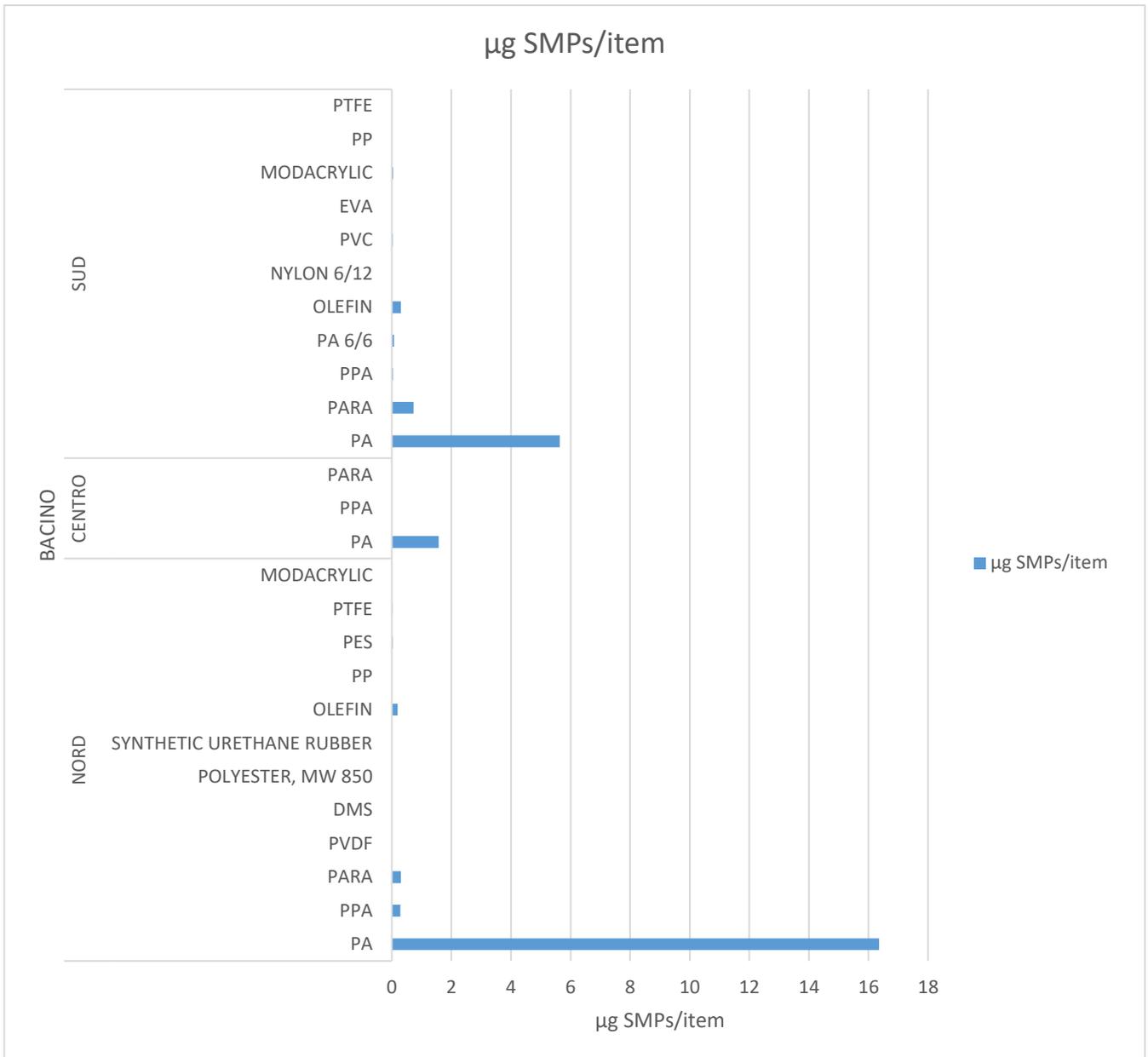


Figura 25  $\mu\text{g}$  SMPs/item suddivisa per bacino

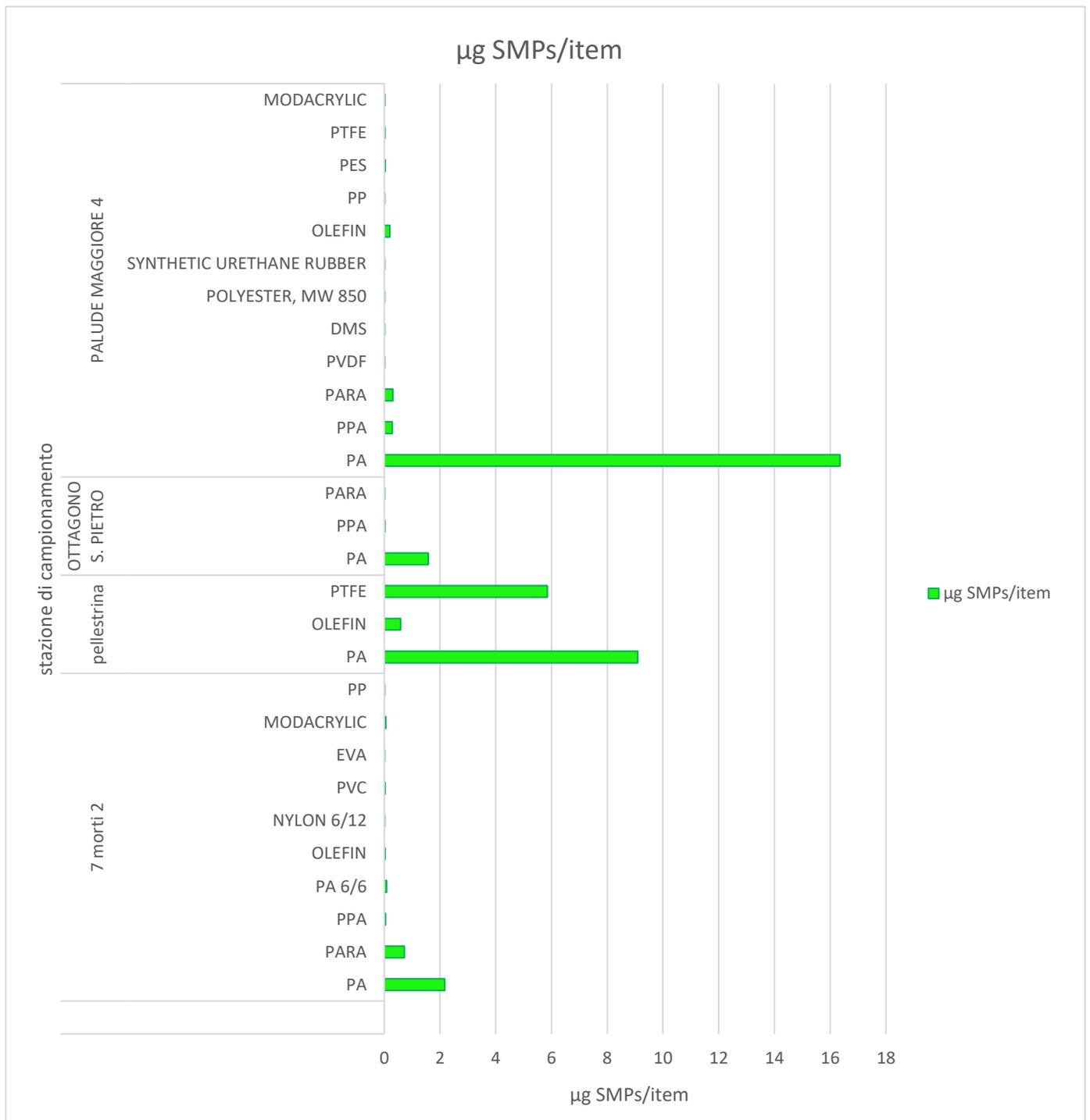
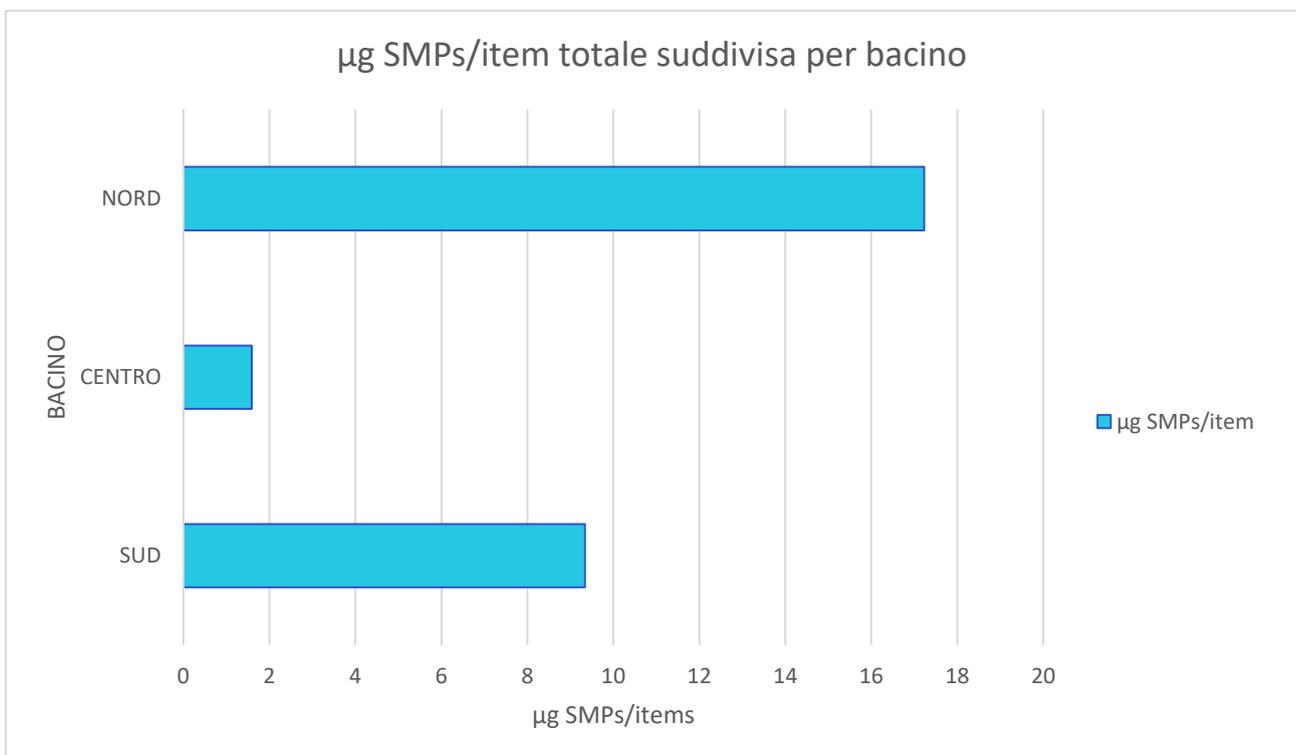


Figura 26 µg SMPs/item suddivisa per stazione di campionamento

Nel grafico rappresentato in *figura 25* si osserva che le SMPs presenti in tutti e tre i bacini della laguna di Venezia sono: il Nylon 6, la poliftalammide (PPA) e la poliarilammide (PARA), tutti appartenenti alla classe delle poliammidi. In particolare, il Nylon 6 è la SMP più abbondante.

Confrontando i tre bacini della Laguna la concentrazione maggiore di Nylon 6 viene osservata nella Laguna settentrionale, a seguire quella meridionale, mentre la concentrazione più bassa risiede nella Laguna centrale. Nell'istogramma a barre, rappresentato in *figura 26*, il Nylon 6 viene confermato come la SMPs più abbondante nelle rispettive stazioni di campionamento. Inoltre, in questo grafico viene messo in luce che è Palude Maggiore 4 (localizzato nella Laguna settentrionale) a presentare una quantità di Nylon 6 maggiore rispetto a tutte le altre stazioni, viceversa, Ottagono San Pietro 4, (localizzato nella parte centrale della Laguna) ha una concentrazione di Nylon 6 più bassa rispetto alle altre stazioni di campionamento.

Di seguito, in *figura 27* e in *figura 28*, sono stati riportati due istogrammi a barre dove, nel primo grafico viene illustrata la concentrazione di SMPs suddivisa per i bacini della laguna di Venezia, mentre nel secondo grafico si osserva la concentrazione di SMPs divisa per le stazioni di campionamento.



*Figura 27 µg SMPs/items suddiviso per bacino*

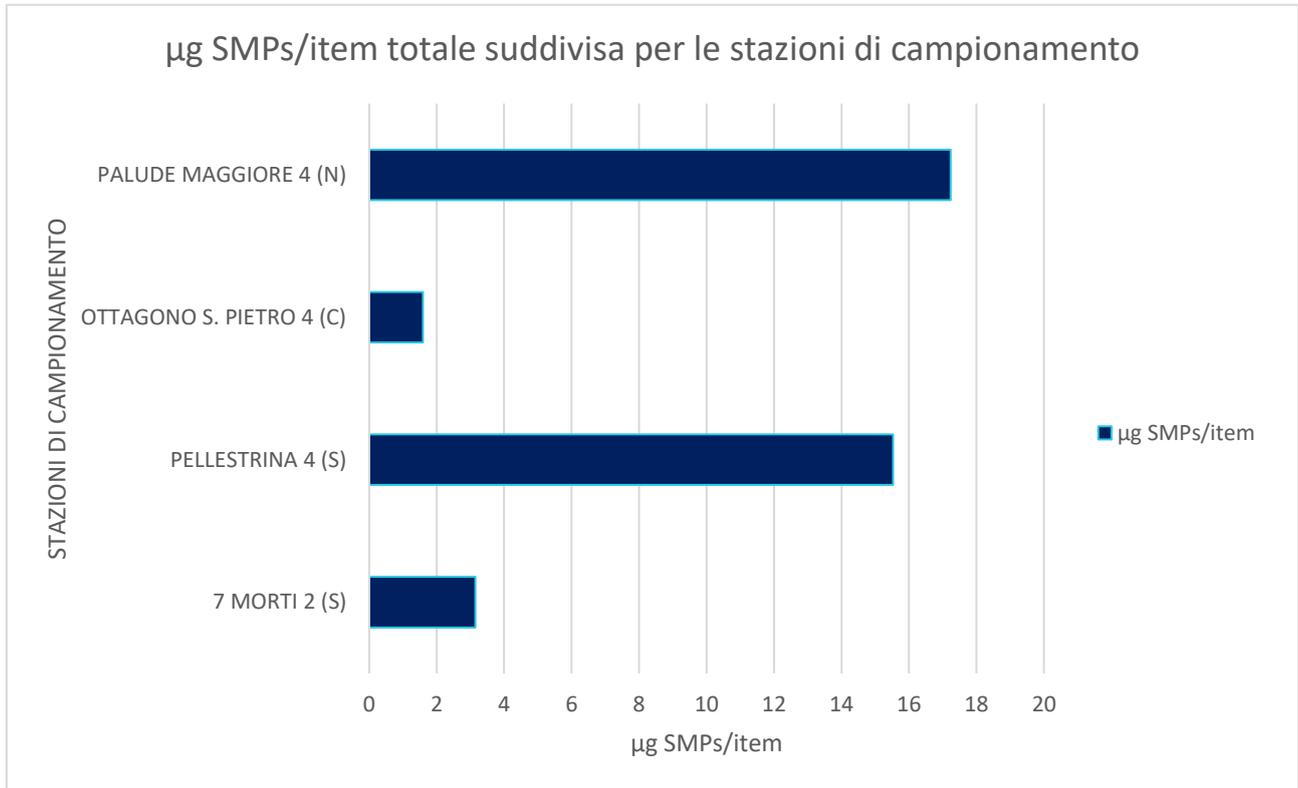


Figura 28 µg SMPs/items suddivisa per stazione di campionamento

In *figura 27*, la concentrazione maggiore di SMPs è stata osservata nel bacino settentrionale della Laguna, mentre quella più bassa nel bacino centrale. In *figura 28*, emerge che la concentrazione maggiore di SMPs si trova nella stazione di Palude Maggiore 4, a seguire Pellestrina 4, 7 Morti 2 ed infine Ottagono San Pietro 4. Facendo un confronto tra le stazioni di monitoraggio emerge una netta differenza tra le concentrazioni di SMPs osservate nelle stazioni di monitoraggio di Palude Maggiore 4, Pellestrina 4 e 7 Morti 2, Ottagono San Pietro 4.

Di seguito, in *figura 29* e in *figura 30*, sono stati riportati due istogrammi a barre dove è stata messa a confronto la dimensione delle particelle suddivise: nel primo caso per bacino, nel secondo caso per stazione analizzata.

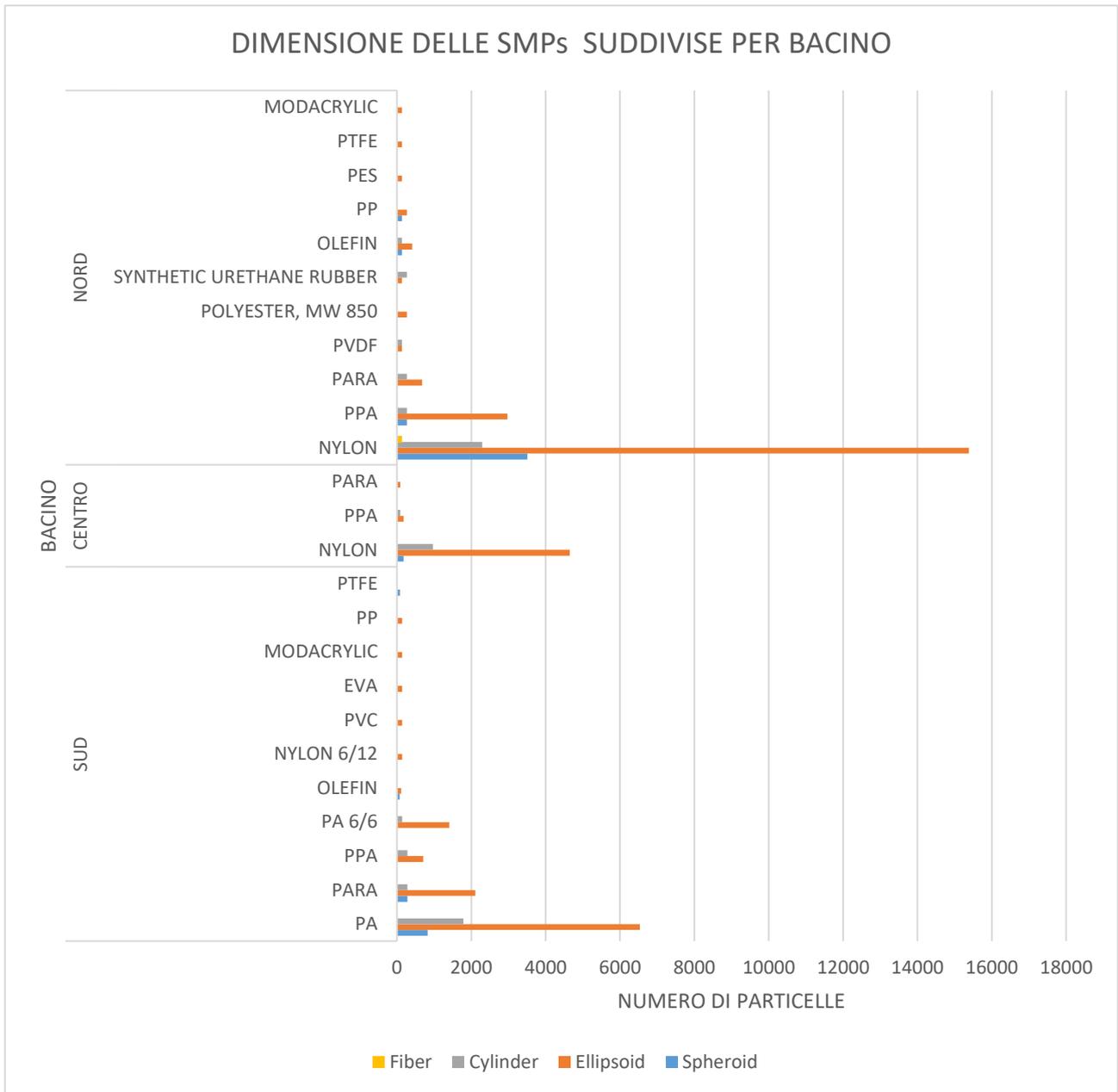


Figura 29 dimensione delle SMPs suddivise per bacino

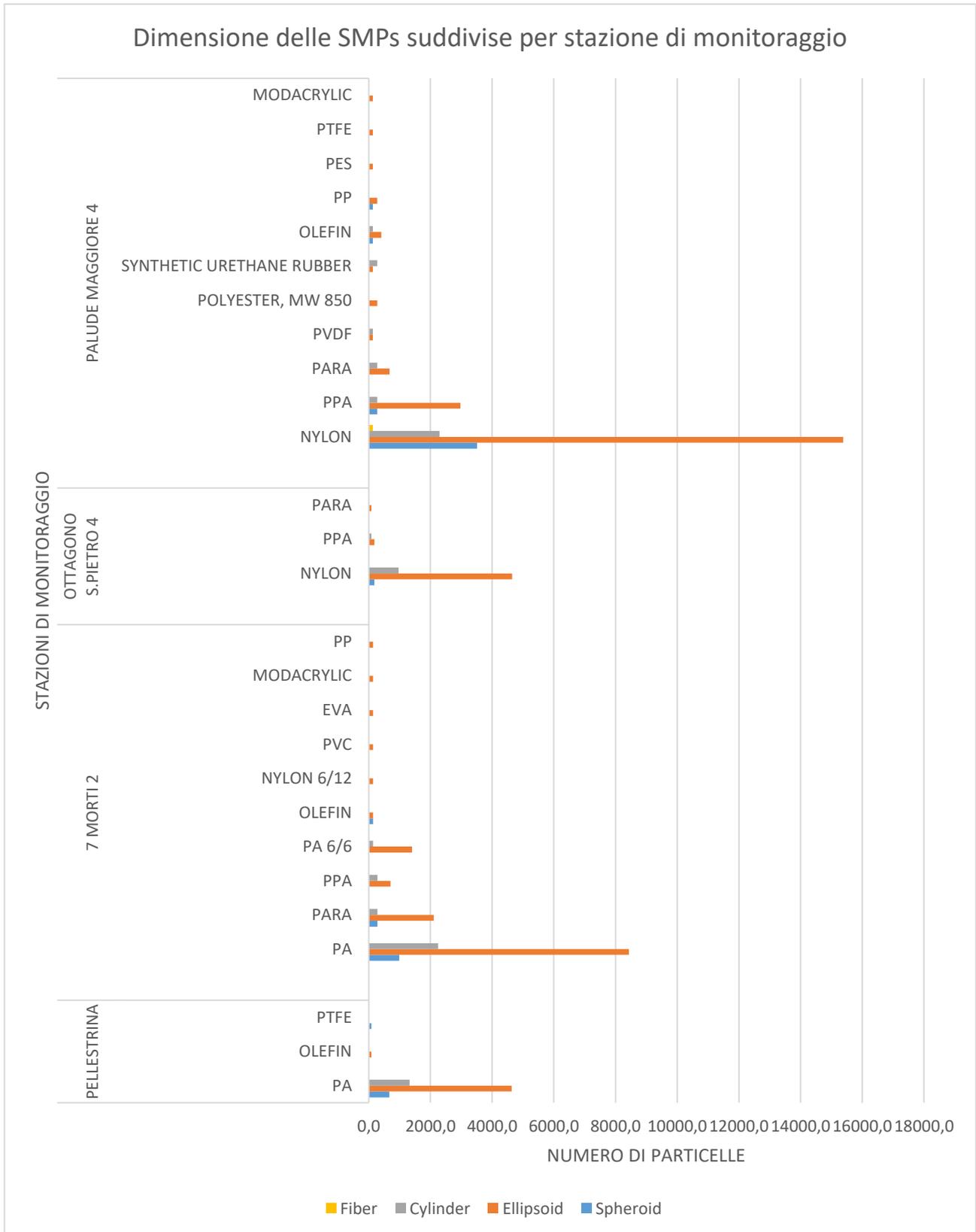
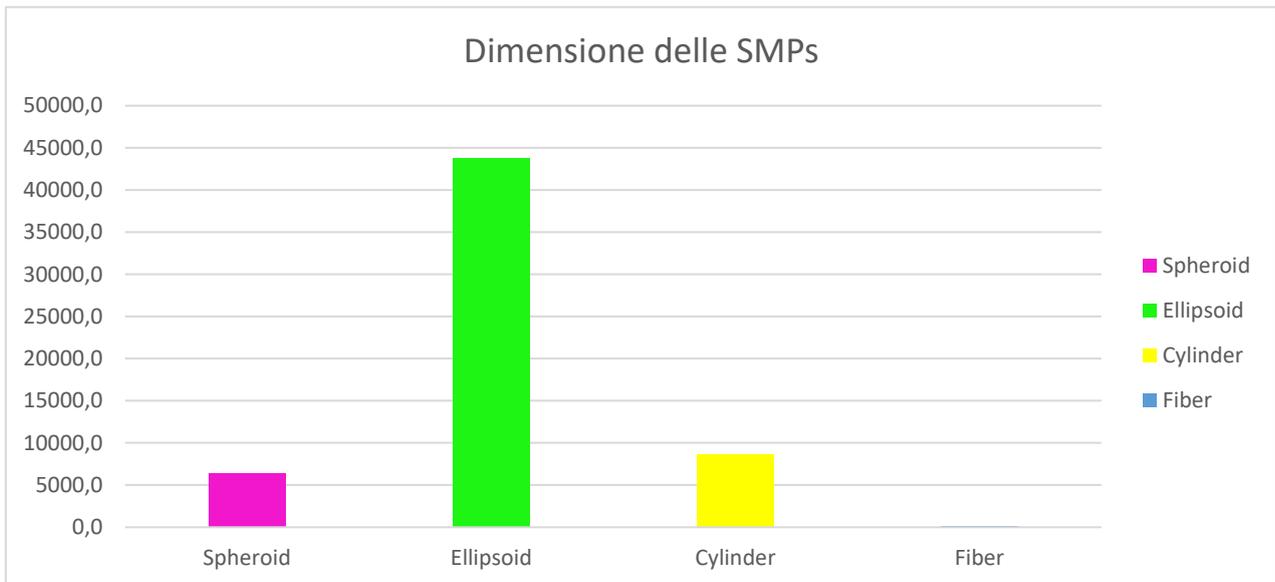


Figura 30 dimensione delle SMPs suddivise per le stazioni di campionamento

Nel grafico in *figura 29* si mette in evidenza che l'ellissoide è la dimensione delle particelle preponderante in tutti e tre i bacini, a seguire la forma cilindrica, quella sferica e infine la fibra. Questo *trend* è confermato in tutte e quattro le stazioni di campionamento come si osserva in *figura 30*.

In *figura 31*, l'istogramma in colonna quantifica le SMPs di tutte e quattro le stazioni analizzate divise per dimensione.



*Figura 31 Dimensioni delle SMPs*

Nel grafico in *figura 31* si mette in evidenza che l'ellissoide è la dimensione delle particelle preponderante, a seguire la forma cilindrica, quella sferica e infine la fibra. Questo *trend* segue quanto osservato nei rispettivi bacini e nelle rispettive stazioni di campionamento (*figura 29* e *figura 30*).

La differenza di concentrazione delle SMPs nei quattro siti risente dell'influenza delle correnti (*figura 32*), del traffico dei natanti, della risospensione dei sedimenti e dei movimenti mareali. A questo si possono aggiungere anche gli apporti provenienti dal bacino scolante. L'idrologia lagunare e la differente pressione antropica nei tre bacini della Laguna di Venezia possono influenzare l'abbondanza di SMPs nel particolato presente in acqua.

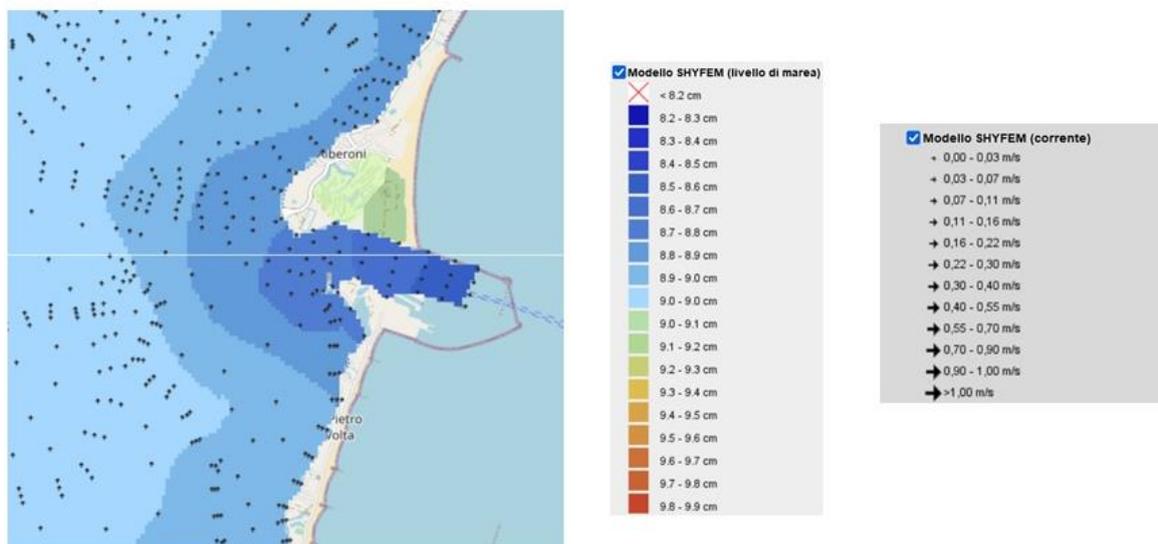


Figura 32 Livello della marea e le correnti nei pressi della bocca di porto di Malamocco in tempo reale ([www.atlante della laguna](http://www.atlante della laguna), accessed on 22.09.2022)

Con la Pyr- GC/MS sono stati analizzati tre campioni, corrispondenti alle stazioni di Ottagono San Pietro 4, Pellestrina 4 e 7 Morti 2. Il TIC ottenuto per queste tre stazioni non presenta i picchi o la totale sequenza dei picchi caratteristici dei polimeri, eccetto 7 Morti 2, nella quale è stato possibile osservare una lunga sequenza di alcheni (possibili traccianti del polietilene) e il picco del caprolattame (molecola caratteristica del Nylon 6). I picchi dei traccianti del PP (2-metil-1-pentene e 2,4-dimetil-1-eptene) e del PTFE (tetrafluoroetilene) sono totalmente assenti per tutte e tre le stazioni.

Per quanto riguarda il PVC, la sequenza dei picchi relativa ai prodotti di pirolisi è quasi completa, ma sfortunatamente il tracciante univoco del PVC, ossia il clorobenzene è assente; perciò, non si può confermarne la presenza.

7 Morti 2 è l'unica stazione analizzata per la quale si osserva la presenza del caprolattame tra i pirolizzati. Il picco ottenuto, però, si presenta largo e con un *match* molto basso con la libreria, come mostrato in *figura 32*.

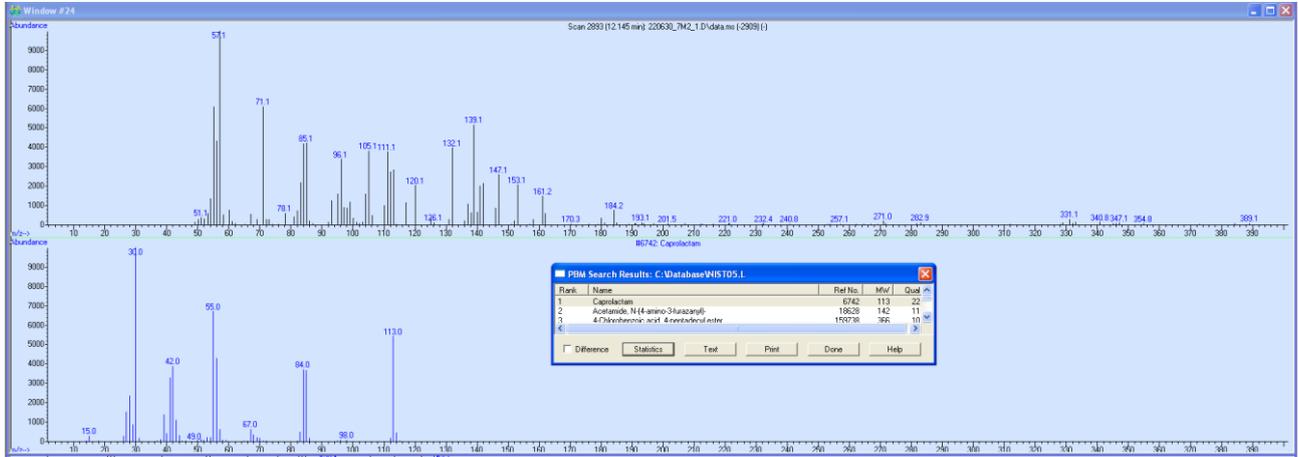
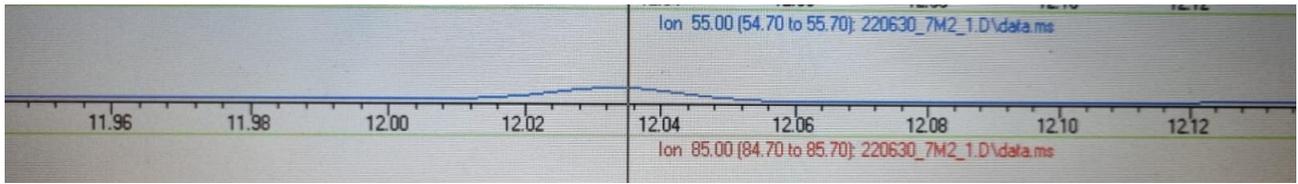


Figure 32 Picco e spettro di massa del caprolattame nella stazione di 7 Morti 2

Come si può osservare dalla *figura 32* il picco oltre ad essere basso e largo risulta anche spostato al minuto 12,145 rispetto al tempo di eluizione previsto (11.97 min). Lo spostamento del picco rispetto alla posizione prevista è stato osservato anche in altre stazioni e per altri picchi. Un esempio è il picco del benzene, nella stazione di Pellestrina 4, che è stato identificato al minuto 3,252 al posto del minuto 2,66 (*figura 33*).

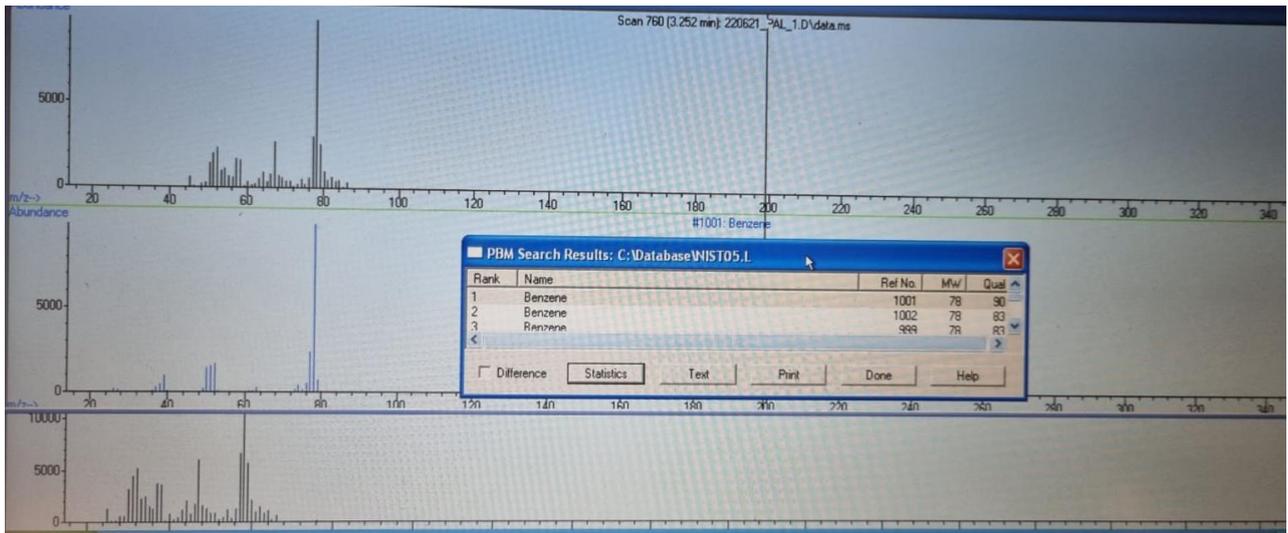
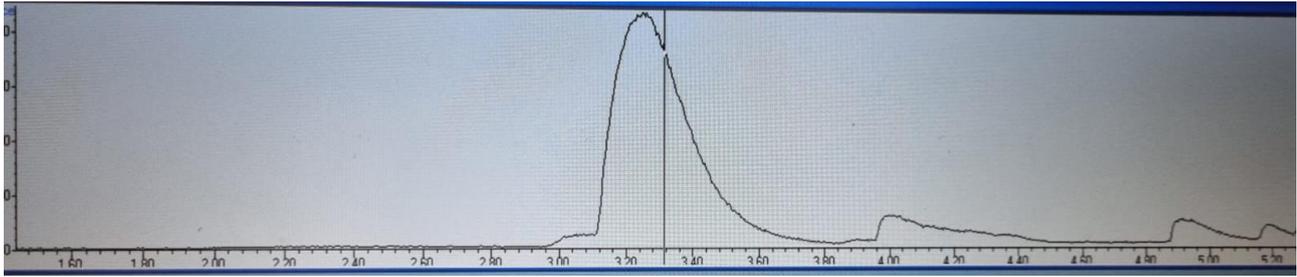


Figure 33 Picco e Spettro del benzene al tempo di eluizione 3,252 minuti nella stazione di Pellestrina

Il motivo per cui alcuni picchi riportati nel TIC sono spostati rispetto al tempo di eluizione previsto può essere dovuto alla complessità della matrice, che potrebbe interferire con l'eluizione e l'identificazione dei picchi caratteristici e che potrebbe essere la causa della scarsa identificazione che si è osservata applicando il Pyr-GC/MS. Per quanto riguarda il caprolattame, l'assenza del picco o, come nel caso di 7 Morti 2, la presenza di un picco basso e largo, potrebbe essere dovuta alla polarità del Nylon 6. Il Nylon 6 potrebbe essere ritenuto in colonna ed essere eluito in tempi molto lunghi generando così un picco fortemente allargato. Questo è un comportamento tipico dei composti polari eluiti in GC con una colonna apolare. A causa dell'allargamento del picco potrebbero esserci delle difficoltà nella rilevazione di questa sostanza.

La Pyr- GC/MS e il Micro-FTIR sono due tecniche analitiche differenti: la prima è una tecnica distruttiva che consente di riconoscere il polimero originale dai prodotti di pirolisi, la seconda è una tecnica non distruttiva che, attraverso la spettroscopia infrarossa e la microscopia ottica, consente di identificare il polimero mettendo a confronto lo spettro ottenuto con quello delle librerie. Entrambe le tecniche hanno confermato la presenza di microplastiche all'interno del mitilo, sebbene, a causa della matrice complessa, la Pyr- GC/MS abbia confermato solo parzialmente quanto identificato tramite il Micro-FTIR. Visto il ruolo del mitilo in ambito alimentare, è possibile che la presenza delle SMPs contenute nel bivalve possano traslocare verso i consumatori secondari come l'uomo. È importante, perciò, continuare a comprendere le proprietà chimico-fisiche di questi inquinanti, come interagiscono con gli organismi viventi, al fine di poter prevedere e limitare il prima possibile i danni. Proteggere le risorse ambientali particolarmente preziose e vulnerabili, come la laguna di Venezia e gli individui, deve essere una priorità non solo per il mondo scientifico, ma anche per il mondo politico. Comprendere le modalità di immissione delle SMPs e poterle limitare attraverso l'uso di leggi e decreti permetterà non solo di salvaguardare l'uomo dai danni tossicologici, ma consentirà di far star bene l'ambiente in cui noi viviamo.

## 5. CONCLUSIONI

Questo elaborato di tesi ha due obiettivi: il primo quello di affermare il ruolo del *Mytilus galloprovincialis* come organismo indicatore e che l'accumulo di microplastiche avviene principalmente per ingestione, il secondo è quello di confermare attraverso due tecniche analitiche (Micro-FTIR e Pyr- GC/MS) la presenza di microplastiche.

Per quanto riguarda il primo punto, questo studio può affermare che la specie in esame consente di rilevare correttamente la presenza delle microplastiche nella Laguna di Venezia.

Grazie al Micro- FTIR è stato possibile osservare che le particelle sono al di sotto dei 100µm con una forma assimilabile ad un ellissoide, sebbene ci siano anche particelle superiori ai 100 µm. Quanto ottenuto è in linea con il lavoro condotto da Corami et al. 2020. Infatti, la presenza di particelle di questa classe dimensionale è indice che il mitilo filtra le SMPs presenti nel seston scambiandole per particelle di cibo. Poiché in questo studio sono stati analizzati individui interi, si può ipotizzare che le microplastiche  $\gg 100 \mu m$  entrino nella cavità palleale nella corrente che porta anche il seston, ma escano dalla stessa cavità con la corrente che porta verso l'esterno le pseudofeci, senza passare quindi dal tratto gastrointestinale; va però detto che alcune MPs potrebbero restare all'interno del mantello, aderendovi.

Trattandosi di una matrice complessa, era necessario eliminare gli interferenti dell'analisi al Micro-FTIR per ottenere un'identificazione ottimale delle particelle sul filtro, ma anche uno spettro di *background* privo di interferenti. Per questo motivo, è stato necessario trovare un rapporto di diluizione ottimale senza perdere significatività.

L'idrologia lagunare e la differente pressione antropica nei tre bacini della laguna di Venezia possono influenzare l'abbondanza di SMPs nel particolato presente in acqua. Gli organismi prelevati in ciascun sito sono un'immagine di quanto vi accade: quindi, i mitili possono essere dei buoni indicatori dell'inquinamento da microplastiche in acqua. Il *Mytilus galloprovincialis*, grazie alla sua capacità filtrante, consente di avere una panoramica dello stato ecologico di un ambiente, in questo caso la

laguna di Venezia. Considerati questi risultati preliminari, si potrebbe pensare ad un monitoraggio ambientale sulle SMPs costituendo le basi per ricavare, non solo informazioni dal punto di vista spaziale, ma anche da un punto di vista temporale. Questo consentirebbe di studiare le possibili variazioni nel tempo delle SMPs in funzione delle variazioni esterne e dei processi ambientali tipici della Laguna di Venezia. In aggiunta, lo studio delle SMPs nella colonna d'acqua insieme a future analisi delle SMPs nei sedimenti e nell'aerosol atmosferico potrebbero dare indicazioni più esaustive sui meccanismi di trasporto dello xenobiotico e sulle possibili fonti di contaminazione. L'informazione derivante da queste tre matrici potrebbe dare un'indicazione sul come limitare l'immissione delle SMPs in Laguna.

Per quanto riguarda il secondo obiettivo di tesi, la tecnica Pyr- GC/MS conferma parzialmente quanto ottenuto con la tecnica al Micro-FTIR. Il TIC ricavato dall'analisi delle tre stazioni di campionamento non presenta, o presenta in parte, i picchi caratteristici di alcuni polimeri, come il Nylon, che sono stati identificati con il Micro-FTIR. La matrice complessa, inoltre, potrebbe aver influenzato l'identificazione, ma va anche sottolineato che nel campione ci potrebbero essere stati diversi polimeri plastici, che avrebbero potuto dar luogo a reazioni collaterali. Questo trova conferma nel fatto che alcuni dei picchi identificati nel TIC si trovano in tempi di eluizione diversi da quelli previsti.

In un'ottica futura, questo elaborato di tesi potrebbe fungere da apripista per ulteriori monitoraggi delle SMPs nella laguna di Venezia utilizzando il *Mytilus galloprovincialis* come organismo indicatore. Avere un'idea, sia a livello spaziale che temporale, sulle modalità di comportamento delle *small microplastics* consentirà agli studiosi, non solo di comprendere il comportamento dello xenobiotico in ambiente e con gli organismi viventi, ma anche di prevedere i possibili danni intervenendo tempestivamente. La presenza delle SMPs in questi mitili, messa in luce da questo studio, fornisce agli enti preposti di valutare lo stato ecologico dell'ambiente lagunare, consentendo di mettere appunto delle metodologie per minimizzare l'introduzione delle SMPs su questo sistema naturale. Inoltre, essendo il *Mytilus galloprovincialis* presente nella tavola italiana, le SMPs potrebbero traslocare verso l'uomo con effetti sul sistema biologico talvolta irreparabili. In

conclusione, questo elaborato potrebbe consentire agli studiosi di attuare delle azioni correttive e di stimare con accuratezza il rischio delle SMPs per l'uomo.

## Appendice 1

Tabella A1 Peso totale degli organismi e lunghezza media della conchiglia delle rispettive stazioni di campionamento

STAZIONI DI CAMPIONAMENTO	Peso (g) $\pm$ 0,01 g	lunghezza della conchiglia (cm) $\pm 0,05$ mm
<i>Palude maggiore 4</i>	15,30	5,80
<i>Ottagono S.Pietro 4</i>	13,33	6,14
<i>7 Morti 2</i>	14,69	3,35
<i>Pellestrina</i>	14,15	5,67

Tabella A2 Lunghezza e larghezza media delle SMPs analizzate

STAZIONI DI CAMPIONAMENTO	Lunghezza ( $\mu$ m)	Larghezza ( $\mu$ m)
<i>Palude maggiore 4</i>	64,14	30,59
<i>Ottagono S.Pietro 4</i>	64,06	29,33
<i>7 morti 2</i>	57,41	28,22
<i>Pellestrina</i>	60,96	29,68

Tabella A3 Concentrazione delle SMPs/ items divise per stazione di campionamento

BACINO LAGUNARE	STAZIONI DI CAMPIONAMENTO	PLASTICHE	SMPs/item ( $\mu\text{g} / \text{g}$ )		
NORD	Palude Maggiore 4	PA	16,352		
		PPA	0,290		
		PARA	0,306		
		PVDF	0,005		
		DMS	0,003		
		POLYESTER, MW 850	0,004		
		SYNTHETIC URETHANE	0,004		
		RUBBER			
		OLEFIN	0,198		
		PP	0,009		
		PES	0,033		
		PTFE	0,016		
		MODACRYLIC	0,015		
		CENTRO	Ottagono San Pietro 4	PA	1,574
PPA	0,012				
PARA	0,004				
SUD	7 morti 2	PA	2,167		
		PARA	0,723		
		PPA	0,040		
		PA 6/6	0,079		
		OLEFIN	0,023		
		NYLON 6/12	0,003		
		PVC	0,026		
		EVA	0,003		
		MODACRYLIC	0,049		
		PP	0,001		
		Pellestrina		PA	9,098
				OLEFIN	0,589
PTFE	5,847				

## APPENDICE 2

Polimero originale	Tempo di ritenzione (min)	Nome tracciante
PE (alcheni)	4,12	1-Ottene
	5,72	1-Nonene
	7,43	1-Decene
	9,08	1-Undecene
	10,62	1-Dodecene
	12,07	1-Tridecene
	13,43	1-Tetradecene
	14,71	1-Pentadecene
	15,92	1-Esadecene
	17,07	1-Eptadecene
PE (alcadieni)	18,16	1-Ottacene
	7,29	1,9-Decadiene
	8,94	1,10-Undecadiene
	10,50	1,11-Dodecadiene
	11,96	1,12-Tridecadiene
	13,33	1,13-Tetradecadiene
	14,62	1,14-Pentadecadiene
	15,84	1,15-Esadecadiene
	16,99	1,16-Eptadecadiene
	18,09	1,17-Ottadecadiene
PET	2,70	Benzene
	8,78	Acetofenone
	9,86	Vinil benzoato
	10,90	Acido benzoico
	15,73	Divinil tereftalato
PTFE	1,71	Tetrafluoroetilene
PS	3,82	Toluene
	5,78	Stirene
	16,25	Stirene dimero
	21,98	Stirene trimero
Nylon 6	11,97	Caprolattame
PP	2,21	2-metil-1-pentene
	4,49	2,4-dimetil-1-eptene
PVC	2,68	Benzene
	3,82	Toluene
	5,00	Clorobenzene
	5,78	Stirene
	8,40	Indene
	12,28/12,53	1-/2-metilnaftalene

## BIBLIOGRAFIA

- Andrady, A. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1596 - 1605.
- Andreotti, V. (2012). Studio dell'attività comportamentale delle valve di *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck,1819) tramite l'utilizzo di sensori Hall, 4 - 5.
- Bacci, E., Vighi, M. (1998). *Ecotossicologia*. Torino: UTET.
- Baker, I. (2018). *Fifty Materials That Make the World*. Cham: Springer International Publishing AG, 143 - 146.
- Boscolo Brusà, R., Cacciatore F., Ponis, E., Molin, E., Delaney, E. (2013) Clam culture in the Venice lagoon: stock assessment of Manila clam (*Venerupis philippinarum*) populations at a nursery site and management proposals to increase clam farming sustainability. *Aquatic Living Resources*, 26, 1-10.
- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (15.09.2022). *polyester*. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/polyester>.
- Chen, Y., Zou, C., Mastalerz, M., Hu, S., Gasaway, C., & Tao, X. (2015). Applications of Micro-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) in the Geological Sciences--A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), 30223-30250.
- Corami, F., Rosso, B., Bravo, B., Gambaro, A., & Barbante, C. (2020). A novel method for purification, quantitative analysis and characterization of microplastic fibers using Micro-FTIR. *Chemosphere* (Oxford), 238, 124564.
- Corami, F., Rosso, B., Morabito, E., Rensi, V., Gambaro, A., & Barbante, C. (2021). Small microplastics (<100 µm), plasticizers and additives in seawater and sediments: Oleo-extraction, purification, quantification, and polymer characterization using Micro-FTIR. *The Science of the Total Environment*, 797, 148937.

Corami, F., Rosso, B., Sfriso, A., Gambaro, A., Mistri, M., Munari, C., & Barbante, C. (2022). Additives, plasticizers, small microplastics (<100 µm), and other microlitter components in the gastrointestinal tract of commercial teleost fish: Method of extraction, purification, quantification, and characterization using Micro-FTIR. *Marine Pollution Bulletin*, 177, 113477.

Crouch, Holler, Skoog, West, Sabbatini, Crouch Stanley Ross, Holler F. James, Skoog Douglas A, West Donald M, Sabbatini Luigia. (2015). *Fondamenti di chimica analitica di Skoog e West (3.rd ed.)*. Napoli: EdiSES.

Decreto ministeriale Ronchi- Costa, 23/4/1998. Requisiti di qualità delle acque e caratteristiche degli impianti di depurazione per la tutela della laguna di Venezia.

Direttiva 2000/60/CE (Direttiva Quadro sulle Acque – DQA) del parlamento europeo e del consiglio, 23/10/2000.

Facca, C., Ceoldo, S., Pellegrino, N., & Sfriso, A., (2014). Natural Recovery and Planned Intervention in Coastal Wetlands: Venice Lagoon (Northern Adriatic Sea, Italy) as a Case Study. *The Scientific World Journal*, 2014, 968618-15.

Fernández, B., & Albentosa, M. (2019). Insights into the uptake, elimination and accumulation of microplastics in mussel. *Environmental Pollution* (1987), 249, 321-329.

Fox, A., Kozar, M. P., & Steinberg, P. A. (2000). *Gas Chromatography and Gas Chromatography } Mass Spectrometry*.

GdL-MIE. 2020. *Inquinanti Emergenti*. A cura di: Tartari G., Bergna G., Lietti M., Rizzo A., Lazzari F. e Brioschi C. Lombardy Energy Cleantech Cluster, Milano, 249 .

Ghinassi, M., D'alpaos, A., Gasparotto, A., Carniello, L., Brivio, L., Finotello, A., Roner, M., Franceschinis, E., Realdon, N., Howes, N., Cantelli, A., Howell, J. (2018). Morphodynamic evolution and stratal architecture of translating tidal point bars: Inferences from the northern Venice Lagoon (Italy). *Sedimentology*, 65(4), 1354-1377.

Ghirardelli E., Corai I., Cadamuro B., Specchi M. (1971) *Il libro delle osservazioni scientifiche*, Ghisetti

- & Corvi editori 2, 140-143.
- Gogoi, A., Mazumder, P., Tyagi, V., Tushara Chaminda, G., An, A., & Kumar, M. (2018). Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundwater for Sustainable Development*, 6, 169-180.
- Granzotto, A., Franzoi, P., Longo, A., Pranovi F., Torricelli P., Dipartimento di Scienze Ambientali, I., & 512. (2015). La Pesca Nella Laguna Di Venezia: Un Percorso Di Sostenibilità Nel Recupero Delle Tradizioni. *Lo Stato Dell'arte*.
- Harper, C. A. (2002). *Handbook of plastics, elastomers, and composites*. McGraw-Hill Education.
- Hendrickson, E., Minor, E. C., & Schreiner, K. (2018). Microplastic abundance and composition in western Lake Superior as determined via microscopy, Pyr-GC/MS, and FTIR. *Environmental science & technology*, 52(4), 1787-1796.
- Hirschler, M. (2017). Poly(vinyl chloride) and its fire properties. *Fire and Materials*, 41(8), 993-1006.
- Iannilli, V., Pasquali, V., Setini, A., & Corami, F. (2019). First evidence of microplastics ingestion in benthic amphipods from Svalbard. *Environmental Research*, 179(Pt A), 108811.
- Iannilli, V., Corami, F., Grasso, P., Lecce, F., Buttinelli, M., & Setini, A. (2020). Plastic abundance and seasonal variation on the shorelines of three volcanic lakes in Central Italy: Can amphipods help detect contamination? *Environmental Science and Pollution Research International*, 27(13), 14711-14722.
- Jennings S, Kaiser MJ (1998) The effects of fishing on marine ecosystems. *Adv Min Mar Biol* 34, 201-351.
- Juhmani, A., Sfriso, A., Wahsha, M., Buosi, A., Tomio, Y., & Sfriso, A. (2021). Metal Bioaccumulation and Oxidative Stress in *Ulva laetevirens* in the Venice Lagoon: Early Warning Biomarker for Metal Bioaccumulation. *Water (Basel)*, 13(19), 2626.

Kolandhasamy, P., Su, L., Li, J., Qu, X., Jabeen, K., & Shi, H. (2018). Adherence of microplastics to soft tissue of mussels: A novel way to uptake microplastics beyond ingestion. *The Science of the Total Environment*, 610-611, 635-640.

Kümmerer, K. (2011). Reply to Comments by Bogdan Wyrwas and Magdalena Franska on “Deactivation and Transformation Products in Biodegradability Testing of  $\beta$ -Lactams Amoxicillin and Piperacillin” by Andreas Längin, Radka Alexy, Armin König, Klaus Kümmerer [*Chemosphere* 75(3) (2009) 347–354]. *Chemosphere* (Oxford), 84(1), 189-190.

Li, J., Wang, Z., Rotchell, J., Shen, X., Li, Q., & Zhu, J. (2021). Where are we? Towards an understanding of the selective accumulation of microplastics in mussels. *Environmental Pollution* (1987), 286, 117543.

Libralato, S., Pranovi, F., Raicevich, S., Da Ponte, F., Giovanardi, O., Pastres, R., . . . Mainardi, D. (2004). Ecological stages of the Venice Lagoon analysed using landing time series data. *Journal of Marine Systems*, 51(1), 331-344.

Mariné Oliveira, G., Do Couto, M., De Freitas Lima, M., & Do Bomfim, T. (2016). Mussels (*Perna perna*) as bioindicator of environmental contamination by *Cryptosporidium* species with zoonotic potential. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 5(1), 28-33.

Milan, M., Matozzo, V., Pauletto, M., Di Camillo, B., Giacomazzo, M., Boffo, L., . . . Bargelloni, L. (2016). Can ecological history influence response to pollutants? Transcriptomic analysis of Manila clam collected in different Venice lagoon areas and exposed to heavy metal. *Aquatic Toxicology*, 174, 123-133.

Mistri, M., Scoponi, M., Sfriso, A., Munari, C., Curiotto, M., Sfriso, A., Orlando-Bonaca, M., Lipej, L. (2021). Microplastic Contamination in Protected Areas of the Gulf of Venice. *Water, Air, and Soil Pollution*, 232(9), *Water, air, and soil pollution*, 2021, Vol.232 (9).

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) (1995) Understanding marine biodiversity: a research agenda for the nation. National Academy Press, Washington, DC.

Nadeau, J., Wright, B., & Synovec, R. (2010). Chemometric analysis of gas chromatography–mass

- spectrometry data using fast retention time alignment via a total ion current shift function. *Talanta* (Oxford), 81(1), 120-128.
- Paul E. Rosenfeld, & Lydia G.H. Feng. (2011). 16 - Emerging Contaminants. In *Risks of Hazardous Wastes* (pp. 215-222). Elsevier.
- Peters, C. A., Hendrickson, E., Minor, E. C., Schreiner, K., Halbur, J., & Bratton, S. P. (2018). Pyr-GC/MS analysis of microplastics extracted from the stomach content of benthivore fish from the Texas Gulf Coast. *Marine pollution bulletin*, 137, 91-95.
- Qu, X., Su, L., Li, H., Liang, M., & Shi, H. (2018). Assessing the relationship between the abundance and properties of microplastics in water and in mussels. *The Science of the Total Environment*, 621, 679-686.
- Said, R., Nassar, S., & Mohamed, A. (2022). Assessment of microplastic and trace element pollution in the southeastern Mediterranean coasts, Egypt, using shellfish *Arca noae* as a bioindicator. *Marine Pollution Bulletin*, 177, 113493.
- Sarcletti, M., Park, H., Wirth, J., Englisch, S., Eigen, A., Drobek, D., Friedrich, B., Tietze, R., Alexiou, C., Zahn, D., Zubiri, B., Spiecker, E., Halik, M. (2021). The remediation of nano-/microplastics from water. *Materials Today* (Kidlington, England), 48, 38-46.
- Sfriso, A., Buosi, A., Facca, C., Sfriso, A., Tomio, Y., Juhmani, A., Facca, C., Sfriso, A., Franzoi, P., Scapin, L., Bonometto, A., Ponis, E., Rampazzo, F., Berto, D., Gion, C., Oselladore, F., Cacciatore, F., Bonometto, A. (2021). Environmental restoration by aquatic angiosperm transplants in transitional water systems: The Venice Lagoon as a case study. *The Science of the Total Environment*, 795, 148859.
- Sfriso, A., Facca, C., & Raccanelli, S. (2014). PCDD/F and dioxin-like PCB bioaccumulation by Manila clam from polluted areas of Venice lagoon (Italy). *Environmental Pollution* (1987), 184, 290-297.
- Sfriso, A., Tomio, Y., Rosso, B., Gambaro, A., Sfriso, A., Corami, F., Rastelli, E., Corinaldesi, C., Mistri, M., Munari, C. (2020). Microplastic accumulation in benthic invertebrates in Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica). *Environment International*, 137, 105587.

Tagg, A., Sapp, M., Harrison, J., & Ojeda, J. (2015). Identification and Quantification of Microplastics in Wastewater Using Focal Plane Array-Based Reflectance Micro-FT-IR Imaging. *Analytical Chemistry* (Washington), 87(12), 6032-6040.

Thompson, R., & Napper, I. (2019). *Microplastics in the Environment* (Vol. 47, Issues in Environmental Science and Technology Series, pp. 60-81). CAMBRIDGE: Royal Soc Chemistry.

Trossarelli, L. (2010). The history of nylon. Club Alpino Italiano, Centro Studi Materiali e Tecniche, [www.caimateriali.org/index](http://www.caimateriali.org/index).

Vianello, R., (2021). "Venetian Lagoon Mussel farming Between Tradition and Innovation. An Example of Changes in Perception and Multispecies Relation". *Lagoonscapes. The Venice Journal of Environmental Humanities*, 1(2),315-336.

Williams, P. T., & Williams, E. A. (1999). Interaction of plastics in mixed-plastics pyrolysis. *Energy & Fuels*, 13(1), 188-196.

## **SITOGRAFIA**

<http://www.biologiamarina.eu/Mitili.html>, site accessed on 18/08/2022

<https://www.ilgiornaledemarini.it/la-cozza/>, site accessed on 18/08/2022

<https://www.izsvenezie.it/documenti/comunicazione/materiale-editoriale/1-comunicazione-scientifica/appunti-scienza/molluschi-bivalvi.pdf>, site accessed on 20/08/2022

<https://www.xpolymers.it/para.html> site accessed on 17/09/2022

<https://www.xpolymers.it/pes.html> site accessed on 18/09/2022

*PlasticsEurope - Poliolefine - PlasticsEurope*, su [plasticseurope.it](http://plasticseurope.it). site accessed on 18/09/2022

<https://www.franklowe.com/materials/urethane-rubber/> site accessed on 18/09/2022

<https://polymerdatabase.com/Fibers/Modacrylic.html> site accessed on 19/09/2022